

高效液相色谱法测定化妆品中的泛酸及 D-泛醇

毛希琴* , 胡 侠 , 潘 炜

(大连市产品质量监督检验所, 辽宁 大连 116023)

摘要 :建立了针对不同基质化妆品(膏霜、乳液、水剂化妆品、油剂化妆品、蜡基化妆品、指甲油等)中泛酸(维生素 B₅)及 D-泛醇(维生素原 B₅)的富集方法及同时测定的高效液相色谱(HPLC)法。利用水和与水不互溶的有机溶剂组成的双液相体系,首先将泛酸及 D-泛醇与化妆品中油性成分及表面活性剂等基质成分初步分离,然后用亚铁氰化钾-乙酸锌共沉淀剂去除提取液中的水溶性成分,继而在酸性条件下将泛酸和 D-泛醇富集于 C18 固相萃取填料上,脱除其他水溶性干扰物后,用 40% 甲醇水溶液洗脱,用 HPLC 分离,紫外检测器检测,外标法定量。该方法在泛酸和 D-泛醇的含量为 0.1 ~ 10 μg/g 范围内有很好的线性,线性相关系数分别为 0.998 9 和 0.999 6。不同化妆品基质中目标成分的方法回收率均在 90% 以上。对泛酸及 D-泛醇的检出限均为 30 μg/g,定量限均为 100 μg/g。实验表明该方法可用于化妆品中泛酸及 D-泛醇的同时测定,结果准确可靠。

关键词 :高效液相色谱法 ;泛酸 ;D-泛醇 ;化妆品

中图分类号 :O658

文献标识码 :A

文章编号 :1000-8713(2010)11-1061-06

Simultaneous determination of pantothenic acid and D-panthenol in cosmetics by high performance liquid chromatography

MAO Xiqin* , HU Xia , PAN Wei

(Dalian Institute of Product Quality Supervision & Inspection, Dalian 116023, China)

Abstract : A high performance liquid chromatographic method (HPLC) and sample pretreatment method were developed for the simultaneous determination of pantothenic acid (vitamin B₅) and D-panthenol (provitamin B₅) in cosmetics with different matrices (including of creams, lotions, aqueous cosmetics, oily cosmetics, wax-based cosmetics, nail polish etc). A liquid-liquid extraction system composed of water and water-immiscible solvent was used to preliminarily separate the target components from other oil-soluble components and surfactants in cosmetics, then macromolecular water-soluble matrices in cosmetics were removed by coprecipitation with potassium ferrocyanide-zinc acetate precipitating agent, and then under acid condition, pantothenic acid and D-panthenol were enriched on a C18 solid-phase extraction sorbent. After the removal of other water-soluble impurities, target components were eluted by 40% methanol and then separated and quantitatively analyzed by high performance liquid chromatography with external standard method. Good linear relationship was achieved in the concentration range of 0.1 - 10 μg/g for pantothenic acid and D-panthenol. The linear correlation coefficients were separately 0.998 9 and 0.999 6. The average recoveries of the target components in cosmetics were more than 90%. Limit of detection of the method was 30 μg/g and the limit of quantification was 100 μg/g. This method can be used to simultaneously determine pantothenic acid and D-panthenol in cosmetics. The results are accurate and reliable.

Key words : high performance liquid chromatography (HPLC); pantothenic acid; D-panthenol; cosmetic

* 通讯联系人:毛希琴,博士,高级工程师,主要研究方向为食品、药品、包装材料以及化妆品中功效成分及禁用成分检测方法的开发与开发. Tel : (0411) 84604460, E-mail : maoxiqin@sina.com.cn.

基金项目 :国家标准计划项目(No. 20081995-T-607).

