

固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法 检测保健食品中9种人参皂苷

陈树东^{1,2*}, 冯锐¹, 林晓佳³, 梁土金¹, 何秋婷²

(1. 广东省中药研究所, 广东 广州 510640; 2. 广东医科大学, 广东 东莞 523808;

3. 广州检测认证集团有限公司, 广东 广州 511447)

摘要:建立了以固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时检测保健食品中9种原人参二醇型和原人参三醇型人参皂苷的方法。保健食品中人参皂苷经过提取后,通过Alumina-N/XAD-2 SPE柱净化,在Hypersil Gold C18色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)上分离,利用乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)和乙腈作为流动相进行梯度洗脱,采用负离子扫描,多反应监测模式测定,外标法定量。研究通过对不同填料的固相萃取小柱的考察,最终选择了Alumina-N/XAD-2复合填料,其能对保健食品复杂基质中的人参皂苷进行有效富集和净化;通过考察人参皂苷的电离裂解过程,确定人参皂苷一级质谱准分子离子和相应的碎片离子,并经过色谱条件的优化,使质谱条件下一级质谱准分子离子和相应的碎片离子均一致的3种原人参二醇型人参皂苷Rb2、Rb3、Rc同分异构体实现完全分离。结果表明,9种人参皂苷在0.005~0.5 μg/mL范围内具有很好的线性关系,相关系数均大于0.995 0。方法的加标回收率为81.1%~114.2%,相对标准偏差为0.4%~8.0%。所建立的方法采用XAD-2大孔吸附树脂和中性氧化铝的复合固相萃取材料,保健食品经过简单提取可直接作为固相萃取的上样溶液进行人参皂苷的富集和净化,通过超高效液相色谱-串联质谱不仅缩短了分析时间,也能对复杂基质样品中含量相对较低的人参皂苷进行准确定性和定量。该方法通量高,简单快速,重复性好,适用于保健食品中9种人参皂苷的定性和定量分析。

关键词:超高效液相色谱-串联质谱;固相萃取;人参皂苷;保健食品

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2021)05-0526-08

Determination of nine ginsenosides in health foods by solid extraction phase-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

CHEN Shudong^{1,2*}, FENG Rui¹, LIN Xiaojia³, LIANG Tujin¹, HE Qiuting²

(1. Guangdong Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510640, China;

2. Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China;

3. Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511447, China)

Abstract: Ginsenosides are the main active compounds of ginseng, American ginseng and Panax notoginseng. They have certain pharmacological effects on the cardiovascular, immune and central nervous systems. Most ginsenosides are naturally classified as protopanaxatriol (PPT), protopanaxadiol (PPD), and oleanolic acid (OA) according to their aglycone skeletons. The nine main ginsenosides are Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1 and Rg2. Accurate quantification of ginsenosides is imperative because they are the characteristic components and quality evaluation indicators of health foods.

A new method based on solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-UPLC-MS/MS) was developed for the determination of the nine ginsenosides in health foods. First, the pretreatment conditions were optimized. With the aim of purifying the samples and removing impurities, SPE cartridges with different packing

materials, such as Alumina-N/XAD-2 SPE Cartridge, C18 and HLB were investigated. Based on the purification efficiencies, recoveries and other factors, the Alumina-N/XAD-2 SPE cartridge composite SPE column was selected as the pretreatment purification column.

The eluents were then optimized. When water was used as the eluent, the ginsenosides could remain adsorbed on the SPE column, and could not be eluted down with other water-soluble substances. By increasing the proportion of ethanol in the eluent, the ginsenoside adsorbed on the filler of the SPE column could be gradually eluted. When the proportion of ethanol in the eluent reached 70%, the ginsenosides could be completely eluted. The effects of different volumes of 70% ethanol elution solvent (5–30 mL) on the extraction efficiencies of ginsenosides were also investigated. The results showed that when the volume of the elution solvent reached 20 mL, the ginsenosides were completely eluted.

Then, the chromatographic conditions and MS parameters were optimized. By examining the ionization cracking of ginsenosides, the quasi-molecular ions and corresponding fragment ions in ginsenoside primary MS were determined. After optimizing the chromatographic conditions and MS parameters, not only the sensitivity of the method was improved, but also the isomers Rb₂, Rb₃ and Rc with the same quasi-molecular ions and the corresponding fragment ions were completely separated. Good separation was achieved for the nine ginsenosides, thus meeting the requirements for accurate quantification.

