

# 高效液相色谱-串联质谱法测定中国劲酒中甜菜碱含量

梁国华\*

(广西北海食品药品检验所, 北海 536000)

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法测定中国劲酒中甜菜碱。**方法** 采用 Agilent SB-C<sub>18</sub> 色谱柱, 以 0.1% 甲酸-甲醇溶液(85:15, V:V) 为流动相, 流速为 0.2 mL/min。质谱采用电喷雾正电离源模式(electronic spray ion, ESI+) 和多反应监测模式(multiple reactions monitoring, MRM) 监测, 监测离子  $m/z$  分别为 118.2/53.2 和 118.2/42.3, 以外标法定量。**结果** 甜菜碱在 3.99~39.9  $\mu\text{g/g}$  范围内具有良好的线性关系, 相关系数大于 0.999, 检出限为 0.1  $\mu\text{g/g}$ , 平均回收率为 99.5%, 相对标准偏差为 0.46%( $n=9$ )。**结论** 本法简便易行、结果准确、重现性好, 可适用于中国劲酒中甜菜碱的含量测定。

**关键词:** 中国劲酒; 甜菜碱; 高效液相色谱-串联质谱法

## Determination of betaine in Jin liquor by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIANG Guo-Hua\*

(Beihai Institute for food and Drug Control, Beihai 536000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of betaine in Jin liquor by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** Samples were separated by an Agilent SB-C<sub>18</sub> column (100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) using 0.1% methanoic acid-methanol (85:15, V:V) as mobile phase at the flow rate of 0.2 mL/min. Electronic spray ion (ESI+) and multiple reactions monitoring (MRM) mode were used in mass with the  $m/z$  of ionization source at 118.2/58.2 and 118.2/42.3, and the external standard method was used for quantification. **Results** Betaine had a good linear relationship in the range of 3.99~39.9  $\mu\text{g/g}$  ( $r>0.999$ ), the limit of detection was 0.1  $\mu\text{g/g}$ , the average recovery was 99.5%, and RSD was 0.46% ( $n=9$ ). **Conclusion** The method is simple, rapid, accurate and repeatable, which can be used for the determination of betaine in Jin liquor.

**KEY WORDS:** Jin liquor; betaine; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

### 1 引言

中国劲酒由优质白酒、水、枸杞子、淮山药、仙茅、当归、肉苁蓉、黄芪、淫羊藿、肉桂、丁香、冰糖组成, 有抗疲劳和免疫调节的保健作用。枸杞子性平、味甘。归肝、肾经, 具有滋补肝肾、益精明目的功效<sup>[1]</sup>。2015年版《中

国药典》一部中测定枸杞子中甜菜碱的含量采用薄层扫描法, 但该方法操作较繁琐, 检测灵敏度低, 重现性不理想, 误差较大<sup>[2]</sup>。另有报道用高效液相色谱法对枸杞子中的甜菜碱进行含量测定, 但由于甜菜碱结构中无共轭体系, 仅能在低紫外吸收波长处测定, 条件要求较高, 灵敏度不够理想<sup>[3,4]</sup>。本实验采用高效液相色谱-串联质谱法对中国劲

\*通讯作者: 梁国华, 副主任药师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: lgh1280@sina.com

\*Corresponding author: LIANG Guo-Hua, Associate Professor of Pharmacy, Beihai Institute for Food and Drug, Beihai 536000, China. E-mail: lgh1280@sina.com

酒中的甜菜碱进行测定。

## 2 材料与amp;方法

### 2.1 仪器与试剂

Agilent1290 高液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); Agilent G6460 三重串联质谱仪(美国安捷伦科技有限公司); MS3002S 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

甜菜碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为110712-200508); 甲醇(色谱纯, 赛默飞世尔科技中国有限公司); 纯净水(屈臣氏公司); 中国劲酒(劲牌有限公司), 市售。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 仪器条件

