

液相色谱-质谱联用技术分析提取温度对药材中人参皂苷单体提取率的影响

李 慧,焦丽丽,章国磊,吴 巍*,刘淑莹

长春中医药大学 吉林省人参科学研究院 长春 130117

摘要:建立快速高分离度液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用方法(LC-Q-TOF-MS)对人参皂苷进行定性和定量分析,鉴定了20种皂苷单体,以提取离子流峰面积定量分析,验证了含量测定方法学。并研究了温度对人参皂苷提取率的影响。总皂苷的提取效率随温度升高而逐渐增加,单体的变化趋势与总皂苷不相同:二醇型皂苷在100℃时提取率最高,三醇型皂苷在80℃左右出现最高点,并随着温度的进一步升高而降低,丙二酰基人参皂苷在70℃最高,高于70℃时发生降解。人参皂苷单体的提取效率与温度相关,提取过程皂苷发生降解。

关键词:液质联用;人参皂苷;提取率

中图分类号:R284.1;R285

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.7.004

Temperature Influence on Extraction Efficiency of Ginseng Saponin with Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

LI Hui, JIAO Li-li, ZHANG Guo-lei, WU Wei*, LIU Shu-ying

Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, 130117, China

Abstract: A rapid, high-resolution liquid chromatography with quadrupole time of flight mass spectrometry (LC-Q-TOF-MS) was established for ginseng saponin analysis. Twenty saponin monomers were identified and quantitative analyzed with validated method. The method was applied for the investigation of temperature influence of the temperature on ginseng saponin extraction efficiency. The extracted ion chromatographic (EIC) peak area was used for quantitative analysis; the highest extraction efficiency of protopanaxadiol temperature was at 100℃, while the temperature for protopanaxatriol was at around 80℃, then decreased with increasing temperature. The highest extraction efficiency of malonyl-ginsenoside was at 70℃. However, results showed that total saponin increased gradually with temperature, which could not represent the tendency of saponin monomers. The extraction efficiency of ginseng saponin was related to temperature, and the saponin was degraded during the extraction process.

Key words: LC/MS; ginseng saponin; extraction efficiency

人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)具有大补元气,复脉固脱的作用,是临床上常用的补益佳品^[1,2]。人参皂苷是人参的主要有效成分,常通过水提取的方式获得。研究表明,皂苷结构中的糖苷键稳定性较差,在酸性(pH<7)条件下容易发生断裂,生成小分子皂苷^[3]。人参水提取液的pH值较低(4.5~5.5),在长时间(>1h)煎煮过程中皂苷几乎无可避免的会发生降解^[4],而降解生成的小分子皂苷对含量测定结果会产生显著影响^[5]。因此

研究水溶剂提取过程中皂苷的降解规律对于人参产品的质量控制在重要意义。

对人参皂苷的降解产物的研究需要对皂苷成分进行定性和定量分析。LC-MS技术可以通过选择性离子扫描(Selected Ion Monitoring, SIM)和目标化合物二级碎裂方式(Target MS²)实现未知化合物的定性鉴别,结合提取离子流色谱峰(Extracted Ion Chromatographic, EIC)面积实现目标化合物的定量^[6,7]。目前LC-MS技术已经成为中药材成分分析的有效手段,近年来在天然药物中得到广泛的应用^[8,9]。本文采用LC-Q-TOF-MS质谱技术鉴定了人参提取物中20种皂苷单体,验证了其含量测定的方法学,并应用本方法研究了不同温度提取物中人参皂苷的

收稿日期:2018-01-31 接受日期:2018-05-30

基金项目:吉林省科技发展计划(201603088YY),吉林省优秀青年人才基金(20180520062JH)

*通信作者 Tel:86-431-86763991; E-mail:weiwu_ccucm@126.com

含量,基于此探讨了人参皂苷糖苷键的稳定性。本研究结果将为人参皂苷产品的质量控制在深入研究开发人参产品提供理论基础。

1 实验材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型液相色谱系统(Agilent 公司,美国),Agilent accurate 6520 四极杆-飞行时间质谱仪(Q-TOF)(Agilent 公司,美国),Sigma-Aldrich C₁₈ 色谱柱(50 × 3.0 mm, 2.7 μm, Sigma 公司,美国),Millipore 超纯水机(Millipore 公司,美国),TU-1810 紫外可见分光光度计(谱析通用仪器有限公司,中国),DF-101S 集热式磁力搅拌水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司,中国),FDU-1100 冻干机(东京理化,日本)。

