

孙成贺,曲正义,张 瑞,等. 西洋参果脱色方法比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):248-250.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.081

西洋参果脱色方法比较

孙成贺,曲正义,张 瑞,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:对比研究活性炭、氧化镁、氢氧化钙、大孔树脂 AB-8、D301R、D280、D900、HP-20、脱色一号等脱色剂,以期从中筛选出适合西洋参果的最佳脱色剂。采用高效液相色谱法测定西洋参果中人参皂苷 Re,用紫外-可见分光光度法检测西洋参果溶液的吸光度,检测波长 540 nm,分别计算人参皂苷的保留率、样品脱色率。结果表明,按树脂:西洋参果液质量比 1:4 计算,D301R 型阴离子大孔树脂脱色率为 93.5%,人参皂苷 Re 的保留率为 86.3%,表明脱色效果优于其他脱色剂,具有较高的皂苷保留率,认为 D301R 型阴离子大孔树脂非常适用于西洋参果溶液脱色。

关键词:西洋参果;人参皂苷;色素;脱色;大孔树脂

中图分类号:S567.5+30.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)03-0248-03

西洋参果为西洋参 (*Panax quinquefolium* L.) 的成熟果实,在 8—9 月果实为鲜红色。人参皂苷是其主要化学成分,西洋参果总皂苷含量为 9.05%,果中皂苷含量远高于主侧根部位含量^[1],具有很高的开发价值。植物色素广泛分布于植物根、茎、叶、花、果实中,根据极性不同可分为脂溶性色素和水溶性色素,脂溶性色素有叶绿素、叶黄素、胡萝卜素等,水溶性色素有花青素^[2]。在植物提取物生产过程中,脱色处理为非常重要的一步,否则将严重影响产品的外观和质量,需要采用物理化学方法去除色素,如蔗糖磷酸钙法脱色等^[3]。目前除色素的方法主要有吸附法、化学方法、大孔树脂吸附法,其中吸附法脱色剂有很多种,如活性白土、凹凸棒土、活性炭、沸石等,其中最常用的是活性炭脱色^[4];化学脱色的原理是利用氧化还原反应,在酸性或碱性介质中通过亲电作用和亲核作用破坏发色基团^[5]。大孔树脂为人工合成的具有多空隙结构的聚合物,广泛应用于植物中皂苷、黄酮、生物碱的提取,以及天然色素提取和植物产品脱色素工艺中,依据其连接基团极性的不同,可以分为离子交换树脂和大孔吸附树脂,离子

交换树脂又可分为阴离子型离子交换树脂、阳离子型离子交换树脂。本试验对几种脱色方法的不同吸附材料进行比较,以期从中筛选出更适合西洋参果脱色处理的吸附剂。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验仪器 液相色谱仪,日本岛津 10AvP;LC-10AtvP 型液相色谱泵;SIL-10AdvP 型自动进样器;CTO-AvP 型色谱柱恒温箱;CLASS-vP 色谱工作站;紫外-可见分光光度计,日本岛津 UV2450;UVprob 工作站;电子天平,上海英展机电有限公司;调速多用振荡器,国华 HY-2;旋转蒸发器,上海申生 R2003KE。

1.1.2 试验试剂 盐酸、氢氧化钠、甲醇、氧化镁、氢氧化钙,分析纯;乙腈,色谱纯;超纯水。

1.1.3 试验材料 西洋参果购于长春市乐山西洋参生产基地,经中国农业科学院特产研究所姚春林老师现场鉴定,为西洋参 (*Panax quinquefolium* L.) 果实。

人参皂苷 Re,中国药品生物制品检定所(批号:110754-201123);阴离子树脂 D301R,天津市光复精细化工研究所;阴离子树脂 D280,南开大学化学厂;树脂 AB-8、001×7、D900、脱色一号(其中 001×7 为阳离子大孔树脂,D009、脱色一号为阴离子大孔树脂),沧州市宝恩科技有限公司;HP-20,国产;活性炭,天津市天达精细化工厂。

鉴定[J]. 科学通报,1990(15):1156-1158.

[5]徐 耀. 不同型号大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮的富集作用[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):262-265.

[6]张 旭,王锦玉,全 燕,等. 大孔树脂技术在中药提取纯化中的应用及展望[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):286-290.

[7]孙 健,岳瑞雪,钮福祥,等. 紫甘薯花青素的大孔树脂动态吸附工艺优化[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):227-229.

