

复合固相萃取净化-液相色谱法同时测定奶粉中的5种核苷酸

王川丕, 孙文闪*, 董叶菁, 钟寒辉, 郑剑峰, 俞婕, 刘静, 林婷

(绿城农科检测技术有限公司, 杭州 310051)

摘要: **目的** 建立复合固相萃取净化-液相色谱法同时测定婴幼儿配方奶粉中的5种核苷酸含量的分析方法。**方法** 样品用纯水涡旋提取, 10%乙酸水溶液调pH到4.1, 离心将上清液全部转移到25 mL容量瓶中, 用纯水定容, 混匀。提取液用复合固相萃取小柱(弱阴离子交换和强阳离子交换固相萃取小柱)净化, 以磷酸盐缓冲液和甲醇为流动相, 等度洗脱, Spursil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱分离, 液相色谱-紫外检测器进行测定, 外标法定量。**结果** 5种核苷酸在一定范围内(0.1~10 mg/L、0.2~20 mg/L)线性关系良好, 相关系数均大于0.999, 定量限为1.0、2.0 mg/kg, 检出限为0.3、0.6 mg/kg。3水平加标浓度(1.0、5.0、10.0 mg/kg, 2.0、10.0、20.0 mg/kg)的回收率在91.0%~103%之间, 精密度在8%以内。**结论** 该方法具有操作简单、灵敏度高、重现性好等特点, 为奶粉中核苷酸含量测定提供一个简单准确的方法。

关键词: 液相色谱法; 复合固相萃取; 核苷酸; 奶粉

DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2021.15.014

Simultaneous determination of 5 kinds of nucleotides in milk powder by liquid chromatography with composite solid phase extraction

WANG Chuan-Pi, SUN Wen-Shan*, DONG Ye-Jing, ZHONG Han-Hui, ZHENG Jian-Feng, YU-Jie, LIU Jing, LIN Ting

(Greentown Agricultural Testing Technology Co., Ltd., Hangzhou 310051, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 5 kinds of nucleotides in infant formula by liquid chromatography (LC) with composite solid phase extraction. **Methods** The sample was extracted with ultrapure water in vortex. The pH was adjusted to 4.1 with 10% acetic acid water. The supernatant was centrifugally transferred to 25 mL volumetric flask, constanted to scale mark with ultrapure water, and mixed well. The extract was purified by composite solid-phase extraction column (weak anion exchange and strong cation exchange solid-phase extraction column). Phosphate buffer and methanol were used as mobile phase on isocratic elution. spursil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used for chromatographic separation and quantification by external standard method. **Results** Under the optimized conditions, good linearity (0.1-10 mg/L, 0.2-20 mg/L) was observed for nucleotides. The quantitative limits were 1.0 and 2.0 mg/kg, and the detection limits of the method were 0.3 and 0.6 mg/kg. The method recoveris at the three standard levels (1.0, 5.0 and 10.0 mg/kg; 2.0, 10.0 and

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2018YFC1602800)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program Funding (2018YFC1602800)

*通信作者: 孙文闪, 高级工程师, 主要研究方向为食品环境相关检测技术研究。E-mail: 627268600@qq.com

*Corresponding author: SUN Wen-Shan, Senior Engineer, Greentown Agricultural Testing Technology Co., Ltd., No.688, Binan Road, Binjiang District, Hangzhou 310051, China. E-mail: 627268600@qq.com

20.0 mg/kg) were between 91.0%-103% and the precision was within 8%. **Conclusion** The method has the characteristics of simple operation, high sensitivity and good reproducibility, which provides a simple and accurate method for the determination of nucleotide content in infant formula.

KEY WORDS: liquid chromatography; composite solid phase extraction; nucleotides; milk powder

0 引言

新生儿生长发育所需要的必需型营养物质之一的游离核苷酸在母乳中含量在 5~8 mg/100 mL 之间^[1-2]。作为条件型必需营养物质,核苷酸在奶粉中的作用主要通过促进胃肠道的蠕动实现^[3-4]。目前很多新生儿通过食用添加核苷酸的奶粉,来达到母乳喂养所带来的普雷沃菌属与双歧杆菌定植的比例水平^[5]。GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》对允许添加的核苷酸进行了规定,包含了 5'-尿嘧啶核苷酸(uridine 5'-monophosphate, UMP)、5'-胞嘧啶核苷酸(cytidine 5'-monophosphate, CMP)、5'-腺嘌呤核苷酸(adenosine 5'-monophosphate, AMP)、5'-次黄嘌呤核苷酸(inosine 5'-monophosphate, IMP)、5'-鸟嘌呤核苷酸(guanosine 5'-monophosphate, GMP)等 5 种,可以添加范围在 12~58 mg/100 g 之间。因此建立一种准确测定奶粉中核苷酸含量的方法对把控奶粉的质量具有非常重要的作用。

