

左旋肉碱检测方法研究进展

马兴*, 高云, 崔颖, 张海滨, 高健会

(天津出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 天津 300461)

摘要: 左旋肉碱是一种类维生素的氨基酸衍生物, 广泛存在于生物体内, 在脂肪酸代谢中起重要作用。近年来, 左旋肉碱越来越广泛地应用于保健食品、减肥药、婴幼儿奶粉和运动员补充剂中, 因此, 对其进行准确定量检测面临更高的技术要求。目前, 研究人员对左旋肉碱进行了有关生物化学、药代动力学及毒理学等方面的广泛研究, 与此同时开发了大量用于检测食品、营养补充剂和配方药物中左旋肉碱的方法。本文简要介绍了左旋肉碱的性质、生理功能和应用, 分类总结了已开发的左旋肉碱检测方法, 展望了左旋肉碱检测方法的未来发展方向。

关键词: 左旋肉碱; 测定; 检测方法; 研究

Advance of research of detection methods for *L*-carnitine

MA Xing*, GAO Yun, CUI Ying, ZHANG Hai-Bin, GAO Jian-Hui

(Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300461, China)

ABSTRACT: *L*-carnitine is a vitamin-like amino acid derivative, which is widely existed in organisms. *L*-carnitine plays an important role in fatty acids metabolism. In recent years, *L*-carnitine has been increasingly used in health foods, diet pills, infant formula and supplement for athletes. Therefore the accurate quantitative detection methods for *L*-carnitine are needed. So far, *L*-carnitine has been investigated in biochemical, pharmacokinetic and toxico-kinetic studies and thus many detection methods has been developed for the determination of *L*-carnitine in foods, dietary supplements and pharmaceutical formulations. This article briefly introduced the properties, physiological functions and applications of *L*-carnitine, classified and summarized the developed detection methods for *L*-carnitine, and discussed the future development of *L*-carnitine detection methods.

KEY WORDS: *L*-carnitine; determination; detection methods; research

左旋肉碱是生物细胞线粒体中的一种功能成分, 也被称为维生素 B₁₂。人体中的左旋肉碱部分在体内生物合成, 另一部分则是从日常饮食中获得。由于左旋肉碱具有抗疲劳、促进脂肪代谢、减缓人体衰老和促进能量代谢等生理功能, 逐渐成为科学界研究的热点。现在, 市场上有很多以左旋肉碱作为功能因子的保健食品和减肥药品。国内外对左旋肉碱的检测主要采用化学法、高效液相色谱法、酶法、毛细管电泳色谱法、免疫法和液相色谱质谱联用法等^[1-6]。我国也在 2013 年及时出台了国家标准检测方法 GB 29989-2013 婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定^[7]。目前,

开发准确测定药品、食品和生物体内左旋肉碱的方法依旧是科学界关注的热点。本文从左旋肉碱的性质、生理功能和应用三方面对左旋肉碱进行介绍, 并对其检测方法的研究进展做了简要概述。

1 左旋肉碱简介

1.1 肉碱、左旋肉碱和右旋肉碱简介

肉碱(carnitine)也称肉毒碱, 化学名称为 β -羟基- γ -三甲胺丁酸, 化学式为 C₇H₁₅O₃N, 相对分子质量为 162.2, 常

*通讯作者: 马兴, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: max0@tjciq.gov.cn

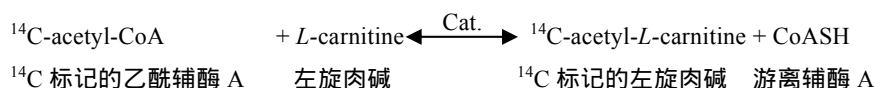
*Corresponding author: MA Xing, Engineer, Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.158 Jinmen Road, Free-trade Zone, Tianjin port, Tianjin 300461, China. E-mail: max0@tjciq.gov.cn

