

DOI:10.19403/j.cnki.1671-1521.2019.05.004

不同年生野山参中总皂苷和总多糖的含量测定

杨怀雷,徐芳菲,李蕾,韩士冬,曹志强*
(吉林人参研究院·吉林通化·134001)

摘要:目的 建立测定不同年生野山参中人参总皂苷和总多糖含量的方法。方法 采用紫外分光光度法在544nm和492nm波长处分别测定总皂苷及总多糖的含量。结果 不同年生野山参中人参总皂苷及总多糖的含量分别为3.24%~6.37%、17.50%~22.92%。结论 总皂苷及多糖作为野山参中的主要功效成分,含量较高,可以作为野山参质量评定的依据之一。本文的研究为野山参的基础成分研究提供了参考依据,为野山参的质量控制奠定了基础。

关键词:野山参;总皂苷;总多糖;测定

Determination of Total Saponin and Total Polysaccharide in Wild Ginseng of Different Ages

YANG Huai-Lei, Xu Fang-fie, LI Lei, HAN Shi-dong, CAO Zhi-qiang
(Jilin Ginseng Research Institute, Jilin Province 130033, China)

Abstract: Objective To determine the content of total saponin and total polysaccharide in Wild Ginseng of different ages. Methods The content of total saponin and total polysaccharide were determined by ultraviolet spectrophotometry at the wavelength of 544 nm and 492 nm, respectively. Results The content of total saponin were in the range of 3.24% and 6.37%. The content of total polysaccharide ranged from 17.50% to 22.92%. Conclusion Total saponin and total polysaccharide, the main active constituents in Wild Ginseng, were of high levels, which can be considered as one of the reference of quality evaluation. The results in this paper provided useful data for study of the basic constituents and laid foundation for the quality control of Wild Ginseng.

Keywords: Wild Ginseng; Total saponin; Total polysaccharide; Determination

人参为五加科 (Araliaceae) 植物人参 *Panax ginseng* C.A.Mey 的干燥根。以生态不同区分为野山参、移山参和园参^[1]。在山野天然生长者被称为野山参。野山参主要生长在我国长白山以及大兴安岭、小兴安岭区域,属于人参的一种。所谓野山参,实际上也指自然生长在深山中的人参,是不掺杂任何人为干预与技术管理的。野山参在生长过程中会受到自然环境的影响,从而形成相应的根茎、主根等特殊形态^[2]。近年来,对于野山参的研究主要集中在培育、鉴别、指纹图谱等方面^[3-6],其总皂苷和总多糖方面的研究报道较少。本文提取了野山参中的总皂苷和总多糖,并采用紫外分光光度法对两者的含量进行测定,为野山参的基础成分研究提供了参考依据,为野山参的质量控制奠定了基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

紫外可见分光光度计(SP-1920),上海光谱仪器有限公司;电热恒温水浴锅(HH-6),金坛市白塔金昌实验仪器厂;电子天平(SQP),赛多利斯科学仪器有限公司;超声波清洗器(KQ500-DE),昆山市超声仪器有限公司;智能高速冷冻离心机(3H16RI),湖南赫西仪器装备有限公司。

1.2 材料

野山参(1~18年生);人参皂苷 Re 标准品(中国食品药品检定研究院,批号110754-201827);葡萄糖(中国计量科学研究院,批号17001);无水乙醇、甲醇、浓硫酸、苯酚(北京化工厂,分析纯);香草醛(天津市光复科技发展有限公司,分析纯)。

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

2.1.1 人参皂苷 Re 对照品

基金项目:不同生长年限野山参生物学特征及内在品质研究,吉林省科技厅吉科发财[2017]27号。

作者简介:杨怀雷,女,硕士,研究实习员,研究方向:植物化学研究

*通信作者:曹志强(男),研究员,研究方向:人参选作技术、非林地人参安全优质高产技术、林下参种植和管理、人参化学、人参类产品开发及人参标准制修。E-mail:th5161@163.com.

精密称取人参皂苷 Re 对照品 10.80mg, 置 10mL 容量瓶中, 加甲醇适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 1.080mg/mL 的人参皂苷 Re 对照品溶液。

2.1.2 葡萄糖对照品

精密称取葡萄糖对照品 25.13mg, 置 25mL 容量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 然后精密移取 1mL 置 10mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.10052mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

2.2.1 总皂苷供试品

取不同年生野山参于烘箱中 65℃ 烘干, 粉碎, 过 80 目筛。准确称取野山参粉末(1~18 年)0.5g, 加 10mL (20 倍量)75% 乙醇加热回流 2h, 重复提取 3 次, 合并滤液, 蒸干。残渣加甲醇溶解并转移至 10mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 超声处理 30min 使其充分溶解, 摇匀, 即为总皂苷供试品溶液。