##### (1) 色谱条件

Agilent SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.1%甲酸-甲醇 (85:15, V:V); 流速 0.20 mL/min, 柱温: 35 °C, 进样量: 5 μL。

##### (2) 质谱条件

采用电喷雾正电离源模式(electronic spray ion, ESI+), 扫描方式为多反应监测(multiple reaction monitoring,

MRM); 雾化气压力: 30 Psi, 干燥气温度: 300 °C, 干燥气流速: 8.0 L/min, 毛细管电压: 4.0 KV, 甜菜碱定量离子质荷比( $m/z$ )118.2/ 53.2, 定性离子质荷比( $m/z$ )118.2/42.3; 定性和定量离子对应的碰撞能量压分别为 25, 20 V, 碎裂电压都为: 115 amu。

#### 2.2.2 样品前处理

精密量取样品 1.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加入 80% 甲醇稀释至刻度摇匀, 过 0.22 μm 滤膜于进样小瓶中, 上液质联用仪检测。

#### 2.2.3 标准溶液的配制

精密称取对照品 0.0992 g 于 25 mL 量瓶, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 100 mL 容量瓶中, 用 80%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品储备溶液(甜菜碱含量为 3.97 μg/mL)。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品色谱图

按前述色谱和质谱条件对样品中甜菜碱和甜菜碱对照品进行测定, 记录色谱图。图 1, 2 分别为甜菜碱对照品和样品的 MRM 质谱图。

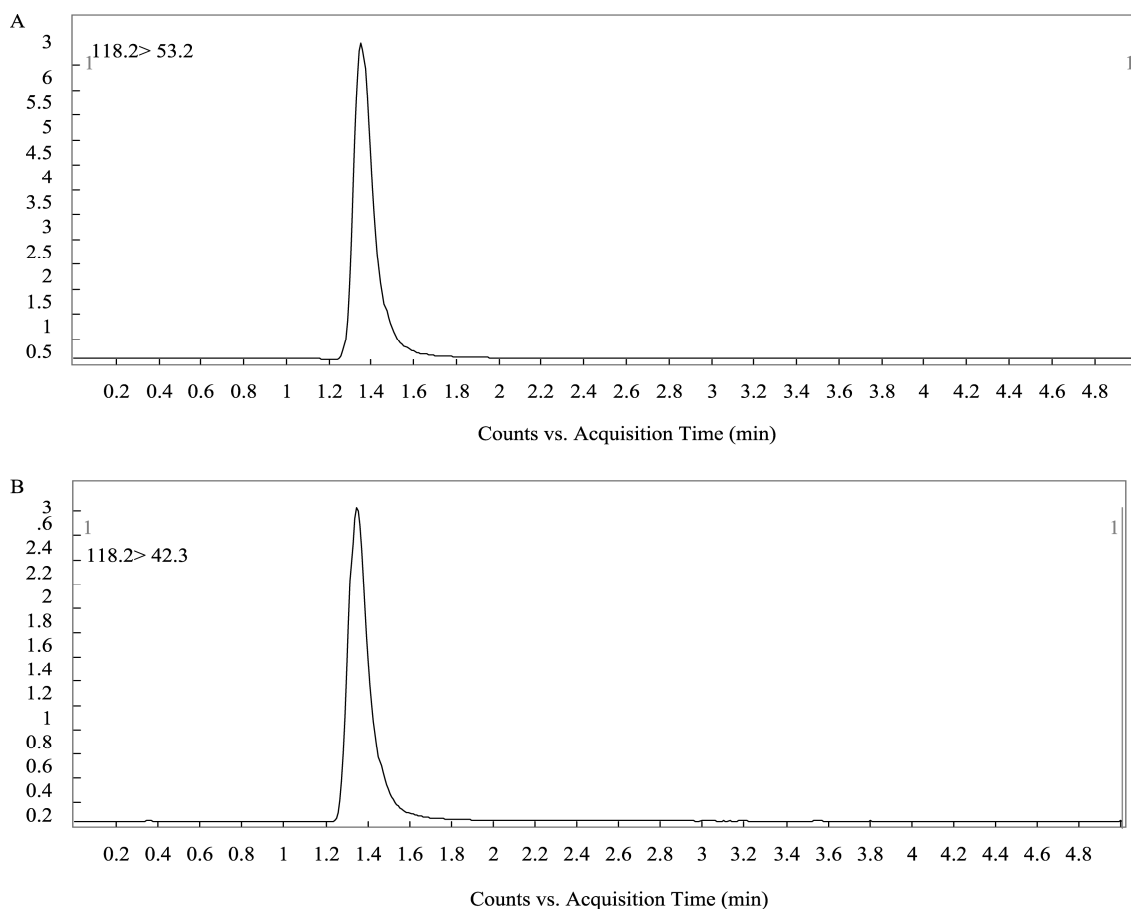


