

特殊医学用途全营养配方食品中 β -羟基- β -甲基丁酸钙的含量测定

杨涛¹, 滕丕合^{2*}, 米运宏², 陆业活², 邓爱婕², 原亚梅², 韦伟宁²

(1. 广西民族师范学院化学与生物工程学院, 崇左 532200;

2. 广西弘山堂生物科技有限公司, 南宁 530032)

摘要: **目的** 通过优化样品前处理和色谱条件, 建立高效液相色谱-紫外检测法测定特殊医学用途全营养配方食品中 β -羟基- β -甲基丁酸钙含量的分析方法。**方法** 样品用0.1 mol/L的盐酸溶液提取, 经离心、上清液过滤后, 以0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 3.0)-乙腈(95:5)为流动相, 采用Caprisil C₁₈-P色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)分离, 紫外检测器检测, 外标法定量。**结果** β -羟基- β -甲基丁酸钙在0.0947~0.9474 mg/L的质量浓度范围内与峰面积呈现良好的线性关系, 决定系数 r^2 为0.9997, 定量限为0.28 μ g/g, 检出限为0.09 μ g/g。加标回收率在97.08%~101.22%之间, 相对标准偏差为1.20%。**结论** 该方法操作简单、重复性好、结果可靠, 可满足特殊医学用途全营养配方食品中 β -羟基- β -甲基丁酸钙的含量测定, 为产品的质量控制提供有力的技术支撑, 并填补国内特殊医学用途配方食品关于 β -羟基- β -甲基丁酸钙质量检测的空白。

关键词: 特殊医学用途全营养配方食品; β -羟基- β -甲基丁酸钙; 外标法; 质量控制

Determination of calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate in whole nutritional formula foods for special medical purposes

YANG Tao¹, TENG Pi-He^{2*}, MI Yun-Hong², LU Ye-Huo², DENG Ai-Jie²,
YUAN Ya-Mei², WEI Wei-Ning²

(1. College of Chemical and Biomedical Engineering, Guangxi Normal University for Nationalities, Chongzuo 532200, China; 2. Guangxi Hongshantang Biotechnology Co., Ltd., Nanning 530032, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate in whole nutritional food for special medical purposes by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection using optimized sample pretreatment and chromatographic conditions. **Methods** Samples were extracted by 0.1 mol/L HCl solution. After centrifugation and filtration, the separation of β -hydroxy- β -methylbutyrate was performed on a Caprisil C₁₈-P column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) with 0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate (pH 3.0)-acetonitrile (95:5) as the mobile phase and quantitated by external standard method with ultraviolet detector. **Results** A good linear relationship ($r^2=0.9997$) was observed with concentration ranging from 0.0947

基金项目: 南宁市科技型中小企业技术创新资金项目(20186226)

Fund: Supported by the Nanning Technological Innovation Fund Project for Small and Medium-Sized Enterprises (20186226)

*通信作者: 滕丕合, 工程师, 主要研究方向为食品研发、食品检测。E-mail: 156478799@qq.com

*Corresponding author: TENG Pi-He, Engineer, Guangxi Hongshantang Biotechnology Co., Ltd., No.88, Gaoling Road, Jiangnan District, Nanning 530032, China. E-mail: 156478799@qq.com

to 0.9474 mg/mL, the limit of quantification was 0.28 μ g/g, and the limit of detection was 0.09 μ g/g. The recoveries of the spiked samples were from 97.08% to 101.22%, the relative standard deviation was 1.20%. **Conclusion** The method has the advantages of simple, accurate and precise, which can meet the determination of β -hydroxy- β -methylbutyrate in whole nutritional formula foods for special medical purposes, provide technical support for the quality control of the product, and also fill the blank of quality detection of β -hydroxy- β -methylbutyrate in foods for special medical purposes in China.

