

柱前衍生-高效液相色谱-荧光法测定乳制品中左旋肉碱含量

李红艳, 陈小珍, 张水锋, 赵素华, 邵亮亮, 张东雷

(浙江省质量检测科学研究院, 浙江省食品质量安全检测院, 浙江杭州 310013)

摘要: 本文研究了柱前衍生-高效液相色谱(HPLC)-荧光检测技术测定乳制品中左旋肉碱(L-肉碱)含量的分析方法。经优化后的前处理条件为: 提取液采用 10% (V/V) 甲醇水溶液(经磷酸调节 pH 至 2.7~2.8), 经超声提取 20 min 过滤后调节 pH 至 6.0, 取一定滤液加热浓缩近干, 用 20 mL 乙醇溶解。经重复两次高速离心(12000 r/min、5 min)、旋转蒸发浓缩后, 残留物用乙醇溶解, 以 L-丙酰胺- β -萘胺为衍生化试剂于 50 °C 恒温衍生 5 min 后终止反应, 于激发波长 280 nm、发射波长 328 nm 下经 HPLC 分析测定。乳粉检出限为 4.0 mg/kg, 液体乳检出限 0.5 mg/kg、0.2~20.0 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数 0.9990, 平均回收率为 80~90%, 相对标准偏差 RSD 小于 10%。同时, 利用该方法对不同配方奶粉及液体乳中 L-肉碱进行了含量测定。该方法灵敏度高, 准确性好, 适用于乳制品中 L-肉碱的含量测定。

关键词: L-肉碱; 高效液相; 荧光检测; 柱前衍生; 乳制品

文章编号: 1673-9078(2013)9-2300-2305

Determination of L-carnitine in Milk Products by HPLC -fluorescence Detection with Pre-column Derivatization

LI Hong-yan, CHEN Xiao-zhen, ZHANG Shui-feng, ZHAO Su-hua, SHAO Liang-liang ZHANG Dong-lei
(Zhejiang Quality Inspection Institute of Science, Zhejiang Test Academy of Food Quality and Safety, Hangzhou 310013, China)

Abstract: A method was developed for determination of L-carnitine in milk products by high performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection, with a procedure of pre-column derivatization. The sample testing conditions were optimized. And the results were satisfied at the conditions with the methanol volume ratio at 10%, pH 2.7~2.8 (adjusted with phosphoric acid), and ultrasonic extraction time of 20 min. The extraction solution was adjusted to pH 6.0, and then evaporated to near dryness. The obtained residue was resolved with 20 mL alcohol followed by a step of centrifugal at 12000 r/min for 5 minutes, and then the obtained upper clear liquid was rotated to near dryness by rotary evaporator. At last, the L-carnitine in the obtained residues was derived with L-Alanine- β -naphthylamide at the optimum conditions with the reaction time of 5 min and temperature of 50 °C. Then the compound was detected with the excitation wavelength at 280 nm and emission wavelength at 328 nm. And the method parameters were obtained with the limit of quantification of 4.0 mg/kg in milk powder and 0.5 mg/kg in milk. The linear in the range, correlation and the average spiked recoveries were of 0.2~20.0 mg/L, 0.9990, and 80~90%, respectively, with RSD less than 10%. The developed method can be used for determination of L-carnitine in different formulas and milk.

Key words: L-carnitine; HPLC; fluorescence detection; pre-column derivatization; milk products

左旋肉碱(L-carnitine, L-肉碱)又称肉毒碱或维生素 BT, 是一种类氨基酸, 具有促进脂肪代谢、提高机体耐受力及免疫力以及延缓衰老等功能, L-肉碱缺乏时将干扰脂肪酸的代谢导致能量合成不足, 出

收稿日期: 2013-05-29

基金项目: 浙江省质量技术监督局定向委托项目 (No.20100401)

作者简介: 李红艳 (1982-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向为色谱分析

通讯作者: 陈小珍 (1960-), 女, 教授级高级工程师, 研究方向为食品检测与分析工作

现易疲劳、肌肉无力、心慌等症状, 严重者出现代谢紊乱、昏迷甚至死亡。在婴幼儿方面, L-肉碱具有维持生命及参与生酮、蛋白质代谢等生理功能^[1-2]。目前作为营养强化剂广泛应用于食品、保健品及临床医疗等领域, 并已被瑞士、法国、美国和世界卫生组织规定法定的多用途营养剂。国家强制性标准 GB 14880-2012 将 L-肉碱列为营养强化剂规定在调制乳粉中添加量为 300 mg/kg~400 mg/kg (其中儿童调制乳粉 50 mg~150 mg/kg)^[3], 全球已有 22 个国家和地区

