

## UPLC-MS/MS 法测定猴头菌丝体中 18 种游离氨基酸的含量

唐翎<sup>1</sup>, 魏伟<sup>2\*</sup>, 赵勇<sup>3</sup>

(1. 中南大学湘雅医院药学部, 长沙 410008; 2. 中南大学湘雅医院普外科, 长沙 410008;

3. 湖南省药品检验研究院, 长沙 410001)

**摘要 目的:** 建立 UPLC-MS/MS 法测定猴头菌丝体中 18 种游离氨基酸的含量。**方法:** 采用 Hypersil GOLD C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), 以乙腈-0.1% 甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.2 mL · min<sup>-1</sup>; 以电喷雾离子源 (ESI) 正离子模式将样品离子化, 多反应监测 (MRM) 模式下对 18 种氨基酸进行测定。**结果:** 18 种氨基酸相关系数为 0.999 3~1.000; 平均回收率 ( $n=6$ ) 为 98.3%~100.0%, RSD 在 0.34%~1.5%。9 批猴头菌丝体样品中, 18 种游离氨基酸总量在 72.1~97.3 mg · g<sup>-1</sup> 之间。**结论:** 本法可作为猴头菌丝体中游离氨基酸的含量测定方法。

**关键词:** 猴头菌丝体; 游离氨基酸; 含量测定; 超高效液相色谱串联质谱法; 多反应监测模式

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 01-0112-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.01.14

## Determination of free amino acids in the mycelium of *Hericium* by UPLC-MS/MS

TANG Ling<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>2\*</sup>, ZHAO Yong<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China;

2. Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China;

3. Hunan Institute for Food and Drug Control, Changsha 410001, China)

**Abstract Objective:** To establish a method for the determination of 18 free amino acids in the mycelium of *Hericium* by UPLC-MS/MS. **Methods:** The amino acids were separated on a Hypersil GOLD C<sub>18</sub> column (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid solution as mobile phase at a flow rate of 0.2 mL · min<sup>-1</sup> by gradient elution. Detection was carried out by positive electrospray ionization (ESI) mass spectrometer in multiple reaction monitor (MRM) mode. **Results:** The correlation coefficients of 18 kinds of free amino acids ranged from 0.999 3 to 1.000. The average recoveries ( $n=6$ ) were 98.3%~100.0%, with RSD values of 0.34%~1.5%. The total amounts of 18 free amino acids in 9 batches of samples were from 72.1 to 97.3 mg · g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** This method can be used to determine the content of 18 free amino acids in the mycelium of *Hericium*.

**Keywords:** mycelium of *Hericium*; free amino acids; content determination; UPLC-MS/MS; MRM

\* 通信作者 Tel: 13974861054; E-mail: 172144075@qq.com

第一作者 Tel: 13873163229; E-mail: tangling82@126.com

猴头菌丝体原名猴头菌培养物<sup>[1]</sup>,现行标准收载于中国药典 2015 年版一部猴头健胃灵片制剂项下<sup>[2]</sup>,是猴头健胃灵片和猴头健胃灵胶囊的主要成分。目前有关猴头菌丝体的文献报道主要集中在其多糖方面<sup>[3-4]</sup>;研究表明,猴头菌多糖具有多种生物活性和药理作用,能增强巨噬细胞的吞噬功能,促进溶血素的形成,抗白细胞下降,降血糖,抗凝血,抗血栓,抗突变和抗衰老等。因此,猴头菌多糖备受人们关注,成为近年来分子生物学、医药、食品科学等领域研究和开发应用的热点。但猴头菌丝体除含有多糖、多肽、活性纤维素酶及镁、锌、硒微量元素等外,还含有丰富的氨基酸类成分。氨基酸是组成蛋白质的基本单元,同时又是人体所必需的营养物质,对人体疾病和康复起着极为重要的作用,因此,测定猴头菌丝体中氨基酸的含量对猴头菌丝体的开发和利用具有十分重要的意义。

