

# 高效液相色谱法同时测定抗疲劳功能食品中 4 种功效成分的研究

鄢雷娜<sup>1</sup>, 吴鑫<sup>2</sup>, 段和祥<sup>1</sup>, 储梅君<sup>1</sup>, 陈希<sup>1\*</sup>

(1. 江西省药品检验检测研究院, 江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心, 南昌 330029;

2. 江西省食品检验检测研究院, 南昌 330001)

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱法同时检测抗疲劳类功能食品中红景天苷、淫羊藿苷、人参皂苷 Rg1 和葛根素 4 种有效成分的分析方法。**方法** 样品中的待测组分经乙腈水溶液超声提取、过滤后, 采用 SHIFEIDO C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为分离柱, 以乙腈(A)-水(B)为流动相, 梯度洗脱流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 203 nm; 柱温为 40 °C, 标准曲线法定量。**结果** 4 种化合物分离度良好, 线性相关系数均大于 0.9996, 回收率为 96.4%~103.7%, 检出限为 5.2~50.0 μg/g, 定量限为 15.5~151.6 μg/g。**结论** 本方法简便、准确, 可用于抗疲劳类功能食品中功效成分的检测。

**关键词:** 抗疲劳类功能食品; 高效液相色谱法; 红景天苷; 淫羊藿苷; 人参皂苷 Rg1; 葛根素

## Determination of 4 functional compositions in antifatigue health foods by high performance liquid chromatography

YAN Lei-Na<sup>1</sup>, WU Xin<sup>2</sup>, DUAN He-Xiang<sup>1</sup>, CHU Mei-Jun<sup>1</sup>, CHEN Xi<sup>1\*</sup>

(1. Jiangxi Institute for Drug Control, Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China; 2. Jiangxi Institute for Food Inspection and Testing, Nanchang 330001, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of salidroside, icariin, ginsenoside Rg1 and puerarin in anti-fatigue functional foods by high performance liquid chromatography. **Methods** The target chemicals in samples were ultrasonically extracted with acetonitrile aqueous solution and filtered. The separation was performed on a SHIFEIDO C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and acetonitrile (A)-water (B) was used as mobile phase using gradient elution. The flow rate was 1 mL/min, and the detection wavelength was 203 nm. Column temperature was 40 °C, and samples were quantified by standard curve method. **Results** The resolution of the 4 compounds was good, the linear correlation coefficients were all greater than 0.9996, the recovery was 96.4%~103.7%, the limit of detection was 5.2~50.0 μg/g, and the limit of quantification was 15.5~151.6 μg/g. **Conclusion** This method is simple and accurate, which is suitable for the detection of functional components in anti-fatigue functional foods.

**KEY WORDS:** anti-fatigue functional food; high-performance liquid chromatography; salidroside; icariin; ginsenoside Rg1; puerarin

基金项目: 江西省科技计划项目(2014BBG70031)

Fund: Supported by Jiangxi Science and Technology Plan Project (2014BBG70031)

\*通讯作者: 陈希, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品药品检测与分析。E-mail: 89276794@qq.com

\*Corresponding author: CHEN Xi, Master, Technician, Research Associate, Jiangxi Institute for Drug Control, Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China. E-mail: 89276794@qq.com

