DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251208002
引用格式: 王馨远, 江海, 曹青文, 等. 络合提取/肝素亲和柱净化-高效液相色谱法测定含水解蛋白配方食品中的乳铁蛋白[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(7): 267–272.
WANG XY, JIANG H, CAO QW, *et al*. Determination of lactoferrin in hydrolyzed protein formula foods by complexation extraction/heparin affinity column purification-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(7): 267–272. (in Chinese with English abstract).

络合提取/肝素亲和柱净化-高效液相色谱法测定含水解蛋白配方食品中的乳铁蛋白

王馨远[1,2], 江　海[1,2], 曹青文[1,2], 肖海龙[1,2], 孙　亮[1,2], 闫金花[1,2], 夏　莹[1,2], 王红青[1,2*]

(1. 杭州市食品药品检验科学研究院, 杭州　310017;
2. 浙江省市场监管乳及乳制品监管技术重点实验室, 杭州　310017)

摘　要: 目的　建立一种络合提取/肝素亲和柱净化-高效液相色谱法测定氨基酸配方及蛋白水解配方等特殊配方食品中乳铁蛋白含量的方法。**方法**　样品加络合磷酸盐缓冲液溶解提取, 肝素亲和柱净化; 采用 C_4 的 300 Å 蛋白分析色谱柱分离, 流动相为乙腈-三氟乙酸溶液, 梯度洗脱, 高效液相色谱二极管阵列检测器测定, 外标法定量。**结果**　乳铁蛋白峰型良好, 与杂质基线分离, 在 2~200 μg/mL 范围内线性关系良好(r^2>0.999), 方法检出限和定量限分别为 2 mg/100 g、6 mg/100 g; 在低、中、高 3 个加标浓度水平下, 平均回收率范围为 92.0%~96.2%, 相对标准偏差为 2.5%~3.7%。**结论**　该方法准确可靠、重复性和稳定性良好, 适用于氨基酸配方及蛋白水解配方等特殊配方食品的检测, 解决了国家标准方法不适用于检测氨基酸配方及深度水解蛋白乳粉等特殊配方食品中乳铁蛋白的问题。

关键词: 水解蛋白配方食品; 乳铁蛋白; 肝素亲和柱; 高效液相色谱法

Determination of lactoferrin in hydrolyzed protein formula foods by complexation extraction/heparin affinity column purification-high performance liquid chromatography

WANG Xin-Yuan[1,2], JIANG Hai[1,2], CAO Qing-Wen[1,2], XIAO Hai-Long[1,2], SUN Liang[1,2], YAN Jin-Hua[1,2], XIA Ying[1,2], WANG Hong-Qing[1,2*]

[1. *Hangzhou Institute for Food and Drug Control*, *Hangzhou* 310017, *China*; 2. *Key Laboratory of Milk and Dairy Regulatory Technology of Zhejiang Provincial Administration for Market Regulation*, *Hangzhou* 310017, *China*]

ABSTRACT: Objective　To establish a method for determining of lactoferrin in special formula foods such as amino acid formulas and protein hydrolyzed formulas by a complexation extraction/heparin affinity column

收稿日期: 2025-12-08
第一作者: 王馨远(1987—), 男, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品分析。E-mail: 158321865@qq.com
***通信作者:** 王红青(1979—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品分析。E-mail: 38260311@qq.com

purification-high performance liquid chromatography. **Methods** The sample was dissolved and extracted with complex phosphate buffer solution, and purified using a heparin affinity column. Separation was achieved using a C_4 300 Å protein analysis chromatographiccolumn, with themobile phase consisting of acetonitrile-trifluoroacetic acid solution, followed by gradient elution. Detection was performed using a high performance liquid chromatography diode array detector, and quantification was achieved using an external standard method. **Results** The lactoferrin peak exhibited a good shape and was separated from the impurity baseline. The method demonstrated a good linear relationship within the range of 2–200 μg/mL (r^2>0.999). The limit of detection and limit of quantitation of the method were 2 mg/100 g and 6 mg/100 g, respectively. At 3 spiked concentration levels of low, medium and high, the average recovery rates ranged from 92.0% to 96.2%, with relative standard deviations of 2.5% to 3.7%. **Conclusion** This method is accurate, reliable and exhibits good repeatability and stability. It is suitable for the detection of lactoferrin in special formula foods such as amino acid formulas and protein hydrolyzed formulas. It addresses the issue that the national standard method is not applicable for detecting lactoferrin in special formula foods like amino acid formulas and deeply hydrolyzed protein milk powder.

