

· 化学与分析 ·

25种燕窝样品中唾液酸含量的测定与分析

王羚邴¹, 李远彬², 邱子博¹, 吴国洪¹, 许洁茹¹, 赖小平^{1,2*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的: 研究分析燕窝样品中唾液酸的含量与品种的相关性, 为燕窝质控提供参考。方法: HPLC测定燕窝样品中唾液酸的含量, 以邻苯二胺盐酸盐为衍生化试剂, 流动相乙腈-水(15:85), 流速1.0 mL·min⁻¹, 检测波长230 nm。结果: 25种燕窝中水分含量范围在9.13%~17.58%, 唾液酸的含量范围在3.59%~15.22%。经实验方法检测, 银耳、猪皮等伪品的唾液酸含量为零。结论: 该法简便、可靠、准确, 可用于燕窝与银耳、猪皮等伪品区分的辅助手段; 初步的数据显示, 虽然白燕、血燕、黄燕中唾液酸的含量无显著性差异, 但可为进一步的燕窝质量优劣研究提供参考。

[关键词] 燕窝; 唾液酸; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0064-04

[doi] 10.11653/syfy2013190064

Determination and Analysis of Sialic Acid in 25 Kinds of Edible Bird' Nest

WANG Ling-li¹, LI Yuan-bin², QIU Zi-bo¹, WU Guo-hong¹, XU Jie-ru¹, LAI Xiao-ping^{1,2*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Dongguan Mathematical Engineering Academy of Chinese Medicine and Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To study and analyze the content of sialic acid (SA) among different edible bird's nest (EBN), so as to provide reference for EBN quality standard. **Method:** Using HPLC to detect the content of SA [O-pheny-lenediamine·2HCl is the derivatization reagent; the mobile phase consisted of acetonitrile-water (15:85); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹]. **Result:** The water content in 25 kinds of EBN ranged from 9.13% to 17.58%, the SA content in 25 kinds of EBN ranged from 3.62% to 15.23% respectively. The content of SA in tremella and pigskin was found zero while using this method. **Conclusion:** The method is simple, reliable and precise, which could be used to identify the EBN, tremella and pigskin. Although there's no difference among white, red and yellow EBN, the data could provide support for the further study on the quality of EBN.

[Key words] edible bird's nest; sialic acid; HPLC

燕窝为雨燕科金丝燕属几种燕类分泌的唾液与其绒羽混合凝结于悬崖峭壁上的巢窝, 主产于东南

亚, 是一种安全有效的抗流感病毒的天然物, 能促进细胞生长和加强免疫系统功能, 其药食皆宜, 具有补肺养阴的作用, 主治虚劳咳嗽、咳血等症, 是我国传统的名贵滋补佳品和高级宴席佳肴^[1-2]。燕窝含有丰富的活性糖蛋白及多种天然营养物和矿物质, 其特征成分是唾液酸糖蛋白, 在燕窝中含量高达50%^[3]。唾液酸糖蛋白由唾液酸、氨基酸和糖构成, 在一定的酸性条件下可水解出游离的唾液酸单体, 学名N-乙酰神经氨酸。

世界贸易统计每年有大量的燕窝药材在市场流

[收稿日期] 20121107(012)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173498)

[第一作者] 王羚邴, 博士, 副研究员, 从事中药新药开发研究, Tel:15902068190, E-mail:wlingli_1999@126.com

[通讯作者] * 赖小平, 博士, 研究员, 从事中药现代化和中药新药研究, Tel:020-39358316, E-mail:helene1010@126.com

通,由于资源有限,燕窝的营养价值和经济价值日渐攀升,致其市场乱象丛生。因此,完善燕窝的真假鉴别及制定科学的质量标准十分必要^[4-9]。笔者采用高效液相法研究25种来自印尼、马来西亚、新加坡等的燕窝样品(当地政府提供)和2种市售样品中唾液酸的含量及相关性,为燕窝质量标准的建立提供参考。