收稿日期 2010-09-02

泛酸(维生素 B₅)作为重要的生理活性物质,在动植物中广泛分布。D-泛醇是生物体合成泛酸的前体,又称维生素原 B₅。一般公认泛酸与头发、皮肤的营养状态密切相关,能防止毛发干燥、脱落,对毛发具有调理和修复作用,可减少毛发损伤、分叉和纠结,增加毛发光泽。泛酸对皮肤具有保湿和抗衰老的作用,能促进皮肤正常的角质化,促进伤口愈合,有抗炎作用。泛酸还能够舒缓瘙痒,对湿疹、晒伤、虫咬、婴儿尿疹都有一定疗效。因此泛酸和 D-泛醇(作为泛酸的同效成分)在膏霜、乳液、香波、护发素、发胶、摩丝、唇膏、指甲油等诸多化妆品产品中有广泛的应用前景。

目前许多国家已对化妆品中使用日益增多的功效成分的功能评定提出要求,并对化妆品中的这些成分进行监测,以维护消费者的权益。我国已在今年开始实施的《化妆品标签标识管理规定》中要求对化妆品进行全成分标注,因此功效成分的检验也必将成为我国今后化妆品质量控制的重要内容。泛酸和 D-泛醇作为广泛使用的化妆品功效成分,有必要对其建立准确的测定方法。同时为维护成分标注的规范性及质量控制的便利性,泛酸和 D-泛醇这对同效物的同时测定十分必要,但化妆品基质的复杂性、多样性使目标物的定性定量分析极富挑战性。

目前报道的检测 D-泛醇的方法是将水水解^[1,2],利用显色或荧光反应进行间接测定,这种方法在使用中容易受到复杂基质的干扰;也有采用高效液相色谱(HPLC)法测定 D-泛醇的报道^[3]。而泛酸含量的检测方法目前已报道的有稳定同位素稀释法^[4]、极谱法^[5]、毛细管区带电泳法^[6]和 HPLC 法^[7-11]等,其中最多的是 HPLC 法,但多限于食品中该成分的检测,尚未见有化妆品中泛酸的检测方法的报道。目前亦未见有同时测定泛酸和 D-泛醇的方法。本研究针对不同的化妆品类别建立了有效的前处理方法,排除了化妆品样品中其他添加成分带来的干扰,建立了灵敏准确的定量测定两种目标成分的 HPLC 法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

仪器:Agilent 1200 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司)。

试剂:泛酸钙(纯度 > 99%)购自日本 Wako 公司,D-泛醇(纯度 > 99%)购自美国 International Laboratory 公司。C18 固相萃取小柱(200 mg, 3 mL),亚铁氰化钾、乙酸锌和异辛烷为分析纯,甲醇

和甲酸为色谱纯。配制泛酸和 D-泛醇的系列标准溶液质量浓度分别为 1、10、50、100、200、400、800、1 000 μg/L,于 4~6 °C 条件下保存。

1.2 样品制备

1.2.1 化妆水、乳液、中性及弱油性膏霜等水易分散的化妆品样品的制备

称取 0.2 g 样品(精确至 0.01 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,在 50 °C 条件下进行氮吹,以尽量除去样品中的水分。向离心管中加入 3.6 mL 的 0.1 mol/L 甲酸溶液及 200 μL 乙酸锌溶液,涡旋混合使样品均匀分散,然后向溶液中准确添加 200 μL 亚铁氰化钾溶液,振荡摇匀,向离心管中加入 3 mL 氯仿,涡旋混合 2 min,然后于 5 000 r/min 条件下离心 5~20 min。

准确移取 2 mL 上层溶液过 C18 固相萃取小柱,用 1 mL 0.1 mol/L 甲酸溶液淋洗柱床后,在小柱出口处放置 2 mL 小试剂瓶,准确添加 1 mL 40%(体积分数,下同)甲醇水溶液淋洗柱床,收集流出溶液,涡旋混合,待测。

1.2.2 油性膏霜、油剂类化妆品等水不易分散的化妆品样品的制备

称取 0.2 g 样品(精确至 0.01 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,先向离心管中加入 2 mL 氯仿,涡旋混合至样品均匀分散后,再向离心管中准确加入 3.6 mL 0.1 mol/L 甲酸溶液及 200 μL 乙酸锌溶液进一步分散,涡旋混合 2 min 后,继续向离心管中准确加入 200 μL 亚铁氰化钾溶液,涡旋混合后,于 5 000 r/min 条件下离心 5~20 min。