[8]李 华,赵振贵,李 丹,等. 大孔树脂对大豆异黄酮的吸附性能研究[J]. 郑州大学学报:工学版,2011,32(2):19-22.

收稿日期:2014-04-14

基金项目:吉林省吉林市科技计划(编号:2013222005)。

作者简介:孙成贺(1973—),男,吉林永吉人,硕士,副研究员,主要从事中药材质量评价工作。E-mail:sch1973@126.com。

通信作者:王英平,博士,研究员,主要从事道地中药材资源的开发利用。E-mail:yingpingw@126.com。

参考文献:

[1]中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 45 卷第 3 分册[M]. 北京:科学出版社,1999:102.

[2]柯治国,南玉生,卢令娴. 植源昆虫拒食剂苦皮藤的研究进展[J]. 武汉植物学研究,1993,11(3):265-271.

[3]Cheng C Q,Wu D G,Liu J K. Angulatueoids A-D, four sesquiterpenes from the seeds of celastrus angulatus[J]. Phytochemistry, 1992,31(8):2777-2780.

[4]王国亮,南 蓬,龚复俊,等. 新倍半萜酯——苦皮藤酯 1 的结构

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 取 7.000 kg 除去种子后的西洋参果渣,按照料液比 1 g : 6 mL 加入甲醇提取 12 h,过滤;提取 3 次,合并滤液,旋转蒸发仪回收至浸膏状,溶解于 3.0 L 蒸馏水中作为供试品溶液。

1.2.2 样品溶液脱色 先用 3% HCl 将大孔树脂 AB-8、D301R、D280、D900、HP-20、脱色一号处理 3~4 h,再用蒸馏水冲洗至中性,用 3% NaOH 处理 3~4 h,最后用蒸馏水冲洗至中性;阳离子大孔树脂 001×7 的处理过程相反。

分别称取 1.0、2.0、3.0、5.0、8.0 g 处理好的树脂装入三角瓶中,分别加入 20 mL 样品溶液,摇床振荡 2 h,静止过夜 12 h,滤纸过滤后作为待测液。

分别称取 1.0、2.0、3.0、5.0、8.0 g 活性炭、轻质氧化镁、氢氧化钙装入三角瓶中,加入 20 mL 样品溶液,水浴温度 50 ℃,脱色 2 h,滤纸过滤后作为待测液。

1.2.3 脱色率测定 将西洋参果溶液在波长 400~800 nm 下进行全波长扫描,采样间隔 0.5 nm,扫描速度为快速,以蒸馏水作空白对照。脱色率的计算公式为:

$$\text{脱色率} = \frac{\text{脱色前吸光度} - \text{脱色后吸光度}}{\text{脱色前吸光度}} \times 100\%$$

1.2.4 人参皂苷 Re 测定 对照品溶液的制备:精确称取 3.56 mg 人参皂苷 Re,用甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,摇匀,备用。

色谱条件:采用大连伊利特 Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 A 为乙腈,流动相 B 为水,流速 1.0 mL/min,检测波长 203 nm,柱温 30 ℃。洗脱条件见表 1。

表 1 流动相洗脱梯度

时间(min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	19	81
20	23	77
30	25	75
45	19	81

分别进样 5、10、15、20、30 μL,绘制色谱图对峰面积积分,以色谱峰面积为横坐标、人参皂苷 Re 质量为纵坐标绘制标准曲线。

稳定性试验:样品原溶液分别在制备后 0、4、8、12、24 h 进样检测,以测得的人参皂苷 Re 峰面积计算。

精密度试验:对照品溶液连续进样 10 μL,重复进样 6 次,以测定的人参皂苷 Re 峰面积计算。

重复性试验:样品原溶液平行制备 6 份供试样品,分别计算人参皂苷 Re 的峰面积。

加标回收率试验:取 2 g 西洋参果渣,加入 10 mL 甲醇,静置过夜,过滤,反复提取 3 次后合并滤液,旋转蒸发仪浓缩,甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,加入 2 mL 人参皂苷 Re 标准对照品溶液,进样 10 μL;测定 6 次,计算色谱峰面积、回收率。

样品溶液进样 10 μL,测定样品溶液中人参皂苷 Re 的峰面积,带入回归曲线计算 Re 的含量。人参皂苷 Re 保留率的计算公式如下:

$$\text{人参皂苷 Re 保留率} = \frac{\text{吸附后人参皂苷 Re 含量}}{\text{吸附前人参皂苷 Re 含量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 不同波长下西洋参果溶液的光谱扫描结果

