

## · 质量分析研究 ·

## 高效液相色谱指纹图谱及一测多评法评价黑参的质量

曾琪<sup>1,2</sup>, 刘杨波<sup>1,2</sup>, 湛浩东<sup>1,2</sup>, 肖碧霞<sup>1</sup>, 林美好<sup>1,2</sup>, 陈乃宏<sup>1,2,3</sup>(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心, 湖南长沙 410208; 3. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 基于高效液相色谱(HPLC)指纹图谱以及一测多评法(QAMS)建立黑参的质量评价方法。**方法** 采用 Waters System C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈(A)-纯水(B)为流动相, 梯度洗脱; 检测波长为 210 nm; 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL; 采用 HPLC 指纹图谱结合一测多评法, 测定 11 批黑参样品中 9 种人参皂苷的含量。**结果** 指纹图谱确定了 12 个共有峰, 相似度均在 0.900 以上, 聚类分析以及主成分分析可将 11 批黑参样品大致分为 3 类, 一测多评法与外标法含量测定并无明显差异。**结论** 该方法具有良好的经济适用性以及准确性, 可为黑参的质量控制提供新的方法和思路。

**关键词:** 黑参; 人参皂苷; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 一测多评法

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)11-1710-06

**doi:** 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.016

### Quality Evaluation of Black Ginseng Based on HPLC Fingerprint and QAMS

ZENG Qi<sup>1,2</sup>, LIU Yangbo<sup>1,2</sup>, CHEN Haodong<sup>1,2</sup>, XIAO Bixia<sup>1</sup>, LIN Meiyu<sup>1,2</sup>, CHEN Naihong<sup>1,2,3</sup>(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208 Hunan, China; 2. Hunan Engineering Technology Center of Standardization and Function of Chinese Herbal Decoction Pieces, Changsha 410208 Hunan, China; 3. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract: Objective** To establish the quality evaluation method for black ginseng based on HPLC fingerprint and quantitative analysis of multi-components by single marker(QAMS). **Methods** Waters System C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. Acetonitrile(A) – pure water(B) was used as the mobile phase with gradient elution. The detection wavelength was set at 210 nm, and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was 30 ℃ and the injection volume was 10 μL. Contents of nine ginsenosides in 11 batches of black ginseng samples were determined by HPLC fingerprinting combined with QAMS. **Results** Twelve common peaks were identified in the fingerprint, and the similarity were all above 0.900. Cluster analysis and principal component analysis could roughly divide 11 batches of black ginseng samples into three categories, and there was no significant difference between multiple evaluation method and external standard method (ESM). **Conclusion** This method has great economic applicability and accuracy, and can provide new methods and ideas for the quality control of black ginseng.

**Keywords:** Black ginseng; ginsenoside; HPLC; fingerprint; quantitative analysis of multi-components by single marker

收稿日期: 2021-04-21

作者简介: 曾琪, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理学。Email: 504160438@qq.com。通信作者: 林美好, 女, 博士, 研究方向: 药动学。Email: linmeiyuyouth@sina.com。陈乃宏, 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药药理学、神经药理学。Email: chennh@imm.ac.cn。

基金项目: 湖南中医药大学中药学一流学科项目(校行科字【2018】3号); 湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心项目及开放基金项目(2016TP2008, 0101003004); 长沙市科学技术局项目(kq2004058)。

人参为五加科人参属植物人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)的干燥根及根茎。具有大补元气、复脉固脱的功效,主要用于抗肿瘤、抗衰老及保护中枢神经系统等<sup>[1]</sup>。黑参是人参经过九蒸九晒后炮制而成,具有抗血栓、抗疲劳、增强免疫系统等作用<sup>[2]</sup>。目前对于黑参的质量研究多以人参皂苷为质量标准<sup>[3-5]</sup>。有研究<sup>[6-8]</sup>表明,黑参中的稀有人参皂苷比红参及生晒参有所增加。目前黑参的含量测定多使用外标法,但是对于多指标成分的含量测定,存在标准品消耗量大、标准品溶液制备困难等问题。本实验选择 9 种人参皂苷为质量控制指标,且这 9 种人参皂苷大多都为稀有人参皂苷,以高效液相色谱(HPLC)指纹图谱以及一测多评法建立建立黑参的质量评价方法,并结合聚类分析以及主成分分析方法对 11 批黑参样品进行质量评价,以期黑参系统的质量评价提供参考。

