

## HPLC 法同时测定九苜肽蛹虫草软胶囊中还原型及氧化型谷胱甘肽含量\*

林宏琳<sup>1</sup>, 杨艳<sup>1</sup>, 童金华<sup>2</sup>

(1. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001; 2. 福建农林大学菌草研究所, 福州 350002)

**摘要 目的:** 建立 HPLC-SPD 法同时测定九苜肽蛹虫草软胶囊中还原型和氧化型谷胱甘肽的含量。**方法:** 以流动相为提取溶剂对样品进行超声提取; 选用 Atlantis T3 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.1% 三氟乙酸-乙腈 (95:5) 为流动相, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长 203 nm, 柱温 35 °C。**结果:** 样品中还原型和氧化型谷胱甘肽在 8 min 内得到很好的分离; 质量浓度分别在 50.4~504 μg · mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 7) 和 6.2~62 μg · mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 4) 线性良好; 检测限分别为 0.44 和 0.12 mg · g<sup>-1</sup>; 平均回收率 (*n*=9) 分别为 97.5% 和 93.4%; 3 批样品中还原型和氧化型谷胱甘肽含量分别是 70.2、70.5、70.1 mg · g<sup>-1</sup> 和 1.3、1.4、1.3 mg · g<sup>-1</sup>, 其含氧化型谷胱甘肽均小于谷胱甘肽总量的 2.0%。**结论:** 本方法能够满足日常分析检测的需要, 为含谷胱甘肽保健食品的质量控制提供科学依据。

**关键词:** 谷胱甘肽; 还原型谷胱甘肽; 氧化型谷胱甘肽; 活性寡肽; 巯基低分子肽; 九苜肽蛹虫草软胶囊; 高效液相色谱

中图分类号: R 917      文献标识码: A      文章编号: 0254-1793 (2017) 06-1001-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.06.11

## Simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione in Jiugantai Yongchongcao softgel by HPLC-SPD\*

LIN Hong-lin<sup>1</sup>, YANG-yan<sup>1</sup>, TONG Jin-hua<sup>2</sup>

(1. Fujian Center For Disease Control & Prevention, Fuzhou 350001, China;

2. Juncao Research Institute, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract Objective:** To establish an HPLC-SPD method for the simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione in Jiugantai Yongchongcao softgel. **Methods:** The samples were ultrasonically extracted with the mobile phase as extraction solvent; The chromatographic separation was achieved on an Atlantis T3 column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), using 0.1% trifluoroacetic acid-acetonitrile (95:5) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at 203 nm, and the column temperature was 35 °C. **Results:** Reduced and oxidized glutathione were well separated within 8 minutes; the calibration curves of reduced and oxidized glutathione showed good linearity in the range of 50.4-504 μg · mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 7) and 6.2-62 μg · mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 4), respectively; the detection limits were 0.44 mg · g<sup>-1</sup> and 0.12 mg · g<sup>-1</sup>, respectively; the average

\* 福建省医学创新课题 (2016-CXB-1)

第一作者 Tel: (0591)87531915; E-mail: erianlin@sina.com

recovery ( $n=9$ ) were 97.5% and 93.4%, respectively; The contents of reduced and oxidized glutathione in three batches were 70.2, 70.5, 70.1  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and 1.3, 1.4, 1.3  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , which containing oxidized glutathione were less than 2.0% of the total. **Conclusion:** This method can meet the needs of daily analytical testing for the quality control of health foods containing glutathione.

**Keywords:** glutathione; GSH; GSSG; active oligopeptide; mercapto low molecular peptide; Jiugantai Yongchongcao softgel; HPLC