1.2 试剂

甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司),其他试剂均为分析纯。四年生全须生晒参(批号:131120)由吉林省紫鑫药业有限公司提供,经长春中医药大学姜大成教授鉴定为五加科植物人参。人参皂苷单体 20-Glc-Rf, mRb₁, mRc, mRd, mRf, mRb₂ 标准对照品为自制,以 IR、MS、NMR 鉴定其结构,以 TIC 和 HPLC 测定纯度为 99.14%。人参皂苷单体标准对照品 noto-R1、Rg₁、Re、Rf、F3、Rg₂、Ra₁、Rb₁、Rc、Ra₂、Rb₂、Rb₃、Rd、Ro(纯度 > 99%)购自南京泽朗有限公司。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备

水提取物的获得(Water, W⁻):为保证实验的准确性,将人参药材粉碎至 60 目,药材取样量 50 g,料液比 1:8,回流提取三次,时间分别为 2、2、1.5 h。合并提取液,趁热过滤,并减压浓缩至 500 mL。提取温度分别为 60、70、80、90、100 °C,获得样品分别标记为 W-60、W-70、W-80、W-90、W-100。

乙醇提取物的获得(Remain, R⁻):将上述经水溶液提取后的药材残渣再次以乙醇为溶剂加热回流提取,趁热过滤后浓缩至 500 mL,提取物分别标记为 R-60、R-70、R-80、R-90、R-100。

样品处理:分别精密量取提取浓缩液 5 mL,经乙醚脱脂,水饱和正丁醇萃取后获得皂苷成分,回收正丁醇,用色谱甲醇将残渣溶解并定容至 10 mL,溶液过 0.45 μm 微孔滤膜,备用。

2.2 对照品的制备

精密称取各对照品适量,置容量瓶中,甲醇定容,配置成 20-Glc-Rf, mRb₁, mRc, mRd, mRf, mRb₂, noto-R1, Rg₁, Re, Rf, F3, Rg₂, Ra₁, Rb₁, Rc, Ra₂, Rb₂, Rb₃, Rd, Ro 的对照品溶液,备用。

2.3 测定方法

皂苷单体测定方法:采用 LC-Q-TOF-MS 对提取液中的皂苷单体成分进行测定。色谱条件:采用二元线性梯度洗脱:流动相 A 为 0.1% 甲酸, B 为乙腈;梯度设置:0 ~ 5 min, 15% ~ 19% B; 5 ~ 10 min, 19% B; 10 ~ 28 min, 19% ~ 26% B; 28 ~ 38 min, 26% ~ 60% B; 38 ~ 42 min, 60% ~ 100% B, 流速为 0.5 mL/min, 进样量 5 μL, 柱温 35 °C。质谱条件:采用电喷雾电离源(ESI), 负离子模式, 扫描范围 *m/z* 200 ~ 1500。雾化器温度:300 °C;干燥气(N₂)流速:9 L/min;干燥气温度:350 °C;雾化器压力:45 psi。

总皂苷测定方法:量取 100 μL 3.1 项下供试品溶液至 15 mL 具塞刻度试管中,氮气吹干。加入新鲜配制的香草醛-冰醋酸溶液(5%) 0.2 mL, 摇匀后加入高氯酸 0.8 mL, 60 °C 水浴加热 10 min, 立即转入冰水浴冷却, 取出加入冰醋酸 5 mL 终止反应。得到样品溶液, 于 560 nm 处测吸光度值, 以 Re 为对照计算样品中总皂苷含量。

3 结果与分析

3.1 LC-Q-TOF-MS 对皂苷单体成分的鉴定

以三醇型皂苷 Rf 为例,说明 MS/MS 和 LC-Q-TOF-MS 的优化方法:分别在正离子和负离子模式下进行测定。在 0.1% 的甲酸水作为流动相条件下, Rf 在负离子模式下分别出现 [M-H]⁻ *m/z* 799.48 和 [M + HCOO]⁻ *m/z* 845.46 的离子(图 1A), 在正离子模式下, 则出现 [M + Na]⁺ *m/z* 823.49 的离子(图 1B)。与正离子模式相比, Rf 在负离子检测模式下检测灵敏度较小且干扰较小, 因此本实验涉及的提取物中皂苷单体均采用负离子检测模式。