首先, 在酶的催化作用下, 乙酰辅酶 A 的乙酰基转移至左旋肉碱, 生成游离态辅酶 A。游离态辅酶 A 可与 5,5'-二硫代双-硝基苯甲酸(5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), DTNB)反应生成带有浅黄色颜色的 5-硫-2-硝基苯甲酸根, 并能够通过对其紫外吸光度值的大小测定游离辅酶 A 的含量。由于左旋肉碱和游离态辅酶 A 是 1:1 的化学计量关系, 因而可以通过游离态辅酶 A 间接得到左旋肉碱的含量。酶法具有诸多优点: (1)极好的专一性, 只是定向作用于左旋肉碱和乙酰辅酶 A 的反应, 能够完全排除右旋肉碱的干扰; (2)灵敏度高, 可达 5 nmol; (3)操作简单, 具有很好的重现性。酶法也存在其不足之处: (1)实验中所使用的试剂昂贵, 检测费用高; (2)实验中所用显色剂为巯基试剂, 待测样品中含巯基物质会给反应做成干扰, GB 29989-2013 中通过扣除样品空白来克服干扰。

此后, Seccombe 等^[33]和 Rodriguez-Segade 等^[34]两个小组分别基于酶法原理建立了自动化双色分析仪检测左旋肉碱的方法。Woollard 等^[35,36]基于酶法建立了乳品和婴幼儿奶粉中左旋肉碱的检测方法, 为乳品和婴幼儿奶粉中左旋肉碱含量的测定提供了依据。此外, Takahashi 等^[37]基于肉碱脱氢酶的催化反应开发了检测肉碱的方法, 其线性检测范围在 5~250 $\mu\text{mol/L}$, 加标回收率为 96.5%~106%。

2.3 毛细管电泳法

毛细管电泳是以弹性石英毛细管为分离通道, 高压直流电场作为驱动力, 根据样品中不同组分分配行为和



反应在肉碱乙酰辅酶 A 转移酶催化下进行, 乙酰辅酶 A 中酰基碳用放射性同位素 ${}^{14}\text{C}$ 标记, 反应完成后将 ${}^{14}\text{C}$ 标记的乙酰肉碱从反应体系中分离出来, 测定其中同位素量, 从而间接测得左旋肉碱的含量。但是值得注意的是, 反应不完全会导致测试结果不准确。Seline 等^[42]对放射性分析法做了进一步的确认, 修正了反应不完全、其他放射性物质给检测结果带来的干扰, 并将其应用于蔬菜及肉类中总左旋肉碱、游离左旋肉碱和乙酰左旋肉碱含量的检测。Demarquoy 等^[43]利用放射性分析法测定了西方国家日常饮食中肉、奶和果蔬等各类食品左旋肉碱的含量。

2.5 质谱分析法

质谱分析法可以在分析过程中提供丰富的结构信息, 将分离技术与质谱法相结合可以取得更好的分析效果。正是由于质谱法的高敏感度和高特异度的特点, 利用其检测左旋肉碱的研究也被广泛开展。虽然质谱分析法在左旋肉碱的检测中体现了很好的敏感度, 但是由于其仪器设备昂贵, 在普通实验室中难以普及。目前, 利用质谱分析法检测

淌度的差异实现分离的方法。毛细管电泳的检测系统一般采用紫外、荧光、电化学和质谱法。由于左旋肉碱本身在紫外-可见区域内吸收较弱, 且无荧光信号, 因而必须在实验中进行衍生化处理。常用的衍生化处理方法是在左旋肉碱羟基基团上通过酯化反应引入具有紫外-可见吸收或荧光特性的基团。但是毛细管电泳法在实际应用中存在一定制约: 普通实验室使用率低, 操作复杂, 重现性差, 相比较而言, 上文中介绍的 HPLC 法和酶法在实际应用中更为理想。