余下步骤与 1.2.1 节相同。

1.2.3 唇膏、唇彩、发蜡等蜡基化妆品样品的制备

称取 0.2 g 样品(精确至 0.01 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,向离心管中加入 2 mL 异辛烷,涡旋。若样品不能够完全分散,需将离心管置于 80 °C 水浴中 5 min,待样品完全融化后,向离心管中准确加入 3.6 mL 的 0.1 mol/L 甲酸(80 °C 水浴预热)及 200 μL 乙酸锌溶液,涡旋 1 min 后,将离心管置于 80 °C 水浴平衡 5 min,取出再涡旋 1 min,再向溶液中准确添加 200 μL 亚铁氰化钾溶液及 2 mL 氯仿,振荡摇匀,于 5 000 r/min 离心 5~20 min。若样品完全分散,则无需水浴加热,直接向离心管中准确加入 3.6 mL 的 0.1 mol/L 甲酸(80 °C 水浴预热)及 200 μL 乙酸锌溶液,涡旋 2 min,然后向溶液中准确添加 200 μL 亚铁氰化钾溶液及 2 mL 氯仿,涡旋混合后于 5 000 r/min 条件下离心 5~20 min。

余下步骤与 1.2.1 节相同。

1.2.4 指甲油样品的制备

称取 0.2 g 样品(精确至 0.01 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,向离心管中加入 2 mL 乙酸丁酯-氯仿混合溶剂,涡旋混合至样品完全溶解并均匀分散,向离心管中准确加入 3.6 mL 的 0.1 mol/L 甲酸及 200 μ L 乙酸锌溶液,涡旋混合 2 min 后,向溶液中准确添加 200 μ L 亚铁氰化钾溶液,涡旋混合后于 5 000 r/min 离心 5~20 min。

余下步骤与 1.2.1 节相同。

1.3 HPLC 分析条件

Agilent Bonus RP 色谱柱(100 mm \times 3 mm, 1.8 μ m);柱温:室温。流动相 A 为 2% 甲醇水溶液(含 0.05% (体积分数,下同)甲酸),B 为 40% 甲醇水溶液(含 0.05% 甲酸)。洗脱程序:0~15 min, 100% A;15~20 min, 100% B;20~30 min, 100% A。流速:0.3 mL/min。检测波长:200 nm。进样量 5 μ L。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 提取剂的选择

提取剂的选择是基于泛酸和 D-泛醇的水溶性的特点和样品基质的特点来确定的。如果根据成分的溶解性来划分,化妆品基质成分一般可分为脂溶性成分(如蜡质、硬脂酸和羊毛脂等)、水溶性成分、有机溶剂和水都不溶的无机成分以及易在有机相和水界面富集的表面活性剂成分。实验中我们尝试先采用水不溶的有机相和水相构成的双液相分配体系将化妆品中复杂的基质成分按照溶解性进行大致分配,将目标成分富集于水相,实现与无机成分、脂溶性成分及大部分表面活性剂成分的初步分离。由于目标成分富集在水相,在满足提取效率的前提下,考虑到转移的便利性,应尽量选择水相为分布在上层的提取剂体系。

首先考察了泛酸和 D-泛醇两种目标成分在乙酸乙酯/水、乙酸丁酯/水、氯仿/水、二氯甲烷/水、异辛烷/水双液相体系中的分配情况。研究表明无论在水相为酸性(含 0.1 mol/L 甲酸)、碱性(含 0.1 mol/L 氨水)还是中性(纯水)条件下,两种目标成分在异辛烷/水及氯仿/水双液相体系中几乎 100% 分布在水相;两种目标成分在二氯甲烷/水体系中的分配情况与氯仿/水体系相似,只是在水相的分配程度较氯仿/水体系略有降低;乙酸乙酯/水以及乙酸丁酯/水体系中,在水相为中性(纯水)和碱性(含 0.1 mol/L 氨水)条件下时两种目标成分约