## 1 仪器与材料

**1.1 仪器** Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); SHIMADZU Essentia LC-16 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); KM-250DE 型中文液晶超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); LE204/02 型万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Direct-Q8 型超纯水一体化系统(德国默克密理博公司)。

**1.2 材料** 人参皂苷(20S)-Rh1(批号:HG27165S3)、人参皂苷 F4(批号:HR2098B1)、人参皂苷 Rg4(批号:HR4198W1)、人参皂苷 Rk3(批号:HG27638S1)、人参皂苷 Rh4(批号:HR91218B2)、人参皂苷(20S)-Rg3(批号:HR18927B1)、人参皂苷 Rk1(批号:HR20911B1)、人参皂苷 Rg5(批号:HR20912B1)、人参皂苷 Rh3(批号:HR2192W2),宝鸡市辰光生物科技有限公司,质量分数≥98%;甲醇、乙腈均为色谱纯;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。黑参样品: S1-S6 为吉林各地收集的人参; S7 购自辽宁中书堂黑参有限公司,批号:20180403; S8-S11 购自蛟河市参天下土特产有限公司,批号:20200713、20200714、20200618、20200902; 11 批药材均经湖南中医药大学周小江教授鉴定为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C.A. Meyer 的干燥根及根茎,通过九蒸九晒炮制而成。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液** 精密称取人参皂苷(20S)-Rh1、

F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5、Rh3 对照品,分别配制成质量浓度为 0.25、0.15、0.3、0.4、0.4、0.25、0.85、1.4、0.2 mg·mL<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 精密称取黑参样品 1.5 g 左右,加 70 mL 石油醚索氏提取 3 h,烘干,样品连同滤纸加 50 mL 水饱和正丁醇浸泡过夜,超声 40 min,过滤,滤液蒸干,加甲醇定容至 5 mL。经 0.22 μL 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.2 色谱条件** 采用 Waters Symmetry C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为乙腈(A)-纯水(B),洗脱梯度程序见表 1;流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温为 30 ℃,检测波长为 210 nm,进样量为 10 μL。

表 1 洗脱梯度程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	时间/min	流动相 A/%
0~10	20→30	48~52	60→70
10~14	30→35	52~55	70→78
14~27	35→40	55~60	78→85
27~30	40→46	60~63	85→90
30~40	46→50	63~70	90
40~45	50→60	70~80	20
45~48	60		