KEY WORDS: whole nutritional formula foods for special medical purposes; β -hydroxy- β -methylbutyrate; external standard method; quality control

0 引言

特殊医学用途配方食品是指为了满足进食受限、消化吸收障碍、代谢紊乱或特定疾病状态人群对营养素或膳食的特殊需要,专门加工配制而成的配方食品^[1-2]。GB 29922—2013《特殊医学用途配方食品通则》将特殊医学用途配方食品分为3类,即全营养配方食品、特定全营养配方食品和非全营养配方食品^[3-4],该类食品必须在医师或临床营养师指导下,单独食用或与其他食品配合食用。其中特殊医学用途全营养配方食品可作为单一营养来源满足目标人群的营养需求^[5-6],其对于改善患者营养状态、提高疾病康复速度、减少营养不良导致的并发症具有重要的临床意义^[7-8]。

β -羟基- β -甲基丁酸(β -hydroxy- β -methylbutyrate, HMB)是一个含五碳的有机酸,是亮氨酸在体内通过其代谢产物 α -酮异己酸产生的一种衍生物,由NISSEN等^[9]在1988年首次发现。HMB具有减少肌肉损伤、促进蛋白质合成、维护细胞膜完整性和增强机体免疫等生物学功能^[10-12]。由于HMB性质活泼,在工业化生产中HMB通常转化成为钙盐即 β -羟基- β -甲基丁酸钙(calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate, CaHMB),以便于储存和使用^[13]。由于能够促进动物生长性能改善和骨骼肌生长,CaHMB在我国最早应用于饲料领域,随着众多毒理学和人群试食实验结果证实了其安全性,1995年CaHMB被美国食品药品监督管理局确定为一般公认安全物质^[14-19]。2011年中国卫生部批准CaHMB作为新资源食品用于特殊医学用途配方食品和运动营养食品中,每日摄入量不超过3 g^[20]。2017年CaHMB的使用范围扩大到饮料类、乳及乳制品、可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果、烘焙食品、特殊膳食食品中。

近年来,CaHMB在特殊医学用途配方食品中的应用逐渐增多,引起了质量监督部门的极大重视,急需对其质量进行控制,但目前并无相应的国家标准,也无文献进行报道,已发表的关于CaHMB的检测主要针对人体尿液样本,检测方法有气相色谱法、气相色谱-串联质谱法和高效

液相色谱法^[21-23]。气相色谱法操作快速,成本较低,但样品前处理过程要求较高,必须进行衍生化处理,气相色谱-串联质谱法灵敏度高,定量准确,但是成本较高,一般的生产企业很难负担。高效液相色谱法无需对样品进行衍生化,前处理简单且成本较低,能够减缓企业负担。针对特殊医学用途全营养配方食品配方复杂、组织状态多样,所添加CaHMB含量低的特点,本研究建立了一种简单、直接的高效液相色谱法测定该类食品中CaHMB的含量,以期特殊医学用途配方食品行业提供一定的技术参考,指导生产企业对产品的质量进行控制,也为政府监督部门提供有力的技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

CaHMB标准品(纯度 $\geq 97.0\%$,百灵威科技有限公司);乙腈(色谱纯,美国Sigma公司);磷酸二氢钾、磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);盐酸(分析纯,广州化学试剂厂);有机微孔滤膜(0.22 μ m,天津津腾实验设备有限公司);实验用水(瓶装纯净水,浙江娃哈哈公司);实验用特殊医学用途全营养配方食品来源于本公司研发设计。

UltiMate 3000 高效液相色谱仪:配有可变波长紫外检测器及Chromeleon7数据处理系统(美国赛默飞世尔科技有限公司);UV-2600i型紫外-可见分光光度计、AUW220D型万分之一电子天平(日本岛津公司);MS3型涡旋振荡器(德国IKA公司);H1850型高速台式离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);PHS-3E型pH计(上海仪电科学仪器有限公司);Caprisil C₁₈-P色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)(美国Morchem公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

准确称取CaHMB 100 mg(精确到0.1 mg),用0.1 mol/L的盐酸溶液溶解,定容至100 mL的容量瓶中,配制1.0 mg/L

的标准储备液, 于 4℃冰箱中保存, 有效期 3 个月。分别准确吸取标准储备溶液 1、2、4、6、8 mL, 于 10 mL 容量瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸溶液定容至刻度, 得到质量浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mg/L 的系列标准工作液。