KEY WORDS: hydrolyzed protein formula food; lactoferrin; heparin affinity column; high performance liquid chromatography

0 引 言

乳铁蛋白广泛存在于哺乳动物的乳汁及其他分泌液中，是一种铁结合性糖蛋白。大量研究表明，乳铁蛋白具有广谱抗菌、抗病毒、免疫调节、促进肠道菌群平衡和铁吸收等多种生物学功能，对婴幼儿的生长发育至关重要[1–6]。因此，乳铁蛋白已成为婴幼儿配方奶粉中一种关键的功能性营养强化剂。其含量的准确测定，对于确保产品质量、保障婴幼儿营养摄入以及履行产品标签标示值的规定，具有重大的实际意义。目前，国内外测定乳铁蛋白的常用方法主要有液相色谱法[7–12]、酶联免疫法[13–18]、液相色谱法-串联质谱法[19–22]、快速检测方法[23–24]。基于肝素亲和净化的液相色谱法，是目前应用最广泛的方法，也是 GB 5009.299—2024《食品安全国家标准 食品中乳铁蛋白的测定》规定的方法。肝素是乳铁蛋白的天然配体，肝素亲和色谱利用了肝素与乳铁蛋白之间高亲和力的特异性结合，能够从复杂的基质样品中，高效地分离和富集完整的乳铁蛋白[25–26]。

然而，随着市场产品的多样化，出现了为满足特殊需求而设计的含有水解蛋白的配方奶粉。在该类产品中，酪蛋白和乳清蛋白等大分子蛋白质已被酶解为小分子肽段，这给乳铁蛋白的准确定量带来了巨大挑战。此类产品中的水解蛋白和多肽会干扰乳铁蛋白的检测，降低提取效率，导致采用国家标准方法检测回收率不达标。行业反馈后，国家食品安全风险评估中心于 2024 年 10 月 19 日在其官网上明确“现行的 GB 5009.299—2024 不适用于含有水解蛋白的婴幼儿配方食品(其中包括特殊医学用途婴儿配方食品)”。

因此，本研究旨在建立一种基于络合溶液高效提取、肝素亲和柱净化的高效液相色谱法，用于测定含水解蛋白包括特殊医学用途婴儿配方食品中乳铁蛋白的含量。本方法在参考 GB 5009.299—2024 方法的基础上，采用高效的提取溶液，并将肝素亲和净化技术系统性地应用于含水解蛋白配方奶这一特殊复杂基质，有效克服了因蛋白水解导致的提取效率低、检测回收率不达标的问题，为国家标准方法的局限性提供有效的补充和替代方案。通过对样品提取溶液、色谱条件等进行优化，并对方法的线性范围、精密度、准确度、检出限和定量限进行验证，为该类特殊配方食品的质量控制提供一种可靠、准确的分析手段。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用样品购自于市场或者监督检测样品。

乳铁蛋白标准物质(批号 JS255495，上海源叶生物科技有限公司)；乙腈(色谱纯，德国默克公司)；三氟乙酸、氯化钠、磷酸、磷酸氢二钠(分析纯，国药集团化学试剂有限公司)；络合溶液[乳铁蛋白结合液，纳谱分析技术(苏州)有限公司]；Waters Symmetry 300^{TM} C_4 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm，美国 Waters 公司)；Excsep C_4 色谱柱(4.6 mm× 250 mm, 5 μm)[问度色谱科技((浙江))有限公司]；肝素亲和柱 SelectCore Heparin [3 mL，填料 1 mL，纳谱分析技术(苏州)有限公司]；肝素亲和柱 ProElut® HP IAC (6 mL，江苏美正生物科技有限公司)；肝素亲和柱 SHIMSEN Heparin [3 mL，岛津(上海)实验器材有限公司]。