采用 MS/MS 方法对保留时间为 14.15 min, 质荷比 *m/z* 为 799.48 的离子进行研究, 根据 Costello 的命名法^[10]对皂苷的碎片离子进行命名, 电荷保留在非还原性末端的离子称为 Y, Z, X 离子。将 C20 位链接的糖苷键命名为 β 键, C6 和 C3 位的糖苷键命名为 α 键。经过 MS/MS 分析, Y_{0β} (*m/z* 475.38) 是三醇型人参皂苷昔元的鉴定依据, [M + HCOO]⁻

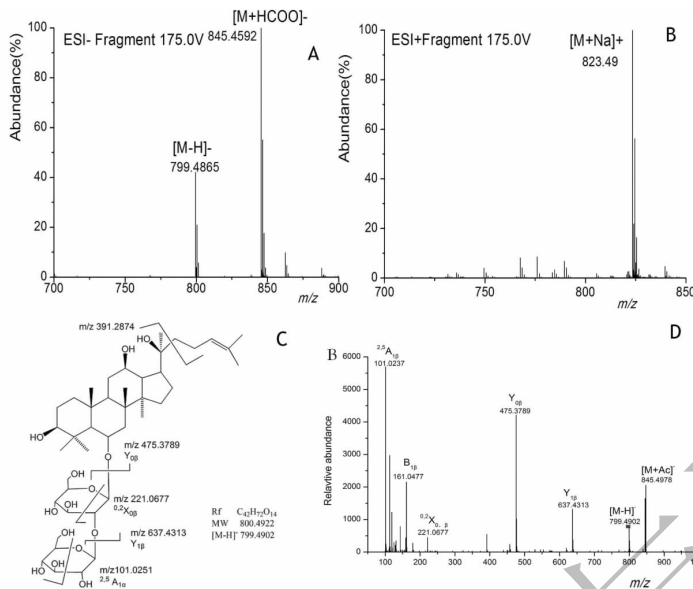


图 1 Rf 的质谱信息:A:负离子模式下一级质谱图;B:正离子模式下一级质谱图;C:Rf 的结构式;D:负离子模式下的二级质谱图

Fig. 1 MS Spectra information of Rf:A:MS Spectrum in Negative mode;B:MS spectrum in Positive mode;C:Fragmentation pattern of Rf;D:MS/MS Spectrum of Rf in negative mode

脱去 C6 位末端的葡萄糖残基 (162Da + 46Da) 产生的 $Y_{1\beta}$ (m/z 637.43) 离子,再脱去 C6 位葡萄糖残基 (162Da + 46Da) 产生的 $Y_{1\beta}$ (m/z 475.38) 离子。在苷元 C6 葡萄糖-葡萄糖取代。通过对产物碎片离子的分析,得出 14.15 min,质荷比 m/z 为 799.48 的离子为人参皂苷 R_f 。

在本色谱条件下,提取物中的皂苷类成分得到很好的分离。二级图谱中 m/z 475.38 ($Y_{1\beta}$) 为三醇型皂苷的特征碎片离子, m/z 459.39 ($Y_{0\beta}$) 为二醇型皂苷的特征碎片离子,出现 $[M-86]$ 的碎片则提示结构中可能存在丙二酰基。用此方法鉴定了 20 种皂苷单体,提取物中皂苷单体的质谱信息如表 1 中所示,

二醇型和三醇型皂苷结构通式如图 2A 中所示,齐墩果烷型人参皂苷结构式如图 2B 中所示。

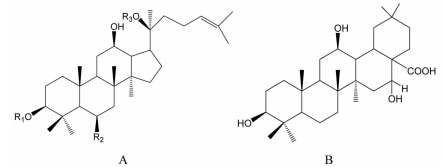


图 2 人参二醇型皂苷单体结构通式 (A) & 齐墩果烷性人参皂苷结构式 (B)

Fig. 2 General Formula of Protopanaxatriol (PPT) and Protopanaxadiol (PPD) (A) & Structure of Oleanane Ginsenoside (B)

