DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260520002
引用格式: 黄乐, 邱海洋, 上官雅慧, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法鉴定分析灵芝三萜类化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 115–123.
Huang Le, Qiu Haiyang, Shangguan Yahui, et al. Identification and analysis of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 115–123. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法鉴定分析灵芝三萜类化合物

黄 乐[1], 邱海洋[1], 上官雅慧[1], 陈言枧[2], 刘沁颖[3], 卢巧梅[4*], 陈 立[1*]

(1. 福州大学生物科学与工程学院, 福州 350116; 2. 福建仙芝楼生物科技有限公司, 福州 350108; 3. 福建省肿瘤医院, 福建省肿瘤生物治疗重点实验室, 福州 350014; 4. 福州大学福建省高校测试中心, 福州 350116)

摘 要: 目的 建立超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)快速、高通量定性灵芝三萜类化合物的分析方法。**方法** 基于 UPLC-Q-TOF-MS 高分离度、高分辨率的优势, 通过考察质谱检测条件(离子检测模式、电离源温度及碰撞能量), 归纳三萜类化合物的质谱裂解规律及其特征碎片离子, 构建灵芝三萜类化合物标准谱库; 同时引入加标验证实验, 结合加标样品、实际样品与标准品的保留时间及精确质荷比信息, 实现实际样品中三萜类化合物快速鉴定。**结果** 经优化, 质谱检测方法选择电喷雾电离源负离子模式, 离子源温度为 450 ℃, 电压为–4500 V, 碰撞能量为 45 V。结合标准品比对和三萜类裂解规律, 共鉴定出 32 种三萜类组分和 5 种未知三萜组分。**结论** 该分析方法分离效果好、灵敏度高、专属性强, 可实现灵芝三萜类化合物的快速定性与初步结构解析, 适用于灵芝化学成分鉴定与质量控制, 也为后续三萜类活性物质开发研究提供了方法参考。

关键词: 灵芝三萜; 裂解规律; 标准谱库; 组分鉴定
中图分类号: R151.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)15–0115–09

Identification and analysis of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry

HUANG Le[1], QIU Hai-Yang[1], SHANGGUAN Ya-Hui[1], CHEN Yan-Jian[2], LIU Qin-Ying[3], LU Qiao-Mei[4*], CHEN Li[1*]

收稿日期: 2026-05-20
基金项目: 福建省自然科学基金项目(2025J01523)
第一作者: 黄乐(2001—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 2656497112@qq.com
***通信作者:** 卢巧梅(1983—), 女, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为药物分析。E-mail: luqm@fzu.edu.cn
陈立(1981—), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为药物和天然产物分析。E-mail: ibptcl@fzu.edu.cn

(1. *College of Biological Science and Engineering*, *Fuzhou University*, *Fuzhou* 350116, *China*; 2. *Fujian Xianzhilou Biological Technology Company Limited*, *Fuzhou* 350108, *China*; 3. *Fujian Provincial Key Laboratory of Tumor Biotherapy*, *Fujian Provincial Cancer Hospital*, *Fuzhou* 350014, *China*; 4. *Fujian College Association Instrumental Analysis Center of Fuzhou University*, *Fuzhou* 350116, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid and high-throughput qualitative method for analysis of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). **Methods** Based on the advantages of UPLC-Q-TOF-MS with high separation efficiency and high resolution, the mass spectrometer detection conditions (including the ion detection mode, ion source temperature and collision energy) were optimized. The mass spectral fragmentation patterns and characteristic fragment ions of triterpenoids were summarized, and a standard spectral library of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* was constructed. Meanwhile, sample spiking verification experiments were introduced. Combined with the retention time and accurate mass-to-charge ratio information of spiked samples, actual samples and reference standards, the rapid identification of triterpenoids was realized. **Results** After optimization, the mass spectrometry detection was employed electrospray ionization in negative-ion mode, with an ion source temperature of 450 ℃, a voltage of –4500 V and a collision energy of 45 V. Combined with standard substance comparison and triterpenoid cleavage rules, a total of 32 kinds of triterpenoid components and 5 kinds of unknown triterpenoid components were identified. **Conclusion** This analytical method has excellent separation performance, high sensitivity and strong specificity. It enables rapid qualitative identification and preliminary structural elucidation of triterpenoids from *Ganoderma lucidum*. It is applicable to the chemical composition characterization and quality control of *Ganoderma lucidum* and also provides a methodological reference for further research of triterpenoid active substances.

KEY WORDS: triterpenoids from *Ganoderma lucidum*; fragmentation rules; standard spectrum library; component identification

0 引 言

灵芝作为传统名贵药用真菌[1], 其核心活性成分灵芝三萜类化合物[2], 在抑制肿瘤增殖[3]、调节机体免疫[4]、保肝保肾[5–6]等方面具有独特药理作用。然而, 灵芝三萜结构多样、同分异构体丰富, 不同来源、不同加工方式的灵芝产品中, 三萜成分的种类与含量差异显著[7], 如 Liu 等[8]通过高效液相色谱法测定不同生长阶段的灵芝提取物中 5 种三萜类成分, 发现不同阶段该成分的种类和含量明显不同, 将直接影响产品的实际药效和临床使用安全。因此, 对灵芝三萜开展精准、高效的定性分析, 是实现灵芝产品质量可控与药效可溯源的先决条件。