目前,氨基酸的检测技术种类繁多,传统的氨基酸分析方法主要是阳离子交换色谱法<sup>[5]</sup>,该法操作烦琐,成本较高;目前多采用柱前衍生化反相高效液相色谱法<sup>[6-7]</sup>或毛细管电泳法<sup>[8-9]</sup>,这 2 种方法前处理复杂,均需对供试品进行衍生化,并且分析时间较长;随着技术的发展,也有报道采用质谱法测定氨基酸的含量<sup>[10-15]</sup>,但猴头菌丝体中氨基酸的含量测定未见有报道。本文采用 UPLC-MS/MS 法对猴头菌丝体中 18 种游离氨基酸含量直接进行测定,方法简便、快速,灵敏度高,重复性好,实用性强,为进一步控制该药品的质量提供了技术参考。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-MS-8030 液相色谱-串联质谱联用仪, Thermo Hypersil GOLD C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶;赛默飞世尔公司), HU20600F 超声波清洗仪(300 W,

25 kHz;上海珂准仪器有限公司)。

氨基酸对照品:谷氨酸(Glu,批号 140690-201203)、丝氨酸(Ser,批号 140688-200401)、甘氨酸(Gly,批号 140689-201103)、精氨酸(Arg,批号 140685-201104)、苏氨酸(Thr,批号 140682-200401)、丙氨酸(Ala,批号 140680-201002)、脯氨酸(Pro,批号 140677-201206)、缬氨酸(Val,批号 140681-201202)、异亮氨酸(Ile,批号 140683-200401)、亮氨酸(Leu,批号 140687-201102)、苯丙氨酸(Phe,批号 140676-200405)、盐酸赖氨酸(Lys,批号 140673-201207)、盐酸组氨酸(His,批号 140693-200401)、甲硫氨酸(Met,批号 140684-201102)、L-酪氨酸(Tyr,批号 111577-200201)、色氨酸(Trp,批号 140686-201303)、瓜氨酸(Cit,批号 110875-201607)均购自于中国食品药品检定研究院;L-天门冬氨酸(Asp,批号 120909,含量 ≥ 98%),购于上海士锋生物科技有限公司。

猴头菌丝体由湖南新汇制药股份有限公司提供,共 9 批样品,批号分别为 20150301、20150401、20130625、20150119、20141229、20141217、20141224、20141122、20150302。

乙腈为色谱纯试剂,水为超纯水,其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱-质谱条件** 色谱柱:Thermo Hypersil GOLD C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~4 min, 100%B; 4~5 min, 100%B → 85%B,维持 3 min);流速:0.2 mL · min<sup>-1</sup>;柱温:40 °C;进样量:3 μL。离子源:电喷雾离子源(ESI);离子化模式:正离子模式;多反应监测(MRM);源电压:4 kV;脱溶剂温度:300 °C;加热模块温度:400 °C;雾化气:3.0 L · min<sup>-1</sup>;干燥气:10 L · min<sup>-1</sup>;其他条件见表 1。

表 1 18 种氨基酸质谱参数

Tab. 1 MS parameters of 18 amino acids

氨基酸 (amino acid)	<i>m/z</i>	碰撞能量 (collision energy)/eV	氨基酸 (amino acid)	<i>m/z</i>	碰撞能量 (collision energy)/eV
Asp	134 → 74	15	Lys	147 → 84	17
Tyr	182 → 136	15	Arg	175 → 70	18
Phe	166 → 120	15	Glu	148 → 84	15
Thr	120 → 56	15	Ala	90 → 44	14
Met	150 → 56	16	His	156 → 110	18
Ile	132 → 86	15	Val	118 → 72	15
Leu	132 → 86	15	Pro	116 → 70	17
Ser	106 → 60	15	Gly	76 → 30	16
Trp	205 → 188	15	Cit	176 → 159	15

**2.2 对照品储备液的制备** 精密称取 18 种氨基酸的对照品适量,分别置 25 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,制得约  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  单一成分的溶液,即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品约 0.2 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加水约 90 mL,超声处理(300 W,

25 kHz) 20 min,放冷,加水至刻度,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4 测定方法** 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 3  $\mu\text{L}$ ,注入液-质联用仪,测定,记录色谱图(见图 1)。

