

DOI:10.19403/j.cnki.1671-1521.2019.05.006

高蛋白、高脂肪类人参食品中人参皂苷的检测方法研究

郭畅冰,徐芳菲,李 蕾,杨怀雷,谢丽娟,王国明,曹志强*
(吉林人参研究院·吉林 通化·134001)

摘 要:目的 通过对比不同前处理方法提取出人参食品中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量,建立一种操作性强,准确检测高蛋白、高脂肪类人参食品中人参皂苷含量的方法。方法 采用乙醇提取-大孔树脂法与传统药典法进行对比,并对样品中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 含量及加样回收率进行测定。结果 乙醇提取-大孔树脂法提取出皂苷含量约是药典法的 3 倍,且加样回收率可达到 85%以上。结论 上述方法可操作性强、稳定性好,适用于高蛋白、高脂肪人参食品中人参皂苷的检验。

关键词: 高脂肪、高蛋白;人参食品;人参皂苷

Study on detection methods of ginsenosides in high protein and high fat ginseng foods

GUO Chang-bing, XU Fang-fei, LI Lei, YANG Huai-lei, XIE Li-juan, WANG Guo-ming, CAO Zhi-qiang*
(Jilin Ginseng Research Institute, Jilin Province 130033, China)

Abstract: Objective: The content of ginsenoside Rg1, Re and Rb1 in ginseng food was extracted by comparing different pretreatment methods, and a method for detecting the content of ginsenoside in high protein and high fat ginseng food was established. Method: The ethanol extraction-macroporous resin method was compared with the traditional pharmacopoeia method, and the content of ginsenoside Rg1, Re, Rb1 and the recovery rate of the sample were determined. Results: The content of Saponins Extracted by ethanol extraction-macroporous resin method is about three times as much as that by pharmacopoeia method, and the recovery rate can reach more than 85%. Conclusion: The above method is operability and stability, and is suitable for the detection of ginsenosides in high protein and high fat ginseng foods.

Keywords: high fat, high protein; ginseng food; ginsenoside

人参(*Panax ginseng* C.A.Mey)为五加科人参属多年生草本植物,素有“百草之王”的美誉,在我国最早的本草学著作《神农本草经》中记载,人参具有大补元气,复脉固脱,补脾益肺,生津养血,安神益智之功效^[1]。一直以来人参均作为中国传统名贵中药材广泛用于药物、药膳及食物滋补,在中国已被广泛应用了几千年^[2]。随着人们生活水平和健康意识的提高,近年来以人参为主要原料,开发的人参保健食品和食品日益增加,在 2012 年国家卫生部批准人参进入新资源食品后,人参的产业链迅速增长,各类人参食品应运而生^[3-4]。因为卫生部规定了人参进入食品的用量为每日不超过干参 3g,如何精确定人参的添加量是多少,便成为质量检验单位的最新课题。由于人参食品中油脂、蛋白含量大,传统检测方法很难在去除干扰的前提下准确检出人参食品中的人参皂苷成分,如果不能准确检测其含

量,可能消费者会因为食用过量而损害身体健康。因此,急需寻求一种简便快捷、操作性强的人参食品中人参皂苷含量的检测方法。本文采用乙醇提取-大孔树脂法与传统药典法提取方法进行对比、分析,探究可行性高、方便简单的检测方法,并对本方法的药材转移率及加样回收率进行研究^[5]。

1 仪器与材料

1.1 实验材料

人参粉、人参蛋糕(吉林人参研究院自制)。

1.2 实验试剂

对照品人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 均购于吉林大学天然药物化学实验室,纯度均 $\geq 98\%$ 。正丁醇、硫酸、三氯甲烷、乙醇、氢氧化钠、甲醇、乙腈,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯试剂,大孔树脂:D101 大孔吸附树脂,山东鲁抗立科药业有限公司。

基金项目: 高蛋白、高脂肪类人参食品中人参皂苷的检测方法研究,吉科发财[2015]48 号。

作者简介: 郭畅冰,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:人参选育技术、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。

