

毛细管电泳-间接紫外检测法测定蜂蜜中的氨基酸

周贤婧^{1,2}, 师彦平^{1*}

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室 /
甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 2. 中国科学院大学, 北京 100039)

摘要: 采用毛细管电泳-间接紫外检测法同时分离测定蜂蜜中的赖氨酸、色氨酸、谷氨酸等 9 种氨基酸。考察了磷酸浓度、进样方式和缓冲液 pH 对分离效率和重现性的影响。在分离电压为 -15 kV、检测波长为 220 nm 条件下, 以含有 0.5 mmol/L 十六烷基三甲基溴化铵、20 mmol/L 烟酸、10% 甲醇的 10 mmol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液 (pH 10.2) 为运行缓冲液, 9 种组分在 11 min 内达到基线分离; 检出限最低可达到 0.3 mg/L; 线性范围为 1.0 ~ 1 000 mg/L; 日间及日内精密度为 0.64% ~ 5.83%。实际样品中除甲硫氨酸外的 8 种氨基酸的加标回收率为 60.00% ~ 118.37%。将该方法应用于不同蜜源植物和产地的蜂蜜样品的测定, 在市售的 5 种蜂蜜中均检测到脯氨酸、丝氨酸和天冬氨酸, 而只在荔枝蜜中检测到苏氨酸。该方法可以为蜂蜜的蜜源鉴别及质量评估提供借鉴方法。

关键词: 毛细管电泳; 间接紫外检测; 氨基酸; 蜂蜜

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2013)07-0661-06

Determination of amino acids in honey by capillary electrophoresis with indirect ultraviolet detection

ZHOU Xianjing^{1,2}, SHI Yanping^{1*}

(1. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, CAS/Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: A method of capillary electrophoresis with indirect ultraviolet (UV) detection was developed for the separation and determination of nine amino acids such as lysine, tryptophan, glutamic acid, etc. The effects of sodium dihydrogen phosphates concentration, pH of buffer and sample injection type and time on the reproducibility and efficiency were investigated. The optimum injection time was 5 s at 5 kPa. The optimum electrophoretic conditions were as follow: 10 mmol/L sodium dihydrogen phosphates (pH 10.2) containing 0.5 mmol/L cetrimonium bromide, 20 mmol/L nicotinic acid and 10% (v/v) methanol as running buffer, applied voltage of -15 kV, detection wavelength of 220 nm. The base line separation of the nine amino acids was achieved successfully within 11 min. The lowest detection limit was 0.3 mg/L. All of the nine analytes showed good linearities within 1.0 - 1 000 mg/L. The relative standard deviations of migration time and peak area were 0.64% - 5.83%. The recoveries of the eight amino acids spiked in a real sample were between 60.00% and 118.37%. The method was applied in the determination of the amino acids in honey samples from different nectar plants and origins. Prolin, serine and aspartic acid were found in five honey samples, and tryptophan was only found in a litchi honey sample. This method can provide good reference to the evaluation of the quality and nectar origin of honey.

Key words: capillary electrophoresis (CE); indirect ultraviolet detection; amino acids; honey

蜂蜜作为一种潜在的生物抗氧化^[1,2]、抗菌^[3]的功能性食品, 其抗氧化能力不仅受黄酮多酚类化

合物的影响, 同时也受蜂蜜中氨基酸成分的影响, 而且相关性强于多酚类化合物^[4]。蜂蜜中氨基酸的

* 通讯联系人. Tel: (0931) 4968208, E-mail: shiyp@licp.cas.cn.
基金项目: 国家自然科学基金项目(21075127).
收稿日期: 2013-05-16

