

杨雨,郑斯文,金银萍,等. 人参皂苷的提取分离方法研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):214-217.

人参皂苷的提取分离方法研究进展

杨雨,郑斯文,金银萍,姚春林,王英平

(中国农业科学院特产研究所,吉林长春 130112)

摘要:人参皂苷是人参中的主要有效成分之一,具有多种重要的药理活性,目前已成为一些特效药的主要成分。人参皂苷的有效提取分离是其进一步研究和利用的关键前提,科学高效地提取分离人参皂苷是当前人参研究面临的一个重要课题。本文综述了国内外人参皂苷提取分离方法的研究进展,包括经典的传统提取分离方法和近代发展起来的提取分离方法,以期为人参皂苷的提取与分离提供参考。

关键词:人参皂苷;提取;分离;研究进展

中图分类号: R914;R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)05-0214-04

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)是五加科人参属多年生草本植物,为传统名贵中药,具有补气生血、扶正祛邪等功效。人参皂苷是人参的主要有效成分之一,约占人参总质量的4%,具有增强人体免疫、抗衰老、抗疲劳、治疗心血管疾病等作用,目前已成为一些特效药的主要成分。要实现人参中人参皂苷的高效提取浓缩,并且尽可能地去掉无效杂质以纯化制剂,提取分离技术至关重要。本文对已报道的人参皂苷的提取分离方法进行综述,以期为人参皂苷的提取与分离提供参考。

1 人参皂苷的提取方法

1.1 传统的提取方法

1.1.1 煎煮法 煎煮法主要是以水作为提取溶剂,将药物加热煮沸一定的时间而得到煎煮液,需要重复进行多次,主要用来提取中草药中水溶性较好的组分,适用于有效成分能溶于水且对加热不敏感的药材,是中草药组分提取中最早最常用的提取方法之一。

陈阿丽等以人参皂苷 Rb1、Re、Rg1 的提取率为考察指标,采用正交试验法优选人参的煎煮提取条件,结果表明:以人参质量 8 倍量的水煎煮 2 次,每次 1 h 的提取方法,人参皂苷提取率最高^[1]。

1.1.2 浸渍法 浸渍法是在常温或加热的条件下,依照相似相溶原理,用溶剂浸泡药材而使药材中的有效成分浸出,达到提取的目的。张春红等采用提取温度 60 ℃、浸提时间 2 h、溶剂量为浸提物 10 倍量的浸渍法提取人参皂苷,总皂苷的最高得率达 8.33%^[2]。孙光芝等通过考察溶剂倍数、提取时间、提取次数和溶剂的体积分数对丙二酰基人参皂苷提取率的影响,确定了最佳提取工艺^[3]。

1.1.3 回流法 回流法以有机溶剂为提取溶剂,先通过对药材加热浸提使其中的挥发性溶剂馏出,再通过冷凝重新回到浸出器中继续循环浸提,直至有效成分浸提完全。目前实验室提取人参皂苷的传统回流操作是在(75±1)℃条件下,用 80% 甲醇回流 3 h 并重复 4 次。闫光军等以人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 总量为指标,通过几种工艺的比较及综合分析表明,回流提取工艺效果最佳^[4]。张玲等对不同提取工艺对人参有效成分含量的影响进行了研究,并确定了回流提取法的最佳提取工艺条件^[5]。郝少君等以人参皂苷含量为评价指标,采用正交试验法,优选了最佳提取工艺^[6]。Kim 等以二醇型和三醇型皂苷的提取为指标,优选了乙醇回流法的最佳

收稿日期:2013-09-13

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAI03B0106);国家科技重大专项(编号:2011ZX09401-305-10-02)。

作者简介:杨雨(1987—),女,内蒙古集宁人,硕士研究生,主要从事天然产物化学研究。E-mail:yangyu008@sina.cn。

通信作者:王英平,博士,研究员,主要从事药用植物质量评价工作。E-mail:yingpingw@126.com。

3 结论

随着温度的升高变性淀粉的颗粒逐渐膨胀,当温度大于 70 ℃时,淀粉颗粒如果经过较高的剪切力会被破坏;当温度为 50~60 ℃时,淀粉膨胀状态,抗剪切能力和保水性较好。淀粉添加量为 8 g/kg 时,产品的综合指标最高。在工业生产中,要严格把控温度,选择最适的淀粉添加量,既能提高酸奶品质又能使产品成本控制在最合理的范围。

参考文献:

[1] 张少辉,莫蓓红,田雷. 搅拌型酸奶生产过程中黏度变化的研究[J]. 中国乳品工业,2002,30(1):31-36.