1.2 仪器与设备

Agilent LC-1200 安捷伦高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]；ME802 梅特勒百分之一电子天平、梅特勒 pH 计[梅特勒托利多仪器(上海)有限公司]；DK-S28 恒温

水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)；VORTEX 3 涡旋混合器[艾卡(广州)仪器设备有限公司]；MA600R 高速冷冻离心机(上海丰博生物科技有限公司)；Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.3　方　法

1.3.1　色谱条件

色谱柱：Waters Symmetry300^{TM}C$_4$ (4.6 mm×250 mm, 5 μm, 300 Å)，流动相 A 为 0.1%三氟乙酸溶液，B 为乙腈。梯度洗脱(B)：0~16 min，15%~85% B；16.0~18.0 min，85% B；18.1~20.0 min，15% B；流速 1.0 mL/min，进样体积 50 μL，柱温 30 ℃。检测器波长 280 nm。

1.3.2　实验溶液配制

(1)标准溶液的配制

分别准确吸取 0.04、0.10、0.20、1.00、2.00 和 4.00 mL 乳铁蛋白标准储备液(5000 μg/mL)，置于一组 100 mL 容量瓶中，用洗脱液定容，摇匀，配制成质量浓度为 2、5、10、50、100 和 200 μg/mL 的系列混合标准工作液。

(2)缓冲溶液配制

磷酸盐缓冲提取液I：称取 28.4 g 磷酸氢二钠，加 900 mL 水溶解，用磷酸调 pH 至 7.5±0.2，加水定容至 1000 mL，临用现配。

磷酸盐缓冲提取液II：称取 28.4 g 磷酸氢二钠，加 900 mL 水溶解，加入 20 mL 络合溶液，用磷酸调 pH 至 6.0±0.2，加水定容至 1000 mL，临用现配。

洗脱液：称取 7.1 g 磷酸氢二钠、58.4 g 氯化钠，加 900 mL 水溶解，用磷酸调 pH 至 8.0±0.2，加水定容至 1000 mL，临用现配。

1.3.3　样品的前处理

提取：称取 1 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 预热至 45 ℃磷酸盐缓冲提取液II，混匀后超声 15 min，用磷酸盐缓冲提取液II定容至 50 mL，4 ℃下 10000 r/min 离心 10 min，取 10 mL 样液到 15 mL 离心管中，待净化。

净化：将肝素亲和柱恢复至室温，用 5 mL 磷酸盐缓冲液II活化肝素亲和柱，弃去流出液；准确移取 10.0 mL 上述提取样液过柱，控制流速在 1~3 mL/min，弃去流出液；待样液滴完后，用 10 mL 磷酸盐缓冲液 II 淋洗，弃去流出液；用 5 mL 洗脱液洗脱，收集洗脱液并用洗脱液定容至 5.00 mL，混匀后过 0.22 μm 水相针头滤器待测。

1.4　数据处理

采用 Agilent ChemStation B.03.01 软件进行色谱图分析及数据处理；采用 Microsoft Excel 2007 软件进行数据分析统计、平均值和标准偏差等相关运算。

2　结果与分析

2.1　色谱条件的优化

参考标准和相关文献[27–32]，300 Å 孔径的反相色谱柱可同时分离亲水和疏水肽，分离中性或强碱性肽时可获得优异表现，为乳铁蛋白分离提供优异结果。研究选取 Excsep C$_4$ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Waters Symmetry300^{TM}C$_4$ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)，通过调节流动相比例，乳铁蛋白和杂质都可以达到基线分离。但 Excsep C$_4$ 色谱柱下的色谱峰型不够尖锐和对称，最终选择 Waters Symmetry300^{TM}C$_4$ 色谱柱。流动相选择 0.1%三氟乙酸和乙腈，通过优化梯度，可在 20 min 内完成一个样品的上机分析，比国标方法缩短 5 min。标样和样品色谱图分别见图 1 和图 2。