含量和种类依蜂蜜的品种和花粉不同而异,尽管依据氨基酸含量不能完全鉴别蜜源,但是不同种类蜂蜜的氨基酸含量的差异在蜜源鉴别方面也能起到一定的作用^[5,6]。

自动化分析氨基酸是采用阳离子交换色谱分离与柱后茚三酮衍生结合的方法实现的,最初用于分析蛋白质中的氨基酸。随后,人们不断地发展新的氨基酸分析方法,如:氨基酸自动分析仪^[7]、柱前衍生反相高效液相色谱法^[8]、高效阴离子交换色谱-积分脉冲安培检测法^[9]、高效液相色谱与质谱联用法^[10]、高效液相色谱-蒸发光散射检测法^[11]等技术相继应用于氨基酸分析。这些方法发展成熟并广泛用于生化、医学、生物工程、农业和食品等领域。但是大多会存在着试剂消耗多、操作成本高、分析方法复杂、分析时间长等问题。由于大部分氨基酸没有紫外吸收,因此不能采用简单、方便的直接紫外检测,需进行衍生化处理。目前使用的柱前衍生试剂主要有邻苯二甲醛(OPA)^[12,13]、异硫氰酸苯酯(PITC)^[14]、氯甲酸苄酯(FMOC-Cl)^[15]、丹酰氯(Dansyl-Cl)^[16]等。但衍生化反应存在产物不稳定、剩余试剂对检测造成干扰、衍生化条件苛刻等局限性,而间接检测可克服这些缺点^[17-19]。

本文应用高效毛细管电泳(HPCE)-间接紫外检测法于 11 min 内同时分离检测了蜂蜜中 9 种游离氨基酸。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

安捷伦公司 7100 毛细管电泳仪(配二极管阵列检测器),安捷伦化学工作站用于获取和处理色谱数据。分离用未涂层熔融石英毛细管(内径 75 μm ,总长 48.5 cm,有效长度 40 cm,河北省永年光导纤维厂);PB-10 型酸度计(北京赛多利斯仪器有限责任公司);KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司);超纯水由实验室纯水制备仪(上海涞科仪器有限公司)制备;分析级甲醇、烟酸、氢氧化钠、磷酸二氢钠和盐酸(天津化学试剂厂);十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)(北京化学试剂公司);732 强酸型阳离子交换树脂(国药集团化学试剂有限公司);蜂蜜样品购于超市。

氨基酸标准品:谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、赖氨酸(Lys)、甲硫氨酸(Met)、脯氨酸(Pro)、苏氨酸(Thr)、异亮氨酸(Ile)、色氨酸(Trp)、丝氨酸(Ser)(纯度均为 99.5%,上海生物工程公司)。

1.2 标准溶液配制

准确称量氨基酸对照品,溶于超纯水,配制氨基酸混合标准品储备液,其中 Trp 质量浓度为 25 mg/L,其余 8 种氨基酸质量浓度为 100 mg/L。该溶液用于条件优化实验。

1.3 样品处理

1.3.1 树脂处理

将 100 g 阳离子树脂置于洁净的容器中,用清水漂洗,直到排水清澈为止。用水浸泡树脂 12 ~ 24 h,使树脂充分膨胀。用树脂体积 2 倍量的 5% HCl 溶液浸泡树脂 2 ~ 4 h,并不时搅拌。然后用纯水洗涤树脂,直至溶液的 pH 接近 4,再用 5% NaOH 溶液处理,处理后再用水洗至微碱性,再一次用 5% HCl 溶液处理,使树脂变为氢型,最后用纯水洗至 pH = 4、无氯离子即可。

1.3.2 蜂蜜样品预处理

将蜂蜜在烘箱中恒温 40 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥至恒重,置于广口瓶中备用。准确称取膏体 20.00 g,将其完全溶于 30 mL 超纯水中,倒入阳离子交换柱中,用 95 mL 4 mol/L 氨水洗脱,洗脱液于 60 $^{\circ}\text{C}$ 下浓缩至干,用超纯水溶解定容至 25 mL。进样前用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

