

## · 基础研究 ·

# 亲水色谱-超高效液相-串联质谱法测定滇橄榄中 水解氨基酸研究<sup>△</sup>

王蒹<sup>1,2</sup>, 车彦云<sup>2</sup>, 夏杰<sup>1</sup>, 李松梅<sup>1</sup>, 仇嘉<sup>1</sup>, 赵毅<sup>2\*</sup>

1. 云南省中医医院 科研部, 云南 昆明 650021; 2. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500

**[摘要]** **目的:** 建立滇橄榄中的水解氨基酸的亲水色谱-超高效液相-串联质谱法测定方法。**方法:** 采用盐酸水解滇橄榄中的17种氨基酸, DE-52纤维素除氯离子后, 利用亲水色谱柱, 结合超高效液相色谱-串联质谱仪, 采用正离子模式, 多反应监测(MRM), 外标法定量, 测定滇橄榄中17种水解氨基酸。**结果:** DE-52纤维素能够有效去除水解溶液中的氯离子, 亲水色谱柱对于亮氨酸和异亮氨酸等具有较好的分离效果, 在0.000 3~2.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内, 17种氨基酸的线性关系较好, 检出限为0.015~13.0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 回收率为73.8%~98.8%, RSD为3.25%~7.79%。**结论:** 该方法重复性好、灵敏度高, 适合滇橄榄中17种水解氨基酸的测定。

**[关键词]** 亲水色谱; 超高效液相色谱-串联质谱; 滇橄榄(余甘子); 水解氨基酸

**[中图分类号]** R284.1; O657.72 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)01-0047-07

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20190326003

## Determination of Hydrolyzed Amino Acids by Hydrophilic Chromatography-Ultra high performance liquid-tandem mass spectrometry in *Phyllanthus emblica* Linn.

WANG An<sup>1,2</sup>, CHE Yan-yun<sup>2</sup>, XIA Jie<sup>1</sup>, LI Song-mei<sup>1</sup>, QIU Jia<sup>1</sup>, ZHAO Yi<sup>2\*</sup>

1. Department of Research, Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for the determination of hydrolyzed amino acids in the *Phyllanthus emblica* Linn. by hydrophilic chromatography-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods:** Hydrochloric acid was used to hydrolyze 17 amino acids in the *P. emblica* Linn., DE-52 cellulose was dechlorinated, and then a hydrophilic chromatography column was used in combination with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Positive ion mode, multiple reactions monitoring (MRM), and external standard method were used for quantify 17 kinds of hydrolyzed amino acids in the *Phyllanthus emblica* Linn. **Results:** The results show that DE-52 cellulose can effectively remove the chloride ions in the hydrolysis solution, and the hydrophilic column has good separation effect for leucine and isoleucine. In the concentration range of 0.000 3-2.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , the linear relationship of 17 amino acids was good, the detection limit ranged from 0.015 to 13.0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , the recovery ranged from 73.8% to 98.8%, and the relative standard deviation (RSD) range was 3.25%-7.79%. **Conclusion:** This method has good reproducibility and high sensitivity, and is suitable for the determination of 17 kinds of hydrolyzed amino acids in the *P. emblica* Linn.

**[Keywords]** Hydrophilic chromatography; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; *Phyllanthus emblica* Linn.; hydrolyzed amino acid

滇橄榄又叫云南余甘子, 在云南省的大部分区域种植面积较大, 为云南省的特色药食两用植物资源, 在中医学中具有润肺化痰、清热利咽等功效<sup>[1-2]</sup>, 同时也具有抗氧化、抗肿瘤和防衰老等活性

功能<sup>[3-7]</sup>。

滇橄榄中的研究主要集中于其中的酚类、生物碱、萜类、甾醇和苷类化学成分及其相应的生物活性等<sup>[8-11]</sup>。近年来, 相关的研究报道了滇橄榄中的

<sup>△</sup> [基金项目] 云南中医药特色健康产品协同创新中心; 云南中医药大学应用基础研究联合专项资金项目 2019FF002(-012)

\* [通信作者] 赵毅, 正高级工程师, 研究方向: 药物制剂及药物健康产品研发; Tel: (0871) 65918210, E-mail: 298007310@qq.com

氨基酸、维生素 C、钾和镁等含量相对较高<sup>[12-14]</sup>，受到了食品及保健品行业的广泛关注。氨基酸作为滇橄榄中的营养成分之一，在滇橄榄的生长、代谢转化等方面起到了重要的作用，但是对于滇橄榄中的氨基酸含量测定却少有关注。

