

# T/HNSBSXH

## 海南省博士协会团体标准

T/HNSBSXH 10—2025

### 罗汉果中 8 种罗汉果皂苷的含量测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 8 Mogrosides in the fruit of *Siraitia grosvenorii* —  
high performance liquid chromatography-mass  
spectrometry(HPLC-MS)

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

海南省博士协会 发布



## 版权保护文件

版权所有归属于该标准的发布机构。除非有其他规定，否则未经许可，此发行物及其章节不得以其他形式或任何手段进行复制、再版或使用，包括电子版，影印件，或发布在互联网及内部网络等。使用许可可于发布机构获取。

## 目 次

前 言.....	II
引 言.....	III
罗汉果中 8 种罗汉果皂苷的含量测定液相色谱-串联质谱法.....	1
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
3.1 罗汉果皂苷 Mogrosides.....	1
4 符号.....	1
5 原理.....	1
6 试剂和材料.....	1
6.1 试剂.....	1
6.2 试剂配制.....	2
6.3 标准品.....	2
6.4 标准溶液配制.....	2
7 仪器设备.....	2
8 试样制备.....	2
8.1 试样制备.....	2
8.2 试样提取.....	3
9 测定.....	3
9.1 超高效液相色谱参考条件.....	3
9.2 质谱参考条件.....	3
9.3 供试样品的测定.....	3
9.4 定性测量.....	3
9.5 定量测量.....	4
9.6 结果计算.....	4
10 精密度.....	4
10.1 重复性.....	4
10.2 再现性.....	4
附录 A.....	5
附录 B.....	6
参考文献.....	8

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广西壮族自治区农业科学院提出。

本文件由海南省博士协会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院、中国医学科学院药用植物研究所、湖南华诚生物资源股份有限公司、湖南农业大学、广西壮族自治区药用植物园

本文件主要起草人：莫长明、罗祖良、王崇楠、马小军、黄华学、唐其、梁任繁、潘丽梅、苏家贤、藏艺玫、谢蕾

## 引 言

罗汉果为葫芦科植物罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang 的果实, 药用历史有数百年, 是卫生部首批公布的药食两用名贵中药材。罗汉果植物是我国特有的药食两用珍稀物种, 分布于广西、广东、贵州、湖南和江西等省区。本草古籍和《中华人民共和国药典》载罗汉果有清热润肺、止咳平喘、利咽开音、润肠通便等功效。罗汉果除用作饮片外, 以罗汉果为原料的中成药包括冲剂、片剂、胶囊剂、酞水剂、散剂、糖浆剂等 6 大剂型共 80 余种。罗汉果所含主要功能成分罗汉果甜苷是零热量高甜度天然物质, 是饮料、糖果行业的名贵原料, 是蔗糖的理想替代品。近年来, 包括美国可口可乐公司在内的国内外食品饮料行业使用罗汉果皂苷的产品逐年增加, 使用罗汉果皂苷甜味剂的产品已经超过 5000 种。

罗汉果皂苷是以罗汉果醇为母核经糖基化修饰后形成的一系列葫芦烷型四环三萜皂苷化合物。自从美国人 Lee. C (1975) 首次报道罗汉果中存在甜味的罗汉果皂苷 (Mogroside) 以来, 已从其中先后分离获得罗汉果皂苷 IIe、罗汉果皂苷 III、罗汉果皂苷 IV、罗汉果赛门苷 I、罗汉果皂苷 V、异罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 VI 等罗汉果皂苷 90 余种。罗汉果醇所连接葡萄糖基的数目、方式以及 C11 位氧功能决定着罗汉果皂苷具有不同味道 (Kasai, et al., 1988), 例如罗汉果皂苷 IIe 具有苦味, 罗汉果皂苷 III 无味, 罗汉果皂苷 IV、罗汉果赛门苷 I、罗汉果皂苷 V、异罗汉果皂苷 V、11-0-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 VI 具有甜味, 其甜度分别是 0.5% 蔗糖溶液 (W/V) 甜度的 300 倍、465 倍、378 倍、500 倍、68 倍和 125 倍 (Murata, et al., 2006; Jia & Yang., 2009)。罗汉果皂苷主要在果实中合成积累, 其中罗汉果皂苷 V 含量最高, 不同品种中占总苷的质量百分比在 15.0~45.0% 之间, 是罗汉果的主要甜味与药用成分 (刘婷等, 2007)。此外, 罗汉果皂苷 IV、赛门苷 I、异罗汉果皂苷 V、11-0-罗汉果皂苷 V 在不同品种中占总苷的质量百分比也达到了 14.29~39.17%, 也是重要的药用和甜味成分。

