

LC-MS/MS 法测定食品中的淫羊藿苷、 金丝桃苷和补骨脂素

LCMSMS-964

摘要：本文参考《BJS202303 食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的测定》标准，使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素含量的方法。3 种化合物的校准曲线的相关系数 r 均大于 0.999，在相应标曲范围内线性相关性良好，各浓度点的准确度在 91.3%~109.3% 之间。稳定性考察中，3 种化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099% 之间和 0.24%~1.21% 之间，仪器精密度高。样品加标回收率在 102.0%~117.5% 之间，仪器检出限在 0.02~0.20ng/mL 之间。

关键词：三重四极杆液质联用仪 淫羊藿苷 金丝桃苷 补骨脂素

技术特点：

- ❖ 淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素具有更宽线性范围，且仪器检出限分别为 0.12、0.20、0.02 ng/mL，优于标准要求检出限。
- ❖ Peak intelligence 智能积分功能，提高实际样品分析效率。

淫羊藿、菟丝子、补骨脂作为可用于保健食品的中药，其主要功能成分为淫羊藿苷、金丝桃苷、补骨脂素，在增强免疫类保健食品中广泛应用。淫羊藿苷属于黄酮类，具有增加心脑血管血流量、促进造血功能、免疫功能及骨代谢等功效。金丝桃苷是一种常见的黄酮醇苷类化合物，具有护肝、心血管保护、神经系统保护、抗炎等多种药理活性。补骨脂素是补骨脂中的呋喃香豆素类化合物，具有补肾助阳、抗肿瘤、抗炎、抗氧化等药理活性。由于这些化合物明确的功效，一些不法商家以“食疗”为噱头，在其

生产的产品中宣称添加了该类中药材而实际未添加，同时还存在为了功效在食品中违法添加中药材的情况，这些不仅损害消费者的权利，还可能威胁食用者的身体健康。

本文参考国家市场监督管理总局发布的食品补充检验规定《BJS202303 食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的测定》，采用岛津三重四极杆液质联用仪建立测定食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定量分析方法，为相关监管部门参考使用。

实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱 LC-30 AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

自动进样器：SIL-30AC

输液泵：LC-30AD

质谱仪：LCMS-8050

柱温箱：CTO-30AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIS C18 (2.1×150 mm, 2 μm, P/N: 227-30093-04, 岛津(上海)实验器材有限公司)

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液, B- 乙腈

流速：0.25 mL/min

柱温：35℃

进样体积：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱, B 初始 20%, 见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
0.00	Pumps	Pump B Conc.	20
1.00	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.01	Pumps	Pump B Conc.	20
10.00	Pumps	Pump B Conc.	20

质谱条件

离子源：电喷雾离子源 (ESI 源) D L 温度：250°C
 雾化气流速：3.0 L/min 加热模块温度：400°C
 加热气流速：10.0 L/min 接口温度：300°C
 干燥气流速：10.0 L/min 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 接口电压：4 kV

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	淫羊藿苷	489-32-7	721.15	513.20*	20	18.0	26.0
				367.30	20	39.0	18.0
2	金丝桃苷	482-36-0	463.00	300.10*	13.0	26.0	22.0
				271.00	13.0	42.0	29.0
3	补骨脂素	66-97-7	187.10	131.10*	-28.0	-23.0	-30.0
				77.00	-13.0	-42.0	-12.0

* 表示定量离子

1.3 混合标准溶液配置

混合标准工作溶液：取浓度为 1.0 g/L 的各标准储备溶液适量于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释，配制成浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、4、10、20、40、100、200、400 ng/mL 的混合标准工作溶液。

1.4 样品前处理方法

移取 1.0 mL 液体试样于 25 mL 容量瓶中，加 70% 甲醇溶液定容至刻度，摇匀。取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，续滤液作为待测溶液，并于 4 °C 条件下 24 小时内完成检测。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液 4 ng/mL 的色谱图如图 1 所示。

