

岛津应用数据集

● 色谱分析

LCMSMS-211

LCMS-8040 测定阿胶中的牛皮源成份

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-8040 联用鉴定阿胶中牛皮源成份的方法。本文参照《阿胶中牛皮源质量的补充检验方法》中内容, 使用胰蛋白酶酶解牛皮源胶质样品, 选择牛皮特征肽作为定性依据。本文按照补充检验方法要求建立了 $m/z641.3 > m/z726.2$ 和 $m/z641.3 > m/z783.3$ 检测离子对, 且对照品溶液中牛皮特征肽的色谱峰 ($m/z641.3 > m/z726.2$) 信噪比大于 10:1。该方法完全满足检验方法的要求, 实现阿胶中的牛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 牛皮 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制作假冒伪劣阿胶的行径, 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东阿阿胶有明显不同所以与驴皮胶效力相差太远。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对阿胶中的牛皮源特征肽段进行了分析, 建立了阿胶中牛皮源特征肽段的定性鉴别分析方法, 为鉴别阿胶中牛皮源特征肽段的分析提供参考。

1. 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-8040 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-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS (3.0 mm I.D.×100 mm L., 2.2 μm)

流动相：A 相-0.1% 甲酸水溶液
柱温：40℃
B 相-乙腈
进样量：5 μL

流速：0.3 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
35.00	Pumps	Pump B Conc.	50
35.10	Pumps	Pump B Conc.	5
40.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI, 正离子模式
DL 温度：250℃
离子喷雾电压：+4.5 kV
加热模块温度：450℃
雾化气流速：氮气 3.0 L/min
扫描模式：多反应监测(MRM)
干燥气流速：氮气 15 L/min
驻留时间：100 ms
碰撞气：氦气
延迟时间：3 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 Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
牛皮特征肽段	641.3	726.20	-32	-28	-38.0
		783.30	-32	-30	-28.0

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g，置 50 mL 量瓶中，加 1% NH₄HCO₃ 溶液 40 mL，超声处理 30 分钟，使样品完全溶解，加 1%NH₄HCO₃ 溶液稀释至刻度，摇匀。参照《阿胶中牛皮源质量的补充检验方法》下，取上述对照品溶液和供试品溶液各 5 mL，过 0.22 μm 的滤膜，精密量取 100 μL 滤液到 200 μL 微量进样瓶中，加胰蛋白酶溶液（取序列分析纯胰蛋白酶适量，加 1% NH₄HCO₃ 溶液溶解，制成每 1 μL 中含 1 μL 胰蛋白酶的溶液）10 μL，摇匀，37℃ 恒温酶解 12 h，即得。

2. 结果与讨论

2.1 牛皮特征肽对照药材的 MRM 色谱图

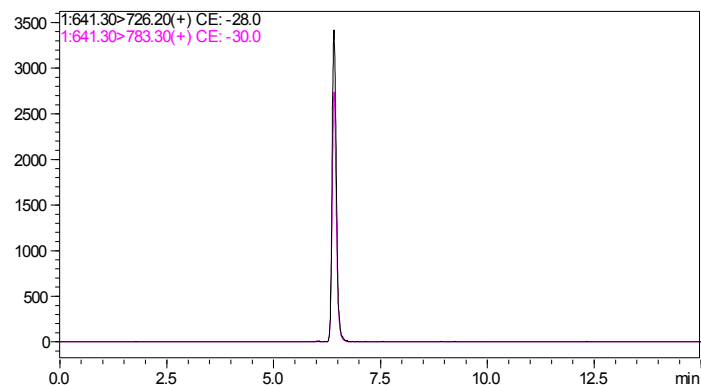


图 1 对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得牛皮源对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，图中特征离子对 $m/z641.3>m/z726.2$ 的信噪比为 13560，远满足《阿胶中牛皮源质量的补充检验方法》中要求的色谱峰信噪比大于 10:1 的要求。

表 3 对照品中牛皮特征肽段分析结果

编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积
牛皮特征肽段	641.30>726.20	6.41	3536	22844

2.2 实际样品分析

对两种由用户处获得的实际样品进行分析，结果下：

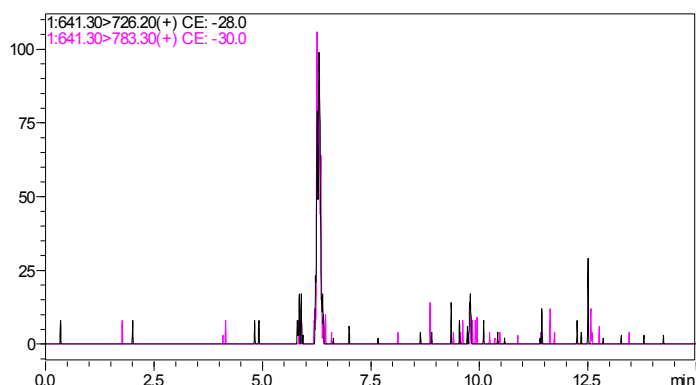


图 2 样品 1 的 MRM 色谱图

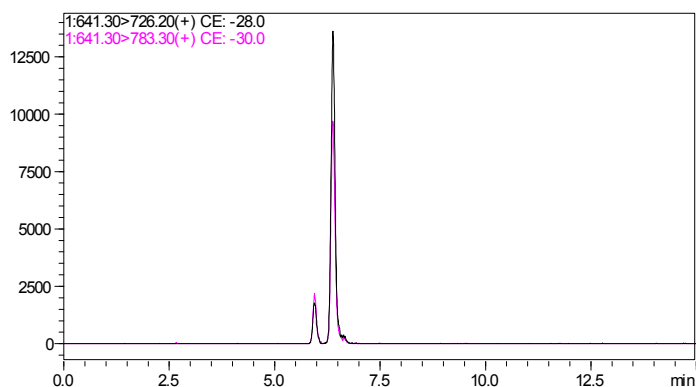


图 3 样品 2 的 MRM 色谱图

表 4 实际样品中牛皮特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积
样品 1	641.30>726.20	6.38	79	528
样品 2		6.40	13508	90316

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 鉴定阿胶中牛皮源的特征肽段的分析方法，实现了阿胶牛皮特征肽段鉴定分析。该方法所检测的牛皮特征肽段 MRM 色谱图中离子对 $m/z641.30>m/z726.20$ 的响应明显，完全满足《阿胶中牛皮源质量的补充检验方法》信噪比大于 10:1 的要求。《阿胶中牛皮源质量的补充检验方法》要求供试品的 $m/z641.30>m/z726.20$ 和 $m/z641.3>m/z783.3$ 通道色谱图中，应不得同时出现与对照品色谱保留时间相同的色谱峰；若同时出现，则要求样品中 $m/z641.30>m/z726.20$ 色谱图中色谱峰面积不得超过对照品 $m/z641.30>m/z726.20$ 色谱图的峰面积。而对两份实际样品分析结果表明样品 2 不符合要求。因此，本方法可为实现牛皮源阿胶的牛皮特征肽段的快速、准确、灵敏的鉴别提供参考。