目前, 已有利用毛细管电泳法检测左旋肉碱的报道。Vogt 等^[38]则采用 9-芴-甲氧羰基(9-fluorenylmethoxycarbonyl, Fmoc)作为衍生剂, 以环糊精酸性缓冲液为基质, 借用毛细管电泳分离衍生后的肉碱异构体, 达到对左旋肉碱的检测目的。该方法衍生化处理简单, 易于操作。Sánchez-Hernández 等^[5,6]同样选用 Fmoc 作为衍生剂, 用毛细管电泳的方法分离肉碱衍生物, 再与质谱串联使用, 检测食品与药物中左旋肉碱的含量。Promsila 等^[39]和 Laura 等^[40]也分别报道了利用毛细管电泳在奎宁缓冲溶液中间接检测左旋肉碱的方法。

2.4 放射性分析法

放射性分析法^[41]非常灵敏, 但是由于放射性同位素的使用, 对检测人员的操作和检测环境要求严格。实际上, 放射性分析法也是基于酶促反应发展而来的, 其检测机制如下:

左旋肉碱主要集中于先天性代谢缺陷的检测方面, 检测样品主要为血浆、血清和尿液等生物样品^[44-48], 在食品、药品的左旋肉碱定量检测方面应用较少。

Hardy 等^[49]利用串联质谱的方法检测对血浆中游离肉碱进行了测定。在检测样品中加入肉碱标准样品, 叔丁基化后进行串联质谱检测。该检测方法的最高线性浓度可达 300 $\mu\text{mol/L}$ 。Stevens 等^[50]建立了同位素稀释串联质谱检测血浆中肉碱的方法, 其加标回收率在 80%~99% 范围内。竺琴等^[51]建立了高效液相色谱-质谱联用测定婴幼儿配方奶粉中左旋肉碱的方法。经 HPLC 分离后, 质谱采用多离子反应监测方式进行检测, 样品在 10 min 内即可完成分析。

2.6 电化学方法

电化学分析法是应用化学原理与技术, 利用化学电池内待检测样品组成及含量与其电化学特性相结合而建立的分析方法, 能同时准确测定待测样品中多种化合物的含量。目前常用的是流动注射分析(flow injection analysis, FIA)和顺序注射分析(sequential injection analysis, SIA)技

术。FIA 实验过程中不需要复杂的实验设备和计算机,因而适用范围最广。SIA 中含有一个多通道选择阀,其各个通道分别与检测器、样品、试剂等相连,通过泵的作用,有序地从不同的通道吸取一定体积的样品或溶剂并带至储存管中,然后再将这些溶液推至检测器。SIA 实验过程中需要较复杂的设备、计算机软件操作系统,适用于长时间监测、试剂较为昂贵和样品来源有限的分析。

Manjon^[52]建立了用 FIA 技术测定市售药物制剂中左旋肉碱含量的方法。其方法是基于左旋肉碱脱氢酶的催化反应,通过检测反应中产生的 NADH 的含量间接测定左旋肉碱的浓度。Stefan 等^[53]基于 SIA 系统利用安培生物传感器作为检测器,建立了测定左旋和右旋肉碱含量的方法,取得了优异的结果。

2.7 分光光度法

紫外可见分光光度法是一种无损检测,不会破坏样品本身的结构,对一些在紫外可见光区间具有较强吸收的有机物敏感度很高。但是,当待测样品中存在悬浮不溶物时,会产生散射光,从而影响检测结果的准确性。此外,利用紫外可见分光光度法检测左旋肉碱的实验大多需要先发生一步化学反应,产生能够在紫外可见光区域具有吸收的产物,然后才能进行检测,如在前面讲到的酶法检测左旋肉碱。