1.3 实验仪器

高效液相色谱仪(Thermo UltiMate 3000,美国);十万分之一电子天平(BT125D,赛多利斯科学仪器有限公司);超声波清洗仪(KQ-500DE,昆山市超声仪器有限公司);超纯水机(ELGA(DI);威立雅水处理技术(UK));数显式恒温水浴锅(HH-6,金坛市江南仪器厂)。

2 实验方法

2.1 供试品溶液的制备

表 1 供试品溶液的制备

方法 1	取供试品 15g,置于索氏提取器中,加 150ml 三氯甲烷加热回流提取 3h,弃去三氯甲烷液,药渣挥干溶剂,连同滤纸筒已入三角烧瓶中,精密加水饱和和正丁醇 150ml,放置过夜,超声提取 30min(功率 250W,频率 50kHz),滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 75ml,蒸发皿中蒸干正丁醇溶液,甲醇定容至 5ml 容量瓶中,摇匀,滤过,取续滤液即得。(参考《中华人民共和国药典》2015 版第一部)
方法 2	取供试品 15g,置于圆底烧瓶中,加 150ml 乙醇溶液加热回流提取 3h,滤过,回收提取液。重复 3 次,合并提取液。蒸发皿中蒸干乙醇溶液。残渣加水 100ml 溶解后,通过 D101 大孔吸附树脂(内径 1.5cm,长 15cm),流水洗柱约 100ml 至无色,用 10%乙醇 150ml 洗脱,并弃去洗脱液。再用 80%乙醇 200ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干乙醇溶液,定容至 5ml 容量瓶中,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 Rg1 对照品、人参皂苷 Re 对照品、及人参皂苷 Rb1 对照品,加甲醇制成 1ml 各含 0.2mg 的混合液,摇匀,即得。

2.3 人参皂苷 Rg1+Re、Rb1 含量的测定

2.3.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相 A,水为流动相 B,按下表中的规定进行梯度洗脱;检测波长 203nm。理论塔板数按人参皂苷 Rg1 峰计算应不低于 5000。具体参数见表 2。

表 2 色谱条件

时间(分)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~30	19	81
30~35	19→29	81→71
35~70	29	71
70~71	29→90	71→10
71~100	90	10
100~101	90→19	10→81
101~110	19	81

2.3.2 测定

分别精密吸取各供试品溶液 10 μ L,注入高效液相色谱中,按 2.4.1 色谱条件进行测定,计算。

3 结果与分析

3.1 人参食品中人参皂苷含量的测定结果

精密称取供试品,每种方法平行称取三份试样,按照“2.1”项下制备,进行分析,不同前处理方法检测的人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量,结果见表 3,图谱见图 1、图 2、图 3。

表 3 对比两种前处理方法检测不同皂苷含量

方法	称样量(g)	Rg1(mg/g)	Re(mg/g)	Rb1(mg/g)	Rg1+Re 平均值(mg/g)	Rb1 平均值(mg/g)
方法 1	15.16	0.028	0.099	0.048		
	15.15	0.029	0.102	0.049	0.123	0.046
	14.98	0.024	0.087	0.041		
方法 2	16.10	0.089	0.310	0.371		
	14.45	0.078	0.256	0.267	0.352	0.302
	14.49	0.089	0.259	0.261		