目前,奶粉中核苷酸的检测方法^[6-10]主要有液相色谱-紫外检测法^[11-15]或质谱检测法^[16-20],前处理使用了沉淀蛋白结合不同的固相萃取方式。当前处理只使用沉淀蛋白,离子对试剂结合 C₁₈ 色谱柱分离,使得核苷酸对流动相 pH 敏感,会引起杂质对 UMP 或 GMP 的干扰;HLB 固相萃取方法杂质去除能力弱,弱阴离子交换固相萃取柱在不使用内标的情况下回收率偏低。液相色谱-质谱联用法虽然灵敏度,但是需要稳定的同位素内标消除基质效应,成本昂贵,普遍推广存在一定困难。奶粉基质复杂,选择合适的色谱柱和样品前处理方式对测定结果的准确性至关重要。本研究针对核苷酸这种两性物质采用复合固相萃取柱净化,优化前处理和液相条件,以期奶粉中核苷酸的测定提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

5 种核苷酸标准品(UMP、AMP、IMP、GMP、CMP)(纯度>99%,德国 Dr Ehrenstofer 公司);甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);乙酸、氨水(分析纯)、四丁基硫酸氢铵、磷酸二氢钾(优级纯)(国药集团化学试剂有限公司);复合固相萃取柱(60 mg/3 mL)、Spursil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,

5.0 μm)(天津迪科马实验设备有限公司);实验用水(一级水,美国 Millipore 超纯水仪净化获得)。

奶粉:当地超市购买。

1.1.2 主要仪器与设备

1200 Agilent 1200series 液相色谱仪(配备紫外检测器,美国安捷伦公司);SUPELCO 型 SB-12 型固相萃取装置(上海安谱实验科技股份有限公司);ST16R 型高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Multi-Tube Vortexer 型涡旋振荡器(杭州茂丰仪器有限公司);Mill-Q 型超纯水仪(美国密理博科技有限公司);PB-22 型 PH 计(德国赛多利斯科科技有限公司);BUCHI V-850 型超真空旋转蒸发浓缩仪(瑞士步琦公司);BSA224S 型电子天平(德国赛多利斯科科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的配制

分别精确称量 UMP (5 mg±0.01 mg)、AMP (5 mg±0.01 mg)、IMP (5 mg±0.01 mg)、GMP (10 mg±0.01 mg)、CMP (10 mg±0.01 mg)于 5 个 10 mL 容量瓶中,加入 8 mL 一级水,超声溶解后,再定容到刻度混匀,配制成 UMP (500 mg/L)、AMP (500 mg/L)、IMP (500 mg/L)、GMP (1000 mg/L)、CMP (1000 mg/L)混合标准储备液,4 °C 下保存待用。分别精密量取 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mL 至 6 个 50 mL 容量瓶里,用流动相定容至刻度混匀,配制成系列标准溶液 UMP、AMP、IMP (0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L),GMP、CMP (0.2、1.0、2.0、4.0、10.0、20.0 mg/L),现配现用。

1.2.2 样品提取、净化

称取 1 g±0.005 g 样品于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 20 mL 纯水,涡旋混合 3 min,用 10%乙酸水溶液调 pH 到 4.1,8000 r/min 高速离心 3 min,将全部提取液转移至 25 mL 容量瓶里,用一级纯水定容至刻度线,摇匀。取 2.5 mL 净化液加入复合固相萃取净化柱(预先用 3 mL 甲醇和 3 mL 纯水活化),依次加入 5 mL 1%乙酸水溶液和 5 mL 甲醇清洗,弃去清洗液,加入 8 mL 30%氨水甲醇溶液洗脱,收集洗脱液,将洗脱液在 50 °C 减压蒸干,准确加入 1 mL 流动相超声溶解,过 0.22 μm 水溶性滤膜,待液相测定。

1.2.3 色谱条件

色谱柱:Spursil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);进样量:20 μL;柱温:40 °C;流速:1.0 mL/min;流动相:磷酸盐缓冲液(准确称取 1.360 g 磷酸二氢钾和 0.4753 g 四丁基硫酸

