

# 乳粉中主要 B 族维生素检测的 GB 和 AOAC 方法比较分析

葛城, 周荣杰, 詹胜群, 周钧\*, 储晓刚

(澳优乳业(中国)有限公司, 湖南长沙 410200)

**摘要:** 为探究维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub> (烟酸)、B<sub>6</sub> 的国家标准方法和 AOAC 官方方法检测结果的可比性和误差来源, 该研究通过对测试结果的 *F* 检验、显著性差异检验对维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>6</sub> 的国家标准方法和 AOAC 官方方法进行了等效分析, 并通过双向单侧 *t* 检验 (TOST) 对维生素 B<sub>2</sub> 进行了详尽的比较分析。分析结果表明, 维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>3</sub> 和维生素 B<sub>6</sub> 国家标准方法和 AOAC 官方方法之间无显著性差异, 而维生素 B<sub>2</sub> 国家标准方法和 AOAC 方法之间机理存在差异, 通过等效性分析后数据结果表明两种方法等效不好; 实验中发现在乳粉基质中添加酸性磷酸酶能够获得更接近可比性数据结果。

**关键词:** 比较研究; 维生素 B<sub>1</sub>; 维生素 B<sub>2</sub>; 维生素 B<sub>3</sub>; 维生素 B<sub>6</sub>; 方法等效性

文章编号: 1673-9078(2022)09-355-360

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.9.1272

## Comparative Study on GB and AOAC Methods to Determine Primary B Vitamins in Milk Powder

GE Cheng, ZHOU Rongjie, ZHAN Shengqun, ZHOU Jun\*, CHU Xiaogang

(Ausuntria Dairy (China) Co. Ltd., Changsha 410200, China)

**Abstract:** The equivalence between the national standard and official AOAC methods for determining vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> (niacin), and B<sub>6</sub> in milk powder was analyzed by performing the *F*-test and significance test on the obtained measurements to explore the comparability and error sources between these methods. Furthermore, vitamin B<sub>2</sub> results were compared and analyzed in detail by a two-way one-sided *t*-test (TOST). The results indicated no significant difference between the national standard and AOAC official methods in determining vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, and B<sub>6</sub>. However, for vitamin B<sub>2</sub>, a difference was observed between the two methods in terms of their mechanisms. The equivalence analysis results showed that the two methods are not effectively equivalent. Addition of acid phosphatase to the milk powder matrix was found to help obtain comparable results.

**Key words:** comparative study; vitamin B<sub>1</sub>; vitamin B<sub>2</sub>; vitamin B<sub>3</sub>; vitamin B<sub>6</sub>; method equivalence

引文格式:

葛城,周荣杰,詹胜群,等.乳粉中主要 B 族维生素检测的 GB 和 AOAC 方法比较分析[J].现代食品科技,2022,38(9):355-360

GE Cheng, ZHOU Rongjie, ZHAN Shengqun, et al. Comparative study on GB and AOAC methods to determine primary B vitamins in milk powder [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 355-360

乳粉跨境国际贸易对于产品中的关键营养成分的含量控制技术高。乳粉是全球贸易中重要的一部分, 在跨境贸易中, 各国为保护消费者的食用安全, 出口到我国的乳粉既需要满足原产国的法规要求, 又需要满足进口国的法规要求。我国制定了食品安全国家标准, 其中就含有百余项关于乳粉及乳制品的检测方法, 其中大部分的乳粉检测方法为强制性标准。对

收稿日期: 2021-11-12

作者简介: 葛城 (1992-), 男, 硕士, 中级职称, 研究方向: 食品检测, E-mail: 873685937@qq.com

通讯作者: 周钧 (1985-), 女, 硕士, 中级职称, 研究方向: 实验室管理和乳品质量控制, E-mail: junzhou@ausnutria.com

于暂无国家标准方法的物质则使用推荐性标准或补充方法。

在国外, 则通行采用 ISO 国际标准方法、AOAC 方法及各国的国家标准等, 对于乳粉中很多营养成分, 如: 维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub>、维生素 C、胆碱、左旋肉碱等, 国际方法和我国国家标准方法存在较多的差异甚至个别检测方法的差异还很大<sup>[1-8]</sup>, 而不同的检测方法、不同的实验室、不同的检测人员的都会使实验结果产生偏差, 导致检测结果存在差异, 因此, 对方法进行等效性研究和分析显得十分必要。