表 1 皂苷单体结构式及质谱特征

Table 1 Structural formula and MS informations of saponin monomers

| 皂苷种类 Type | 皂苷单体 Ginseng saponin | 保留时间 t_R (min) | R_1 | R_2 | R_3 | 测定值 Measured value (mass error < 10 ppm) | |
|--------------|----------------------------|------------------------|-------|------------|----------|--|------------|
| | | | | | | $[M-H]^-$ | $[M+Ac]^-$ |
| 三醇型皂苷 PPT | 20-Glc-Rf | 6.50 | OH | -O-Glc-Glc | Glc | 961.54 | 1007.54 |
| | noto-R1 | 7.26 | OH | -O-Glc-xyl | Glc | 931.53 | 977.53 |
| | Rg ₁ | 9.35 | OH | -O-Glc | Glc | 799.48 | 845.49 |
| | Re | 9.81 | OH | -O-Glc-rha | Glc | 945.54 | 991.55 |
| | Rf | 16.02 | OH | -O-Glc-Glc | OH | 799.48 | 845.49 |
| | F3 | 16.81 | OH | -OH | -Glc-rha | | 769.47 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 皂苷种类 Type | 皂苷单体 Ginseng saponin | 保留时间 t_R (min) | R_1 | R_2 | R_3 | 测定值 Measured value (mass error < 10 ppm) | |
|--------------|----------------------------|------------------------|----------------|------------|--------------|--|-----------------------|
| | | | | | | [M-H] ⁻ | [M + Ac] ⁻ |
| 二醇型皂苷 PPD | Rg ₂ | 18.01 | OH | -O-Glc-rha | OH | 784.49 | 829.50 |
| | mRf | 15.67 | OH mal | -O-Glc-Glc | OH | 885.48 | 931.49 |
| | mRb ₁ | 21.35 | -O-Glc-Glc mal | H | -Glc-Glc | 1193.67 | 1239.67 |
| | mRc | 23.50 | -O-Glc-Glc mal | H | -Glc-ara | 1163.58 | 1209.59 |
| | mRb ₂ | 23.83 | -O-Glc-Glc-mal | H | -Glc-ara | 1163.58 | 1209.59 |
| | mRd | 25.45 | -O-Glc-Glc mal | H | -Glc | 1031.54 | 1077.55 |
| | Rb ₁ | 20.00 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-Glc | 1107.67 | 1153.67 |
| | Rc | 21.52 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-ara | 1077.58 | 1123.59 |
| | Ra ₁ | 21.95 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-ara-xyl | 1209.63 | 1255.63 |
| | Ra ₂ | 22.55 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-ara-xyl | 1209.63 | 1255.63 |
| | Rb ₂ | 23.12 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-ara | 1077.58 | 1123.59 |
| | Rb ₃ | 24.35 | -O-Glc-Glc | H | -Glc-xyl | 1077.58 | 1123.59 |
| | Rd | 24.83 | -O-Glc-Glc | H | -Glc | 945.54 | 991.55 |

* 注:m 代表丙二酰基,如 mRb₁ 表示丙二酰基人参皂苷。

* note:m is short for Malonyl-, for example, mRb₁ represent for Malonyl-. Rb₁.

总离子流色谱图如图 3 中所示,1-20 号色谱峰分别为 1: 20-Glc-Rf; 2: noto-R1; 3: Rg₁; 4: Rc; 5: mRf; 6: Rf; 7: F3; 8: Rg₂; 9: Ro; 10: Rb₁; 11: mRb₁; 12: Rc; 13: Ra₁; 14: Ra₂; 15: Rb₂; 16: mRc; 17: mRb₂; 18: Rb₃; 19: Rd; 20: mRd。

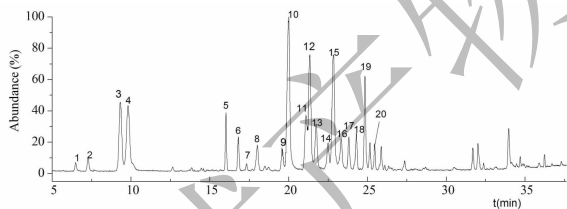


图 3 负离子模式下不同人参皂苷单体的 LC-Q-TOF-MS 的总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatogram of the identified ginseng saponin in negative ion mode with LC-Q-TOF-MS

3.2 方法学考察

标准曲线及定量下限:在鉴定了提取物中的 20 种皂苷单体成分后,分别配制 20 种人参皂苷单体的标准曲线,并逐级稀释,以浓度为横坐标,提取离子流峰面积(EIC)为纵坐标,得到线性回归方程,信噪比($S/N > 10$)确定方法的定量限(LOQ),各皂苷单体的线性范围,定量限以及相关系数结果如表 2 所示。