## 1 引言

现代人们的生活节奏越来越快, 近几年来人们的疲劳度持续上升, 运动性疲劳的人群基数增大, 慢性疲劳综合征的发生率在逐渐增加, 因此, 及时缓解运动性疲劳, 注意食疗保健对预防慢性疲劳综合征具有重要意义。而中药类抗疲劳药材较多, 较常见的有西洋参、红景天、淫羊藿、银杏叶、葛根、芦荟和绞股蓝等。西洋参为五加科多年生草本植物, 具有滋阴补气、清热生津的双重功效, 研究表明其主要功能成分为人参皂苷, 可有效增强中枢神经, 保护心血管, 提高人体免疫力。人参味甘小寒, 主辅五脏, 安精神, 开心益智<sup>[1-7]</sup>。红景天亦为亚洲地区公认滋补食材, 是稀珍野生植物, 其主要功效成分为红景天苷, 具有活血益气的功效, 药理实验表明, 红景天苷具有抗氧化、降血糖、抗炎症等功用<sup>[8,9]</sup>。葛根素有扩张冠状动脉和脑血管、抗心率失常、改善微循环、抑制血小板凝集和降血糖等多方面作用<sup>[10-12]</sup>。淫羊藿苷能增加心血流量, 促进造血功能、免疫功能及骨代谢, 又有抗衰老、抗肿瘤等功效<sup>[13,14]</sup>。现这 4 种成分已广泛应用于保健食品领域。因此确立同时检测红景天苷、淫羊藿苷、人参皂苷 Rg1 和葛根素的方法就显得十分重要。封淑华等<sup>[15]</sup>比较了高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC) 和紫外法(ultraviolet, UV)测定含单味药材参类保健食品的总皂苷含量, 27 批次样品中有 17 批次 UV 法测定结果是 HPLC 法的 1.53~10.70 倍, 2 批次 UV 法检出而 HPLC 法未检出, 8 批次测定结果相同或相近。因而 UV 法测定总皂苷对于评价产品质量存在一定误判的可能。郭亚健等<sup>[16]</sup>在探讨铝盐比色法测定总黄酮的专属性的研究中表明, 经显色后黄酮类成分黄芩苷、黄芩素、山柰酚、槲皮素、橙皮苷等在 500 nm 左右无最大吸收或吸收较弱甚至无吸收, 而非黄酮类成分咖啡酸、原儿茶醛、绿原酸、原儿茶酸在 500 nm 左右有最大吸收或吸收较强, 可见铝盐比色法专属性不强, 有局限性。

本研究建立了高效液相色谱法同时检测抗疲劳类功能食品中红景天苷、淫羊藿苷、人参皂苷 Rg1 和葛根素 4 种有效成分的方法, 以期为抗疲劳功能食品的研发和监管提供技术参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

SHIMADZU-20AT 液相色谱仪(配有 SHIMADZU SPD-M20A 二极管阵列检测器); MS 205DU 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); 乙腈为色谱纯(美国 Sigma 公司); 水为超纯水; 红景天苷(批号: 110818-200404, 含量:

100.0%)、葛根素(批号: 110752-201313, 含量: 95.5%)、人参皂苷 Rg1(批号: 110703-201128, 含量: 93.4%)、淫羊藿苷(批号: 110737-200415, 含量: 100.0%)(中国食品药品检定研究院)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱: SHIFEIDO C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈(A)-水(B)(14:86, V:V), 梯度洗脱: 0~18 min, 14% A; 18~30 min, 14%~40% A; 30~32 min, 40%~14% A; 32~45 min, 14% A; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 40 °C; 检测器: 紫外检测器; 检测波长: 203 nm; 进样量: 20 μL。

#### 2.2.2 对照品溶液的制备:

精密称取红景天苷对照品 11.32 mg, 加入乙腈水溶液溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 即得浓度为 1.0 mg/mL 的红景天苷标准储备溶液; 精密称取葛根素对照品 11.00 mg, 加入乙腈水溶液溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 即得浓度为 1.0 mg/mL 的葛根素标准储备溶液; 精密称取人参皂苷 Rg1 对照品 111.4 mg, 置 100 mL 棕色容量瓶中, 加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 1.0 mg/mL 的人参皂苷 Rg1 标准储备溶液; 精密称取淫羊藿苷对照品 10.36 mg, 置 10 mL 棕色容量瓶中, 加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 1.0 mg/mL 的淫羊藿苷标准储备溶液, 并依次稀释成约为 20.0、10.0、5.0、2.0、1.0 的标准系列溶液。具体见表 1。

#### 2.2.3 供试品溶液的制备

精密称取供试品约 0.5 g 于 25 mL 具塞比色管中, 加入上述乙腈水溶液 20 mL, 涡旋 60 s, 分散均匀, 超声提取 15 min, 冷却到室温后, 用上述乙腈水溶液定容至刻度, 涡旋振荡摇匀后过 0.45 μm 有机系滤膜, 滤液作为试品溶液。

