

# 岛津应用数据集

## ● 色谱分析

## LCMSMS-210

### 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用定性分析龟甲胶药材

**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 联用定性分析龟甲胶的方法。本文参照《中国药典(2015 版)》中龟甲胶项下, 使用胰蛋白酶酶解龟甲胶样品, 选择龟甲胶的特征肽段作为定性依据。龟甲胶对照药材和市售药材样品特征肽段对应的两对特征离子满足药典中要求的 MRM 色谱峰中信噪比大于 3:1 的规定, 表明方法及系统可用于特征肽段的检测。本方法能够完全满足药典的要求, 实现龟甲胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

**关键词:** 超高效液相色谱三重四极杆质谱 龟甲胶 定性分析 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, 以补血、升血功能而著称。在 2010 版中国药典中通过茚三酮显色法进行定性鉴别, 此方法缺少特异性, 不易对不同来源的胶类药材进行区分。2015 版药典对鉴定方法进行修正, 把原来的茚三酮显色法改为液质联用的方法检测特征性肽段, 方法更科学可靠。该方法使用胰蛋白酶对不同来源的明胶类物质进行酶切处理, 通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而通过检测样品胶中的特征肽段对样品

胶的种类进行鉴定。2015 版中国药典收录阿胶、鹿角胶和龟甲胶三种胶类药材采用液质联用检测特征肽段的定性方法, 为此类药材的质量控制提供更加可靠和准确的分析依据。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对龟甲胶中的特征肽段进行分析, 依据 2015 版中国药典建立了龟甲胶定性鉴别的分析方法, 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 III 2.0 mmI.D.×100 mm L., 2.2 μm

流动相: A 相-0.1% 甲酸水溶液 柱温: 35℃

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	Command	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
25.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
41.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.01	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: 氩气

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 Bias (V)	CE(V)	Q1 Pre Bias (V)
龟甲胶特征肽段	631.40	546.20	-32	-22	-38
		921.40	-32	-35	-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, 加入 1% 碳酸氢铵溶液 50 mL, 超声处理 30 min, 用微孔滤膜滤过。参照《中国药典(2015 版)》龟甲胶项下, 取滤液 100 μL, 置于进样瓶中, 加入胰蛋白酶溶液 10 μL(用 1% 碳酸氢铵溶液配制成浓度为 1 mg/mL 的胰酶溶液), 摇匀, 37℃ 恒温酶解 12 小时, 作为对照药材溶液或供试液。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 龟甲胶对照药材的 MRM 色谱图

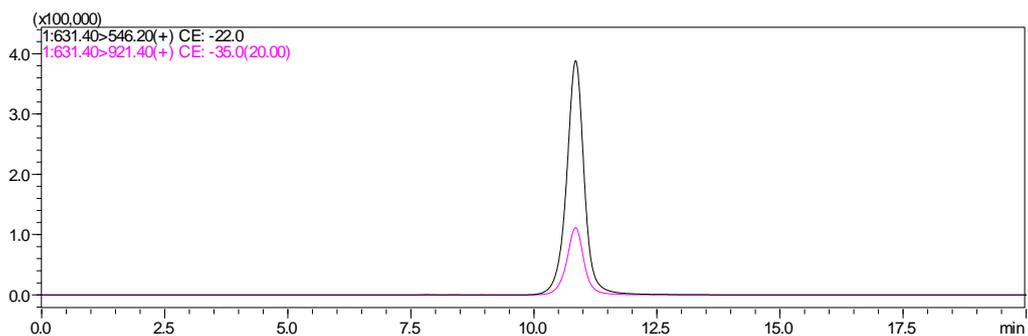


图 1 龟甲胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得龟甲胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，保留时间 10.85 min，图 1 中两对特征离子对 631.40>546.20 以及 631.40>921.40 的信噪比分别为 127479 和 7451，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

对两种市售龟甲胶药材样品进行分析，结果如图 2、3 和表 3 所示。

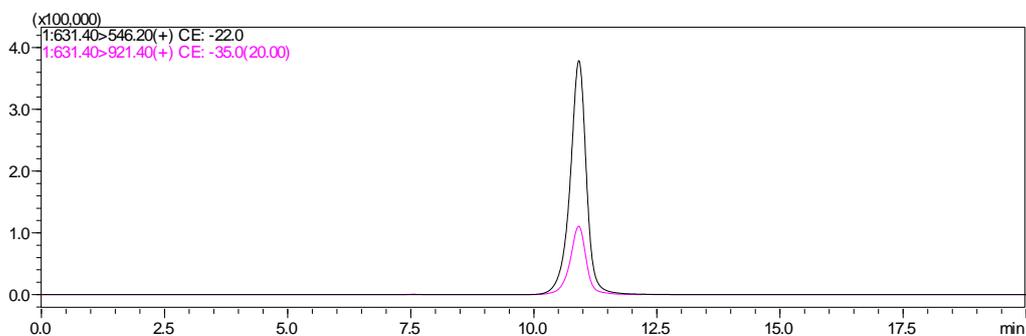


图 2 样品 1 的 MRM 色谱图

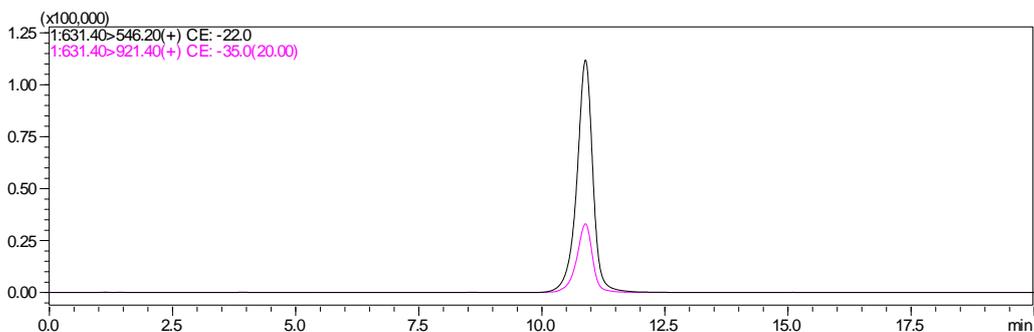


图 3 样品 2 的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中龟甲胶定性分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	S/N
样品 1	631.40>546.20	10.92	444872	8394157	107410
	631.40>921.40		6445	124599	6632
样品 2	631.40>546.20	10.89	131518	2454106	38049
	631.40>921.40		1998	35815	1238

## 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 测定龟甲胶中特征肽段，

实现龟甲胶定性分析的方法。该方法所检测的龟甲胶特征肽段 MRM 色谱图中两对离子对 631.40>546.20, 631.40>921.40 的响应明显, 完全满足 2015 版药典信噪比大于 3:1 的要求, 市售龟甲胶药材样品分析结果表明所测 2 个样品中均含有龟甲胶成份。因此, 本方法可为应对药典要求实现龟甲胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。