精密性及重复性:配制高、中、低三个浓度水平

的混合对照品溶液,平行测定 3 次,计算各皂苷单体的峰面积 RSD,测得日内精密度(Intra-day precision),连续测定 3 天,计算日间精密度(Inter-day precision)。重复性取同一提取物样品,按 3.1 项下样品处理方法操作,平行处理 3 次,计算各皂苷单体的峰面积 RSD 值,测得重复性(Repeatability)(表 2)。

加标回收率:取统一样品溶液分别加入高、中、低 3 个浓度水平的混合对照品溶液,平行测定三次,计算各皂苷单体的加标回收率(表 2)。

通过液质联用方法建立了 20 种人参皂苷单体的标准曲线,本方法灵敏度高、线性范围宽、稳定性好,可以实现人参皂苷的定量。

3.3 提取物中皂苷单体成分的含量测定

建立了在提取物中皂苷单体的定量分析方法后,分别将不同温度下获得的提取物(W60~100)以及残渣提取物(R60~100)峰面积带入表 2 中标准曲线,分别得到各样品中皂苷单体的含量,并根据含量变化规律将皂苷单体分为三类,现详述如下:

3.3.1 丙二酰基人参皂苷

以皂苷单体浓度为纵坐标,提取温度为横坐标,绘制皂苷单体含量随提取温度的变化曲线。丙二酰基人参皂苷(mRf、mRb₁、mRb₂、mRc、mRd)水提液中含量变化的特点是,含量降低的拐点出现在 70 ℃,

表 2 皂苷单体液相色谱质谱方法学考察结果

Table 2 Performance of LC/MS method for ginseng saponin

| 色谱峰号 No. | 皂苷单体 Saponin monomer | 线性范围 Linear range ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 线性方程 Linear equation | 相关系数 Correlation oefficien | 定量限 LOQ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 加标回收率 Recovery (%) | 日内精密密度 Intra-day Precision RSD (%, $n=3$) | 日间精密密度 Inter-day Precision RSD (%, $n=3$) | 重复性 Repeatability RSD (%, $n=3$) |
|-------------|----------------------------|---|-------------------------|----------------------------------|---|--------------------------|---|--|--|
| 1 | 20-Glc-Rf | 0.1 ~ 10 | $Y = 9910X + 10562$ | 0.9854 | 0.02 | 102.1 | 2.5 | 3.1 | 5.8 |
| 2 | noto-R1 | 0.1 ~ 50 | $Y = 14920X + 37562$ | 0.9554 | 0.03 | 101.3 | 2.6 | 1.2 | 4.2 |
| 3 | Rg ₁ | 10 ~ 200 | $Y = 26344X + 173626$ | 0.9812 | 0.05 | 102.3 | 1.1 | 1.6 | 3.8 |
| 4 | Re | 10 ~ 200 | $Y = 15259X + 101938$ | 0.9737 | 0.1 | 101.9 | 1.3 | 2.5 | 5.7 |
| 5 | mRf | 0.1 ~ 10 | $Y = 8952X + 11462$ | 0.9756 | 0.06 | 98.6 | 1.4 | 3.3 | 4.9 |
| 6 | Rf | 1 ~ 20 | $Y = 24406X + 104906$ | 0.9883 | 0.05 | 99.2 | 1.6 | 2.4 | 4.5 |
| 7 | F3 | 0.1 ~ 10 | $Y = 189112X + 3360$ | 0.9898 | 0.04 | 98.7 | 2.1 | 2.9 | 3.3 |
| 8 | Rg ₂ | 1 ~ 50 | $Y = 29367X + 185483$ | 0.9906 | 0.1 | 101.3 | 2.4 | 4.1 | 5.1 |
| 9 | Ro | 0.5 ~ 20 | $Y = 10142X + 9856$ | 0.9756 | 0.02 | 102.3 | 1.4 | 5.2 | 4.4 |
| 10 | Rb ₁ | 10 ~ 200 | $Y = 14252X + 70702$ | 0.9772 | 0.03 | 96.6 | 3.3 | 1.8 | 4.7 |
| 11 | mRb ₁ | 10 ~ 200 | $Y = 12146X + 10856$ | 0.9406 | 0.03 | 96.6 | 3.3 | 1.8 | 4.7 |
| 12 | Rc | 10 ~ 200 | $Y = 5712.2X + 27892$ | 0.9821 | 0.03 | 99.8 | 1.9 | 2.5 | 5.3 |
| 13 | Ra ₁ | 1 ~ 50 | $Y = 132263X + 78898$ | 0.9833 | 0.05 | 102.4 | 2.2 | 3.2 | 4.6 |
| 14 | Ra ₂ | 1 ~ 50 | $Y = 102263X + 10325$ | 0.9961 | 0.04 | 99.9 | 1.5 | 1.1 | 4.8 |
| 15 | Rb ₂ | 10 ~ 200 | $Y = 4740X + 57978$ | 0.9603 | 0.07 | 102.4 | 1.8 | 1.5 | 5.6 |
| 16 | mRc | 1 ~ 50 | $Y = 92393X + 11325$ | 0.9743 | 0.06 | 101.1 | 1.6 | 1.2 | 3.2 |
| 17 | mRb ₂ | 1 ~ 50 | $Y = 153210X + 88413$ | 0.9813 | 0.08 | 98.4 | 2.2 | 2.9 | 5.8 |
| 18 | Rb ₃ | 1 ~ 50 | $Y = 11763X + 19697$ | 0.9796 | 0.1 | 101.8 | 2.3 | 1.3 | 4.3 |
| 19 | Rd | 1 ~ 50 | $Y = 25065X + 13360$ | 0.9861 | 0.03 | 99.5 | 2.5 | 2.5 | 6.2 |
| 20 | mRd | 1 ~ 100 | $Y = 14266X + 8856$ | 0.9788 | 0.01 | 101.8 | 2.4 | 2.7 | 4.4 |