通过表中数据所示,方法 2(乙醇提取-大孔树脂法)中人参皂苷各指标的含量明显高于方法 1(药典法)。

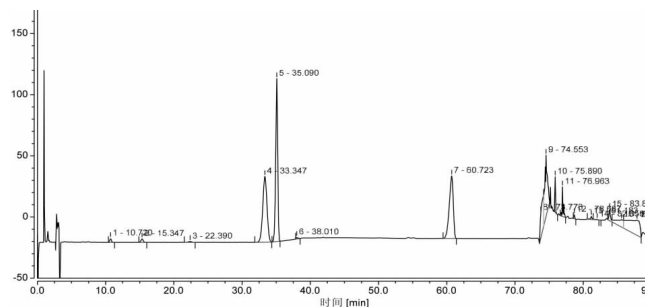


图 1 人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 混合标准品 HPLC 色谱图

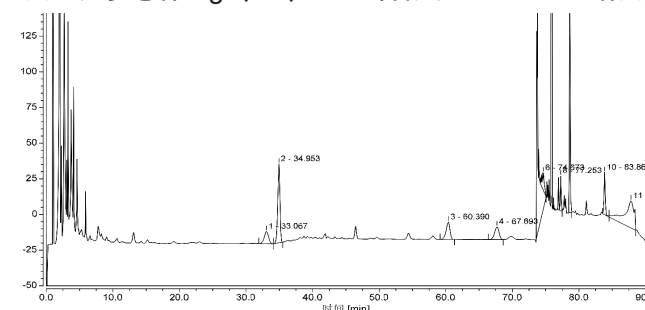


图 2 方法 1 供试品溶液 HPLC 色谱图

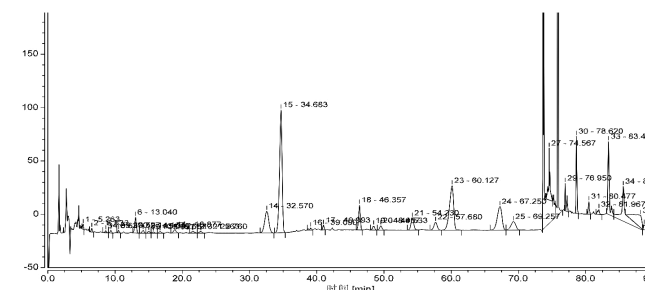


图 3 方法 2 供试品溶液 HPLC 色谱图

3.2 药材转移率

取人参药材 600mg, 平行称取三份试样, 按照“2.1”项下方法 2 制备, 进行分析, 结果见表 4、表 5。

表 4 人参药材中人参皂苷的含量

序号	称样量 (mg)	Rg1 (mg/g)	Re (mg/g)	Rb1 (mg/g)	g1+e 平均 值(mg/g)	b1 平均 值(mg/g)
1	639.75	2.15	8.41	9.56		
2	632.68	2.02	7.98	9.03	10.22	8.77
3	611.54	2.10	8.03	7.72		

表 5 人参蛋糕的药材转移率

	Rg1+Re(mg/g)	Rb1(mg/g)
每 g 蛋糕中含量	0.352	0.302
每 g 药材中含量	10.22	8.77
转移率(%)	86.08	85.97

注: 每克蛋糕中含人参药材 0.04g

通过表中数据所示, 三次平行实验的药材转移率>85%, 提示该方法(方法 2: 乙醇提取-大孔树脂法)提取率高, 方法科学合理。

3.3 精密度实验

取同一供试品溶液, 按照“2.1”项下方法 2 连续测定 5 次, 结果见表 6。

表 6 精密度实验 (n=5)

序号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
Rg1 峰面积	13.925	13.888	13.743	13.750	14.125	13.886	1.125
Re 峰面积	46.669	46.001	46.471	46.444	47.279	46.573	0.997
Rb1 峰面积	35.372	35.412	35.429	35.318	35.494	35.405	0.185

结果表明: RSD<3%, 仪器精密度良好。

3.4 稳定性实验

6、20、24h 测定, 结果见表 7。

取同一供试品溶液, 按照“2.1”项下方法 2 在 0、3、

表 7 稳定性实验 (n=5)

时间(h)	0	3	6	20	24	平均值	RSD(%)
Rg1 峰面积	13.925	13.533	13.877	14.036	13.577	13.7896	1.612
Re 峰面积	46.669	45.169	47.085	46.534	45.998	46.291	1.594
Rb1 峰面积	35.372	36.105	35.985	34.662	35.516	35.528	1.614

结果表明: 供试品溶液在 0~24h 内, 基本稳定, 具较好的稳定性。

取同一批号样品, 平行 5 份, 按照“2.1”项下方法 2 独立进行测定, 结果见表 8。

3.5 重现性实验

表 8 重现性实验(n=5)