1.4 电泳条件

毛细管柱活化后,在每天使用前依次用 0.5 mol/L 盐酸冲洗 5 min、0.5 mol/L NaOH 冲洗 5 min、超纯水冲洗 1 min、电泳缓冲液冲洗 5 min;每次分离前用电泳缓冲液冲洗 2 min。运行缓冲液为含有 0.5 mmol/L 十六烷基三甲基溴化铵、20 mmol/L 烟酸、10% 甲醇的 10 mmol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液(pH 10.2),运行缓冲液需要当天配制。检测波长为 220 nm;分离温度为 20 $^{\circ}\text{C}$;进样量:在 5 kPa 压力下进样 5 s。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理

本实验采用阳离子交换树脂,能够去除蜂蜜中的糖类物质,减少样品基质对电泳的影响,并对氨基酸分析具有较好的纯化作用。阳离子交换树脂对无机阳离子有较好的吸附分离性能,其分离原理是 α -氨基与树脂上的磺酸基存在静电作用。不同氨基酸的 α -氨基的碱性存在微小差异,故可通过柱色谱分离。此外,文献^[20,21]表明,在配体交换色谱分离氨基酸时,氨基酸的侧基与树脂的骨架可能存在疏水作用,对柱色谱的分离也有一定的贡献。

2.2 分离条件的优化

2.2.1 缓冲液的选择与优化

毛细管电泳-间接紫外检测是基于样品注入后背景吸收添加剂吸光度的减小来定量的。背景吸收一般较大,因此保持基线稳定是一个很大的挑战。本实验考察了磷酸二氢钠浓度对分离效果的影响(见图 1),发现 10 mmol/L 磷酸二氢钠缓冲液具有足够的缓冲容量、良好的分离效果和较稳定的基线。

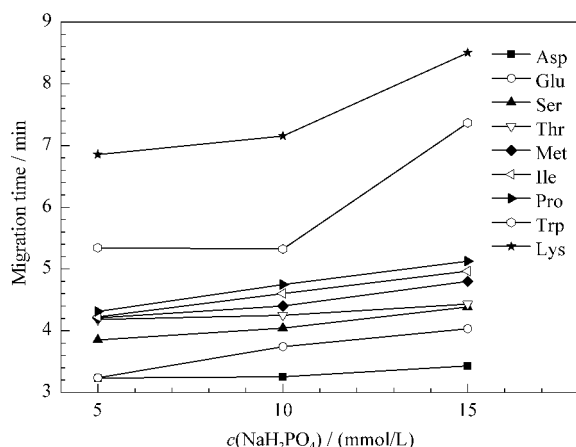


图 1 NaH_2PO_4 浓度对 9 种氨基酸迁移时间的影响

Fig. 1 Effect of NaH_2PO_4 concentration on the migration time of the nine amino acids

Analytical conditions: capillary, 48.5 cm (40 cm to the detector) $\times$ 75 μm ; running buffer: different concentrations of NaH_2PO_4 containing 20 mmol/L nicotinic acid, 0.5 mmol/L CTAB (pH 10.2) and 10% (v/v) methanol; applied voltage: -15 kV; temperature: 20 $^\circ\text{C}$; detection wavelength: 220 nm; sample injection: 5 s at 5 kPa.

文献报道对氨基苯甲酸和对羟基苯甲酸均可作为缓冲液中的背景吸收添加剂^[18],但二者在高电压下均会发生电极反应,缓冲液变色。烟酸与对氨基苯甲酸和对羟基苯甲酸有类似的结构,而含烟酸的缓冲液具有与文献^[18]报道的含对氨基苯甲酸缓冲液近似的分离效果,且不发生电极反应,因此本文选择烟酸作为背景吸收添加剂。烟酸的浓度对检测灵敏度有一定的影响,我们考察了烟酸浓度为 10 ~ 30 mmol/L 时分析物的峰高变化,最终确定在运行缓冲液中添加 20 mmol/L 烟酸。

2.2.2 缓冲液 pH 的优化

通常,缓冲液的 pH 是控制电渗流和决定被分析物离子状态的一个重要参数。不同解离常数 (pK_a) 的被分析物在一定的 pH 下的解离度不同,从而导致电泳迁移速度的不同,因此被分析物不同解离常数是实现分离的基础。本实验考察了 pH 值在 9.0 ~ 10.7 范围内变化时被分析物的迁移行为和峰形的变化。分析物迁移时间与 pH 的关系图见图 2。