2.2.2 总多糖供试品

准确称取野山参粉末 1.0g, 加入 50mL 蒸馏水, 浸泡过夜; 次日加热回流提取 3 次, 第 1 次 2h, 第 2、3 次均 1h, 合并滤液, 水浴锅蒸至粘稠挂壁。加入 20mL 95% 乙醇, 静置过夜; 次日转移至离心管中, 10000r/min 离心 30min, 弃去上清液, 干燥(70~80℃), 得粗多糖。将粗多糖转移至 100mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 即得。测定前用蒸馏水稀释 3 倍, 即为人参多糖供试品溶液。

2.3 溶液的配制

2.3.1 8% 香草醛乙醇试液: 取香草醛 0.8g, 加无水乙醇使溶解成 10ml, 即得。

2.3.2 72% 硫酸溶液: 取硫酸 72mL, 缓缓注入适量水中, 冷却至室温, 加水稀释至 100mL, 摇匀, 即得。

2.3.3 5% 苯酚溶液: 取苯酚 1g, 加入蒸馏水 20mL, 摇匀, 即得。

2.4 标准曲线的绘制

2.4.1 人参皂苷 Re 标准曲线

精密吸取人参皂苷 Re 对照品溶液 20、30、40、50、60、70、80、90 μ L, 置磨口带塞试管中, 水浴蒸干甲醇后, 加入 8% 香草醛乙醇试液 0.5mL, 72% 硫酸溶液 5mL, 充分振摇混匀后置 60℃ 恒温水浴上加热 10min, 立即用冰水浴冷却 10min, 摇匀。以试剂做空白, 按照分光光度法于 544nm 波长处分别测定吸光度。以吸光度 A 为纵坐标, 质量(μ g)为横坐标, 绘制标准曲线, 做回归方程。

2.4.2 葡萄糖标准曲线

精密吸取葡萄糖对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mL, 置 10mL 试管中, 加入 5% 苯酚溶液 1.0mL, 迅速加入浓硫酸 7.0mL, 混匀, 室温放置 5min, 沸水加热 30min, 冷却至室温, 以蒸馏水为空白对照, 于 492nm 波长处测定吸光度。以吸光度 A 为纵坐标, 质量(μ g)为横坐标, 绘制标准曲线, 做回归方程。

2.5 含量测定

2.5.1 总皂苷含量测定

精密吸取供试品溶液 20 μ L, 置具塞刻度试管中, 蒸干甲醇后, 加入 8% 香草醛乙醇试液 0.5mL, 72% 硫酸溶液 5mL, 充分振摇混匀后置 60℃ 恒温水浴上将热 10min, 立即用冰水浴冷却 10min, 摇匀。以试剂做空白, 按照分光光度法于 544nm 波长处分别测定吸光度, 由标准曲线计算出待测样品中总皂苷的质量 m。野山参中总皂苷含量(%) (m 为总皂苷的质量, V1 为供试品溶液取样体积, V2 为供试品溶液定容体积, M 为样品质量)。

2.5.2 总多糖含量测定

精密量取供试品溶液 0.1mL, 置 10mL 具塞试管中, 加入 5% 苯酚溶液 1.0mL, 迅速加入浓硫酸 7.0mL, 混匀, 室温放置 5min, 沸水加热 30min, 冷却至室温, 以蒸馏水为空白对照, 于波长 492nm 处测定吸光度, 由标准曲线计算出待测样品中总多糖的质量 m。野山参中总多糖含量(%) (m 为总多糖的质量, V1 为供试品溶液取样体积, V2 为供试品溶液定容体积, M 为样品质量, f 为稀释倍数)。

3 结果

3.1 标准曲线的绘制

按照“2.4”项下的方法分别对人参皂苷 Re 和葡萄糖标准曲线进行绘制, 得出回归方程。人参皂苷 Re 的回归方程为 $y = 0.0062x - 0.0269$, $R^2 = 0.9995$, 表明总皂苷质量在 21.60~97.20 μ g 范围内, 线性关系良好, 标准曲线见图 1。葡萄糖的回归方程为 $y = 0.0062x - 0.0099$, $R^2 = 0.9918$, 表明在总多糖质量在 10.052~80.416 μ g 范围内, 线性关系良好, 标准曲线见图 2。