不同波长下西洋参果溶液的光谱扫描结果见图 1,可以看出,西洋参果溶液在 540 nm 有特征吸收波长。

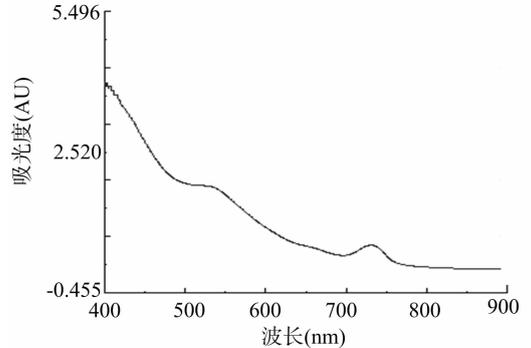


图 1 光谱扫描结果

2.2 人参皂苷的提取结果

标准对照品 Re、未脱色样品、脱色处理后样品的色谱图分别见图 2、图 3、图 4。以色谱峰面积为横坐标、人参皂苷 Re 质量为纵坐标绘制标准曲线 $y = ax + b$, $a = 3.67 \times 10^{-6}$, $b = -0.037$, 相关系数 $r = 0.9998$, 线性范围 1.89~10.68 μg。

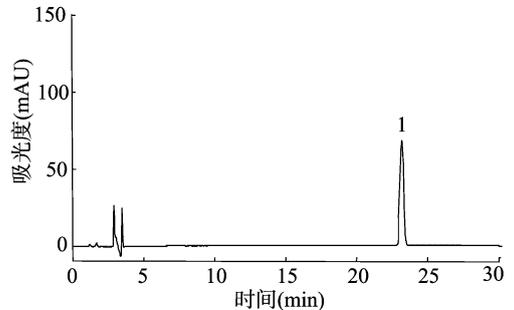


图 2 标准对照品 Re 色谱

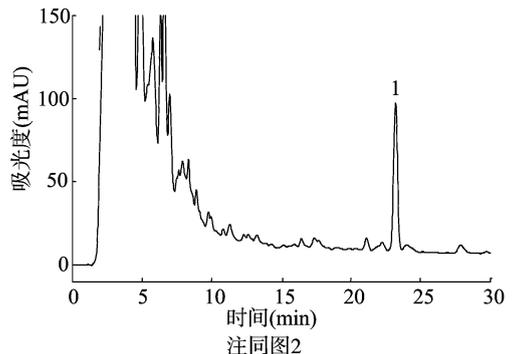


图 3 未脱色样品色谱

稳定性试验结果表明,样品原溶液分别在制备后 0、4、8、12、24 h 进样检测,以测得的人参皂苷 Re 峰面积计算,得到 RSD 为 0.28%,表明该方法精密度良好。

