

- analysis of perchlorate in biological samples[J]. Electrophoresis, 2012,33(17):2695-2702.
- [8] 黄晓兰,罗辉泰,吴惠勤,等. 奶粉中高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定[J]. 分析测试学报,2009,28(8):896-899.
- [9] 刘艳英,吴敏,林立毅,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中的高氯酸盐[J]. 分析测试学报,2011,30(7):821-824.
- [10] 史亚利. 离子色谱与 API 2000(IC/MS/MS)联用分析食品和饮料中的高氯酸盐[J]. 环境化学,2006,25(1):117-120.
- [11] SUNGUR S, ATAN M M. Determination of nitrate, nitrite and perchlorate anions in meat, milk and their products consumed in Hatay region in Turkey[J]. Food Addit Contam Part B Surveill, 2013,6(1):6-10.
- [12] GU B H, RUAN C M, WANG W. Perchlorate detection at nanomolar concentrations by surface-enhanced Raman scattering [J]. Applied Spectroscopy, 2009,63(1):98-102.
- [13] FURDUI V I, TOMASSINI F. Trends and sources of perchlorate in Arctic snow[J]. Environmental Science and Technology, 2009,44(2):588-592.
- [14] KANG N, JACKSON W A, DASGUPTA P K, et al. Perchlorate production by ozone oxidation of chloride in aqueous and dry systems[J]. Science of the Total Environment, 2008,405(1/3):301-309.
- [15] 齐美玲. 液相色谱-质谱法在生物样品药物定量分析中的基质效应[J]. 药物分析杂志, 2005,25(4):476-479.
- [16] Commission decision 2002/657/EC Implementing council directive 96/23/EC Concerning the performance of analytical methods and interpretation of results[Z]. Official Journal of the European Communities, 2002.

实验技术与方法

高效液相色谱法测定保健食品中红景天苷

谭莹,倪竹南,胡争艳,张晶,王志园,汤鋈

(浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310051)

摘要:目的 改进保健食品中红景天苷的高效液相色谱(HPLC)测定方法。方法 用不同溶剂稀释对照品及提取样品,以 HPLC 法测定红景天苷含量,选择最佳溶剂,优化色谱条件,并作方法学论证。结果 以 50% 甲醇作为对照品的稀释溶液和样品的提取溶剂,红景天苷在 1.305 ~ 130.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的线性范围内线性良好,回归方程 $y = 7.377395 \times 10^{-5}x + 0.1873961$ ($r = 0.9999$),最低检出浓度为 0.015 mg/g ;平均回收率为 92.1% ~ 98.4%,RSD 为 1.98% ~ 3.26%。结论 本方法操作简便、定量准确可靠。

关键词:红景天苷;保健食品;高效液相色谱;功效成分;测定;方法

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)02-0164-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.02.010

Determination of salidroside in health food by high performance liquid chromatography

TAN Ying, NI Zhu-nan, HU Zheng-yan, ZHANG Jing, WANG Zhi-yuan, TANG Jun

(Zhejiang Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Hangzhou 310051, China)

Abstract: Objective To improve the high performance liquid chromatography method for quantitation of salidroside in health food. **Methods** The solvent and chromatography condition were optimized according to the determination of standard and extracted samples. **Results** Salidroside content exhibited a linear relation within 1.305-130.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ using 50% methanol as solvent. The regression equation was $y = 7.377395 \times 10^{-5}x + 0.1873961$ ($r = 0.9999$) and the detection limit was 0.015 mg/g . Furthermore, the average recoveries were 92.1%-98.4%, and the RSD was 1.98% - 3.26%. **Conclusion** This method was simple, accurate and reliable for determination of salidroside in health food.

Key words: Salidroside; health food; high performance liquid chromatography; efficacy components; detection; method

红景天为景天科植物,是被康熙帝御封为“仙

赐草”的“高原人参”,其主要功效成分为红景天苷(salidroside)。红景天苷能保护心脑血管,调节神经、内分泌系统、免疫系统,具有抗疲劳、抗衰老、抗肿瘤、抗辐射等功效^[1-7]。

市场上以红景天作为主要原料的保健食品琳琅满目,测定红景天苷含量是对这些保健食品质量控制

的主要方法。测定保健食品中红景天苷的方法有气相色谱法和薄层色谱法等,其中最常用的方法是高效液相色谱法(HPLC)^[8-12]。本试验参考中华人民共和国卫生部2003年版《保健食品检验与评价技术规范》^[12],采用高效液相色谱法测定保健食品中红景天苷的含量,结果显示峰形欠佳,从而影响红景天苷含量的测定。本课题组对此方法进行改进,优化提取溶剂及色谱条件,取得了理想的效果。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪(配二极管阵列检测器及数据处理器,日本岛津)、数控超声波清洗器、离心机、Milli-Q 超纯水制备系统。红景天苷对照品(110818-201206,纯度≥99%,中国药品生物制品检定所)、甲醇(色谱纯),含红景天苷的保健食品由市场购买。