[2] 李志国,李娟. 变性淀粉的性质及在搅拌型酸奶中的应用[J]. 中国食品添加剂,2005(5):91-94.

[3] 王丹,林晶,张坤锋. 变性淀粉对搅拌型酸奶增稠作用的研究[J]. 中国乳品工业,2002,30(3):14-16.

[4] 魏晓琨,王伟华,刘彩妹,等. 酸奶生产中加工过程对淀粉性能影响的研究[J]. 乳业科学与技术,2003,26(4):157-159.

[5] 沈玲,韩梅,于鹏. 亲水胶体对凝固型酸乳影响的研究[J]. 食品研究与开发,2013,34(6):1-4.

[6] Dave R I, Shah N P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt[J]. Journal of Dairy Science, 1998, 81(11):2804-2816.

[7] 姚立兵,张书军. 均质的作用及影响均质效果的因素[J]. 中国乳品工业,1992,12(6):253-257.

工艺^[7]。

1.1.4 索氏提取法 将药材用纱布或滤纸包装,放入索氏提取的提取容器内,在烧瓶内加入一定量的提取溶剂,加热并保持溶剂沸腾,溶剂蒸汽冷凝回流到提取容器中与药物接触后,有效成分溶解在溶剂中,溶剂达到一定体积后,溶解了有效成分的溶剂回流到烧瓶内,溶剂重新受热蒸发,冷却后重新与药物接触,进行循环提取。张晶等取 2 g 人参粉末,加 60 mL 甲醇,于索氏提取器中提取 8 h 后用分光光度法测得人参总皂苷含量为 3.27%^[8]。Wood 等取 80~90 °C 用索氏提取法有效提取人参皂苷^[9]。Qu 等将 500 mg 西洋参样品置于索氏提取器中,用 70% 乙醇提取人参皂苷^[10]。

1.2 近代的提取方法

1.2.1 超临界流体萃取 当温度和压力超过物质的临界点而形成的单一相态即为超临界流体。超临界流体的密度与液体相似,黏度低,扩散性强,从而使得其溶解能力相对较强,可以实现快速传质的高效提取。张乐等利用超临界流体萃取得出人参皂苷 Rb1、Rb2^[11]。Luo 等利用超声辅助超临界流体萃取人参皂苷并获得了较高的得率^[12]。Wood 等以甲醇和 DMSO 作为调节剂用于超临界流体萃取西洋参中的人参皂苷,提取出 90% 的总皂苷^[9]。Wang 等发现,超临界流体萃取人参皂苷的得率随温度的升高而增加^[13]。

1.2.2 泡沫分离法 泡沫分离法是利用物质在气泡表面上吸附性质的差异进行分离的技术。由于人参皂苷具有表面活性剂的特性,在搅拌或通入气体时可产生稳定的泡沫,因此可采用浮选分离技术对其进行分离富集。Xiu 等利用泡沫分离法对 Rb1、Rb2 等 5 种皂苷进行了分离浓缩^[14]。张代佳等利用泡沫分离法分离了人参皂苷 Rb1、Rb2、Rd、Re、Rf^[15]。王玉堂等采用动态泡沫浮选法分离富集人参提取液中的二萜型人参皂苷^[16]。Zhang 等利用泡沫浮选-固相萃取方法分离西洋参根中的微量皂苷^[17]。

1.2.3 超声辅助提取法 超声辅助提取法是将超声波产生的空化、震动、粉碎、搅拌等综合效应应用到中药提取工艺中,实现高效、快速提取的过程。张崇禧等比较了传统水煎法、温浸法、乙醇回流法、微波辅助提取法和超声辅助提取法,结果表明超声波最佳^[18]。张宪臣等采用正交设计通过比色法对不同超声处理条件下的人参总皂苷含量进行测定,优选出了人参总皂苷的超声波提取工艺^[19]。Wu 等发现,以水、甲醇、正丁醇为溶剂,在 38.5kHz 下进行超声辅助提取比传统提取法的提取速度快 3 倍^[20]。

1.2.4 微波辅助萃取技术 微波辅助萃取是采用微波来加热提取体系中的溶剂,从而使得被提取植物样品中的有效成分分离出来,进入与其接触的溶剂中。该技术主要是通过微波加热效应完成提取分离的过程,被提取物质所吸收的微波能量会导致细胞内部温度急速上升,导致细胞破裂,使得有效成分溶于溶剂中。