Finally, chromatographic separation was achieved on a Hypersil Gold C18 column (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) under linear gradient elution using a 5 mmol/L ammonium acetate solution (with 0.1% formic acid) and acetonitrile as the mobile phases. The nine ginsenosides were detected using a triple quadrupole MS detector under ESI⁻ and multiple reaction monitoring (MRM) modes, and quantified by the external standard method.

The nine ginsenosides showed a strong positive linear correlation ($r^2 > 0.9950$) in the range of 0.005–0.5 μg/mL. The sample recoveries and the corresponding relative standard deviations (RSDs) were 81.1%–114.2% and 0.4%–8.0% ($n = 6$), respectively. Eleven batches of health foods on the market, among which six batches contained ginseng, American ginseng or Panax notoginseng ingredients, were analyzed by the developed method, and the ginsenosides were detected. The total ginsenosides contents were close to those mentioned on the label. However, the nine ginsenosides were detected in one batch of health food, whose label did not indicate ginseng, American ginseng or Panax notoginseng. The nine ginsenosides were not detected in the remaining batches of health foods.

The health food extract was directly loaded and purified without any complex pretreatment. The UPLC-MS/MS method, not only helped shorten the analysis time, but also accurate quantification of low ginsenoside contents in complex matrix samples. The developed method is simple and rapid, with high throughput, thus being suitable for the quantitative analysis of the nine ginsenosides in health foods.

Key words: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); solid phase extraction (SPE); ginsenosides; health foods

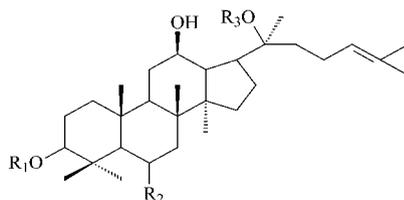
人参、西洋参和三七等五加科(Araliaceae)植物不仅是传统的名贵中药材,作为纳入可用于保健食品管理的中药品种,在保健食品中的应用也非常

广泛。据统计,在2006~2015年间,中国注册的保健食品中,有近40%的保健食品含有人参、西洋参或三七成分^[1]。人参皂苷是人参、西洋参和三七的

主要活性化合物,对心血管系统^[2]、免疫系统和中枢神经系统^[3,4]都具有药理作用,作为保健食品的特征成分和质量评价指标,准确检测其含量具有重要的意义。人参皂苷属于四环三萜类化合物,现已发现的种类有 50 多种,主要分为原人参二醇型皂苷(PPD)、原人参三醇型皂苷(PPT)和齐墩果酸型皂苷 3 种类型^[5]。其中,人参皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rf、Rg1 和 Rg2 等 9 种化合物的含量超过 90%^[6,7],本文以 9 种主要人参皂苷成分为研究对象,旨在建立一个快速、可靠的人参皂苷检测方法,用于保健食品中人参皂苷成分的检测和质量评价。

目前,人参皂苷的测定方法有高效液相色谱法(HPLC)^[8-12]、液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[5,13]、液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(HPLC-QTOF-MS)^[14,15]、胶束电动毛细管色谱法(MEKC)^[16]等,这些分析方法的研究主要集中在中药植物或中成药含量分析方面,通常只针对某些特

定的人参皂苷化合物,针对保健食品中主要人参皂苷成分的定性定量研究鲜有报道。其中,QTOF-MS 和 MEKC 由于仪器成本和实际应用的限制,方法较难普及。人参皂苷的检测主要以 HPLC 为主,但由于人参皂苷在紫外区的吸收较弱,在紫外吸收的临界波长下人参皂苷的响应不高,大量的杂峰干扰也会对检测结果产生较大影响^[17]。保健食品中添加的其他复杂成分在没有做好合理净化的情况下也会进一步影响检测结果^[18]。另外,人参皂苷的结构和化学性质相近,在常规液相色谱法中分离时间过长^[8]。本文采用超高效液相色谱-串联质谱技术,可以实现对原人参二醇型皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd 和原人参三醇型皂苷 Re、Rf、Rg1、Rg2(结构式见图 1)等 9 种人参皂苷主要成分的快速分离和准确定量,结合固相萃取前处理条件,在复杂基质条件下对保健食品中的人参皂苷物质进行提取、富集,为保健食品中的人参皂苷含量检测和质量监控提供技术支持。