谷胱甘肽是生物体内抗氧化防御系统中最重要的小分子活性寡肽<sup>[1]</sup>,是细胞内含量最丰富的巯基低分子肽<sup>[2]</sup>,具有重要的抗氧化作用和整合解毒作用<sup>[3-4]</sup>,分为还原型谷胱甘肽( $N-(N-L-\gamma$ -谷氨酰基-L-半胱氨酰基)甘氨酸, GSH)和氧化型谷胱甘肽( $N-(N-L-\gamma$ -谷氨酰基-L-半胱氨酰基)甘氨酸-2,2-二硫化物, GSSG)。谷胱甘肽与其他寡肽不同,就在于含有1个由半胱氨酸氨基与谷氨酸的 $\gamma$ -羧基构成的特殊肽键<sup>[5]</sup>,主要功能基团半胱氨酸巯基参与还原和共轭反应<sup>[6-7]</sup>。GSH在自由基、抗氧化剂与营养素及其代谢的协调关系中起着至关重要的作用<sup>[8-10]</sup>,还可抑制某些病原体(病毒和细菌)的复制或存活,具有免疫治疗剂的作用<sup>[11]</sup>。GSH可清除生物体内有害自由基或脂质过氧化物,使其转换成脂肪酸和水,而GSH被氧化成GSSG。GSH固体较为稳定,但在水溶液中很不稳定,易被氧化成为GSSG,失去其原有的生物活性,给生物体带来不良影响<sup>[8]</sup>。有报道发现少量的GSSG共存下,对GSH清除自由基有协同催化作用<sup>[1]</sup>,GSH/GSSG的配比对自由基清除率有明显影响:当GSH/GSSG的配比大于50:1时,自由基清除率比同浓度的GSH大,且自由基清除率随GSH和GSSG的绝对浓度的增加而明显增加。2015年版中国药典谷胱甘肽片质量标准的有关物质检查项中新增关于GSSG含量控制的规定<sup>[12]</sup>,即含氧化型谷胱甘肽不得过谷胱甘肽标示量的2.0%。因此,研究控制GSH中GSSG的含量,是谷胱甘肽相关产品生产控制的重点之一。

已有研究表明蛹虫草与谷胱甘肽组方对酒精性肝损伤具有保护作用<sup>[13]</sup>,其作用机制与清除自由基、抑制脂质过氧化作用有关。九苷肽蛹虫草软胶囊以蛹虫草、谷胱甘肽、天然维生素E等为主要原料,制成具有对化学性肝损害有辅助保护功能、增强免疫力功能的保健食品。目前,同时测定GSH和GSSG的方法有液相色谱质谱联用(LC-MS)法<sup>[14]</sup>,报道更多

的是液相色谱法(HPLC):有用邻苯二甲醛(OPA)衍生化后以荧光检测器(FLD)检测<sup>[10]</sup>,其样品前处理操作烦琐,所用衍生化试剂即引入新的杂质并可能损伤色谱柱;有采用蒸发光散射检测器(ELSD)<sup>[15]</sup>,但ELSD并非通用检测器,还需要配置高压氮气或空气,在实验室并不普及,其灵敏度远不如紫外检测器,具有一定的局限性;有的在甲醇流动相中加入磷酸盐缓冲液与庚烷磺酸钠离子对试剂,在紫外波长210 nm处检测<sup>[12]</sup>,由于烷基磺酸盐离子对试剂与色谱柱的固定相结合需要较长的平衡时间,稳定性差,灵敏度较低,加上磷酸盐都有可能破坏色谱系统,对色谱柱损耗大,清洗难等,这些都给检测实验带来许多困难。

因此,本研究开发和验证了同时测定GSH和GSSG的简单、高效、快速、准确,且广泛适用的反相高效液相色谱-紫外检测法,为谷胱甘肽产品的工艺研究和质量控制、评价提供便捷、可靠的方法。

## 1 仪器与材料

LC 20型高效液相色谱仪系统配SPD-M20A型二极管阵列检测器(岛津公司);Atlantis T3(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; 填料:高纯度硅胶及三官能团键合十八烷基硅烷; Waters公司)色谱柱; Millipore Direct-Q纯水系统(Millipore公司); KQ-250DE数控超声波清洗器(昆山市仪器有限公司); CPA225D十万分之一电子天平(赛多利斯公司)。

还原型谷胱甘肽对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号SLBK1031V, SIGMA公司),氧化型谷胱甘肽对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号SLBM9313V, SIGMA公司);甲醇、乙腈及三氟乙酸(TFA)为色谱纯。样品九苷肽蛹虫草软胶囊(每粒0.6 g)由江苏学府生物工程有限公司提供,批号为20140806、20140807、20140808。