在婴幼儿乳粉中添加 L-肉碱。

目前,国内外关于 L-肉碱的检测方法主要有液相色谱-紫外、离子色谱、分光光度法、液相色谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)^[1-2,4-8]等。对乳制品中 L-肉碱测定方法也有相关研究报道^[1-2,7,9],其中分光光度法分析时间长(需过夜酶解)、检出限高^[1],质谱联用仪器成本高^[9],且与分光光度法、色谱法^[2]相比在 L-肉碱检测灵敏度方面优势不显著。以 L-丙酰胺- β -萘胺为衍生剂通过柱前衍生对肉碱纯品及保健品中 L-肉碱含量测定的研究,现有相关报道^[6,8],均采用 HPLC-紫外分析方法,该方法易于操作、可行。本文以 L-丙酰胺- β -萘胺为衍生试剂、氯甲酸丁酯为催化剂,通过样品前处理条件和衍生条件的优化,建立了适用于乳制品中左旋肉碱含量测定的 HPLC-荧光分析方法。运用该方法,本文对不同配方奶粉及液体乳等实际样品进行了 L-肉碱含量测定。该方法目前还没有相关应用报道,且与紫外检测相比,具有灵敏度高、准确性好等优点。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 液相色谱仪,美国 Waters 公司;配 DAD 2996 和荧光 2475 串联检测器;Biofuge Stratos 高速冷冻离心机,美国 Thermo-Heraeus 公司;DS-3510DTH 超声仪清洗器,上海生析超声仪器有限公司;BUCHI Recirculating Chiller B740 旋转蒸发仪,瑞士 BUCHI 公司;Milli-Q 超纯水仪,美国 Millipore 公司。

左旋肉碱标准品:Dr.Ehrenstorfer GmbH,纯度 99.0%。

L-丙酰胺- β -萘胺(L-Ala- β -NA)(分析纯, sigma);乙腈(色谱纯,美国天地)、四氢呋喃(色谱纯,天津四友);氯甲酸丁酯(分析纯,阿拉丁);无水乙醇、三氯甲烷、磷酸二氢钾、磷酸、三乙胺、碳酸氢钠(分析纯,国药集团)。

1.2 方法

1.2.1 提取

称取样品(乳粉 5 g,液体乳 10 g)于 150 mL 三角瓶中,加入提取液 30 mL,摇匀溶解,超声提取 20 min,转入 50 mL 容量瓶中,用提取液多次洗涤三角瓶合并转入容量瓶,定容到刻度,摇匀。

将上述定容液用定量滤纸过滤,收集滤液。移取滤液 20 mL 用 5 mmol/L NaOH 调节 pH 至 6.0 \pm 0.1,用

水定容至 25 mL。

1.2.2 衍生

移取滤液(乳粉 5.0 mL,液体乳 10.0 mL)于 100 mL 烧杯中,置于电炉上加热至近干(剩余 2~3 滴),用 20 mL 无水乙醇分三次漩涡超声溶解,合并转移至 50 mL 高速离心管中,12000 r/min 高速离心 5 min。将上清液转入到 100 mL 鸡心烧瓶中,45 $^{\circ}$ C 旋转浓缩至近干。由于样品中含有较高糖分,经旋转蒸发后,粘附于烧瓶内壁。按以下步骤操作:向浓缩后的烧瓶中加入约 10 mL 无水乙醇,置于超声波中,边超声边旋转烧瓶,超声 2 min。将乳白色溶液再次转入 50 mL 高速离心管中,12000 r/min 高速离心 5 min 后将上清液转入到 100 mL 鸡心烧瓶中,45 $^{\circ}$ C 旋转浓缩至近干。

向鸡心烧瓶中加入无水乙醇 0.5 mL,并分别加入 0.5 mL 6 g/L 氯甲酸丁酯三氯甲烷溶液、0.5 mL 5 g/L 三乙胺三氯甲烷溶液、0.5 mL 4.5 g/L L-丙酰胺- β -萘胺乙醇溶液,漩涡混匀后放置于 50 $^{\circ}$ C 恒温放置 5 min,取出后加入 5 mL 50 mmol/L 碳酸氢钠水溶液终止反应,振荡提取 5 min 后静置 1 min,移取上层于容量瓶(乳粉 10 mL,液体乳 5 mL)中,重复提取 3 次,合并,定容至刻度。漩涡 2 min 后 14000 r/min 离心 1 min,取上清液于过膜上机分析。

