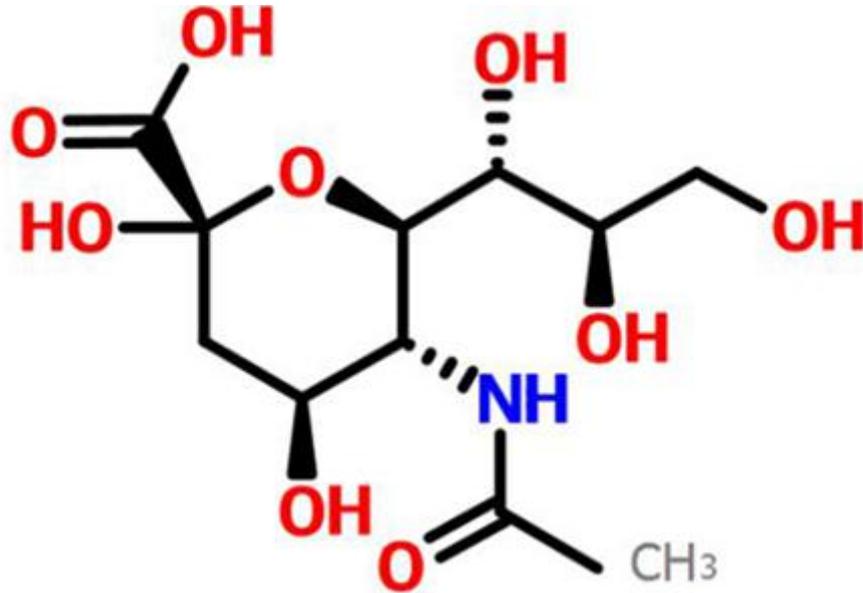


燕窝中唾液酸含量测定方法：高效液相色谱法



唾液酸，俗名燕窝酸，为燕窝中最珍贵的营养成分，学名叫"N-乙酰基神经氨酸"，是一种天然存在的碳水化合物。它最初由颌下腺粘蛋白中分离而出，也因此而得名。唾液酸通常以低聚糖，糖脂或者糖蛋白的形式存在。

唾液酸是一系列神经氨酸的衍生物，在生物界中是一种普遍存在的物质，广泛存在于脊椎动物、哺乳动物及多种植物组织中，是细胞膜蛋白的重要组成部分。燕窝含有高达 8% 以上的唾液酸，据研究分析表示，燕窝中的唾液酸含量是普通物质中唾液酸含量的 50 倍，并且燕窝是唯一能直接从食物中获取大量唾液酸的途径。



1. 唾液酸—智力发育的"脑黄金"

生物医学研究中指出，母乳中的唾液酸与儿童早期智力发展水平有直接关系，唾液酸可促进大脑神经细胞的资讯传达速度，通过与大脑细胞膜及突触的相互作用，提高大脑的反应速度。因此给婴幼儿补充唾液酸，可以增加大脑智力发育，从而提高记忆力。

2. 唾液酸—排毒抗菌，提高人体免疫力

唾液酸不会被消化道的酶降解，它所形成的糖蛋白可阻断病原体对上皮细胞的附着，能够提高细胞辨别能力、霍乱毒素解毒、预防病理性大肠杆菌的感染、调控血液蛋白质的半衰期，从而有效提高人体免疫机能。同时燕窝可以提高肠道对于维生素及矿物质的吸收能力，提高婴儿与母亲的免疫能力，让胎儿更强壮。

3.唾液酸—延缓细胞老化，延年益寿

人体细胞表面有一层厚厚的唾液酸层，调节细胞寿命与细胞资讯传达，唾液酸的缺乏可导致新陈代谢中血球寿命以及酶蛋白的减少。口服燕窝可以提高体内唾液酸的浓度，防止细胞表面的唾液酸脱落，延缓细胞老化，有延年益寿的作用。

只是随着燕窝产品的不断增多，市面上各种产品也鱼龙混杂，为了规范燕窝产品的市场，中国药文化研究会分别在 2018 年及 2020 年发布了即食燕窝及鲜炖燕窝的团体标准。

《T/CPCS 001-2018 即食燕窝》及《T/CPCS 001-2020 鲜炖燕窝》中规定了唾液酸的含量，规范了燕窝产品的市场。

唾液酸含量的测定是燕窝产品必要的检测项目，本实验采用高效液相色谱法测定燕窝及其制品中的唾液酸含量。

实验部分

高效液相色谱法测定燕窝及其制品中的唾液酸

仪器与试剂

仪器

Wooking K2025 高效液相色谱仪、分析天平、恒温水浴锅。



K2025 高效液相色谱仪

试剂

乙腈、冰乙酸、磷酸、唾液酸（N—乙酰神经氨酸， $C_{11}H_{19}NO_9$ ）：纯度大于 99%。

+

实验方法

干燕窝

取适量试样 105°C 烘干 60min，放在干燥器中冷却，用研钵研成细粉，准确称取试样 0.1g（精确至 0.0001g），于 2.5mL 比色管中，加入 50% 乙酸溶液 10mL，盖玻璃塞，置于 100°C 水浴中水解 10min，取出比色管，冷却至室温，将水溶液转移至 100mL 容量瓶中，用流动相定容至刻度，混匀，取上清液用 0.45 μ m 针筒式过滤，待测。