方法等效性分析<sup>[9]</sup>一般从两种方法的精密度 (方法性能)、实验结果 (显著性检验) 入手, 并通过获取

大量重复实验数据比对, 分析两种或多种方法检测结果的差异显著性; 通过精密度评价两种或多种方法精密度的差异及通过  $F$  检验法判断两者的差异的显著性。实验结果评价则是考察两种检测方法所得结果的一致性程度, 一般有显著性检验<sup>[10]</sup>、双因素方差检验<sup>[11]</sup>、双向单侧  $t$  检验 (TOST)<sup>[12,13]</sup>等多种方式方法, 双因素方差分析是在分析两种方法差异的时候同时考虑两种变量, 侧重去思考造成检测结果差异的最主要原因是什么; TOST 参考了医、药学方面等效性验证方式, 该检验方法需对参比方法结果设立等效边界, 边界可以参考对应国家标准方法或者通过 Horwitz 方程<sup>[14]</sup>进行设置, 其检验假设与经典显著性假设中的位置正好相反。TOST 一般优于显著性检测方法, 因为该检验方法可以避免当样本量过小或精密度过高而引起的显著性误判。

对维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>3</sub>、维生素 B<sub>6</sub> 四种维生素, 由于 AOAC Official Methods 2015.14<sup>[1]</sup> 有更高效率的检测效率, 且其检测机理与国标方法有所差异, 为探究该 AOAC 方法与我国国标方法 GB 5009.84-2016 第一法 (维生素 B<sub>1</sub>)、GB 5009.85-2016 第一法 (维生素 B<sub>2</sub>)、GB 5009.89-2016 第二法 (维生素 B<sub>3</sub>)、GB 5009.154-2016 第一法 (维生素 B<sub>6</sub>)<sup>[4,5,15,16]</sup> 之间是否等效, 本研究首先通过对所涉及的五个检测方法进行方法学验证, 然后就方法精密度进行比较分析, 再进行了各方法的对比试验并对结果进行了显著性分析, 对于存在显著性差异的指标通过 TOST 进一步分析以避免精密度过高而引起的显著性误判, 在确认某指标国标与 AOAC 方法等效不好后对两种方法的机理主要差异进行比对分析, 找出检测结果偏差的主要原因。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

婴幼儿配方奶粉、液态纯牛奶、液态纯羊奶, 市售。

正丁醇、冰乙酸、氢氧化钠、氯化钙, 均为分析纯, 天津科密欧公司。铁氰化钾、浓盐酸、偏磷酸、磷酸, 均为分析纯, 国药集团。氢氧化钾, 分析纯, 天津恒兴公司。高氯酸, 优级纯, 天津鑫源公司。乙二醇四乙酸二钠盐、磷酸氢二钾, 均为优级纯, 德国 CNW 公司。乙酸钠、辛烷磺酸钠、甲醇、异丙醇、庚烷磺酸钠、三乙胺, 均为色谱纯, 德国 CNW 公司。甲酸铵、甲醇, 均为质谱级, 德国 CNW 公司。

高峰淀粉酶 (148 U/mg)、 $\alpha$ -淀粉酶 (米曲霉中, 150 U/mg)、酸性磷酸酶 (马铃薯中的 II 型,

0.5~3.0 U/mg), 美国 Sigma 公司。木瓜蛋白酶 (番木瓜,  $\geq 3$  U/mg), 上海沪试公司。

烟酰胺, 德国 Dr 公司; 烟酸、盐酸吡哆胺, 美国 Sigma 公司; 盐酸吡哆醛, 美国 Chemservice 公司; 盐酸吡哆醇、核黄素、盐酸硫胺素, 美国 Supelco 公司; <sup>2</sup>H<sub>4</sub>-烟酰胺、<sup>2</sup>H<sub>4</sub>-烟酸、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-吡哆醇, 加拿大 CDN ISOTOPES 公司; <sup>2</sup>H<sub>3</sub>-吡哆醛、<sup>2</sup>H<sub>3</sub>-吡哆胺、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-硫胺素、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>, <sup>15</sup>N<sub>2</sub>-核黄素, 美国 IsoScience 公司。