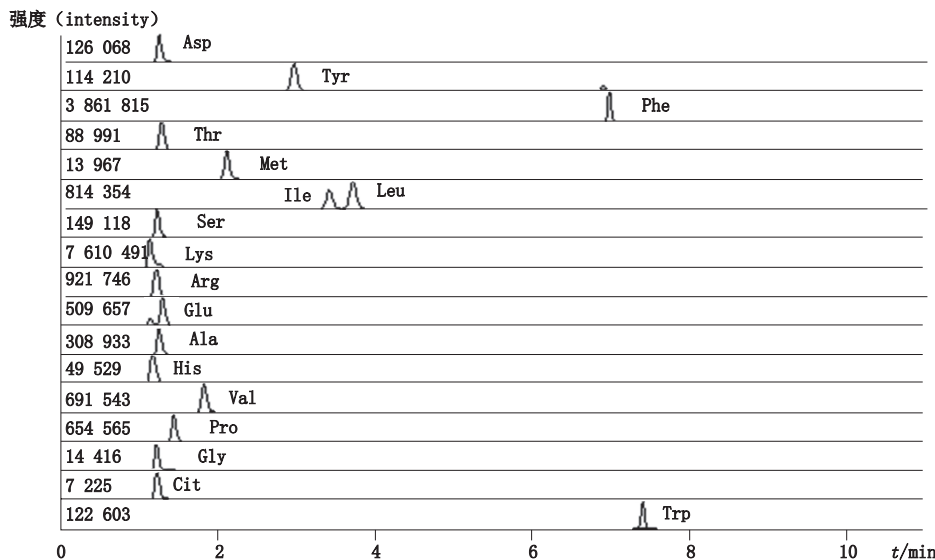


图 1 18 种氨基酸 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of 18 amino acids

**2.5 线性关系考察** 分别精密量取上述各氨基酸对照品储备液适量,按供试品中各氨基酸的实际含量,配制 6 个浓度点的混合对照品溶液;分别精密吸取混合对照品溶液各 3  $\mu\text{L}$ ,注入液-质联用仪进行测定,以

峰面积积分值  $Y$  为纵坐标,对照品质量浓度  $X$  ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标,绘制标准曲线。其回归方程、相关系数 ( $r$ )、线性范围详见表 2,结果表明 18 种氨基酸对照品在各自线性范围内线性关系良好。

表 2 18 种氨基酸线性回归方程、相关系数、线性范围及检测限、定量限

Tab. 2 Regression equation, correlation, linear range, LOD and LOQ of 18 amino acids

氨基酸 (amino acid)	线性方程 (linear equation)	$r$	线性范围 (linear range) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOD/ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOQ/ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
Asp	$Y=7.111 \times 10^5 X+4.299 \times 10^4$	0.999 3	0.11~2.10	6.9	27.6
Tyr	$Y=4.905 \times 10^5 X+5.805 \times 10^3$	0.999 9	0.10~3.01	12.5	37.5
Phe	$Y=6.005 \times 10^6 X+2.701 \times 10^5$	0.999 9	0.04~1.68	5.2	20.8
Thr	$Y=9.832 \times 10^5 X+1.199 \times 10^4$	0.999 5	0.10~1.52	4.5	13.5
Met	$Y=1.935 \times 10^6 X+2.181 \times 10^4$	0.999 6	0.09~1.50	1.2	4.8
Ile	$Y=6.104 \times 10^6 X+2.291 \times 10^5$	1.000	0.11~2.10	2.9	11.6
Leu	$Y=5.018 \times 10^6 X+1.081 \times 10^5$	0.999 7	0.11~3.00	2.1	8.4
Ser	$Y=8.808 \times 10^5 X+1.530 \times 10^5$	0.999 9	0.11~1.67	8.3	24.9
Lys	$Y=2.962 \times 10^6 X+7.791 \times 10^4$	0.999 8	0.10~2.02	2.2	8.8
Arg	$Y=3.008 \times 10^6 X-8.097 \times 10^3$	0.999 5	0.09~2.01	1.2	4.8
Glu	$Y=1.993 \times 10^6 X+3.100 \times 10^4$	0.999 6	0.10~2.02	3.3	13.2
Ala	$Y=9.927 \times 10^5 X+8.021 \times 10^4$	0.999 4	0.11~2.00	5.1	15.3
His	$Y=2.006 \times 10^6 X+4.301 \times 10^4$	0.999 8	0.11~2.13	4.0	12.0
Val	$Y=3.994 \times 10^6 X+1.700 \times 10^5$	0.999 8	0.11~2.00	8.3	24.9
Pro	$Y=4.072 \times 10^6 X+7.509 \times 10^3$	0.999 9	0.10~2.03	1.5	6.0
Gly	$Y=2.101 \times 10^5 X+5.507 \times 10^3$	0.999 6	0.11~2.01	4.0	16.0
Trp	$Y=3.013 \times 10^6 X+8.065 \times 10^3$	0.999 9	0.11~2.56	2.3	9.2
Cit	$Y=1.979 \times 10^6 X+1.002 \times 10^4$	0.999 5	0.10~2.14	1.7	6.8