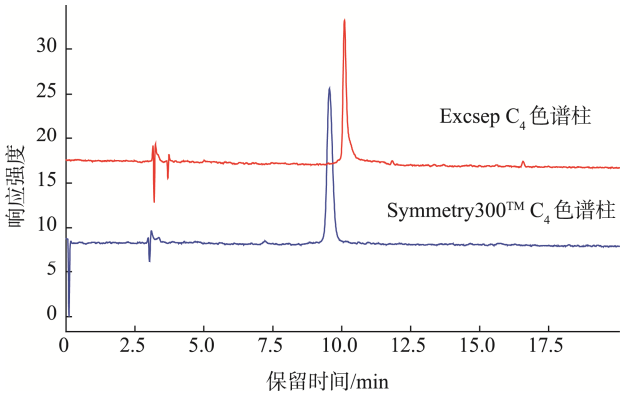


图 1　不同色谱柱下乳铁蛋白标样色谱图

Fig.1　Chromatogram of lactoferrin standard sample under different chromatographic columns

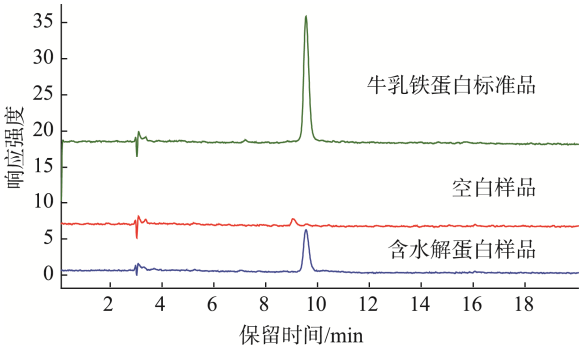


图 2　乳铁蛋白标准物质、空白样品、阳性样品色谱图

Fig.2　Chromatograms of lactoferrin standard, blank sample and positive sample

2.2　提取溶剂选择

本研究比较国家标准中的提取磷酸盐缓冲提取液I和实验室配制的专用提取液磷酸盐缓冲提取液II对乳铁蛋白提取效率的影响。

本研究采用两种提取液，将 3 种特殊医学用途婴儿配方食品试样(乳蛋白部分水解配方试样、乳蛋白深度水解配方试样、氨基酸配方试样)进行定量限 6 mg/100 g 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机分析，平行 3 份试样考察回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSDs)，具体结果见表 1。

表 1 不同提取液时 3 种试样的回收率和 RSDs (*n*=3)

Table 1 Recovery rates and RSDs of 3 kinds of samples under different extraction solutions (*n*=3)

提取液	GB 5009.299—2024 提取液I			加络合剂国家标准提取液II		
基质	部分水解蛋白	深度水解蛋白	氨基酸	部分水解蛋白	深度水解蛋白	氨基酸
回收率/%	62.17	63.48	66.59	92.16	93.23	96.59
	60.37	68.34	64.78	90.23	98.94	94.21
	62.34	67.65	63.24	92.16	97.22	93.47
平均回收率/%	61.6	66.5	64.9	91.5	96.5	94.8
RSDs/%	1.8	3.9	2.6	1.2	3.0	1.7

由回收率数据可知, 按照 GB 5009.299—2024 的提取方法, 水解蛋白和多肽会干扰乳铁蛋白提取, 导致回收率只有 60%~70%。通过采用加络合溶液的磷酸盐缓冲提取液, 适用于乳蛋白部分水解、深度水解及氨基酸配方等特医婴儿配方乳粉, 配合肝素亲和柱, 回收率达到 90%以上, 可保证良好的回收率与重现性。

因为在优化的提取盐中除了磷酸盐缓冲体系之外, 络合溶液中含有乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)、吐温-20、尿素等成分。EDTA 可以抑制基质中的本底铁元素与乳铁蛋白的结合; 尿素提供氢键作用, 促进乳铁蛋白与肝素亲和柱结合; 吐温-20 提供疏水相互作用从而抑制部分水解蛋白与肝素亲和柱结合提高结果准确度。当 pH 调到 6.0 左右时, 回收率最高。所以本研究最终采用优化的磷酸盐缓冲体系进行高效提取。