当 pH 为 10.2 时,所有分析物达到基线完全分离,故选择缓冲液的 pH 为 10.2。本实验所分析的 9 种氨基酸中 pK_{a1} 最小的是苏氨酸 ($\text{pK}_{a2} = 9.1$),当 $\text{pH} < \text{pK}_{a1}$ 时,其带正电;当 $\text{pH} > \text{pK}_{a2}$ 时,其带负电;故选择缓冲液的 $\text{pH} > 9$ 。由于赖氨酸在 $\text{pH} = 10.2$ 的条件下依然带正电,所以其在电渗流之后出峰,最先出峰的是谷氨酸和天冬氨酸。另外,不仅氨基酸的 pK_a 影响其出峰时间,其相对分子质量的大小也对出峰顺序有影响。

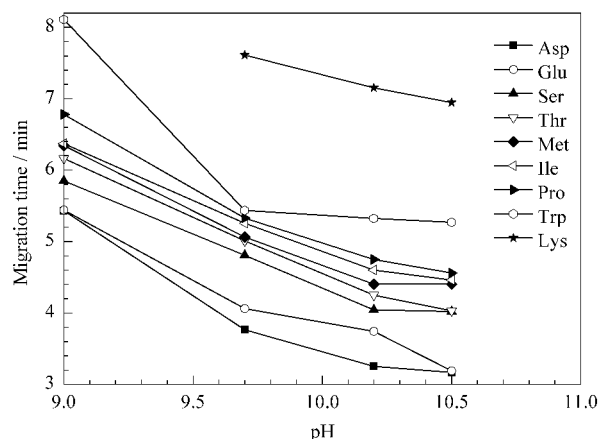


图 2 缓冲液 pH 对 9 种氨基酸迁移时间的影响

Fig. 2 Effect of buffer pH on the migration time of the nine amino acids

Concentration of NaH_2PO_4 was 10 mmol/L, for the other conditions, see Fig. 1.

2.2.3 进样方式

以 100 mg/L 质量浓度的 Asp 和 Trp 为分析对象,考察进样方式对分离的影响。电动进样:在 -10 kV 下进样 10 ~ 30 s;试验结果表明,进样 20 s 的进样量适中,峰形较佳。压力进样:在 5 kPa 下进样 3 ~ 10 s。对比两种进样方法在其他优化条件下的进样量,发现采用压力进样方式的进样量适中,且没有进样组分歧视,故本文选择在 5 kPa 下进样 5 s。

2.2.4 十六烷基三甲基溴化铵浓度的优化

在碱性条件下,氨基酸通常以阴离子的形式存在,在电泳过程中向阳极移动,与电渗流方向相反。加入阳离子表面活性剂 CTAB 后可改变毛细管壁的电势密度,使电势改变方向,从而改变电渗流的方向。此时,待测阴离子的电泳和电渗流方向相同,故可实现快速分离。同时 CTAB 的加入也抑制了氨基酸在管壁的吸附,降低了噪声和基线的波动,提高了检测灵敏度。在上述缓冲液条件下 L-Met、L-Pro 和 L-Ile 仍未能得到基线分离。考察了 CTAB 的浓度为 0.05 ~ 1.5 mmol/L 范围变化对分离的影响,当其浓度为 0.05 mmol/L 时,离子迁移时间长,峰宽大;

增大 CTAB 的浓度,峰宽减小,分离效率增大;CTAB 浓度大于 1 mmol/L 时,分离速度加快,但 Ile 与 Pro 不能达到基线分离;当 CTAB 浓度为 0.5 mmol/L 时,分离效率最好(见图 3),故本文选择 0.5 mmol/L 的 CTAB 为电渗流改性剂。