**2.6 检测限和定量限** 将“2.5”项下最低浓度的混合对照品溶液逐步稀释,在选定的色谱条件下,进样分析,分别以  $S/N=3$  和  $S/N=10$  确定检测限(LOD)和定量限(LOQ),结果见表2。

**2.7 精密度试验** 精密吸取“2.5”项下标准曲线中间点的混合对照品溶液  $3\ \mu\text{L}$ ,连续进样6次,测得18种氨基酸峰面积的RSD在0.7%~1.3%之间,结果表明仪器精密度良好。

**2.8 重复性试验** 取同一批样品(批号20150302),按“2.3”项下方法制备6份供试品溶液,依法测定并计算,结果18种氨基酸含量的RSD在0.6%~1.6%

之间,表明重复性良好。

**2.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于配制后的0、4、9、14、19、24 h,精密吸取  $3\ \mu\text{L}$ ,注入液-质联用仪,记录峰面积,18种氨基酸峰面积的RSD在0.5%~1.5%之间,结果表明供试品溶液在24 h内稳定。

**2.10 加样回收率试验** 精密称取已知含量的同一批号(20150302)样品0.1 g共6份,分别以1:1加入各氨基酸对照品,照“2.3”项下方法制备供试溶液,进行回收率试验,求得加样回收率以考察方法准确度,详见表3。

表3 回收率试验结果( $n=6$ )

Tab. 3 Recoveries

氨基酸 (amino acid)	加入量 (added)/ $\mu\text{g}$	实测值(measured)/ $\mu\text{g}$						平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
Asp	690.25	692.04	685.98	687.26	682.09	693.65	685.78	99.6	0.63
Tyr	210.22	206.89	208.12	203.86	211.04	207.09	202.34	98.3	1.5
Phe	361.05	360.07	356.88	357.11	353.45	364.09	360.21	99.3	1.0
Thr	180.45	176.99	182.04	178.03	178.09	181.43	179.07	99.4	1.1
Met	50.82	50.21	50.98	49.89	50.11	51.02	50.34	99.2	0.93
Ile	320.46	318.67	319.08	321.86	319.72	317.99	320.01	99.7	0.42
Leu	481.32	478.06	479.65	483.01	480.98	477.89	481.03	99.8	0.41
Ser	391.02	390.76	392.68	390.99	387.05	389.07	390.66	99.8	0.49
Lys	390.08	388.09	389.79	391.08	393.01	389.33	388.92	100.0	0.45
Arg	682.05	676.09	679.77	683.06	681.34	680.75	681.55	99.8	0.35
Glu	960.56	965.03	954.89	953.01	961.09	957.83	959.12	99.8	0.45
Ala	521.04	520.07	521.89	517.79	520.65	516.03	519.36	99.7	0.40
His	260.82	257.93	259.54	258.17	261.11	262.03	259.47	99.6	0.62
Val	521.15	520.61	519.87	516.99	522.07	519.66	518.49	99.7	0.34
Pro	510.92	508.61	503.34	501.98	512.09	509.89	511.21	99.4	0.83
Gly	451.02	447.88	445.76	450.98	449.01	447.71	450.32	99.5	0.42
Trp	30.05	29.56	30.11	29.93	30.23	29.89	29.62	99.5	0.88
Cit	180.25	178.69	177.07	180.97	179.06	178.68	181.03	99.4	0.85

**2.11 样品含量测定** 精密称取9个批次的样品各2份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取  $3\ \mu\text{L}$ ,按“2.1”项下的色谱及质谱条件进样测定,以标准曲线法定量计算样品含量,结果见表4。

### 3 讨论

**3.1 样品提取方法及提取时间的选择** 本文比较了振摇1 h,超声提取20 min以及加热回流提取30 min,结果以超声提取20 min效果较好;考察了超声提取10、20、30 min,结果20 min后已提取完全。

表 4 样品含量测定结果 (mg · g<sup>-1</sup>, n=2)