Type	Ginsenoside	R ₁	R ₂	R ₃	Molecular formula	M _r
Protopanaxadiol (PPD)	Rb1	Glc ² -Glc	H	Glc ⁶ -Glc	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1109.31
	Rb2	Glc ² -Glc	H	Glc ⁶ -Arap	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1079.27
	Rb3	Glc ² -Glc	H	Glc ⁶ -Xyl	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1079.27
	Rc	Glc ² -Glc	H	Glc ⁶ -Araf	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1079.27
	Rd	Glc ² -Glc	H	Glc	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	947.12
Protopanaxatriol (PPT)	Re	H	O-Glc ² -Rha	Glc	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	947.14
	Rf	H	O-Glc ² -Glc	H	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	801.01
	Rg1	H	O-Glc	Glc	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	801.01
	Rg2	H	O-Glc ² -Rha	H	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	785.05

Arap: α -L-arabinopyranosyl; Araf: α -L-arabinofuranosyl; Glc: β -D-glucose; Xyl: β -D-xylopyranosyl; Rha: α -L-rhamnopyranosyl.

图 1 9 种人参皂苷的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of the nine ginsenosides

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

TSQ Quantum Access MAX 三重四极杆质谱仪、UltiMate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Thermo Scientific 公司); Sartorius BSA224S-CW 电子天平(德国 Sartorius 公司); 5424R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); MIX-1 振荡涡旋混合器(上海托莫斯科学仪器有限公司); KQ-250E 超声波水浴器

(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

乙酸铵(色谱纯,上海 Macklin 公司); 甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司); Alumina-N/XAD-2 SPE 柱(1 g/4 g, 10 mL)和人参皂苷 Rb2(批号 Z99800205)、Rb3(批号 Y8650010)、Rc(批号 U9330025)、Rd(批号 R7880050)、Rf(批号 T7810020)、Rg2(批号 47560010)购于上海安谱实验科技股份有限公司; 对照品人参皂甙 Re(批号

110754-201827)、Rg1(批号110703-201731)、Rb1(批号110704-201827)购于中国食品药品检定研究院。11批保健食品均为市售。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取各目标物标准品0.01 g,用甲醇溶解并配制成1 mg/mL的标准储备液,于-18 ℃保存。分别吸取一定量的标准储备液,用甲醇稀释,涡旋混匀,配制成质量浓度为1.0 μg/mL的混合标准溶液,于-18 ℃保存。移取适量混合标准溶液,用甲醇-水(30:70, v/v)配制成0.005~0.5 μg/mL的系列混合标准工作液,现用现配。

1.3 样品前处理

1.3.1 提取

固体试样:取片剂或胶囊内容物研成粉末,称取0.5 g试样,置于50 mL塑料离心管中,加入约15 mL纯化水涡旋振摇混匀,超声提取(功率300 W,频率40 kHz)30 min,以5 000 r/min离心5 min,上清液转移至50 mL量瓶中,残渣用30 mL纯化水分2次重新提取,提取液并入量瓶中,用纯化水定容至刻度,混匀,待净化。

液体试样:称取2 g试样,置于50 mL塑料离心管中,加入约40 mL纯化水,涡旋振摇混匀,超声提取(功率300 W,频率40 kHz)30 min,用纯化水定容至50 mL,混匀,待净化。

1.3.2 净化

分别用20 mL 70%乙醇水溶液和20 mL水对固相萃取柱进行活化,取2.0 mL样品提取溶液上样,分别用20 mL水进行淋洗,用20 mL 70%乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱液;洗脱液用甲醇-水(30:70, v/v)定容至25.0 mL,混匀后用0.22 μm混合型滤膜过滤,上机检测。若样品中人参皂苷浓度超出线性范围,用甲醇-水(30:70, v/v)适当稀释。

