

利用高效阴离子色谱-安培检测法进行燕窝中糖的概况分析

陈军
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

离子色谱；安培检测；燕窝；糖

Keywords:

ion chromatography, amperometric detection, bird's nests, saccharides profile

引言

燕窝为雨燕科（Apodidae）金丝燕属（Collocalia）的多种鸟类分泌出的唾液与其绒羽混合凝结于悬崖峭壁上而筑成的巢窝。燕窝是一种名贵的滋补佳品和高级宴席佳肴，富含人体必须的氨基酸、多糖类及蛋白质，药食皆宜，深受国内外消费者的喜爱。现代研究发现，燕窝具有多种药理功效，主要有抗病毒、提高免疫力和强健骨骼、紧致皮肤等功效。

由于燕窝资源稀少、营养丰富、价格昂贵，且缺少国家标准或行业标准对燕窝伪劣真假进行鉴别，市场上存在大量品质低劣及假冒燕窝产品。针对燕窝及燕窝饮品的质量及等级问题，有学者通过紫外分光光度法、高效液相色谱法对燕窝中的唾液酸成分进行分析，但可通过加入工业唾液酸等方法进行掺假；也有学者用气相色谱法测定燕窝中4-5种醛糖的含量，根据其独特的峰比例，构成易于识别的燕窝“指纹”图进行燕窝样品的鉴定及分析。也有通过氨基酸分析法测定燕窝中各种氨基酸的构成比例来分析燕窝真假。

本文通过高效阴离子色谱-脉冲安培检测法测定燕窝水解液中糖的组成，分析糖组成中各种糖及唾液酸的相对比例来鉴别燕窝真假，方法无需衍生、简单可行，结果可靠。

测试条件

仪器：ICS-5000离子色谱仪（ThermoFisher公司）；
分析柱：CarbonPac PA1, 250 × 4 mm, 分析柱（P/N: 035391）；
CarbonPac, PA1, 50 × 4 mm, （P/N: 043096）；
柱温：30℃；
淋洗液：中性及氨基糖



时间 (min)	A 16mmol/L 氢氧化钠	B 100mmol/L 氢氧化钠
0.0	100	0
24	100	0
25	0	100
39	0	100
40	100	0
59	100	0

唾液酸：0-26 min, 100mmol/L 氢氧化钠 +50mmol/L 醋酸钠

流速：1.0mL/min；

定量环：10μL；

检测方式：电化学检测，金电极，标准糖电位。

AS-AP自动进样器

样品前处理

中性及氨基糖：称取50mg的燕窝粉末样品加入到特富龙的螺纹管中，加入2mL4N三氟乙酸。密封好特富龙管，在115℃下水解3h。水解完成后冷却到室温，将水解管中的混合物在减压条件下旋干，将残留物用高纯水定容至1000mL。

唾液酸：称取50mg的燕窝粉末样品加入到特富龙的螺纹管中，加入2mL0.1N三氟乙酸。密封好特富龙管，在80℃下水解1h。水解完成后冷却到室温，将水解管中的混合物在减压条件下旋干，将残留物用高纯水定容至1000mL。

结果和讨论

色谱条件优化

糖类化合物具有弱酸性及亲水性，在比较强的碱性溶液中以阴离子形态存在。在强碱性条件下，糖结构中的羟基等电化学活性基团在适当的电位下可以在金电极表面被氧化从而导致电流变化，可通过脉冲安培检测器进行检测。使用CarbonPac PA1柱能在合适的淋洗液条件下将几种糖依次洗脱。实验发现当氢氧化钠浓度低于14mmol/L时，葡萄糖胺与半乳糖分离度变差；当氢氧化钠浓度高于20mmol/L时葡萄糖与甘露糖分离度变差；综合考虑，选择16mmol/L氢氧化钠作为淋洗液，七种糖所得分离情况如色谱图1所示。唾液酸的保留较强，采用CarbonPac PA1分离唾液酸需要添加一定量的醋酸钠增加洗脱能力，优化后，所得结果如色谱图2所示。

