

# LCMS-8050 定性分析阿胶中马皮源成分

## LCMSMS-438

**摘要：**本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用鉴定阿胶中马皮源成份的方法。参照杭宝建 [1] 等人的方法，使用胰蛋白酶酶解马皮源胶质样品，选择马皮特征肽 GASGPAGVR 作为定性依据。建立了阿胶特征肽  $m/z$  539.80 >  $m/z$  612.40 和  $m/z$  539.80 >  $m/z$  923.80 检测离子对与马皮特征肽的色谱峰  $m/z$  386.25 >  $m/z$  377.10 和  $m/z$  386.25 >  $m/z$  322.10 同时分析的方法。该方法可实现阿胶中的马皮源成份的鉴定分析。

**关键词：**超高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶 马皮特征肽段

阿胶系驴皮经煎煮浓缩成的固体胶。能补血滋阴、润燥止血，用于贫血心悸、燥咳咯血、先兆流产、产后血虚、肌痿无力，是中医临床常用补益药。阿胶主要是由蛋白质（含量约 80%），氨基酸，以及多种微量元素组成，其药理作用与其所含氨基酸和微量元素有关。由于阿胶的应用范围较广，目前，有些不法商贩弄虚作假，以次充好，以牛皮、马皮等下脚料冒充驴皮，严重扰乱了阿胶市场，给消费者带来了较大伤害，因此，掌握阿胶的真伪鉴别方法至关重要。别的兽畜皮熬胶，

也有补血止血的功能，但黄明胶、伪品阿胶的蛋白质成分及其含量和阿胶有明显不同，所以与驴皮胶效力相差太远。国家药监局已发布新阿胶（猪皮源）、牛皮源鉴别的补充检验方法，而对于马皮源的鉴别目前还处于研究阶段。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8050 对阿胶中的马皮源特征肽段进行了分析，建立了阿胶中马皮源特征肽段的定性鉴别分析方法，为鉴别阿胶中马皮源特征肽段的分析提供参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS (2.0 mm I.D.×100 mm L., 2.2 μm)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液； B 相 - 乙腈

流速：0.30 mL/min

柱温：40°C

进样体积：5 μL

洗脱方式：采用梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
25.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.10	Pumps	Pump B Conc.	5
50.00	Controller	Stop	

## 质谱条件

离子化模式	: ESI+	DL 温度	: 250°C
离子源接口电压	: 4.5 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接口温度	: 300°C
加热气	: 干燥空气 10.0 L/min	干燥气	: 氮气 10.0 L/min
驻留时间	: 10 ms	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
马皮特征肽段	386.25	377.10	-19.0	-11.0	-25.0
		322.10	-19.0	-11.0	-20.0
阿胶特征肽	539.80	612.40	-38.0	-22.0	-22.0
		923.80	-38.0	-24.0	-40.0

## 1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取马皮源对照药材 0.10 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 1% 碳酸氢铵溶液 40 mL, 超声处理 30 分钟, 使样品完全溶解, 加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述溶液 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 加入阿胶对照药材粉末 0.20 g, 加 1% 碳酸氢铵溶液 80 mL, 超声处理 30 分钟, 使样品完全溶解, 再加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液 100  $\mu\text{L}$ , 置微量进样瓶中, 加胰蛋白酶溶液 (取序列分析级胰蛋白酶, 加 1% 碳酸氢铵溶液制成每 1  $\mu\text{L}$  中含 1  $\mu\text{g}$  的溶液, 临用前现配) 10  $\mu\text{L}$ , 摇匀, 37°C 恒温酶解 12 小时, 即得。

## 结果与讨论

## 2.1 马皮特征肽对照药材的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得马皮源及阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图, 图 1 中阿胶特征肽离子对  $m/z$  539.80 >  $m/z$  612.40 信噪比为 1292, 马皮特征肽离子对  $m/z$  386.25 >  $m/z$  377.10 的信噪比为 1054, 满足色谱峰信噪比大于 10:1 的一般定性要求。马皮源对照药材中特征多肽保留时间、峰高、峰面积见表 3。