常见的氨基酸中除苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸在近紫外区具有紫外吸收，其余氨基酸都没有吸收，因此，通常需要将氨基酸衍生化后进行测定。我国的国家标准 GB 5009.124—2016(食品安全国家标准食品中氨基酸的测定)中采用盐酸水解蛋白质为氨基酸后，通过茚三酮柱后衍生法进行测定，但是该方法所使用的氨基酸分析仪专用于氨基酸测定，使用范围较窄，且使用的离子交换柱随着进样次数的增大易受到污染，活化和清洗过程较麻烦，而相关的文献采用了不同的柱前衍生试剂，经衍生化后利用高效液相色谱法进行测定<sup>[15-19]</sup>，但是这些方法的衍生化过程较复杂费时，且利用高效液相色谱的分析时间较长，不利于日常快速检测工作。

本研究采用国家标准中的盐酸水解方法，将滇橄榄中的蛋白质水解为游离氨基酸后通过 DE-52 纤维素去除氯离子后直接进行超高效液相色谱-串联质谱分析，同时探讨了氨基酸特别是亮氨酸和异亮氨酸等同分异构体在常规的 C<sub>18</sub> 和 HILIC 亲水色谱柱上的不同保留行为，以期建立快速高效的滇橄榄中水解氨基酸的超高效液相色谱-串联质谱测定方法。

## 1 仪器与材料

API4000 三重四极杆串联质谱仪(美国 AB Sciex 公司); 1290 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 涡旋振荡器(美国 Thermo Scientific 公司); BSA124S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); TGL-15B 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 merck 公司); 浓盐酸、乙酸铵(分析纯, 上海国药集团); 甲酸(色谱纯, 美国 Sigma 公司); DE-52 纤维素(英国 whatman 公司); 纯净水(杭州娃哈哈公司); 17 种氨基酸标准品(L-胱氨酸浓度为 1.25 μmol·mL<sup>-1</sup>, 其余浓度都为 2.5 μmol·mL<sup>-1</sup>, 溶剂为 0.05 mol·mL<sup>-1</sup> HCL 溶液, 美国 Sigma 公司)。10 批滇橄榄采自云南省楚雄州元谋县, 经云南省中医医院夏杰主任中药师鉴定为正品。

## 2 方法

### 2.1 标准溶液的配制

利用甲醇将氨基酸混标稀释为 20 μg·mL<sup>-1</sup> 的标准储备液, 低温避光保存。

### 2.2 样品前处理

滇橄榄样品经干燥粉碎后, 准确称取 1.000 0 g 于水解管中, 加入 10 mL 6 mol·L<sup>-1</sup> 的盐酸溶液, 抽真空后封管, 于 110 °C 烘箱中水解 20 h 后冷却过滤并定容至 25 mL, 取 1 mL 滤液利用旋转蒸发器蒸干后, 再用 5 mL 水复溶, 取 1 mL 溶解液于离心管中, 加入 100 mg DE-52 净化材料, 涡旋 1 min 后过滤膜后待测。

### 2.3 色谱条件

Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱, (100 mm × 1 mm, 1.7 μm); Waters XBridge BEH Amide 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 3.5 μm); 流动相 A 为 1 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵水溶液(含 0.1% 甲酸, V/V), B 为乙腈, 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 10% ~ 90% A; 20 ~ 25 min, 90% A; 25 ~ 26 min, 90% ~ 10% A; 26 ~ 35 min, 10% A), 柱温 35 °C; 流速 500 μL·min<sup>-1</sup>; 进样量 2 μL。

### 2.4 质谱条件

采用 ESI 正离子源, 多反应监测模式(MRM), 各气体流速为: 气帘气 20 L·h<sup>-1</sup>, 雾化气 55 L·h<sup>-1</sup>, 辅助气 55 L·h<sup>-1</sup>, 加热头加热温度为 550 °C, 喷雾电压为 5500 V。17 种氨基酸的离子对参数参照文献 [20-21] 并根据实际情况进行优化, 结果见表 1。

表 1 氨基酸质谱参数

氨基酸	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞电压/V
丙氨酸	90.0	44.1	35	16
精氨酸	175.1	116.0	32	16
天冬氨酸	134.3	74.1	40	16
甘氨酸	75.9	48.0	12	12
谷氨酸	148.1	102.1	32	16
组氨酸	156.2	110.1	36	15
亮氨酸	132.2	86.0	25	12
异亮氨酸	132.1	86.1	25	12
赖氨酸	147.2	130.1	32	16
蛋氨酸	150.0	104.0	25	11
苯丙氨酸	166.2	120.1	24	15
脯氨酸	116.1	70.1	36	15
苏氨酸	120.0	74.2	40	16
酪氨酸	182.2	136.1	36	16
缬氨酸	118.1	72.0	40	16
丝氨酸	106.0	60.1	32	12
光氨酸	241.1	152.1	36	16