罗汉果果实不同生长阶段罗汉果皂苷的组成和含量存在差异。前期研究表明, 未成熟果实中含有苦味的罗汉果皂苷 IIe 及罗汉果皂苷 III 等低糖苷。成熟果实中罗汉果皂苷 IIe 及罗汉果皂苷 III 转化为高糖苷, 主要含有罗汉果皂苷 V、异罗汉果皂苷 V、11-0-罗汉果皂苷 V 和赛门苷 I 等甜味成分, 而判断果实的成熟度主要依据授粉时间及经验, 采收果实质量缺乏统一控制标准。不同授粉时间和气候区域果实成熟时间差异大, 还有秋季降温会导致果实无法成熟, 统一采收果实存在大量不完全成熟果实, 这严重影响罗汉果及其产品的药效、甜度及口感。目前虽然已有《中国药典》、国家标准 (GBT35476-2017)、农业行业标准 (NYT694-2022) 等罗汉果质量标准, 但都以罗汉果皂苷 V 单一指标作为质控指标, 规定以高效液相色谱法测定罗汉果皂苷 V 含量。因此, 缺乏罗汉果成熟度标志成分罗汉果皂苷 IIe、罗汉果皂苷 III 以及其余重要成分罗汉果皂苷 IV、赛门苷 I 和异罗汉果皂苷 V 等的检测技术标准, 无法全面评价罗汉果质量情况。广西“十四五”罗汉果产业高质量发展专项规划指出, 罗汉果品种退化、混杂较严重, 标准化生产基地建设较慢等问题, 并提出加强罗汉果生产全

过程、全方位的质量管理体系，完善产品可追溯制度，推动罗汉果产业高质量发展等任务要求。此外，我们前期对 36 个品系罗汉果样品的 21 种罗汉果皂苷进行定量分析。结果表明，不同品种间各罗汉果皂苷含量差异巨大。而通过对罗汉果中多种甜苷成分测定，可以系统评价果实的内在品质。因此，迫切需要制定多种罗汉果皂苷成分测定的标准，为罗汉果质量控制提供全面的评价标准，为罗汉果优质种质资源的筛选提供标准方法。

当前，高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法是罗汉果皂苷分析的主要方法，但由于罗汉果成分复杂多样，且罗汉果皂苷类成分紫外吸收弱，导致使用高效液相色谱法测定受到其他强紫外吸收化合物的严重干扰，且对色谱分离要求较高，检测方法灵敏度低。而液相色谱-串联质谱法具有溶剂消耗少、灵敏度高、选择性好等优点，是测定罗汉果中多种罗汉果皂苷成分的有效工具。且编制工作组前期建立了一种液相色谱-串联质谱法同时测定罗汉果及其产品中 8 种甜苷的方法，并对其进行了验证，可以在此基础上优化完善形成多种罗汉果皂苷成分同时检测的技术标准。

# 罗汉果中 8 种罗汉果皂苷的含量测定

## 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件规定了罗汉果中 8 种罗汉果皂苷含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于罗汉果中罗汉果皂苷 IIe、罗汉果皂苷 III、罗汉果皂苷 IV、罗汉果皂苷 IVa、赛门苷 I、罗汉果皂苷 V、异罗汉果皂苷 V 和 11-O-罗汉果皂苷 V 等 8 种罗汉果皂苷含量的测定，其他罗汉果产品可参考执行。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1 罗汉果皂苷 Mogrosides

罗汉果皂苷是以罗汉果醇为母核经糖基化修饰后形成的一系列葫芦烷型四环三萜皂苷化合物，包括罗汉果皂苷 IIe、罗汉果皂苷 III、罗汉果皂苷 IV、罗汉果皂苷 IVa、赛门苷 I、罗汉果皂苷 V、异罗汉果皂苷 V 和 11-O-罗汉果皂苷 V 等。