图1 甜菜碱对照品的MRM质谱图

Fig. 1 MRM mass spectrums of betaine standard

A.图谱 118.2>53.2 为甜菜碱定量离子对; B.图谱 118.2>42.3 为甜菜碱定性离子对

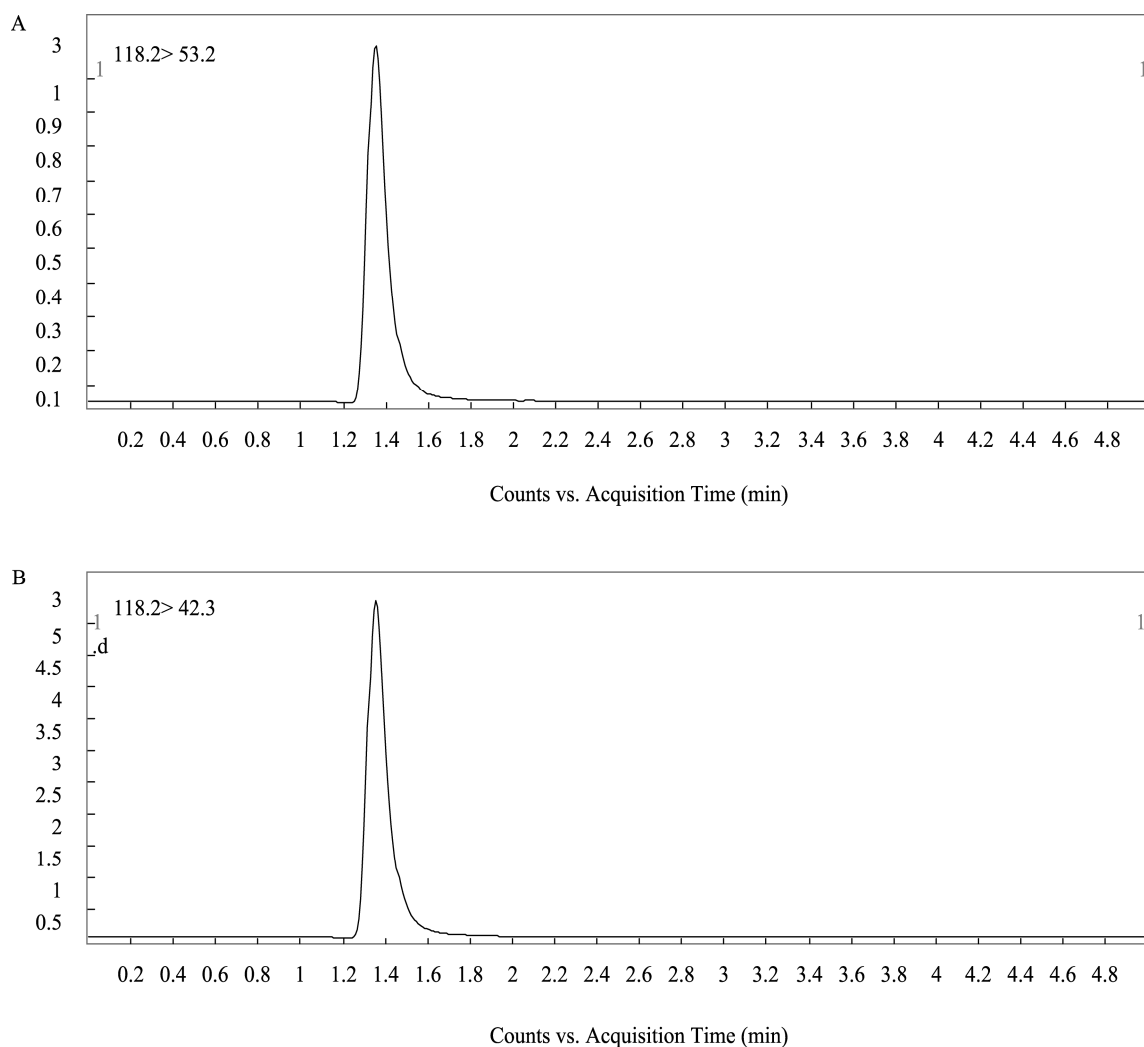


图 2 甜菜碱样品的 MRM 质谱图

Fig. 2 MRM mass spectrums of betaine detected in samples

A. 图谱 118.2>53.2 为甜菜碱定量离子对; B. 图谱 118.2>42.3 为甜菜碱定性离子对

### 3.2 线性范围、方法检出限

精密量取甜菜碱对照液储备溶液 1、3、5、7、10 mL 分别置 100 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 上液质联用仪检测, 以外标面积法定量。校正曲线方程为  $Y=2320.6X+2577.6$ ,  $r=0.9992$ 。结果表明, 甜菜碱在 3.99~39.9  $\mu\text{g/g}$  浓度范围内呈良好的线性关系。在空白样品中加入适量甜菜碱对照液, 并按 2.2.2 前处理, 按 2.2.1 仪器条件进行检测, 以 3 倍信噪比计算检出限为 0.1  $\mu\text{g/g}$ 。

### 3.3 精密度试验

制备 3 个浓度系列分别为 0.0397、0.1984 和 0.3968  $\mu\text{g/mL}$ , 各浓度日内重复测定 5 次, 并连续测定 5 d, 每日 1 份, 计算其日内、日间的精密度。结果日内 RSD 为 0.782%; 日间 RSD 为 0.871%。