目前灵芝定性方法多样, 包括薄层色谱法[9]、高效液相色谱法[10]、核磁共振技术[11]、超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)技术[12]等。薄层色谱法依据组分在固定相与流动相间的吸附/分配差异实现分离, 通过比移值与对照品比对完成初步鉴别[13]。张颖等[14]建立灵芝溯源高效薄层色谱法, 优化展开剂与显色剂, 从福建灵芝中分离出 17 个组分, 鉴定出 11 种灵芝酸成分, 但该法分辨率低, 易出现斑点重叠, 影响定性准确性[15]。高效液相色谱法分离快速、可多组分同时分析[16]。Zheng 等[17]采用该法分析灵芝孢子粉, 鉴定出 5 种主要三萜类成分, 但仅用紫外检测器时存在假阳性干扰、灵敏度低等问题。核磁共振技术基于原子核对射频能量的吸收, 在有机物结构解析中作用显著[18], 蔡芳[19]通过该技术从灵芝中分离鉴定出 2 个新对映体化合物, 为活性成分研究提供依据。但核磁共振技术存在样品预处理复杂、对微量组分鉴定能力不足的缺点[20]。相比而言, UPLC-Q-TOF-MS 兼具色谱快速分离与高分辨质谱精准定性优势[21], 在解决灵芝三萜结构复杂、组分重叠、异构体繁多等难题方面展现出独特优势。

然而, 现有 UPLC-Q-TOF-MS 应用于灵芝三萜的研究多局限于单一或少数化合物的碎片解析[19,21], 尚未明确建立系统的、按骨架构型分类的裂解规律。针对上述瓶颈, 本研究系统归纳了灵芝不同骨架类型三萜的质谱裂解行为与骨架构型的关联规律, 并据此构建了灵芝三萜谱库。本研究为灵芝产品的质量评价提供了可靠的技术工具, 同时为天然产物中复杂活性成分的系统筛查与结构表征研究提供方法学参考和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

灵芝产品样品 XKA 来自福建仙芝楼生物科技有限公司。

灵芝三萜标准品(纯度≥98%, 武汉天植生物技术有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯)、乙醇、二甲基亚砜(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司); 实验用水(18.2 MΩ•cm, 美国 Millipore 公司)。

LC-40DX3 型超高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); ZenoTOF 7600 型四极杆-飞行时间-质谱-串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); Millipore Q 型纯水机(美国 Millipore 公司); BCE551-10CN 电子天平(0.01 mg, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); 菩盛 C_{18} 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm)(中国菩盛科技有限公司); 0.22 μm 微孔滤膜(常德比克曼生物科技有限公司)。

1.2　标准溶液及实际样品的制备

标准溶液的配制: 使用二甲基亚砜分别配制34种灵芝三萜类物质的标准储备溶液, 初始质量浓度均为 1 mg/mL。使用乙腈作为稀释剂, 配制不同质量浓度的标准工作溶液。所有标准溶液在使用前均在–20 ℃冰箱中避光保存。

混合标准溶液的配制: 根据所得各标准品保留时间与质荷比特征, 将 34 种三萜类物质分为 6 组。分别精密移取各组分标准溶液, 以乙腈作为稀释剂, 配制成 6 组质量浓度均为 25 μg/mL 的混合标准溶液, –20 ℃ 冰箱中避光保存。

实际样品的制备: 取 0.5 g 试样于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 无水乙醇, 超声提取 30 min, 冷却摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, –20 ℃冰箱中避光保存[22]。

1.3　色谱-质谱检测条件

色谱条件: 采用菩盛 C_{18} 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流速为 0.4 mL/min; 流动相 A 为 0.1%甲酸-水溶液, 流动相 B 为乙腈; 柱温为 35 ℃, 进样量为 2 μL, 总运行时间为 75 min; 紫外检测波长分别设置 200、220、254 nm。梯度洗脱程序: 0~3 min, B 相体积分数由 20%升高至 26.5%; 3~34 min, B 相体积分数维持 26.5%; 34~52 min, B 相体积分数由 26.5%升高至 38.5%; 52~55 min, B 相体积分数由 38.5%升高至 100.0%, 并维持至 65 min; 65~67 min, B 相体积分数由 100.0%降低至 20.0%; 67~75 min, B 相体积分数维持在 20.0%。

质谱条件: 采用电喷雾电离源负离子模式(electrospray ionization in negative-ion mode, ESI–); 离子源喷雾电压–4500 V; 干燥气温度 450 ℃; 碰撞气为高纯氮气(纯度≥99.99%), 碰撞能量为 45 V, 喷雾气压力 50 psi, 辅助加热气压力 55 psi。

1.4　方法学验证实验

定性分析中, 重点对标准品进样的色谱保留时间和高分辨质谱的质量精密度进行考察。以同一天内连续进样 5 次, 计算保留时间的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。相同条件下, 计算各组分实测质荷比(m/z)与理论值的质量精度, 计算公式为: 质量精度=($m_{实测}-m_{理论}$)/$m_{理论}\times10^6$, 结果以 ppm 表示。

1.5　数据处理

OS 软件(版本号 3.4)进行数据分析和处理; Origin Pro 2022 进行绘图。

2　结果与分析

2.1　质谱检测条件优化

三萜类化合物结构上有多个羟基, 致使一部分三萜类化合物在质谱中易发生脱水裂解, 为获得稳定的母离子信号, 本研究对减氢峰[M-H]$^-$与脱水峰[M-H_2O-H]$^-$的质谱响应强度进行优化, 并选择响应更高的[M-H]$^-$作为定性离子。质谱条件优化以灵芝烯酸 B (ganoderenic acid B, GLB, 分子式 $C_{30}H_{42}O_7$)为代表示例。同一天内连续进样 5 次, 保留时间的 RSD 为 0.38%, 质量误差仅在±0.6 ppm 内, 满足 Q-TOF 准确定性的要求。

2.1.1　离子源检测模式的选择

GLB 化合物精确分子量为 514.2930, [M+H]$^+$与[M-H]$^-$测量值分别为 515.3002 与 513.2875。对比正负离子模式下目标物的响应强度(图 1)发现, 目标物 ESI–模式下待测物质谱强度高、谱峰相对简单(仅[M-H_2O-H]$^-$峰), 因此选择 ESI–作为电离模式 A。