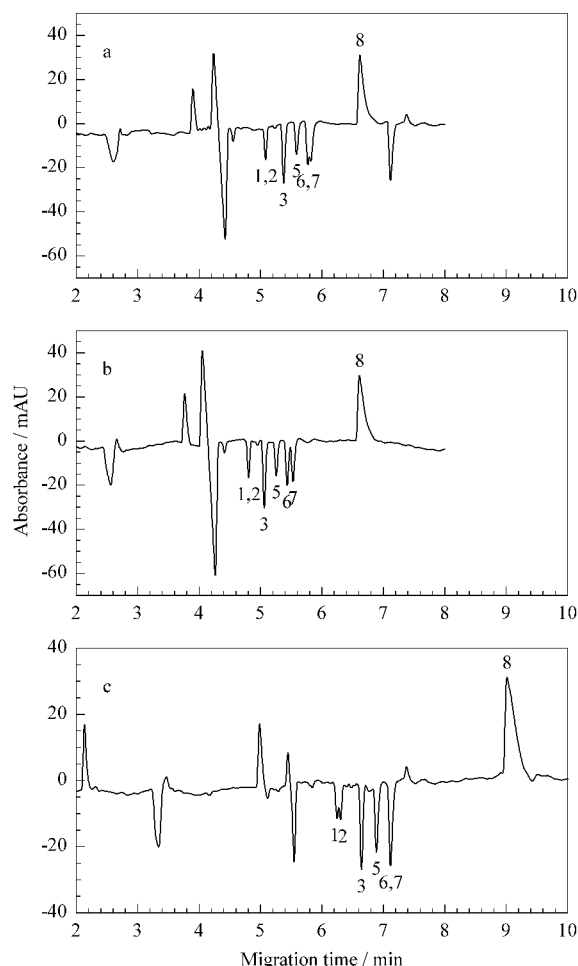


图 3 CTAB 浓度对目标物迁移时间的影响

Fig. 3 Effect of CTAB concentration on the migration time of the analytes

Concentrations of CTAB: a. 1.0 mmol/L; b. 0.5 mmol/L; c. 0.05 mmol/L. For the other conditions, see Fig. 2.

Peak identifications: 1. Asp; 2. Glu; 3. Ser; 5. Met; 6. Ile; 7. Pro; 8. Trp.

为了改善迁移时间相近的几组氨基酸(如 Asp 和 Glu、Ile 和 Pro)的分离,本文考察了有机溶剂乙醇和甲醇对 9 种氨基酸分离度的影响,发现甲醇能显著改善峰形,改善 Asp 和 Glu 的分离度,实现基线分离。但甲醇也有抑制电渗的作用,延缓出峰时间。考察在运行缓冲液中添加 5%~20% (v/v) 的甲醇后分析物的保留时间和峰形,发现添加 10% 的甲醇时分离效果较佳。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系、精密度与重现性

将 9 种氨基酸混合标准品储备液用超纯水配成质量浓度为 50、25、15、10 mg/L 的溶液,其中 Trp 的质量浓度为 12.5、6.25、3.75、2.5 mg/L。不同浓度溶液依次进样,在最佳条件下进行电泳分析测定。以各氨基酸的峰面积(Y)对其质量浓度(X , mg/L)做线性回归,得到的回归方程及相关系数见表 1。以响应值 3 倍于噪声所对应的浓度为检出限,得到 9 种氨基酸的检出限在 0.3~1.5 mg/L 范围内。该方法灵敏度高,可满足样品测定要求。在各自的线性范围内的线性相关系数范围为 0.9828~0.9999,表明线性关系良好。

表 1 9 种氨基酸的线性方程、相关系数、线性范围及检出限
Table 1 Regression equations, correlation coefficients (r), linear ranges and limits of detection (LOD) of the nine amino acids

Amino acid	Regression equation	r	Linear range / (mg/L)	LOD ($S/N=3$) / (mg/L)
Asp	$Y=2.1992X-8.5011$	0.9920	2.0-1000	0.9
Glu	$Y=0.8910X+14.188$	0.9984	2.0-1000	1.1
Ser	$Y=1.7790X-3.554$	0.9999	1.0-1000	0.3
Met	$Y=1.9906X-0.3718$	0.9997	4.0-1000	1.5
Thr	$Y=1.3072X-3.0903$	0.9996	1.0-1000	0.5
Pro	$Y=0.8962X-4.6150$	0.9965	2.0-1000	0.6
Ile	$Y=1.8605X-1.8069$	0.9980	3.0-1000	1.2
Trp	$Y=0.9672X+0.0581$	0.9916	1.0-1000	0.5
Lys	$Y=1.3221X+0.0882$	0.9828	3.0-1000	1.5

Y : peak area; X : mass concentration, mg/L.