1.2 方 法

1.2.1 样品处理

取混合均匀的样品适量,称取 0.4 g(精确至 0.000 1 g)于 50 ml 离心管中,加入约 30 ml 50% 甲醇,超声提取 30 min;8 000 r/min 离心 5 min,将上清液转移至 50 ml 容量瓶中,向残渣中加入 10 ml 50% 甲醇,重复提取 1 次,合并 2 次提取液;用 50% 甲醇准确定容。摇匀后经 0.22 μm 滤膜过滤,HPLC 待测。

1.2.2 标准工作溶液的配制

精密称取红景天苷对照品 13.05 mg 于 10 ml 容量瓶中,加甲醇溶解,准确定容,制得 1.305 mg/ml 的标准储备液。准确吸取储备液 2.50 ml 于 25 ml 容量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,制得中间液。分别准确吸取中间液 0.10、0.50、1.00、2.50、5.00、10.00 ml

于 10 ml 容量瓶中,制成标准工作溶液。

1.2.3 仪器条件

色谱柱为 Phenomenex-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm);流动相 A 为水,流动相 B 为甲醇,流速 1.0 ml/min,梯度洗脱,具体梯度洗脱程序见表 1。柱温 35 ℃;二极管阵列检测器检测,检测波长 222 nm;进样量 10 μl;比较样品与标准组分的保留时间及吸收光谱特性进行定性,外标法定量。

表 1 梯度洗脱程序

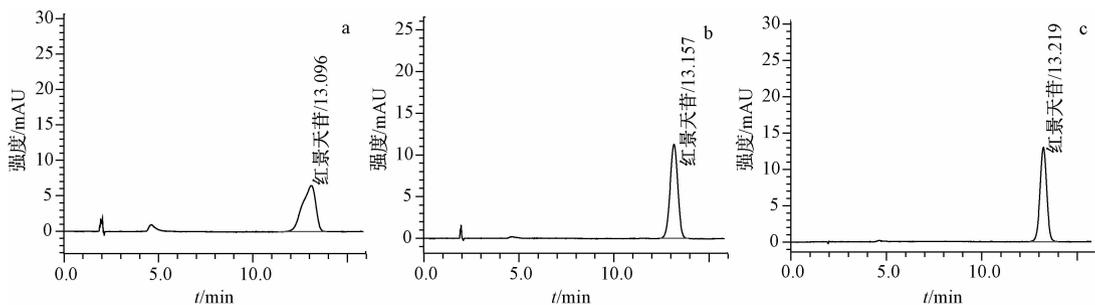
Table 1 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
5	95	5
15	90	10
23	90	10
25	20	80
33	20	80
35	95	5
42	95	5

2 结果与分析

2.1 对照品储备液的稀释溶液和提取溶剂的优化

采用《保健食品检验与评价技术规范》的方法,用甲醇配制红景天苷对照品制成储备溶液,并用甲醇稀释配制成工作溶液,使用该方法中的流动相:甲醇-0.02 mol/L 乙酸钠溶液(9:91,V/V),经 HPLC 检测,其色谱峰变形;本试验分别用 50% 甲醇和 9% 甲醇稀释其储备液,得到的色谱峰峰形对称尖锐,见图 1。可能是因为流动相中的甲醇比例只有 9%,而进样溶液是甲醇,进样的样品溶剂与流动相的极性相差大,流动相还来不及将其稀释达到平衡造成的,因此,可以选择 50% 甲醇和 9% 甲醇作为对照品储备液的稀释溶液,减少两者之间的极性差异,以解决峰形变异的问题。



注:a 为甲醇稀释;b 为 50% 甲醇稀释;c 为 9% 甲醇稀释。

图 1 红景天苷对照品的液相色谱图

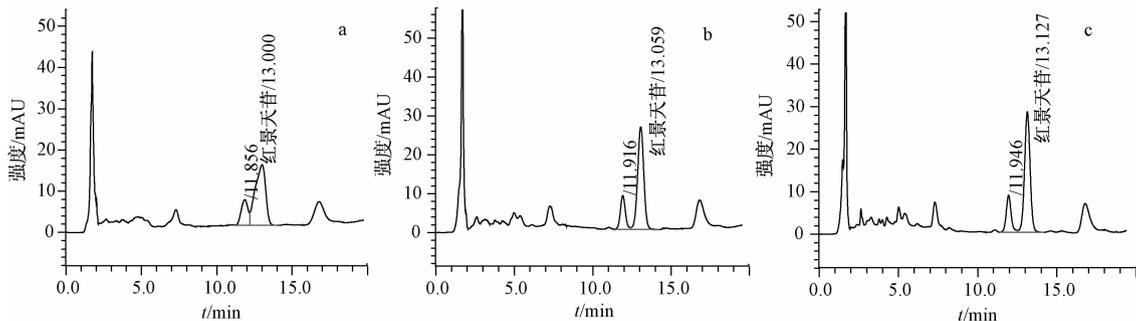
Figure 1 Chromatograms of salidroside standards