90% 分配在水相,但在酸性条件下,泛酸和 D-泛醇在水相的分配比例降至 65% 左右。

鉴于以上的实验结果及之后需要在水相为酸性条件(含 0.1 mol/L 甲酸)下进行固相萃取,我们在保证样品能够充分分散的前提下均采用了氯仿/水双液相体系作为样品预处理的第一步,结果证明这种双液相体系适合于绝大部分的化妆品样品的预处理。但考虑到样品的分散性,对于化妆水、乳液、中性及弱油性膏霜等水易分散的样品,先加入水相(含 3.6 mL 0.1 mol/L 甲酸和 200 μ L 乙酸锌溶液)进行分散,而对于油性膏霜、油剂类化妆品等水不易分散的样品则需先加入氯仿进行分散。由于化妆水等样品中的水分会影响到双液相体系中水相的最终体积,影响到定量的准确性,因此增加了 50 $^{\circ}$ C 条件下氮吹的步骤,以除去样品中的水分。

对于指甲油样品,由于氯仿无法使样品分散,考虑到指甲油中含有大量的乙酸乙酯及乙酸丁酯作为溶剂,因此乙酸乙酯和乙酸丁酯是理想的样品分散溶剂。但是用乙酸乙酯/水或乙酸丁酯/水双液相体系提取目标成分,目标成分将有 10% 左右的损失;而在乙酸乙酯或乙酸丁酯中加入氯仿(氯仿-乙酸乙酯或乙酸丁酯体积比为 4:3),不仅可改变双液相体系中有有机相的比例使有机相由轻相变为重相下沉,从而增加水相转移的便利性,而且降低了目标物在有机相的分配,使目标物的收率提高到近 100%。但是水相中微量溶解的乙酸乙酯会带来很大的干扰,将乙酸乙酯换为乙酸丁酯则能够避免这种干扰,因此最终选择氯仿-乙酸丁酯/水双液相体系对指甲油产品进行预处理。

在唇膏、唇彩、发蜡等蜡基化妆品样品中,除了啫喱类产品外,在常温条件下大多为固态,因此很难用溶剂进行分散。蜡基化妆品样品的熔点范围较宽,但是在 80 $^{\circ}$ C 水浴条件下,一般的蜡基化妆品都可以融化。实验中在 80 $^{\circ}$ C 水浴条件下,11 个的蜡基化妆品样品均在短时间内(2 min 左右)转化为液态。考虑到该温度已高于氯仿的沸点(61.7 $^{\circ}$ C),我们选用目标成分几乎 100% 分配在水相的异辛烷/水双液相体系用于蜡基类化妆品中目标成分的初步提取。但考虑到该体系中水相是处在下层的重相,不便于移取,因此在有机相异辛烷中加入氯仿(1:1 v/v)增加有机相的比重,使水相重新变为轻相,增加了移取的便利性和准确性。考虑到氯仿的挥发性,必须等加热的溶液冷却后才能加入。

2.1.2 共沉淀反应脱除提取液中的大分子基质

用双液相体系处理化妆品样品后,很多样品的

上层水相仍比较浑浊,黏度也比较大,给过滤或者固相萃取造成困难。这主要是化妆品中的一些大分子的水溶性基质成分(如增稠剂等)带来的,为此参考 GB/T 24800.2-2009^[12]中的方法,使用乙酸锌和亚铁氰化钾共沉淀剂去除水溶液中的这些大分子基质。结果表明共沉淀后的水相更容易过滤,同时并未对目标成分的收率有明显影响。

2.1.3 C18 固相萃取方法的建立

我们对目标成分在酸性(0.1 mol/L 甲酸)、碱性(0.1 mol/L 氨水)、中性水溶液条件下过 C18 小柱的损失情况进行了考察,发现在酸性条件下泛酸和 D-泛醇几乎被 100% 吸附,中性条件下泛酸有 80% 流失,而碱性条件下泛酸在 C18 小柱上几乎不保留。为此我们选择在酸性条件下进行固相萃取。在甲酸浓度为 0.1 mol/L 时,目标成分不被洗脱,因此可用该条件对固相萃取柱进行淋洗,脱除提取液中的水溶性成分。

而洗脱则需要在保证目标成分 100% 洗脱的条件下用尽量低的甲醇浓度,以尽量脱除强保留成分的干扰。实验中分别用 1 mL 5%、10%、20% 和 40% 甲醇水溶液对吸附在 C18 上的 1 mg 目标成分进行洗脱,并对洗脱效率进行了考察。结果显示 5% 甲醇水溶液对目标成分无洗脱能力,20% 甲醇水溶液条件下两种目标成分的洗脱效率为 80%,而采用 40% 甲醇水溶液可将两种目标成分 100% 洗脱。为此选择 40% 甲醇水溶液作为洗脱条件。