2.3 肝素亲和柱选择

选取了 3 种肝素亲和柱 ProElut® HP IAC 6 mL、SelectCore Heparin 3 mL、SHIMSEN Heparin 3 mL, 采用相同提取溶液的情况下, 3 种亲和柱的净化效果相当, 能很好保留目标物, 去除杂质, 回收率都在 90%以上。说明选用的 3 种品牌的肝素亲和柱净化效果相近, 满足检测要求。

2.4 过滤方式的选择

本研究考察了高速离心和滤膜过滤的方式对乳铁蛋白收率的影响, 滤膜选择 3 种常用的, 分别为再生纤维素膜(15 mm, 0.2 μm), 水相(聚醚砜 13 mm、0.22 μm), 有机相(尼龙 13 mm、0.22 μm)。对乳铁蛋白溶液进行离心(8500 r/min, 10 min)或滤膜过滤, 结果发现再生纤维素膜、水相滤膜和高速离心的方式对乳铁蛋白都基本没有吸附, 不影响回收率, 但有机相膜对乳铁蛋白有高达 40%的吸附。考虑到样品溶液的部分杂质离心不能去除可能导致色谱柱堵塞, 所以实验过程中根据条件选择水相滤膜或者再生纤维素膜过滤的方式。

2.5 方法学评价

2.5.1 线性范围、检出限和定量限

对系列混合标准工作液进行测定, 以标准系列工作液中乳铁蛋白的浓度为横坐标(*X*, mg/L), 以乳铁蛋白峰面积为纵坐标(*Y*)绘制标准曲线, 得到线性回归方程 $Y=2.4008\times X-2.1837$ ($r^2>0.9999$)。方法的检出限和定量限以方法前处理后的样品溶液中 3 倍和 10 倍信噪比(*S*/*N*)确定, 分别为 2 mg/100 g 和 6 mg/100 g, 能够满足日常样品的检测。

2.5.2 方法回收率、精密度

在不含乳铁蛋白的空白样品(特殊医学用途婴儿乳蛋白深度水解配方食品)中分别添加 3 个水平(6、12、30 mg/100 g), 进行加标回收实验, 每个水平做 6 个平行, 同样品方法处理, 进样测定。如表 2 所示, 平均加标回收率为 92.0%~96.2%, RSDs 为 2.5%~3.7% (*n*=6)。本方法准确度和精密度较高、稳定性和重复性良好, 能够满足日常样品检测需求。

2.6 实际样品分析

采用本研究方法对特殊医学用途配方食品中乳铁蛋白进行实验间比对, 结果均符合要求, 再现性偏差小于 10%。采用本方法对市场上采购的 20 批特殊医学用途配方食品进行检测, 检测结果与标识值见表 3。其中 1~10 号是氨基酸配方乳粉, 11~20 号是蛋白水解配方乳粉。结果说明在实验室间比对符合要求的前提下, 20 批次样品的检测结果, 基本符合企业质控要求, 本研究方法适用于氨基酸配方及蛋白水解配方等特殊基质中乳铁蛋白的检测。

表 2 回收率和精密度实验结果(*n*=6)

Table 2 Results of tests for recovery and precision (*n*=6)

样品	本底值/(mg/100 g)	加标量/(mg/100 g)	测定总量/(mg/100 g)	回收率/%	RSDs/%
含水解蛋白乳粉	未检出	6	5.52	92.0	2.8
		12	11.40	95.0	3.7
		30	28.85	96.2	2.5

表 3　样品中乳铁蛋白实测值及其标签明示值(mg/100 g)
Table 3　Measured values of lactoferrin in the sample and labeled values (mg/100 g)

样品编号	技术要求	标示值	测定值
1	≥40.0	50.0	117.0
2	≥280.0	350.0	690.0
3	≥120.0	150.0	210.0
4	≥22.4	28.0	55.0
5	≥15.8	19.8	100.0
6	≥39.8	49.8	125.0
7	≥46.4	58.0	129.0
8	≥114.0	142.0	240.0
9	≥36.8	46.0	65.8
10	≥36.8	46.0	73.6
11	≥118.0	147.0	216.0
12	≥22.4	28.0	41.2
13	≥107.0	134.0	214.0
14	≥38.4	48.0	80.0
15	≥36.8	46.0	66.6
16	≥352.0	440.0	516.0
17	≥25.6	32.0	76.6
18	≥80.0	100.0	145.0
19	≥76.3	95.4	119.0
20	≥92.0	115.0	218.0