1.4 分析条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱:Hypersil Gold C18色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)柱;柱温:40 ℃;流动相:A为5 mmol/L乙酸铵溶液(含0.1%甲酸),B为乙腈;流速:0.4 mL/min。梯度洗脱条件:0~4.0 min, 81% A; 4.0~6.0 min, 81% A~79% A; 6.0~8.0 min, 79% A~72% A; 8.0~15.0 min, 72% A~69% A; 15.0~20.0 min, 69% A~54% A; 20.0~20.5 min, 54% A~10% A; 20.5~22.0 min, 10% A; 22.0~22.5 min, 10% A~81% A。进样量:5 μL。

1.4.2 质谱条件

离子源:电喷雾电离源,负离子模式(ESI⁻);扫描方式:多反应监测(MRM)模式;离子传输毛细管温度:350 ℃;电喷雾电压:3 000 V;蒸发温度:400 ℃;碰撞气体压力:0.2 Pa;辅助气流量:3.6 mL/min;鞘气流量:10.5 mL/min。9种分析物的监测离子对(Q1/Q3 ion pairs)、碰撞能量和管透镜补偿电压(tube lens)见表1。

表1 9种分析物的质谱参数
Table 1 MS/MS parameters of the nine analytes

No.	Compound	t_R / min	Q1/Q3 ion pairs (m/z)	Collision energy/ eV	Tube lens/ V
1	Rg1	8.01	799.5/637.5*, 799.5/475.5	26, 33	150
2	Re	8.19	945.5/637.4*, 945.5/475.5	51, 36	180
3	Rf	11.82	799.5/475.4*, 799.5/637.4	36, 30	150
4	Rg2	13.86	783.5/475.4*, 783.5/637.4	36, 26	150
5	Rb1	15.13	1153.6/1107.7*, 1153.6/221.1	28, 56	180
6	Rc	16.32	1077.6/783.5*, 1077.6/945.5	41, 40	180
7	Rb2	17.42	1077.6/783.5*, 1077.6/945.5	46, 38	175
8	Rb3	17.69	1077.6/783.5*, 1077.6/945.5	42, 41	180
9	Rd	18.63	945.5/783.5*, 945.5/621.4	36, 40	164

* Quantitative ion pair.

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

实验在ESI⁻和MRM模式下检测人参皂苷,由于9种人参皂苷的主要分子结构类似(见图1),人参皂苷的电离裂解过程为皂苷分子M丢失一个质子形成[M-H]⁻准分子离子,准分子离子在碰撞池与碰撞气分子发生碰撞而裂解成的碎片离子也多以丢失各种糖基G后形成[M-H-G]⁻为主^[19,20],离子形成和裂解机理基本一致,碎片离子具有各型皂苷的典型特征。原人参二醇型皂苷作为准分子离子,断裂后以 m/z 783.5和 m/z 945.5的碎片离子为主;原人参三醇型皂苷准分子离子,断裂后出现 m/z 475.5和 m/z 637.4为主的碎片离子。在确定了一级质谱准分子离子峰和相应的碎片离子后,实验通过对喷雾电压、碰撞能量和管透镜补偿电压等条件进一步优化,使得方法的灵敏度进一步得到提升。

2.2 色谱条件优化

由于9种人参皂苷的分子结构相类似,通过对比可以发现,原人参二醇型结构的人参皂苷Rb2、Rb3和Rc互为同分异构体,分子结构相同,只是在空间结构上存在差别,3种物质的一级准分子离子峰和裂解失去糖基后形成的离子碎片均相同(m/z

1 077.6/783.5、 m/z 1 077.6/945.5),且在色谱柱上的保留时间接近,因此在色谱分离时,这3种物质需达到完全分离才能准确定量。研究采用 Hypersil Gold C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm),在 0.4 mL/min 的流速条件下,通过优化梯度洗脱条件,使人参皂苷 Rb2、Rb3 和 Rc 3 种目标物质实现完全分离,全部 9 种目标物质均实现较好的分离效果(见图 2)。实验进一步考察了相同梯度洗脱条件下甲醇-水和乙腈-水体系流动相对 9 种目标物质的分离效果,结果表明,乙腈-水体系流动相的洗脱能力优于甲醇-水体系,且峰形对称性更好。在质谱条件优化过程中发现,在乙腈-水流动相体系中加入甲酸能够提高皂苷物质的响应信号,另外,添加一定比例的乙酸铵,也能改善流动相的洗脱能力和部分目标物质的峰形。经过对乙酸铵和甲酸加入量的优化,最终确定采用 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1% 甲酸)-乙腈流动相作为实验最终条件,能获得更好的洗脱能力和信号强度。