1.2.2 样品前处理

称取混合均匀的特殊医学用途全营养配方食品试样 2.0 g (精确到 0.01 g), 于 50 mL 容量瓶中, 加入 0.1 mol/L 的盐酸溶液 30 mL, 涡旋混匀 2 min。超声提取 20 min, 冷却至室温后, 定容。8000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液经滤膜过滤, 进高效液相色谱仪测定。

1.2.3 色谱参考条件

Caprisil C₁₈-P 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 为 3.0):乙腈=95:5; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 30℃, 检测波长: 214 nm。

1.3 数据处理

通过与 UltiMate 3000 仪器配套的 Chromeleon7 色谱处理软件完成数据采集和积分, 使用 Microsoft Excel 2010 进行数据统计分析, 结果以平均值±标准偏差表示, 每次实验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

因特殊医学用途配方食品基质复杂, 含有大量蛋

白质、碳水化合物以及脂类, 对后续提取等操作步骤有较大的影响, 须去除干扰, 才能准确对 CaHMB 进行定量分析, 因此提取溶剂的选择至关重要。由于 CaHMB 易溶于水, 蛋白质在酸性环境中容易沉淀, 高比例的有机相以及亚铁氰化钾和乙酸锌共同作用都可以沉淀蛋白, 因此本研究拟对以下 3 种提取溶剂进行考察研究, 分别为 60%的乙腈水溶液、0.1 mol/L 的盐酸溶液、水提取后加入 150 mg/mL 亚铁氢化钾和 300 mg/mL 乙酸锌的沉淀试剂各 0.5 mL。

研究发现, 60%的乙腈水溶液和水提取加沉淀剂两种方式的回收率较低, 0.1 mol/L 的盐酸溶液, 提取效果最好, 回收率较为理想。这可能因为 CaHMB 在酸性条件下更容易完全解离, 以及蛋白质在等电点下沉淀使溶液澄清^[24-25]。因此最终选择 0.1 mol/L 的盐酸溶液作为提取试剂, 不同提取方式实验结果如表 1。

2.2 波长的选择

采用紫外-可见光分光光度计对 CaHMB 标准储备液在 200~500 nm 的范围内进行光谱扫描, 发现 CaHMB 溶液在 214 nm 处有最大吸收峰, CaHMB 吸收光谱图中, 300~400 nm 波长的波动可能是由于钨灯(可见光)和氙灯(紫外光)进行切换时导致的波动。因此本研究选择 214 nm 作为方法的定量波长, 图 1 为 CaHMB 的吸收光谱图。

表 1 不同提取溶剂的提取效果比较
Table 1 Comparison of extraction effect by different extraction solvents

提取溶剂	沉淀现象	回收率/%
60%乙腈水溶液	沉淀效果不佳, 样品浑浊	64.8±1.7
0.1 mol/L 盐酸溶液	沉淀效果好, 样品澄清	96.5±3.4
水提取后加入沉淀剂	沉淀效果好, 样品澄清	76.4±2.7

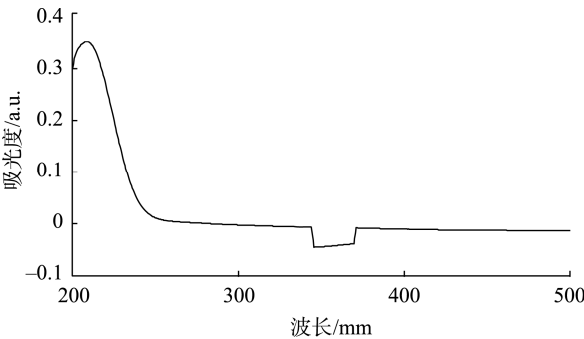


图 1 CaHMB 吸收光谱图
Fig.1 Absorption spectrum of CaHMB

2.3 流动相的选择

为研究流动相对分析的影响因素, 选择合适的色谱条件, 本研究对不同流动相和 pH 进行比较, 探索流动相对 CaHMB 的保留时间、杂质分离、峰型的影响。根据现有的文献资料, 目前检测 CaHMB 的流动相主要有两种, 一种是庚烷磺酸钠溶液和乙腈体系, 另一种是磷酸二氢钾溶液和乙腈体系^[26-27]。两种体系的有机相均为乙腈, 这是因为乙腈的紫外截止波长是 190 nm, 而甲醇是 210 nm, 在低波长的检测中, 乙腈可以提供更加平稳的基线和更好的定量准确性^[28]。实验发现, 不管是 0.01 mol/L 庚烷磺酸钠溶