### 1.2 设备与仪器

高效液相色谱仪 (配备紫外检测器、荧光检测器), 美国 Agilent 公司, 超高效液相色谱串联质谱仪 (配备 ESI 源、TSQ ENDURA 三重四极杆), 美国 ThermoFisher 公司。

分析天平 (感量 0.1 mg)、pH 计 (精度 0.01), 瑞士 Mettler Toledo 公司; 离心机 (转速  $\geq 4\ 000$  r/min), 德国 Sigma 公司; 电热恒温干燥箱 (温度可达 121 °C), 美国 Thermo Fisher 公司; 恒温水浴锅 (可控温 37 °C), 常州普天仪器制造有限公司; 分光光度计, 日本日立集团; 超声波振荡器, 昆山市超声仪器有限公司; 涡旋混合器, 德国 IKA 公司。

### 1.3 实验方法

采用的国标方法有: 中华人民共和国食品安全国家标准 GB 5009.84-2016 第一法 (维生素 B<sub>1</sub>), GB 5009.85-2016 第一法 (维生素 B<sub>2</sub>), GB 5009.89-2016 第二法 (维生素 B<sub>3</sub>), GB 5009.154-2016 第一法 (维生素 B<sub>6</sub>)。

采用的国际方法有: AOAC Official Methods 2015.14。

为避免实验室间引起的误差所涉及的所有标准方法验证和实际样品检测均在同一实验室 (具备 CNAS 实验室认可资质) 进行。方法间差异的探究依次从方法间性能评价、显著性检验、等效性检验、方法差异对照实验逐步展开。

## 2 结果与讨论

实验室对维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>6</sub> 的国家标准和国际标准 AOAC Official Methods 2015.14 进行了方法验证, 首先获得了相应的方法性能参数, 在保证所有方法均满足检测要求之后, 开始了对样品进行比对实验分析。

对于所有样品的检测结果, 以项目对应分组, 每组数据采用  $t$  检验法的进行数据分析, 从而检验方法差异的显著性, 同时对方法等效性进行分析。

## 2.1 方法技术指标评价

方法技术指标评价可以通过比较参与比较的一组方法的实验室内精密度进行,采用  $F$  检验法,

$F_r = S_{rB}^2 \div S_{rA}^2$ 。实验通过对 5 个标准方法进行方法验证,结果均满足检测需求,其中所有方法精密度验证标准偏差如表 1 所示,精密度实验采用 7 平行实验,自由度为 6。

查表可知,  $F_{0.05}(6,6)=5.82$ , 故  $F_{0.95}(6,6)=0.17$ 。由表 1 所示,维生素 B<sub>1</sub> 满足  $F_{0.95}(6,6) < F_r < F_{0.05}(6,6)$ , 因此没有证据表明维生素 B<sub>1</sub> 国标第一法和 AOAC 方法在实验室内精密度上有显著差异;而对于维生素

B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>3</sub>、维生素 B<sub>6</sub> 均存在  $F_r > F_{0.05/2}(6,6)$ , 也就是说,对于这三种维生素两种方法均有显著差异,维生素 B<sub>2</sub> 国标第一法、维生素 B<sub>3</sub> 国标第二法在实验室精密度上均优于 AOAC 方法,维生素 B<sub>6</sub> 国标第一法在实验室精密度上不及 AOAC 方法。