冰糖燕窝制品

取适量试样于烧杯中，以转速 10000r/min 匀浆 3min，静置至泡沫消除，准确称取试样 10g（精确至 0.01g），置于透析袋中（试样体积不超过透析袋容积的 20%），扎紧透析袋两端，置于 1000mL 烧杯中在流水下透析 24h，透析后，将此透析袋浸泡于 10% 聚乙二醇溶液中使水析出，至袋中试液体积小于 5mL，将试液转移至 5mL 比色管中，加少量水冲洗

透析袋合并至比色管中，加等体积冰乙酸，使水解液中乙酸浓度为 50%。用玻璃塞塞好比色管，置于 100℃水浴中水解 10 min，取出比色管冷却至室温。将水解液转移至 100mL 容量瓶中，用流动相定容至刻度，混匀，取上清液用 0.45μm 针筒式过滤器过滤，待测。

色谱参考条件

仪器: 高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器、Wookinglab 色谱工作站;

色谱柱: 300SCX 阳离子交换色谱柱 4.6×250mm, 5μm 或者相当的色谱柱;

流动相: 乙腈-0.1%磷酸水溶液(90+10, 体积比);

柱温: 30℃;

进样量:10μL;

流速: 1.0mL/min;

波长: 205nm。

结果与讨论

实验结果

按照上述色谱条件进行采集，唾液酸标准溶液色谱图和样品色谱图如下：

标准品 st100 溶液色谱图

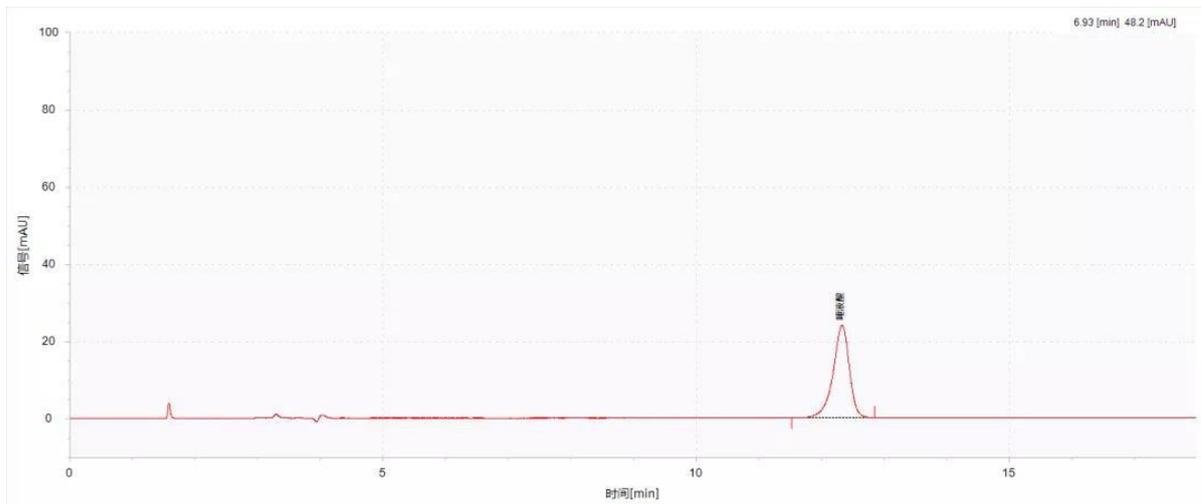


图 1 对照品 st100 溶液色谱图

干燕窝色谱图

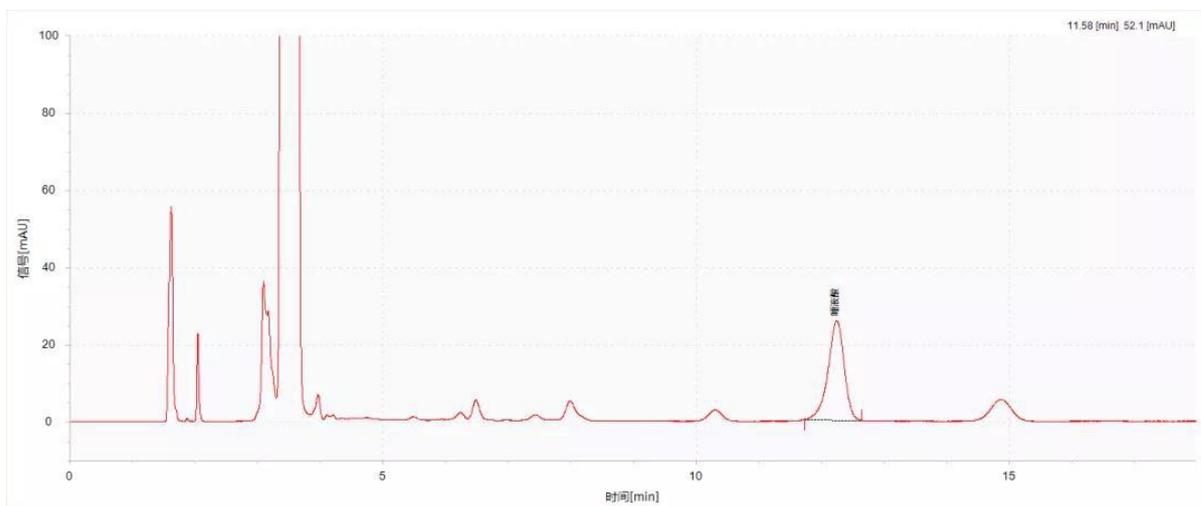


图 2 干燕窝溶液色谱图

冰糖燕窝制品色谱图

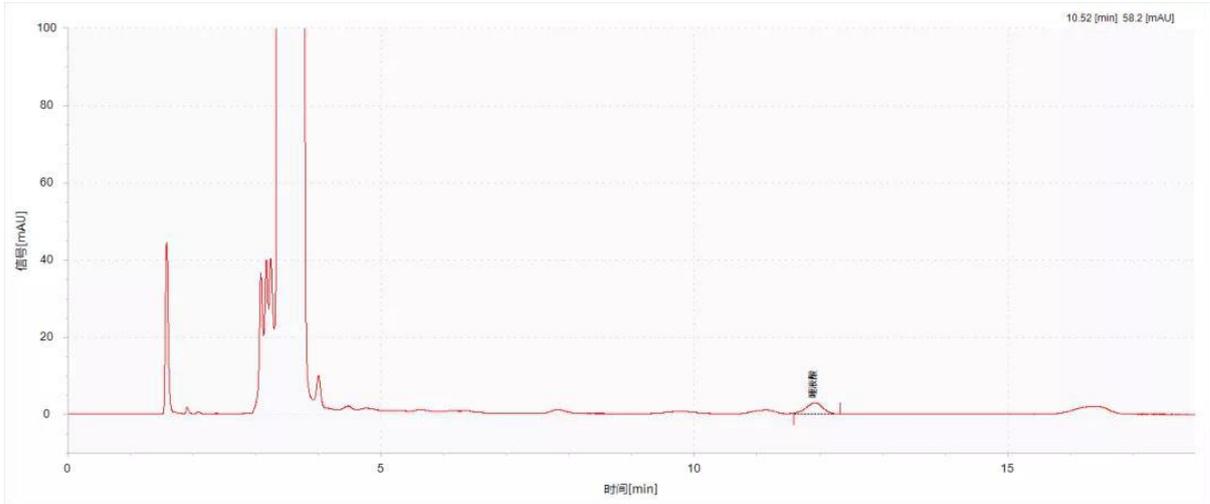


图 3 冰糖燕窝制品色谱图

标准曲线的线性

将浓度为 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 唾液酸标准品系列在 HPLC 上进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线, 线性方程及相关系数见图 4, 在此浓度范围内, 曲线的相关系数为 0.9999, 线性关系良好。