Kwon 等通过响应面试验优化了微波辅助萃取人参皂苷的条件^[21]。Shu 等考察了微波强度、提取时间等因素对微波辅助萃取的影响^[22]。Shi 等从人参根中利用微波辅助萃取得分离出 Rg1、Re、Rb1 等 7 种皂苷^[23]。Wang 等利用加压微波辅助萃取对人参根、西洋参样品进行提取,考察提取时间、压力、溶剂对提取得率的影响^[24]。石威等利用微波辅助萃取技术

快速有效萃取分离人参根中的 6 种人参皂苷 Rg1、Re、Rb1、Re、Rb2、Rd^[25]。

1.2.5 高压与超高压提取 高压和超高压(100 MPa 以上)提取是将流体静压力作用于提取溶剂和中药的混合液上,在植物细胞内外压力达到平衡后迅速卸压,导致细胞透化,细胞内的有效成分穿过细胞的各种膜而转移到细胞外的提取液中,达到提取有效成分的目的。超高压提取可在最短的时间内获得最高的提取效率,若操作得当便可获得纯净的提取物,并且可以在室温下进行,有利于热不稳定物质的分离。

高压与超高压提取目前已应用于人参皂苷成分提取中。陈瑞战等在溶剂为 50% 乙醇、压力为 500 MPa、提取时间为 2 min 的条件下使用超高压法提取人参皂苷^[26]。Chen 等在常温条件下使用超高压提取人参皂苷,并采用均匀设计法对提取工艺条件作了优化^[27]。Lee 等对比了高压提取与热提取条件下人参总皂苷和皂苷代谢物得率,表明高压提取的得率更高^[28]。

1.3 新方法

1.3.1 仿生提取法 仿生提取法基于药物代谢的基本原理,利用胃肠系统体外模拟法提取人参皂苷。陈新等以人参超微粉为原料,分别以仿生溶媒和水作为提取溶剂提取人参皂苷类成分^[29],结果表明,仿生化提取法对人参总皂苷、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 的提取效率均高于水提取法,且仿生化提取物色谱图中显示有新成分产生。

1.3.2 脉冲电场提取法 脉冲电场提取法是一种新的提取方法,目前已应用于食品工程中提取生物材料中的活性成分。Hou 等利用脉冲电场提取法提取了人参中的人参皂苷 Rg1、Re、Rb1、Re、Rb2、Rd,并将该方法与热回流提取、微波辅助提取等作比较,结果表明,脉冲电场提取法得率最高,用时最短^[30]。

1.3.3 基质固相分散提取法 基质固相分散提取法的过程是先将样品与磨料分散剂相混合,再将混合物装入一个玻璃柱中,最后用合适的溶剂进行洗脱提取的一种方法。Shi 等将基质固相分散提取法用于人参叶的提取中,提取出人参皂苷 Rb2、Re、Rd 等 8 种皂苷并将其与热回流法进行比较,结果表明基质固相分散提取法得率更高,用时更短,溶剂的消耗量更少^[31]。

2 分离方法

2.1 固-液分离

人参皂苷的分离通常使用固相-液相柱色谱,将样品经过甲醇或乙醇的一次或几次提取,再经真空干燥收集合并提取物。悬浮在水中的残渣通过不同有机溶剂分为的几个部分,如:正己烷层、乙酸乙酯层、正丁醇层、水层,其中正己烷层为高分子和油性杂质,其他部分经过以梯度溶剂系统洗脱的大孔树脂柱色谱和硅胶柱色谱再分成小部分,各小部分继续通过正相硅胶柱色谱、反相硅胶柱色谱、凝胶柱色谱按不同溶剂系统进行梯度洗脱分离。分离得到的物质可以通过制备液相色谱进行纯化,其结构可由化学和光谱学方法测定。