## 2 溶液的制备

**2.1 混合对照品溶液** 分别准确称取对照品(按纯度标示折算)GSH 50.42 mg和GSSG 6.18 mg,置于50 mL棕色量瓶中,以流动相溶解并定容至刻度,制

成质量浓度分别为  $1.008 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $0.124 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的单一成分对照品溶液;各取 5 mL 上述 2 种溶液于 10 mL 棕色量瓶中,以流动相制成质量浓度分别为  $0.504 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $0.062 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合溶液;吸取混合对照品溶液 0、1、2、4、5 mL,分别置于 10 mL 棕色量瓶中,以流动相定容至刻度,混匀,得 GSH 质量浓度分别为 0、50.4、101、202、252、504  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 GSSG 质量浓度分别为 0、6.2、12、25、31、62  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液系列。各溶液均临用新配,冰箱 ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 保存。

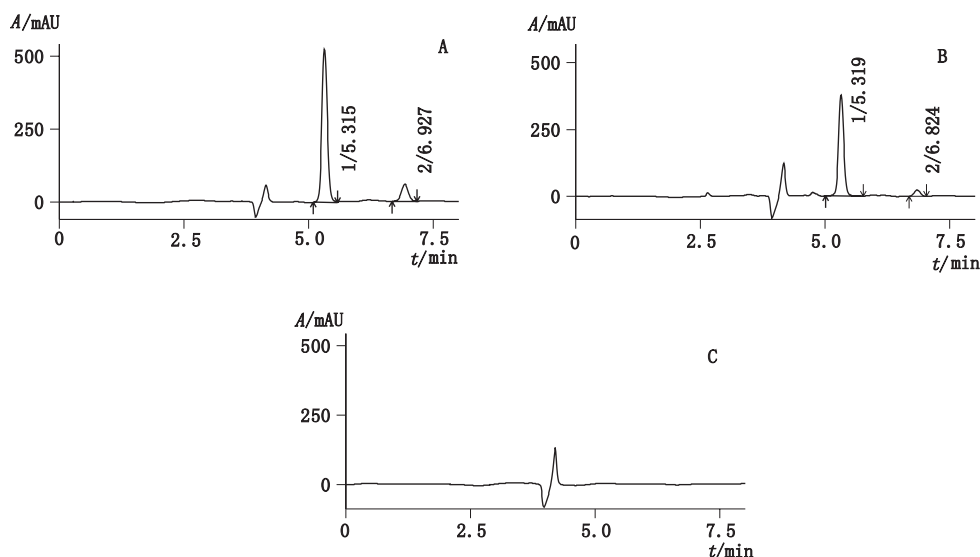
**2.2 供试品溶液** 精密称取蛹虫草软胶囊内容物约 0.15 g 于 25 mL 棕色量瓶中,以流动相超声 ( $500 \text{ W}$ ,  $40 \text{ kHz}$ ) 提取 10 min,定容,取上清液过  $0.45 \text{ }\mu\text{m}$  滤膜,即得。溶液均临用新配,冰箱 ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 保存。

**2.3 阴性样品溶液** 根据九苷肽蛹虫草软胶囊配方比例制备不含 GSH 和 GSSG 的阴性样品,按“2.2”项下方法制备阴性样品溶液。溶液均临用新配,冰箱 ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 保存。

**3 色谱条件及系统适用性试验**

色谱柱: Waters Atlantis T3 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ }\mu\text{m}$ ); 流动相: 0.1% 三氟乙酸-乙腈 ( $95:5$ ); 流速:  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 检测波长:  $203 \text{ nm}$ ; 进样量:  $10 \text{ }\mu\text{L}$ ; 柱温:  $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

在上述色谱条件下,理论塔板数均大于 5 000,混合对照品、样品、阴性样品色谱图见图 1。结果表明, GSH 和 GSSG 的色谱峰与相邻峰的分离度均大于 1.5,样品中的其他成分对 2 个待测成分的测定无干扰。



1. GSH 2. GSSG

图 1 混合对照品 (A)、样品 (B) 及阴性样品 (C) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), sample (B) and negative sample without GSH and GSSG (C)

**4 含量测定方法学验证结果**

**4.1 线性关系考察及检测限测定** 取“2.1”项下系列混合对照品溶液进样分析,以谷胱甘肽的质量浓度  $X$  与对应的峰面积  $Y$  进行线性回归, GSH 和 GSSG 在

各自的线性范围内呈良好线性;将混合对照品溶液以流动相逐级稀释后进样测定,按实际样品的处理过程计算,得到 2 个组分的 LOD ( $S/N=3$ )。GSH 和 GSSG 的线性关系考察结果及方法检测结果见表 1。

