

不同种类市售海参的总皂苷含量测定

高子阳, 王瑞*, 郭夫江, 贾琦, 李医明*
(上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

[摘要] 目的: 建立一种海参体壁中总皂苷的含量测定方法, 比较我国 11 种不同种类市售海参和 8 批格皮氏海参干燥体壁中的总皂苷含量。方法: 采用紫外-可见分光光度法, 以齐墩果酸为对照品建立标准曲线, 5% 香草醛-冰醋酸为显色剂, 检测波长 546 nm, 比色法测定总皂苷含量。结果: 所建立的方法稳定可靠, 不同种海参体壁皂苷含量差异较大, 格皮氏海参总皂苷含量最高, 市售格皮氏海参皂苷含量在 3.16% ~ 5.27% 之间。结论: 方法简便、准确、重复性好, 可用于对海参皂苷的含量测定。对我国大部分市售海参种类皂苷含量进行了测定, 其中格皮氏海参可以作为一种很好的制备海参总皂苷的原料药材。

[关键词] 海参; 格皮氏海参; 总皂苷; 比色法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0089-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150089

Determination Total Saponin Content in Sea Cucumbers

GAO Zi-yang, WANG Rui*, GUO Fu-jiang, JIA Qi, LI Yi-ming*

(School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination method of the total saponin content in sea cucumber body wall. To compare the total saponin content of dry sea cucumber body wall in 11 kinds of different types of sea cucumber and 8 batches of *Pearsothuria graeffei*. **Method:** The absorption of the sample solution was measured at 546 nm and the saponin contents were calculated against oleanolic acid by spectrophotometry. vanillin-glacial acetic acid 5% was used as the chromogenic agent. **Result:** The method is stable and reliable. Obvious difference was observed in contents between different kinds of sea cucumber body wall. Total saponin content of *P. graeffei* is high among all species. Saponins contents of the market sales *P. graeffei* are between 3.16% - 5.27%. **Conclusion:** The assay method used in this paper is simple, accurate and reproducible, which can be used for saponin content determination of sea cucumber. By the result we can have a comprehensive understanding of saponin content of sea cucumbers in Chinese marketing. *P. graeffei* can serve as a good resource for preparation of sea cucumber total saponins.

[Key words] sea cucumber; *Pearsothuria graeffei*; total saponin; colorimetric method

海参为棘皮动物门海参纲动物, 其中以海参科海参为主的多种海参的体壁可供食用和药用, 具有补肾益精、养血润燥、止血等作用^[1]。皂苷是海参的主要次生代谢产物, 是其进行化学防御的物质基础^[2]。受分类和生长环境等影响, 不同种海参体内

所含皂苷的种类和结构有所不同^[2]。近代研究表明, 海参皂苷具有抗肿瘤、细胞毒、抗真菌、减肥降脂等药理活性^[3-4]。在我国食用海参历史悠久, 现在市面销售的食用海参种类较多, 但是对这些海参的物种鉴定以及皂苷含量的测定却鲜有报道。随着

[收稿日期] 20140213(008)

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2013AA093003); 上海市“科技创新行动计划”项目(13401900104)

[第一作者] 高子阳, 硕士, 从事中药活性成分研究, Tel:021-51323065, E-mail: gaoziyang99@163.com

[通讯作者] *王瑞, 副教授, 硕士生导师, 从事中药质量标准研究, Tel:021-51322181, E-mail: ellewang@163.com;

*李医明, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础研究, Tel:021-51322191, E-mail: ymlius@163.com

人们对保健养生越来越多的关注和开发利用海洋资源的“蓝色革命”兴起,在此对我国市面不同种类可食用海参进行鉴定,进行皂苷含量测定和比较具有很现实的指导意义。本文以 11 种市售普通食用海参和 8 批格皮氏海参及皂苷含量为研究对象,采用紫外-可见分光光度计比色法测定其总皂苷含量,并进行比较,为进一步研究、综合利用海参提供参考。

1 材料

DFT-100 型手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司),HHS-21-6 型电热恒温水浴锅(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),N-1100 型旋转蒸发仪(上海爱郎仪器有限公司),DZF-6051 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),UV765 型紫

外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),FA1004B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),HHS-2S 型数显恒温水浴锅(上海卓爵仪器设备有限公司)。

