

# 使用 Nexera LC-40 HILIC 模式测定燕窝中唾液酸

LC-231

**摘要：**本文采用 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，以 HILIC 色谱柱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 0.036% 和 0.68%，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 0.9992。实际燕窝样品三次平行分析，结果表明：唾液酸平均含量为 107.70 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 HILIC 模式

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 )，标准中采用了强离子交换柱进行分析，色谱柱相

对价格昂贵，耐用性较差，岛津利用 Nexera LC-40 液相色谱仪，建立了一种实用性较强的 HILIC 模式的唾液酸的分析方法，供相关检测人员参考。

HILIC 是亲水作用色谱法 (Hydrophilic Interaction Chromatography) 的简称，如分析在反相色谱柱保留困难的极性化合物可使用该分离模式，HILIC 模式随着有机溶剂浓度升高保留会逐渐增强。此外，溶液中经常添加一定的醋酸铵等缓冲盐，可实现稳定的分析。

## ■ 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: Inertsil HILIC (150 mm × 4.6 mm I.D., 3 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:5020-07795)

流动相: A, 水 (10 mM 甲酸铵); B, 乙腈

流速: 1 mL/min

柱温: 40 °C

检测波长: 205 nm

进样体积: 10 μL

洗脱方式: 等度洗脱, A: B=15: 85。

## 1.3. 准准品溶液制备

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

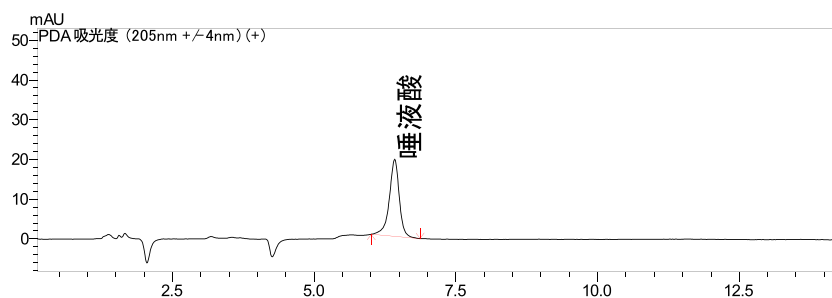


图 2 唾液酸标准品溶液色谱图 (10 μg/mL)

### 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  $R^2 = 0.9992$ 。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 95.0-108.1% 之间。5 μg/mL 标准溶液的 S/N 为 29.50 (ASTM 计算方式)。

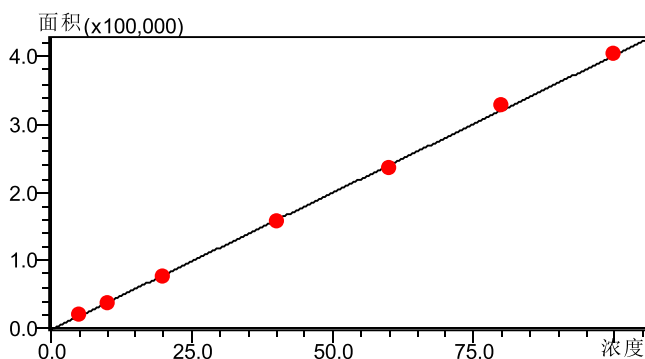


图3 唾液酸工作曲线

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 (ng/L)	标准浓度	精确度%	S/N	定量限
1	标液_05ppm_	6.438	19,584	5.404	5	108.1	29.50	1.83172
2	标液_10ppm_	6.424	36,887	9.684	10	96.8	64.72	1.49621
3	标液_20ppm_	6.417	74,507	18.990	20	95.0	104.48	1.81753
4	标液_40ppm_	6.415	158,154	39.682	40	99.2	236.42	1.67845
5	标液_60ppm_	6.421	235,876	58.908	60	98.2	317.11	1.85764
6	标液_80ppm_	6.435	327,760	81.638	80	102.0	463.55	1.76113
7	标液_100ppm	6.441	404,789	100.693	100	100.7	502.49	2.00389

### 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 0.036% 和 0.68%。

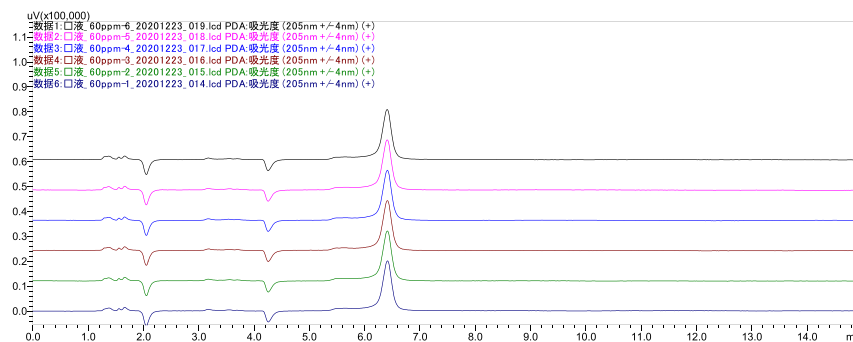
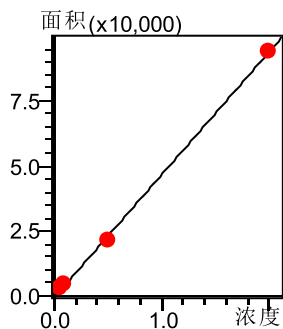


图4 对照品溶液 6 针重复性色谱图

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	6.413	234,671
2	6.410	233,240
3	6.410	230,349
4	6.410	234,589
5	6.407	233,704
6	6.407	233,551
平均值	6.410	233,351
RSD%	0.036	0.68

#### 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：样品中唾液酸实际含量平均为 107.70 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)

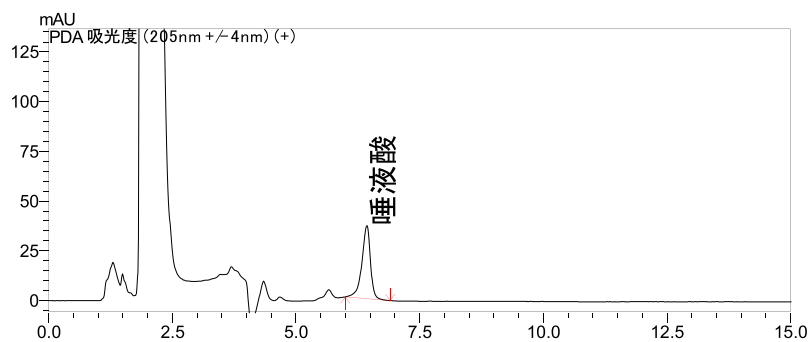


图 5 燕窝样品溶液色谱图

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	110.16
2	108.49
3	104.46
平均值	107.70
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，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 0.036 % 和 0.68 %，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 0.9992。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 107.70 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