1.3 测定

1.3.1 色谱条件

色谱柱:Waters XBridgeTM C18 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈:四氢呋喃:50 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液(pH 2.8)=8:7:85;流速:1.0 mL/min;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L。荧光检测波长:激发波长 280 nm、发射波长 328 nm。

1.3.2 标准溶液配制

准确称取 10.0 mg(精确到 0.0001 g)左旋肉碱于 10 mL 容量瓶,无水乙醇溶解并定容,配制成 1.0 mg/mL 标准储备液,储存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱,可保存 6 个月。

2 结果与讨论

2.1 方法可行性分析

以 L-Ala- β -NA 为衍生试剂对肉碱纯品、保健品中 L-肉碱测定的应用研究已有相关报道,但对乳制品中 L-肉碱测定研究还没见报道。本文重在开发基于液相色谱分析、适用于乳制品中 L-肉碱的提取、衍生方法。L-肉碱属于强极性水溶性化合物,经提取后转化为无水乙醇基质以待衍生,从而也确保了该方法的可行性。衍生反应原理见图 1^[6]:



图1 L-肉碱与L-Ala-β-NA反应原理

Fig.1 Reaction principle of L-carnitine and L-Ala-β-NA

2.2 检测波长的选择

本研究同时采用紫外(最大吸收波长 244 nm)和荧光检测两种分析手段进行比较,通过激发波长和发射波长全扫描,选择激发波长 280 nm、发射波长 328 nm。经两种检测手段比较发现,荧光最低检测浓度为 0.1 mg/L,显著优于紫外检测 0.5 mg/L。

2.3 衍生条件的选择与优化

2.3.1 衍生温度和时间

祝伟霞等曾研究报道过室温 20 °C 条件下衍生时间对 D/L 肉碱反应转化率的影响,表明反应 60 min 时转化率最高^[1]。由于衍生时间长,本实验对衍生条件作了优化研究,进一步比较了 30 °C~100 °C 条件下 90 min 内 L-肉碱反应转化率的影响。以添加衍生试剂后混匀即加入碳酸氢钠溶液终止反应作为 0 点, L-肉碱反应转化率为 50~60%; 30 °C~40 °C 反应 10 min 以上时,反应转化率达 90% 以上; 50 °C~100 °C 反应 5 min 时基本反应完全,且 90 min 内衍生产物稳定,其中反应温度 100 °C 时 40 min 后衍生试剂完全挥发但未影响衍生产物的含量和稳定。为了便于控制衍生过程并缩短衍生时间,选择 50 °C 条件下衍生 5 min 作为最终衍生条件。

2.3.2 衍生试剂浓度

关于衍生试剂浓度的影响及衍生物的稳定性, Kagawa M 等已做过相关研究^[8]。但本实验采用氯甲酸丁酯为衍生催化剂,不同于 Kagawa M 等的氯甲酸乙酯,因此比较了三种衍生试剂浓度对 L-肉碱转化率的影响,发现添加量均为 0.5 mL,三乙胺三氯甲烷溶液 5 g/L、L-Ala-β-NA 乙醇溶液 4.5 g/L (二者浓度与 Kagawa M 等的研究结果同)、氯甲酸丁酯三氯甲烷溶液浓度 6 g/L 时, L-肉碱反应转化率最高,衍生副产物最小。

2.4 样品前处理条件的优化

2.4.1 提取液的选择

L-肉碱极性较强,易溶于水和无水乙醇。对于乳制品中水溶性物质提取多采取酸沉淀蛋白,如水溶性维生素 B 族的提取。本方法考察了采用国家标准 GB 5412.13 维生素 B₆、GB 5412.15 维生素 B₃^[10-11]提取方法,并和 20% (V/V) 乙醇水溶液(磷酸调 pH 2.7~2.8,

pH≥3 时蛋白沉淀效果下降)进行了提取效果比较,结果表明,以后者提取衍生后得到的 L-肉碱含量是前者的 1.5~2 倍。一方面是由于两种提取方法得到的样品滤液 pH 不同(前者 4.5, 后者 5.0),另外磷酸在酸沉蛋白、对 L-肉碱衍生效果方面优于盐酸。