2.3 前处理条件优化

2.3.1 固相萃取柱的选择

保健食品成分相对复杂,实验的关键步骤是对

目标物质的净化和富集。在传统的 SPE 提取净化方法中,C18 固相萃取柱^[21]和 HLB 固相萃取柱^[22]是常用的固相萃取柱类型。为考察不同固相萃取方式对复杂样品净化效果的影响,实验以胶囊样品为研究对象,以基质效应(ME)的大小和样品的回收率为指标,对 C18、HLB、Alumina-N/XAD-2 3 种不同固相萃取柱的净化效果进行比较(见表 2)。其中,基质效应以基质标准曲线各浓度点的响应值与系列混合标准工作液中相应浓度点的响应值的比值计算,ME 值越接近 100%,表明基质效应越低。结果表明,经 Alumina-N/XAD-2 SPE Cartridge 复合固相萃取柱净化后,9 种目标物的基质效应明显低于 C18 和 HLB 柱净化后,回收率与另外两种萃取柱相比也有一定的优势。

2.3.2 提取溶剂、淋洗和洗脱剂的选择

研究采用 Alumina-N/XAD-2 复合固相萃取柱作为前处理的净化柱,柱填料分别为 XAD-2 大孔吸附树脂和中性氧化铝,XAD-2 大孔树脂是一种适用范围广泛的固相萃取填料,通过分子排阻作用对保健食品中的糖类、蛋白质和添加剂进行洗脱^[23],中性氧化铝填料能够对皂苷类、黄酮类水溶性成分或极性化合物有较强的吸附能力^[24],两种不同填料的复合使用能够对目标物质进行富集并与其他干扰物质分离。水饱和的正丁醇溶液或甲醇水溶液是常见的人参皂苷提取剂,在实际操作中发现,正丁醇或甲醇会洗脱固相萃取小柱 XAD-2 填料表面吸附的人参皂苷成分,需要在固相萃取上柱前先蒸干除去提取液中的醇类,再进行固相萃取富集和提取。实验以水饱和和正丁醇溶液、甲醇-水(50:50, v/v)溶液和纯水为提取溶液,分别对含有 9 种人参皂苷的保健食品进行提取,比较 3 种提取溶液的提取效率。结果表明,3 种不同提取溶液对 9 种人参皂苷的提取

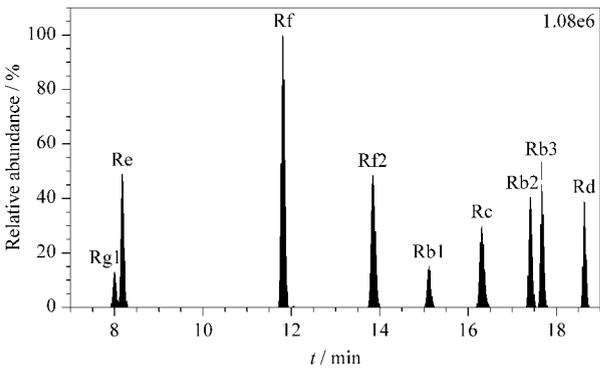


图 2 9 种人参皂苷的总离子流色谱图

Fig. 2 TIC chromatograms of the nine ginsenosides

表 2 采用不同固相萃取柱时 9 种人参皂苷的基质效应和回收率

Table 2 MEs and recoveries of the nine ginsenosides using different SPE columns

Compound	MEs/%			Recoveries/%		
	C18	HLB	Alumina-N/XAD-2	C18	HLB	Alumina-N/XAD-2
Rg1	55.2	68.1	91.5	65.6	88.2	101.4
Re	48.6	72.2	93.3	68.9	79.3	107.6
Rf	51.5	70.3	89.6	75.5	95.6	96.7
Rg2	62.3	89.1	94.4	69.4	117.9	93.5
Rb1	46.5	82.6	95.3	72.5	124.8	89.7
Rc	54.2	74.1	89.9	70.4	94.2	90.6
Rb2	55.3	63.3	90.1	78.6	90.4	98.4
Rb3	63.9	79.4	91.7	59.4	80.1	103.4
Rd	57.6	66.5	92.3	69.1	78.5	94.5

