

LCMS-8045 测定燕窝中的唾液酸

LCMSMS-520

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液相色谱质谱联用仪（LCMS-8045），采用 HILIC 色谱柱，建立了燕窝中唾液酸的测定方法。实验结果表明，在 25-500 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性判定系数 R 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 117.70 g/kg，RSD 为 1.37%。该方法简单，灵敏，稳定性好，适用于燕窝中唾液酸的检测。

关键词： LCMS-8045 燕窝 唾液酸

中国人吃燕窝的历史已有 600 多年，中医认为：燕窝具有养阴润燥、益气补中功效，主治咳嗽、盗汗、咯血、反胃干呕、夜尿频多等症。食用燕窝还有助于快速改善健康状况，被称为是滋补圣品，目前越来越受到广大人群的青睐。

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）。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。

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。

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 SN/T3644-2013(出口燕窝及其制品中唾液酸的测定)，采用岛津 LCMS-8045 液质联用仪，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

本实验采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A₅

输液泵：LC-30AD×2 输液泵

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-30A

检测器：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相条件：

色谱柱：Inertsil HILIC (150 mm × 2.1 mm I.D., 3 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N:5020-07765)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸、5mM 甲酸铵水；B 相 -0.1% 甲酸乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

进样体积：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|------------|--------------|-------|
| 1.00 | Pumps | Pump B Conc. | 40 |
| 2.00 | Pumps | Pump B Conc. | 80 |
| 4.00 | Pumps | Pump B Conc. | 80 |
| 4.10 | Pumps | Pump B Conc. | 40 |
| 7.00 | Controller | Stop | |

质谱条件

离子化模式: ESI (-)

加热气流速: 10.0 L/min

接口温度: 300 °C

DL 温度: 250 °C

MRM 参数: 见表 2

雾化气流速: 3.0 L/min

干燥气流速: 10.0 L/min

加热模块温度: 400 °C

碰撞气: 氩气

表 2 MRM 参数

| 名称 | CAS | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias(V) | CE(V) | Q3 Pre Bias(V) |
|-----|----------|--------|--------|----------------|-------|----------------|
| 唾液酸 | 131-48-6 | 308.15 | 87.00* | 23.0 | 15.0 | 30.0 |
| | | | 170.05 | 15.0 | 14.0 | 17.0 |

注: * 表示定量离子

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 25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/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, 待测。

结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

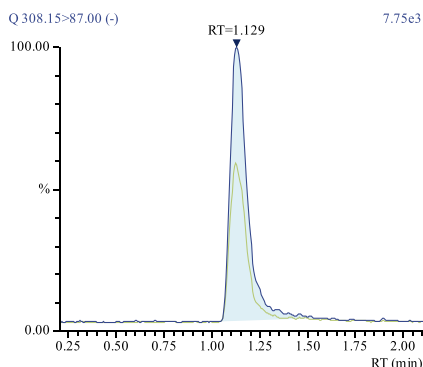


图 1 唾液酸标准品溶液 (100 ng/mL) MRM 色谱图

2.2 线性范围和灵敏度考察

将 1.3 中制备的 25、50、100、250、500 ng/mL 标准系列工作溶液, 取 5 μL 进样, 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 2, 相关系数 R = 0.9992。各浓度点线性回归的准确度、信噪比、定量限如表 3 所示。曲线各标点准确度在 94.7-107.7%。25 ng/mL 标准溶液的 S/N 为 29.79。