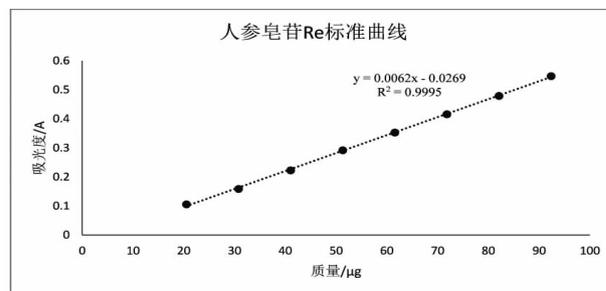


图 1 人参皂苷 Re 标准曲线

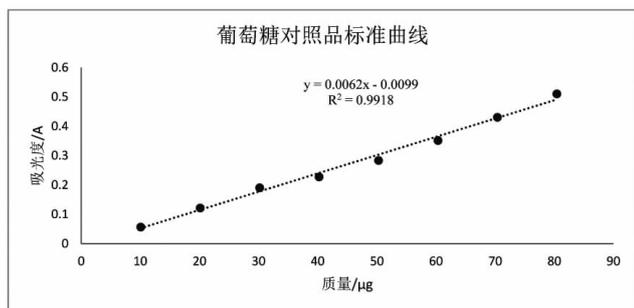


图2 葡萄糖标准曲线

3.2 含量测定

3.2.1 总皂苷含量测定

不同年生野山参中人参总皂苷含量测定结果为3.24%~6.37%,结果见表1。

表1 不同年生野山参中人参总皂苷含量测定结果

序号	野山参 年限	总皂苷 含量(%)	序号	野山参 年限	总皂苷 含量(%)
1	1年	3.88	10	10年	6.37
2	2年	3.24	11	11年	5.47
3	3年	3.73	12	12年	4.84
4	4年	3.58	13	13年	6.34
5	5年	4.92	14	14年	5.83
6	6年	4.40	15	15年	4.65
7	7年	4.55	16	16年	5.15
8	8年	4.74	17	17年	5.21
9	9年	6.14	18	18年	5.36

3.2.2 总多糖含量测定

不同年生野山参中总多糖含量测定结果为17.50%~22.92%,结果见表2。

表2 不同年生野山参中总多糖含量测定结果

序号	野山参 年限	总皂苷 含量(%)	序号	野山参 年限	总皂苷 含量(%)
1	5年	19.37	8	12年	12.46
2	6年	22.92	9	13年	16.12
3	7年	16.26	10	14年	17.50
4	8年	16.87	11	15年	22.59
5	9年	16.96	12	16年	16.17
6	10年	17.06	13	17年	22.26
7	11年	16.82	14	18年	20.53

4 讨论

本文对不同年生野山参中的人参总皂苷和总多糖含量进行测定,发现野山参中二者含量均较高,但不同年限野山参中二者的含量无显著规律。由于野山参为自然生长在深山中的人参,并未经过任何人工干预,不同年限的野山参的样品采集很难集中在某一固定区域,导致不同年限野山参生长环境也不尽相同,可能对

二者的含量有一定影响,同时还应增加野山参样品量,避免检测数据存在个体差异,确保测定结果的准确、稳定、可靠。此外,本次测定未进行多区域平行样本的采集及测定,不同地域、不同环境生长的野山参质量、品质以及内在成分的含量也会略有不同,可能会有未知因素对实验结果产生影响,在进行下一步的实验研究时,应进行多个地域野山参平行样本的采集及测定,使测定结果具代表性。

本文对于野山参中人参总皂苷及总多糖的测定仅仅是初步探索,还需进一步的研究和完善。在样品采集时应尽可能均匀,尽可能在同一区域进行不同年生样品的采样。实验还需进行多地域平行样本的采集,对野山参的质量和品质进行综合评价。本文未对18年以上的野山参进行测定,应覆盖更广的野山参生长年限,探索不同年限野山参中二者含量的内在规律。本文仅对野山参中的人参总皂苷进行测定,未对人参单体皂苷成分进行研究,可对不同年限野山参中单体皂苷含量进行测定,以进一步完善和丰富野山参的有效成分基础研究,为野山参的药理研究、质量评价和质量控制提供参考依据。

参 考 文 献

- [1]祖舜华. 论野山参真伪鉴别[J]. 北京中医药, 2001(3).
- [2]慕特. 探讨野山参的鉴别及其相关问题[J]. 食品安全导刊, 2019(09), 155.
- [3]方土福. 试论野山参真伪鉴别技术[J]. 人参研究, 2003(4).
- [4]徐世义, 孙国祥, 慕善学等. 林下山参与野山参 HPLC 指纹图谱比较研究[J]. 中药材, 2013, 36(2): 213~216.
- [5]田景鑫, 张毅. 野山参的特征与鉴别[J]. 中国园艺文摘, 2010(6).
- [6]颜冰, 高忠. 黑龙江省野山参培育初探[J]. 中国林副特产, 2010(6): 99~100.