Tab. 4 Results of sample determination

氨基酸 (amino acid)	lot No. 20150301	lot No. 20150401	lot No. 20130625	lot No. 20150119	lot No. 20141229	lot No. 20141217	lot No. 20141224	lot No. 20141122	lot No. 20150302
Asp	8.41	8.63	8.71	8.61	8.82	8.92	8.93	8.60	6.93
Tyr	2.62	2.42	2.55	2.46	2.51	2.51	2.64	2.62	2.11
Phe	5.81	5.40	5.61	5.83	5.85	5.94	6.07	5.85	3.62
Thr	2.13	2.11	2.20	2.42	2.31	2.41	2.43	2.32	1.81
Met	0.51	0.52	0.47	0.61	0.54	0.61	0.62	0.51	0.50
Ile	4.62	4.58	4.60	4.63	4.56	4.76	4.63	4.57	3.21
Leu	6.21	6.30	6.31	6.52	6.27	6.60	6.66	6.40	4.82
Ser	5.54	5.29	5.52	5.60	5.64	5.73	5.86	5.51	3.91
Lys	5.60	5.47	5.61	5.73	6.21	6.40	6.82	6.44	3.92
Arg	7.26	7.61	8.50	8.81	8.93	9.41	9.40	8.43	6.83
Glu	12.31	12.55	12.19	12.54	12.41	12.64	12.55	12.32	9.63
Ala	6.97	6.86	6.91	6.94	7.04	6.80	6.57	6.47	5.22
His	2.60	2.71	2.90	3.01	3.13	3.23	3.21	2.89	2.60
Val	6.43	6.53	6.81	6.72	6.85	6.90	6.92	6.53	5.21
Pro	5.82	5.79	5.68	5.90	6.07	6.11	5.92	5.80	5.12
Gly	5.64	5.27	5.73	5.81	5.14	5.52	5.33	5.21	4.50
Trp	0.42	0.40	0.51	0.62	0.46	0.50	0.51	0.47	0.31
Cit	2.20	2.18	2.33	2.41	2.22	2.32	2.20	2.08	1.81

**3.2 色谱柱的选择** 本实验曾采用 HILIC 柱进行分析,结果峰形和分离度均较差,故采用普通的 C<sub>18</sub> 柱进行试验,18 种氨基酸在 8 min 内全部流出,分析时间短,速度快,质谱难以区分的亮氨酸和异亮氨酸在本系统中达到了基线分离,其余未达到基线分离的氨基酸能通过质谱进行鉴别区分,从而实现定量分析,详见图 1。

**3.3 流动相的选择** 本实验流动相中加入 0.1% 的甲酸,可抑制氨基酸的解离,增加氨基酸在色谱柱上的保留,改善峰形,提高分离度,同时为氨基酸电离提供质子,增加正离子化信号,提高灵敏度。

**3.4 与 HPLC 法比较** 本实验也建立了柱前衍生化 HPLC 法测定猴头菌丝体中 18 种游离氨基酸的含量,并对 9 批猴头菌中 18 种游离氨基酸的含量进行了测定,2 种方法所测得结果基本一致,但 UPLC-MS/MS 法所得结果略高;分析原因可能为柱前衍生化所带来的影响,并且柱前衍生化操作麻烦,费时、

费力,HPLC 法分析时间也较长,与该法比较,本文所采用方法具有较大优势,不仅样品处理方法简便、快捷,无需衍生化,而且分析时间短,灵敏度高,所测得的结果更加真实可靠,更能反映样品中氨基酸的真实含量。

#### 参考文献

- [1] 湖南省中药材标准[S]. 2009  
Hunan Chinese Materia Medica Standards[S]. 2009
- [2] 中国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 1614  
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 1614
- [3] 李巧珍,刘朝贵,于海龙,等. 猴头菌不同生长发育期粗蛋白、粗多糖含量及水溶性粗多糖体外免疫活性[J]. 食用菌学报, 2011, 18(4): 73  
LI QZ, LIU CG, YU HL, et al, Protein, polysaccharide and β-glucan levels in *Hericium erinaceus* fruit bodies harvested at different development stages and the effect of extracted polysaccharide on NO production by RAW264.7 cells[J]. Acta Edulis Fungi, 2011, 18(4): 73