3　结　论

本研究优化了蛋白水解配方特殊医学用途配方食品中乳铁蛋白的检测方法, 针对样品的特殊性, 对 GB 5009.299—2024 前处理方法进行了优化, 改变了提取溶液的种类配比, 实现高效提取, 肝素亲和柱净化, 同时选取 Waters Symmetry 300^{TM} C_4 蛋白分析色谱柱, 优化梯度洗脱程序, 有效解决了氨基酸配方及蛋白水解配方等特殊医学用途配方食品中乳铁蛋白的检测技术问题, 提高了方法的精密度和可靠性, 可满足氨基酸配方及蛋白水解配方等特殊医学用途配方食品中乳铁蛋白的检测需求, 为监管提供技术支撑。

参考文献

[1] 黄文慧, 逯海, 梁文林, 等. 乳铁蛋白测量方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(14): 213–223.
HUANG WH, LU H, LIANG WL, *et al*. Research progress of lactoferrin measurement methods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(14): 213–223.

[2] 叶颖慧, 徐明轩, 梁敏慧, 等. 乳铁蛋白检测方法研究进展[J]. 质量安全与检验检测, 2025, 35(2): 49–53, 57.
YE YH, XU MX, LIANG MH, *et al*. Research advances on detection of lactoferrin [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2025, 35(2): 49–53, 57.

[3] 张君超, 胡素丽. 乳制品及其相关食品中乳铁蛋白常用检测方法[J]. 食品安全导刊, 2020(19): 40–42.
ZHANG JC, HU SL, Comparative study on the performance of two purified lactoferrin heparin affinity columns [J]. Journal of Food Safety Guide, 2020(19): 40–42.

[4] 徐大江, 马占峰, 赵丽, 等. 乳制品中糠氨酸和乳铁蛋白常用检测方法综述[J]. 中国乳业, 2023(1): 52–57.
XU DJ, MA ZF, ZHAO L, *et al*. A review of commonly used detection methods for lysine and lactoferrin in dairy products [J]. China Dairy, 2023(1): 52–57.

[5] 周淑萍, 韩荣伟, 王加启, 等. 不同地区、季节生乳中乳铁蛋白含量比较分析[J]. 食品科学, 2025, 46(12): 25–31.
ZHOU SP, HAN RW, WANG JQ, *et al*. Comparative analysis of lactoferrin content in raw milk from different regions and seasons [J]. Food Science, 2025, 46(12): 25–31.

[6] 刘皓, 钱卫平. 乳制品内乳铁蛋白成分的检测方法研究进展[J]. 中国乳品工业, 2024, 52(12): 36–44.
LIU H, QIAN WP. Research progress on detection methods for lactoferrin in dairy products [J]. China Dairy Industry, 2024, 52(12): 36–44.

[7] 刘秀清, 姜金斗, 陶大利. 超滤浓缩-HPLC 法测定乳中乳铁蛋白质量分数及功能性评价[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(11): 253–256.
LIU XQ, JIANG JD, TAO DL. Ultrafiltration-determination of lactoferrin in milk by HPLC and evaluate the function [J]. China Dairy Industry, 2016, 44(11): 253–256.

[8] 王飞, 窦文渊, 石燕丽, 等. 反相高效液相色谱法测定婴儿奶粉中乳铁蛋白的含量[J]. 中国酿造, 2012, 31(7): 167–168.
WANG F, DOU WY, SHI YL, *et al*. Determination of lactoferrin in infant formula powder milk by reversed phase high performance liquid chromatography [J]. China Brewing, 2012, 31(7): 167–168.

[9] 苏昭仑, 张颖, 贺瑞坤. 肝素亲和柱-高效液相色谱法快速测定乳粉中乳铁蛋白的优化研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 2: 289–294.
SU ZL, ZHANG Y, HE RK. Optimization of rapid determination of lactoferrin in milk powder byheparin affinity column-high performance liquid chromatography [J]. China Food Additives, 2023, 2: 289–294.