## 2.2 检测结果评价

### 2.2.1 显著性检验

采用国标方法与 AOAC 方法分别对 8 组样品进行检测,每个指标的实验数据均两两成对,可采用成对样本  $t$  检验分析,采用统计工具 SPSS 23 对表 2 的实验结果进行统计分析,分析结果见表 2 所示。

表 1 方法精密度评价

Table 1 Method precision evaluation

指标	维生素 B <sub>1</sub>		维生素 B <sub>2</sub>		维生素 B <sub>3</sub>		维生素 B <sub>6</sub>	
	AOAC 2015.14	GB 5009.84-2016 第一法	AOAC 2015.14	GB 5009.85-2016 第一法	AOAC 2015.14	GB 5009.89-2016 第二法	AOAC 2015.14	GB 5009.154-2016 第一法
标准偏差 S/ (mg/100 g)	1.83*10 <sup>-2</sup>	2.48*10 <sup>-2</sup>	7.79*10 <sup>-2</sup>	7.56*10 <sup>-3</sup>	9.33*10 <sup>-2</sup>	2.41*10 <sup>-2</sup>	1.54*10 <sup>-2</sup>	4.51*10 <sup>-2</sup>
$F_r$	1.83		106.20		14.98		8.58	

表 2 维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>6</sub> 显著性检验

Table 2 Significance test of vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> and B<sub>6</sub> (mg/100 g)

样品编号	维生素 B <sub>1</sub>		维生素 B <sub>2</sub>		维生素 B <sub>3</sub>		维生素 B <sub>6</sub>	
	AOAC 2015.14	GB 5009.84-2016 第一法	AOAC 2015.14	GB 5009.85-2016 第一法	AOAC 2015.14	GB 5009.89-2016 第二法	AOAC 2015.14	GB 5009.154-2016 第一法
1	0.85	0.88	1.43	1.41	6.49	7.79	0.67	0.58
2	0.95	0.86	1.69	1.51	9.04	10.05	0.84	0.60
3	0.65	0.62	1.07	1.24	4.52	4.29	0.48	0.53
4	0.80	0.87	1.60	1.45	6.73	7.51	0.72	0.87
5	0.89	0.98	1.40	1.25	4.93	5.23	0.53	0.59
6	0.74	0.79	1.41	1.07	6.58	5.92	0.99	0.97
7	0.90	1.08	1.93	1.75	7.45	7.28	0.97	0.67
8	0.99	0.97	1.85	1.47	5.27	5.21	0.60	0.58
$p$ 值	0.25		0.04		0.28		0.35	

表中的  $p$  代表显著性水平概率,从表 2 中可见,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>3</sub>、维生素 B<sub>6</sub> 的国标方法和 AOAC 方法  $p$  均大于 0.05,也就是说这三种维生素采用国标方法和 AOAC 方法不具显著性差异;而维生素 B<sub>2</sub> 的国标方法和 AOAC 方法  $p=0.041 < 0.05$ , 因此证明维生素 B<sub>2</sub> 的国标方法和 AOAC 方法存在显著性差异。

### 2.2.2 维生素 B<sub>2</sub> 等效性检验

对方法进行等效性检验引用了医药学检验常用的双向单侧  $t$  检验法 (TOST) 进行分析。TOST 法首先需要设立参比组和试验组,并设立等效边界(即等效

上限和等效下线)才能使整个检验具有意义。对于等效边界的设定,可以参考对应国家标准方法或者通过 Horwitz 方程<sup>[14]</sup>进行计算。

由于维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>3</sub>、维生素 B<sub>6</sub> 这三个指标采用对应国标方法和 AOAC 方法并没有显著差异,结果趋于一致,而维生素 B<sub>2</sub> 两种检测方法的检测结果存在显著性差异,因此,对维生素 B<sub>2</sub> 需进行进一步考察。采用 AOAC 方法和 GB 5009.85-2016 第一法对同一样品进行增大样本检测,以 GB 法为参比组, AOAC 法为试验组,进行 Horwitz 边界计算,实验结果和计