Ferreira 等^[54]结合电化学方法与分光光度法,实现了对婴幼儿奶粉中游离左旋肉碱的检测。实验采用流动注射分析的方法,并装备有肉碱乙酰转移酶的生物反应器。实验过程中,样品中游离的左旋肉碱在肉碱乙酰转移酶的催化作用下与乙酰辅酶 A 反应,生成的游离辅酶 A 进而与 5,5'-二硫代双-硝基苯甲酸发生反应,生成具有紫外吸收的 5-硫-2-硝基苯甲酸根,然后通过分光光度法间接检测游离左旋肉碱的含量。实验中,在游离左旋肉碱浓度为 10~80 mg/L 的范围内标准曲线线性具有很好的线性($r=0.9998$),检测限可达 5 mg/L, 试样检测中加标回收率为 96%~99%。金世梅等^[55]结合酶促反应与分光光度法,发展了分光光度法检测保健茶中左旋肉碱的方法。该方法重现性好,相对标准偏差为 0.142%,回收率也很高(96.2%~108.0%)。

2.8 其他方法

最早, Fraenkel 和 Friedman^[56]曾提出对大黄粉虫喂食含有左旋肉碱的饲料,通过观察其生存状况测定左旋肉碱含量的生物法。比色法也曾被作为检测肉碱的方法之一,但是无法区别左旋和右旋肉碱。1958 年, Friedman 等^[57]建立了比色检测法,其原理是肉碱中的季胺基团与溴酚蓝反应能产生有色物质,通过对反应体系颜色的对比确定样品中肉碱的含量。该法最大的缺点特异度差,易受样品中含有季胺基团成分的干扰,如胆碱和甜菜碱,影响结果的准确性,但是可以利用薄层色谱法对样品分离前处理来提高

检测的准确性。

3 总结与展望

左旋肉碱,由于其具有多重生理功能,在食品、医药等领域得到越来越广泛的应用。在这种情况下,对左旋肉碱检测方法进行分类总结是十分必要的。本文详细介绍了食品、营养补充剂、配方药物和血浆、尿液等生物样品中左旋肉碱的不同检测方法。其中,放射性分析法和酶分析法对左旋肉碱能够立体选择性的识别,实现样品中游离左旋肉碱和结合态左旋肉碱的检测。酶促反应与分光光度法联合使用是检测左旋肉碱最常用的方法,但是缺乏足够的精确度。随着仪器设备及分析方法的发展,利用色谱法、毛细管电泳法、质谱法和电化学方法检测左旋肉碱的研究受到科研工作者的广泛关注。基于这些新技术的检测方法具有选择性好、敏感度高的优点,但是操作过程过于繁琐,通常需要对样品进行前处理、衍生化和分离。因此,未来左旋肉碱检测方法将会优化组合各种前处理方法和检测方法,向更加方便快速、更加量化的方向发展。

参考文献

- [1] Jochen S, Heinz R. A spectrophotometric method for the determination of free and esterified carnitine [J]. *Clin Chim Acta*, 1989, 182: 87-93.
- [2] Kakou A, Meqoulas NC, Koupparis MA. Determination of L-carnitine in food supplement formulations using ion-pair chromatography with indirect conductimetric detection [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1069: 209-215.
- [3] Maehara M, Kinoshita S, Watanabe K. A simple fluorometric method for the determination of serum free carnitine [J]. *Clin Chim Acta*, 1988, 171: 311-316.
- [4] Matsumoto K, Ichitani Y, Ogasawara N, *et al.* Precolumn fluorescence derivatization of carnitine and acylcarnitines with 4-(2-aminoethylamino)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole prior to high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1994, 678: 241-247.
- [5] Sánchez-Hernández L, Castro-Puyana M, García-Ruiz C, *et al.* Determination of L- and D-carnitine in dietary food supplements using capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2010, 120(3): 921-928.
- [6] Sánchez-Hernández L, García-Ruiz C, Crego AL, *et al.* Sensitive determination of D-carnitine as enantiomeric impurity of levo-carnitine in pharmaceutical formulations by electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(5): 1217-1223.
- [7] GB 29989-2013 婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定[S]. GB 29989-2013 Determination of L-carnitine in baby formula and dairy [S].
- [8] 向忠权, 蒲国荣, 韦志明, 等. 左旋肉碱的合成与应用[J]. *化工技术与开发*, 2013, 42(2): 15-21. Xiang ZQ, Pu GR, Wei ZM, *et al.* Application of phosphorus oxychloride in organic synthesis and industrial production [J]. *Technol Dev Chem Ind*, 2013, 42(2): 15-21.
- [9] Lonza Ltd. A process for the production of carnitine from β -lactones: EP20100007568 [P]. 2012-01-25.
- [10] Idell-Wenger JA, Grotyohann LW, Neely JR. Regulation of fatty acid