2.4.2 不同有机溶剂对提取效率的影响

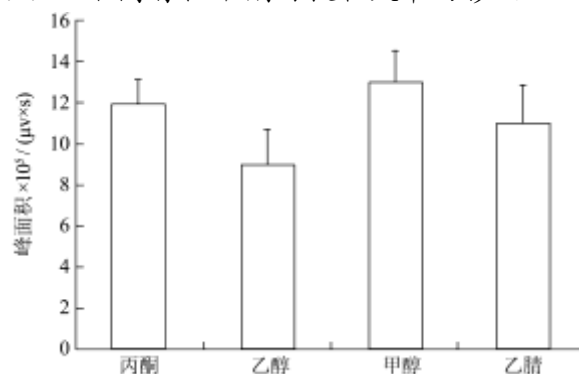


图2 四种有机溶剂对L-肉碱提取效率(峰面积)的影响

Fig.2 Effect of 4 kinds of organic solvents on the extraction efficiency of L-carnitine

根据 2.4.1 提取液种类对提取效率的影响,本部分进一步讨论四种不同有机溶剂乙醇、甲醇、乙醇、丙酮对肉碱提取效率的影响。将以上四种有机溶剂配制成 20% (V/V) 水溶液,并分别用磷酸调 pH 至 2.7~2.8,比较了四种有机溶剂在对奶粉样品中 L-肉碱提取效果的影响。结果如图 2 所示,甲醇、丙酮对 L-肉碱提取效率均具有显著效果。由于肉碱极性较强,易溶于水,作为强极性试剂甲醇优势明显, L-肉碱测得含量最高。

2.4.3 不同甲醇比例对提取效率的影响

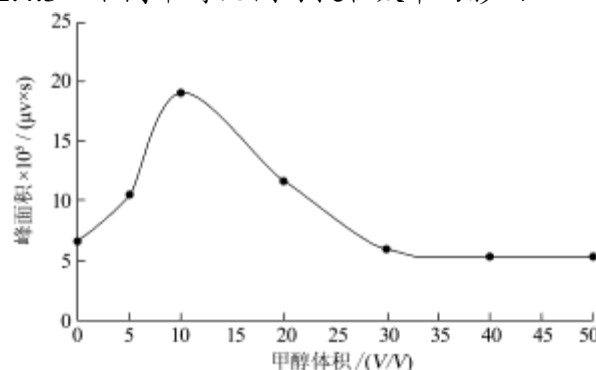


图3 甲醇体积对提取效率的影响

Fig.3 Effect of methanol proportion on the extraction efficiency of L-carnitine

为了系统考察甲醇比例 (V/V) 对 L-肉碱提取效率的影响,选择 0、5、10、20、30、40、50% (V/V) 七个不同比例,除 0 点外,其余比例均经磷酸调 pH 2.7~2.8。按 1.4 步骤进行处理。由于 pH 2.7~2.8 磷酸水溶液(不含甲醇)不能沉淀蛋白,参考 GB 5413.15

前处理。结果表明,不同甲醇比例对L-肉碱提取效率影响较大(提取效果以L-肉碱峰面积表示),甲醇比例大于10%/(V/V)时,随着甲醇比例的增加,极性增大,测得的L-肉碱含量反而降低。甲醇比例10%/(V/V)时,L-肉碱测得含量最高,因此作为乳制品中L-肉碱的提取溶液。见图3。

2.4.4 不同酸调节剂对提取效率的影响

由于L-肉碱是一种类氨基酸,不同酸调节剂对其提取效率会产生较大差别。本部分选择强酸磷酸、盐酸、高氯酸以及弱酸甲酸、乙酸,考察了不同酸调节剂对乳制品中L-肉碱提取效率的影响。以10%/(V/V)甲醇水溶液为提取液,分别由磷酸、高氯酸调节pH 2.7~2.8,其余步骤同1.4;由于甲酸、乙酸、盐酸在pH 2.7~2.8时不能沉淀蛋白,参考GB 5413.15前处理。结果发现,提取液经弱酸甲酸和乙酸调节pH后对乳制品进行提取衍生后,结果均未检出L-肉碱。主要原因是由于乙酸盐及甲酸盐中-COOH与L-肉碱中-COOH在与L-Ala-β-NA中氨基-NH₂衍生时可能存在竞争作用,从而导致结果未检出。三种强酸中,磷酸在酸解蛋白方面优势显著,另外,磷酸缓冲盐对L-肉碱衍生过程中影响小,对衍生化无干扰作用。因此,本实验最终采用磷酸作为酸度调节剂。