表 1 GSH 和 GSSG 的线性关系考察及方法检测限测定结果

Tab. 1 Results of linear and LODs of GSH and GSSG

成分 (component)	线性范围 (linearity range) / ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回归方程 (regression equation)	$r$	检测限 (detection limit) / ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
GSH	0.050 4-0.50 4	$Y=6.881 13 \times 10^6 X+5.010 00 \times 10^5$	0.999 7	0.44
GSSG	0.006 2-0.06 2	$Y=2.515 45 \times 10^7 X+1.901 8 \times 10^4$	0.999 1	0.12

**4.2 精密度实验** 精密量取同一供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 连续进样 6 次, 结果 GSH 和 GSSG 峰面积的 RSD 为 1.7% 和 3.0%, 表明仪器精密度良好。

**4.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、24 h 进样 10  $\mu\text{L}$  进行分析测定, 24 h 结果供试品溶液中 GSH 和 GSSG 峰面积的 RSD 分别为 3.7% 和 4.1%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**4.4 回收率和重复性试验** 选取样品约 75 mg 于 25 mL 量瓶中, 对 GSH 和 GSSG 进行了 3 个添加水平(分别加入 GSH 和 GSSG 的单一对照品溶液各 1、3、5 mL), 每个添加水平 3 份, 共 9 份, 按“2.2”项方法制备供试溶液, 进样分析, 考察方法的回收率和重复性。结果 GSH 的低、中、高浓度的回收率( $n=3$ )分别为 101.3%、95.2%、96.1%, RSD 分别为 3.3%、1.6%、2.9%, 平均回收率( $n=9$ )为 97.5%; GSSG 的低、中、高浓度的回收率( $n=3$ )分别为 98.5%、93.7%、88.1%, RSD 分别为 3.1%、2.9%、3.8%, 平均回收率( $n=9$ )为 93.4%。结果表明样品在不同的添加水平下的回收率及重复性良好。

## 5 样品测定

分别取 3 批次的样品各 3 份进行平行测定, 以外标法计算含量样品中 GSH 和 GSSG, 结果见表 2, 表明 3 批样品中 GSSG 的量均小于谷胱甘肽总量的 2.0%。

表 2 样品中谷胱甘肽的含量 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $n=3$ )

Tab. 2 Contents of Glutathione in capsules

样品批号 (batch No.)	GSH	GSSG	总量 (total)
20140806	70.2	1.3	71.5
20140807	70.5	1.4	71.9
20140808	70.1	1.3	71.4

## 6 讨论

**6.1 色谱柱的选择** 分别采用 Waters Symmetry  $\text{C}_{18}$  (十八烷基硅烷键合硅胶, 4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Thermo Beta Basic-18 (十八烷基硅烷键合硅胶, 4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 及 Waters Atlantis T3 (三官能团键合十八烷基硅烷硅胶, 4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 对 GSH 和 GSSG 混合对照品溶液进样分析, 发现 2 个  $\text{C}_{18}$  柱分析 GSH 和 GSSG, 均未能全部检测出目标峰, 而用 T3 柱则 2 个成分均能出峰且分离良好。 $\text{C}_{18}$  柱是长链烷基键合相, 有较好的疏水性, 适用于分析非极性化合物, 而 Atlantis T3 色谱柱采用三官能团键

合  $\text{C}_{18}$  烷基键合相, 保证键合密度, 以及优化的孔径和端基封尾技术<sup>[16]</sup>, 能提升极性化合物的保留, 并能平衡一对不同极性的化合物均有合适的保留。实验表明, T3 柱的确适合保留和分析谷胱甘肽, GSH 与 GSSG 在 8 min 内能有效分离, 并且方法开发简便快速, HPLC 图谱峰形好, 不拖尾, 基线相对平稳, 灵敏度也满足分析要求。