序号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
Rg1 峰面积	13.925	13.254	14.07	13.441	13.224	13.5828	2.878
Re 峰面积	46.669	45.112	47.263	46.105	45.998	46.2294	1.737
Rb1 峰面积	35.372	34.213	36.117	35.583	34.952	35.2474	2.027

结果表明: RSD<3%, 本法重现性良好。

3.6 回收率实验

采用加样回收率法, 分别称取样品 6 份(含量为 Rg1+Re=0.352mg/g, 其中 Rg1 为 0.085mg/g, Re 为 0.275mg/g, Rb1 为 0.302 mg/g), 每份约 7.5g, 分别在样品中加入对照品溶液 1ml(对照品溶液: 精密称取人参

皂苷 Rg16.52mg、人参皂苷 Re20.25mg、人参皂苷 Rb122.09mg, 加甲醇定容于 10ml 量瓶中, 摇匀), 按 2.1 中方法 2 进行处理, 以甲醇定容于 5ml 量瓶中, 摇匀, 精密吸取 10 μ l 注入液相色谱仪中, 测定, 结果见表 9。

表 9 各成分的回收率实验

成分	序号	取样量(g)	样品中的量(mg)	加标量(mg)	加标后测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
Rg1	1	7.45	0.6332	0.652	1.1865	84.79	86.55	2.72
	2	7.52	0.6392	0.652	1.2018	86.29		
	3	7.56	0.6426	0.652	1.2007	85.60		
	4	7.49	0.6367	0.652	1.2253	90.28		
	5	7.56	0.6426	0.652	1.1902	83.99		
	6	7.43	0.6316	0.652	1.2077	88.36		
Re	1	7.45	2.0488	2.025	3.9041	91.62	87.34	2.79
	2	7.52	2.0680	2.025	3.8045	85.75		
	3	7.56	2.0790	2.025	3.7985	84.91		
	4	7.49	2.060	2.025	3.8330	87.56		
	5	7.56	2.0790	2.025	3.8194	85.95		
	6	7.43	2.0432	2.025	3.8307	88.27		
Rb1	1	7.45	2.2499	2.209	4.1274	85.00	86.90	3.59
	2	7.52	2.2710	2.209	4.1292	84.12		
	3	7.56	2.2831	2.209	4.1837	86.04		
	4	7.49	2.2620	2.209	4.3077	92.61		
	5	7.56	2.2831	2.209	4.1698	85.41		
	6	7.43	2.2439	2.209	4.1920	88.19		

结果表明:回收率均>85%, RSD<5%,可见回收率良好。

4 结论

高蛋白、高脂肪类人参食品中糖类、脂肪类含量较高,传统药典方法检测人参皂苷含量偏低,本实验采用乙醇提取和 D101 大孔树脂吸附法相结合提取高蛋白、高脂肪类人参食品中人参皂苷。通过与传统药典方法对比,根据测得的 Rg1+Re、Rb1 皂苷含量可知,本方法明显优于药典方法,提取的皂苷含量约是药典法的 3 倍且重复性好。从提取皂苷含量来看,本方法提取率高,且操作简便。而且本方法的药材转移率及加样回收率均可达 85%以上。由此可见本方法可作为高蛋白、高脂肪类人参食品中人参皂苷的检测方法,对人参食品中人参添加量的控制具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].2015 版.北京:中国医药科技出版社,2015:8~9.
- [2] 吴晓民,赵丹,等.人参皂苷分析测定方法的研究进展[J].上海中医药杂志,2018,52(5):94~99.
- [3] 魏建华,杨文志.人参饼干中人参总皂苷、人参单体皂苷 Rb1、及 Re+Rg1 含量测定及人参饼干中人参皂苷的定性鉴别[J].人参研究,2013, (1):31~33.
- [4] 李青,刘思浩,石矛.食品中人参总皂苷的测定方法研究[J].人参研究,2014, (3):17~19.
- [5] 孙成鹏,高维平,等.D101 大孔吸附树脂分离提取原人参二醇组皂苷研究 [N]. 东北农业大学学报, 2013-6-25(6).