算结果统计如表 3。

表 3 维生素 B<sub>2</sub> 等效性检验数据

指标	AOAC	GB 5009.85-2016 第一法
样本数	14	118
检测均值/(mg/100 g)	2.02	1.60
标准差/(mg/100 g)	0.08	0.04
中位数/(mg/100 g)	2.02	1.60
目标值 5%		1.52~1.68
目标值 10%		1.44~1.76
目标值 15%		1.36~1.83
Horwitz 边界		1.48~1.72 (±7.07%)

通过对不同等效边界进行 TOST 分析, 以显著差异概率  $p$  值作为结果, 分析结果如表 4 所示。从表中结果可以看出, 当以目标值的±5%、±10%、±15% GB 为等效边界时, AOAC 的检测结果均不落在边界范围以内, 可不进行下一步 AOAC 检测结果与两侧等效边界的  $t$  检验, 而 GB 5009.85-2016 第一法对于维生素 B<sub>2</sub> 的检测精密度要求为 10%, 因此, 在此情况下, AOAC 2015.14 与 GB 5009.85-2016 第一法不等效; 当以 Horwitz 计算结果作为边界时 (目标值±7.066%), AOAC 的检测结果同样也均不落在边界范围以内, 因此, 在此情况下 AOAC 2015.14 与 GB 5009.85-2016 第一法仍不等效。此外, 从表 2、表 3 的实验结果还可以看出, AOAC 法维生素 B<sub>2</sub> 的检测结果普遍高于国标检测结果。

表 4 维生素 B<sub>2</sub> TOST 分析结果

指标	分析结果
目标值 5%	AOAC 结果不在边界范围内, 不等效
目标值 10%	AOAC 结果不在边界范围内, 不等效
目标值 15%	AOAC 结果不在边界范围内, 不等效
Horwitz 边界	AOAC 结果不在边界范围内, 不等效

### 2.3 维生素 B<sub>2</sub> 方法差异分析

从检测方法原理上观察, 维生素 B<sub>2</sub> 国标第一法采用了液相色谱法, 样品通过在弱酸(稀盐酸)的环境中水解, 然后调节 pH 值至 6.0~6.5, 再通过蛋白酶和淀粉酶进行酶解, 从而释放出维生素 B<sub>2</sub>, 最后经过高效液相色谱荧光检测器检测, 国标方法所适用的样品为各类食品; 而 AOAC 法是液质法, 前处理过程则是通过事先配制 pH 值 4.0~4.5 的混合酶液, 通过酶液稀释并过夜酶解液, 最后再次稀释便可进样分析, AOAC 方法所适用的样品为婴幼儿配方乳粉和相关营养品。

对于维生素 B<sub>2</sub> 检测前处理过程中, 最值得关注的

差异点为两种方法所使用的酶。国标方法采用了木瓜蛋白酶和高峰淀粉酶, AOAC 方法使用的是木瓜蛋白酶、 $\alpha$ -淀粉酶、以及酸性磷酸酶, AOAC 方法中有说明酸性磷酸酶的作用是水解蛋白质和复合碳水化合物, 并将磷酸结合态维生素转为游离态。其中酸性磷酸酶的有无为两种方法的关键差异点。为探究酸性磷酸酶的有无是否会显著影响实验结果, 本研究又继续设计了三轮对照实验。

#### 2.3.1 配方乳粉基质 AOAC 法酸性磷酸酶有无使用对照实验

第一轮实验为 AOAC 法酸性磷酸酶对照实验。完全按照 AOAC 实验方法对婴幼儿配方乳粉样品进行维生素 B<sub>2</sub> 的检测, 并将该组实验设置为参比组 (Reference Group); 不加酸性磷酸酶, 其余步骤按照 AOAC 实验方法进行, 该组实验设置为试验组 (Test Group)。实验结果如图 1 所示。