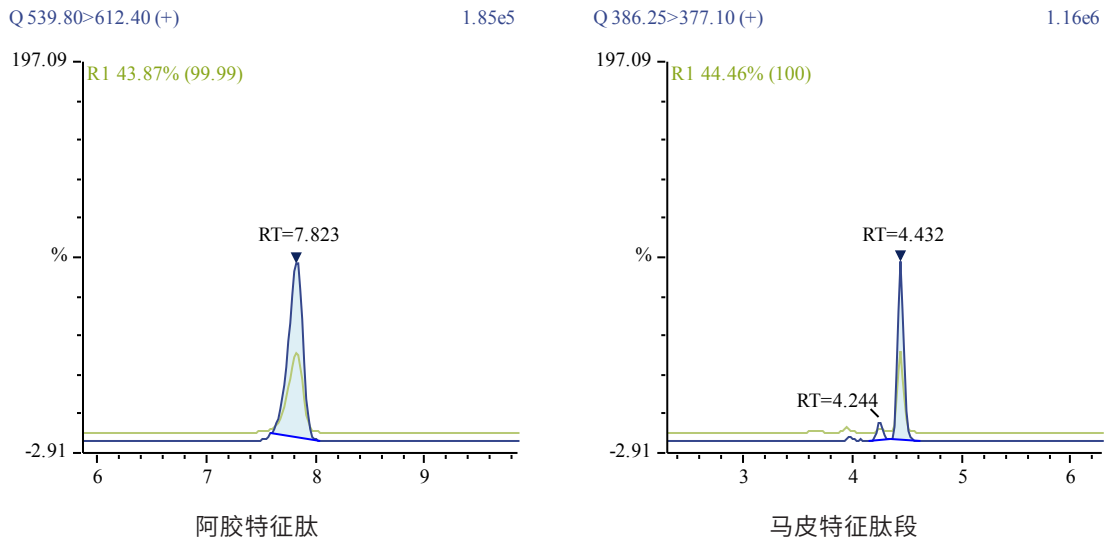


图 1. 马皮源对照药材的 MRM 色谱图

表 3. 马皮源对照药材中阿胶、马皮源特征肽段分析结果

编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积
阿胶特征肽	539.80>612.40	7.82	72583	677016
马皮特征肽段	386.25>377.10	4.43	496073	2015960