在 5 份相同蜂蜜样品中添加氨基酸混合标准品溶液储备液,按照 1.3.2 节的样品处理方法,配制相同浓度供试品溶液 5 份,在最佳条件下,连续 5 日分析测定,由峰面积及迁移时间算得相对标准偏差(RSD)为日间精密度;一日内连续分析同一浓度的溶液 5 次,由峰面积及迁移时间算得 RSD 为日内精密度。由表 2 可见,峰面积精密度范围在 2.16%~5.83%,迁移时间精密度在 0.64%~2.33% 范围内,表明该方法精密度良好。

表 2 被测组分的日内及日间测定精密度
Table 2 Intra-day and inter-day precision of the determination of the amino acids

Amino acid	RSDs of peak area / % ($n=5$)		RSDs of migration time / % ($n=5$)	
	Intraday	Interday	Intraday	Interday
Asp	2.16	2.77	1.31	1.93
Glu	2.63	2.89	0.64	0.88
Ser	3.03	3.45	1.49	2.22
Met	2.55	2.76	1.62	1.88
Thr	3.69	4.32	1.93	2.33
Pro	2.35	2.35	1.21	2.09
Ile	4.44	5.83	0.66	1.08
Trp	3.09	3.45	1.02	1.23
Lys	4.74	5.02	1.28	2.01

以含 20 mmol/L 烟酸、0.5 mmol/L CTAB、10% 甲醇的 10 mmol/L NaH_2PO_4 缓冲溶液($\text{pH} = 10.2$) 为运行缓冲液,在 -15 kV 为分离电压、检测波长为 220 nm 条件下,混合标准溶液的电泳谱图见图 4,其中 Trp 为 25 mg/L,其余标准品的质量浓度均为 100 mg/L。

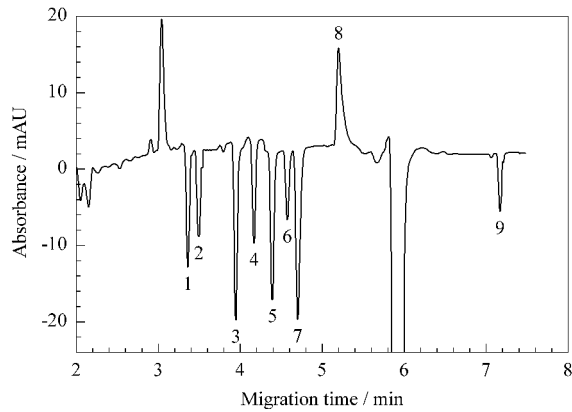


图 4 9 种氨基酸混合标准溶液的电泳谱图
Fig. 4 Electropherogram of a mixture of the nine amino acid standards

Concentrations: Trp, 25 mg/L; the others, 100 mg/L; CTAB, 0.5 mmol/L. For the other conditions, see Fig. 3.

Peak identifications: 1. Asp; 2. Glu; 3. Ser; 4. Thr; 5. Met; 6. Ile; 7. Pro; 8. Trp; 9. Lys.