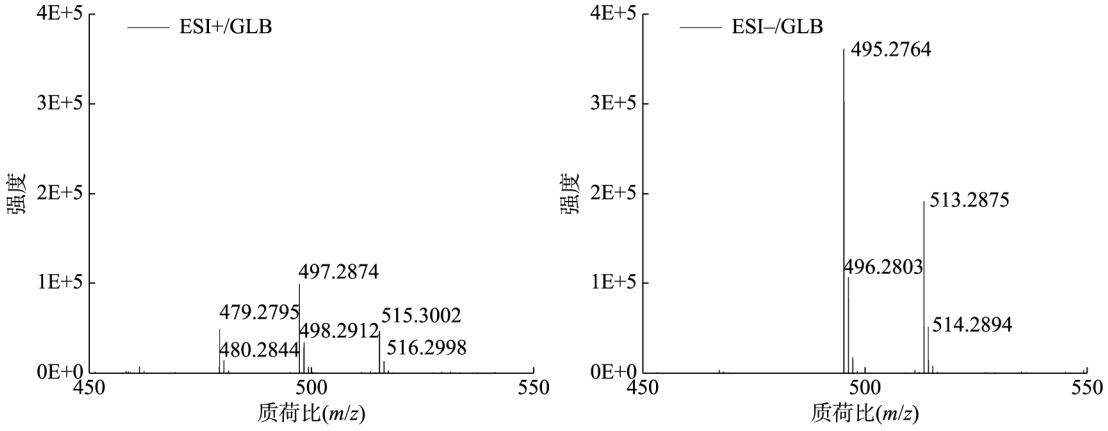


图 1　GLB 物质的离子源检测模式的选择

Fig.1　Selection of ion source detection mode for GLB substances

2.1.2 离子源温度与碰撞能的优化

离子源温度会影响目标物自身在源内的稳定性和质谱响应强度。在电压–4500 V 的基础上，在温度 350~550 ℃范围内对比 GLB [M-H]⁻与[M-H_2O-H]⁻强度变化，最终观察到 450 ℃下，[M-H]⁻强度较高，故选用 450 ℃。以碰撞诱导解离作为碰撞模式，分别设置 40~50 V 不同能量，结果表明，碰撞能低于 40 V 时，母离子响应仍较高，未充分裂解。碰撞能大于 50 V 时，存在过度打碎的情况，因此选择 45 V 作为最终碰撞能量。

2.2 灵芝三萜类裂解规律总结和标准品谱库建立

灵芝三萜类化合物大多为 C24~C30 型高度氧化的羊毛甾烷型四环三萜[23]，结构相似，由基本碳骨架及不同取代基组成(图 2)。该类物质裂解主要分为两方面。(1)基本母核骨架的裂解，灵芝三萜的 A、B、C、D 4 个稠合环稳定性较弱，其角甲基连接碳(C-20、C-21、C-22)与侧链连接位均易发生 C-C 键断裂，伴随开环、脱氢与分子内重排，形成一系列特征性骨架碎片离子(如 *m/z* 303.1966、301.1809、285.1860、249.1496 等)，可用于判断三萜母核类型；(2)取代基的断裂与重排，母核上连接的 R1~R6 取代基易发生中性丢失，羟基取代易发生脱水(-H_2O)；乙酰氧基取代易发生乙酸丢失(-CH_3COOH)；羧基取代易出现脱羧(-CO_2)等，同时伴随着自由基断裂与氢重排过程，形成一系列特征碎片离子。通过对上述骨架裂解规律与取代基碎片信息的综合解析，可实现对灵芝三萜类化合物结构的系统推导与快速鉴定。

根据定性分析策略，建立了已有 34 种标准品的二级质谱库，包含化合物分子式、特征碎片离子及典型二级质谱图等信息。该谱库的建立能提升组分识别的效率，实现对实际样品中多种三萜类成分的快速筛查与可靠鉴定。

2.3 实际样品组分确证

2.3.1 标准品谱库确认

对 6 组灵芝三萜混合标准溶液进行分析，结合加标样品、实际样品与标准品的保留时间及精确质荷比信息，并基于谱库检索与确认，可快速鉴定实际样品 XKA 中三萜类化合物。

以 GLB ([M-H]⁻理论值为 513.2858)为例(图 3)。结合保留时间、精确分子量、谱库搜索等多指标验证，确定 XKA 样品中保留时间 23.72 min 的组分为 GLB，保留时间为 26.05 min 的组分为灵芝酸 B (ganoderic acid B, GAB，分子式 $C_{30}H_{44}O_7$)。其他标准品的鉴定思路与 GLB、GAB 类似(图 4)。通过自建库检索、二级质谱图确认与加标验证，在 XKA 样品中共鉴定出 32 种三萜类化合物，未测得灵芝酸 D 甲酯和 20-羟基灵芝酸 G(表 1)。上述结果表明，本研究所建立的分析方法准确可靠，适用于实际样品中已知灵芝三萜组分的定性确证。

2.3.2 实际样品未知灵芝三萜的鉴定

在 XKA 实际样品分析中，仍有 5 个化合物未明确定性(图 4)。这些物质不饱和度处于 9~12 之间，符合四环三萜骨架特征[24]；其碳原子数与分子量落在三萜苷元的常见区间[25]；且二级质谱中呈现出明显的脱水、脱羧裂解行为，与羊毛甾烷型灵芝三萜结构裂解规律较符合[26]。进一步结合保留时间、精确质荷比及二级特征碎片等信息(表 2)，可对 5 种未知化合物进行初步鉴定与结构解析。

未知物 1 的鉴定。对于保留时间为 30.010 min 的未知物 1，结合三萜类骨架构成与特征碎片 *m/z* 301.1809、285.1496(图 5)，推测其 R1 侧链为酮基，R2、R4 侧链均为羟基，结合 PubChem 及相关文献[27]，推断该化合物为赤芝酸 B。其余未知物的质谱裂解途径与未知物 1 类似，碎片详