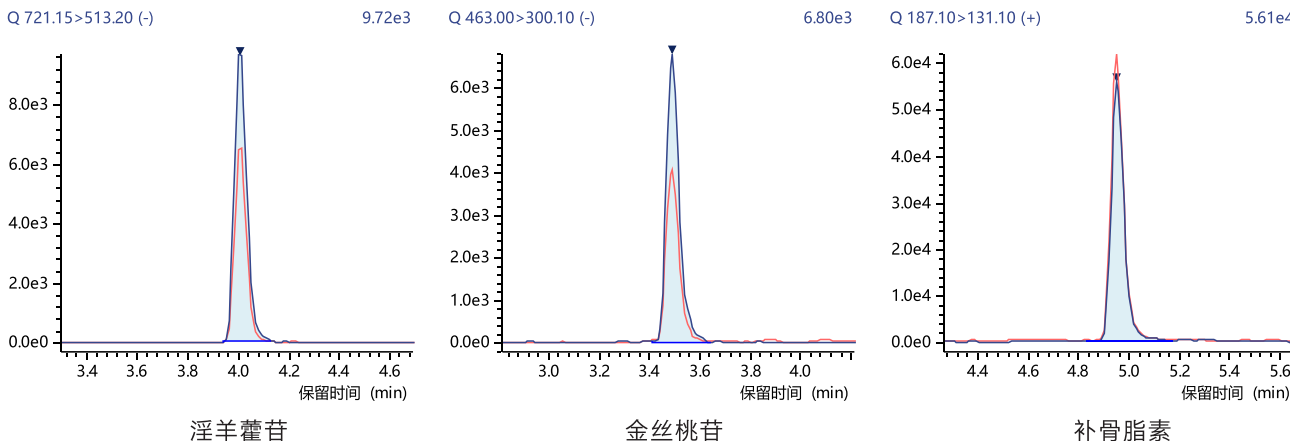


图 1 3 种化合物 MRM 色谱图 (4 ng/mL)

2.2 线性范围

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.2 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，3 种化合物校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数 r 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法， $S/N=3$ ）见表 3。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数 r 都大于 0.999，准确度在 91.3%~109.3% 之间，仪器检出限在 0.02~0.20 ng/mL 之间，满足相关测试要求。

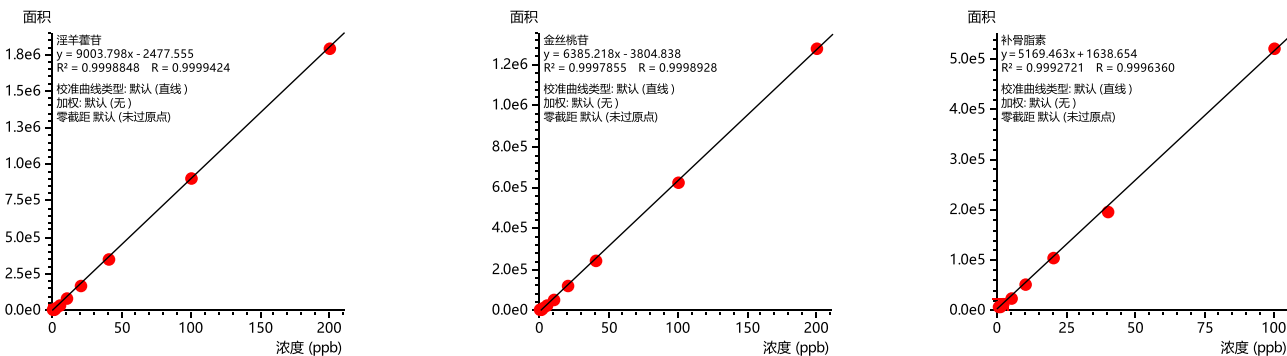


图 2 化合物校准曲线

表 3 校准曲线参数

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)	仪器检出限 (ng/mL)
1	淫羊藿苷	0.5-200	0.9999	91.3~109.3	0.12
2	金丝桃苷	0.5-200	0.9998	98.8~102.6	0.20
3	补骨脂素	0.05-100	0.9996	96.9~102.0	0.02

2.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099% 之间和 0.24%~1.21% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性测试结果

No.	化合物名称	RSD% (5 ng/mL)		RSD% (20 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	淫羊藿苷	0.079	0.70	0.076	0.84	0.073	1.21
2	金丝桃苷	0.085	0.51	0.099	0.72	0.088	0.95
3	补骨脂素	0.058	0.24	0.060	0.36	0.062	0.90

2.4 加标回收率测试

取液体饮料样品（本底样品经测试未检出淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素）加入一定浓度的混合标准工作溶液（加标浓度如表 4 所示），按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品，加标样的色谱图分别见图 3。加标回收率测试结果显示：3 种化合物的样品加标回收率在 102.0%~117.5% 之间，满足标准测试要求，结果如表 4。