- utilisation in heart: role of the L-carnitine acetyl-CoA transferase and L-carnitine acetyl-L-carnitine translocase system [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1982, 14(3): 413–417.
- [11] Siliprandi N, Sartorelli L, Ciman M, *et al*. L-carnitine: metabolism and clinical chemistry [J]. *Clin Chim Acta*, 1989, 183(1): 3–12.
- [12] Monika D, Malgorzata S. Analytical approaches to determination of carnitine in biological materials, foods and dietary supplements [J]. *Food Chem*, 2014, 142: 220–232.
- [13] 曾云, 丁峰. 左旋肉碱合成与前景浅析[J]. *广东化工*, 2012, 39(1): 71–72.
Zeng Y, Ding F. L-Carnitine synthesis and future analyse [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2012, 39(1): 71–72.
- [14] 杨能, 张惟杰. L-肉碱的生理功能与生物学方法生产[J]. *生物化学与生物物理进展*, 1992, 19(2): 81–85.
Zhang N, Zhang WJ. Physiological functions and biological synthesis methods of L-carnitine [J]. *Prog Biochem Biophys*, 1992, 19(2): 81–85.
- [15] Knüttel-Gustavsen S, Harmeyer J. The determination of L-carnitine in several food samples [J]. *Food Chem*, 2007, 105(2): 793–804.
- [16] 汪学荣, 王光慈, 阚建全. 左旋肉碱生理功能及其应用进展[J]. *粮食与油脂*, 2002, 11: 45–46.
Wang XR, Wang GC, Kan JQ. Physiological functions and application progress of L-carnitine [J]. *Cereal Oil*, 2002, 11: 45–46.
- [17] 殷仁富, 王咏梅, 张家友, 等. 慢性充血性心力衰竭患者血浆游离肉碱浓度的测定及临床意义[J]. *中国综合临床*, 2002, 18(5): 410–411.
Yin RF, Wang YM, Zhang JY, *et al*. The determination of free carnitine concentration in chronic congestive heart failure patients' plasma and its clinical significance [J]. *Clin Med China*, 2002, 18(5): 410–411.
- [18] 王咏梅, 殷仁富, 吴宗贵, 等. 左旋肉碱治疗急性病毒性心肌炎的临床疗效分析[J]. *中国综合临床*, 2004, 20(6): 488–489.
Wang YM, Yin RF, Wu ZG, *et al*. Clinical efficacy of L-carnitine in treating acute virus myocarditis [J]. *Clin Med China*, 2004, 20(6): 488–489.
- [19] 马宏星, 任江华. 肉碱与心血管疾病[J]. *心血管病学进展*, 2000, 21(5): 309–312.
Ma HX, Ren JH. Carnitine and cardiovascular diseases [J]. *Adv Cardiovasc Dis*, 2000, 21(5): 309–312.
- [20] 马艳艳, 杨艳玲. 原发性肉碱缺乏症与心肌病[J]. *中国实用儿科杂志*, 2014, 29(10): 738–741.
Ma YY, Yang YL. Primary carnitine deficiency and cardiomyopathy [J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2014, 29(10): 738–741.
- [21] 张凤清, 张丽君, 周长民, 等. 左旋肉碱的制备方法[J]. *当代化工*, 2008, 37(3): 316–318.
Zhang FQ, Zhang LJ, Zhou CM, *et al*. The physiological preparation and application of L-carnitine [J]. *Contemp Chem Ind*, 2008, 37(3): 316–318.
- [22] Karlic H, Lohninger A. Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense? [J]. *Nutrition*, 2004, 20(7-8): 709–714.
- [23] Venkatraman JT, Feng X, Penderqast. Effects of dietary fat and endurance exercise on plasma cortisol, prostaglandin E2, interferon-gamma and lipid peroxides in runners [J]. *J Am Coll Nutr*, 2001, 20(5): 529–536
- [24] Ciacci C, Peluso G, Iannoni E, *et al*. L-Carnitine in the treatment of fatigue in adult celiac disease patients: a pilot study [J]. *Dig Liver Dis*, 2007, 39(10): 922–928.
- [25] Sun K, Li Q. Simultaneous determination of free and total carnitine in human serum by HPLC with UV detection [J]. *J Chromatogr Sci*, 2010, 48: 371–374.
- [26] De Andres F, Castaneda G, Rios A. A chiral liquid chromatography with circular dichroism detection for the determination of carnitine enantiomers in dietary supplements and pharmaceutical formulations [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51: 478–483.