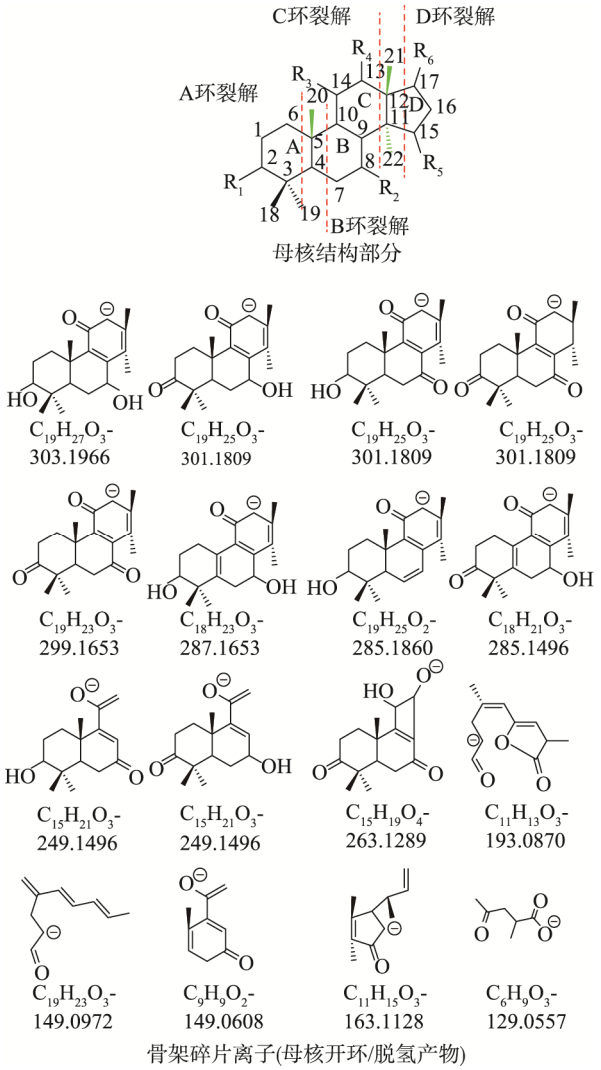
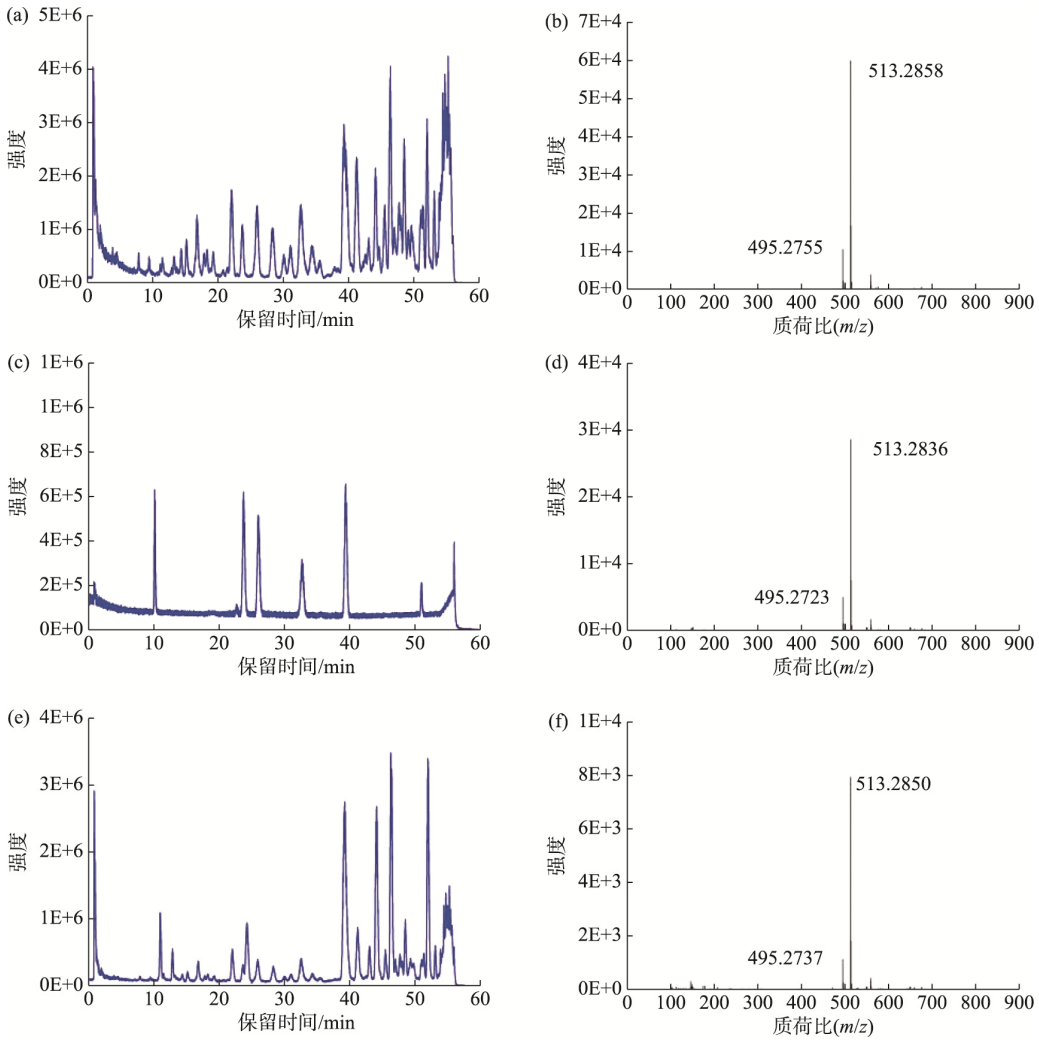