### 4 符号

本文件没有需要特别说明的符号。

### 5 原理

罗汉果样品中的罗汉果皂苷类化合物用甲醇水溶液超声提取，采用高效液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

### 6 试剂和材料

除非另有规定，所有试剂均为分析纯。

#### 6.1 试剂

6.1.1 水：GB/T 6682，一级。

6.1.2 甲醇(CH<sub>4</sub>O)：色谱纯。

6.1.3 乙腈(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N)：色谱纯。

6.1.4 甲酸(CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):色谱纯。

## 6.2 试剂配制

6.2.1 80%甲醇溶液:取 80 mL 甲醇,加水定容至 100 mL,混匀。

## 6.3 标准品

罗汉果皂苷类化合物标准品:相关信息见表 1,纯度不低于 98%。

表 1 罗汉果皂苷类化合物标准品基本信息表

序号	中文名称	英文名称	分子量	CAS 号
1	罗汉果皂苷 IIe	Mogroside IIe	801.01	88901-38-6
2	罗汉果皂苷 III	Mogroside III	963.15	130567-83-8
3	赛门苷 I	Siamenoside I	1125.30	126105-12-2
4	罗汉果皂苷 IV	Mogroside IV	1125.30	89590-95-4
5	罗汉果皂苷 IVa	Mogroside IVa	1125.30	88901-41-1
6	罗汉果皂苷 V	Mogroside V	1287.43	88901-36-4
7	11-O-罗汉果皂苷 V	11-oxo-mogroside V	1285.42	126105-11-1
8	异罗汉果皂苷 V	Isomogroside V	1287.43	1126032-65-2

## 6.4 标准溶液配制

6.4.1 罗汉果皂苷类化合物标准储备液:准确称取 8 种(表 1)待测物质的标准品,用甲醇溶解后,加入 80%甲醇溶液定量稀释,制成高浓度单标准品储备液。分别移取一定量的 8 种单标准品储备液于 25 mL 容量瓶,80%甲醇溶液定容,制成 0.1 mg/mL 的母液作为标准品储备液。避光 2~4℃以下保存,备用。

6.4.2 罗汉果皂苷类化合物混合标准溶液:用 80%甲醇溶液对 0.1 mg/mL 的母液稀释配成不同浓度的混合标准溶液用于绘制标准曲线。混合标准溶液应现用现配。

## 7 仪器设备

7.1 超高效液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

7.2 电热鼓风干燥箱:温度 50℃~330℃,功率 3.1kW。

7.3 超声波清洗器:超声输入功率 300W。

7.4 离心机:转速不低于 7500 r/min。

7.5 不锈钢粉碎机:细度 50 目~300 目,功率 1.4 kW。

7.6 天平:感量 0.001g 和 0.0001g。

7.7 微量移液器:10 μL~100 μL 和 100 μL~1000 μL。

## 8 试样制备

### 8.1 试样制备

将罗汉果样品混合均匀,分出 0.5 kg 作为试样,用粉碎机粉碎并通过孔径 20 目筛。混匀密封,并做标记。

## 8.2 试样提取

称取罗汉果粉末 0.5 g(精确至 0.0001g),置于 50 mL 离心管中,加入 25 mL 80%甲醇溶液,室温下超声提取 30 min。于 7500 r/min 离心 5 min,将上清液转移至 100 mL 容量瓶中。沉淀物再用 80%甲醇溶液重复提取一次,在相同条件下离心 5 min,合并上清液,80%甲醇溶液定容至 100 mL。上样前,采用 0.22  $\mu$ m 有机相滤膜过滤。

## 9 测定

### 9.1 超高效液相色谱参考条件

9.1.1 色谱柱: Agilent Poroshell 120 SB C18 (100mm  $\times$  2.1mm, 2.7  $\mu$ m)或性能相当者;

9.1.2 流动相 A: 0.1%甲酸水溶液,取 0.1mL 甲酸(5.1.3)加水(5.1.1)定容至 100mL,混匀。

9.1.3 流动相 B: 乙腈。

9.1.4 柱温:室温;

9.1.5 流速:0.2mL/min;

9.1.6 进样量:2  $\mu$ L;