[10] 楼飞, 杨秀敏, 章寅. 肝素亲和柱在乳铁蛋白检测中的应用优化[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 161–165.
LOU F, YANG XM, ZHANG Y. Application of heparin affinity column in the detection of lactoferrin [J]. Food Research and Development, 2019, 40(6): 161–165.

[11] 朱丹丹, 洪辉, 吴红宇, 等. 高效液相色谱法测定特殊医学用途婴幼儿配方食品中乳铁蛋白含量[J]. 现代食品, 2020(18): 190–193.
ZHU DD, HONG H, WU HY, *et al*. Determination of lactoferrin in formula foods for infants and young children for specialmedical purposes by HPLC [J]. Modern Food, 2020(18): 190–193.

[12] 王玉堂, 迟涛, 程涛. 高效液相色谱法测定羊乳中的乳铁蛋白[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 293–296.
WANG YT, CHI T, CHENG T. Determination of lactoferrin in goat milk by HPLC method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(15): 293–296.

[13] 卢蓉蓉, 许时婴, 王璋. 乳铁蛋白测定方法的比较[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(5): 123–125.
LU RR, XU SY, WANG Z. Comparison of lactoferrin measurement [J]. China Dairy Industry, 2002, 30(5): 123–125.

[14] 陈柔含, 韩奕奕, 马颖清, 等. 乳及乳制品中牛乳铁蛋白含量测定方法比较研究[J]. 中国乳业, 2022, 249: 95–101.
CHEN RH, HAN YY, MA YQ, *et al*. Comparative study on determination

methods of bovine lactoferrinin dairy products [J]. China Dairy, 2022, 249: 95–101.

[15] 管乐, 代江华, 江杏, 等. 特殊医学用途婴儿配方食品中乳铁蛋白的检测[J]. 乳业科学与技术, 2018, 41(4): 21–24.
GUAN L, DAI JH, JIANG X, *et al*. Detection of lactoferrin in formulas for special medical purposes intended for infants [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2018, 41(4): 21–24.

[16] 聂晓臻, 孙洁, 王倩, 等. 婴幼儿配方食品中乳铁蛋白含量测定方法的研究[J]. 工业微生物, 2022, 52(5): 21–24.
NIE XZ, SUN J, WANG Q, *et al*. Determination of lactoferrin content in infant formula food [J]. Industrial Microbiology, 2022, 52(5): 21–24.

[17] 张婧, 朱孔迪, 刘传铭. 一种快速精准检测各种乳品中牛乳铁蛋白含量的广适性 ELISA 方法[J]. 中国乳业, 2025(3): 91–99.
ZHANG J, ZHU KD, LIU CM. A widely applicable ELISA method for rapid and accurate detection of lactoferrin content in various dairy products [J]. Dairy Industry, 2025(3): 91–99.

[18] 李莉, 李硕, 董亚蕾, 等. 婴幼儿配方食品中乳铁蛋白含量测定方法比较研究[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(8): 44–46, 64.
LI L, LI S, DONG YL, *et al*. Comparative study on determination methods for lactoferrin in infant formula [J]. China Dairy Industry, 2019, 47(8): 44–46, 64.

[19] 李则均. 婴幼儿配方羊奶粉中乳铁蛋白含量测定[J]. 中国乳业, 2017(4): 71–75.
LI ZJ. A review of commonly used detection methods for lysine and lactoferrin in dairy products [J]. China Dairy, 2017(4): 71–75.

[20] 张君超, 武冬霞, 田秀梅, 等. 两种纯化乳铁蛋白的肝素亲和柱性能对比研究[J]. 食品安全导刊, 2021(10): 72–76.
ZHANG JC, WU DX, TIAN XM, *et al*. Comparative study on the performance of two types of heparin affinity columns for lactoferrin purification [J]. Journal of Food Safety Guide, 2021(10): 72–76.

[21] 安美忱, 刘宁. 高效液相色谱-基质辅助激光解吸电离串联飞行时间质谱分离鉴定牛乳铁蛋白素[J]. 色谱, 2010, 28(2): 180–184.
AN MC, LIU N. Separation and identification of bovine lactoferricin by high performance liquid chromatography-matrix-assistedlaser desorption/ionization time of flight/time of flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatograophy, 2010, 28(2): 180–184.