- [4] 杨焱,周昌艳,王晨光,等. 猴头菌多糖调节机体免疫功能的研究[J]. 食用菌学报, 2000, 7(1): 19  
 YANG Y, ZHOU CY, WANG CG, *et al*. Studies on immunoregulatory function of *Hericium erinaceus* polysaccharide[J]. Acta Edulis Fungi, 2000, 7(1): 19
- [5] SPACKMAN DH, STEIN WH, MOORE S. Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins an improved system[J]. Anal Chem, 1958, 30(7): 1185
- [6] 张萍,周玉春,王晓,等. HPLC 柱前衍生化法测定发酵虫草制剂中总氨基酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1338  
 ZHANG P, ZHOU YC, WANG X, *et al*. Determination of amino acid in fermented Cordyceps preparation by HPLC with precolumn derivatization method[J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(8): 1338
- [7] 孙莲,张焯,孟磊,等. 柱前衍生 RP-HPLC 法测定桑叶中 16 种游离氨基酸的含量[J]. 中国药房, 2008, 19(36): 2830  
 SUN L, ZHANG X, MENG L, *et al*. Determination of 16 kinds of free amino acids in *Morus alba* leaves by precolumn derivation RP-HPLC[J]. China Pharm, 2008, 19(36): 2830
- [8] 胡月芳,黄志强,李金芳. 毛细管电泳-电化学检测法测定淮山中 8 种必需氨基酸含量[J]. 分析测试学报, 2016, 35(4): 471  
 HU YF, HUANG ZQ, LI JF. Determination of eight essential amino-acids in Yam by capillary electrophoresis with electrochemical detection[J]. J Instrum Anal, 2016, 35(4): 471
- [9] 冯刚,温群英,王洪海. 柱前衍生-毛细管电泳法测定尿液中的羟脯氨酸[J]. 理化检验-化学分册, 2016, 52(8): 879  
 FENG G, WEN QY, WANG HH. Determination of hydroxyproline in urine by capillary electrophoresis with pre-column derivatization[J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2016, 52(8): 879
- [10] 王星,池玉梅,康安. 超高效液相色谱-串联质谱法定性和高效液相色谱法定量分析天南星中氨基酸成分[J]. 色谱, 2014, 32(12): 1326  
 WANG X, CHI YM, KANG A. Qualitative and quantitative analysis of the amino acids in Rhizoma Arisaematis by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and high performance liquid chromatography[J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(12): 1326
- [11] 王一红,冯家力,潘振球,等. 液相色谱-质谱/质谱联用技术分析 18 种游离氨基酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(2): 161  
 WANG YH, FENG JL, PAN ZQ, *et al*. The analysis of 18 free amino acids by liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry[J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16(2): 161
- [12] 张轶雯,倪君君,相婷,等. 串联质谱法测定血清中 20 种游离氨基酸含量[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(19): 2051  
 ZHANG YW, NI JJ, XIANG T, *et al*. Quantitative analysis of 20 free amino acids in serum by LC-MS/MS[J]. Lab Med Clin, 2010, 7(19): 2051
- [13] 陶蓓蓓,李鹏飞,张绪得,等. 液相色谱-串联质谱在全谱氨基酸检测中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2012, 4(1): 59  
 TAO BB, LI PF, ZHANG XD, *et al*. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the full spectrum of amino acid detection[J]. J Mol Diagn Ther, 2012, 4(1): 59
- [14] 李鹏飞,陶蓓蓓,张绪得,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定人体内 30 种氨基酸[J]. 分析化学, 2013, 41(9): 1347  
 LI PF, TAO BB, ZHANG XD, *et al*. High-flux detection of 30 kinds of amino acids with isotope-labeled internal standard by LC-MS/MS[J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(9): 1347
- [15] 刘阳,倪君君,相婷,等. 直接注入式串联质谱法测定氨基酸含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(3): 171  
 LIU Y, NI JJ, XIANG T, *et al*. Content determination of amino acids by direct-infusion tandem mass spectrometry[J]. J Shenyang Pharm Univ, 2011, 28(3): 171

(本文于 2017 年 1 月 26 日收到)