- [27] Freimüller S, Altorför H. A chiral HPLC method for the determination of low amounts of D-carnitine and L-carnitine after derivatization with (+)-FLEC [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 30: 209–218.
- [28] Cao QR, Ren S, Park MJ, *et al*. Determination of highly soluble L-carnitine in biological samples by reverse phase high performance liquid chromatography with fluorescent derivatization [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2007, 30: 1041–1046.
- [29] 胡晓娟, 张锦, 赵闾. 反相高效液相色谱法测定保健品中左旋肉碱的含量[J]. *光谱实验室*, 2011, 28(2): 743–746.
Hu XJ, Zhang J, Zhao T. Determination of L-carnitine in health food by RP-HPLC [J]. *Chin J Spectrosc Lab*, 2011, 28(2): 743–746.
- [30] 甘宾宾, 黎少豪. HPLC 法测定保健食品中左旋肉碱含量的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(7): 1688–1689.
Gan BB, Li SH. Determination of L-carnitine content in health food by HPLC [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2010, 20(7): 1688–1689.
- [31] Lewin LM, Peshin A, Sklarz B. A gas chromatographic assay for carnitine [J]. *Anal Biochem*, 1975, 68: 531–536.
- [32] Marquis NR, Fritz IB. Enzymological determination of free carnitine concentrations in rat tissues [J]. *J Lipid Res*, 1964, 5: 184–187.
- [33] Seccombe DW, Dodek P, Frohlich J, *et al*. Automated method for L-carnitine determination [J]. *Clin Chem*, 1978, 22: 1589–1592.
- [34] Rodriguez-Segade S, De la Pena C A, *et al*. Determination of L-carnitine in serum, and implementation on the ABA-100 [J]. *Clin Chem*, 1985, 31: 754–757.
- [35] Woollard DC, Indyk HE, Woollard GA. Enzymatic determination of carnitine in milk and infant formula [J]. *Food Chem*, 1997, 59(3): 325–332.
- [36] Indyk HE, Woollard DC. Enzymatic determination of free carnitine in milk and infant formula [J]. *J AOAC Int*, 1995, 78: 69–74.
- [37] Takahashi M, Ueda S, Misaki N, *et al*. Carnitine determination by an enzymatic cycling method with carnitine dehydrogenase [J]. *Clin Chem*, 1994, 40: 817–821.
- [38] Vogt C, Kiessig S. Separation of D/L-carnitine enantiomers by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1996, 745: 53–60.
- [39] Promsila W, Morand R, Kkahlenbuhl S, *et al*. Determination of carnitine in food and food supplements by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(13): 2186–2191.
- [40] Laura SH, Maria CP, Carmen GR, *et al*. Determination of L- and D-carnitine in dietary food supplements using capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2010, 120(3): 921–928.
- [41] Cederblad G, Lindstedt S. A method for the determination of carnitine in the picomole range [J]. *Clin Chim Acta*, 1972, 37: 235–243.
- [42] Seline KG, Johein H. The determination of L-carnitine in several food samples [J]. *Food Chem*, 2007, 105: 793–804.
- [43] Demarquoy J, Georges B, Rigault C, *et al*. Radioisotopic determination of L-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries [J]. *Food Chem*, 2004, 86: 137–142.
- [44] Johnson DW. Inaccurate measurement of free carnitine by the electrospray tandem mass spectrometry screening method for blood spots [J]. *J Inherit*