氢铵,加水溶解后,定容到 1000 mL):甲醇=96:4 (V:V);检测波长: 254 nm,进样量 20 μ L。

2 结果与分析

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取条件的优化

婴幼儿配方奶粉主要成分为蛋白质、脂肪、乳糖,而核苷酸具有较好的水溶性,因此考虑采用水提取结合调节 pH 沉淀蛋白法,比较了加入乙腈、乙酸锌、乙酸调节 pH 这 3 种沉淀蛋白方式对测定结果的影响,发现加入乙腈、乙酸锌沉淀蛋白质结果偏低,可能原因为乙腈和乙酸锌使蛋白质变性沉淀时,对核苷酸有吸附。因此采用乙酸溶液调 pH 沉淀蛋白,通过调节不同 pH 的比较,发现 pH 在 4.1 ± 0.05 时沉淀效果最好,于是选择将 pH 调节到 4.1 作为沉淀蛋白质最佳条件。由于奶粉的脂肪和乳糖含量较高,需要对提取的液固比进行优化,得到合适的提取液黏度,方便后续的过柱净化,实验比较了不同的液固比的提取液黏度,发现当液固比 20:1 (V:m) 时,提取液黏度较低,可以达到复合离子交换固相萃取柱的净化要求。

2.1.2 净化方法的优化

奶粉基质比较复杂,采用 C_{18} 和 HLB 净化效果均不理想,由于核苷酸含有酸性基团和碱性基团,根据离子交换固相萃取的原理,应该采用弱阴离子交换或者强阳离子交换固相萃取方式除去杂质。实验发现,混合强阳离子固相萃取小柱对 CMP 和 UMP 保留较好;混合弱阴离子固相萃取小柱对 GMP、IMP、AMP 保留较好,于是本研究将 2 种固相萃取模式结合起来,采用复合模式进行净化。复合离子交换模式在酸性条件下目标物被净化柱吸附,在碱性条件下目标物释放。提取液通过复合固相萃取小柱之后,先用 1% 乙酸水溶液淋洗将核苷酸进一步锁定在净化小柱上,再用不同比例的甲醇-水溶液淋洗杂质,通过比较发现 100% 甲醇清洗效果最好,因此淋洗液采用 100% 甲醇进行清洗。洗脱采用 5%~35% 的氨水-甲醇溶液依次进行实验,发现采用 30% 氨水-甲醇溶液作为洗脱液时 5 种核苷酸标准溶液柱回收率在 95%~102%,因此选择 30% 氨水-甲醇溶液作为洗脱液。

2.2 液相条件的优化

核苷酸是一类具有较强的极性和水溶性化合物,迪马 Spursil C_{18} 是一款碳载量较低、耐高比例水相的色谱柱,适合于极性较强的物质的分离,通过实验发现该色谱柱对 5 种核苷酸有较好的分离保留。确定了色谱柱之后,流动相选择也很重要,使用缓冲盐溶液可以改善色谱峰形,由于核苷酸带有磷酸基团,磷酸盐缓冲液可防止固定相中的痕量金属(像铁、铜、铝等)与目标物的结合,从而使色谱峰形更加对称,而四丁基硫酸氢铵作为离子对试剂,增加色

谱峰保留的稳定性。通过实验发现磷酸盐缓冲液中磷酸二氢钾的浓度达到 0.01 mol/L,四丁基硫酸氢铵的浓度达到 1.40 mmol/L,5 种核苷酸峰形对称并达到完全分离,考虑到实际样品中杂质峰的干扰,于是对缓冲盐溶液和有机相比例进行优化,当缓冲盐溶液和甲醇的比例为 96:4 (V:V) 时,5 种核苷酸与样品中杂质峰也有较好的分离,图 1~3 分别为标准溶液、样品、添加回收的色谱峰。最终确定液相条件为:色谱柱为迪马 Spursil C_{18} ,流动相为:磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L 磷酸二氢钾和 1.40 mmol/L 四丁基硫酸氢铵):甲醇=96:4 等度洗脱。