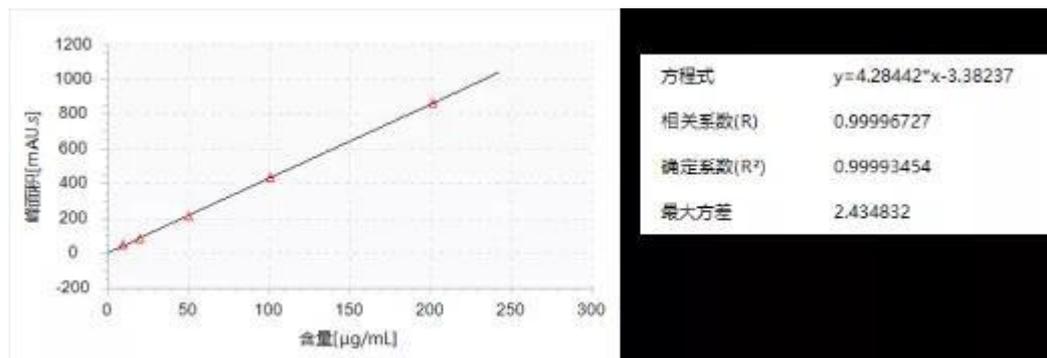


图 4 唾液酸标准品浓度系列曲线

进样重复性测试

连续进样 7 针标准品, 定性定量的重复性如图 5 及表 1

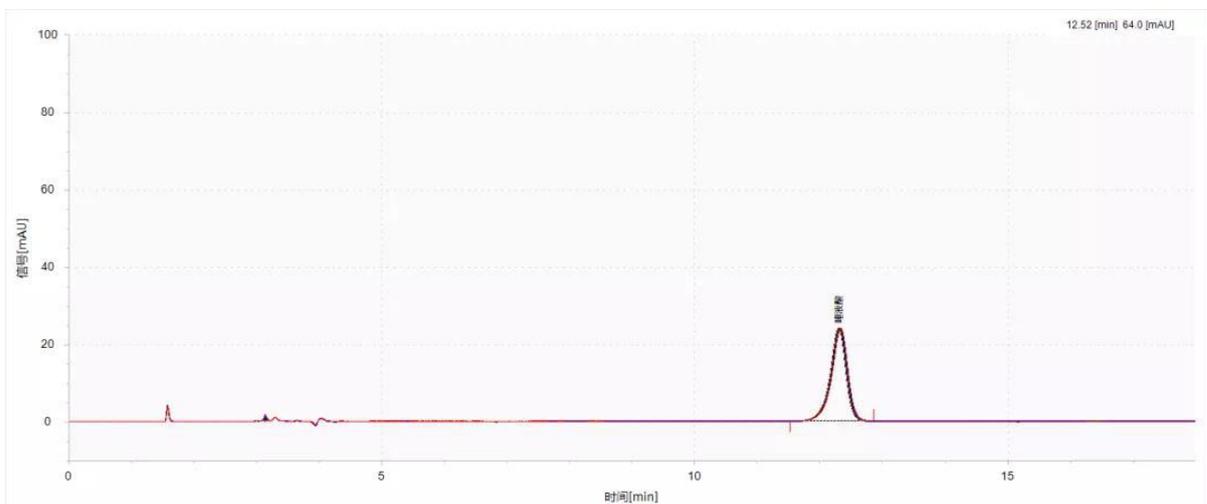


图 5 标准品进样 7 针叠加色谱图

标准品	1	2	3	4	5	6	7	平均值	SD	RSD%
保留时间	12.340	12.333	12.323	12.317	12.32	12.308	12.303	12.321	0.0130	0.106
峰面积	431.324	428.821	430.157	429.870	430.597	428.965	429.500	429.891	0.892	0.208

表 1 标准品进样 7 针重复性数据统计

对照品进行 7 针重复性测试，保留时间的 RSD 为 0.106%，峰面积的 RSD 为 0.208%。

干燕窝样品的重复性

连续进样 7 针干燕窝样品，定性定量的重复性如表 2

表 2 干燕窝样品进样 7 针重复性数据统计

干燕窝	1	2	3	4	5	6	7	平均值	SD	RSD%
保留时间	12.255	12.252	12.25	12.248	12.237	12.22	12.213	12.239	0.0167	0.136
峰面积	461.773	465.362	464.908	464.554	466.425	464.404	463.803	464.461	1.446	0.311

样品进行 7 针重复性测试，保留时间的 RSD 为 0.136%，峰面积的 RSD 为 0.311%。

冰糖燕窝样品的重复性

连续进样 7 针冰糖燕窝样品，定性定量的重复性如表 3

表 3 冰糖燕窝样品进样 7 针重复性数据统计

冰糖燕窝	1	2	3	4	5	6	7	平均值	SD	RSD%
保留时间	11.93	11.955	11.97	11.975	11.982	11.955	11.93	11.957	0.0208	0.174
峰面积	55.212	54.908	55.012	55.242	54.906	55.586	55.356	55.175	0.251	0.455

样品进行 7 针重复性测试，保留时间的 RSD 为 0.174%，峰面积的 RSD 为 0.455%。

+

结论

结果表明，使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪对干燕窝及冰糖燕窝制品中唾液酸含量进行测定，样品及标准品的保留时间的 RSD 均小于 0.2% (n=7)，峰面积的 RSD 均小于 0.5% (n=7)，满足 GB/T 30636-2014 标准的要求。此方法可为干燕窝及冰糖燕窝制品中的唾液酸含量的测定提供参考。

参考文献

GB/T 30636-2014 燕窝及其制品中唾液酸的测定 液相色谱法