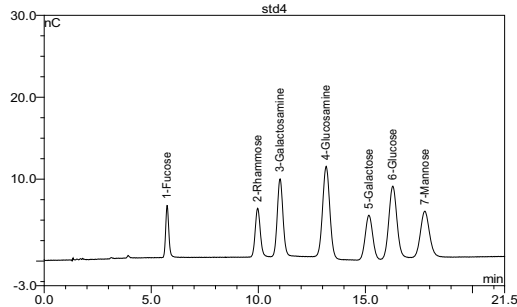


图1. 中性及氨基糖标准溶液的色谱图

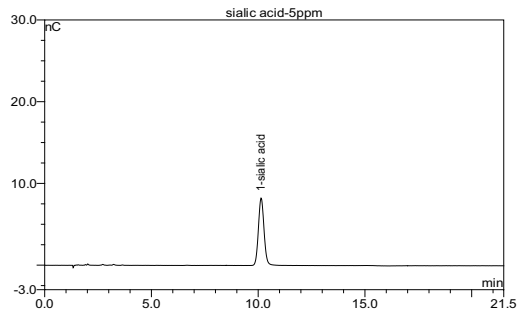


图2. 唾液酸标准溶液的色谱图

线性、相关系数、检测限及精密度

将不同浓度的糖及唾液酸标准储备溶液稀释配制得到一浓度系列，对上述系列浓度依次测定，取其峰面积值，以峰面积为纵坐标，标准液质量浓度为横坐标建立标准工作曲线，得到糖及唾液酸的线性回归方程和相关系数。取标准溶液连续进样5针，得到精密度。结果如下表1所示。

实际样品分析

取市场上购得的燕窝样品，照选定的样品前处理方法进行处理，按选定的色谱条件进行测定，外标法定量，测定结果如表2及分离谱图3、4：

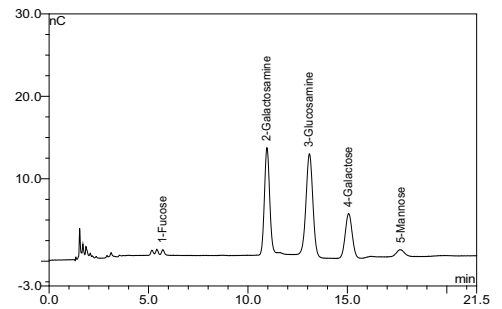


图3. 实际样品中性及氨基糖分离色谱图

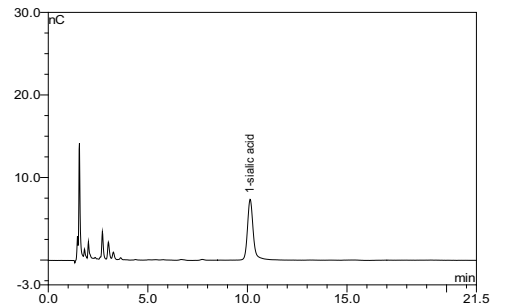


图4. 实际样品中唾液酸分离色谱图

表1. 线性、相关系数、检出限及精密度

No.	名称	曲线	相关系数	检出限 (mg/L)	精密度
1	Fucose	$Y=1.0503*X+0.0046$	99.98	0.02	2.57%
2	Rhamnose	$Y=0.6411*X -0.0087$	99.98	0.04	2.66%
3	Galactosamine	$Y=1.1761*X -0.0234$	99.98	0.03	1.98%
4	Glucosamine	$Y=1.7252*X -0.0204$	99.97	0.02	3.26%
5	Galactose	$Y=0.9002*X -0.0981$	99.99	0.04	3.13%
6	Glucose	$Y=1.5557*X -0.0378$	99.98	0.03	1.24%
7	Mannose	$Y=1.1190*X -0.0468$	99.99	0.04	1.31%
8	Sialic acid	$Y=0.4947*X +0.0030$	99.99	0.02	1.44%

表2. 燕窝样品实际测定结果

No	Items (g/kg)								NeuAc / GalN
	Fuc	Rha	GalN	GlcN	Gal	Glc	Man	NeuAc	
1	0.16	ND*	10.20	10.09	15.91	68.51	2.06	15.05	1.5
2	18.12	ND	ND	1.67	3.35	45.66	135.04	0.54	0.3
3	0.58	ND	28.34	22.60	18.21	ND	1.81	61.24	2.7
4	ND	ND	ND	ND	7.28	243.25	2.53	ND	-
5	0.80	ND	33.30	28.53	25.38	ND	3.30	49.00	1.7
6	0.84	ND	37.11	35.46	51.13	1.06	3.45	18.53	0.5
7	ND	ND	ND	ND	ND	14.61	ND	ND	-
8	0.37	ND	13.87	12.16	12.26	26.99	2.23	65.08	5.4

结论

从本方法所得结果可见，真实的燕窝样品中含有唾液酸。通过样品中NeuAc/ GalN的比率，可以作为燕窝质量优劣判定的指标之一。本文建立的高效阴离子色谱-安培检测测定燕窝中糖概况的方法，样品前处理简单、方便。方法稳定，线性范围内相关性好，准确度高。将本方法应用于燕窝中糖的测定，可用于燕窝真假及质量的判定，具有较好的实用价值。

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

免费服务热线: 800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

ThermoFisher
 S C I E N T I F I C