### 2.3 HPLC 指纹图谱研究

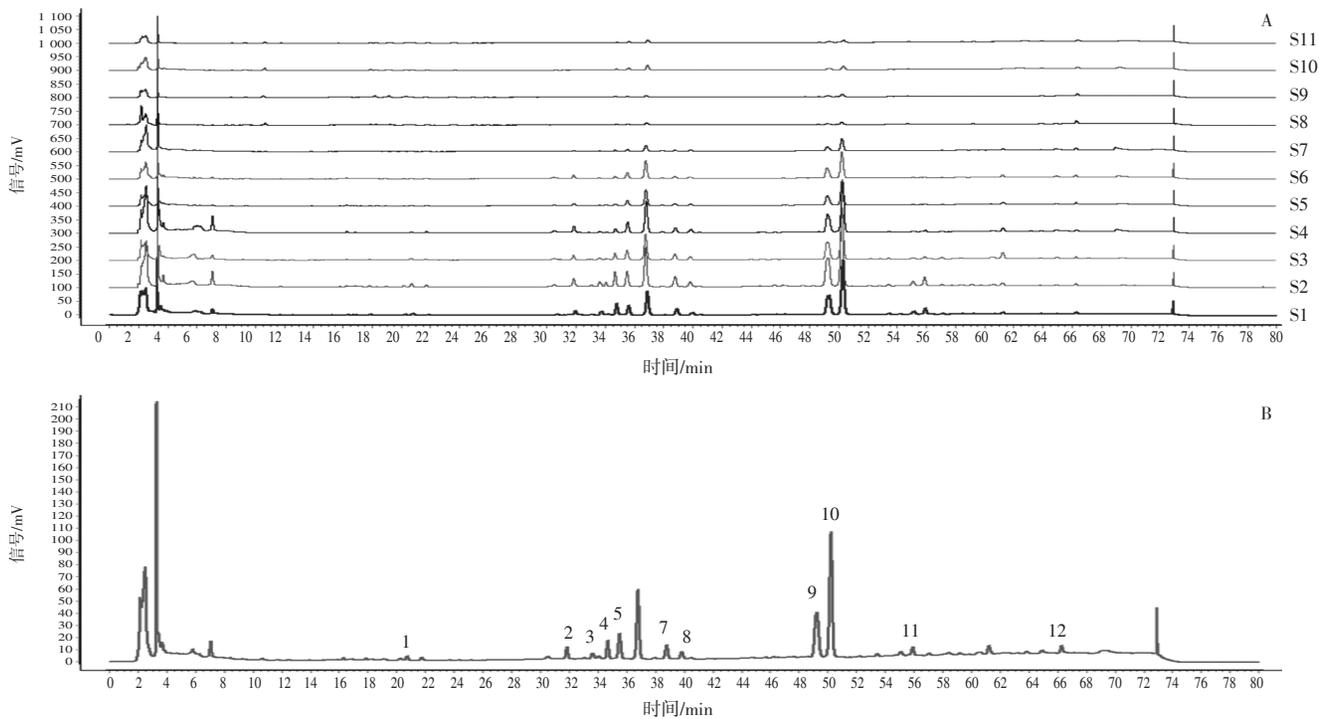
**2.3.1 方法学考察** ①取黑参样品(S3),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,和“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,以人参皂苷 Rg5 色谱峰为参照峰(S),各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别为 0.01%~0.18%、1.21%~1.89%,表明仪器精密度良好;②取黑参供试品溶液,于 0、2、4、6、12 和 24 h 依法进样测定,以人参皂苷 Rg5 为参照峰,各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别为 0.04%~0.57%、0.45%~3.36%,说明供试品溶液在 24 h 内较为稳定;③取黑参样品(S6),按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,以人参皂苷 Rg5 为参照峰,各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别为 0.12%~0.17%、0.74%~3.40%,说明该方法的重复性良好。

**2.3.2 指纹图谱的建立** 取 11 批黑参样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液和“2.2”项下色谱条件进样测定,将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”。以 3 号样品色谱图为参照图谱,全谱峰匹配,生成叠加图谱,以中位数法

生成对照图谱, 见图 1。共确定 13 个共有峰。与混合对照品(见图 2)相对比, 确定 1、3~7、9、10 号峰分别为人参皂苷(20S)-Rh1、F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5。其中人参皂苷 Rg5 的峰面积较大、峰型较好、保留时间适中, 故选择人参皂苷 Rg5(10 号峰)为参照峰。计算出 12 个共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.09%~2.80%, 相对峰面积的 RSD 为 10.04%~119.92%。11 批黑参样品的相似

