

使用 Nexera LC-40 测定燕窝中唾液酸

LC-230

摘要： 本文采用 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了燕窝中唾液酸的测定方法。实验结果表明，浓度为 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.31% 和 1.35%，方法精密度良好。在 5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，方法线性良好，线性判定系数 R^2 为 0.9995。实际燕窝样品三次平行分析，结果表明：唾液酸平均含量为 106.86 g/kg，RSD 为 2.72%。该方法简单，灵敏，稳定性好，满足 GB/T 30636-2014 的要求，适用于燕窝中唾液酸的检测。

关键词： Nexera LC-40 高效液相色谱仪 燕窝 唾液酸

燕窝是雨燕科几种金丝燕分泌的唾液及其绒羽混合粘结所筑成的巢穴，主产于马来西亚、印度尼西亚、泰国和缅甸等东南亚国家及我国的福建和广东沿海地带。燕窝含有丰富的糖类、有机酸、游离氨基酸以及特征物质——唾液酸 (sialic acid)。多年以来，燕窝一直被认为是高档滋补品，因物稀价贵，导致市场上出现大量假冒伪劣产品，极大损害了消费者的利益，扰乱市场经济秩序。

唾液酸又称燕窝酸，是燕窝主要的生物活性成分，是智力发展催化剂。在燕窝中主要以 N-乙酰神经氨酸形式存在。据报道，一般燕窝的唾液酸含量可达 7% 以上，这也是初步鉴定真假燕窝的手段。

目前唾液酸的检测方法主要有分光光度法，高效液相色谱法，液相色谱质谱联用法等，本文参考 GB/T 30636-2014(燕窝及其制品中唾液酸的测定 液相色谱法)，采用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪，建立了燕窝中唾液酸的分析方法，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 XR 高效液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器：CBM-40 Lite

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40B XR

自动进样器：SIL-40C XR

柱温箱：CTO-40S

检测器：SPD-M40

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97



图 1 岛津 Nexera LC-40 XR 高效液相色谱仪

1.2 分析条件

色谱柱：300SCX 阳离子交换色谱柱（250 mm L. ×4.6 mm I.D., 5 μm）

流动相：A, 水（0.1% 磷酸）；B, 乙腈

流速：1 mL/min

柱温：30 °C

检测波长：205 nm

进样体积：10 μL

洗脱方式：等度洗脱，A：B=10：90。

1.3 标准品溶液制备

唾液酸标准储备液：

精密称取唾液酸标准品 100 mg，加水 20 mL 溶解后，加乙腈定容至 100 mL 容量瓶中，制得 1 mg/mL 唾液酸标准储备液。

唾液酸标准系列工作溶液：

从上述储备液中移取适量，用流动相逐级稀释制成 5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、60 μg/mL、80 μg/mL、100 μg/mL 的标准系列工作溶液。

1.4 样品前处理

取适量干燕窝于 105°C 烘干 60 min，干燥器中冷却，用研钵研成细粉，混匀。准确称取 0.1 g 粉碎均匀试样（精确至 0.0001 g）至 25 mL 具塞刻度试管中，加入 50 % 乙酸溶液 10 mL，加塞，置于 100°C 水浴中水解 10 min，取出试管冷却至室温。将水解液转移至 100 mL 容量瓶中，用流动相定容至刻度，混匀，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，滤液进液相色谱仪分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

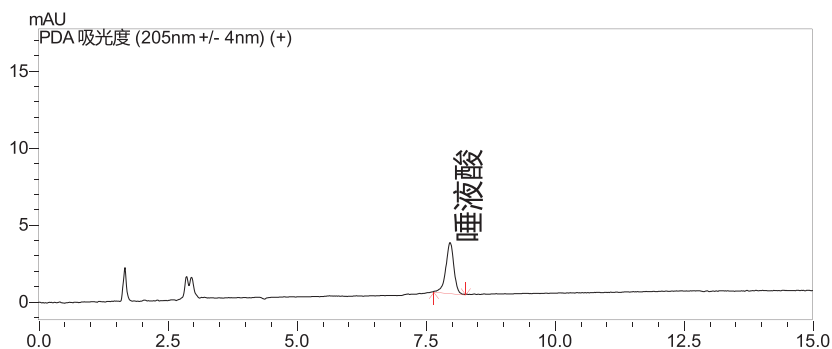


图 2 唾液酸标准品溶液色谱图（10 μg/mL）

2.2 线性范围和灵敏度考察

将 1.3 中制备的 5、10、20、40、60、80、100 μg/mL 标准系列工作溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，使用外标法拟合工作曲线。标准曲线见图 3，线性判定系数 $R^2 = 0.9995$ 。标准曲线各浓度点的准确度、信噪比、定量限如表 1 所示。曲线各标点准确度在 94.2-104.4% 之间。5 μg/mL 标准溶液的 S/N 为 42.78 (ASTM 计算方式)。