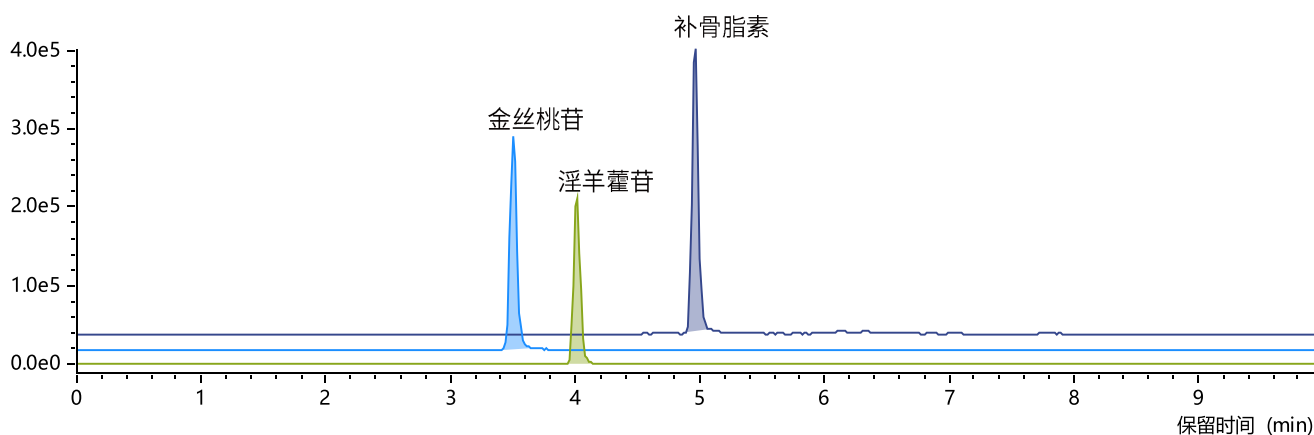


图 3 加标回收测试色谱图 (40 ng/mL)

表 5 回收率测试结果

No.	化合物名称	加标浓度 (40 ng/mL)		加标浓度 (100 ng/mL)		加标浓度 (200 ng/mL)	
		检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)
1	淫羊藿苷	47.1	116.6	111.2	110.7	222.4	111.0
2	金丝桃苷	49.6	117.5	112.9	110.4	224.3	110.9
3	补骨脂素	44.9	105.7	113.9	111.3	206.5	102.0

2.5 智能积分软件的使用

本次实验过程使用了岛津 Peakintelligence 智能积分功能。如图 4.1 和 4.2 所示，对于未检出的化合物，传统的积分方式仍会对噪音进行积分，需要实验人员手动取消该样品积分；而智能积分方式判断正确不进行积分。智能积分无需设置任何参数，较传统积分方式更加正确的对样品进行积分，减少实验人员重复校正积分的次数，提高工作效率。

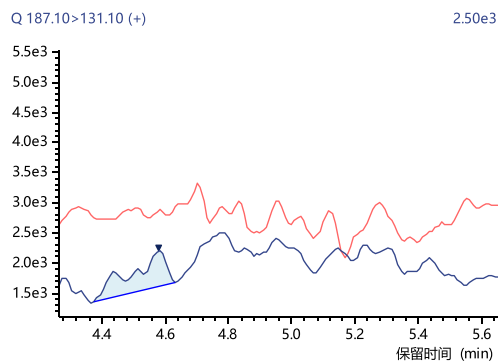
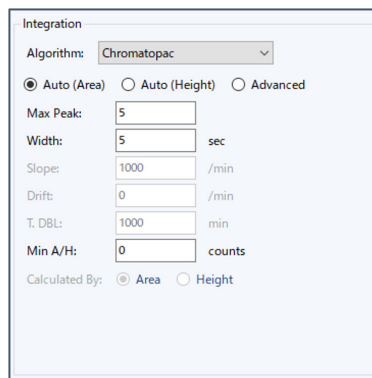


图 4.1 传统积分方式

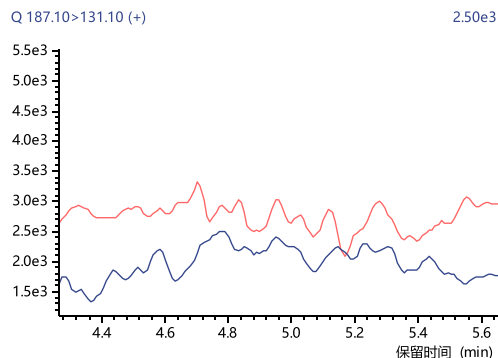
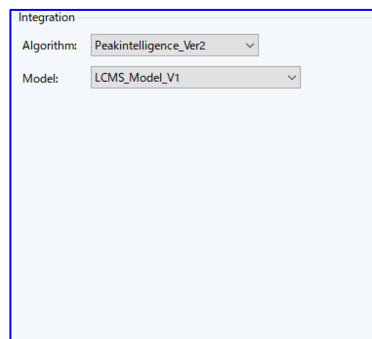


图 4.2 智能积分方式

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定量测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.999 以上。在分析精密性上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099% 之间和 0.24%~1.21% 之间；加标回收率在 102.0%~117.5% 之间，仪器检出限在 0.02~0.20ng/mL 之间，满足方法检测限要求，可用于食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定性定量检测。

岛津应用云