**6.2 流动相的选择** 现行方法<sup>[7]</sup>在甲醇流动相中加入磷酸盐缓冲液与庚烷磺酸钠离子对试剂, 在紫外波长 210 nm 处检测。由于烷基磺酸盐离子对试剂与色谱柱的固定相结合需要较长的平衡时间, 出峰稳定性差, 灵敏度较低, 加上磷酸盐都有可能破坏色谱系统, 对色谱柱损耗大, 清洗难等。三氟乙酸 (TFA) 是反相色谱分离肽类物质中常用的离子修饰剂。TFA 通过与疏水键合相和残留的极性表面以多种模式相互作用, 来改善峰形, 克服峰展宽和拖尾问题。TFA 与肽上的正电荷及极性基团相结合以减少极性保留, 并把肽带回到疏水的反相表面。同样, TFA 屏蔽了固定相上残留的极性表面。TFA 容易挥发, 低浓度 (0.1%) 的 TFA 对色谱系统损耗小并易除去。TFA 的紫外最大吸收峰低于 200 nm, 对多肽在低波长处的检测干扰很小。考察 0.1%TFA-乙腈 (95:5) 和 0.1%TFA-甲醇 (90:10) 等度洗脱效果, 结果表明以 0.1%TFA-甲醇为流动相时, 目标峰附近杂峰干扰严重, 基线不平整; 而使用 0.1%TFA-乙腈时, 各目标峰得到完全分离, 且基线较平, 峰形良好。

**6.3 检测波长的选择** 对 GSH 和 GSSG 对照品溶液进行紫外扫描, 得到各组分峰的最大吸收波长均在 203 nm 左右, 观察 203 nm 下样品色谱图, 其基线稳定且主峰附近并无干扰峰, 因此选定作为检测波长。

**6.4 柱温的选择** 考察 30、35、40  $^{\circ}\text{C}$  3 种柱温对供试品溶液中 GSH 和 GSSG 分离效果的影响, 结果 30  $^{\circ}\text{C}$  时, 主成分峰形不够尖锐, GSSG 峰拖尾; 35  $^{\circ}\text{C}$  时, 主成分特别是 GSSG, 峰形对称, 分离度也满足要求; 40  $^{\circ}\text{C}$  时, GSSG 分离度  $< 1.5$ 。因此柱温定为 35  $^{\circ}\text{C}$ 。

**6.5 溶液的稳定性** 谷胱甘肽的固体较为稳定, 但在水溶液中很不稳定。为进一步研究谷胱甘肽的稳定性变化, 分别选取 0.1%TFA-乙腈 (95:5) 与纯水为提取溶剂, 制成小样, 分别比较置于棕色瓶与透明瓶, 存于冰箱 (4  $^{\circ}\text{C}$ ) 与室温 (30  $^{\circ}\text{C}$ ), GSH 与 GSSG 随时间的变化: 每 24 h 进样分析, 记录峰面积。结果表明: 样品以 0.1%TFA-乙腈 (95:5) 提取, 置于棕色

瓶,存于冰箱冷藏,更有利于 GSH 的稳定性,GSH 和 GSSG 的峰面积在 48 h 内 RSD 均 <4.9%。而纯水提取,置于透明瓶,室温条件下,GSH 含量随着时间的延长减少较明显。因此对照品溶液与供试品溶液应临用新配,并贮存于棕色瓶,低温,并及时进样。

**6.6 有关物质检查** 鉴于中国药典(2015年版)谷胱甘肽片<sup>[7]</sup>质量标准中有关物质检查项中新增加关于其主要降解产物 GSSG 含量控制的规定,即含氧化型谷胱甘肽不得过谷胱甘肽标示量的 2.0%。本产品谷胱甘肽中含 GSSG 的量 3 批次分别为 1.8%、1.9%、1.8%,均小于 2.0%。目前,保健食品中谷胱甘肽还未有相关质量标准,因此,建议增加含谷胱甘肽保健食品中 GSSG 的含量控制。

**6.7 小结** 谷胱甘肽片为常用肝病辅助用药,中国药典(2015年版)修订了其质量标准中有关物质检查项,新增关于 GSSG 含量控制的规定,含量测定采用高效液相色谱紫外检测法,在甲醇流动相中加入磷酸盐缓冲液与庚烷磺酸钠离子对试剂。保健食品中的谷胱甘肽目前并无相关质量标准。本文所建立的蛹虫草软胶囊中 GSH 和 GSSG 含量测定方法,采用 Waters Atlantis T3 色谱柱,以 0.1%TFA-乙腈(95:5)为流动相,检测波长 203 nm,方法专属性强,结果准确可靠,操作简单快捷,并建议增加含谷胱甘肽保健食品中 GSSG 的含量控制,为保健食品中谷胱甘肽的质量控制提供一定的科学依据。