- Metab Dis, 1999, 22: 201–202.
- [45] Johnson DW. An acid hydrolysis method for quantification of plasma free and total carnitine by flow injection tandem mass spectrometry [J]. Clin Biochem, 2010, 43, 1362–1367.
- [46] Oglesbee D, He M, Majumder N, *et al.* Development of a newborn screening follow-up algorithm for the diagnosis of isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency [J]. Genet Med, 2007, 9: 108–116.
- [47] Ensenauer R, Vockley J, Willard JM, *et al.* A common mutation is associated with a mild, potentially asymptomatic phenotype in patients with isovaleric acidemia diagnosed by newborn screening [J]. Am J Hum Genet, 2004, 75: 1136–1142.
- [48] Koeberl DD, Young SP, Gregersen NS, *et al.* Rare disorders of metabolism with elevated butyryl- and isobutyryl-carnitine detected by tandem mass spectrometry newborn screening [J]. Pediatr Res, 2003, 54: 219–223.
- [49] Hardy DT, Preece MA, Green A. Determination of plasma free carnitine by electrospray tandem mass spectrometry [J]. Ann Clin Biochem, 2001, 38: 665–670.
- [50] Stevens RD, Hillman SL, Worthy S, *et al.* Assay for free and total carnitine in human plasma using tandem mass spectrometry [J]. Clin Chem, 2000, 46: 727–729.
- [51] 竺琴, 苏流坤, 郑家概, 等. 高效液相色谱-质谱联用测定婴幼儿配方奶粉中的左旋肉碱[J]. 分析测试学报, 2012, 31(3), 355–358.
Zhu Q, Su LK, Zheng JG, *et al.* Determination of L-carnitine in infant formula milk powder by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(3), 355–358.
- [52] Manjón A, Obón JM, Iborra JL. Determination of L-carnitine by flow injection analysis with NADH fluorescence detection [J]. Anal Biochem, 2000, 281: 176–181.
- [53] Stefan RI, Bokretsjon RG, van Staden JF, *et al.* Simultaneous determination of L- and D-carnitine using a sequential injection analysis/ampereometric biosensors system [J]. J Pharm Biomed Anal, 2003, 33: 323–328.
- [54] Ferreira I, Macedo MN, Ferreira MA. Enzymic flow injection determination of free L-carnitine in infant formulae [J]. Analyst, 1997, 122: 1539–1541.
- [55] 金世梅, 赵志红, 朱慧, 等. 分光光度法检测保健茶中左旋肉碱[J]. 粮食与食品工业, 2011, 18(5): 54–57.
Jin SM, Zhao ZH, Zhu H, *et al.* Determination of L-carnitine in sanitarian tea with spectrophotometry [J]. Cereal Food Ind, 2011, 18(5): 54–57.
- [56] Fraenkel G, Friedman S. Carnitine [J]. Vitam Horm, 1957, 15: 73–118.
- [57] Friedman S. Determination of carnitine in biological materials [J]. Arch Biochem Bio Phys, 1958, 75: 24–31.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



马兴, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: max0@tjciq.gov.cn