度大于 0.900。

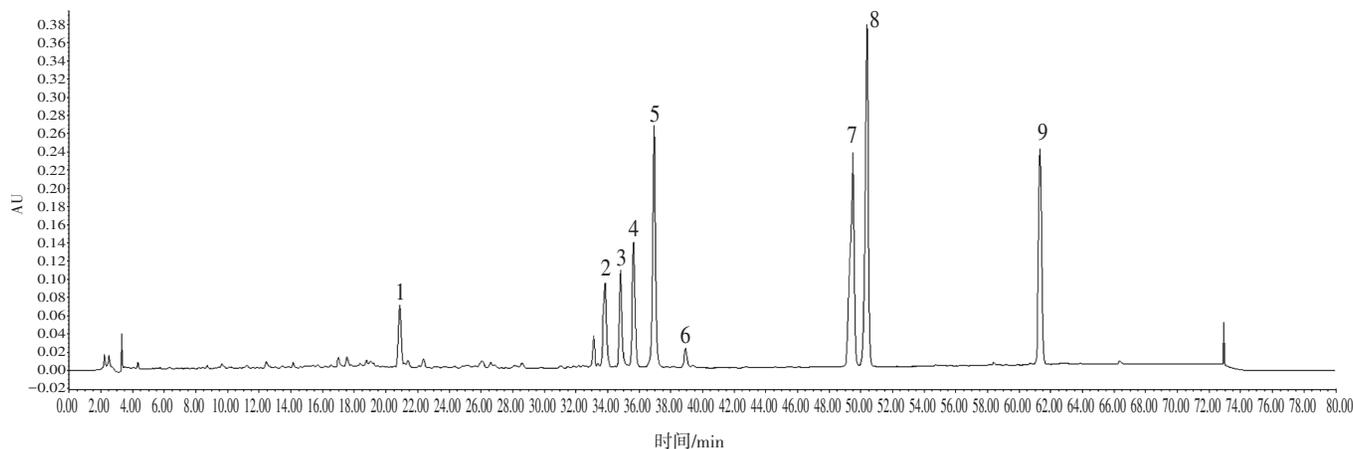
**2.3.3 聚类分析** 将 11 批黑参样品共有峰的峰面积导入 SPSS 26.0 软件, 以峰面积为变量, 采用组间连接、平方欧式距离法绘制树状图。见图 3。结果显示, 11 批黑参样品可以分为 3 类。S1、S2、S4 为一类; S3、S5、S6、S7 为一类; S8、S9、S10、S11 为一类。这可能因种植、炮制方式以及贮藏等的不同而产生差异。



注: A. 11 批黑参样品叠加图; B. 对照图谱

图 1 黑参药材的高效液相色谱指纹图

Figure 1 HPLC fingerprints of Black ginseng



注: 1. 人参皂苷(20S)-Rh1; 2. 人参皂苷 F4; 3. 人参皂苷 Rg4; 4. 人参皂苷 Rk3; 5. 人参皂苷 Rh4; 6. 人参皂苷(20S)-Rg3; 7. 人参皂苷 Rk1; 8. 人参皂苷 Rg5; 9. 人参皂苷 Rh3

图 2 混合对照品的高效液相色谱图

Figure 2 HPLC chromatogram of the mixed standards

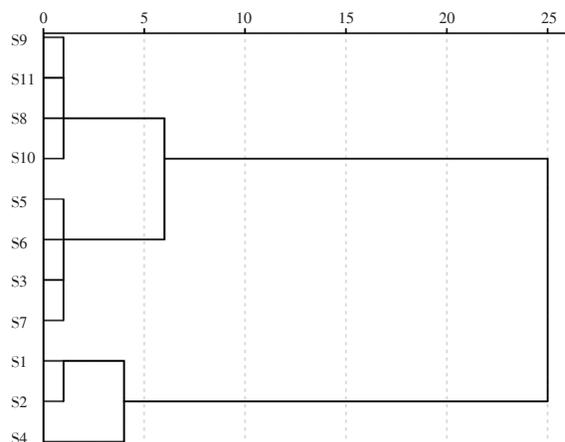


图 3 11 批黑参样品聚类分析

Figure 3 Cluster analysis of 11 batches of Black ginseng samples

**2.3.4 主成分分析** 采用 SPSS 26.0 软件中的因子分析法对原始数据进行标准化处理,以 11 批黑参样品指纹图谱中的 12 个共有峰为变量进行主成分分析。提取特征值 > 1 的 2 个主成分。色谱峰 4~10 号对主成分 1 的贡献较大,色谱峰 2、12 号对主成分 2 的贡献较大。以 12 个共有峰为变量导入 SIMCA-P 11.6 软件,绘制主成分分析得分图,见图 4。结果与聚类分析基本一致。

