

岛津应用数据集

● 色谱分析

LCMSMS-214

LCMS-8030 定性鉴别阿胶药材

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用定性鉴别阿胶药材的方法。本文参照《中国药典（2015 版）》中阿胶项下，使用胰蛋白酶酶解阿胶样品，选择阿胶的特征肽作为定性依据；按照药典要求建立了 $m/z539.8>612.4$ 和 $m/z539.8>923.8$ 检测离子对，且对照品溶液及市售药材样品中阿胶特征肽的信噪比均远远大于 3:1。该方法完全满足药典的要求，实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词：高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质。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。阿胶经水解后其胶原蛋白变为分子量更小的肽类，从而失去原有胶原蛋白的性质，无法进行来源鉴别。2015 版药

典对阿胶的定性方法进行了修订，由 2010 版的茚三酮显色法修改为采用液质联用的方法检测特征肽段，方法更科学可靠。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8030 对阿胶中的特征肽段进行了分析，建立了阿胶定性鉴别分析方法，可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-20AD×2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 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：Inertsil ODS-4 (2.1 mm I.D.×250 mm L., 5 μ m)

流动相：A 相-0.1% 甲酸水溶液

流速：0.3 mL/min

B 相-乙腈

柱温：40℃

进样量：5 μ L

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
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.10	Pumps	Pump B Conc.	100
45.00	Pumps	Pump B Conc.	100
45.10	Pumps	Pump B Conc.	5
55.00	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：400℃

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)
驴皮特征肽段	539.8	612.40	-38	-22	-22
		923.80	-38	-24	-40

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，加 1% NH_4HCO_3 溶液 50 mL，超声处理 30 min，使用微孔滤膜滤过。参照《中国药典（2015 版）》阿胶项下，取滤液 100 μ L，置于进样瓶中，加胰蛋白酶溶液（取序列分析纯胰蛋白酶适量，加 1% NH_4HCO_3 溶液溶解，制成每 1 μ L 中含 1 mg 胰蛋白酶的溶液）10 μ L，摇匀，37℃ 恒温酶解 12 h，作为对照药材溶液或供试液，进 LCMS-8030 分析。

2. 结果与讨论

2.1 阿胶对照药材的 MRM 色谱图

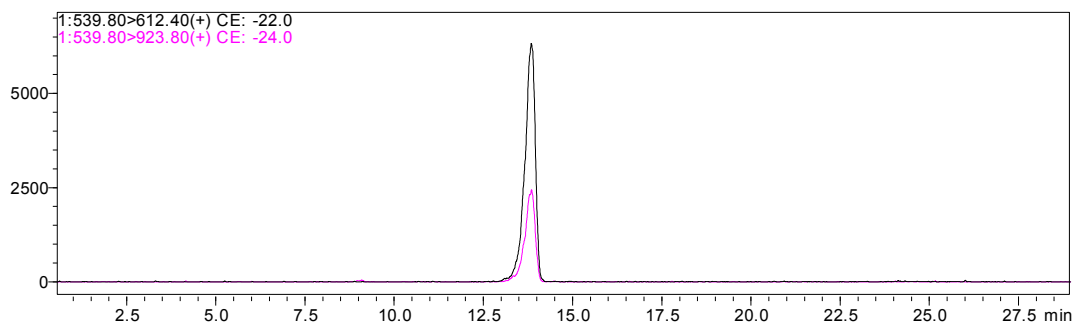


图 1 阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMSMS 分析获得阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，保留时间为：13.76 min，图 1 中两对特征离子对 539.8>612.4 以及 539.8>923.8 的信噪比分别为 1161 和 705，充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对市售的一种阿胶药材样品进行分析，结果如图 2 和表 3 所示。

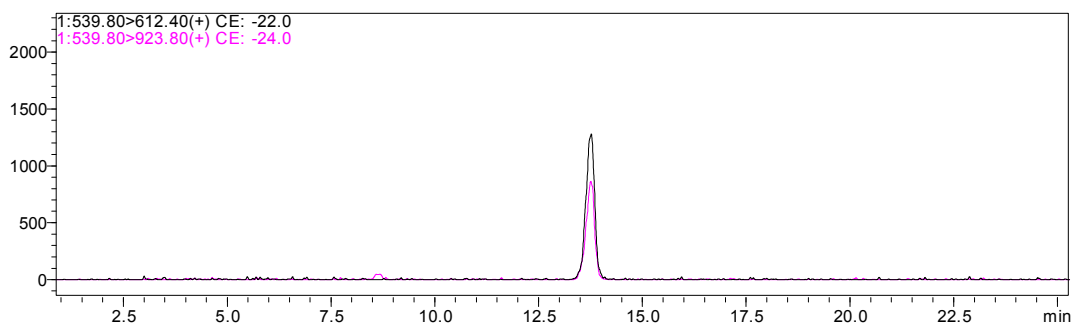


图 2 市售阿胶样品的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中驴皮源特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	信噪比
样品	539.8>612.4	13.76	1266	18994	464
	539.8>923.8		856	12360	499

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-8030 鉴定阿胶中特征肽段，实现了阿胶定性鉴别的方法。该方法所检测阿胶特征肽段 MRM 色谱图中离子对 539.8>612.4，539.8>923.8 的响应明显，完全满足 2015 版药典要求色谱峰信噪比大于 3:1 的要求，市售阿胶药材样品分析结果表明所测样品中含有阿胶成分。因此，本方法可为应对药典要求实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。