液还是 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液, 将两者的 pH 用磷酸调节到 3.0 左右, 且乙腈的比例为 5% 时, CaHMB 出峰时间快, 和干扰峰能较好的分离, 且主峰峰形尖锐对称, 柱效高, 结果见表 2。庚烷磺酸钠作为离子对试剂在流动相和色谱柱之间的平衡需要更长的时间, 作为不挥发的盐, 庚烷磺酸钠很难冲洗干净, 影响色谱柱的使用寿命^[29-30]。因此最终选择 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 为 3.0): 乙腈=95:5 为色谱分析流动相。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适用性实验

按照优化的色谱条件, 分别将空白样品溶液、对照溶液和样品溶液, 依次经高效液相色谱仪进行测定, 记录色谱图。图 2 结果显示, 空白样品溶液无其他杂质干扰, 对照溶液中色谱峰出峰时间快, 峰行对称性好, 理论塔板数>10000, 样品溶液中主峰无干扰, 与其他杂质峰的分离

度>1.5, 符合实验要求。

2.4.2 线性范围、检出限、定量限

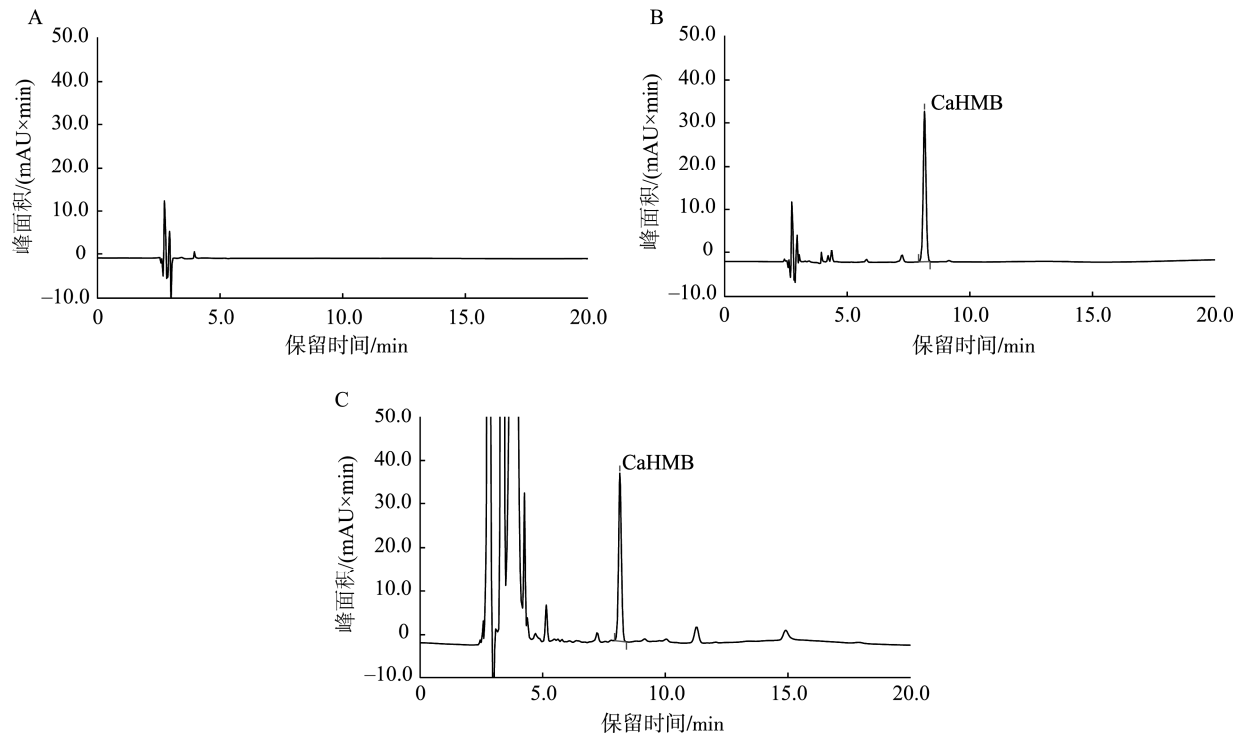
将 1.2.1 中配制的标准系列工作液按浓度由低到高的顺序, 依次经高效液相色谱仪分析, 以进样质量浓度为横坐标(X, mg/L), 峰面积为纵坐标(Y), 分别绘制标准曲线。在 0.0947~0.9474 mg/L 的范围内 CaHMB 的线性回归方程为 $Y=8.0753X-0.0376$, $r^2=0.9997$, 具有良好的线性关系。选择相同基质的阴性样品加标进行实验, 以信噪比 $S/N \geq 10$ 和 $S/N \geq 3$ 时对应的浓度分别来确定本方法的定量限和检出限, CaHMB 的定量限为 0.28 $\mu\text{g/g}$, 检出限为 0.09 $\mu\text{g/g}$ 。