## 3 结果与分析

### 3.1 专属性试验

取上述对照品溶液和供试品溶液以及溶剂, 分别在上述色谱条件下测定, 记录色谱图(见图 1)。红景天苷、葛根素、人参皂苷 Rg1、淫羊藿苷保留时间分别约为 4.0、5.0、28.8、31.1 min; 各峰之间分离度均大于 1.5, 表明该方法的专属性良好。

### 3.2 线性关系

取标准曲线系列溶液, 按上述色谱条件分别测定, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标(Y), 以对照品浓度(X, μg/mL)为横坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 1。4 种组分的相关系数(*r*)均大于 0.9996, 表明红景天苷、葛根素、人参皂苷 Rg1、淫羊藿苷在上述浓度范围内线性关系良好。

表 1 标准系列溶液梯度稀释与浓度结果  
Table 1 Gradient dilution and concentration results of standard series solutions

名称	取样量	定容体积/mL	最终浓度/( $\mu\text{g/mL}$ )			
			红景天苷	葛根素	人参皂苷 Rg1	淫羊藿苷
标准系列溶液①	红景天苷储备液 1 mL, 葛根素储备液 1 mL, 人参皂苷 Rg1 储备液 10 mL, 淫羊藿苷储备液 1 mL	50	22.6	21.0	208.1	20.7
标准系列溶液②	标准系列溶液① 5 mL	10	11.3	10.5	104.0	10.4
标准系列溶液③	标准系列溶液② 5 mL	10	5.7	5.3	52.0	5.2
标准系列溶液④	标准系列溶液① 1 mL	10	2.3	2.1	20.8	2.7
标准系列溶液⑤	标准系列溶液② 1 mL	10	1.1	1.1	10.4	1.4