### 3 结果与讨论

#### 3.1 色谱条件的优化

本研究中首先选择了常用的  $C_{18}$  超高效色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu$ m, 美国 Waters 公司), 但是氨基酸的极性较大, 已将流速降为 0.15 mL $\cdot$ min $^{-1}$ , 流动相比比例调整为甲醇: 0.1% 甲酸-水溶液 (含 1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  乙酸铵) = 5:95, 但是大部分氨基酸在  $C_{18}$  色谱柱上的出峰时间较早, 保留较差, 较早的出峰会伴随着大量的大极性干扰物质

进入质谱, 存在一定的基质效应。

鉴于大部分氨基酸在  $C_{18}$  色谱柱上的保留较差, 且亮氨酸和异亮氨酸属于同分异构体, 分子量相同且质谱检测时的母离子和子离子都相同,  $C_{18}$  柱无法实现基线分离。因此, 本研究中又采用了适用于大极性化合物分离的 HILIC 亲水色谱柱 (XBridge BEH Amide, 250 mm  $\times$  4.6 mm, 3.5  $\mu$ m, 美国 Waters 公司) 进行分离, 达到了较好的分离效果, 17 种氨基酸的总离子流图见图 1, 亮氨酸和异亮氨酸在不同色谱柱上的色谱图见图 2~3。