9.1.7 流动相:梯度洗脱程序见表 2。

表 2 流动相及梯度洗脱程序

步骤	运行时间/min	流动相水相/%	流动相乙腈/%
0	0	80	20
1	3	77	23
2	5	77	23
3	18	60	40
4	18.01	80	20
5	22	80	20

### 9.2 质谱参考条件

9.2.1 扫描方式:负离子扫描;

9.2.2 离子化电压:4500 V;

9.2.3 离子源温度:550 $^{\circ}$ C;

9.2.4 气帘气:氮气(纯度为 97%以上),压力为 20 psi;

9.2.5 雾化气:氮气(纯度为 97%以上),气压为 55 psi;

9.2.6 辅助气:氮气(纯度为 97%以上),气压为 45 psi;

9.2.7 检测方式:多反应监测(MRM);

9.2.8 罗汉果皂苷类化合物保留时间和监测离子对信息见附录 A。

### 9.3 供试样品的测定

在仪器的最佳条件下,分别取罗汉果皂苷类化合物混合标准溶液与罗汉果样品上机测定。混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷总离子色谱图和各组分离子色谱图见附录 B。

### 9.4 定性测量

在相同试验条件下测定试样和混合标准溶液,若样品溶液中检出色谱峰的保留时间与基质标准溶液中目标物色谱峰的保留时间一致(变化范围在 $\pm$ 2.5%),且样品溶液的质谱离子对

相对丰度与浓度相当基质标准溶液的质谱离子对相对丰度相比较, 相对离子丰度的相对偏差不超过表 3 规定的范围, 则可判定样品中存在该组分。混合标准溶液中各罗汉果皂苷离子色谱图见附录 B。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度, %	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差, %	±20	±25	±30	±50

## 9.5 定量测量

以不同浓度混合标准溶液的浓度为横坐标, 色谱峰面积(响应值)为纵坐标, 绘制标准曲线, 标准曲线的相关系数应不低于 0.99。试样溶液与标准溶液中待测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。如超出线性范围, 应重新试验或将试样溶液和基质匹配混合标准系列溶液作相应稀释后重新测定。单点校准定量时, 试样溶液中待测物的浓度与溶剂混合标准溶液的浓度相差不超过 30%。

## 9.6 结果计算

用液相色谱-质谱数据处理软件或者按照公式计算试样中检测目标物量, 按公式(1)计算。

$$(1) \quad W = \frac{A \times \rho_i \times V \times f}{A_i \times m}$$

式中:

W—试样中罗汉果皂苷类化合物的含量的数值, 单位为毫克每千克 (mg/kg);

A—样品中罗汉果皂苷类化合物的峰面积;

$\rho_i$ —标准溶液浓度的数值, 单位为毫克每升 (mg/L);

V—定容体积的数值, 单位为毫升 (mL);

f—稀释倍数;

$A_i$ —标样中罗汉果皂苷类化合物的峰面积;

m—最终溶液所代表的试样质量的数值, 单位为克 (g)。

注: 计算结果应扣除空白值, 测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留 3 位有效数字。

## 10 精密度

### 10.1 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立的测定结果的绝对差值不大于这 2 个测定值的算术平均值的 15%。

### 10.2 再现性

在再现性条件下获得的 2 次独立的测试结果的绝对差值不大于 2 个测定值的算术平均值的 15%。

附 录 A  
(资料性附录)

罗汉果皂苷类化合物保留时间、监测离子对信息

罗汉果皂苷类化合物保留时间和监测离子对信息见表 A. 1.

表 A. 1 罗汉果皂苷类化合物保留时间和监测离子对信息

中文名称	保留时间 min	前体离子 m/z	碎片离子 m/z	去簇电压 (V)	碰撞电压 (eV)
罗汉果皂苷 IIe	13.86	799.5	637.6 <sup>q</sup> ; 475.5	-170	-65
罗汉果皂苷 III	12.04	961.6	799.4 <sup>q</sup> ; 637.3	-170	-70
赛门苷 I	10.17	1123.6	961.6 <sup>q</sup> ; 799.2	-220	-75
罗汉果皂苷 IV	11.22	1123.6	961.6 <sup>q</sup> ; 799.2	-220	-75
罗汉果皂苷 IVa	10.64	1123.6	961.6 <sup>q</sup> ; 799.2	-220	-75
罗汉果皂苷 V	8.43	1285.8	1123.7 <sup>q</sup> ; 961.7	-220	-90
11-O-罗汉果皂苷 V	6.32	1283.7	1121.6 <sup>q</sup> ; 959.5	-220	-85
异罗汉果皂苷 V	9.51	1285.8	1123.7 <sup>q</sup> ; 961.7	-220	-90

