

人参美白霜中人参皂苷的 SPE-ESI-MS/MS 分析*

□金贵歆 孙佳明 张 辉**

(长春中医药大学中医药与生物工程研发中心 长春 130117)

摘 要:目的:应用固相萃取-电喷雾串联质谱(SPE-ESI-MS/MS)法对人参美白霜中人参皂苷进行定性鉴别。方法:通过 SPE-ESI-MS/MS 联用技术鉴定了人参美白霜中存在人参皂苷。结果:鉴定了人参美白霜中存在 8 种人参皂苷分别为人参皂苷 Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁, Rg₂, Rh₁ 和三七皂苷 R₂。结论:本方法简便、可靠,为添加人参皂苷成分的化妆品的质量控制提供了有效的方法。

关键词:人参美白霜 人参皂苷 SPE-ESI-MS/MS

化妆品与人们的生活密切相关,现已成为必不可少的消费品之一。而利用中草药护肤美容热也是在近些年悄然兴起,仅我国目前研制的化妆品中使用中草药就达到 500 余种以上。人参具有美容、美发的作用,在化妆品中被广泛应用。人体皮肤衰老的主要原因是血液循环不良,新陈代谢降低,皮肤弹性减弱。由于人参中含有多种人参皂苷、氨基酸、维生素及矿物质,加在护肤品中具有促进皮下毛细血管的血液循环,增加皮肤的营养供应,防止动脉硬化,调节皮肤水分平衡等作用。所以它能延缓皮肤衰老,防止皮肤干燥脱水,增加皮肤的弹性,从而起到保护皮肤光泽柔嫩,防止和减少皮肤皱纹的作用,人参活性物质还具有抑制黑色素的还原性能,使皮肤洁白光滑^[1]。

化妆品的检测主要集中在防腐剂和激素添加方

面^[2-3],添加人参活性成分的化妆品中人参总皂苷含量检测方法有紫外分光光度法^[4],而单独对中药化妆品中的人参皂苷单体进行检测的方法尚未见报道。本研究建立了测定人参美白霜中人参皂苷的固相萃取-电喷雾串联质谱分析方法,实现了对多组分人参皂苷单体的同时快速检测。方法简便、快速,能够为添加人参活性成分的化妆品的检验工作和产品质量控制提供科学依据和技术支持。

一、实验部分

1. 仪器与试剂

BPZ110 型 1/10 万电子分析天平,质谱仪(Agilent 6320 Lion Trap MS),HS2060 超声波清洗器,GL-20-II 低温离心机(上海安亭科学仪器厂),Agilent SampliQ C₁₈ 固相萃取柱,甲醇为分析纯,娃哈哈纯净水。化妆品为自制。

收稿日期:2008-11-04

修回日期:2009-01-06

* 吉林省中医药管理局中医药科技项目(08sys-27):长白山林下参优良种质选育与质量标准研究,负责人:孙佳明。

** 联系人:张辉,教授,博士研究生导师,主要研究方向:天然药物化学教学、科研工作,E-mail:zhanghui_8080@163.com。

2. 供试品提取与制备

准确称取人参美容霜试样 0.500g 于 50mL 具塞三角烧瓶中,加入 10mL 甲醇,超声提取 30min 后,以 12000r/min 离心 5min,收集上清液于 50mL 梨形瓶中,用旋转蒸发仪于 40℃水浴浓缩至近干,准确加入 4mL 水溶液溶解残渣,溶液用于固相萃取。Agilent SampliQ C₁₈ 固相萃取柱依次用 4mL 甲醇活化,4mL 水平衡后,将试样溶液过柱,先用 4mL 水溶液淋洗,再用 4mL 50% 甲醇水溶液洗脱。收集洗脱液,过 0.45μm 微孔滤膜后,续滤液供 ESI-MS/MS 分析用。

3. ESI-MS/MS 质谱条件

电离源:电喷雾离子源(ESI);检测方式:负离子检测;扫描范围:m/z 50~1400;毛细管电压:4kV;雾化气压强:37.0psi;脱溶剂氮气流量:7.0L/min;脱溶剂气温度:325℃。