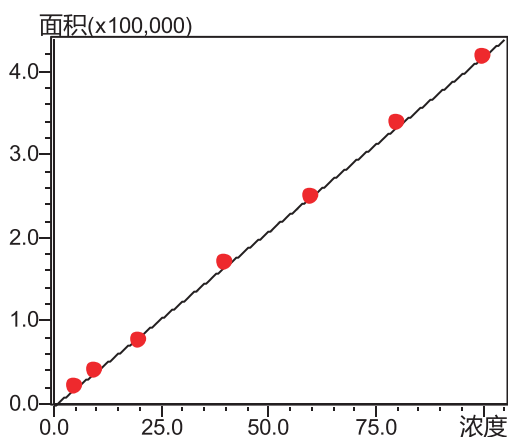


图3 唾液酸工作曲线

表1 唾液酸校准曲线准确度和定量限

□ <> 定量结果视图 ID# 1 唾液酸								
Data#	数据文件名	保留时间	面积	浓度 (μg/mL)	标准浓度	精确度%	S/N	定量限
1	标液_100ppm	7.898	415,801	99.730	100	99.7	699.53	1.42567
2	标液_80ppm	7.913	336,038	80.758	80	100.9	555.34	1.45419
3	标液_60ppm	7.928	248,055	59.830	60	99.7	490.86	1.21889
4	标液_40ppm	7.943	167,615	40.697	40	101.7	360.38	1.12928
5	标液_20ppm	7.958	75,710	18.837	20	94.2	146.14	1.28898
6	标液_10ppm	7.976	38,252	9.928	10	99.3	132.90	0.74699
7	标液_05ppm	7.996	18,459	5.220	5	104.4	42.78	1.22006

2.3 精密度实验

60 μg/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如下表 2 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.31% 和 1.35%。

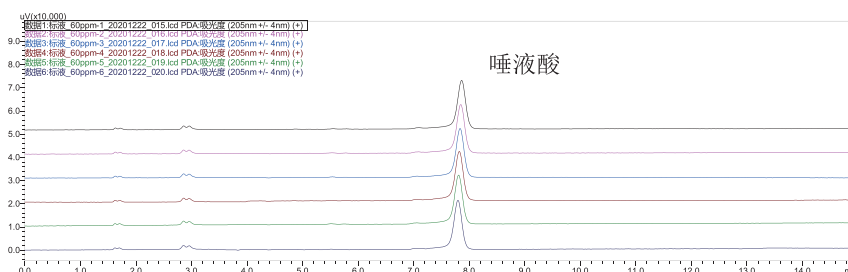


图4 对照品溶液 6 针重复性色谱图

表 2 60 µg/mL 唾液酸标准溶液连续 6 针重复性结果

编号	保留时间	峰面积
1	7.869	245,157
2	7.853	239,062
3	7.841	245,817
4	7.826	249,206
5	7.815	244,068
6	7.803	244,050
平均值	7.834	244,560
RSD%	0.314076	1.346842

2.4 实际样品分析及重复性考察

样品信息：品种 - 燕碎；原产国 - 印度尼西亚；燕窝种类 - 屋燕。

将样品用研钵研成细粉后按照 1.4 前处理方法处理后上机，平行 3 份样品考察稳定性和 RSD，具体结果如下：
样品中唾液酸平均含量为 106.86 g/kg，RSD 为 2.72%，结果见表 3。该方法稳定性及重现性良好。

唾液酸含量计算公式：

$$X = (c \times V \times 10^3) / (m \times 10^6)$$

X- 试液中唾液酸含量，单位克每千克 (g/kg)

C- 由标准曲线查得试液中唾液酸浓度，单位为微克每毫升 (µg/mL)

V- 试液定容体积，单位为毫升 (mL)

m- 试液取样质量，单位为克 (g)

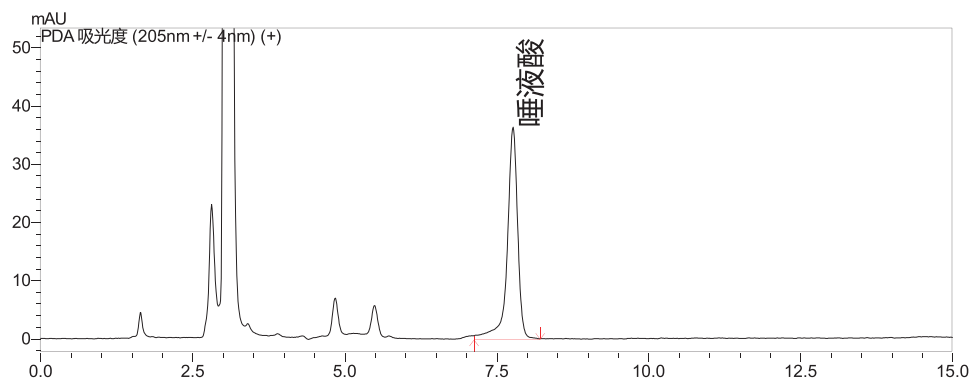


图 5 燕窝样品溶液色谱图

表 3 三平行样品及重复性计算结果 (n=3)

No.	燕窝中唾液酸含量 (g/kg)
1	109.38
2	107.73
3	103.76
平均值	106.96
CV%	2.72

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了燕窝中唾液酸的测定方法。实验结果表明，5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液的 S/N 为 42.78 (ASTM 计算方式)。60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.31% 和 1.35%，方法精密度良好。在 5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，方法线性良好，线性判定系数 R² 为 0.9995。曲线各标点准确度在 94.2-104.4%。实际干燕窝样品平行三份分析，结果为平均含量为 106.86 g/kg，RSD 为 2.72%。该方法灵敏，准确，稳定性好，适用于燕窝中的唾液酸的检测。

岛津应用云