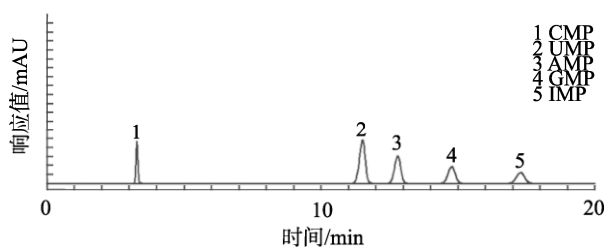


图 1 5 种核苷酸标准溶液的色谱图

Fig.1 Chromatogram of UMP, AMP, IMP, GMP, CMP standard solution

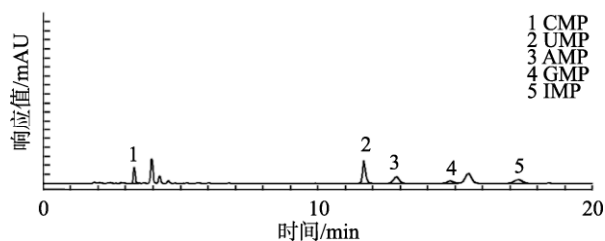


图 2 奶粉样品的色谱图

Fig.2 Chromatogram of milk powder sample

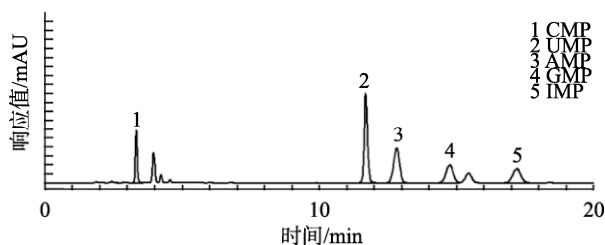


图 3 奶粉样品添加浓度 250 mg/kg 的色谱图

Fig.3 Chromatogram of milk powder sample labeling with 250 mg/kg

2.3 方法学验证

2.3.1 检出限、定量限、线性范围

检出限(limits of detection, LOD)的确定参考 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》,通过空白样品不断降低添加 UMP、AMP、IMP、GMP、CMP 标准溶液的浓度,当在仪器上色谱峰达到 3 倍信噪

比(S/N)时对应的加标浓度(表 1 所示), 定量限(limit of quantification, LOQ)的确定参考 GB/T 27417—2017 通过空白样品不断降低添加标准溶液的浓度, 当在仪器上色谱峰达到 10 倍信噪比(S/N)时对应的添加浓度(表 1 所示)。对不同浓度梯度的 5 种核苷酸混合标准溶液上机测定, 对浓度和峰面积进行线性回归, 建立标准曲线, 得到对应的线性方程以及相关系数, 在一定的范围内, 浓度与峰面积呈正比例关系, 线性关系良好(表 1)。从表 1 可以看出本方法具有较好的线性关系, 线性范围宽, 检出限低, 方法灵敏度高。

2.3.2 准确度与精密度

方法的准确度通过空白奶粉添加回收实验的回收率和有证标准样品核查^[18-20]来考察, 精密度通过同一浓度平行添加 6 次结果的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)以及有证标准物质 6 次测定结果的相对标准偏差来考察, 加标水平分别为 1 倍、5 倍和 10 倍定量限, 每个水平平行实验 6 次, 有证标准物质为 NIST SRM 1849a, 实验结果如表 2、3 所示, 回收率和精密度满足 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》相关要求, 有证标准物质测定结果在标准值的误差范围内。

表 1 5 种核苷酸的线性范围、相关系数、检出限以及定量限

Table 1 Linear equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantification of 5 kinds of nucleotides

| 目标物 | 线性范围/(mg/L) | 线性方程 | 相关系数 | 检出限/(mg/kg) | 定量限/(mg/kg) |
|-----|-------------|------------------|--------|-------------|-------------|
| CMP | 0.1~10 | $Y=22.31X+0.08$ | 0.9998 | 0.3 | 1.0 |
| UMP | 0.1~10 | $Y=50.42X+7.42$ | 0.9997 | 0.3 | 1.0 |
| AMP | 0.1~10 | $Y=79.13X+3.16$ | 0.9996 | 0.3 | 1.0 |
| GMP | 0.2~20 | $Y=53.61X+4.64$ | 0.9998 | 0.6 | 2.0 |
| IMP | 0.2~20 | $Y=55.67X+12.74$ | 0.9999 | 0.6 | 2.0 |

表 2 5 种核苷酸的回收率和精密度($n=6$)