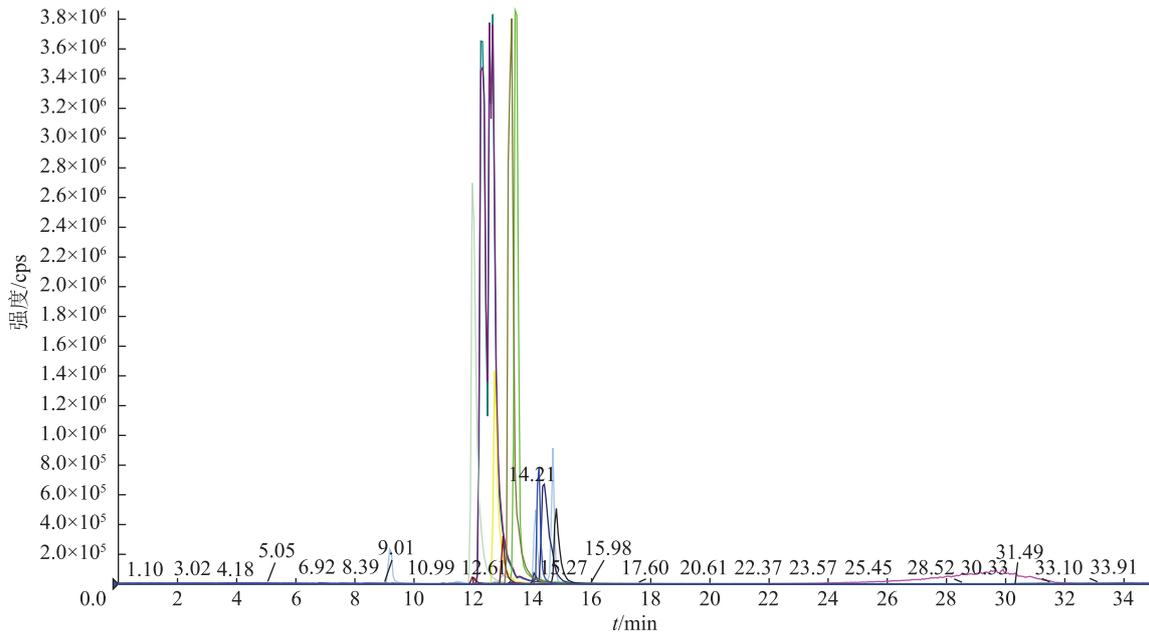


图1 17种氨基酸的总离子流图

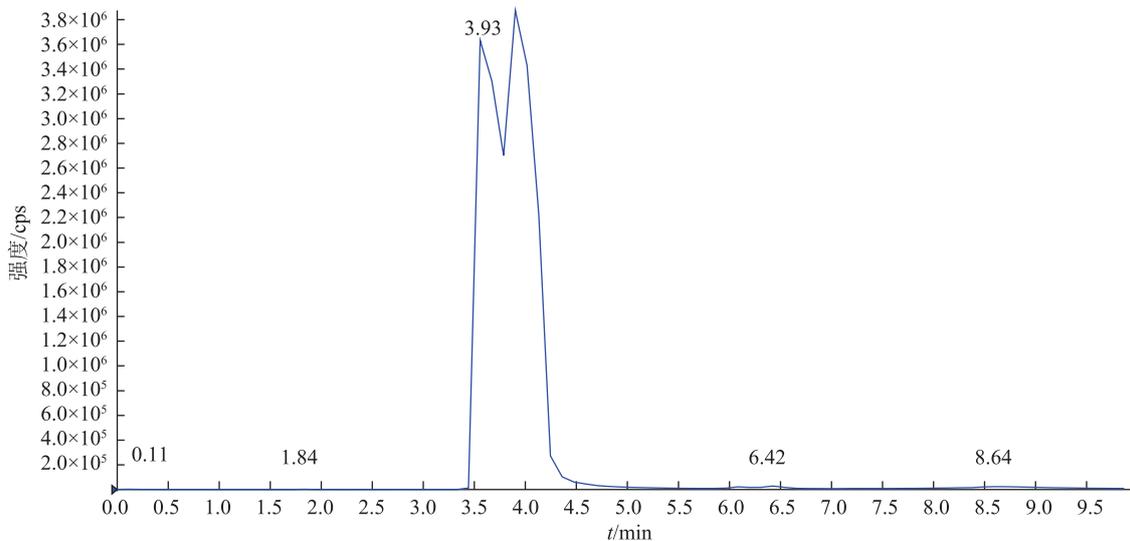


图2 亮氨酸和异亮氨酸在  $C_{18}$  色谱柱上的色谱图

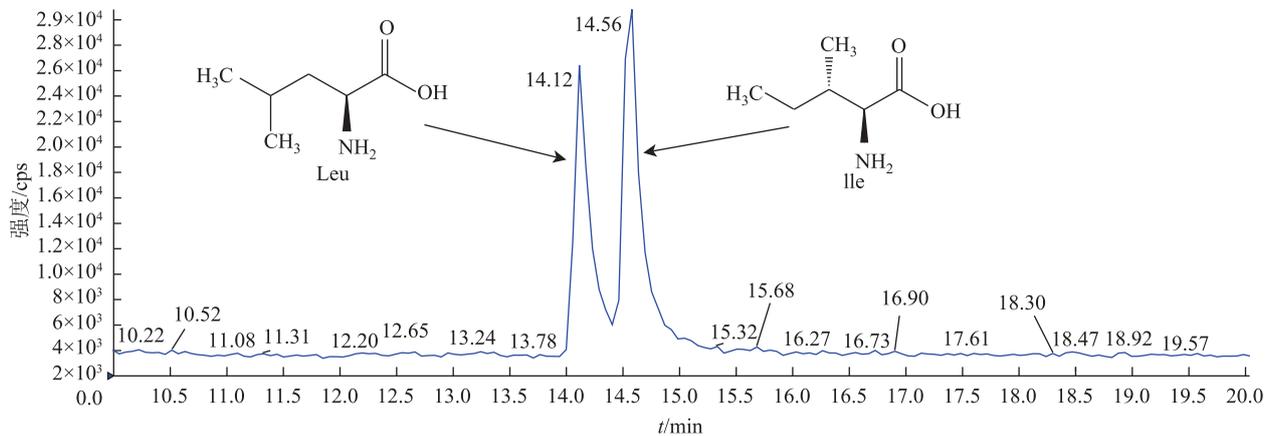


图3 亮氨酸和异亮氨酸在 HILIC 色谱柱上的色谱图

### 3.2 氯离子的去除方式优化选择

滇橄榄经过盐酸水解后, 不仅得到了各个单体氨基酸, 而且也将样品中的部分大分子化合物水解为小分子化合物, 利于后续的测定工作, 但是盐酸水解后在样品溶液中带入了大量的氯离子, 卤素元素进入质谱后会对其有一定的腐蚀性。因此, 滇橄榄在水解后首先需要将其中的氯离子去除。

首先我们选择了弱阴离子吸附剂氨丙基( $\text{NH}_2$ )和强阴离子吸附剂氨丙基(SAX)作为代表进行比较研究, 最终氯离子的含量以硝酸银滴定结果表示, 在滇橄榄水解溶液中分别加入适量的 $\text{NH}_2$ 和SAX净化填料, 结果表明,  $\text{NH}_2$ 和SAX都能够吸附一定量的氯离子,  $\text{NH}_2$ 的吸附能力较SAX差, 但是 $\text{NH}_2$ 和SAX吸附氯离子的同时也将氨基酸进行吸附, 特别是对于天冬氨酸和赖氨酸等多氨基/多羧基氨基酸的吸附较强, 回收效果较差。