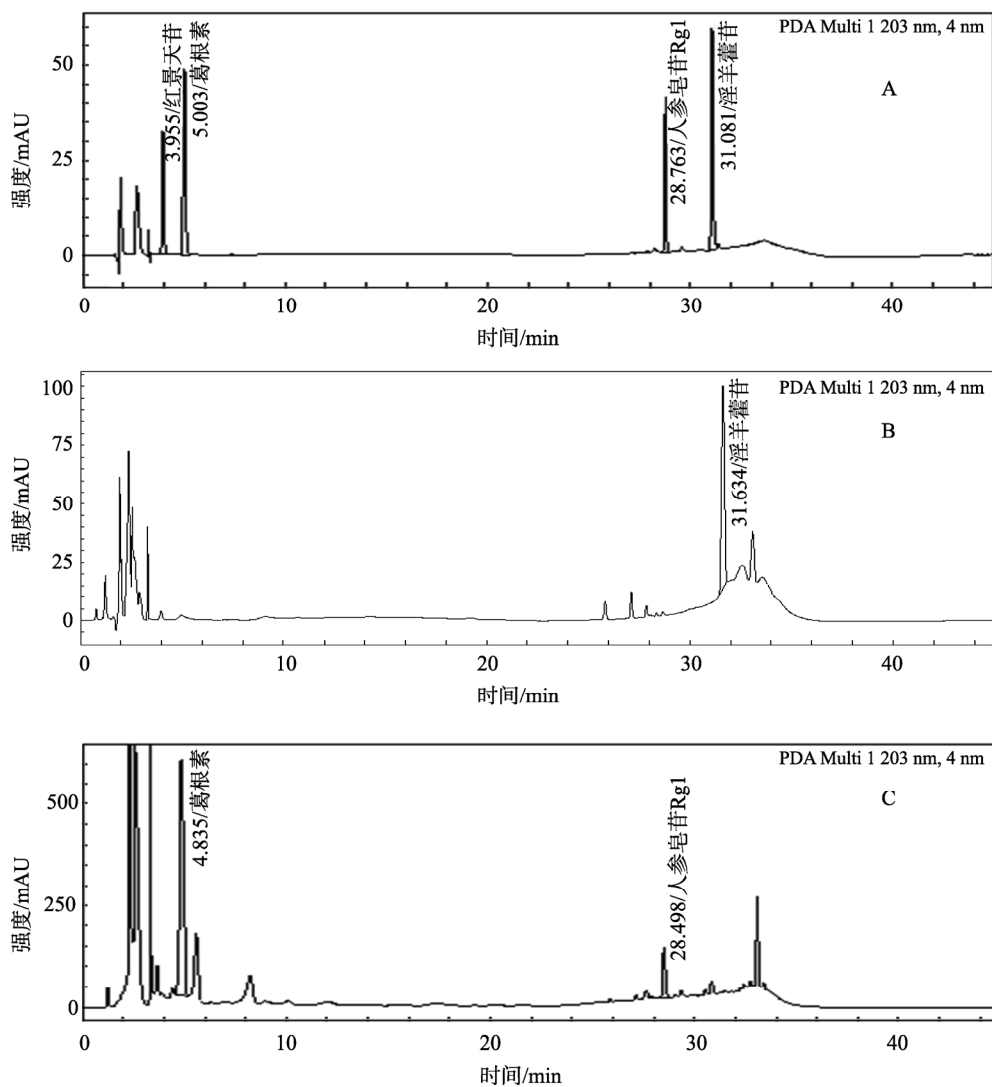


图 1 对照品(A)、阳性样品(B, C)色谱图

Fig.1 Chromatogram of reference substance (A) and positive sample (B, C)

表 2 线性、检测限和定量限结果  
Table 2 Linearity, limit of detection and limit of quantitation results

名称	线性方程	r 值	线性范围/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	检测限/( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	定量限/( $\mu\text{g}/\text{g}$ )
红景天苷	$Y=37612X-6887.8$	0.9996	1.1~22.6	5.8	17
葛根素	$Y=75645X+4163$	1	1.1~21.0	5.2	15.8
人参皂苷 Rg1	$Y=4391.8X+3535.2$	1	10.1~208.1	50	151.6
淫羊藿苷	$Y=69418X+12492$	0.9998	1.0~20.7	5.2	15.5

### 3.3 精密度

以标准系列溶液②对照品溶液连续进针 5 次, 记录色谱图, 计算各组分峰面积的相对标准偏差(RSD), 红景天苷、葛根素、人参皂苷 Rg1、淫羊藿苷的 RSD 分别为 0.1%、0.2%、0.4%、0.8%, 表明仪器精密度良好。

### 3.4 检测限与定量限

精密吸取标准系列溶液⑤加乙腈水溶液逐步稀释后进样, 以信噪比为 3:1 和 10:1 计算各组分的检测限和定量限, 结果见表 2。

### 3.5 重复性

精密称取供试品 5 份约 0.5 g 于 25 mL 具塞比色管中, 按“2.2.3”项下的方法制备精密吸取 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果样品均未检出。表明该方法的重复性良好。

### 3.6 回收率试验

精密称取阴性样品 2 份各 0.5 g, 置于 25 mL 具塞比色管中, 加入对照品储备液适量, 配制 3 个浓度的加样回收

样品, 每个浓度 2 份, 按“2.2.3”项下的方法制备回收溶液, 分别测定, 计算回收率。结果表明, 该方法的回收率良好。结果见表 3。

表 3 回收率试验结果  
Table 3 Results of recovery test

名称	平均回收率/%	RSD/( $n=6$ )
红景天苷	98.6	1.9
葛根素	96.4	1.5
人参皂苷 Rg1	103.7	0.9
淫羊藿苷	102.8	1.2

### 3.7 样品测定

精密称取不同厂家的 14 个供试品约 0.5 g 于 25 mL 具塞比色管中, 按“2.2.3”项下的方法制备精密吸取 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以保留时间和紫外吸收光谱图定性, 峰面积定量。结果(表 4)发现 14 批样品中 10 批样品检出功效成分。