## 2.2 实际样品分析

按照 1.3 前处理办法对两种实际样品进行处理分析，两份样品中均可以检测阿胶特征肽段，马皮源特征多肽通道未出峰。样品色谱图如下图 2 和图 3 所示：

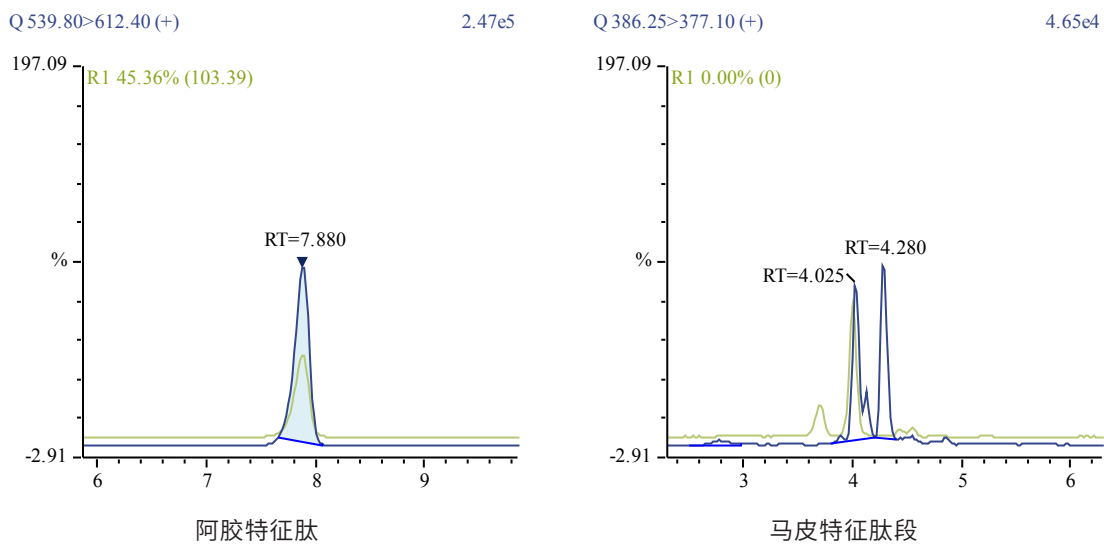


图 2. 样品 1 的 MRM 色谱图

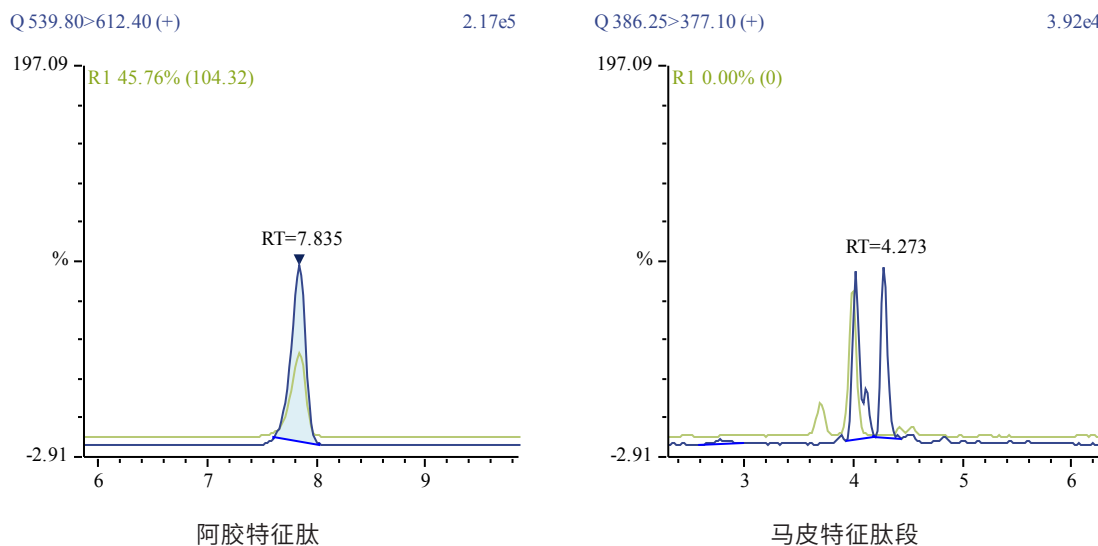


图 3. 样品 2 的 MRM 色谱图

## 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 鉴定阿胶中马皮源的特征肽段的分析方法，实现了阿胶马皮特征肽段鉴定分析。该方法所检测的马皮特征肽段 MRM 色谱图中离子对  $m/z$  386.25> $m/z$  377.10 的响应明显，完全满足噪比大于 10:1 定性的要求。供试品的  $m/z$  386.25> $m/z$  377.10 和  $m/z$  386.25> $m/z$  322.10 通道色谱图中，未出现与对照品中保留时间相同的峰。因此，本方法可为马皮源阿胶的马皮特征肽段的快速、准确、灵敏的鉴别提供参考。

## 参考文献

[1] 杭宝建, 田晨颖, 陈晓, et al. 超高效液相色谱-串联质谱法测定阿胶中马、牛、羊、猪、骆驼、鹿皮源成分 [J]. 色谱, 2018(4):408-412.

岛津应用云