分别以甲醇、50% 甲醇和 9% 甲醇 3 种提取溶剂按 1.2.1 处理同一批号且充分混匀的样品,使用该方法中的流动相即甲醇-0.02 mol/L 乙酸钠溶液

(9:91,V/V)^[12],HPLC 进样检测,得到的结果见图 2。其中,甲醇作为提取液测定红景天苷,其峰形变形,给定量带来不便;以 50% 甲醇和 9% 甲醇作为提

取液,则不会出现上述问题。另外,本试验比较了3种溶剂在超声提取15、30 min后的提取效率,结果如表2所示;用50%甲醇提取30 min后,提取效率

为100%;因此,兼顾提取效率和峰形选择50%甲醇作为对照品储备液的稀释溶液和样品的提取溶剂,并确定超声提取时间为30 min。



注:a为甲醇;b为50%甲醇;c为9%甲醇。

图2 不同溶剂提取同一保健食品的色谱图

Figure 2 Chromatograms of the same sample with the different extract solvent

表2 3种溶剂的提取效率比较(%)

Table 2 Comparison of extraction efficiency of three

kinds of solvents

提取溶剂	提取效率	
	15 min	30 min
甲醇	100	100
50% 甲醇	98	100
9% 甲醇	96	98

2.2 检测波长的选择

用二极管阵列检测器,对红景天苷在190~400 nm范围内进行扫描(图3),在222 nm处得到最大吸收,因此设定222 nm作为检测波长。

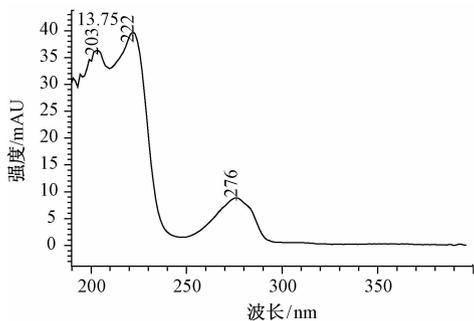


图3 红景天苷对照品的扫描光谱图(扫描范围190~400 nm)

Figure 3 Spectral scanning of salidroside standards

2.3 流动相的选择

考察了甲醇-0.02 mol/L 乙酸钠溶液(9:91, V/V)^[12]和甲醇-水(9:91, V/V)两个流动相系统,结果在流动相为甲醇-水(9:91, V/V)时,红景天苷与其他组分均能达到基线分离。考虑盐溶液作为流动相,在平衡色谱柱和冲洗色谱柱上比较费时,且容易堵塞,因此采用甲醇-水(9:91, V/V)作为流动相。在此基础上,采用1.2.3梯度洗脱方法优化甲醇和水的配比,以便应用于更复杂的样品基质,优

化后的样品谱图见图4。

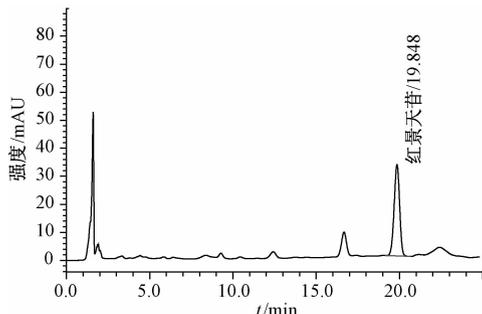


图4 优化试验条件后的样品谱图

Figure 4 Chromatograms of the sample under optimum conditions

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系及检测限

以红景天苷浓度 x 为横坐标,峰面积 y 为纵坐标,按1.2.2绘制的标准曲线,其线性回归方程为: $y = 7.377395 \times 10^{-5} + 0.1873961 (r = 0.9999)$ 。结果表明:红景天苷在1.305~130.5 $\mu\text{g/ml}$ 范围内浓度与峰面积具有良好的线性关系。根据色谱响应值 $S/N \geq 3$ 标准计算,红景天苷最低检出浓度为0.015 mg/g。