[22] 田荣荣, 白沙沙, 徐佳佳, 等. 不同来源乳中 *α*-乳白蛋白、*β*-乳球蛋白和乳铁蛋白含量分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 311–315, 321.
TIAN RR, BAI SS, XU JJ, *et al*. Content analysis of *α*-actoalbumin, *β*-lactoglobulin and lactoferrin in milk from different sources [J]. Science and Technolog of Food Industry, 2020, 21(4): 311–315, 321.

[23] 陈柔含, 古淑青, 赵超敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定乳及乳制品中牛乳铁蛋白[J]. 色谱, 2020, 38(6): 663–671.
CHEN RH, GU SQ, ZHAO CM, *et al*. Determination of bovine lactoferrin in milk and dairy products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(6): 663–671.

[24] 赵飒, 张晓梅, 鲍蕾, 等. 液相色谱-串联质谱法测定牛乳基婴幼儿配方奶粉中的乳铁蛋白[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(24): 9326–9333.
ZHANG S, ZHANG XM, BAO L, *et al*. Determination of lactoferrin in milk-based infant formula by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(24): 9326–9333.

[25] 杨雨昕, 方暘, 程健博, 等. 核酸适配体在乳及乳制品中乳铁蛋白检测的应用[J]. 中国乳品工业, 2025, 53(10): 44–51.
YANG YX, FANG Y, CHENG JB, *et al*. Application of aptamers for lactoferrin detection in milk and dairy products [J]. China Dairy Industry, 2025, 53(10): 44–51.

[26] 孙全胜, 马聪, 陈思. 荧光探针技术检测牛乳制品中乳铁蛋白的研究[J]. 中国食品工业, 2025(9): 92–94.
SUN QS, MA C, CHEN S. Research on the detection of lactoferrin in dairy products using fluorescent probe technology [J]. China Food Industry, 2025(9): 92–94.

[27] 贾云虹, 宋晓青, 杨凯, 等. 高效液相色谱法测定婴儿配方奶粉中乳铁蛋白含量[J]. 中国奶牛, 2015(13): 49–52.
JIA YH, SONG XQ, YANG K, *et al*. Determination of lactoferrin in infant formula milk powder by high performance liquid chromatography [J]. China Dairy Cattle, 2015(13): 49–52.

[28] 郑仕剑, 徐腾洋, 焦玉芬, 等. 高效液相色谱法测定婴幼儿乳粉中乳铁蛋白含量[J]. 现代食品, 2021(19): 190–194.
ZHENG SJ, XU TY, JIAO YF, *et al*. Liquid chromatography determination of lactoferrin in infant milk powder by high performance [J]. Modern Food, 2021(19): 190–194.

[29] 张宁, 叶巧燕, 郑百芹, 等. 高效液相色谱法检测奶及奶制品中未变性乳铁蛋白[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(15): 20–28.
ZHANG N, YE QY, ZHENG BQ, *et al*. Detection of native lactoferrin in milk and dairy products using high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(15): 20–28.

[30] 夏明, 应铁进. 高效液相色谱检测乳制品中的乳铁蛋白含量[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 165–167.
XIA M, YING TJ. HPLC determination of lactoferrin in dairy products [J]. Food Science, 2010, 31(2): 165–167.

[31] 陈钦, 周朗君, 陈梓敬, 等. 在线二维液相色谱法同时测定乳制品中乳铁蛋白及免疫球蛋白 G[J]. 食品与机械, 2024, 40(9): 62–65, 98.
CHEN Q, ZHOU LJ, CHEN ZJ, *et al*. Online simultaneous determination of lactoferrin and immunoglobulin G in dairy products by two-dimensional liquid chromatography [J]. Food & Machinery, 2024, 40(9): 62–65, 98.

[32] 李娜. 母乳乳铁蛋白检测方法的建立及乳铁蛋白含量影响因素研究[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2021.
LI N. Establishment of a method for detection oflactoferrin in human milk and study oninfluencing factors of lactoferrin content [D]. Handan: Hebei University of Engineering, 2021.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)