2.4.3 精密度

取特殊医学用途配方食品试样约 2.0 g, 按照 1.2.2 中的方法处理, 平行制备 7 份, 进样。通过计算, 液相色谱分析结果表明, CaHMB 含量的平均值为 2.48 g/100 g, 7 份的相对标准偏差为 1.66%, 表明该方法实验结果准确、精密度良好。

表 2 不同流动相对保留时间和峰形的影响
Table 2 Effects of retention time and peak shape by different mobile phase

流动相	保留时间/min	峰面积/(mAU×min)	峰形	理论塔板数(N)
0.01 mol/L 庚烷磺酸钠-乙腈	7.88	4.683	对称性好	12429
0.05 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈	8.15	4.824	对称性好	11358



注: A: 空白样品溶液; B: 对照溶液; C: 样品溶液。

图 2 系统适用性色谱图

Fig.2 Chromatogram of system applicability

2.4.4 回收率

将精密度实验测得样品中 CaHMB 的平均值作为样品含量, 设计 50%、100%、150% 3 个水平的加标浓度。所得结果见表 3, CaHMB 的回收率范围为 97.08%~101.22%, 平

均回收率为 98.87%, 9 份样品的相对标准偏差为 1.20%, 符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范食品理化检测》中附录 1 关于回收率的要求, 结果表明本方法准确度良好。

表 3 不同加标浓度回收率实验结果
Table 3 Recoveries test results of different spiked concentrations

类别	序号	加标量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
50%加标	1	48.24	97.92%		
	2	49.12	97.08%		
	3	50.36	99.77%		
	4	99.24	98.39%		
100%加标	5	100.87	101.22%	98.87	1.20
	6	99.87	98.69%		
	7	150.24	99.53%		
150%加标	8	150.64	98.58%		
	9	149.32	98.65%		

3 结 论

本研究对 CaHMB 含量检测的提取溶剂、检测波长和流动相进行了考察, 并通过系统适用性、线性关系、检出限、定量限、精密度及加标回收率实验进行了方法学验证, 建立了特殊医学用途全营养配方食品中 CaHMB 的测定方法。结果显示 CaHMB 在 0.0947~0.9474 mg/L 的质量浓度范围内与峰面积呈现良好的线性关系, $r^2=0.9997$, 定量限为 0.28 $\mu\text{g/g}$, 检出限为 0.09 $\mu\text{g/g}$ 。平行制备 7 份样品, 样品中 CaHMB 含量的平均值为 2.48 g/100 g, 相对标准偏差为 1.66%, 设计 50%、100%、150% 3 个水平的加标浓度, 每个水平平行测定 3 次, CaHMB 的回收率范围为 97.08%~101.22%, 平均回收率为 98.87%, 9 份回收率的相对标准偏差为 1.20%。综上所述, 该方法基质干扰小、操作易行、精密度高、准确度高, 适用于特殊医学用途全营养配方食品中 CaHMB 的测定, 能为本产品质量控制提供一定的科学依据。

参考文献

[1] 揭良, 苏米亚. 特殊医学用途配方食品的研究进展[J]. 食品工业, 2022, 43(1): 259–262.
JIE L, SU MY. Research progress of formula food for special medical use [J]. Food Ind, 2022, 43(1): 259–262.