效率基本一致,说明纯水可以对人参皂苷进行有效提取。因此,选择纯水作为提取溶剂。

另外,洗脱剂的选择和用量是前处理的关键,选择最佳洗脱剂需要兼顾人参皂苷的洗脱率、杂质洗脱率以及洗脱剂的用量。大孔树脂洗脱时常用不同体积分数的乙醇溶液,乙醇的体积分数和洗脱体积对待分离成分的含量具有较大的影响^[25]。通过提

高洗脱液中乙醇的比例能够使填料中吸附的人参皂苷逐渐被洗脱,实验发现当洗脱剂中乙醇比例达到70%时,人参皂苷基本能够完全洗脱,故选择采用70%乙醇作为洗脱剂。方法考察了不同体积(5~30 mL)洗脱剂对人参皂苷提取率的影响(见图3)。结果表明,洗脱剂达到20 mL时,基本能使人参皂苷完全洗脱。

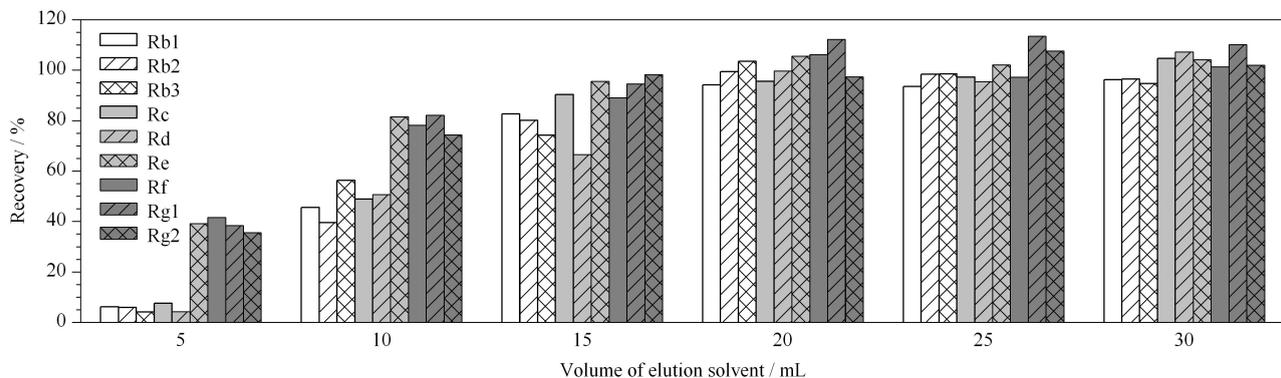


图3 不同体积的洗脱剂对9种人参皂苷提取率的影响

Fig. 3 Influences of the different volumes of elution solvents on the recoveries of the nine ginsenosides

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围与检出限

在优化后的色谱条件下,考察了9种人参皂苷在0.005~0.5 μg/mL范围内的线性关系,以各分析物的质量浓度为横坐标,以其相应的色谱峰面积为纵坐标,得到各自的线性方程。结果显示,9种人参皂苷在线性范围内呈现出良好的线性关系,相关系数(r^2)为0.9963~0.9994。9种目标物在液体样品和固体样品中的定量限分别为2.5 mg/kg和10 mg/kg。该法灵敏度较高,可较好的应用于保健食品中9种人参皂苷的检测。

2.4.2 回收率与精密度

按照确定的前处理方法,对保健食品基质进行

3个水平的加标回收试验,添加水平为定量限的1、6和12倍,每个添加水平重复6次,计算回收率和精密度。结果表明,9种人参皂苷的回收率为81.1%~114.2%,精密密度为0.4%~8.0%(见表3)。说明方法可满足实验室日常检测的要求。

2.4.3 稳定性

实验考察了9种人参皂苷经提取后,在样品瓶中放置1、4、8、12、24、48 h后的稳定性。结果表明,9种人参皂苷含量的RSD值≤8.66%,说明该条件下样品的稳定性良好,能满足测定要求。