二、结果与讨论

1. 实验条件的优化选择

(1) 样品提取方法的优化。

实验采用超声提取方式对样品进行提取。分别考察了不同提取溶剂(甲醇、乙醇、水)和不同提取时间(10、20、30 及 60 min)等条件下的提取效果。结果表明,以甲醇为提取溶剂,超声提取 30min 和 60min 的提取效率基本相同且最高,故选择甲醇超声提取 30min 可实现对测定成分提取完全。

(2) 固相萃取柱的选择。

实验结果表明,人参皂苷在 Agilent SampliQ C₁₈ SPE 柱上表现出良好的反相色谱保留行为,萃取、净化效果很好。

(3) 固相萃取淋洗液和洗脱液的选择。

考察了不同配比的甲醇水溶液淋洗系统(10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及 100% 甲醇水溶液,用量均为 4mL),对比不同淋洗系统的淋洗效果。通过 ESI-MS/MS 进行分析,不同浓度的甲醇水溶液对人参皂苷的淋洗能力随着甲醇浓度的升高而增加。水溶液作为淋洗液时,人参

皂苷仍将保留在固相萃取柱上,不会被洗脱下来,而化妆品中的水溶性基质都被洗脱下来。因此,选用水溶液作为淋洗液以净化固相萃取柱的固定相,去除样品基质中的杂质干扰。50%甲醇水溶液可将人参皂苷完全洗脱下来,获得了最佳的回收率和净化效果。进一步对洗脱液的洗脱体积进行了考察,结果表明,洗脱液的体积为 4mL 时,人参皂苷可完全从固相萃取柱上洗脱下来。

(4) 质谱条件的优化。

根据人参皂苷类化合物的化学电离性质,分别选用正离子模式和负离子模式进行全扫描,采用流动注射泵连续进样方式进行质谱条件的优化。实验结果表明,人参皂苷在离子源负离子电离方式下,可获得较高丰度的[M-H]⁻母离子和较多的分子离子峰数目。

2. 样品测定

应用本方法对自制的人参美白霜样品进行了分析测定,根据准分子离子峰和二级质谱碎片信息,并参考文献^[5-6]进行解析,鉴定了本化妆品中含有 8 种人参皂苷类成分,分别是人参皂苷 Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁, Rg₂, Rh₁ 和三七皂苷 R₂。其中 ESI-MS/MS 结果见图 1,二级质谱碎片特征见表 1。

表 1 化妆品中人参皂苷的电喷雾质谱分析结果

No.	MS(m/z)		MS2(m/z)	化合物名称
	[M-H] ⁻	[M+HCOO] ⁻		
1	1077.6		945.5[M-ara-H] ⁻ 621.6[M-ara-2glc-H] ⁻ 459.5[M-ara-3glc-H] ⁻	Ginsenoside Rb ₂
2	1077.6		945.6[M-ara-H] ⁻ 765.5[M-ara-glc-H ₂ O-H] ⁻ 621.6[M-ara-2glc-H] ⁻	Ginsenoside Rc
3	945.6	991.6	783.5[M-glc-H] ⁻ 621.6[M-2glc-H] ⁻ 459.5[M-3glc-H] ⁻	Ginsenoside Rd
4	945.6	991.6	783.4[M-glc-H] ⁻ 637.5[M-glc-rha-H] ⁻ 475.6[M-rha-2glc-H] ⁻	Ginsenoside Re
5		845.6	683.6[M-glc+HCOO] ⁻ 521.5[M-2glc+HCOO] ⁻	Ginsenoside Rg ₁
6	769.5	815.6	637.6[M-xyl-H] ⁻ 475.5[M-xyl-glc-H] ⁻	Notoginsenoside R ₂
7	783.5	829.6	637.5[M-rha-H] ⁻ 475.5[M-rha-glc-H] ⁻	Ginsenoside Rg ₂
8	637.5	683.6	475.5[M-glc-H] ⁻	Ginsenoside Rh ₁