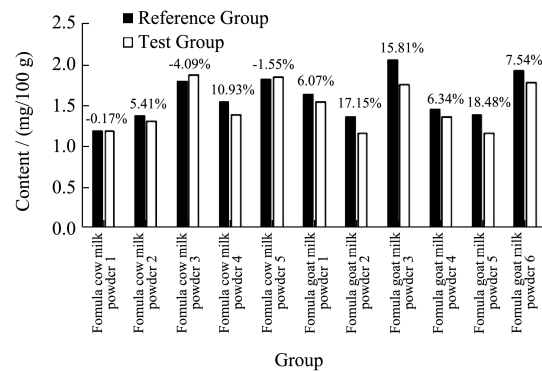


图 1 第一轮实验对比情况 ( $n=2$ )

Fig.1 Comparison of the first round of experiments ( $n=2$ )

注: 柱状图中百分数为参比组和试验组结果的相对偏差。

结果显示, 对婴幼儿配方牛奶粉 (Formula Cow Milk Powder), AOAC 方法是否添加酸性磷酸酶影响较小, 添加酸性磷酸酶和不添加酸性磷酸酶的维生素 B<sub>2</sub> 检测结果不具显著性差异 ( $p=0.57>0.05$ ), 而对于婴幼儿配方羊奶粉 (Formula Goat Milk Powder), 添加酸性磷酸酶维生素 B<sub>2</sub> 检测结果普遍高于未添加酸性磷酸酶的检测结果, 且差异显著 ( $p=0.00<0.05$ )。这表明婴幼儿配方羊奶粉 (Formula Goat Milk Powder) 可能有磷酸结合态维生素 B<sub>2</sub> 的存在。

#### 2.3.2 配方乳粉基质国标第一法酸性磷酸酶有无使用对照实验

第二轮实验为国标第一法酸性磷酸酶对照实验。完全按照 GB 第一法对婴幼儿配方乳粉样品进行维生素 B<sub>2</sub> 的检测, 并将该组实验设置为参比组 (Reference Group); 不加酸性磷酸酶, pH 调节为 4.0~4.5, 其余步骤按照国标第一法进行, 该组实验设置为试验组 1 (Test Group 1); 添加酸性磷酸酶, 其余步骤按照国

标第一法实验方法进行, 该组实验设置为试验组 2 (Test Group 2); 添加酸性磷酸酶, pH 值调节为 4.0~4.5, 其余步骤按照国标第一法实验方法进行, 该组实验设置为试验组 3 (Test Group 3)。实验结果如图 2 所示。

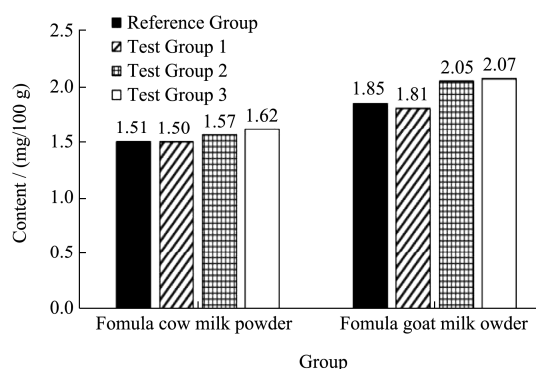


图 2 第二轮实验对比情况 ( $n=2$ )

Fig.2 Comparison of the second round of experiments ( $n=2$ )

结果显示, 对婴幼儿配方乳粉基质, 前处理酶解环境 pH 值在 4.0~4.5 之间和在 6.0~6.5 之间对于维生素 B<sub>2</sub> 的检测结果没有明显差异 (参比组和试验组 1, 试验组 2 和试验组 3), 在固定 pH 的情况下添加酸性磷酸酶, 对于婴幼儿配方牛奶粉而言, 维生素 B<sub>2</sub> 检测结果略微有提升, 而对于婴幼儿配方羊奶粉而言, 添加酸性磷酸酶的检测结果显示比不添加酸性磷酸酶的检测结果显示高出 11.87%。再次证明了乳粉基质中有磷酸结合态维生素 B<sub>2</sub> 的可能, 而且酸性磷酸酶在维生素 B<sub>2</sub> 的检测前处理过程中能够释放出该中状态的维生素 B<sub>2</sub>。