2.4.2 准确度和精密度

根据建立的方法,分别取6份0.4 g(精确至0.0001 g)该样品,进行三个水平的加标回收率试验,结果见表3。由其可知,红景天苷添加水平为0.326、3.26、6.53 mg/g时,平均回收率为92.1%~98.4%,RSD为1.98%~3.26%;均符合保健食品检测需求。

3 小结

根据卫生部2003年版《保健食品检验与评价

表3 方法的回收率试验($n=6$)

Table 3 Recoveries of salidorside

红景天苷本底值 /(mg/g)	红景天苷加标量 /(mg/g)	平均回收 率/%	RSD /%
	0.326	92.1	2.63
5.17	3.26	96.2	1.98
	6.53	98.4	3.26

技术规范》的方法,采用甲醇作为对照品的稀释液以及样品提取液,会使其色谱峰变形,影响定量。经改进后,采用50%甲醇作为对照品的稀释液及样品提取液,峰形对称尖锐;优化流动相条件及检测波长后,经方法学论证,该方法简便可行,定量准确。

参考文献

- [1] 刘志会. 红景天苷药理作用及机制[J]. 天津药学, 2016, 28(2): 67-69.
- [2] 张雪松, 李英. 红景天苷现代药理作用概述[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(3): 262-264.

- [3] 徐峰, 陈星, 韩璐璐, 等. 对红景天抗疲劳作用机理的探讨[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 366-370.
- [4] 曹晓钢, 于刚, 王立军. 红景天苷研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 9(7): 48-51.
- [5] 郑钧丰, 陈洁, 顾艳艳, 等. 红景天苷的研究进展[J]. 西南国防医药, 2013, 23(12): 1386-1388.
- [6] 戚玮琳, 李勇, 陆洪芬. 红景天对裸鼠乳腺癌移植瘤的影响[J]. 中国癌症杂志, 2006, 16(9): 710-713.
- [7] 袁瑜, 张良, 李玉峰. 红景天活性成分及药理作用[J]. 食品与药品, 2007, 9(5): 54-57.
- [8] 王苏会, 闫荟, 王瑞, 等. HPLC测定四珍力维胶囊中红景天苷含量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(5): 87.
- [9] 蔡伟江, 陈彩云. 高效液相色谱法测定益康胶囊中的红景天苷[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(8): 3055-3059.
- [10] 苏小军, 杨怀镜. 高效液相色谱法测定红景天胶囊中红景天苷含量[J]. 中国药业, 2016, 25(2): 66-67.
- [11] 王伟, 高倩倩. 高效液相色谱法测定红景天软胶囊中的红景天苷[J]. 长春师范大学学报, 2016, 35(4): 60-63.
- [12] 保健食品检验与评价技术规范[S]. 中华人民共和国卫生部, 2003: 246-247.

实验技术与方法

固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定食品中 β -受体激动剂

张瑞雨, 梁孟军, 赵丽, 梁志坚, 马晓年, 荣国琼
(昆明市疾病预防控制中心, 云南昆明 650228)

摘要:目的 建立可靠的预处理方法,应用于高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法检测猪肉、猪肝中 β -受体激动剂。方法 动物组织经过 β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶酶解,酶解液用固相萃取柱净化,采用Waters BEH C₁₈柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m),梯度洗脱进行HPLC-MS/MS检测,试验中对固相萃取条件进行优化。结果 两种 β -受体激动剂在0.5~10.0 μ g/L范围内响应值与浓度呈良好线性关系,相关系数均大于0.999,采用MCX和SCX两种固相萃取柱净化样品,加标回收率分别为81.4%~121.0%和97.0%~113.4%。沙丁胺醇和莱克多巴胺的检出限分别为0.13、0.14 μ g/kg,在不同基质浓度下的相对标准偏差(RSD)分别为5.9%~16.2%和6.4%~20.2%。结论 采用优化后的固相萃取方法通过HPLC-MS/MS检测,精密度和回收率较为理想,可用于动物源性食品中 β -受体激动剂残留的检测。

关键词: β -受体激动剂; 高效液相色谱-串联质谱; 预处理; 兽药残留; 食品污染物; 猪肉; 猪肝

中图分类号: R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2017)02-0167-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.02.011

Determination of β -agonists in food by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Rui-yu, LIANG Meng-jun, ZHAO Li, LIANG Zhi-jian, MA Xiao-nian, RONG Guo-qiong
(Kunming Center for Disease Control and Prevention, Yunnan Kunming 650228, China)

收稿日期: 2017-01-10

基金项目: 昆明市卫生科技人才培养项目[sw(后备)-95]

作者简介: 张瑞雨 男 初级理化检验技师 研究方向为理化检验 E-mail: tuturandy@foxmail.com

通信作者: 梁志坚 男 主任技师 研究方向为理化检验 E-mail: 87150479@qq.com