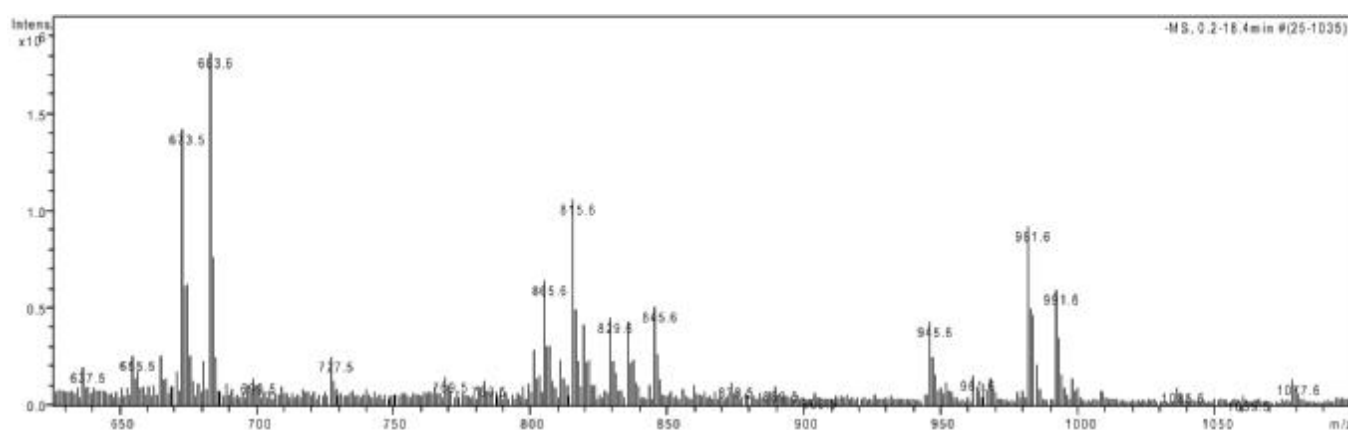


图1 化妆品中人参皂苷的电喷雾质谱图

参考文献

- 1 张萌, 陈士林. 中药化妆品的研发现状与发展前景. 中国中药杂志, 2007, 32(23):2457~2460.
- 2 戴京晶, 刘奋, 梁伟, 等. 化妆品中几种防腐剂的的分析方法. 职业与健康, 2007, 23(20):1861~1863.
- 3 马强, 王超, 王星, 等. 超高效液相色谱法同时测定化妆品中的 15 种激素. 色谱, 2007, 25 (4): 541~545.
- 4 孙婷, 杨书良, 尚明, 等. 人参系列化妆品中人参皂苷含量测定. 日用化学工业, 1995, 5:43~45.
- 5 郭继芬, 钟大放, 乔善义, 等. 液相色谱-电喷雾质谱联用技术分析人参皂苷. 质谱学报, 2003, 24(4):477~481.
- 6 张海江, 蔡小军, 程翼宇. 高效液相色谱-电喷雾质谱法鉴别人参、西洋参和三七的皂苷提取物. 中国药理学杂志, 2006, 41(5): 391~394.

Identifying Ginsenosides in Ginseng Whitening Cream Using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

Jin guixin, Sun Jiaming, Zhang Hui

(Development Center of Traditional Chinese Medicine and Bioengineering,
Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

An SPE-ESI-MS/MS method was established to identify ginsenosides in Ginseng Whitening Cream in a qualitative manner. In the study, SPE-ESI-MS/MS techniques were used to identify ginsenosides in Ginseng Whitening Cream. Ginsenosides Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁, Rg₂, Rh₁ and Notoginsenoside R₂ were detected in Ginseng Whitening Cream. It is concluded that the method is simple and reliable, desirable for the quality control of ginsenosides based cosmetics.

Keywords: Ginseng Whitening Cream; Ginsenosides; SPE-ESI-MS/MS

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:邹春申)