2.4.5 超声提取时间对提取效率的影响

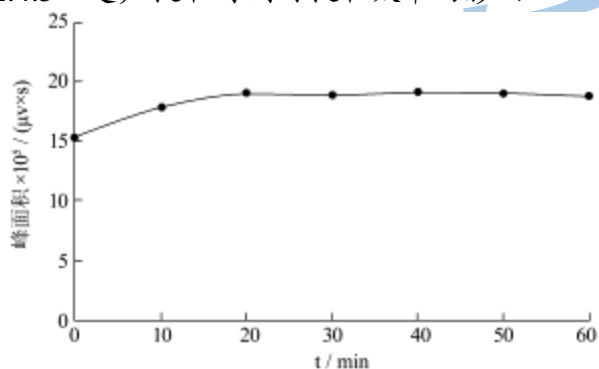


图4 超声时间对提取效率的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic time on the extraction efficiency of L-carnitine

称取等份的奶粉样品,分别加入10%/(V/V)甲醇水溶液(磷酸调节pH 2.7~2.8)作为提取液,经过不同时间(0~60 min)的超声提取,考察超声时间对L-肉碱提取效率的影响。结果如图4所示,超声时间20 min时,能够达到L-肉碱充分提取,从而作为本实验最佳提取时间。

2.4.6 提取液 pH 对衍生效果的影响

本研究为了考察基质pH对L-肉碱衍生化的影响,以10%/(V/V)甲醇水(磷酸调至pH 2.7~2.8)提取后,经1.4.1得到的滤液分别用5 mmol/L NaOH溶液

和5 mmol/L HCl溶液调节pH 2.0~9.0,通过响应峰面积考察衍生效果。结果表明,滤液pH≤3时,无衍生产物;滤液为6.0时,L-肉碱衍生产物最高;滤液pH>6时,随着pH值的增大测得L-肉碱衍生产物降低。由于乳制品样品基质复杂,在不同pH条件下,某些极性物质可能对L-肉碱衍生化产生不同程度的影响,从而影响了L-肉碱衍生效果。见图5。

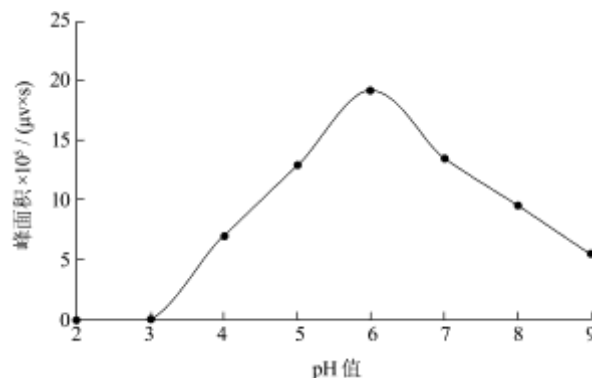


图5 提取液 pH 对衍生效率的影响

Fig.5 Effect of pH of stroma on the derivatization efficiency of L-carnitine

2.5 方法学考察

2.5.1 校正曲线、线性范围及检出限

按照1.4.2对标样进行衍生。将衍生后的标样萃取后分别定容5.0 mL,理论浓度分别为0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、10.0、20.0、40.0 mg/L。L-肉碱校正曲线 $y=5.53e+005x-2.39e+005$,相关系数0.9990,线性范围为0.2~20.0 mg/L。按照3倍信噪比(S/N)计算标样最低检出浓度为0.1 mg/L。

2.5.2 回收率及精密度

表1 基质加标回收率及精密度测定 (n=5)

Table 1 Spiked recoveries and accuracy

Compound	Background / (10 ⁻² mg/g)	Spiked / (10 ⁻² mg/g)	Found / (10 ⁻² mg/g)	Average Recovery / %	RSD / %
Milk powder	5.13	5.00	9.15	80.90	9.32
		10.00	13.91	87.80	4.70
		15.00	18.07	86.27	4.54
milk	0.22	0.20	0.38	81.82	5.87
		0.40	0.59	86.36	6.24
		0.60	0.78	81.82	3.51