根据文献报道<sup>[22]</sup>, DE-52 净化材料能够有效地对氯离子进行吸附, 而且 DE-52 属于阴离子交换型二乙氨基乙基纤维素材料, 在溶液环境中处于中性状态, 常规条件下对于氨基酸的吸附较少。本研究中针对阴离子交换纤维素的代表 DE-23、DE-32 和 DE-52, 分别于 1 mL 氨基酸水解稀释液中加入 50 mL DE-23、DE-32 和 DE-52, 比较其对氯离子的吸附效果, 结果表明 DE-23 和 DE-32 对于氯离子的吸附效果较差, 吸附能力只有 30% 作用, 而 DE-52 对于氯离子的吸附能力都达到 70% 以上, 根据 DE-23、DE-32 和 DE-52 的相关物理参数, 3 种材料的离子容量(Small ion capacity)都为  $0.88 \sim 1.08 \text{ meq} \cdot \text{dg}^{-1}$ , 但是 DE-23 和 DE-32 的填集密度(Packing density)分别为  $0.15$ 、 $0.24 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 而 DE-52 的填集密度分别

为  $0.9$ 、 $1.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 远大于其他 2 种材料, 因此相对于 DE-23 和 DE-32 对于氯离子的吸附效果好。

本研究中也对 DE-52 的用量进行了优化比较, 分别于 1 mL 氨基酸水解稀释液中加入 10、30、50、70、90 mg DE-52 净化材料, 比较其对氯离子的吸附效果, 结果见图 4, 当 DE-52 净化材料的用量为 10 mg 和 30 mg 时对于氯离子的吸附量不够, 当添加量为 50 mg 时达到最大的吸附量(89%), 随后增加净化材料的用量对于氯离子的吸附效果没有明显的变化, 因此, 选择 DE-52 净化材料的用量为 50 mg 最佳。

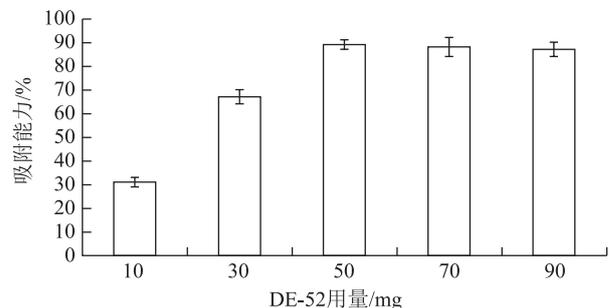


图4 DE-52 用量对于氯离子吸附效果

### 3.3 线性范围和检出限试验

将 17 种氨基酸标准溶液利用甲醇分别稀释成不同的浓度, 测定其峰面积并分别对其浓度进行线性回归分析, 确定各氨基酸的线性范围和相关系数。利用滇橄榄干燥粉末, 加入适量的氨基酸标准溶液, 按照上述的前处理和测定方法, 以信噪比(S/N)分别为 3 倍和 10 倍时所对应的检测浓度作为本方法的检出限和定量限, 见表 2, 17 种氨基酸在  $0.0003 \sim 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  线性关系较好, 定量限和检出限均可满足滇橄榄中 17 种氨基酸的测定需求。

表2 滇橄榄中17种氨基酸的线性范围、相关系数( $r$ )、检出限和定量限

氨基酸	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$r$	检出限/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	定量限/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
丙氨酸	0.008 0~2	0.999 6	0.300	1.000
精氨酸	0.003 0~2	0.999 4	0.150	0.400
天冬氨酸	0.300 0~20	0.999 5	13.000	40.000
甘氨酸	0.000 3~2	0.999 3	0.015	0.040
谷氨酸	0.020 0~2	0.999 2	1.000	3.000
组氨酸	0.060 0~2	0.999 3	2.700	8.000
亮氨酸	0.000 5~2	0.999 4	0.020	0.070
异亮氨酸	0.005 0~2	0.999 5	0.200	0.700
赖氨酸	0.005 0~2	0.999 5	0.200	0.700
蛋氨酸	0.000 4~2	0.999 4	0.020	0.050
苯丙氨酸	0.000 8~2	0.999 3	0.030	0.100
脯氨酸	0.000 3~2	0.999 5	0.015	0.040
苏氨酸	0.002 0~2	0.999 1	0.100	0.300
酪氨酸	0.008 0~2	0.999 2	0.300	1.000
缬氨酸	0.006 0~2	0.999 4	0.270	0.800
丝氨酸	0.002 0~2	0.999 3	0.100	0.300
光氨酸	0.003 0~2	0.999 5	0.140	0.400