图 2 裂解规律推断及三萜特征碎片

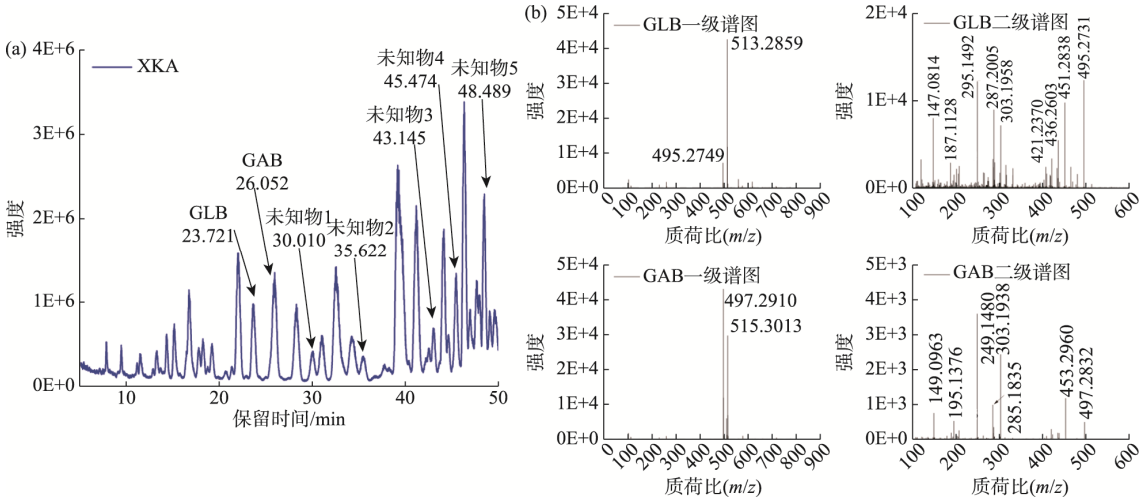
Fig.2 Elucidation of fragmentation rules and characteristic fragments of triterpenes



注: (a)、(c)、(e)分别对应 XKA 样品、组 1 标准品及 XKA 加标样品离子流图, (b)、(d)、(f)分别为上述样品中该组分的一级质谱图; XKA 样品加标质量浓度为 10 μg/mL。

图 3　XKA、组 1 标准品、XKA 加标样品离子流图及对应 GLB 一级质谱图

Fig.3　Ion chromatograms of XKA, group 1 standard and XKA spiked sample and corresponding full scan mass spectra of GLB