2.2 HPLC 条件的优化

2.2.1 色谱柱的选择

考察了泛酸和 D-泛醇在 Agilent SB-C18、Eclipse-C18、SB-Aq 和 Bonus RP 色谱柱上的保留行为。结果显示目标成分在 SB-C18 柱、Eclipse-C18 柱上基本不保留;在 SB-Aq 及 Bonus RP 柱上的保留令人满意,但泛酸和 D-泛醇在 SB-Aq 柱上不能分开,无法分开定量,只有在 Agilent Bonus RP 柱上有很好的分离度,为此选择 Agilent Bonus RP 柱作为实验用色谱柱。

2.2.2 流动相中酸的种类和添加比例的确定

由于泛酸属于弱的有机酸,因此在通常情况下存在解离平衡,在色谱行为上则表现为严重的拖尾现象。实验证明在流动相中添加 0.05% 的甲酸将有效地抑制泛酸的解离,改善其色谱峰的拖尾现象。比较了流动相为 5% 甲醇水溶液时甲酸的添加比例分别为 0.05%、0.1%、0.2% 条件下两种目标化合物的色谱保留行为。结果显示随着甲酸添加比例的增加,目标化合物的色谱保留基本没有太大变化,但是

目标化合物的紫外吸收响应值随甲酸量的增加呈减少趋势。这是因为随甲酸量的增加,流动相的背景吸收显著增强,致使目标化合物的响应信号降低,检测灵敏度相应也降低。

实验中还比较了流动相中乙酸的添加比例对两种目标化合物的色谱保留行为的影响。结果显示当流动相中乙酸的添加量在 0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4% 范围变化时,对泛酸的色谱保留影响较大,而对 D-泛醇的影响相对较小;但随着乙酸添加比例的增加,两种目标化合物的色谱保留和色谱分离度均呈现降低趋势。与流动相中甲酸比例增加时目标化合物紫外响应降低现象相同,随着乙酸量的增加,目标化合物的紫外响应也呈减少趋势。

比较了以 5% 甲醇水溶液为流动相时,分别添加 0.05% 甲酸和 0.05% 乙酸后目标化合物的色谱保留及紫外吸收的响应情况。结果显示(如图 1 所示)0.05% 乙酸条件下,两种目标化合物的色谱分离度明显优于 0.05% 甲酸条件下的色谱分离度,但是目标化合物的紫外吸收的响应值明显低于 0.05% 甲酸条件下的响应值。

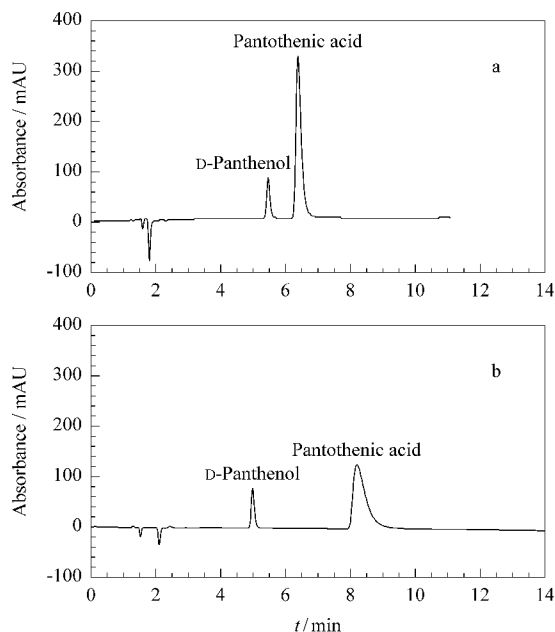


图 1 流动相中添加 (a) 0.05% 甲酸和 (b) 0.05% 乙酸对泛酸和 D-泛醇的色谱行为的影响

Fig. 1 Effects of (a) 0.05% formic acid and (b) 0.05% acetic acid in mobile phase for the separation of pantothenic acid and D-pantthenol