## 3.4 回收率和精密度试验

通过对滇橄榄干燥粉中分别加入不同浓度的氨基酸标准溶液,测定氨基酸含量并扣除滇橄榄中氨基酸本底含量后得到测定含量,并与添加含量相除得到回收率,添加质量分数为定量限、5倍和10倍定量限,每个添加质量分数做6次平行试验并计算RSD以进行精密度考察。结果表明,17种氨基酸的平均回收率为73.8%~98.8%,RSD为3.25%~7.79%。

## 3.5 实际样品测定

分别对云南省楚雄州元谋县采集的10个滇橄榄样品进行氨基酸含量分析,结果见图5,滇橄榄中氨基酸总量为0.751%~1.082%,氨基酸含量较高。滇橄榄中精氨酸含量较高,质量分数为0.142%~0.219%,天冬氨酸、组氨酸、赖氨酸、脯氨酸和胱氨酸含量处于同一水平,质量分数为0.041%~0.124%,丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸和丝氨酸的质量分数处于同一水平,为0.011%~0.056%。研究表明,精氨酸能够有效改善免疫系统健康、治疗心血管、降血压和胆固醇、促进生长激素的生成,具有较好的保健功能,也增强了滇橄榄的生物保健功能。

表3 滇橄榄中17种氨基酸的回收率和RSD( $n=6$ )

氨基酸	加标质量分数/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/% (RSD/%)	加标质量分数/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/% (RSD/%)	加标质量分数/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/% (RSD/%)
丙氨酸	1.000	77.2 (5.32)	5.00	82.6 (5.83)	10.0	96.3 (3.32)
精氨酸	0.400	78.6 (6.64)	2.00	84.3 (5.44)	4.0	94.4 (3.55)
天冬氨酸	40.000	80.4 (7.36)	200.00	87.0 (4.65)	400.0	92.5 (4.33)
甘氨酸	0.040	79.5 (7.79)	0.20	94.7 (5.30)	0.4	86.6 (6.53)
谷氨酸	3.000	81.8 (4.67)	15.00	83.2 (3.62)	30.0	93.4 (4.35)
组氨酸	8.000	87.5 (5.42)	40.00	94.4 (4.45)	80.0	96.4 (3.44)
亮氨酸	0.070	85.2 (6.57)	0.35	95.2 (5.37)	0.7	85.6 (5.66)
异亮氨酸	0.700	73.8 (4.93)	3.50	84.5 (7.52)	7.0	96.4 (3.63)
赖氨酸	0.070	76.6 (7.71)	3.50	95.3 (5.54)	7.0	87.6 (5.26)
蛋氨酸	0.050	82.4 (4.32)	0.25	93.5 (6.42)	0.5	89.5 (5.02)
苯丙氨酸	0.100	81.3 (6.58)	0.50	87.7 (5.77)	1.0	93.4 (4.37)
脯氨酸	0.040	76.6 (7.22)	0.20	88.3 (4.45)	0.4	86.6 (3.13)
苏氨酸	0.300	78.5 (6.32)	1.50	87.4 (7.46)	3.0	85.8 (4.36)
酪氨酸	1.000	77.3 (4.54)	5.00	83.7 (3.33)	10.0	98.8 (5.26)
缬氨酸	0.800	79.2 (6.36)	4.00	84.8 (5.54)	8.0	93.2 (3.50)
丝氨酸	0.300	83.4 (4.73)	1.50	86.5 (4.76)	3.0	94.5 (5.27)
光氨酸	0.400	79.9 (6.57)	2.00	89.4 (3.25)	4.0	97.0 (3.87)