[2] 曹梦思, 吴志豪, 王红霞, 等. 特殊医学用途配方食品原料标准进展研究之二: 碳水化合物与脂肪[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(5): 219–226.
CAO MS, WU ZH, WANG HX, *et al.* Research progress of raw material standard of formula food for special medical use part II: Carbohydrate and fat [J]. China Food Addit, 2022, 33(5): 219–226.
[3] 杨涛, 韦伟宁, 原亚梅, 等. 特殊医学用途全营养配方食品中亚油酸和 α -亚麻酸的测定[J]. 食品工业, 2022, 43(10): 288–291.
YANG T, WEI WN, YUAN YM, *et al.* Determination of linoleic acid and α -linolenic acid in whole nutritional formula foods for special medical purposes [J]. Food Ind, 2022, 43(10): 288–291.
[4] 周子琪, 苟茂琼, 胡雯, 等. 中国特殊医学用途配方食品行业现状及探索[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2021, 8(4): 439–444.
ZHOU ZQ, GOU MQ, HU W, *et al.* Current situation and exploration of formula food industry for special medical purposes in China [J]. Electron J Metab Nutr Cancer, 2021, 8(4): 439–444.
[5] 张春红, 黄建, 李乘风, 等. 特殊医学用途配方食品现状及前景展望[J]. 中国食品添加剂, 2016, (12): 210–214.
ZHANG CH, HUANG J, LI CF, *et al.* Current situation and prospect of

- formula food for special medical purposes [J]. *China Food Addit*, 2016, (12): 210–214.
- [6] 杨一涵, 田纪祥. 特殊食品注册现场核查重点及工作模式探索[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(13): 3527–3532.
- YANG YH, TIAN JX. Key points and working mode exploration of special food registration on-site verification [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(13): 3527–3532.
- [7] ULLAH H, KHAN A, DAGLIA M. The focus on foods for special medical purposes and food supplements in age-related disorders [J]. *Food Front*, 2022, 3(3): 353–357.
- [8] NISSEN SL, ABUMRAD NN. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) [J]. *J Nutr Biochem*, 1997, 8(6): 300–311.
- [9] NISSEN S, FULLER JRJC, SELL J, *et al.* The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on growth, mortality, and carcass qualities of broiler chickens [J]. *Poultry Sci*, 1994, 73(1): 137–155.
- [10] PRADO CM, ORSSO CE, PEREIRA SL, *et al.* Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation on muscle mass, function, and other outcomes in patients with cancer: A systematic review [Z]. 2022.
- [11] LIN Z, ZHAO Y, CHEN Q. Effects of oral administration of β -hydroxy β -methylbutyrate on lean body mass in older adults: A systematic review and meta-analysis [J]. *Eur Geriatr Med*, 2021, 12(2): 239–251.
- [12] 田林, 陈锦瑶. β -羟基- β -甲基丁酸钙安全性和有效性研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(16): 6565–6572.
- TIAN L, CHEN JY. Research progress on the safety and efficacy of calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(16): 6565–6572.
- [13] PENG LN, CHENG YC, YU PC, *et al.* Oral nutritional supplement with β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves nutrition, physical performance and ameliorates intramuscular adiposity in pre-frail older adults: A randomized controlled trial [J]. *J Nutr, Health Aging*, 2021, 25(6): 767–773.
- [14] LIAO Q, WU T, FU Q, *et al.* Effects of dietary inclusion of β -hydroxy- β -methylbutyrate on growth performance, fat deposition, bile acid metabolism, and gut microbiota function in high-fat and high-cholesterol diet-challenged layer chickens[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2022, 44(8): 3413–3427.
- [15] 郑昌炳, 宋博, 郑界, 等. 饲料中添加 β -羟基- β -甲基丁酸对巴马香猪生长性能和肝脏脂肪代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(6): 3176–3184.
- ZHENG CB, SONG B, ZHENG J, *et al.* Effects of dietary β -hydroxy- β -methylbutyrate acid on growth performance and liver fat metabolism of bamapigs [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2021, 33(6): 3176–3184.
- [16] BAXTER JH, CARLOS JL, THURMOND J, *et al.* Dietary toxicity of calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate (CaHMB) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(12): 1731–1741.
- [17] CHEW STH, TAN NC, CHEONG M, *et al.* Impact of specialized oral nutritional supplement on clinical, nutritional, and functional outcomes: A randomized, placebo-controlled trial in community-dwelling older adults at risk of malnutrition [J]. *Clin Nutr*, 2021, 40(4): 1879–1892.
- [18] WU H, XIA Y, JIANG J, *et al.* Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: A systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2015, 61(2): 168–175.
- [19] PITCHFORD LM, FULLER JRJC, RATHMACHER JA. Genotoxicity assessment of calcium β -hydroxy- β -methylbutyrate [J]. *Regul Toxicol Pharm*, 2018, 100: 68–71.
- [20] 中华人民共和国卫生部. 批准翅果油和 β -羟基- β -甲基丁酸钙为新资源食品的公告[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(1): 193.
- Ministry of Health of the People's Republic of China. Approval of samara oil and β -hydroxy- β -methyl-calcium butyrate as new resource foods [J]. *Food Ferment Ind*, 2011, 37(1): 193.
- [21] PAIK MJ, KIM KR. Sequential ethoxycarbonylation, methoximation and tert-butyldimethylsilylation for simultaneous determination of amino acids and carboxylic acids by dual-column gas chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1034(1–2): 13–23.
- [22] LIEBICH HM, GESELE E. Profiling of organic acids by capillary gas chromatography–mass spectrometry after direct methylation in urine using trimethylxonium tetrafluoroborate [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 843(1–2): 237–245.
- [23] WATANABE T, OGUCHI KI, EBARA S, *et al.* Measurement of 3-hydroxyisovaleric acid in urine of biotin-deficient infants and mice by HPLC [J]. *J Nutr*, 2005, 135(3): 615–618.