2.4.4 基质效应

分别选取3种代表性基质(片剂、胶囊和口服液)的保健食品,采用1.3节的前处理方法,比较了3

表3 9种人参皂苷的线性方程、相关系数、加标回收率和精密度($n=6$)

Table 3 Linear equations, correlation coefficients (r^2), spiked recoveries and RSDs of the nine ginsenosides ($n=6$)

Compound	Linear equation	r^2	10 mg/kg		60 mg/kg		120 mg/kg	
			Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Rg1	$Y = 6.68 \times 10^6 X + 4.49 \times 10^5$	0.9994	97.1	1.0	102.5	3.5	111.8	1.5
Re	$Y = 1.66 \times 10^7 X + 2.17 \times 10^6$	0.9970	108.6	8.0	97.2	1.2	110.3	0.8
Rf	$Y = 5.14 \times 10^6 X + 6.44 \times 10^6$	0.9963	114.2	1.8	97.5	2.3	106.2	0.8
Rg2	$Y = 4.21 \times 10^6 X + 3.09 \times 10^6$	0.9991	109.8	4.7	91.6	0.9	97.2	1.8
Rb1	$Y = 1.39 \times 10^6 X + 1.82 \times 10^6$	0.9969	81.4	5.7	85.1	3.3	89.1	4.4
Rc	$Y = 2.16 \times 10^6 X + 1.61 \times 10^6$	0.9989	104.5	3.6	92.5	0.4	96.6	1.8
Rb2	$Y = 1.98 \times 10^6 X + 1.90 \times 10^6$	0.9983	106.7	3.0	93.7	3.6	100.7	0.6
Rb3	$Y = 1.94 \times 10^6 X + 1.93 \times 10^6$	0.9984	102.7	4.8	95.7	3.0	101.8	0.5
Rd	$Y = 1.87 \times 10^6 X + 2.51 \times 10^6$	0.9965	108.3	1.9	92.3	3.7	103.5	2.3

Y: peak area; X: mass concentration, μg/mL.

种代表性样品基质对 9 种人参皂苷测定的影响。结果显示,9 种人参皂苷的基质效应在片剂样品、胶囊样品和口服液样品中分别为 92.2%~102.3%、89.6%~95.3%和 93.3%~105.1%。说明样品基质经过前处理过程的净化和较大体积的稀释,基质效应对化合物的影响较小,采用甲醇-水(30:70, v/v)溶剂配制的标准溶液能够满足测定要求。

2.5 实际样品检测

应用所建立的方法分别对市售 11 批保健食品进行分析,其中 6 批原材料标识含有人参、西洋参、三七等五加科植物成分(样品 1-6),5 批未标识含有人参、西洋参、三七等五加科植物成分(样品 7-11),分别按照优化后的前处理和分析条件处理,结果见表 4。

表 4 保健食品样品中 9 种人参皂苷成分的测定结果
Table 4 Detected results of the nine ginsenosides in health food samples

Sample	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Total	%
1	0.0874	0.202	ND	0.0358	0.0162	0.0529	0.129	0.275	0.197	1.00	
2	0.0700	0.214	<0.0010	0.00144	0.175	0.0460	0.00977	0.0112	0.104	0.63	
3	0.229	0.0184	<0.0010	0.00341	0.0671	<0.0010	ND	<0.0010	0.0424	0.56	
4	0.417	0.0549	<0.0010	0.0178	0.149	<0.0010	<0.0010	<0.0010	0.0985	0.74	
5	0.0746	0.245	ND	0.0336	0.233	0.0914	0.0206	0.0280	0.126	0.85	
6	0.201	0.510	ND	0.0640	0.0469	0.0950	0.284	0.770	0.709	2.68	
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
8	0.140	0.153	0.00114	0.00915	0.00910	0.0370	0.0376	0.0242	0.0438	0.46	
9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	

ND: not detected.