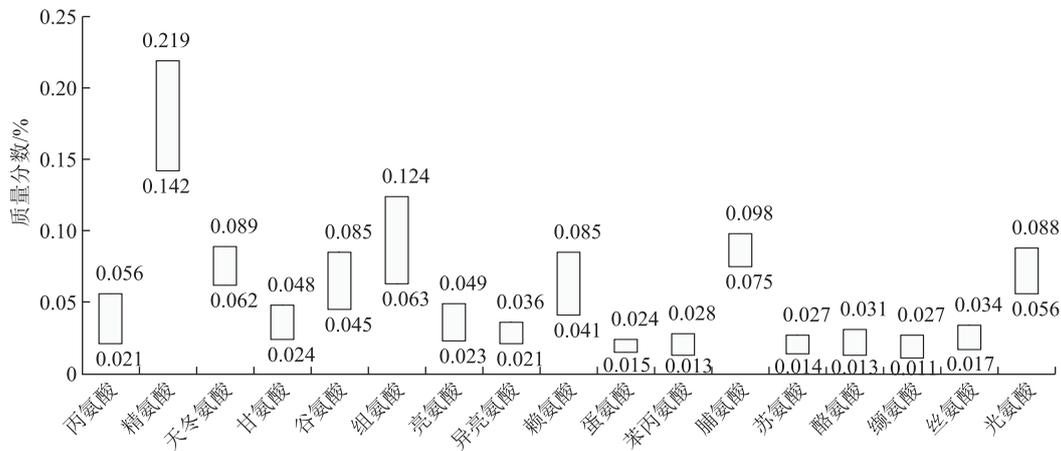


图5 滇橄榄中各氨基酸含量

#### 4 结论

本研究利用亲水色谱,结合超高效液相色谱-串联质谱建立了滇橄榄中17种水解氨基酸的测定方法。滇橄榄样品经盐酸水解后,利用DE-52纤维素去除氯离子后,采用ESI正离子MRM监测模式,外标法定量,具有较好的准确度和精确度,适合滇橄榄中氨基酸的测定。

#### 参考文献

- [1] 朱华伟,李伟,陈运娇,等.余甘子化学成分及其抗炎作用的研究进展[J].中成药,2018,40(3):670-674.
- [2] GAIRE B P, SUBEDI L. PHYTOCHEMISTRY, pharmacology and medicinal properties of *Phyllanthus emblica* Linn[J]. Chin J integr Med, 2014, 20(9):1-8.
- [3] PIETAWEERATCH S, PANAPISAL V, TANSIRIKONGKOL A. Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and *silymarin*: an in vitro comparative study for anti-aging applications[J]. Pharm Biol, 2016, 54(9):1865-1872.
- [4] 黄佳聪,吴建花,龚发萍,等.两个滇橄榄无性系品种的营养成分及抗氧化活性分析[J].食品工业, 2015, 36(2):290-293.
- [5] 吴玲芳,张家莹,李师,等.藏药余甘子抗肿瘤作用研究进展[J].世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(7):1177-1181.
- [6] XU M, ZHU H T, CHENG R R, et al. Antioxidant and hyaluronidase inhibitory activities of diverse phenolics in *Phyllanthus emblica* [J]. Nat Prod Res, 2016, 30(23):2726-2729.
- [7] 朱智芸,赵毅,邓林,等. UPLC法测定余甘子中4种抗氧化活性成分的含量[J].中药材, 2017, 40(12):2891-2894.
- [8] 李兵,黄贵庆,卢汝梅,等.余甘子化学成分研究[J].中药材, 2015, 38(2):290-293.
- [9] 刘伟,李明玺,王俊龙,等.余甘子酚类成分及其抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的研究[J].现代食品科技, 2017, 33(12):50-55.
- [10] YANG B, KORTESNIEMI M, LIU P, et al. Analysis of hydrolyzable tannins and other phenolic compounds in emblic leafflower (*Phyllanthus emblica* L.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(35):8672-8683.
- [11] 陈平,龚建瑜,左晓霜,等.余甘子褐变过程中没食子酸等四种成分含量变化及分析[J].中国现代中药, 2016, 18(11):1463-1469.
- [12] 不同品种余甘子果实营养成分分析与评价[J].果树学报, 2018, 35(1):108-117.
- [13] SOMASEKHAR V, ASHOK P, KAMESWARI SAR, et al. Comparative antioxidant and bioavailability studies of Vitamin C in *Phyllanthus emblica* Linn. and its combinations with *Piper nigrum* Linn. and *Zingiber officinale* Roscoe [J]. Brazilian J Pharm Sci, 2016, 52(1):35-43.
- [14] 赵琼玲,金杰,沙毓沧,等.不同来源地的余甘子果实氨基酸组成及含量分析[J].中国农学通报, 2017, 33(36):78-84.
- [15] TUBEROSO CIG, CONGIU F, SERRELI G, et al. Determination of dansylated amino acids and biogenic amines in Cannonau and Vermentino wines by HPLC-FLD[J]. Food Chem, 2015, 175:29-35.
- [16] AKHLAGHI Y, GHAFFARI S, ATTAR H, et al. A rapid hydrolysis method and DABS-Cl derivatization for complete amino acid analysis of octreotide acetate by reversed phase HPLC[J]. Amino Acids, 2015, 47(11):2255-2263.