本部分采用阳性样品加标,根据测得本底样品中L-肉碱含量,添加量为本底含量的1~3倍,按照样品处理方法提取、衍生。乳制品样品中L-肉碱加标回收率及精密度(以相对标准偏差RSD计)测定结果见表1。按照3倍信噪比(S/N)计算样品中最低检出限为:乳粉4.0 mg/kg,液体乳0.5 mg/kg。结果表明,L-肉

碱的加标回收率为 80~90%，RSD 小于 10%。标样谱图及样品谱图见图 6a 和 6b。

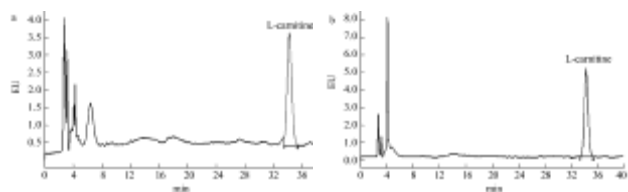


图 6 样品谱图 (a) 和标样谱图 (b)

Fig.6 Chromatographies of sample (a) and standard (b)

2.6 乳制品样品分析

Woollard D C 等 (1999) 采用酶法测得奶粉 (来源: 澳大利亚) 中自由肉碱含量为 0.12~0.16 mg/g, 牛初乳、过渡乳及成熟乳中自由肉碱含量为

表 2 乳粉样品中 L-肉碱含量 (测定值/标示值, $\times 10^{-2}$ mg/g 样品)

Compound	Infant milk powder						Modified milk powder			
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]	10 [#]
L-carnitine	9.03 \geq 6.5	10.11 \geq 8.8	9.42 \geq 6.0	7.74 \geq 6.0	8.79 \geq 7.8	9.80 \geq 7.2	7.36/5	5.73	6.02	4.64

注: Infant milk powder 1#,2#: 1 段 (0~6 个月); 3#,4#: 2 段 (6~12 个月); 5#,6#: 3 段 (1~3 岁); 7#,8#: 4 段 (3~6 岁); 9#: 准妈妈奶粉 2 段: 4~8 个月婴儿; 10#: 孕妈妈奶粉, 0 胎后期。样品 8#, 9#, 10#: 产品营养标签中未标示 L-肉碱含量。

表 3 液体乳样品中 L-肉碱含量 (测定值, $\times 10^{-2}$ mg/g 样品)

Compound	milk						
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]
L-carnitine	0.15	0.12	2.41	1.93	0.41	0.44	1.90

注: 1[#]、2[#]: Yogurt, fermented milk; 3[#]、4[#]: fresh milk, Pasteurized milk; 5[#]、6[#]: modified milk; 7[#]: pure milk。

3 结论

3.1 本文通过比较不同提取液、有机溶剂、甲醇比例、酸调节剂以及超声时间对 L-肉碱提取效果的影响, 发现不同提取液及有机溶剂种类对 L-肉碱提取效率有较大影响, 由于 L-肉碱极性较强, 随着甲醇比例的增大, L-肉碱提取效率降低; 不同种类酸调节剂主要对 L-肉碱后期衍生效率产生影响, 磷酸沉淀蛋白效果显著, 并对衍生化无影响; 通过超声时间的比较, 发现超声时间为 20 min 时基本达到提取完全。经提取条件优化, 确定以 10% (V/V) 甲醇水溶液 (经磷酸调节 pH 至 2.7~2.8) 为提取液, 超声提取 20 min 为乳制品中 L-肉碱提取条件。

3.2 通过不同衍生温度和时间的比较, 结果表明, 50 °C~100 °C 温度条件下衍生反应 5 min 时, 基本上反应完全, 且衍生产物 90 min 内稳定, 为提高衍生效率, 本文选择 50 °C 衍生 5 min 为最终衍生条件。另外, 本

1.22~3.12 $\times 10^{-2}$ mg/g^[12]。利用上述方法, 本文对国内市场上婴幼儿奶粉 4 个阶段 8 个样品、2 个孕妇奶粉样品及 7 个液体乳进行了 L-肉碱含量测定, 结果如表 2 和 3 所示。由于牛奶中含有天然 L-肉碱, 本部分测得的乳粉样品中 L-肉碱含量比标示值高, 标签中未标示的部分乳粉样品检出 L-肉碱。对液体乳检测中发现, 所检液体乳中均含有 L-肉碱, 且所选的两种鲜牛奶及纯牛奶中含量最高, 调制乳次之, 发酵乳含量相对较低。Demarquoy J 等 (2004)^[8] 利用放射性同位素对牛奶中 L-肉碱进行了含量测定, 测得 2% 脂肪的牛奶中含量为 2.9 $\times 10^{-2}$ mg/g, 含脂肪 4% 的牛奶中含量为 2.3 $\times 10^{-2}$ mg/g, 与本方法测得的鲜牛奶中含量水平一致 (3[#]、4[#] milk 样品, 脂肪 \geq 3%)。