说明当温度低于 70 °C 时,皂苷溶解度差,提取不完全,提取温度升高后,含量下降(图 4)。

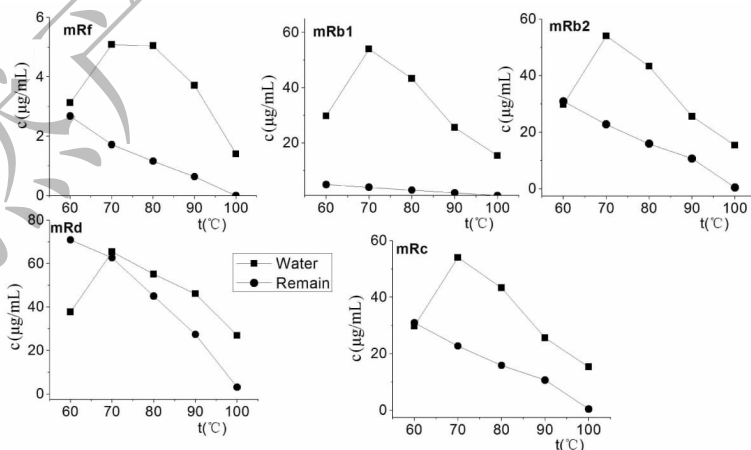


图 4 丙二酰基人参皂苷单体含量随温度变化趋势

Fig. 4 Contents trends of malonyl-ginseng saponin with temperatures

药材残渣中丙二酰基人参皂苷的含量随着温度的降低而逐渐降低,这说明温度越高其提取率越高,而水溶液中的含量不升反降,这说明这类丙二酰基

人参皂苷成分发生了降解。而丙二酰基是 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CO}-$ 结构,通常连接在 C3 或 C6 位末端糖残基上的-OH,相对于糖苷键,这类结合键的稳定性较

差。说明,丙二酰基人参皂苷在受热条件下会发生降解,热稳定性差,稳定温度低于 70 ℃。

3.3.2 三醇型人参皂苷

本文对比了 7 种三醇型人参皂苷(20-Glc-Rf, noto-R1, Rg₁, Re, Rf, F3, Rg₂)的含量变化,除 Rg₂

外,水提液的提取效率先随着温度的升高而增加,在 80 ℃或 90 ℃时出现拐点,即含量下降,而药材残渣中的含量也随之下降,说明高温时可以提取药材中的皂苷成分,但温度进一步升高时,会发生降解,三醇型皂苷的热降解温度在 80 ~ 90 ℃(图 5)。