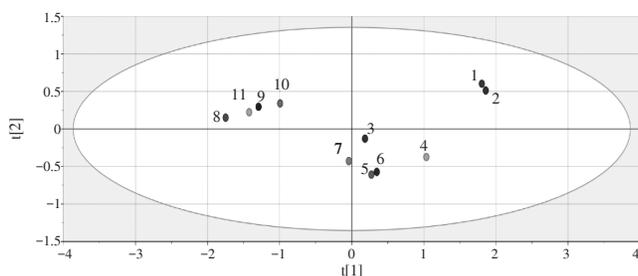


图 4 黑参样品主成分分析得分图

Figure 4 Score chart of principal component analysis of Black ginseng

## 2.4 含量测定

**2.4.1 线性关系考察** 分别精密吸取各对照品储备液 1、2、5、10、15、20  $\mu\text{L}$ ,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以进样量( $\mu\text{g}$ )为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。见表 2。

**2.4.2 精密度的试验** 取同一份黑参供试品(S3)溶液,按“2.2”项下条件连续测定 6 次,结果人参皂苷(20S)-Rh1、F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5、Rh3 峰面积的 RSD 分别为 0.45%、0.58%、0.22%、0.27%、0.41%、0.92%、0.36%、1.18%、0.04%,说明仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一份黑参供试品(S3)溶液,

表 2 黑参中 9 个成分的线性关系考察结果

Table 2 Study on the linear relationships of nine components in Black ginseng

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
人参皂苷(20S)-Rh1	$Y=75\ 575X-25\ 900$	0.999 7	0.245 ~ 4.900
人参皂苷 F4	$Y=131\ 673X-25\ 649$	0.999 9	0.147 ~ 2.940
人参皂苷 Rg4	$Y=116\ 836X-27\ 221$	0.999 9	0.294 ~ 5.880
人参皂苷 Rk3	$Y=172\ 890X-33\ 656$	0.999 9	0.392 ~ 7.840
人参皂苷 Rh4	$Y=353\ 979X-60\ 749$	0.999 9	0.392 ~ 7.840
人参皂苷(20S)-Rg3	$Y=27\ 468X-5\ 121.1$	0.999 9	0.245 ~ 4.900
人参皂苷 Rk1	$Y=438\ 408X-73\ 394$	0.999 9	0.833 ~ 16.660
人参皂苷 Rg5	$Y=540\ 320X-89\ 594$	0.999 9	1.372 ~ 27.44
人参皂苷 Rh3	$Y=89\ 290X+26\ 775$	0.995 0	0.372 ~ 7.440

按“2.2”项下色谱条件,分别在制备后 0、2、4、6、12、24 h 进样测定。结果人参皂苷(20S)-Rh1、F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5、Rh3 峰面积的 RSD 分别为 0.40%、1.57%、0.30%、0.47%、0.45%、0.64%、0.36%、1.31%、0.58%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性好。

**2.4.4 重复性试验** 取同一批黑参样品(S6),按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下条件进样测定。结果人参皂苷(20S)-Rh1、F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5、Rh3 峰面积的 RSD 分别为 0.44%、1.40%、1.08%、1.75%、1.56%、0.26%、0.84%、0.82%、1.91%,说明该方法的重复性良好。

**2.4.5 加样回收试验** 精密称取已测定的黑参样品(S3)6 份,每份约 1.5 g,分别精密加入 9 种对照品适量(与样品中的含量相当),按“2.1.2”项下方法进行制备,并按“2.2”项下条件进样测定,计算 9 种成分的加样回收率以及 RSD( $n=6$ )。结果各成分的回收率在 96.12%~103.74%之间,平均加样回收率在 98.36%~100.41%之间,RSD 在 1.22%~2.66%之间。结果表明该方法准确度良好。