2.2 液-液分离

液-液分离技术是依靠样品在两相不相溶溶剂中的分配比例不同而进行分离的。由于没有固体支撑物,就避免了来

自常规柱色谱中固定相对样品的不可逆吸附问题。液-液分离主要包括高速逆流色谱和离心分配色谱。

2.2.1 高速逆流色谱 (high-speed counter-current chromatography, HSCCC) 高速逆流色谱 (HSCCC) 广泛用于人参皂苷的制备分离。在利用 HSCCC 分离之前, 人参样品先要通过有机试剂提取, 其皂苷部分经过大孔树脂柱、反相 C-18 柱以及中压液体柱色谱进行浓缩富集。要有效选择 HSCCC 条件, 包括两相溶剂系统的选择、样品洗脱方式的选择等, 其中流动相的选择至为重要。近期应用 HSCCC 对人参产品中人参皂苷进行分离, 已经分离得到人参皂苷 Rb1^[32-34]、Rg1^[32,34,37]、Re^[32,34,37]、Rf^[33]、Rd^[33-34]、Rg3^[35]、Rg5^[35]、Rk1^[35]、F4^[35] 和 Ro^[36]。

2.2.2 离心分配色谱 (centrifugal partition chromatography, CPC) 离心分配色谱 (CPC) 是工作于连续引力场的无吸附作用的液-液分离色谱。目前氯仿-甲醇-水这一溶剂系统已成功运用在 CPC 分离皂苷中, Wang 等利用 CPC 通过乙酸乙酯-正丁醇-水 (1:1:2) 分离得到西洋参中的人参皂苷 Re、Rb1、Re^[38]。

2.3 新方法

2.3.1 活性炭选择吸附法 Kuang 等利用活性炭选择吸附分离和纯化了人参花芽中的人参皂苷 Re^[39]。

2.3.2 脱模技术 通常通过“分离-生物测定”或“生物测定指导的分离”这 2 种模式对人参的成分和功能进行研究。为了证明提取所得到的某组分是否具有生物活性, 就需要准备一个不含该组分的提取物作为脱模提取物。在对生物活性进行比较的过程中, 如果脱模提取物的生物活性低于原始提取物, 意味着该组分是生物活性物质, 因此脱模提取物的获取方法是研究重点之一, 包括化学色谱法和免疫亲和色谱法。

2.3.2.1 化学色谱法 某些脱模提取物可以通过柱色谱进行制备。例如为了制备 Rb1 脱模提取物, 先将人参花蕾提取物通过大孔树脂柱分离, 以水和含水乙醇为洗脱剂, 含水乙醇流经反相制备高相液相色谱可分为 3 个部分: 水部、Rb1 部、其他皂苷部。将 Rb1 部去掉, 剩下的水部和其他皂苷部合并即形成 Rb1 的脱模提取物。为了提高效率, Liu 等发明了一种在线控制色谱技术来制备脱模提取物^[40]。

2.3.2.2 免疫亲和色谱法 免疫亲和色谱法是一种以目标分离物的单克隆抗体为固定相的色谱法, 是从复杂混合物中分离和富集微量成分的有效方法。免疫亲和色谱法对目标化合物的高选择性来自于固定相所交联的蛋白质。Tanaka 等已制备出反人参皂苷 Rb1^[41-43]、Rg1^[44]、Rd^[45]、Re^[46] 的单克隆抗体。

与化学色谱法制备脱模提取物相比, 免疫亲和色谱法一方面增加了分析的选择性, 减少了样品制备的步骤, 增大了抽样装载体积, 另一方面大大缩短了色谱分离所需的时间和选择最佳试验条件所需的时间。然而, 免疫亲和色谱法也存在一些缺点, 即单克隆抗体制备过程的复杂性和免疫亲和色谱柱的不稳定性。

3 展望

传统提取分离方法 (煎煮法、回流法等) 虽然各有优势, 但是存在着提取时间长、效率低、溶剂用量大、不利于热稳定

或挥发性成分的提取等局限, 因此人们一直在探求更为高效便捷的方法。随着中药提取技术的不断发展, 适合人参皂苷提取与分离的新方法也不断出现, 它们具有提取时间短、有机溶剂用量少、提取物的选择性更强、对环境污染小等优点, 这为人参皂苷的进一步开发和高效利用提供了基础, 相信人参皂苷的提取分离及进一步开发利用会有更广阔的前景。

参考文献:

- [1] 陈阿丽, 崔永霞, 周立艳, 等. 正交试验法优选人参水提工艺[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(9): 21-22.
- [2] 张春红, 张崇禧, 郑友兰, 等. 浸渍法提取人参皂苷最佳工艺的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(1): 73-74, 78.
- [3] 孙光芝, 王继彦, 刘 志, 等. 正交试验优选人参中丙二酰基人参皂苷的提取工艺研究[J]. 中草药, 2006, 37(8): 1194-1195.
- [4] 闫光军, 张宝江, 徐道娟. 几种常用人参提取工艺研究比较[J]. 山东医药工业, 2002, 21(4): 8-8.
- [5] 张 玲, 单卫华, 梁瑞雪, 等. 人参提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(9): 777-778.
- [6] 郝少君, 张正臣. 正交设计法研究人参皂苷的最佳提取工艺[J]. 中华医学实践杂志, 2007, 6(1): 48-50.
- [7] Kim S J, Murthy H N, Hahn E J, et al. Parameters affecting the extraction of ginsenosides from the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) [J]. Separation and Purification Technology, 2007, 56(3): 401-406.
- [8] 张 晶, 陈全成, 弓晓杰, 等. 不同提取方法对人参皂苷提取率的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(1): 71-72.
- [9] Wood J A, Bernards M A, Wan W K, et al. Extraction of ginsenosides from north American ginseng using modified supercritical carbon dioxide [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2006, 39(1): 40-47.
- [10] Qu C L, Bai Y P, Jin X Q, et al. Study on ginsenosides in different parts and ages of *Panax quinquefolius* L. [J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 340-346.
- [11] 张 乐, 宋凤瑞, 王 琦, 等. 人参中稀有皂苷超临界二氧化碳提取[J]. 应用化学, 2010, 27(12): 1483-1485.
- [12] Luo D L, Qiu T Q, Lu Q. Ultrasound-assisted extraction of ginsenosides in supercritical CO₂ reverse microemulsions [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 87(3): 431-436.
- [13] Wang H C, Chen C R, Chang C J. Carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides [J]. Food Chemistry, 2001, 72(4): 505-509.
- [14] Xiu Z L, Zhang D J, Jia L Y, et al. Foam separation of ginsenosides of *Panax ginseng* [J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2001, 1(3): 289-293.
- [15] 张代佳, 修志龙, 林新华, 等. 鲜人参的干燥方法对提取和分离人参皂苷成分的影响[J]. 中西医结合学报, 2004, 2(4): 292-294.
- [16] 王玉堂, 刘学波, 岳田利, 等. 动态泡沫浮选法分离富集人参提取液中的二醇型人参皂苷[J]. 高等学校化学学报, 2009, 30(9): 1713-1716.
- [17] Zhang R, Zhang H Q, Wu L W, et al. Foam Floatation-SPE for separation and concentration of trace ginsenosides [J]. Chromatographia, 2010, 72(1/2): 39-46.
- [18] 张崇禧, 郑友兰, 张春红, 等. 不同方法提取人参总皂苷工艺的优化研究[J]. 人参研究, 2003, 15(4): 5-8.