精密度试验结果表明,对照品溶液连续进样 10 μL,重复进样 6 次,以测定的人参皂苷 Re 峰面积计算,得到 RSD 为 0.12%,表明该方法精密度良好。

重复性试验结果表明,样品原溶液平行制备 6 份供试样品,分别计算人参皂苷 Re 峰面积,得到 RSD 为 0.58%,表明

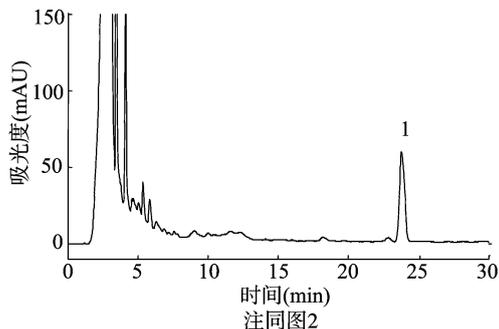


图4 脱色处理后色谱

该方法重现性良好。

加标回收率试验结果表明,回收率为 98%,RSD 为 0.67%。

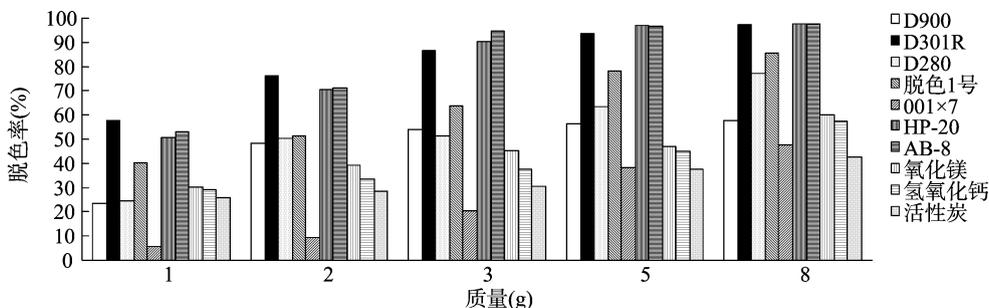


图5 不同质量脱色剂脱色效果

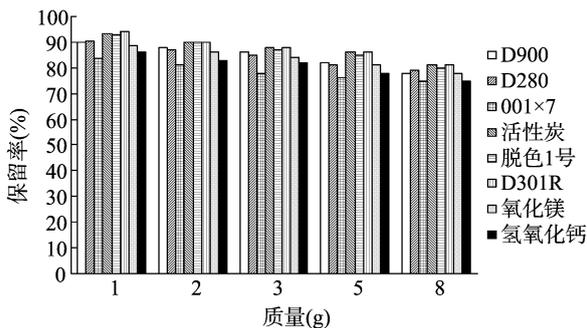


图6 不同质量脱色剂皂苷保留率

3 结论

在考察人参和西洋参产品质量时,常以人参皂苷含量进行比较,人参皂苷的测定方法有香草醛-硫酸比色法^[6]和高效液相色谱测定法^[7-10]。由于西洋参中色素成分含量较高,在用香草醛-硫酸比色法测定时,色素分子会对吸光度检测产生干扰,使结果偏高,因此本试验选用高效液相色谱法检测人参皂苷含量。

从精密性试验、稳定性试验和重现性试验结果看出,此方法可以作为西洋参和西洋参产品中人参皂苷 Re 的测定方法。试验中分别对洗脱系统乙腈水和甲醇水进行比较,结果表明,乙腈水洗脱系统更适合人参皂苷 Re 的检测,同时对方法进行了优化,使得分离度更好。

从脱色结果和皂苷保留率看,弱极性阴离子树脂脱色能力最好,与文献记述一致,其中 AB-8 和 HP-20 的脱色效果

5 g 脱色剂的脱色率和皂苷保留率结果见表 2。从图 5、图 6 可以看出,阴离子大孔树脂对西洋参皂苷的脱色能力排序依次为 D301R > 脱色一号 > D280 > D900,其中 D301R 型大孔树脂对西洋参果溶液中人参皂苷的保留率较高,适合西洋参果溶液脱色。

表 2 5 g 脱色剂的脱色率和皂苷保留率

样品名称	脱色率 (%)	人参皂苷 Re 保留率 (%)	样品名称	脱色率 (%)	人参皂苷 Re 保留率 (%)
D900	57.7	82.8	D280	63.4	81.4
001×7	47.5	76.7	AB-8	96.6	0
活性炭	37.7	86.1	脱色一号	78.3	85.3
D301R	93.5	86.3	HP-20	96.8	0
氧化镁	47.0	81.2	氢氧化钙	45.0	78.7

非常好,但是同时会将皂苷吸附,不适合皂苷脱色处理,更适合于皂苷吸附和富集。

参考文献:

- [1] 张崇禧,李向高,郭生桢. 西洋参化学成分——皂甙的含量测定[J]. 西北植物学报,1988,8(3):201-205.
- [2] 沈曾佑,张志良. 植物的花色素[J]. 生物学教学,1960(7):1-4,10.
- [3] 张雁,李琳,蔡妙颜,等. 磷酸钙沉淀在蔗糖溶液中吸附脱色规律的研究[J]. 郑州工程学院学报,2001,22(1):73-77.
- [4] 孙志芳,高荫榆,洪雪娥. 植物油脱色研究进展[J]. 江西食品工业,2005(1):31-33.
- [5] 蒋俊,杨焱,罗玺,等. 猴头菌多糖不同脱色方法的研究[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(9):1180-1184.
- [6] 曲正义,赵景辉,张瑞,等. 吉林省不同产地人参总皂苷含量的比较[J]. 特产研究,2012,34(1):34-36.
- [7] 郑义,陈晓兰,丁宁,等. HPLC-ELSD 法测定三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 的含量[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):297-298.
- [8] 黄新生. 高效液相色谱法测定人参茎叶浸膏及人参根中的人参皂苷含量[J]. 中国中药杂志,2001,26(3):173-175.
- [9] 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.
- [10] 郑友兰,杨春花,鲍建才,等. RP-HPLC 测定西洋生晒参和西洋红参中人参皂苷含量[J]. 中国药理学杂志,2006,41(19):1494-1496.