**2.4.6 相对校正因子的建立** 取各对照品溶液,按“2.4.1”项下的进样量,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以人参皂苷 Rg5 为内参物,按照公式  $f_{is}=f/f_s=A_iC_j/A_sC_i$ (其中  $A_i$ 、 $C_i$  分别为待测物质的峰面积和浓度; $A_s$ 、 $C_s$  分别为内参物的峰面积和浓度)计算人参皂苷(20S)-Rh1、F4、Rg4、Rk3、Rh4、(20S)-Rg3、Rk1、Rg5、Rh3 的相对校正因子( $f$ )。见表 3。

**2.4.7 重现性考察** 考察不同流速(0.9、1.0、1.1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )、不同温度(25、30、35  $^{\circ}\text{C}$ )、不同仪器及色谱柱(Waters e2695、HIMADZU LC-16 色谱系

统, Waters Symmetry C<sub>18</sub>、HIMADZU ODS C<sub>18</sub> 色谱柱)对相对校正因子的影响。见表 4~表 6。结果显示

在不同条件下相对校正因子 RSD 均小于 2.0%, 说明相对校正因子在不同条件下重现性良好。

表 3 黑参中 9 种成分的相对校正因子

Table 3 Relative correction factors of nine components in Black ginseng

进样量/ $\mu\text{L}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rh1/Rg5}}$	$f_{\text{F4/Rg5}}$	$f_{\text{Rg4/Rg5}}$	$f_{\text{Rk3/Rg5}}$	$f_{\text{Rh4/Rg5}}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rg3/Rg5}}$	$f_{\text{Rk1/Rg5}}$	$f_{\text{Rg5/Rg5}}$	$f_{\text{Rh3/Rg5}}$
1	1.360	0.450	1.020	0.916	0.439	3.579	0.759	1	0.241
2	1.321	0.441	1.017	0.899	0.436	3.532	0.749	1	0.247
5	1.325	0.443	1.014	0.900	0.437	3.528	0.747	1	0.246
10	1.329	0.442	1.000	0.897	0.437	3.529	0.748	1	0.244
15	1.337	0.442	1.001	0.897	0.437	3.522	0.749	1	0.244
20	1.259	0.439	0.991	0.893	0.436	3.512	0.748	1	0.243
平均值	1.322	0.443	1.007	0.900	0.437	3.534	0.750	1	0.244
RSD/%	2.566	0.869	1.162	0.904	0.262	0.663	0.610	0	0.784

表 4 不同流速对黑参中 9 种成分相对校正因子的影响

Table 4 Effects of different flow rate on relative correction factors of nine components in Black ginseng

流速/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	$f_{(20\text{S})-\text{Rh1/Rg5}}$	$f_{\text{F4/Rg5}}$	$f_{\text{Rg4/Rg5}}$	$f_{\text{Rk3/Rg5}}$	$f_{\text{Rh4/Rg5}}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rg3/Rg5}}$	$f_{\text{Rk1/Rg5}}$	$f_{\text{Rg5/Rg5}}$	$f_{\text{Rh3/Rg5}}$
0.9	1.245	0.431	1.024	0.908	0.437	3.599	0.740	1	0.242
1.0	1.263	0.430	1.007	0.901	0.439	3.616	0.744	1	0.244
1.1	1.283	0.431	1.004	0.897	0.437	3.703	0.749	1	0.244
平均值	1.264	0.431	1.012	0.902	0.438	3.639	0.744	1	0.243
RSD/%	1.480	0.209	1.071	0.587	0.282	1.541	0.627	0	0.405

表 5 不同温度对黑参中 9 种成分相对校正因子的影响

Table 5 Effects of different temperature on relative correction factors of nine components in Black ginseng