Table 2 Recoveris and relative standard deviations of 5 kinds of nucleotides ($n=6$)

| 化合物 | 加标浓度/(mg/kg) | 测得平均/(mg/kg) | 平均回收率/% | RSD/% |
|-----|--------------|--------------|---------|-------|
| CMP | 1.0 | 0.91±0.06 | 91.0 | 7.31 |
| | 5.0 | 4.68±0.28 | 93.6 | 5.62 |
| | 10.0 | 9.74±0.68 | 97.4 | 4.27 |
| UMP | 1.0 | 0.92±0.07 | 92.0 | 7.95 |
| | 5.0 | 4.82±0.34 | 96.3 | 6.07 |
| | 10.0 | 10.20±0.76 | 102.0 | 5.21 |
| AMP | 1.0 | 0.95±0.08 | 95.0 | 7.68 |
| | 5.0 | 4.69±0.35 | 93.8 | 7.24 |
| | 10.0 | 10.10±0.65 | 101.0 | 6.19 |
| GMP | 2.0 | 1.82±0.14 | 91.0 | 7.85 |
| | 10.0 | 9.58±0.66 | 95.8 | 5.42 |
| | 20.0 | 19.70±1.51 | 98.5 | 4.14 |
| IMP | 2.0 | 1.85±0.14 | 92.5 | 7.05 |
| | 10.0 | 9.70±0.72 | 97.0 | 4.32 |
| | 20.0 | 20.60±1.25 | 103.0 | 4.35 |

表 3 NIST SRM 1849a 标准物质检测结果($n=6$)
Table 3 Standard substance test results of NIST SRM 1849a ($n=6$)

| 目标物 | 标准推荐值/(mg/kg) | 测得平均值/(mg/kg) | RSD/% |
|-----|---------------|---------------|-------|
| CMP | 129±15 | 134 | 4.31 |
| UMP | 105±5 | 102 | 3.45 |
| AMP | 未检出 | < 1.0 | / |
| GMP | 268±29 | 258 | 2.76 |
| IMP | 146±11 | 151 | 2.98 |

2.4 实际样品检测

运用此方法对君乐宝奶粉、贝因美奶粉等品牌奶粉进行测定, 测定结果显示核苷酸总量符合 GB 14880—2012 要求, 并且核苷酸总量与标签标识相吻合。

3 结论与讨论

本研究建立了复合固相萃取方式净化-液相色谱紫外检测器联用测定奶粉中 5 种核苷酸含量的分析方法, 与前人的研究相比^[10-14], 前处理净化效果好, 有效解决了色谱峰杂质干扰, 准确度高、精密度高、回收率稳定, 检出限低, 灵敏度高, 总的液相分析时间短。复合模式离子交换净化柱可以有效消除奶粉中杂质对目标物的干扰, 通过对有证标准物质 NIST SRM 1849a 的测定结果比较, 该方法测定结果准确, 为奶粉中核苷酸的测定提供了重要的参考。

参考文献

- [1] HENDRICKS GM, GUO M. 3-Bioactive components in human milk [J]. *Human Milk Biochem Infant Formula*, 2014, 34(5): 43-47
- [2] 方芳, 李婷, 司徒文佑, 等. 牛乳及婴儿粉蛋白质原料中核酸类物质含量的研究[J]. *食品工业*, 2017, 38(5): 184-186.
FANG F, LI T, SITU WY, *et al.* Study on nucleic acid content in milk and infant powder protein [J]. *Food Ind*, 2017, 38(5): 184-186.
- [3] WANG L, MU S, XU X, *et al.* Effects of dietary nucleotide supplementation on growth in infants: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Eur J Nutr*, 2019, 58(3): 1213-1221.
- [4] SINGHAL A, MACFARLANE G, MACFARLANE S, *et al.* Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: A randomized controlled trial [J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 87(6): 1785-1792.
- [5] 丁晓静, 赵新颖, 陈亮. 毛细管电泳技术在乳制品营养与安全分析中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(17): 5820-5831.
DING XJ, ZHAO XY, CHEN L. Application of capillary electrophoresis in nutrition and safety analysis of dairy products [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(17): 5820-5831.
- [6] 陈万勤, 陈晶燕, 周霞, 等. 高效液相色谱法测定婴幼儿营养强化奶粉中核苷酸含量[J]. *分析科学学报*, 2020, 36(6): 851-856.
CHEN WQ, CHEN JY, ZHOU X, *et al.* Determination of nucleotide content in infant nutrition fortified milk powder by high performance