(下转第64页)

别提供了新的思路。近红外分析技术具有简便快捷的优势,可以代替传统化学和 HPLC 分析进行快速排查,结合药效成分的定量分析采用 HPLC 以及近红外技术对金银花品质的分析还有待进一步探索。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:1221.
- [2] 杨芳. 近红外光谱分析技术应用[J]. 中国当代医药, 2011,18(1):15-16.
- [3] 肖雪,梁琼麟,王义明,等. 近红外光谱技术在医药领域中的应用进展[J]. 现代仪器,2011,17(5):9-12.
- [4] 孙通,徐惠荣,应义斌. 近红外光谱分析技术在农产品/食品品质在线无损检测中的应用研究进展[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(1):122-126.
- [5] 聂黎行,鲁静,林瑞超. 红外和近红外光谱法在中药定性分析中的应用[J]. 计算机与应用化学,2011,28(5):540-544.
- [6] CHEN Y, XIE M, YAN Y, et al. Discrimination of *Ganoderma lucidum* according to geographical origin with near infrared diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques[J]. *Anal Chim Acta*,2008,618(2):121-130.
- [7] CHENG C, LIU J, WANG H, et al. Infrared spectroscopic studies of Chinese medicines [J]. *Appl Spectrosc Rev*, 2010,45(3):165-178.
- [8] 李洋,吴志生,史新元,等. 中试规模和不同提取时段的黄芩配方颗粒质量参数在线 NIR 监测研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(19):3753-3756.
- [9] 刘雪松,李梦茹,王致远,等. 基于近红外光谱的驴胶补血颗粒浓缩过程研究[J]. 中草药,2016,47(22):3997-4002.
- [10] 刘燕,唐铁鑫,邱新华,等. 傅立叶变换红外光谱法鉴别金银花挥发油[J]. 中国中医药信息杂志,2013,20(11):63-65.
- [11] 向增旭,高山林. HPLC 指纹图谱在金银花药材真伪鉴别中的应用研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(9):996-998.
- [12] 张倩,张加余,隋丞琳,等. HPLC-DAD-ESI/MS/MS 研究金银花水提工艺中绿原酸类成分的变化规律[J]. 中国中药杂志,2012,37(23):3564-3568.
- [13] 张丽媛,李遇伯,李立新,等. RRLC-Q-TOF/MS 分析金银花中化学成分[J]. 中南药学,2012,10(3):204.
- [14] 杜晨朝,赵安邦,吴志生,等. 近红外光谱结合不同变量筛选方法用于金银花提取过程中绿原酸量的在线监测[J]. 中草药,2017,48(16):3317-331.
- [15] WANG L J. The study progress of *Lonicera japonica* [J]. *Medical Information*,2010,5(8):2293.
- [16] CHEN Z, WU Z S, SHI X Y, et al. A study on model performance for ethanol precipitation process of *Lonicera japonica* by NIR based on Bagging-PLS and Boosting-PLS algorithm [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42 ( 11 ): 1679-1686.
- [17] 孙通,徐惠荣,应义斌,等. 近红外光谱分析技术在农产品/食品品质在线无损检测中的应用研究进展[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(1):122-126.
- (收稿日期:2019-03-12 编辑:谢睿)
- 
- (上接第52页)
- [17] FANG Z, OU J, HUANG Y, et al. Determination of 21 Free Amino Acids in Fruit Juices by HPLC Using a Modification of the 6-Aminoquinolyl- N -hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) Method [J]. *Food Anal Methods*, 2012, 8 ( 2 ): 1-10.
- [18] 付迪,沈艳红,宛燕飞,等. OPA-FMOC 在线柱前衍生化 HPLC 法测定甘露聚糖肽中氨基酸组成及含量[J]. 分析实验室,2016,35(3):353-356.
- [19] 张萍,王玉春,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):1338-1348.
- [20] 张园娇,胡鹏,马赞,等. UFLC-QTRAP-MS-MS 同时测定蚁巢伞属3种鸡枞中氨基酸核苷含量及 PCA 分析[J]. 中国中药杂志,2017,42(6):1152-1159.
- [21] 胡鹏,张园娇,蔡静,等. 高分离度快速液相色谱质谱联用同时测定不同部位和不同加工方法的罗摩中氨基酸和核苷类成分含量[J]. 中国药理学杂志,2017,52(13):1177-1182.
- [22] KATO M, TAKATSU A. Amino acid analysis by hydrophilic interaction chromatography coupled with isotope dilution mass spectrometry. [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 828:55-62.
- (收稿日期:2019-03-26 编辑:谢睿)