温度/ $^{\circ}\text{C}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rh1/Rg5}}$	$f_{\text{F4/Rg5}}$	$f_{\text{Rg4/Rg5}}$	$f_{\text{Rk3/Rg5}}$	$f_{\text{Rh4/Rg5}}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rg3/Rg5}}$	$f_{\text{Rk1/Rg5}}$	$f_{\text{Rg5/Rg5}}$	$f_{\text{Rh3/Rg5}}$
25	1.263	0.428	0.998	0.900	0.439	3.632	0.746	1	0.244
30	1.263	0.430	1.007	0.901	0.439	3.616	0.744	1	0.244
35	1.272	0.429	1.022	0.900	0.437	3.635	0.743	1	0.242
平均值	1.266	0.429	1.009	0.900	0.438	3.627	0.744	1	0.243
RSD/%	0.382	0.218	1.170	0.046	0.297	0.281	0.177	0	0.383

表 6 不同仪器及色谱柱对黑参中 9 种成分相对校正因子的影响

Table 6 Effects of different instrument and chromatographic column on relative correction factor of nine components in Black ginseng

仪器	色谱柱	$f_{(20\text{S})-\text{Rh1/Rg5}}$	$f_{\text{F4/Rg5}}$	$f_{\text{Rg4/Rg5}}$	$f_{\text{Rk3/Rg5}}$	$f_{\text{Rh4/Rg5}}$	$f_{(20\text{S})-\text{Rg3/Rg5}}$	$f_{\text{Rk1/Rg5}}$	$f_{\text{Rg5/Rg5}}$	$f_{\text{Rh3/Rg5}}$
Waters e2695 色谱系统	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	1.479	0.438	1.050	0.900	0.443	3.635	0.751	1	0.245
	HIMADZU ODS C <sub>18</sub>	1.647	0.444	1.074	0.882	0.439	3.471	0.741	1	0.243
HIMADZU LC-16 色谱系统	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	1.547	0.417	1.124	0.874	0.445	3.530	0.748	1	0.258
	HIMADZU ODS C <sub>18</sub>	1.586	0.435	1.016	0.858	0.447	3.254	0.715	1	0.245
平均值		1.565	0.434	1.066	0.878	0.444	3.473	0.739	1	0.248
RSD/%		4.498	2.693	4.260	1.959	0.810	4.629	2.226	0	2.763

2.4.8 含量测定 分别采用外标法和一测多评法测定 11 批黑参样品中人参皂苷的含量。结果见表 7 和表 8。采用相对误差(RE)分析 2 种方法的差异。RE 在 0%~3.84%之间, 表明一测多评法与外标法含量测定结果无显著差别。

### 3 讨论

本试验采用高效液相色谱指纹图谱及一测多评法评价黑参的质量。通过对供试品溶液在 200~400 nm 的条件下进行全波长扫描, 发现在 210 nm 处色谱峰数目较多、峰型较好, 且响应值较高, 因此选择

表 7 11 批黑参 9 种成分外标法含量计算结果(mg·g<sup>-1</sup>)

Table 7 Content calculation results of 11 batches of Black ginseng by ESM(mg·g<sup>-1</sup>)

编号	(20S)-Rh1	F4	Rg4	Rk3	Rh4	(20S)-Rg3	Rk1	Rg5	Rh3
S1	0.292	0.141	0.750	0.864	1.138	1.910	1.896	5.286	0.040
S2	0.280	0.109	0.635	0.772	1.021	1.989	1.710	4.690	0.036
S3	0.087	0.026	0.158	0.289	0.407	0.652	0.624	1.911	0.046
S4	0.121	0.033	0.198	0.595	0.905	1.213	1.133	3.640	0.046
S5	0.063	0.015	0.103	0.361	0.562	0.707	0.698	2.357	0.034
S6	0.075	0.020	0.128	0.406	0.628	0.707	0.698	2.319	0.031
S7	0.070	0.022	0.119	0.206	0.339	0.614	0.468	1.834	0.037
S8	0.057	0.014	0.063	0.079	0.093	0.112	0.088	0.261	-
S9	0.080	0.026	0.130	0.094	0.109	0.190	0.152	0.435	-
S10	0.139	0.026	0.133	0.186	0.215	0.254	0.169	0.480	-
S11	0.119	0.020	0.095	0.142	0.167	0.187	0.127	0.383	-