齐墩果酸对照品(批号 20120919,98%,上海标准化研究中心),其他试剂均为分析纯。

梅花参(购自广东广州水产市场),玉足海参(购自江苏连云港水产市场),白肛海地瓜、绿刺参、格皮氏海参、豹斑海参、多瘤海参、黄乳海参、黑乳海参、黄疣海参、丑海参(购自广西北海水产市场),8 批格皮氏海参分别购自广东茂名、广西北海和山东青岛、日照水产市场,由中国海洋大学曾晓起教授鉴定,鉴定结果见表 1。以上海参分别冷冻干燥,粉碎过 3 号筛备用。

表 1 我国 11 种市售食用海参的物种鉴定^[5]

No.	商品名	学名	拉丁名	属	科	目
1	海茄子	白肛海地瓜	<i>Acaudina leucopraocta</i> H. L. Clark	海地瓜属	尻参科	芋参目
2	梅花参	梅花参	<i>Thelenota ananas</i> (Jaeger)	梅花参属	刺参科	楯手目
3	黄玉参	绿刺参	<i>Stichopus chloronotus</i> Brandt	刺参属	刺参属	楯手目
4	黑海参	格皮氏海参	<i>Pearsonothuria graeffei</i> (Semper)	皮氏海参属	海参科	楯手目
5	秃透参、明秃参	豹斑海参	<i>Holothuria pardalis</i> Selenka	海参属	海参科	楯手目
6	乌元参、虎皮参	多瘤海参	<i>H. verrucosa</i> Selenka	海参属	海参科	楯手目
7	黑香参、香皮参	玉足海参	<i>H. leucospilota</i> (Brandt)	海参属	海参科	楯手目
8	象牙参	黄乳海参	<i>H. fuscogлива</i> Cherbonnier	海参属	海参科	楯手目
9	猪婆参	黑乳海参	<i>H. nobilis</i> (Selenka)	海参属	海参科	楯手目
10	白底靴参	黄疣海参	<i>H. hilla</i> Lesson	海参属	海参科	楯手目
11	梅花蛇参	丑海参	<i>H. impatiens</i> (Forskaal)	海参属	海参科	楯手目

2 方法与结果

2.1 标准曲线的建立 精确称取齐墩果酸对照品 9.96 mg,甲醇定容至 50 mL 量瓶中,即得对照品溶液。分别精密吸取 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6 mL 置 6 支 10 mL 具塞试管中,减压挥干试剂,加入 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,摇匀,60 ℃ 水浴 15 min,冰水浴冷却,加冰醋酸 5 mL 稀释^[6],摇匀,室温放置 10 min,全波长扫描在 546 nm 有最大吸收,于 546 nm 处比色,绘制标准曲线,以对照品的质量浓度为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,得回归方程为 $Y = 59.826X - 0.0768$ ($R^2 = 0.9991$),齐墩果酸在 3.32 ~ 19.92 mg · L⁻¹ 呈现良好的线性关系。

2.2 海参总皂苷样品的制备 分别称取海参粉末各 5.0 g,60% 乙醇 50 mL 85 ℃ 水浴加热回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,减压旋蒸至干,溶于

25 mL 水中,以等体积二氯甲烷萃取 3 遍后,等体积水饱和正丁醇萃取 3 次,合并正丁醇部分,用 50 mL 正丁醇饱和水洗涤后,将正丁醇萃取液浓缩干燥,并准确称量,以 60% 甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,即得。

2.3 精密度试验 精密吸取 5 份同一种海参供试液(格皮氏海参)于 5 支 10 mL 具塞试管中,按 2.1 项下的方法操作(从“减压挥干试剂”起),在 546 nm 处测定溶液 A,计算 RSD 1.15%,表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验 精密吸取同一种海参供试液(格皮氏海参),分别于 0,2,4,6,8,10,12,24 h 按 2.1 项的方法操作,在 546 nm 处比色测定 A,结果 RSD 1.07%,表明该样品在 24 h 内稳定性较好。

2.5 重复性试验 精密称取 5 份同一海参样品(格皮氏海参)各 5.0 g,按 2.2 项的方法制备样品溶液,

按 2.1 项的方法操作,在 546 nm 处比色测定溶液 A,结果 RSD 1.17%,表明该方法重复性良好。

2.6 加样回收率试验 精密称取同一海参样品(格皮氏海参)5 份,每份约 2.5 g,按 2.2 项下方法制备样品溶液,分别精密吸取供试液 0.1 mL 于 5 支 10 mL 具塞试管中,分别加入对照品溶液 50,100,150,200,250 μL ,按 2.1 项的方法操作,在 546 nm 处比色测定 A,计算结果和回收率,见表 2。