考虑到目标成分的色谱保留及紫外吸收的响应情况,在保证两种目标成分能够完全分离的情况下,确定在流动相中添加 0.05% 的甲酸作为酸性改性剂。考虑到当酸性改性剂为乙酸时对色谱柱的选择性有较大影响,因此只有在以甲酸为酸性改性剂时

在分析过程中中遇到干扰时,可考虑改用乙酸,相应的流动相切换时间也应调整。

2.2.3 流动相中甲醇浓度的确定

首先对流动相中甲醇浓度分别为 5%、10%、20%、30%、40% 时目标化合物在色谱柱上的保留情况进行比较。结果显示,随着甲醇浓度的增加,目标成分的保留逐渐减弱,分离度也呈降低趋势,但即使甲醇浓度为 40% 时两种目标成分仍能够完全分离。同时随着流动相中甲醇浓度的增加,流动相背景吸收的增强,目标化合物的紫外响应相应降低。考虑到样品中其他水溶性成分的干扰,应尽量增强目标成分的保留及检测灵敏度,为此最初确定 5% 甲醇水溶液为流动相。但测试中发现在该流动相条件下,沐浴露、洗面奶、膏霜等样品的分离谱图中在 D-泛醇和泛酸色谱峰之间都夹着另外一个色谱峰(如图 2a 所示),当目标成分含量较低时,该成分将对目标成分的定量造成干扰。而当我们将流动相中的甲醇浓度降低到 2% 时,这个干扰成分的出峰时间被提前到 D-泛醇之前(如图 2b 所示),不再干扰检测,因此最终确定流动相中的甲醇浓度为 2%。考虑到固相萃取的洗脱条件为 40% 的甲醇,因此 2% 甲醇水溶液为流动相时会有很多强保留成分被保留

在色谱柱上,可能给后面样品的检测造成干扰,为此我们在目标成分出峰后增加了 40% 甲醇洗脱的步骤,以消除强保留成分可能带来的干扰,同时对色谱柱起到清洁作用。

2.2.4 方法学评价

以色谱峰的峰面积 Y 对目标化合物的含量 X (mg/g) 进行线性回归分析,泛酸和 D-泛醇的线性相关系数分别为 0.9989 和 0.9996,线性关系良好。

向不同基质的化妆品中分别添加 0.1、1.0、10 mg/g 的泛酸钙和 D-泛醇,进行回收率试验及精密度分析,结果如表 1 所示。

表 1 对不同基质化妆品中 D-泛醇和泛酸的精密度和回收率

Table 1 Recoveries and precisions of the different cosmetics spiked with pantothenic acid and D-panthenol

Cosmetic	Added/ (mg/g)	D-Panthenol		Pantothenic acid	
		Recovery/ %	RSD/ %	Recovery/ %	RSD/ %
Body soap	0.1	98.1	13.7	99.5	14.6
	1	99.1	7.2	100.5	9.4
	10	93.2	9.9	95.0	10.7
Nutrition cream	0.1	96.7	14.9	98.9	15.2
	1	97.3	6.2	94.8	6.4
Lipstick	0.1	107.1	8.3	104.5	7.6
	1	98.7	12.8	97.8	13.2
	10	110.4	8.2	107.6	8.6
Nail polish	0.1	99.7	9.3	99.0	9.1
	1	96.9	11.3	97.0	11.7
	10	99.0	5.7	98.6	6.9
	10	97.5	6.0	98.9	7.6

结果表明方法对不同基质的化妆品,虽然回收率略有差别,但平均回收率均在 90% 以上,相对标准偏差在 5.7% ~ 15.2% 之间。

向不含目标物的营养日霜、沐浴液、指甲油和唇膏基质中定量添加泛酸和 D-泛醇标准溶液,按标准方法处理后,测定色谱峰信噪比大于 10 时的添加量确定为本方法的定量限,测定色谱峰信噪比大于 3 时的添加量确定为本方法的最小检出限。由此确定方法对泛酸钙和 D-泛醇的检出限均为 30 $\mu\text{g/g}$,定量限为 100 $\mu\text{g/g}$ 。