1 材料

LC-20 A型高效液相色谱仪(日本岛津公司),

SPD-20 Avp(UV-VIS)检测器(日本岛津公司),DTS型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司),CP225D型电子天平(德国Sartorius公司),*N*-乙酰-神经氨酸(唾液酸)对照品(纯度 $\geq 99\%$)(美国Sigma公司,批号A0117),乙腈为色谱纯,硫酸氢钠和邻苯二胺盐酸盐为分析纯,水为纯净水。

燕窝样品经广州中医药大学新药开发研究中心赖小平教授鉴定,见表1。

表1 燕窝的来源鉴定

No.	燕窝来源	鉴定结果	No.	燕窝来源	鉴定结果
1	-	白燕碎	15	印尼(苏门答腊岛杜里)	白燕盏
2	-	白燕盏	16	印尼(苏门答腊岛直名丁宜市)	白燕盏
3	新加坡龙标燕窝私人有限公司	白燕盏	17	印尼(苏门答腊岛直名丁宜市)	白燕盏
4	杏园春	白燕条	18	-	白燕饼
5	民裕堂	白燕条	19	-	血燕碎
6	印尼苏门答腊岛	白燕盏	20	新加坡龙标燕窝私人有限公司	血燕条
7	马来西亚(马六甲沿海)	白燕盏	21	马来西亚(沙巴州)	血燕角
8	印尼(苏门答腊岛棉兰)	白燕盏	22	马来西亚(沙巴州)	血燕条
9	-	白燕碎	23	新加坡龙标燕窝私人有限公司	黄燕盏
10	印尼(苏门答腊岛丹戎巴来市)	白燕盏	24	新加坡龙标燕窝私人有限公司	黄燕饼
11	印尼(苏门答腊岛丹戎巴来市)	白燕盏	25	马来西亚(沙巴州)	黄燕盏
12	印尼(苏门答腊岛)	白燕盏	26	深圳市永福元工贸有限公司	样品(市售)
13	印尼(苏门答腊岛亚齐市)	白燕盏	27	福建太仓明星食品有限公司	样品(市售)
14	印尼(苏门答腊岛亚齐市)	白燕盏			

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品储备液 精密称取唾液酸对照品适量,加水溶解,制成每1 mL含唾液酸5 mg的储备溶液。

2.1.2 对照品溶液 精密移取0.2 mL对照品储备液于100 mL具塞锥形瓶中,加入 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻苯二胺盐酸盐溶液(用 $0.25\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸氢钠溶液溶解)5 mL,于80 ℃水浴中衍生反应40 min,取出,放冷,过滤,滤液定容到25 mL,以 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,备用。

2.1.3 供试品溶液 取燕窝粗粉适量,混匀,精密称取50 mg于100 mL具塞锥形瓶中,加 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸氢钠溶液5 mL,摇匀,称定质量,在80 ℃水浴中水解30 min,取出,放冷至室温,再称定质量,用水补足减失的质量,按2.1.2项下方法进行衍生化反应,即得。

2.1.4 空白样品溶液 按2.1.3项下方法操作制

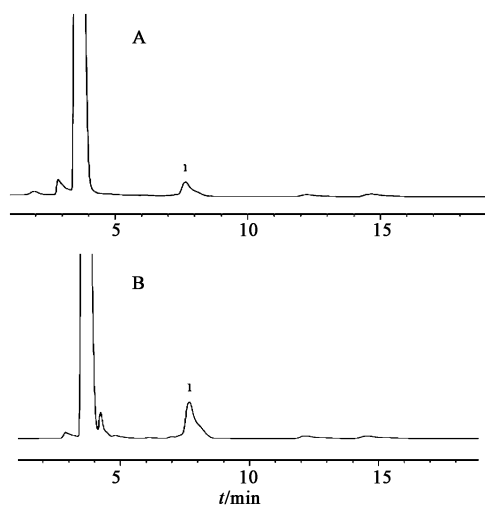
得缺燕窝的空白样品溶液。

2.2 色谱条件及系统适应性试验 Atlantis C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(15:85),流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长230 nm,进样体积10 μL。按上述色谱条件分别对对照品溶液和供试品溶液进行分析,分离效果较好,空白样品溶液与对照品出峰相应的位置未出现峰,专属性良好,见图1。