结果表明,标识含有五加科植物配料的 6 批保健食品均检出人参皂苷成分,9 种人参皂苷含量占 0.56%~2.68%,与样品标签标注总皂苷含量接近;有 1 批配料表仅标识葛根提取物、苦瓜提取物等成分的保健食品检出包括人参皂苷 Rf 在内的 9 种人参皂苷成分(样品 8),9 种人参皂苷含量占 0.46%;另外 4 批未标识含有五加科植物成分样品均未检出 9 种人参皂苷。

3 结论

本文建立了一种快速、高效分析保健食品中 9 种人参皂苷的超高效液相色谱-串联质谱分析方法。该法能快速测定人参提取物中 9 种人参皂苷的含量,通过对色谱和质谱参数、样品提取和净化方式、淋洗和洗脱剂等条件进行了优化。结果表明,该方法快速准确,灵敏度高,重复性好,实用性强,为保健食品中人参皂苷的检测及质量控制提供了可靠的技术支持。

参考文献:

[1] Li Q, Jin R H, Jiang G Z, et al. Food Science, 2017, 38(3): 292
李庆, 金润浩, 姜国哲, 等. 食品科学, 2017, 38(3): 292
[2] Qin Q, Feng B L, Tang L Q, et al. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2019, 25(10):

197
覃琴, 冯柏林, 唐丽清, 等. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 197
[3] Li Y, Zhang T J, Liu S X, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2009, 40(1): 164
黎阳, 张铁军, 刘素香, 等. 中草药, 2009, 40(1): 164
[4] Wang Y M. Ginseg Research, 2001, 13(3): 2
王筠默. 人参研究, 2001, 13(3): 2
[5] Xia Y G, Song Y, Liang J, et al. Molecules, 2018, 23(9): 2396
[6] Yang X B, Yang X W, Liu J X. Modern Chinese Medicine, 2013, 15(5): 349
杨鑫宝, 杨秀伟, 刘建勋. 中国现代中药, 2013, 15(5): 349
[7] Fuzzati N. J Chromatogr B, 2004, 812(1/2): 119
[8] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 8
国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部. 北京: 化学工业出版社, 2015: 8
[9] Song C Y, Zhang H R, Guo Z M, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(5): 547
宋春颖, 张华蓉, 郭志谋, 等. 色谱, 2020, 38(5): 547
[10] Qu B Q, Zhang L N, Wang S Y, et al. J Chromatogr A, 2020, 1610: 460542
[11] Zhang L N, Wang S Y, Qu B Q, et al. J Pharm Biomed Anal, 2019, 170: 48
[12] Yang R J, Li X W, Yao H, et al. Chromatographia, 2012, 75(5/6): 281
[13] Li L, Gao B, Zhang W X, et al. Eur Food Res Technol, 2014, 239(1): 137
[14] Yang H, Lee D Y, Kang K B, et al. J Pharm Biomed Anal,

- 2015, 109: 91
- [15] Zhao N, Cheng M C, Huang S, et al. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(3): 403
- [16] Li J, Ding X J, Li Y, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011, 29(3): 259
李佳, 丁晓静, 李芸, 等. 色谱, 2011, 29(3): 259
- [17] Wu X M, Zhao D, Zhu Y P, et al. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2018, 52(5): 94
吴晓民, 赵丹, 朱艳萍, 等. 上海中医药杂志, 2018, 52(5): 94
- [18] Xu D M, Lai G Y, Chen Y, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(7): 778
徐敦明, 赖国银, 陈燕, 等. 色谱, 2019, 37(7): 778
- [19] Li L, Liu C M, Wu W, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2005, 33(8): 1087
李丽, 刘春明, 吴巍, 等. 分析化学, 2005, 33(8): 1087
- [20] Huang X, Wang N, Zhang Y, et al. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(6): 646
黄鑫, 王妮, 张勇, 等. 分析测试学报, 2018, 37(6): 646
- [21] Lou D W, Saito Y, Jinno K. *Chromatographia*, 2005, 62(7/8): 349
- [22] Peng Y, Wu Z J, Huo Y P, et al. *Anal Methods*, 2017, 9(37): 5441
- [23] Gong X C, Yan A Y, Qu H B. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2013, 15(2): 329
龚行楚, 闫安忆, 瞿海斌. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, 15(2): 329
- [24] Guo L B, Wang L. *Modern Chinese Medicine*, 2006, 8(4): 26
郭丽冰, 王蕾. 中国现代中药, 2006, 8(4): 26
- [25] Liu Y F, Liu J X, Chen X F, et al. *Food Chem*, 2010, 123(4): 1027