2.3.2 加标回收率

从广西荔枝蜂蜜样品中取 24 份样品,每份 20 g,平均分为 3 组,每组样品中分别加入原始量的 80%、100% 和 120% 的氨基酸混合标准溶液;按照建立的方法进行样品预处理与测定,考察了荔枝蜂蜜样品内含有的 8 种氨基酸的加标回收率。由表 3 给出的结果可见,在上述 3 个加标水平下,8 种氨基酸的回收率在 60.00%~118.2% 之间,RSD 在 2.16%~9.87% 之间。广西荔枝蜂蜜的电泳谱图见图 5。

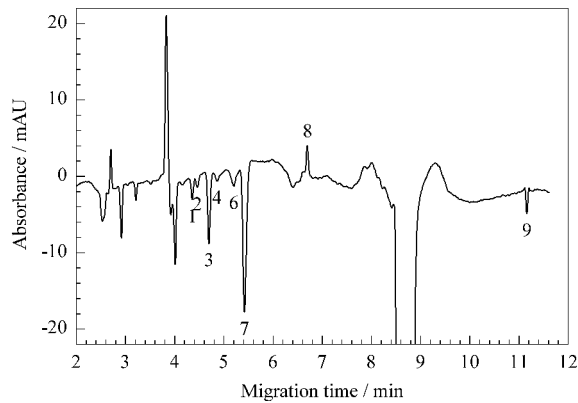


图 5 广西荔枝蜂蜜的电泳谱图
Fig. 5 Electropherogram of litchi honey from Guangxi
For peak identifications, see Fig. 4.

表 3 广西荔枝蜂蜜中 8 种氨基酸的加标回收率及精密度($n=9$)
Table 3 Recoveries and precisions of the eight amino acids spiked in litchi honey from Guangxi ($n=9$)

Amino acid	Original/ (mg/kg)	Added/ (mg/kg)	Found/ (mg/kg)	Recovery/ %	RSD/ %
Asp	71.7	60.0	107.6	60.00	7.31
		70.0	121.7	71.43	7.27
		80.0	153.6	102.38	2.16
Glu	36.3	30.0	53.7	58.00	5.62
		40.0	68.9	81.50	2.89
		50.0	77.8	88.40	2.36
Ser	27.5	25.0	49.2	88.00	5.87
		30.0	50.2	75.67	3.45
		35.0	59.3	90.86	9.02
Thr	43.6	35.0	69.9	75.14	8.33
		45.0	91.6	106.67	4.32
		50.0	101.3	115.40	3.23
Pro	341.2	250.0	527.5	74.52	4.56
		350.0	755.5	118.37	5.66
		400.0	783.2	110.50	2.76
Ile	13.2	10.0	20.9	79.00	7.89
		15.0	27.0	92.00	5.83
		20.0	28.4	76.00	4.33
Trp	24.6	20.0	38.2	68.00	9.87
		25.0	50.7	104.40	3.45
		30.0	60.1	118.33	6.17
Lys	24.5	20.0	40.7	81.00	5.02
		25.0	49.2	98.80	5.22
		30.0	50.4	86.33	6.01

2.4 实际样品的测定

选取了不同蜜源植物、不同产地的 5 种蜂蜜,分别是兰州枣花蜜、景泰枣花蜜、陕西枣花蜜、广西荔枝蜜和兰州槐花蜜。由表 4 的结果可见,不同产地的相同蜜源植物的蜂蜜所含氨基酸的种类和含量有明显差异。蜂蜜中游离氨基酸主要以脯氨酸为主,其中在荔枝蜜中含量最高,在洋槐蜜中含量则较低。在本实验检测的蜂蜜中均未检出甲硫氨酸。

表 4 蜂蜜样品中氨基酸的含量

Amino acid	Table 4 Contents of amino acids in honeys mg/kg				
	Jujuber-LZ	Jujuber-JT	Jujuber-SX	Litchi-GX	Acacia-LZ
Asp	12.0	44.7	39.2	71.7	32.7
Glu	-	-	40.7	36.3	-
Ser	34.1	33.0	25.4	27.5	36.8
Thr	-	-	-	43.6	-
Met	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Pro	188.8	282.9	245.6	341.2	194.6
Ile	16.0	16.8	-	13.2	17.3
Trp	-	24.1	16.9	24.6	-
Lys	24.1	-	30.5	24.5	2.0

n. d.: not detected. -: lower than the lower limit of the linear range.