### 2.3.3 液态纯牛奶、纯羊奶 AOAC 法酸性磷酸酶有无使用对照实验

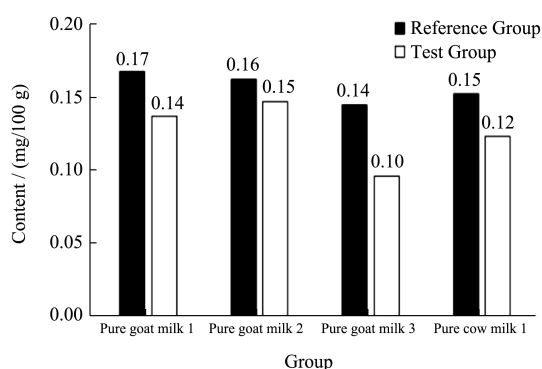


图 3 第三轮实验对比情况 ( $n=2$ )

Fig.3 Comparison of the third round of experiments ( $n=2$ )

考虑到婴幼儿配方乳粉中的维生素 B<sub>2</sub> 有在生产过程中进行强化的可能性, 第三轮实验将以液态纯牛奶 (Pure Cow Milk) 和液态纯羊奶 (Pure Goat Milk) 进行考察。本轮实验采用 AOAC 法为检测方法, 针对液态纯牛奶、液态纯羊奶进行实验, 以完全按照 AOAC 方法检测为参比组 (Reference Group), 不添加酸性磷

酸酶其余步骤完全按照 AOAC 方法检测为试验组 (Test Group), 实验结果如图 3 所示。

结果显示, 对于液态奶而言, 实验前处理过程中未添加酸性磷酸酶时维生素 B<sub>2</sub> 的检测结果显示低于添加了酸性磷酸酶的参比组, 而且两组数据存在显著性差异 ( $p=0.02 < 0.05$ ), 也就是说, 在未强化维生素 B<sub>2</sub> 的液态奶中, 前处理过程添加酸性磷酸酶能够显著提高维生素 B<sub>2</sub> 的检测结果显示, 也证明了液态奶中存在着磷酸结合态的维生素 B<sub>2</sub>, 且酸性磷酸酶在检测前处理过程中发挥了作用。

## 3 结论

本研究先后通过方法验证、精密度评估、显著性差异分析、TOST 检验等方式对 GB 5009.84-2016 第一法 (维生素 B<sub>1</sub>)、GB 5009.85-2016 第一法 (维生素 B<sub>2</sub>)、GB 5009.89-2016 第二法 (维生素 B<sub>3</sub>)、GB 5009.154-2016 第一法 (维生素 B<sub>6</sub>) 和 AOAC 2015.13 进行等效性分析, 分析结果表明: 就乳粉基质而言, 维生素 B<sub>1</sub> 的国标第一法与 AOAC 方法等效; 维生素 B<sub>2</sub> 的国标第一法与 AOAC 方法不等效; 维生素 B<sub>3</sub> 的国标第二法与 AOAC 方法等效, 但国标方法的精密度优于 AOAC 方法; 维生素 B<sub>6</sub> 的国标第一法与 AOAC 方法等效, 但 AOAC 方法的精密度优于国标方法。另外, 对于维生素 B<sub>2</sub> 而言, AOAC 2015.13 方法与 GB 5009.85-2016 第一法存在显著差异, 这体现在酸性磷酸酶这一变量上, 对于乳和乳粉样品, 存在磷酸结合态维生素 B<sub>2</sub>, 实验前处理过程中添加酸性磷酸酶可以释放出磷酸结合态维生素 B<sub>2</sub> 从而提升维生素 B<sub>2</sub> 的检测结果显示, 进而可以得到更接近真实的维生素 B<sub>2</sub> 含量结果。此外, 在研究过程中还发现采用超高效液相色谱串联质谱法检测乳粉中多种维生素有着更高的检测效率, 是乳粉检测值得发展的方向。