注: (a)实际样品离子流图; (b)标样质谱图。

图 4　XKA 分析结果

Fig.4　Analysis results of XKA

表 1 XKA 实际样品成分鉴定

Table 1 Identification of triterpenoids in XKA sample

组别	化合物	分子式	保留时间/min	理论值 $[M-H]^-$	测量值 $[M-H]^-$	偏差/ppm	主要碎片离子
组 1	灵芝酸 C_6	$C_{30}H_{42}O_8$	19.39	529.2807	529.2810	0.6	511.27, 481.22, 467.28, 437.23, 301.18, 189.12
	灵芝烯酸 K	$C_{32}H_{44}O_9$	31.11	571.2913	571.2920	1.2	553.28, 511.26, 467.28, 449.26, 303.19, 147.08
	20(21)-脱氢赤芝酸 A	$C_{27}H_{36}O_6$	38.62	455.2439	455.2429	–2.2	395.22, 383.22, 351.23, 335.20, 247.13, 149.06
	灵芝酸 D 甲酯	$C_{31}H_{44}O_7$	未检出	527.3014	未检出	未检出	509.29, 495.27, 301.18, 247.13, 149.06, 111.04
	赤芝酸 A	$C_{27}H_{38}O_6$	41.20	457.2596	457.2601	1.1	439.24, 395.25, 301.18, 287.16, 247.13, 149.06
	赤芝酸 D2	$C_{29}H_{38}O_8$	47.61	513.2494	513.2512	3.5	471.23, 453.22, 441.19, 328.13, 299.16, 195.10
组 2	灵芝酸 G	$C_{30}H_{44}O_8$	22.06	531.2963	531.2960	–0.6	513.28, 469.29, 451.28, 301.17, 265.14, 249.14
	灵芝烯酸 H	$C_{30}H_{40}O_7$	26.43	511.2701	511.2710	1.8	493.26, 467.28, 449.27, 301.18, 249.14, 147.08
	20-羟基灵芝酸 G	$C_{30}H_{44}O_9$	未检出	547.2913	未检出	未检出	529.28, 511.27, 467.28, 301.18, 265.14, 129.05
	灵芝酸 K	$C_{32}H_{46}O_9$	32.70	573.3069	573.3064	–0.9	555.29, 511.30, 469.29, 451.28, 303.19, 265.14
	灵芝酸 D2	$C_{30}H_{42}O_8$	41.29	529.2807	529.2807	0.0	511.26, 467.27, 299.16, 263.12, 249.14, 147.08
	灵芝酸 C1	$C_{30}H_{42}O_7$	46.47	513.2858	513.2862	0.8	495.27, 451.28, 301.18, 283.17, 247.13, 149.06
组 3	灵芝酸 I	$C_{30}H_{44}O_8$	12.07	531.2963	531.2960	–0.6	513.28, 469.29, 401.23, 289.18, 249.14, 129.05
	灵芝酸 N	$C_{30}H_{42}O_8$	24.48	529.2807	529.2801	–1.1	511.26, 493.25, 301.17, 247.13, 149.06, 129.05
	去乙酰基灵芝酸 F	$C_{30}H_{40}O_8$	39.33	527.2650	527.2660	1.9	509.25, 479.20, 465.26, 435.21, 301.14, 189.12
	灵芝烯酸 D	$C_{30}H_{40}O_7$	44.25	511.2701	511.2712	2.2	493.26, 449.27, 301.18, 285.18, 247.13, 149.06
	灵芝酸 D	$C_{30}H_{42}O_7$	46.43	513.2858	513.2864	1.2	495.27, 451.28, 301.18, 283.17, 247.13, 149.06
	灵芝酸 F	$C_{32}H_{42}O_9$	52.16	569.2756	569.2760	0.7	551.26, 509.25, 479.20, 465.26, 447.25, 147.08
组 4	灵芝烯酸 C	$C_{30}H_{44}O_7$	14.48	515.3014	515.3015	0.2	497.29, 453.29, 303.19, 287.16, 193.08, 149.09
	灵芝酸 C2	$C_{30}H_{46}O_7$	16.80	517.3171	517.3178	1.4	499.30, 455.31, 303.19, 287.16, 195.10, 151.11
	灵芝烯酸 E	$C_{30}H_{40}O_8$	34.66	527.2650	527.2652	0.4	509.25, 491.24, 447.25, 299.16, 263.12, 147.08
	灵芝酸 H	$C_{32}H_{44}O_9$	39.56	571.2913	571.2919	1.1	553.28, 511.27, 481.22, 467.28, 437.23, 301.18
	12-*β*-灵芝酸 M	$C_{30}H_{42}O_8$	41.20	529.2807	529.2806	–0.2	511.27, 467.28, 449.26, 299.16, 263.12, 249.14
	灵芝酸 J	$C_{30}H_{42}O_7$	53.20	513.2858	513.2860	0.4	495.27, 451.28, 421.23, 301.18, 285.14, 193.08
组 5	赤芝酸 SP1	$C_{27}H_{40}O_6$	17.63	459.2752	459.2749	–0.7	441.26, 303.19, 289.18, 249.14, 209.11, 137.09
	灵芝酸 LM2	$C_{30}H_{42}O_7$	32.01	513.2858	513.2860	0.4	495.27, 451.28, 301.18, 193.08, 149.09, 123.08
	12-羟基灵芝酸 D	$C_{30}H_{42}O_8$	40.87	529.2807	529.2801	–1.1	511.27, 467.27, 299.16, 285.15, 263.12, 249.14
	灵芝酸 Df	$C_{30}H_{44}O_7$	44.42	515.3014	515.3018	0.8	497.29, 453.30, 355.22, 285.18, 193.08, 149.09
	灵芝烯酸 F	$C_{30}H_{38}O_7$	47.01	509.2545	509.2543	–0.4	491.24, 465.26, 447.25, 299.16, 247.13, 147.08
组 6	灵芝内酯 B	$C_{27}H_{38}O_6$	10.91	457.2596	457.2566	–6.6	413.26, 395.25, 303.19, 249.14, 163.11, 109.06

表 1(续)

组别	化合物	分子式	保留时间/min	理论值 $[M-H]^-$	测量值 $[M-H]^-$	偏差/ppm	主要碎片离子
	灵芝烯酸 B	$C_{30}H_{42}O_7$	23.72	513.2858	513.2846	–2.3	495.27, 451.28, 303.19, 287.20, 249.14, 147.08
	灵芝酸 B	$C_{30}H_{44}O_7$	26.05	515.3014	515.2997	–3.3	497.29, 453.30, 303.19, 285.18, 249.15, 149.09
	灵芝烯酸 A	$C_{30}H_{42}O_7$	32.73	513.2858	513.2847	–2.1	495.27, 451.28, 301.18, 193.08, 149.09, 123.08
	灵芝酸 A	$C_{30}H_{44}O_7$	39.28	515.3014	515.3000	–2.7	497.29, 453.29, 301.18, 285.14, 195.10, 149.06

细信息见表2。未知物2的鉴定。对于保留时间为35.622 min的未知物 2，结合三萜类骨架构成与特征碎片 467.2803、263.1289，推测 R1、R2、R4 侧链均为羟基，推断该化合物为 3*β*,7*β*,12*β*-三羟基–11,15,23-三羰基-羊毛甾–8,20-二烯-26-酸[28]。未知物 3 的鉴定。对于保留时间为 43.145 min 的未知物 3，结合三萜类骨架构成与特征碎片 301.1809、247.1340、149.0608，推测 R1、R2、R4 侧链分别为羟基、酮基与氢原子组成，推断该化合物为灵芝酸 AM1[29]。未知物 4 的鉴定。对于保留时间为 45.474 min 的未知物 4，结合三萜类骨架构成与特征碎片 247.1340、163.1128、149.0608，推测 R1、R2、R4 侧链分别为酮基、羟基与氢原子组成，推断该化合物为灵芝内酯 A[30]。未知物 5 的鉴定。对于保留时间为 48.489 min 的未知物 5，结合三萜类骨架构成与特征碎片 299.1653、247.1340、149.0608，推测 R1、R2 侧链均为酮基，R4 侧链为氢原子，推断该化合物为灵芝烯酸 G[31]。