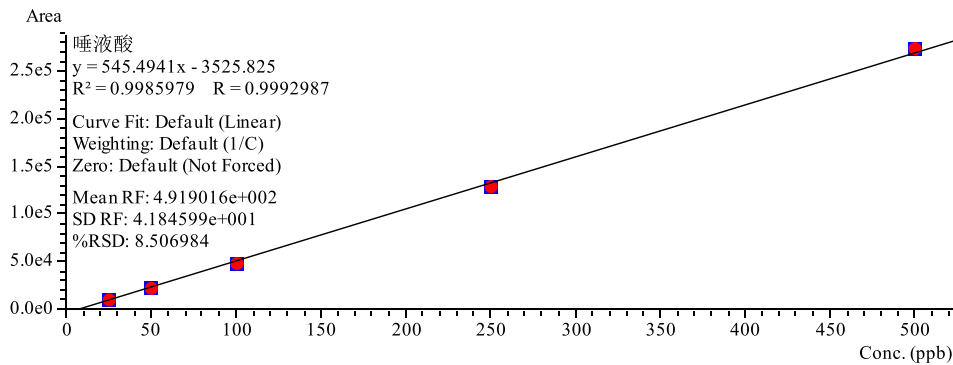


图 2 唾液酸工作曲线

表 3 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 | 面积 | 浓度 (ppb) | 标准浓度 | 精确度% | S/N | 检测限 | 定量限 |
| 1 | 标液_25ppb_ | 11,164 | 26.929 | 25 | 107.7 | 29.79 | 2.98303 | 9.03949 |
| 2 | 标液_50ppb_ | 23,201 | 48.995 | 50 | 98.0 | 72.77 | 2.22199 | 6.73329 |
| 3 | 标液_100ppb | 48,108 | 94.655 | 100 | 94.7 | 139.78 | 2.23465 | 6.77168 |
| 4 | 标液_250ppb | 129,449 | 243.770 | 250 | 97.5 | 329.02 | 2.44492 | 7.40886 |
| 5 | 标液_500ppb | 275,031 | 510.651 | 500 | 102.1 | 690.33 | 2.44107 | 7.39718 |

2.3 重复性考察

100 ng/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 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.061% 和 0.82%，方法精密度良好。

表 4 100 ng/mL 唾液酸标准溶液连续 6 针重复性结果

| 编号 | 峰面积 | 保留时间 |
|------|-------|---------|
| 1 | 1.117 | 657,029 |
| 2 | 1.116 | 653,706 |
| 3 | 1.117 | 659,410 |
| 4 | 1.117 | 652,096 |
| 5 | 1.117 | 645,797 |
| 6 | 1.118 | 647,333 |
| 平均值 | 1.117 | 652,562 |
| RSD% | 0.061 | 0.82 |

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 前处理方法处理后将滤液稀释至适合浓度（样品浓度在线性关系范围内）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为 117.17 g/kg，RSD 为 1.37%。样品色谱图见图 3，结果见表 5，该方法稳定性及重现性良好。

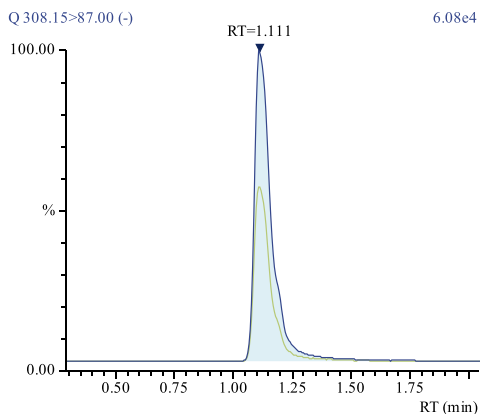


图 3 实际样品谱图

表 5 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 | 115.37 |
| 2 | 118.45 |
| 3 | 117.69 |
| 平均值 | 117.17 |
| CV% | 1.37 |

■ 结论

本文建立了岛津 LCMS-8045 三重四级杆液质联用仪定量测定燕窝中唾液酸的方法。实验结果表明, 100 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次, 峰面积相对标准偏差为 0.82%, 仪器精密度良好。在 25-500 ng/mL 浓度范围内, 方法线性良好, 线性相关系数为 0.9992。曲线各标点准确度在 94.7-107.7% 之间。样品中唾液酸实际含量为 117.17 g/kg, RSD 为 1.37%。该方法灵敏, 准确, 稳定性好, 回收率高, 抗假阳性能力强, 适用于燕窝中的唾液酸的检测。

岛津应用云