- liquid chromatography [J]. *J Anal Sci*, 2020, 36(6): 851-856.
- [7] ZHENG H, YU W, XUE X, *et al.* Determination of five free nucleotides in infant formula by HPLC [J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(1): 74-78.
- [8] 苑向杰, 李则均. 婴幼儿配方奶粉中核苷酸含量测定[J]. *中国乳业*, 2017, 1(12): 56-61.
YUAN XJ, LI ZJ. Determination of nucleotide content in infant formula milk powder [J]. *Chin Dairy*, 2017, 1(12): 56-61.
- [9] GILL BD, INDYK HE, KUMAR MC, *et al.* Analysis of 5'-mononucleotides in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by liquid chromatography: First action 2011.20 [J]. *J AOAC Int*, 2012, 95(3): 599-602.
- [10] 顾颖娟, 秦宇, 潘思奕, 等. 高效液相色谱法测定婴幼儿奶粉中 5 种核苷酸的含量[J]. *食品工业*, 2017, 38(9): 271-275.
GU YJ, QIN Y, PAN SY, *et al.* Determination of five nucleotides in infant milk powder by high performance liquid chromatography [J]. *Food Ind*, 2017, 38(9): 271-275.
- [11] 马世波, 王锡青, 夏克光, 等. 超高效液相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中 5 种核苷酸[J]. *中国乳品工业*, 2019, 24(5): 46-49.
MA SB, WANG XQ, XIA KG, *et al.* Determination of five nucleotides in infant formula milk powder by ultra performance liquid chromatography [J]. *Chin Dairy Ind*, 2019, 24(5): 46-49.
- [12] 尹丽丽, 周传静, 郑红, 等. 婴幼儿配方奶粉中核苷酸检测方法的研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(10): 163-168.
YIN LL, ZHOU CJ, ZHENG H, *et al.* Research progress of nucleotide detection methods in infant formula milk powder [J]. *Chin Food Addit*, 2019, 30(10): 163-168.
- [13] 尹丽丽, 李珊, 周传静, 等. 固相萃取-液相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中的游离核苷酸[J]. *色谱*, 2019, 37(12): 1349-1355.
YIN LL, LI S, ZHOU CJ, *et al.* Determination of free nucleotides in infant formula milk powder by solid phase extraction-liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(12): 1349-1355.
- [14] 肖伟敏, 刘文丽, 张协光, 等. 阴离子交换高效液相色谱法测定婴幼儿食品与乳品中的核苷酸[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(8): 962-966.
XIAO WM, LIU WL, ZHANG XG, *et al.* Determination of nucleotides in infant food and milk by anion exchange high performance liquid chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(8): 962-966.
- [15] MARRUBINI G, APPELBLAD P, MAIETTA M, *et al.* Hydrophilic interaction chromatography in food matrices analysis: An updated review [J]. *Food Chem*, 2018, 257(8): 53-66.
- [16] 俞莎, 陈晓春, 潘洪峰, 等. UPLC-MS/MS 法测定婴幼儿配方奶粉中 5 种核苷酸的研究[J]. *营养学报*, 2010, 32(2): 187-189.

- YU S, CHEN XC, PAN HF, *et al.* Determination of five nucleotides in infant formula milk powder by UPLC-MS/MS [J]. *Acta Nutr Sin*, 2010, 32(2): 187-189.
- [17] 张婷婷, 曾明飞, 金燕, 等. 反相高效液相色谱-串联质谱法测定母乳及奶粉中核苷和核苷酸的含量[J]. *分析化学*, 2014, 42(4): 585-591.
- ZHANG TT, ZENG MF, JIN Y, *et al.* Determination of nucleosides and nucleotides in breast milk and milk powder by reversed-phase high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42(4): 585-591.
- [18] 陈曦, 张琳, 沈蕊. 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法测定乳粉类产品中核苷和核苷酸的含量[J]. *卫生研究*, 2018, 47(5): 804-808.
- CHEN X, ZHANG L, SHEN S. Determination of nucleosides and nucleotides in milk powder products by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Hyg Res*, 2018, 47(5): 804-808.
- [19] 陈晶燕, 陈万勤, 王峰, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿奶粉中核苷酸[J]. *质谱学报*, 2021, 42(1): 93-100.
- CHEN JY, CHEN WQ, WANG F, *et al.* Determination of nucleotides in infant milk powder by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2021, 42(1): 93-100.
- [20] ARASE S, KIMURA S, IKEGAMI T. Method optimization of hydrophilic interaction chromatography separation of nucleotides using design of experiment approaches I: Comparison of several zwitterionic columns [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 158(5): 307-316.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介



王川丕, 高级工程师, 主要研究方向为食品农产品检测技术研究。

E-mail: 179560835@qq.com



孙文闪, 高级工程师, 主要研究方向为食品环境相关检测技术研究。

E-mail: 627268600@qq.com