文研究了不同基质 pH 对衍生效率的影响, 结果发现基质 pH \leq 3 时无衍生产物, pH 为 6.0 时衍生产物最高, 随着 pH 的增大, 衍生产物降低。

3.3 基于上述提取条件及衍生条件, 本文对不同配方奶粉及液体乳进行了 L-肉碱含量测定, 由于牛奶中含有天然 L-肉碱, 某些标签中未标示添加 L-肉碱的乳粉中有检出, 标签中明示标注的乳粉中 L-肉碱测得值符合标示值要求, 液体乳中 L-肉碱测得值基本与文献报道一致。

参考文献

[1] 王天西,熊文明,林梦勇.分光光度法测定乳粉中左旋肉碱含量[J].福建分析测试,2012,1(24):52-56
Wang T X, Xiong W M, Lin M Y. Determination of L-carnitine Content in Milk Powder with Spectrophotometry [J]. Fujian Analysis & Testing, 2012, 1(24):52-56

[2] 钟新林,陈军,余彦海.在线固相萃取非抑制离子色谱法测定奶粉中左旋肉碱[J].中国无机分析化学,2012,2:71-74
Zhong X L, Chen J, Yu Y H. Determination of L-carnitine in milk powder with on-line solid phase extraction by suppressed ion chromatography [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2012, 2: 71-74

[3] GB 14880-2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准[S]

- GB 14880-2012. National Food Safety Standard Standard for the use of nutritional fortification substances in foods [S].
- [4] Vernez L, Hopfgartner G, Wenk M, et al. Determination of carnitine and acylcarnitines in urine by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization ion trap tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2003,984: 203-213
- [5] Freimuller S, Altorfer H. A chiral HPLC method for the determination of low amounts of D-carnitine in L-carnitine after derivatization with (+)-FLEC [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002, 2 (30): 209-218
- [6] Kagawa M, Machida Y, Nishi H. Enantiomeric purity determination of acetyl-L-carnitine by reversed-phase high-performance liquid chromatography using chiral derivatization [J]. *Journal of Chromatography A*, 1999, 857: 127-135
- [7] 竺琴,苏流坤,郑家概,等.液相色谱-质谱联用测定婴幼儿配方奶粉中的左旋肉碱[J].*分析测试学报*,2012,31(3): 355-358.
- Zhu Q, Su L K, Zheng J K, et al. Determination of L-Carnitine in Infant Formula Milk Powder by High-performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2012, 31(3):355-358
- [8] 祝伟霞,杨冀州,刘亚风,等.保健品中左旋肉碱的反相高效液相色谱法测定[J].*分析测试学报*,2008,27(10):1124-1127
- Zhu W X, Yang J Z, Liu Y F, et al. Determination of L-Carnitine Content in Health Products by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2008, 27(10): 1124-1127
- [9] Demarquoy J, Georges B, Rigault C, et al. Radioisotopic determination of L-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries [J]. *Food Chemistry*, 2004, 86: 137-142
- [10] GB 5413.15-2010.食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中烟酸和烟酰胺的测定[S]
- GB 5413.15-2010. National Food Safety Standard Determination of vitamin niacin and niacinamide in foods for infants and young children milk and milk products [S]
- [11] GB 5413.13-2010.食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 B6 的测定[S]
- GB 5413. 13-2010. National Food Safety Standard Determination of vitamin B6 in foods for infants and young children milk and milk products [S]
- [12] Woollard D C, Indyk H E, Woollard G A. Carnitine in milk: a survey of content, distribution and temporal variation [J]. *Food Chemistry*, 1999, 66: 121-127

欢迎订阅 EI 收录期刊、中文核心期刊 《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 15 元，全年 12 期仅 180 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿或建立广告宣传和产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学轻工与食品学院麟鸿楼 508，邮编：510640

电话：020-87112373, 87113352, 87112532

E-mail: xdspkj9@qq.com