2.3 线性关系考察 精密移取对照品储备液0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 mL,分别置100 mL具塞锥形瓶中,按2.1.2项下方法进行衍生化反应,得对照品系列溶液($0.04\sim 0.6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),分别精密吸取10 μL注入液相色谱仪,记录峰面积(*A*)。以*A*为纵坐标,质量浓度*C*为横坐标,绘制标准曲线,回归方程 $A = 24\ 782\ 428C - 375\ 853$ ($r = 0.998\ 8$)。

2.4 精密度试验 取2.3项下的唾液酸对照品溶液($0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),重复进样测定6次,其RSD 0.56%。

2.5 重复性试验 精密称取燕窝(编号1)粗粉6



A. 对照品; B. 供试品; 1. 唾液酸(N-乙酰-神经氨酸)

图 1 燕窝样品 HPLC

份,按 2.1.3 项下方法进行处理后进样,测得其中的唾液酸质量分数为 5.48%,RSD 0.36%,表明该方法重复性较好。

2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10,12,24 h 测定其峰面积,其 RSD 2.36%,表明该供试品液至少在 24 h 内稳定。

2.7 加样回收试验 精密称取已知唾液酸含量的燕窝样品(编号 1)约 25 mg,分别加入含 1.0,1.2,1.4 mg 的唾液酸溶液,平行 3 次,按 2.1.3 项下方法进行处理后进样,用外标法以峰面积计算含量,并计算回收率,结果见表 2。

表 2 唾液酸加标回收试验(n=3)

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.025 0	1.228 5	1.0	2.310 3	108.19	107.48	1.37
0.025 1	1.233 4	1.0	2.288 8	105.78		
0.025 0	1.228 5	1.0	2.310 7	108.47		
0.025 1	1.233 4	1.2	2.514 6	106.97	106.92	3.80
0.025 0	1.228 5	1.2	2.557 5	110.96		
0.025 0	1.228 5	1.2	2.462 5	102.83		
0.025 1	1.233 4	1.4	2.697 1	104.72	107.02	2.29
0.025 0	1.228 5	1.4	2.722 7	106.73		
0.025 0	1.228 5	1.4	2.760 4	109.60		

2.8 样品测定 照水分测定法(2010 年版《中国药典》附录 IX H 第一法)测出各品种燕窝样品的平均水分,按上述研究方法测定了 27 种样品中的唾液酸含量(干重含量),结果见表 3。

表 3 27 种样品中的水分和唾液酸含量测定(n=3)

品名	No.	样品取量/g	水分含量/%	唾液酸含量/%
白燕	1	0.050 0	10.33	5.48
	2	0.050 2	10.02	14.80
	3	0.049 5	10.98	14.71
	4	0.049 7	10.85	14.44
	5	0.050 3	11.89	14.85
	6	0.050 0	14.57	14.38
	7	0.049 8	17.58	14.47
	8	0.049 8	17.07	14.88
	9	0.049 5	10.42	3.59
	10	0.049 6	11.92	13.73
	11	0.050 1	11.71	14.54
	12	0.049 2	13.40	14.64
	13	0.050 0	12.87	13.49
	14	0.050 0	10.71	14.29
	15	0.050 1	10.43	13.82
血燕	16	0.050 4	11.93	15.22
	17	0.050 1	14.88	15.01
	18	0.050 2	10.51	14.96
	19	0.050 2	10.04	12.06
	20	0.049 8	9.81	15.08
	21	0.049 9	9.79	10.41
黄燕	22	0.050 1	9.27	7.05
	23	0.050 0	9.13	14.11
	24	0.049 6	9.19	8.86
	25	0.049 4	10.11	13.16
其他	26	0.049 5	8.08	0.00
	27	0.049 8	2.57	0.00

3 讨论

白燕、血燕、黄燕中唾液酸的平均含量分别为 13.47%,11.15%,12.04%,初步的方差分析显示,各品种燕窝之间的 P 均 > 0.05,无显著性差异,故笔者推测,燕窝中唾液酸的含量不因品种不同而不同,虽然无法从燕窝的唾液酸含量进行燕窝品种的区别,但此方面数据可为燕窝质量优劣的进一步研究提供参考。此外,部分燕窝中唾液酸的含量偏低,可能与其加工处理有关。通过显微方法和理化方法等手段对样品 26,27 进行鉴别,结果分别为燕窝伪品银耳和猪皮,采用上述方法对其进行唾液酸的含量检测,结果无唾液酸信号,因此,本实验方法亦可用于银耳、猪皮等伪品与燕窝区分的辅助手段。