### 3.4 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品 9 份, 分别精密加入甜菜碱对照溶液 (3.99  $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL 3 份、(19.84  $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL 3 份、(27.78  $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL 3 份, 按照按 2.2.2 前处理, 按 2.2.1 仪器条件进行检测, 结果见表 1。经计算后得到平均回收率为 99.5%, RSD 为 0.46%。结果表明该方法可靠, 具有较好的准确性。

### 3.5 样品含量测定

取 3 批样品分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱及质谱条件下进样测定, 计算含量。结果批号为 A、B、C 品中甜菜碱平均含量分别为 7.3912、7.4517、7.6925  $\mu\text{g/g}$ 。

表 1 回收率结果( $n=6$ )  
Table 1 Results of recoveries ( $n=6$ )

样品取样量(g)	样品含量( $\mu\text{g}$ )	加入量( $\mu\text{g}$ )	测得量( $\mu\text{g}$ )	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.00	7.69	3.99	11.65	99.2		
1.00	7.69	3.99	11.63	98.7		
1.00	7.69	3.99	11.64	99.0		
1.00	7.69	19.84	27.51	99.9		
1.00	7.69	19.84	27.52	99.9	99.5	0.46%
1.00	7.69	19.84	27.49	99.8		
1.00	7.69	27.78	35.37	99.6		
1.00	7.69	27.78	35.41	99.8		
1.00	7.69	27.78	35.44	99.9		