注：“-”表示未检测到

表 8 11 批黑参 8 种成分一测多评法含量计算结果(mg·g<sup>-1</sup>)

Table 8 Content calculation results of 11 batches of Black ginseng by QAMS(mg·g<sup>-1</sup>)

编号	(20S)-Rh1	F4	Rg4	Rk3	Rh4	(20S)-Rg3	Rk1	Rh3
S1	0.296	0.143	0.760	0.884	1.160	1.959	1.925	0.040
S2	0.284	0.111	0.644	0.790	1.041	2.040	1.737	0.036
S3	0.088	0.027	0.160	0.296	0.415	0.669	0.634	0.046
S4	0.123	0.034	0.201	0.608	0.923	1.244	1.150	0.047
S5	0.064	0.015	0.104	0.370	0.573	0.725	0.709	0.035
S6	0.076	0.020	0.129	0.415	0.641	0.726	0.708	0.031
S7	0.071	0.022	0.120	0.211	0.346	0.630	0.475	0.038
S8	0.058	0.014	0.064	0.081	0.095	0.115	0.089	-
S9	0.081	0.027	0.132	0.096	0.111	0.195	0.154	-
S10	0.141	0.027	0.135	0.190	0.220	0.261	0.172	-
S11	0.120	0.020	0.097	0.145	0.171	0.192	0.129	-

注：“-”表示未检测到

210 nm 作为检测波长。由于黑参药材中杂质、人参皂苷成分较多，通过对比不同提取方法(超声、回流提取)、提取溶剂(水、甲醇、50%甲醇、70%甲醇及正丁醇)、流速(0.9、1.0、1.1 mL·min<sup>-1</sup>)以及色谱柱

温度(25、30、35 ℃)，确定了以上的色谱条件以及提取方法。

本研究建立了黑参的 HPLC 指纹图谱，该方法精密度好、稳定性高、重现性良好。本研究通过指纹图谱确定了 12 个共有峰，相似度均大于 0.900，但是，不同产地的黑参药材之间的共有峰峰面积有明显的差异。聚类分析和主成分分析可将 11 批黑参样品分为 3 类，这可能为黑参产地、采收、炮制以及贮藏方式等的差异造成。

在一测多评法研究中，黑参中的人参皂苷 Rg5 含量较高，且峰型较好、保留时间适中，故选择 Rg5 做为内参物。采用一测多评法测定了 11 批黑参样品中 9 种人参皂苷的含量，发现一测多评法与外标法的结果之间无显著差异。这说明一测多评法不仅具备简单、节约对照品的优点，同时还具有较高的准确性。综上，本方法具有良好的经济适用性以及准确性，可为黑参的质量控制提供新的方法和思路。

参考文献:

- [1] 李贵明, 李燕. 人参皂苷药理作用研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(8): 1024-1027.
- [2] 陈林, 郭建鹏. 黑参国内外研究进展[J]. 人参研究, 2019, 31(1): 42-46.
- [3] 袁媛, 张世良, 董晓茜, 等. 人参新炮制品—黑参的UPLC指纹图谱研究[J]. 云南中医中药杂志, 2016, 37(2): 40-42.
- [4] 曾露露, 赵婷, 李莹, 等. 高效液相色谱法同时测定黑参中4种稀有人参皂苷的含量[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(12): 1069-1072.
- [5] 袁媛, 于艳, 徐荣培. HPLC法测定19个人参新炮制品—黑参样品中的人参皂苷含量[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(10): 1993-1995.
- [6] 李月茹, 乔雪. 黑参和生晒参中人参皂苷的比较研究[J]. 吉林医药学院学报, 2012, 33(3): 135-137.
- [7] 杜瑞雪, 郗艳丽, 张洋婷, 等. 不同炮制方法对人参皂苷含量及肝癌细胞凋亡的影响[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(2): 94-96.
- [8] SUN B S, GU L J, FANG Z M, et al. Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from Panax ginseng by HPLC-ELSD[J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 50(1): 15-22.

(编辑: 梁进权)