## 参考文献

- [1] AOAC official method 2015.14, Simultaneous Determination of Total Vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> and B<sub>6</sub> in Infant Formula and Related Nutritionals-Enzymatic Digestion and LC-MS/MS [S]
- [2] ISO 20635-2018, Infant Formula and Adult Nutritionals - Determination of Vitamin C by (ultra) High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection ((U)HPLC-UV) [S]
- [3] ISO 21468-2020, Infant Formula and Adult Nutritionals - Determination of Free and Total Choline and Free and Total Carnitine-Liquid Chromatography Tandem Mass

- Spectrometry (HPLC-MS/MS) [S]
- [4] GB 5009.84-2016, 食品安全国家标准 食品中维生素 B<sub>1</sub> 的测定[S]  
GB 5009.84-2016, National Food Safety Standard - Determination of Vitamin B<sub>1</sub> in Food [S]
- [5] GB 5009.85-2016, 食品安全国家标准 食品中维生素 B<sub>2</sub> 的测定[S]  
GB 5009.85-2016, National Food Safety Standard - Determination of Vitamin B<sub>2</sub> in Food [S]
- [6] GB 5413.18-2010, 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定[S]  
GB 5413.18-2010, National Food Safety Standard - Determination of Vitamin C in Infant Food and Dairy Products [S]
- [7] GB 5413.20-2013, 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定[S]  
GB 5413.20-2013, National Food Safety Standard - Determination of Choline in Infant Food and Dairy Products [S]
- [8] GB 29989-2013, 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定[S]  
GB 29989-2013, National Food Safety Standard - Determination of L-carnitine in Infant Food and Dairy Products [S]
- [9] 朱炜,吕宁,袁华强,等.婴幼儿配方食品中维生素 D 标准检验方法等效性评价研究[J].食品安全质量检测学报,2021, 12(4):1566-1573  
ZHU Wei, LYU Ning, YUAN Huaqiang, et al. Equivalence evaluation of standard testing methods for vitamin D in infant formula food [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(4): 1566-1573
- [10] RB/T 208-2016, 化学实验室内部质量控制比对试验[S]  
RB/T 208-2016, Internal Quality Control of Chemical Laboratory - Comparison Test [S]
- [11] 祝越美.基于双因素方差分析法探讨缺血性脑卒中患者颈动脉超声改变与舌象的相关性[D].长春:长春中医药大学,2018  
ZHU Yuemei. The discuss of the correlation between carotid ultrasonography and appearance of tongue in patients with ischemic stroke of two-way ANOVA [D]. Changchun: Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2018
- [12] 郑青山,何迎春,杨娟,等.药物相互作用分析与复方药效模拟:一个方法学研究[J].中国药理学通报,2007,8:1106-1112  
ZHENG Qingshan, HE Yingchun, YANG Juan, et al. Drug interaction analysis and compound pharmacodynamics simulation: a methodological study [J]. China Pharmacol Bull, 2007, 8: 1106-1112
- [13] 孙卫民,孙瑞元.生物利用度等效的双向单侧 t 检验计算简法[J].中国临床药理学与治疗学杂志,1997,4:279-282  
SUN Weimin, SUN Ruiyuan. A simple calculation method of two-way one-sided t-test for bioavailability equivalence [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 1997, 4: 279-282
- [14] Guidelines on Method Validation to be Performed in Support of Analytical Methods for Agrochemical Formulations [M]. Cambridge, UK: Black Bear Press. Collaborative International Pesticide Analytical Council, 2003[2003-07-28]. <https://cipac.org/images/pdf/validat.pdf>
- [15] GB 5009.89-2016, 食品安全国家标准 食品中烟酸和烟酰胺的测定[S]  
GB 5009.89-2016, National Food Safety Standard - Determination of Niacin and Nicotinamide in Food [S]
- [16] GB 5009.154-2016, 食品安全国家标准 食品中维生素 B<sub>6</sub> 的测定[S]  
GB 5009.154-2016, National Food Safety Standard - Determination of Vitamin B<sub>6</sub> in Food [S]