表 4 14 个厂家的样品结果  
Table 4 Sample results of 14 manufacturers

	名称	厂家	红景天苷/( $\text{mg}/\text{g}$ )	葛根素/( $\text{mg}/\text{g}$ )	人参皂苷 Rg1/( $\text{mg}/\text{g}$ )	淫羊藿苷/( $\text{mg}/\text{g}$ )
1	幸福来牌阿胶黄芪口服液	A	未检出	未检出	未检出	未检出
2	中梅牌天麻蜂王浆口服液	B	0.21	未检出	未检出	未检出
3	珍迪牌黄芪白术西洋参口服液	C	未检出	未检出	未检出	未检出
4	康裕牌西洋参口服液	D	未检出	未检出	未检出	未检出
5	力菲牌西洋参多维饮料	E	未检出	未检出	未检出	未检出
6	鼎中牌西洋参蜂王浆口服液	F	0.28	未检出	未检出	未检出
7	金水宝金胶囊	G	未检出	未检出	2.8	未检出
8	百合康苦瓜洋参软胶囊	H	2.3	未检出	10.9	未检出
9	汤臣倍健雄赳赳益康胶囊	I	未检出	未检出	2.6	未检出
10	全金牌西洋参含片	J	5.1	未检出	13.6	未检出
11	威莱斯洋参苦葛胶囊	K	未检出	未检出	5.0	未检出
12	康富来牌洋参含片	L	未检出	未检出	5.9	未检出
13	龙力康牌西洋参胶囊	M	未检出	未检出	13.7	未检出
14	添富园元草胶囊	N	未检出	未检出	未检出	0.62

## 4 结 论

本研究采用高效液相色谱法同时检测抗疲劳类保健食品中红景天苷、葛根素、人参皂苷 Rg1、淫羊藿苷 4 种功效成分。通过对前处理条件和高效液相色谱条件的优化,建立合理、可靠且能同时检测抗疲劳类保健食品中 4 种功效成分的液相色谱测定方法。结果表明,4 种化合物分离度良好,线性相关系数均大于 0.9996,回收率为 96.4%~103.7%,检出限为 5.2~50  $\mu\text{g/g}$ ,定量限为 15.5~151.6  $\mu\text{g/g}$ 。该方法对 4 种功效成分分离效果好,方法操作简便,结果准确可靠,能满足对保健食品中红景天苷、葛根素、人参皂苷 Rg1、淫羊藿苷 4 种功效成分同时检测的监控需求。