发酵虫草菌粉中微量元素含量的测定

钟承赞¹, 管咏梅², 李钰², 陈丽华^{2*}, 杨明³, 吴德智², 张明明²

- (1. 江西国药有限责任公司, 南昌 330052;
2. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;
3. 江西济民可信金水宝制药有限公司, 南昌 330096)

[摘要] 目的:对发酵虫草菌粉中微量元素的含量进行分析评价,为制定发酵虫草菌粉中微量元素质量标准提供参考依据。方法:采用原子吸收火焰法对发酵虫草菌粉中锌、铁、锰、铜、铅微量元素的含量进行分析。结果:发酵虫草菌粉中微量元素的含量顺序依次为 Fe > Mn > Zn > Cu > Pb。各元素方法线性关系良好,相关系数均 > 0.999 4;重复性试验 RSD 为 0.54% ~ 0.86%;回收率为 96.05% ~ 101.71%, RSD 为 0.32% ~ 1.91%。结论:该方法简单,精密度高,灵敏度高,结果可靠。发酵虫草菌粉中微量元素含量均符合世界卫生组织对重金属限量的要求。

[关键词] 发酵虫草菌粉; 微量元素; 火焰原子吸收光谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0067-04

[doi] 10.11653/syfy2013190067

Content Determination of Trace Elements in *Cordyceps sinensis* Fermented Mycelium

ZHONG Cheng-zan¹, GUAN Yong-mei², LI Yu², CHEN Li-hua^{2*},
YANG Ming³, WU De-zhi², ZHANG Ming-ming²

[收稿日期] 20121022(008)

[基金项目] “十二五”重大新药创制专项大品种改造项目(2011ZX09201-201-30)

[第一作者] 钟承赞,高级工程师,从事中药开发研究, Tel:0791-87118614, E-mail: zhongcz2013@163.com

[通讯作者] * 陈丽华,教授,硕士生导师,从事中药新剂型与新技术研究, Tel:0791-87119011, E-mail: chllly98@163.com

参考相关文献^[2-3,6]采用甲醇-0.1%磷酸水溶液,乙腈-0.2%磷酸水溶液等不同比例的流动相,未达到理想的分离效果;笔者通过试验摸索,流动相为乙腈-水(15:85)时对照品和供试品中的唾液酸色谱峰均能达到很好的分离,其他杂质峰无干扰。

[参考文献]

- [1] 林洁茹,周华,赖小平. 燕窝研究概述[J]. 中药材, 2006, 29(1): 85.
[2] 冯婷玉,薛长湖,孙通,等. 燕窝中唾液酸的DAD/FLD串联HPLC测定方法研究[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 233.
[3] 华永有,杨艳,林美华. 高效液相色谱法测定燕窝类保健品中唾液酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(10): 2454.
[4] 朱春红,雍炜,徐厉,等. 燕窝真假鉴定技术研究[J].

中国食品卫生杂志, 2007, 19(3): 206.

- [5] 何艳青,张俊红. 燕窝多种鉴别及质量检测技术的分析与总结[J]. 中国实用医药, 2011, 19(6): 241.
[6] 姜水红,查圣华,谢丽芬,等. 燕窝中唾液酸含量测定方法的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(5): 315.
[7] 查圣华,姜水红,王泽凤,等. 燕窝中白燕和血燕对比研究[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(2): 23.
[8] 曹妍,徐杰,高焱,等. 白燕与血燕的营养成分分析和比较[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 414.
[9] 杨国武,张世伟,黄秀丽,等. 唾液酸检测研究现状及其用于燕窝产品质控评析[J]. 检验检疫学刊, 2010, 20(2): 70.
[10] 林洁茹. 燕窝DNA基原鉴定及抗病毒作用研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.

[责任编辑 顾雪竹]