2.3 其他化妆品样品的测定

用本方法对包括膏霜、乳液、爽肤水、沐浴露、护发素、洗发香波、洗面奶、唇膏、指甲油、摩丝、睫毛膏、面膜、焗油膏、香皂、牙膏等 100 余份化妆品样品中的泛酸和 D-泛醇的检测结果表明,阳性样品中二者的色谱峰一般是保留最强的两个峰,不同基质的化妆品样品干扰成分的色谱峰均在 D-泛醇之前出峰,阴性样品的色谱图中泛酸和 D-泛醇的出峰时间处均无其他干扰成分的色谱峰出现;同时所有阳性

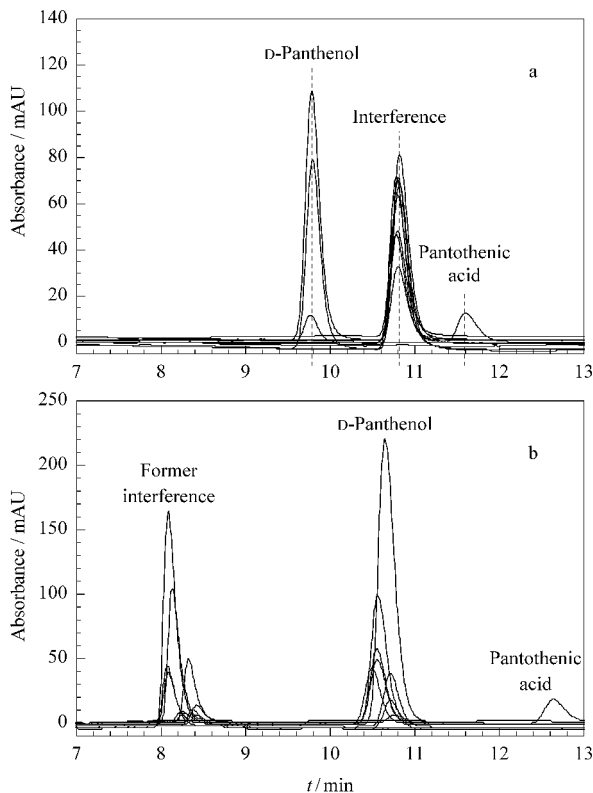


图 2 (a) 5% 甲醇和 (b) 2% 甲醇为流动相时化妆品样品的分离谱图

Fig. 2 Chromatograms of cosmetic samples with (a) 5% and (b) 2% methanol as mobile phase

样品测试结果经质谱方法确证均准确可靠,这也说明建立的样品前处理方法的有效性。

3 结论

建立了对不同基质化妆品中泛酸及 D-泛醇的富集方法及同时进行测定的 HPLC 法,采用双液相萃取、共沉淀反应以及固相萃取法联用的前处理手段,很好地解决了复杂基质的化妆品样品中的基质成分可能给 HPLC 分析带来干扰的问题。本方法前处理净化效果好、准确可靠,可作为化妆品中泛酸和 D-泛醇的定量分析方法。

参考文献:

- [1] Shehata M A M , Tawakkolb S M , Abdel Fattah L E. J Pharm Biomed Anal , 2002 , 27(5) : 729
- [2] QB/T 2407-1998
- [3] Liu S. Chinese Journal of Chromatography (柳松. 色谱) , 2003 , 21(4) : 394
- [4] Rychlik M. Anal Chim Acta , 2003 , 495(1) : 133
- [5] Wang L H , Tseng S W. Anal Chim Acta , 2001 , 432(1) : 39
- [6] Sádecká J , Karasová G , Polonský J. Eur Food Res Technol , 2003 , 216(5) : 440
- [7] GB/T 22246-2008
- [8] GB/T 18397-2001
- [9] Chen Z , Chen B , Yao S Z. Anal Chim Acta , 2006 , 569 (1/2) : 169
- [10] Takahashi K , Fukuwatari T , Shibata K. J Chromatogr B , 2009 , 877(22) , 2168
- [11] Jiang J D , Wang K X , Hao Y P , et al. China Dairy Industry (姜金斗 , 王克新 , 郝岩平 , 等. 中国乳品工业) , 2002 , 30 (2) : 37
- [12] GB/T 24800. 2-2009