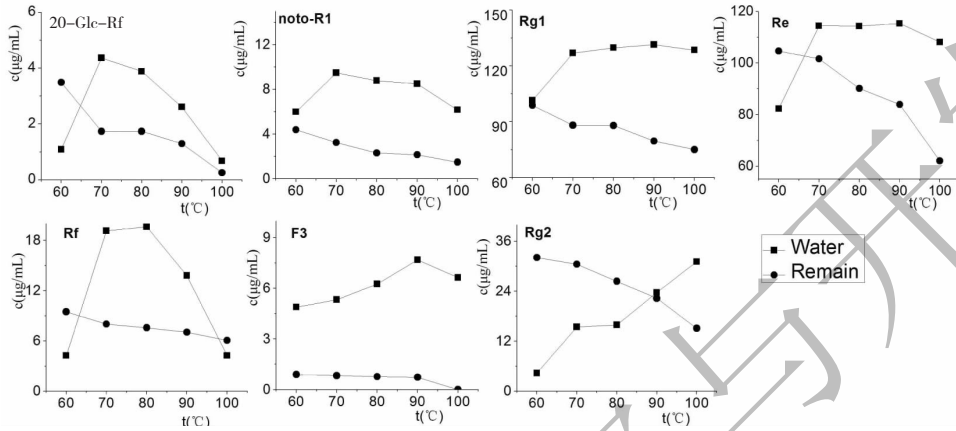


图 5 三醇型人参皂苷单体含量随温度变化趋势

Fig. 5 Contents trends of PPDs with temperatures

3.3.3 二醇型人参皂苷

本文对比了 5 种二醇型皂苷(Rb₁、Rc、Rb₂、Rd、Rb₃、Ra₁、Ra₂)的含量,它们的共性规律是水溶液的提取效率随着温度升高而逐渐增加,药材残渣中提取效率先增加再减少,说明二醇型皂苷的水溶性较

差,温度较低时提取不完全。而药材残渣中的含量也进一步升高,说明温度升高时水提取液中存在的上述五种皂苷单体可能由其它皂苷转化(丙二酰基人参皂苷),并非是直接从药材中提取获得(图 6)。

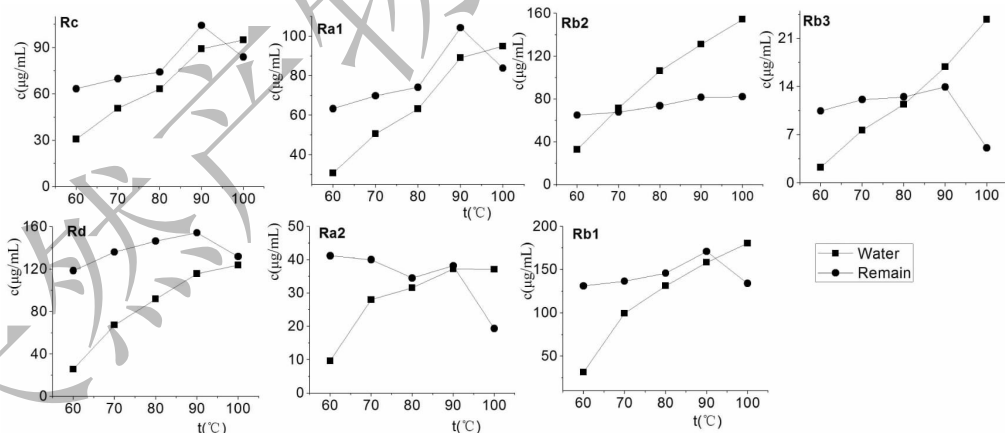


图 6 二醇型人参皂苷单体含量随温度变化趋势

Fig. 6 Contents trends of PPTs with temperatures (protopanaxatriol)

3.4 总皂苷的含量测定结果

问了问进一步测定水提取过程中皂苷单体的含量变化,本文采用香草醛冰醋酸法,以 Re 为标准品,分别对不同提取温度的水提取物样品(W-60 ~ W-100)以及剩余残渣中的总皂苷含量进行测定,

结果如表 2 中所示。

由表 2 可知,在温度逐渐增加时,水提取液中皂苷含量的增加,这一趋势与本文鉴定的 5 种二醇型皂苷含量的变化趋势一致,而药材残渣中剩余的皂苷含量逐渐降低。即使在最好的提取条件下,水提