- [19]张宪臣,王淑敏,陈光,等. 人参皂苷超声提取工艺的研究[J]. 现代中药研究与实践,2005,19(6):55-57.
- [20]Wu J,Lin L,Chau F T. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2001,8(4):347-352.
- [21]Kwon J H,Bélanger J M,Paré J R. Optimization of microwave-assisted extraction(MAP) for ginseng components by response surface methodology[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2003,51(7):1807-1810.
- [22]Shu Y Y,Ko M Y,Chang Y S. Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root[J]. Microchemical Journal,2003,74(2):131-139.
- [23]Shi W,Wang Y T,Li J,et al. Investigation of ginsenosides in different parts and ages of *Panax ginseng*[J]. Food Chemistry,2007,102(3):664-668.
- [24]Wang Y T,You J Y,Yu Y,et al. Analysis of ginsenosides in *Panax ginseng* in high pressure microwave-assisted extraction[J]. Food Chemistry,2008,110(1):161-167.
- [25]石威,王玉堂,权新军,等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定人参根中人参皂苷的含量[J]. 分析化学,2006,34(2):243-246.
- [26]陈瑞战,张守勤,王长征. 正交试验优化超高压提取人参中人参皂苷的工艺研究[J]. 中草药,2005,36(3):365-368.
- [27]Chen R Z,Meng F L,Zhang S Q,et al. Effects of ultrahigh pressure extraction conditions on yields and antioxidant activity of ginsenoside from ginseng[J]. Separation and Purification Technology,2009,66(2):340-346.
- [28]Lee H S,Lee H J,Yu H J,et al. A comparison between high hydrostatic pressure extraction and heat extraction of ginsenosides from ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2011,91(8):1466-1473.
- [29]陈新,胡朝奇,张洪长,等. 仿生化提取人参皂苷类成分的初步研究[J]. 中国药房,2012,23(19):1752-1754.
- [30]Hou J G,He S Y,Ling M S,et al. A method of extracting ginsenosides from *Panax ginseng* by pulsed electric field[J]. Journal of Separation Science,2010,33(17/18):2707-2713.
- [31]Shi X L,Jin Y R,Liu J B,et al. Matrix solid phase dispersion extraction of ginsenosides in the leaves of *Panax ginseng* C. M. Mey[J]. Food Chemistry,2011,129(3):1253-1257.
- [32]Du Q Z,Jerz G,Waibel R,et al. Isolation of dammarane saponins from *Panax notoginseng* by high-speed counter-current chromatography[J]. Journal of Chromatography a,2003,1008(2):173-180.
- [33]Qi X C,Ignatova S,Luo G,et al. Preparative isolation and purification of ginsenosides Rf, Re, Rd and Rb1 from the Roots of *Panax ginseng* with a salt-containing solvent system and flow step-gradient by high performance counter-current chromatography coupled with an evaporative light scattering detector[J]. Journal of Chromatography a,2010,1217(13):1995-2001.
- [34]Cao X L,Tian Y,Zhang T Y,et al. Separation of dammarane-saponins from notoginseng, root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen, by HSCCC coupled with evaporative light scattering detector[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,2003,26(9/10):1579-1591.
- [35]Ha Y W,Lim S S,Ha I J,et al. Preparative isolation of four ginsenosides from Korean red ginseng(steam-treated *Panax ginseng* C. A. Meyer), by high-speed counter-current chromatography coupled with evaporative light scattering detection[J]. Journal of Chromatography a,2007,1151(1/2):37-44.
- [36]Cheng Y J,Liang Q L,Hu P,et al. Combination of normal-phase medium-pressure liquid chromatography and high-performance counter-current chromatography for preparation of ginsenoside-Ro from *Panax ginseng* with high recovery and efficiency[J]. Separation and Purification Technology,2010,73(3):397-402.
- [37]Chen F Q,Luo J G,Kong L Y. Fast isolation of ginsenosides Re and Rg1 from the roots of *Panax ginseng* by HSCCC-ELSD combined with MCI gel CC guided by HPLC-MS[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,2012,35(7):912-923.
- [38]Wang J,Bai H L,Liu C M,et al. Isolation and purification of ginsenosides from plant extract of *panax quinquefolium* L. by high performance centrifugal partition chromatography coupled with ELSD[J]. Chromatographia,2010,71(3/4):267-271.
- [39]Kuang P Q,Wang G,Yuan Q P,et al. Separation and purification of ginsenoside Re from ginseng bud by selective adsorption of active Carbon and preparative high-performance liquid chromatography[J]. Natural Product Research,2012,26(3):286-290.
- [40]Liu Y,Zhou J L,Liu P,et al. Chemical markers' fishing and knock-out for holistic activity and interaction evaluation of the components in herbal medicines[J]. Journal of Chromatography a,2010,1217(32):5239-5245.
- [41]Tanaka H,Fukuda N,Yahara S,et al. Isolation of ginsenoside Rb1 from *Kalopanax pictus* by eastern blotting using anti-ginsenoside Rb1 monoclonal antibody[J]. Phytotherapy Research,2005,19(3):255-258.
- [42]Fukuda N,Tanaka H,Shoyama Y. Isolation of the pharmacologically active saponin ginsenoside Rb1 from ginseng by immunoaffinity column chromatography[J]. Journal of Natural Products,2000,63(2):283-285.
- [43]Putalun W,Fukuda N,Tanaka H,et al. Immunoaffinity column for isolation of bioactive compounds using monoclonal antibodies[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,2002,25(13/15):2387-2398.
- [44]Tanaka H,Fukuda N,Shoyama Y. Formation of monoclonal antibody against a major ginseng component, ginsenoside Rb1 and its characterization[J]. Cytotechnology,1999,29(2):115-120.
- [45]Morinaga O,Fukuda N,Tanaka H,et al. Chromatographic resolution of glucosidic compounds, ginsenosides on polyethersulphone membrane, and its application to the quantitative immunoassay for ginseng saponins[J]. Glycobiology,2005,15(10):1061-1066.
- [46]Morinaga O,Tanaka H,Shoyama Y. Detection and quantification of ginsenoside Re in ginseng samples by a chromatographic immunostaining method using monoclonal antibody against ginsenoside Re[J]. Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences,2006,830(1):100-104.