表 2　XKA 未知组分信息

Table 2　XKA unknown component information

信息	未知物 1	未知物 2	未知物 3	未知物 4	未知物 5
保留时间/min	30.010	35.622	43.145	45.474	48.489
$[M-H]^-$ 测量值	473.2525	529.2790	513.2843	455.2427	511.2685
二级碎片	455.2432, 437.2316, 425.1952, 407.1846, 285.1496, 301.1809	511.2696, 467.2803, 469.2666, 301.1798, 285.1483, 263.1289	495.2716, 451.2847, 436.2611, 301.1809, 247.1340, 149.0608	437.2303, 411.2543, 301.1799, 247.1340, 149.0608, 163.1128	493.2585,449.2693, 434.2463, 299.1653, 247.1340, 149.0608
可能分子式	$C_{27}H_{38}O_7$	$C_{30}H_{42}O_8$	$C_{30}H_{42}O_7$	$C_{27}H_{36}O_6$	$C_{30}H_{40}O_7$
理论值(*m*/*z*)	473.2545	529.2807	513.2858	455.2439	511.2701
误差/ppm	4.2	3.2	2.9	2.6	3.1
不饱和度	9	10	10	12	11
可能化合物	赤芝酸 B[27]	3*β*,7*β*,12*β*-三羟基–11,15,23-三羰基-羊毛甾–8,20-二烯–26-酸[28]	灵芝酸 AM1[29]	灵芝内酯 A[30]	灵芝烯酸 G[31]

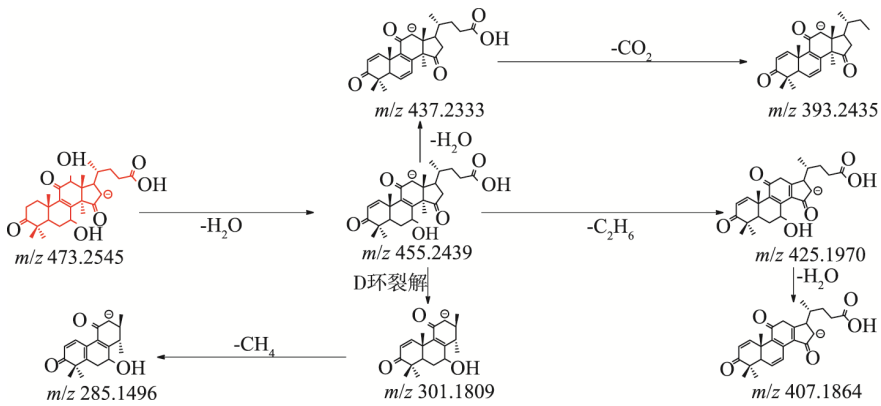


图 5　赤芝酸 B 裂解途径

Fig.5　Fragmentation pathway of lucdenic acid B

3 结 论

三萜类物质是灵芝的主要活性成分和关键药效物质群。本研究借助已有的灵芝三萜标准品，对质谱裂解规律进行归纳总结，构建“裂解规律-骨架类型”关联的定性策略。在此基础上，自建谱库用于复杂样品中灵芝三萜的快速初筛和鉴定。以 XKA 为实际样品，通过有效分组和方法优化，共鉴定出 32 种已知三萜类组分以及 5 种未知三萜类组分。该方法在灵芝三萜的快速鉴定中表现出良好的可靠性，有效解决了传统分离鉴定周期长、标准品依赖度高的技术难题。特别是 XKA 样品中 5 种潜在新三萜化合物的发现，若能进一步进行分离纯化，结合核磁共振、光谱解析等多种技术确证，有望能阐明这些未知物的确切结构，从而为灵芝活性组分开发及质量控制提供更为丰富的化学信息。

参考文献

[1] Wang Peng, Fang Fei, Yao Chunxin, et al. Comparison of nutritional and medicinal ingredients between *Ganoderma leucocontextum* and *G. lucidum* [J]. Agronomy, 2024, 14(11): 2523.

[2] Soccol C R, Bissoqui L Y, Rodrigues C, et al. Pharmacological properties of biocompounds from spores of the Lingzhi or reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes): a review [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2016, 18(9): 757–767.

[3] 徐宾, 贾薇, 王忠, 等. 灵芝酸 A 对前列腺癌 LNCaP 细胞的生长抑制作用及机制[J]. 菌物学报, 2019, 38(5): 717–727.
Xu Bin, Jia Wei, Wang Zhong, et al. The effect and mechanism of ganoderic acid A (GA-A) inhibiting the growth of prostate cancer LNCaP cells [J]. Mycosystema, 2019, 38(5): 717–727.

[4] Chen M L, Hsieh C C, Chiang B L, et al. Triterpenoids and polysaccharide fractions of *Ganoderma tsugae* exert different effects on antiallergic activities [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015: 754836.

[5] 周佳丽, 陈晗琪, 杨兰, 等. 灵芝防治非酒精性脂肪肝的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(8): 41–49.
Zhou Jiali, Chen Hanqi, Yang Lan, et al. Research progress of *Ganoderma lucidum* in the prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(8): 41–49.

[6] Su Limin, Liu Liying, Jia Yingli, et al. *Ganoderma* triterpenes retard renal cyst development by downregulating Ras/MAPK signaling and promoting cell differentiation [J]. Kidney International, 2017, 92(6): 1404–1418.

[7] 谢文超. 灵芝绿茶胶囊的制备工艺及药效学研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2024: 64–69.
Xie Wenchao. Study on the preparation technology and effectiveness of *Ganoderma lucidum* green tea capsules [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2024: 64–69.

[8] Liu Jie, Kurashiki K, Fukuta A, et al. Quantitative determination of the representative triterpenoids in the extracts of *Ganoderma lucidum* with different growth stages using high-performance liquid chromatography for evaluation of their 5*α*-reductase inhibitory properties [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 1034–1038.

[9] 崔晓莹. 灵芝中的三萜类化合物(灵芝酸)的提取条件优化及其结构分析[D]. 长春: 东北师范大学, 2007: 21–23.
Cui Xiaoying. Studies on extraction, separation and identification of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2007: 21–23.

[10] Tokul-Ölmez Ö, Kaplaner E, Öztürk M. Impact of collection locations and host trees on the bioactive triterpene composition and antioxidant activity of four *Ganoderma* species: a chemometric analysis [J]. Chemistry & Biodiversity, 2025, 22(9): e202500206.