3 结论

本文测定的 5 种蜂蜜均属于由天然原料加工而成的蜜蜂的采集物,但是由于采集原料不同,因此其氨基酸组成和含量有显著差异。另外,由于蜜源植物的不同,同产地蜂产品的氨基酸组成也有显著的差异,本文测定的不同蜂蜜产品之间的氨基酸总量和个体氨基酸的含量均有不同。蜂产品作为世界性的食疗保健品,产品种类繁多,同时我国是世界植物资源最丰富的国家,蜜源植物更是有几万种。因此开展对不同种类蜂产品和蜜源植物不同的蜂产品的营养成分研究对于蜂产品的开发和利用有着重要的意义。

参考文献:

- [1] Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, et al. Food Chem, 2007, 104: 1635
- [2] Lachman J, Orsák M, Hejtmánková A, et al. LWT-Food Sci Technol, 2010, 43: 52
- [3] Boorn K L, Khor Y Y, Sweetman E, et al. J Applied Micro, 2010, 108: 1534
- [4] Dong R, Zheng Y N. Food Science (董蕊, 郑毅男. 食品科学), 2011, 32(21): 66
- [5] Cotte J F, Casabianca H, Giroud B, et al. Anal Bioanal Chem, 2004, 378(5): 1342
- [6] Hamide Z, Senyuva H Z, Gilbert J, et al. J Agric Food Chem, 2009, 57(9): 3911
- [7] Katarzyna J, Magda A, Piotr N. Pol J Food Nutr Sci, 2012, 62(2): 85
- [8] Sun Y C, Xu X Z, Xu Y L, et al. Chinese Journal of Chromatography (孙言春, 许宪祝, 徐衍岭, 等. 色谱), 2013, 31(3): 275
- [9] Feng L, Yan A P, Wan Y Q, et al. Chinese Journal of Chromatography (冯蕾, 鄢爱平, 万益群, 等. 色谱), 2010, 28(4): 408
- [10] Tang X X, Gu Y, Wang C, et al. Chinese Journal of Chromatography (汤新星, 顾源, 王畅, 等. 色谱), 2012, 30(7): 696
- [11] Wang Y H, Shen K Y, Li P, et al. Chinese Journal of Chromatography (王玉红, 申克宇, 李鹏, 等. 色谱), 2011, 29(9): 908
- [12] Pereira V, Pontes M, Camara J S, et al. J Chromatogr A, 2008, 1189(1/2): 435
- [13] Huang Y T, Chen P C, Chen R L C, et al. Food Chem, 2010, 118(3): 876
- [14] Hu J H, Qiu L Y, Wang C R, et al. Food Science and Technology (胡建鸿, 邱利焱, 王成润, 等. 食品科技), 2008(10): 211
- [15] Rebane R, Herodes K. J Chromatogr A, 2012, 1245(6): 134
- [16] Huang H, Gong X H, Liu H H, et al. Food Science (黄会, 宫向红, 刘慧慧, 等. 食品科学), 2012, 33(8): 207
- [17] Fu C G, Yang D Z, Wang L X. Food Science (傅崇岗, 杨冬芝, 王立新. 食品科学), 2005, 26(12): 196
- [18] Fu G N, He Y Z, Wang X K, et al. Chinese Journal of Chromatography (付国妮, 何友昭, 王晓葵, 等. 色谱), 2007, 25(2): 193
- [19] Chen B, Li X G, He P, et al. Chinese Journal of Chromatography (陈冰, 李小戈, 何萍, 等. 色谱), 2004, 22(1): 74
- [20] Yan H S, Cheng X H, He B L. Chemical Journal of Chinese Universities (阎虎生, 程晓辉, 何炳林. 高等学校化学学报), 1992, 13(2): 270
- [21] Liu J X, Liu G D, Yan H S, et al. Chemical Journal of Chinese Universities (刘菊湘, 刘国栋, 阎虎生, 等. 高等学校化学学报), 2001, 22(12): 2100