注：<sup>q</sup>为定量离子。

附录 B  
(规范性附录)

8 种罗汉果皂苷类化合物总离子流图和各组分离子色谱图

混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物总离子色谱图见图 B. 1，混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物各组分离子色谱图见图 B. 2。

B. 1 混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物总离子色谱图

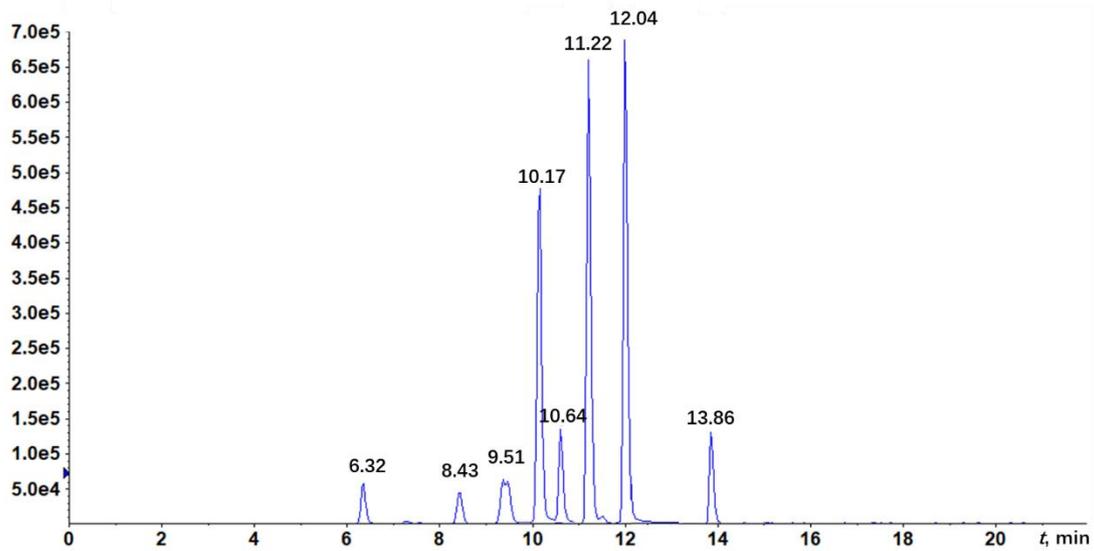


图 B. 1 混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物总离子色谱图

## B.2 混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物各组分离子色谱图

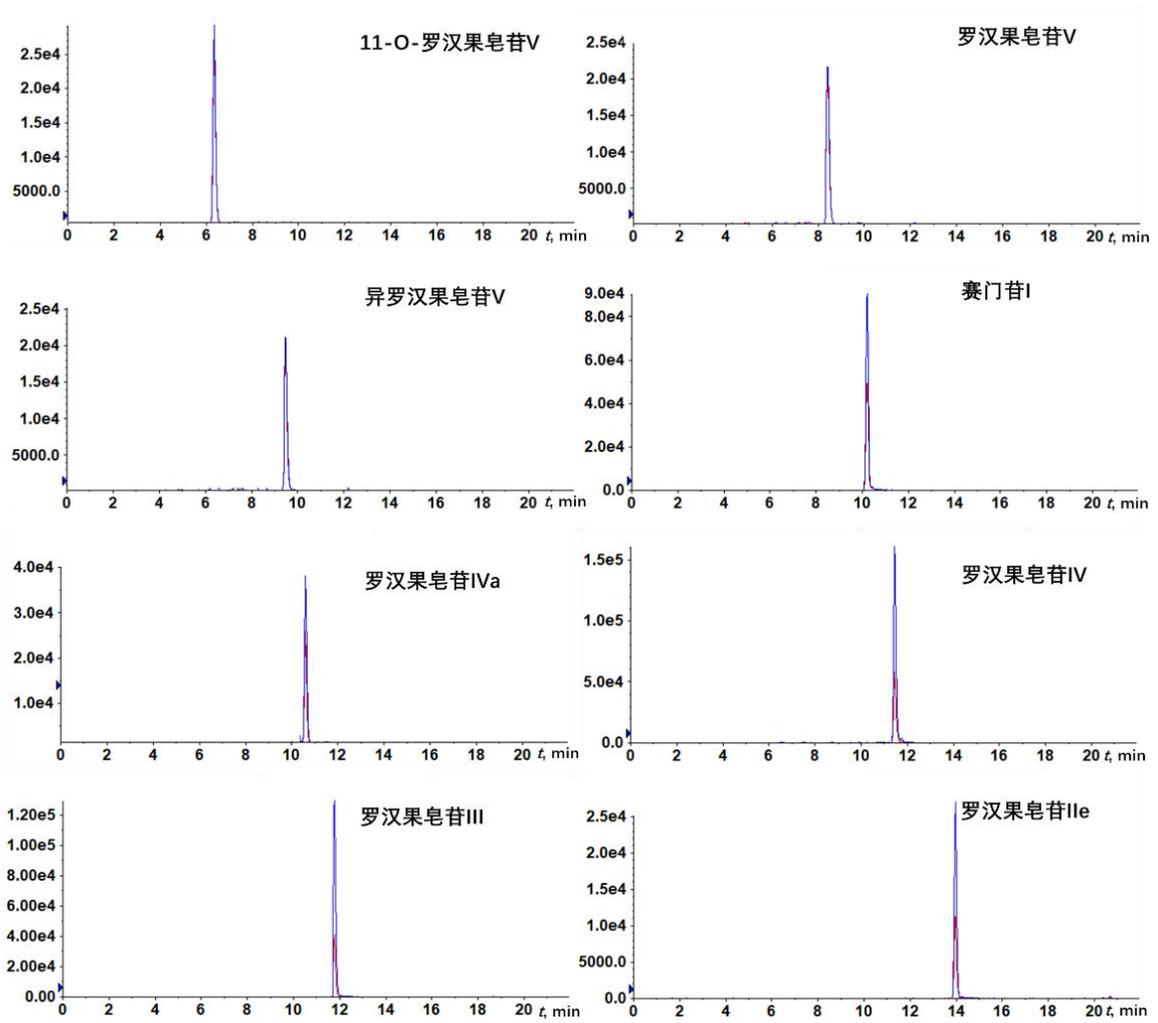


图 B.2 混合标准溶液中 8 种罗汉果皂苷类化合物各组分离子色谱图

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015, 212.
  - [2] 马小军, 莫长明. 药用甜料植物罗汉果遗传资源的挖掘与创新 [M]. 人民卫生出版社, 2024.
  - [3] Lee C. Intense sweetener from Lo Han Kuo (*Momordica grosvenori*) [J]. *Experientia*, 1975, 31(5): 533-534.
  - [4] Kasai R, Matsumoto K, Nie RL, et al. Glycosides from Chinese medicinal plant, *Hemsleya panacis-scandens*, and structure-taste relationship of cucurbitan glycoside[J]. *Chem. Pharm. Bull*, 1988, 36(1): 234-243.
  - [5] Murata Y, Yoshikawa S, Suzuki YA. Sweetness characteristics of the triterpene glycosides in *Siraitia grosvenori*[J]. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 2006, 53(10): 527-533.
  - [6] Jia ZH, Yang X. A minor, sweet cucurbitane glycoside from *Siraitia grosvenorii* [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(6): 769-772.
  - [7] 刘婷, 王旭华, 李春, 等. 罗汉果皂苷V的镇咳、祛痰及解痉作用研究[J]. *中国药物学杂志*, 2007, 42(20): 1534-1536.
  - [8] Luo Z, Shi H, Zhang K, et al. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of multiple sweet mogrosides in the fruits of *Siraitia grosvenorii* and its marketed sweeteners[J]. *Journal of Separation Science*, 2016, 39(21): 4124-4135.
-