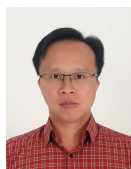
- [24] JIANG L, HE L, FOUNTOLAKIS M. Comparison of protein precipitation methods for sample preparation prior to proteomic analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1023(2): 317–320.
- [25] BAXTER JH, PHILLIPS RR, DOWLATI L, *et al.* Direct determination of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) in liquid nutritional products [J]. *Food Anal Method*, 2011, 4(3): 341–346.
- [26] 杨学灵, 奈世杰, 魏嘉良, 等. β -羟基- β -甲基丁酸钙含量测定及掺假判别[J]. *广州化学*, 2018, 43(2): 30–34, 40.
- YANG XL, NAI SJ, WEI JL, *et al.* Determination of β -hydroxy- β -methyl-calcium butyrate and identification of adulteration [J]. *Guangzhou Chem*, 2018, 43(2): 30–34, 40.
- [27] 王小妹, 温恺嘉, 李益, 等. HPLC 法测定大豆肽蛋白质粉中 β -羟基- β -甲基丁酸的含量[J]. *今日药学*, 2017, 27(8): 525–527.
- WANG XM, WEN KJ, LI Y, *et al.* Determination of β -hydroxy- β -methylbutyric acid in soybean peptide protein powder by HPLC [J]. *Pharm Today*, 2017, 27(8): 525–527.
- [28] SWARTZ M. HPLC detectors: A brief review [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2010, 33(9–12): 1130–1150.
- [29] MAGGADANI BP, YASMINA J, HARMITA H. Development of a direct method of analyzing tranexamic acid levels in whitening cream using reversed phase high-performance liquid chromatography [J]. *Int J Appl Pharm*, 2020, 12(Special Issue 1): 88–92.
- [30] ENMARK M, BAGGE J, SAMUELSSON J, *et al.* Analytical and preparative separation of phosphorothioated oligonucleotides: Columns and ion-pair reagents [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(2): 299–309.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



杨 涛, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为生物技术、食品研发和检测。
E-mail: 854340668@qq.com



滕丕合, 工程师, 主要研究方向为食品研发、食品检测。
E-mail: 156478799@qq.com