表 2 不同提取物中总皂苷含量

Table 2 Contents of total saponin content in different samples

| 提取温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$) | | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
|---|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Saponin content (mg) | 水提取液(W-) Water Extraction | 13.05 \pm 1.46 | 29.03 \pm 0.20 | 30.71 \pm 3.168 | 31.72 \pm 0.53 | 35.37 \pm 0.074 |
| | 残渣(R-) Residue Extraction | 42.63 \pm 0.184 | 42.45 \pm 1.496 | 40.31 \pm 1.648 | 33.38 \pm 0.636 | 31.04 \pm 0.148 |

取液中的皂苷含量仅为药材含量的 53%,说明采用水作为提取溶剂对于皂苷的提取效率较低,提取不完全。总皂苷的变化趋势是提取液中总皂苷含量的加和,并不能代表皂苷单体的变化趋势。

本文通过 LC/MS 定性定量分析了 20 种丰度较大的人参皂苷,并未统计含量较小的皂苷,而这一部分皂苷溶解度相对较差,可能通过高温提取过程中溶解度增加而提取获得,也可能由大分子皂苷降解生成,而这部分小分子皂苷可能是导致总皂苷含量测定结果变大的主要原因。

4 结论

本文以 LC-Q-TOF-MS 为检测平台,通过 MS-MS 技术对提取液中的主要皂苷单体进行了鉴定,并计算了不同提取温度条件下皂苷单体的含量,得到的结论具体如下:丙二酰基人参皂苷在温度高于 70°C 时会发生降解,主要生成脱掉丙二酰基的产物,因此,若生产中通过水提取方式获得药材中丙二酰基皂苷,温度需低于 70°C ;三醇型人参皂苷在加热过程中大部分也会发生降解,降解温度在 $80\sim 90^{\circ}\text{C}$ 之间;二醇型皂苷的热稳定性最好,提取过程中不易发生降解,但在 100°C 加热回流提取时得到的皂苷单体存在降解产物。人参皂苷单体的提取效率随温度变化而改变,总皂苷的变化趋势并不能代表皂苷单体的变化趋势。本文的研究结果可以为工业生产中人参成分的提取提供理论依据。

参考文献

- 1 Chang XW(常相伟), Li DK(李德坤), Wang T(王彤), et al. Application of metabolomics approach to study of different parts of Mountain Cultivated Ginseng using UHPLC-QTOF/MS[J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2016, 51:1609-1615.
- 2 Li H(李慧), Liu SY(刘淑莹), Wang B(王冰). Process of

the regulation effect of ginsenosides on HPA axis[J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2014, 49:569-575.

- 3 Tao LN(陶婍娜). Studies on Chemical Constituents of Acid Degradation Products of The Total Ginsenosides from The Roots of Panax ginseng [D]. Jilin: Jilin University(吉林大学), 2009.
- 4 Mao ZL(毛祖林), Li XB(李晓波), Gong WM(龚文明), et al. Optimization of extraction process of ginsenoside [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2008, 19: 2762-2763.
- 5 Li YH(李有海), Han WJ(韩文敬), Lu SK(陆仕坤), et al. Chemical constituents of enzymatic hydrolysate of total ginsenoside from stems and leaves of *Panax ginseng* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2016, 28:655-660.
- 6 Yang ZL(杨宗林), Li H(李慧), Wang B(王冰), et al. Analysis of the impact of ethanol volume fraction on extract Rate of ginsenoside monomer by Q-TOF LC/MS [J]. *China Pharmacy*(中国药房). 2015, 26:4834-4836.
- 7 Du QQ(杜琴琴), Zhang X(张旭), Song FR(宋凤瑞), et al. HPLC-ESI-MS analysis of ginsenosides and antioxidant activity during combination of ginseng with aconitum carmichaeli and coptis Chinensis [J]. *Chem. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报), 2010, 31:1332-1336.
- 8 Xu W(徐文), Qiu XH(邱小惠), Zhang J(张靖), et al. Analysis of saponins in Panax notoginseng by UPLC-LTQ-Qorbitrap MS/MS [J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2012, 47: 773-778.
- 9 Yang DL(杨岱琳), Tong L(佟玲), Li XW(李晓稳), et al. Identification of chemical constituents in Yangxue Qingnao granule by UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2016, 51:797-805.
- 10 Hélène P, Catherine EC. Liquid secondary ionization, tandem and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric characterization of glycosphingolipid derivatives [J]. *J Mass Spectrom*, 1994, 29:720-735.