## 4 讨论

曾考察过不同方法<sup>[5-15]</sup>提纯甜菜碱,如过氧化铝柱、Oasis HLB 固相萃取柱等,由于 80%甲醇提取样品后直接进样,不影响甜菜碱色谱峰与其他杂质峰的分度,故采用 80%甲醇提取样品后过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后进样。流动相在试验中曾考察过不同比例的流动相对甜菜碱色谱峰峰形及其分离度的影响,最终选用 0.1%甲酸-甲醇(85:15, V:V)为流动相。在质谱参数选择中,以优化甜菜碱离子各参数,最后确认实验中的参数如下:干燥气温度为 350  $^{\circ}\text{C}$ ;碎裂电压为 160 V,碰撞能量为 25 V,雾化气  $\text{N}_2$  压力为 35 psi;干燥气体  $\text{N}_2$  流速为 8 L/min。本实验采用高效液相色谱-串联质谱对中国劲酒中的甜菜碱进行了测定,方法快速、简便,测定结果令人满意。

### 参考文献

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.  
The Chinese pharmacopoeia committee. Pharmacopoeia of the people's republic of china[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [2] 方丽, 祝明. HPLC 法测定枸杞子中甜菜碱的含量[J]. 中国药品标准, 2011, 12(4): 289-290.  
Fang L, Zhu M. Determination of betaine in lycium by HPLC [J]. Drug Standard China, 2011, 12(4): 289-290.
- [3] 许明旺, 袁秀枝, 刘焱文, 等. HPLC 测定复方龟鹿颗粒中甜菜碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 462.  
Xu MW, Yuan XZ, Liu YW, et al. Determination of betaine in Fufang Guilu granule by HPLC [J]. China J Chin Mater Med, 2006, 31(6): 462-463.
- [4] 黄衢, 陈学松, 廖强. HPLC-ELSD 法测定枸杞子中甜菜碱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 59-60.  
Huang H, Chen XS, Liao Q. Determination the contents of betaine in *Lycium barbam L.* by HPLC-ELSD [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2010, 16(7): 59-60.
- [5] 蔡俊安. 五子衍宗丸中甜菜碱含量的 HPLC 测定[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(3): 57-58.  
Cai JA. Determination of betaine in Wuziyanzongwan by HPLC [J]. Chin J Inf TCM, 2011, 18(3): 57-58.
- [6] 蒋新月, 杨洁, 沈晓丽. RP-HPLC 法测定不同产地红枣中甜菜碱的含量[J]. 生物技术, 2009, 19(2): 65-66.  
Jiang Y, Yang J, Shen XL. Determination of betaine in ZizyphusJujube from different habitats by RP-HPLC technique [J]. Biotechnology, 2009, 19(2): 65-66.
- [7] 陈永源. 高效液相色谱法检测发酵液中甜菜碱的含量[J]. 分析仪器, 2008, 6: 68-69.  
Cheng YY. HPLC determination of betaine content in fermentation fluid [J]. Anal Instrum, 2008, 6: 68-69.
- [8] 甄录旭, 方宗华, 吴海林, 等. HPLC 法测定枸杞子中甜菜碱的含量[J]. 安徽医药, 2007, 11(8): 703-704.  
Zhen LX, Fang ZH, Wu HL, et al. Determination of betaine in lycium Chinese by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J, 2007, 11(8): 703-704.
- [9] 廖国玲, 杨文, 张自萍. RP-HPLC 法测定不同产地宁夏枸杞甜菜碱含量[J]. 宁夏医学杂志, 2007, 29(6): 492-493.  
Liao GL, Yang W, Zhang ZP, et al. Determination of betaine in *Lydim Barmrum L.* from different habitats by RP-HPLC [J]. Ningxia Med Mag, 2007, 29(6): 492-493.
- [10] 李向阳, 屠万倩, 李振国. HPLC 测定强力宁片中紫丁香苷和甜菜碱的含量[J]. 中成药, 2007, 29(5): 700-701.  
Li XY, Tu WQ, Li ZG. Determination of syringin and betaine in Qianglining tablet by HPLC [J]. Chin Tradit Patent Med, 2007, 29(5): 700-701.
- [11] 赵勇, 翁跃进, 杨春丽. 盐处理下植物组织中甜菜碱和脯氨酸的 HPLC-ESI-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2004, 23(6): 83-86.  
Zhao Y, Weng YJ, Yang CL. Simultaneous determination of betaines and proline in plant tissue under salt stress by HPLC-ESI-MS [J]. J Instrum Anal, 2004, 23(6): 83-86.
- [12] 陈少良. 反相 HPLC 离子对色谱法测定植物组织中的甜菜碱[J]. 植物学报, 2000, 42(10): 1014-1018.  
Chen SL. Quantitative determination of glycine in plant tissues by reverse