[11] 罗俊, 林志彬. 波谱和 X-衍射分析鉴定赤芝子实体三萜类化合物的结构[J]. 中草药, 2002, 33(3): 197–200.
Luo Jun, Lin Zhibin. Structure identification of triterpenes from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* by NMR spectra and X-ray diffraction analysis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2002, 33(3): 197–200.

[12] Chen Lingxiao, Chen Xianqiang, Wang Shenfei, et al. Analysis of triterpenoids in *Ganoderma resinaceum* using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2019, 436: 42–51.

[13] 刘琴, 吴霜, 徐文龙, 等. 中药秘方还是化学激素—探究药物化学成分的综合性实验设计[J]. 大学化学, 2026, 2510046. DOI:10.12461/PKU.DXHX202510046.
Liu Qin, Wu Shang, Xu Wenlong, et al. Traditional Chinese medicine secret formula or chemical hormones: a comprehensive experimental design for pharmaceutical component analysis [J]. University Chemistry, 2026, 2510046. DOI:10.12461/PKU.DXHX202510046.

[14] 张颖, 蒋昆霞, 关梦瑶, 等. 福建灵芝高效薄层色谱鉴别及其在溯源中的应用[J]. 药学研究, 2023, 42(2): 98–104.
Zhang Ying, Jiang Kunxia, Guan Mengyao, et al. Identification of *Ganoderma lucidum* from Fujian by high performance thin layer chromatography and its application in traceability [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2023, 42(2): 98–104.

[15] 邓哲, 荆文光, 刘安. 薄层色谱法在当前中药质量标准中的应用探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 201–206.
Deng Zhe, Jing Wenguang, Liu An. Discussion about application of thin layer chromatography in current quality standard control [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2019, 25(7): 201–206.

[16] 赵岩, 妙志岩, 牛淑静, 等. 人参茸芝胶囊的质量控制研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1369–1375.
Zhao Yan, Miao Zhiyan, Niu Shujing, et al. Study on quality control for Renshen Rongzhi capsules [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(4): 1369–1375.

[17] Zheng Guobin, Zhao Yun, Li Zhenhao, et al. GLSP and GLSP-derived triterpenes attenuate atherosclerosis and aortic calcification by stimulating ABCA1/G1-mediated macrophage cholesterol efflux and inactivating RUNX2-mediated VSMC osteogenesis [J]. Theranostics, 2023, 13(4): 1325–1341.

[18] Rodrigues M H P, D’Avila R F, Da Costa Cabrera D, et al. Assessment of the profile of fungal defense-related metabolites in tomatoes during ripening by classical and NMR techniques [J]. Food Bioscience, 2024, 58: 103615.

[19] 蔡芳. 灵芝逆转肿瘤多药耐药化学成分的研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2017: 20–48.
Cai Fang. Studies on chemical constituents from *Ganoderma lucidum* and their MDR reversal activity [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2017: 20–48.

[20] Kent J E, Ackermann B E, Debelouchina G T, et al. Dynamic nuclear polarization illuminates key protein-lipid interactions in the native bacterial cell envelope [J]. Biochemistry, 2023, 62(15): 2252–2256.

[21] 李心恬, 黄科, 黄刚, 等. QuEChERS dSPE EMR-Lipid-液相色谱-四极杆飞行时间质谱法定性筛查粮谷中 29 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 76–83.
Li Xintian, Huang Ke, Huang Gang, et al. Qualitative screening of 29 kinds of mycotoxins in grain by QuEChERS dSPE EMR-Lipid and liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 76–83.

[22] 胡娟, 庞文生. 1,2-丙二醇/甜菜碱低共熔溶剂提取灵芝三萜的研究[J]. 中国医药导刊, 2025, 27(12): 1312–1320.
Hu Juan, Pang Wensheng. Research on the extraction of *Ganoderma* triterpenes using 1, 2-propanediol/betaine binary deep eutectic solvent [J]. Chinese Journal of Medical Guide, 2025, 27(12): 1312–1320.

[23] Xia Qing, Zhang Huazheng, Sun Xuefei, et al. A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma* spp [J]. Molecules, 2014, 19(11): 17478–17535.

[24] Ruan Wei, Liu Junli, Zhang Shixiong, et al. Sour jujube (*Ziziphus jujuba* var. *spinosa*): a bibliometric review of its bioactive profile, health benefits and trends in food and medicine applications [J]. Foods, 2024, 13(5): 636.

[25] Wu Peng, Zhang Chengyun, Yin Yueyue, et al. Bioactivities and industrial standardization status of *Ganoderma lucidum*: a comprehensive review [J]. Heliyon, 2024, 10(19): e36987.

[26] Cheng Chunru, Yang Min, Wu Zhiyuan, et al. Fragmentation pathways of oxygenated tetracyclic triterpenoids and their application in the qualitative analysis of *Ganoderma lucidum* by multistage tandem mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2011, 25(9): 1323–1335.

[27] Nishitoba T, Sato H, Kasai T, et al. New bitter C27 and C30 terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (reishi) [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1985, 49(6): 1793–1798.

[28] Jiao Yang, Xie Ting, Zou Luhui, et al. Lanostane triterpenoids from *Ganoderma curtisii* and their NO production inhibitory activities of LPS-induced microglia [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2016, 26(15): 3556–3561.

[29] Liu Liying, Chen Hui, Liu Chao, et al. Triterpenoids of *Ganoderma* theaecolum and their hepatoprotective activities [J]. Fitoterapia, 2014, 98: 254–259.

[30] Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, et al. Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum* [J]. Chemistry & Biodiversity, 2007, 4(2): 224–231.

[31] Zhao Ruolin, He Yumin. Network pharmacology analysis of the anti-cancer pharmacological mechanisms of *Ganoderma lucidum* extract with experimental support using Hepa1-6-bearing C57 BL/6 mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 210: 287–295.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)