## 参考文献

- [1] 黄爽. 神农本草经[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982.  
Huang S. Shennong materia medica [M]. Beijing: Chinese Ancient Books Press, 1982.
- [2] 姚梦杰, 吕金朋, 张乔, 等. 人参化学成分及药理作用研究[J]. 吉林中医药, 2017, 37(12): 1261-1263.  
Yao MJ, LV JiP, Zhang Q, et al. Study on chemical constituents and pharmacological effects of ginseng [J]. Jilin Trad Chin Med, 2017, 37(12): 1261-1263.
- [3] 夏鹏国, 张顺仓, 梁宗锁, 等. 三七化学成分的研究历程和概况[J]. 中草药, 2014, 45(17): 63-65.  
Xia PG, Zhang SC, Liang ZS, et al. Research history and overview of chemical constituents of *Panax notoginseng* [J]. Chin Herb Med, 2014, 45(17): 63-65.
- [4] 尚金燕, 李桂荣, 邵明辉, 等. 西洋参的药理作用研究进展[J]. 人参研究, 2016, (6): 49-51.  
Shang JY, Li GR, Shao MH, et al. Research progress on pharmacological action of American ginseng [J]. Ginseng Res, 2016, (6): 49-51.
- [5] 姚梦杰, 吕金朋, 张乔, 等. 人参化学成分及药理作用研究[J]. 吉林中医药, 2017, 37(12): 1261-1263.  
Yao MJ, LV JiP, Zhang Q, et al. Study on chemical constituents and pharmacological effects of ginseng [J]. Jilin Trad Chin Med, 2017, 37(12): 1261-1263.
- [6] 夏鹏国, 张顺仓, 梁宗锁, 等. 三七化学成分的研究历程和概况[J]. 中草药, 2014, 45(17): 63-65.  
Xia PG, Zhang SC, Liang ZS, et al. Research history and overview of chemical constituents of *Panax notoginseng* [J]. Chin Herb Med, 2014, 45(17): 63-65.
- [7] 尚金燕, 李桂荣, 邵明辉, 等. 西洋参的药理作用研究进展[J]. 人参研究, 2016, (6): 49-51.  
Shang JY, Li GR, Shao MH, et al. Research progress on pharmacological action of American ginseng [J]. Ginseng Res, 2016, (6): 49-51.
- [8] 袁瑜, 张良, 李玉峰. 红景天活性成分及药理作用[J]. 陕西中医学院学报, 2012, 35(5): 129-131.  
Yuan Y, Zhang L, Li YF. Active ingredients and pharmacology of *Rhodiola* [J]. J Shaanxi Univ Trad Chin Med, 2012, 35(5): 129-131.
- [9] 关满滢, 王铁杰, 李军, 等. HPLC 同时测定大株红景天中红景天苷、酪醇和没食子酸的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 15(7): 51-54.  
Guan XY, Wang TJ, Li J, et al. Simultaneous determination of salidroside, tyrosol and gallic acid in *Rhodiola* by HPLC [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2018, 15(7): 51-54.
- [10] 吕丽华, 荣晓慧. 葛根活性成分的药理作用及其现代临床应用[J]. 社区医学杂志, 2014, 12(19): 35-36.  
Lu LiH, Rong XH. Pharmacological action and modern clinical application of active components of *Pueraria* [J]. J Comm Med, 2014, 12(19): 35-36.
- [11] 木盼盼, 安琪, 张彦昭, 等. 一测多评法测定葛根药材中 9 个异黄酮成分的含量[J/OL]. 中国中药杂志, 2019: 1-9. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20190812.202>.  
Mu PP, An Q, Zhang YZ, et al. Determination of nine isoflavones in *Pueraria* by one test and multiple evaluation method [J/OL]. Chin J Trad Chin Med, 2019: 1-9. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20190812.202>.
- [12] Shuai H, Zhang CP, Wang K, et al. Recent advance in the chemical composition of propolis [J]. Molecules, 2014, 19(12): 19610-19632.
- [13] 王焕珍, 蔡艺汇, 陈云志, 等. 淫羊藿化学成分与药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(7): 63-65.  
Wang HZ, Cai YiH, Chen YZ, et al. Research progress of chemical constituents and pharmacological action of *Epimedium* [J]. Trad Med Asia Pacif, 2016, 12(7): 63-65.
- [14] 马越, 李德坤, 叶正良, 等. 基于一测多评法测定淫羊藿中 6 种黄酮类化合物的含量[J/OL]. 中药材, 2019, (5): 1071-1076.  
Ma Y, Li DK, Ye ZL, et al. Determination of six flavonoids in *Epimedium* based on one test and multiple evaluation method [J/OL]. Chin Herb Med, 2019, (5): 1071-1076.
- [15] 封淑华, 胡伟杰, 赵志军, 等. 含单味药材参类保健食品功效成分测定的专属性研究[J]. 中国药业, 2012, 21(16): 39-41.  
Feng SH, Hu WJ, Zhao ZJ, et al. Study on the specificity of the determination of functional components of health food containing single medicinal materials and ginseng [J]. China Pharm, 2012, 21(16): 39-41.
- [16] 郭亚健, 范莉, 王晓强, 等. 关于  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_4\text{-NaOH}$  比色法测定总黄酮方法的探讨[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(2): 97-99.  
Guo YJ, Fan L, Wang XQ, et al. Discussion on the method for the determination of total flavonoids by  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_4\text{-NaOH}$  colorimetry [J]. J Pharm Anal, 2002, 22(2): 97-99.

(责任编辑: 陈雨薇)

## 作者简介



鄢雷娜, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为食品药品检测与分析。  
E-mail: ylnrains@126.com



陈 希, 硕士, 主管理化检验师, 主要研究方向为食品药品检测与分析。  
E-mail: 89276794@qq.com