- phase ion-pair HPLC [J]. *Acta Botan Sin*, 2000, 42(10): 1014–1018.
- [13] 杨宗学, 林楠, 简海明, 等. 基于 HPLC 对不同产地枸杞子中甜菜碱含量的研究[J]. *中国现代中药*, 2013, 15(7): 552–554.  
Yang ZX, Lin N, Lin HM, *et al.* Study on determination of betaine in lycii fructus from different habitats by HPLC [J]. *Mod Chin Med*, 2013, 15(7): 552–554.
- [14] 滕久委, 李德良, 吴庆晖, 等. HPLC-MS/MS 测定多宝鱼和紫菜中的砷甜菜碱[J]. *分析测试学报*, 2008, 7: 755–757.  
Teng JW, Li DL, Wu QH, *et al.* Determination of arsenobetaine in turbot and porphyra by HPLC-MS/MS [J]. *J Instrum Anal*, 2008, 7: 755–757.
- [15] 王俊华, 曾幼玲, 杨洁, 等. RP-HPLC 法测定长期盐胁迫下盐爪爪和盐穗木中的甜菜碱[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(3): 0515–0520.  
Wang JH, Zeng YL, Yang J, *et al.* Determination of glycinebetaine in

kalidium foliatum and halostachys caspica chronic treatment with naci by RP-HPLC [J]. *Acta Botan Boreali-occidentalia Sin*, 2007, 27(3): 0515–0520.

(责任编辑: 姚菲)

### 作者简介



梁国华, 副主任药师, 主要研究方向为食品安全检测。  
E-mail: lgh1280@sina.com

## “畜产品加工与质量安全”专题征稿函

随着生活质量的提高和人们饮食需求的多样化发展, 肉制品、蛋制品、奶制品等畜产品的需求量将会越来越大, 同时国内外对畜产品加工技术研究的也在不断深入, 区别于传统肉制品的新型肉制品的研发使得肉制品具有更好的风味、更高的营养价值, 另外新型的蛋制品、乳制品也逐渐增多。但是在畜产品的加工及贮藏过程中也存在着诸如有害物质的产生、致病菌的存在等食品安全问题。

鉴于此, 本刊特别策划了“畜产品加工与质量安全”专题, 本专题主要围绕畜产品(肉、蛋、奶、毛、皮等)加工关键技术、畜产品加工副产物综合利用、新型畜产品研究开发(低盐、低脂、功能性畜产品等)、加工过程中有害物质的产生规律、调控机理和检测技术、畜产品中致病微生物的检测及防控措施、加工高新技术的应用、畜产品的质量安全研究和风险评估等方面或您认为领域内的有意义的内容进行论述, 计划在 2016 年 12 月出版。

本刊主编吴永宁研究员及编辑部特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2016 年 11 月 1 日之前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持! 也请老师您能帮忙转发, 谢谢, 祝好! 盼回复!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部