#### 参考文献

- [1] 金春英,崔京兰,崔胜云. 氧化型谷胱甘肽对还原型谷胱甘肽清除自由基的协同作用[J]. 分析化学, 2009, 37(9): 1349  
JIN CY, CUI JL, CUI SY. Synergetic effect by oxidized glutathione for radical scavenging activities of reduced glutathione[J]. *Chin J Chem*, 2009, 37(9): 1349
- [2] WU GY, FANG YZ, YANG S, *et al.* Glutathione metabolism and its implications for health[J]. *J Nutr*, 2004, 134(3): 489
- [3] BARFIELD M, SPOONER N, LAD R, *et al.* Application of dried blood spots combined with HPLC-MS/MS for the quantification of acetaminophen in toxicokinetic studies[J]. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2008, 870(1): 32
- [4] PAULSEN CE, CARROLL KS. Orchestrating redox signaling networks through regulatory cysteine switches[J]. *ACS Chem Biol*, 2010, 5(1): 47
- [5] HANSENA JM, HARRISB C. Glutathione during embryonic development[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1850(8): 1527
- [6] FORMAN HJ, ZHANG H, RINNA A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis[J]. *Mol Aspects Med*, 2009, 30(1-2): 1
- [7] KANĎÁR R, ŠTRÁMOVA X, DRÁBKOVÁ P, *et al.* Determination of total glutathione in dried blood spot samples using a high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(6): 879.
- [8] 方允中,杨胜,伍国耀. 自由基、抗氧化剂、营养素与健康的关系[J]. 营养学报, 2003, 25(4): 340  
FANG YZ, YANG S, WU GY. Free radicals, antioxidants, and nutrients in relation to health[J]. *Acta Nutr Sin*, 2003, 25(4): 340
- [9] MUSGRAVE WB, YI H, KLINE D, *et al.* Probing the origins of glutathione biosynthesis through biochemical analysis of glutamate-cysteine ligase and glutathione synthetase from a model photosynthetic prokaryote[J]. *Biochem J*, 2013, 450(1): 63
- [10] GAWLI KRZYŻANOWSKA W, BOGUMIŁA GM, *et al.* Optimization of determination of reduced and oxidized glutathione in rat striatum by HPLC method with fluorescence detection and pre-column derivatization[J]. *Acta Chromatogr*, 2014, 24(2): 335
- [11] FRATERNALE A, BRUNDU S, MAGNANI M. Glutathione and glutathione derivatives in immunotherapy[J]. *Biol Chem*, 2017, 398(2): 261
- [12] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 512 ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 512
- [13] 颜燕,谢玮,郭婕,等. 人工蛹虫草与谷胱甘肽组方对酒精性肝损伤保护作用的实验研究[J]. 毒理学杂志, 2014, 28(6): 471  
YAN Y, XIE W, GUO J, *et al.* Experimental study of artificial Cordyceps and glutathione prescription for the protective effect of alcoholic liver injury[J]. *J Toxicol*, 2014, 28(6): 471
- [14] RABAB MS, GHADA MH, RANDA AAS, *et al.* Quantitative determination of glutathione in presence of its degradant in a pharmaceutical preparation using HPLC-DAD and identification by LC-ESI-MS[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2013, 37(4): 548
- [15] 林志兴,吕永琴,谭天伟. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器定量分析谷胱甘肽含量[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 119  
LIN ZX, LÜ YQ, TAN TW. Quantification analysis of glutathione by HPLC with evaporative light scatter detector (ELSD)[J]. *Food Ferment Ind*, 2007, 33(4): 119
- [16] 林宏琳. HPLC 法同时测定核苷酸花粉胶囊中 5 种核苷酸含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2121  
LIN HL. Simultaneous determination of five kinds of nucleotids in nucleotide pollen capsules by HPLC[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(12): 2121

(本文于 2016 年 6 月 8 日收到)