表 2 格皮氏海参中总皂苷加样回收率

No.	样品中 量/ μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	29.45	9.96	39.90	98.77		
2	29.41	19.92	48.80	101.09		
3	29.44	29.88	59.01	100.53	99.81	0.98
4	29.47	39.84	70.01	99.00		
5	29.42	49.80	79.50	99.65		

2.7 海参皂苷与齐墩果酸量比换算系数推算^[7]

齐墩果酸相对分子质量为 456,按格皮氏海参中 5 种主要皂苷^[8] holothurin A₁, holothurin A, 24-dehydro-chinoside A, holothurin B, echinoside A 含量加权分析海参总皂苷的平均相对分子质量为 1 190.33,与齐墩果酸分子量相比较,二者量比系数为 2.61。可得格皮氏海参总皂苷含量的计算公式为:

$$\text{海参总皂苷含量} = \text{试样中齐墩果酸相当量} \times 2.61$$

2.8 不同海参样品皂苷含量测定 精密吸取每个海参样品供试液 0.3 mL,按上述 2.1 项的方法操作,在 546 nm 处测定 A,由标准曲线计算出浓度,并计算出每种海参中总皂苷含量,见表 3。

通过比较发现,我国市售的食用海参中,格皮氏海参总皂苷含量最高,且明显高于其他种海参,梅花参其次,其他种食用海参的皂苷含量为 0.2% ~ 0.9% 左右。此外我国山东所产刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 干参总皂苷含量为 0.474%^[9]。

2.9 不同批次格皮氏海参样品皂苷含量测定 精密吸取格皮氏海参样品供试液 0.3 mL,按上述 2.1 项的方法操作,在 546 nm 处测定 A,由标准曲线计算出浓度,并计算出每批格皮氏海参中总皂苷含量,见表 4。

市面销售的格皮氏海参干燥体壁中总皂苷含量 3.16% ~ 5.27%,平均质量分数 4.11%。

表 3 不同海参体壁中总皂苷含量($n=5$)

No.	海参种类	干燥体壁中 萃取物质量比	萃取物中 总皂苷	干燥体壁中 总皂苷
1	白肛海地瓜	1.48	12.84	0.19
2	梅花参	3.85	35.32	1.36
3	绿刺参	2.42	26.45	0.64
4	格皮氏海参	11.03	29.19	3.22
5	豹斑海参	2.43	15.64	0.38
6	多瘤海参	3.30	18.79	0.62
7	玉足海参	3.33	27.63	0.92
8	黄乳海参	4.70	10.43	0.49
9	黑乳海参	2.53	16.21	0.41
10	黄疣海参	3.55	24.51	0.87
11	丑海参	2.34	11.94	0.28

表 4 不同批次格皮氏海参体壁中总皂苷含量($n=5$)

批次	干燥体壁中 萃取物质量比	萃取物中 总皂苷	干燥体壁中 总皂苷
1	9.82	32.19	3.16
2	12.66	29.36	3.72
3	10.67	33.46	3.57
4	16.15	31.91	5.15
5	12.24	30.99	3.79
6	16.80	31.36	5.27
7	16.51	30.42	5.02
8	9.97	32.58	3.25

3 讨论

比色法是测定总皂苷含量常用的经典方法,本文以齐墩果酸为标准品建立的测定方法,简单可靠,重复性好,可用于海参中总皂苷含量的测定。

我国市面销售的食用海参以楯手目海参科和刺参科海参为主,其中梅花参、绿刺参、黑乳海参、黄乳海参为传统食用价值和价格都较高的海参。格皮氏海参、梅花参皂苷含量较高,明显高于其他种海参,与文献报道一致^[9]。白肛海地瓜是除楯手目以外销售的唯一食用海参,同时也是皂苷含量最低的海参。格皮氏海参虽然体型较大、体壁较厚但价格较低,味苦麻舌,食用价值不高,粉碎时粉尘极刺激,吸入过多易导致鼻黏膜出血,但提取过总皂苷后的海参切片口尝已无麻舌感、不刺鼻,可以推断食用格皮氏海参引起的麻舌感极有可能是其所含丰富的皂苷类物质引起的。因此格皮氏海参可以作为很好的海参皂苷来源物种,用 60% 乙醇处理可以消除格皮氏海参的麻舌感。

HPLC 同时测定桑叶中绿原酸、芦丁、异槲皮苷、紫云英苷、槲皮素含量

邸学,谷丽艳,王海波,许亮,包琳琳
(辽宁中医药大学,辽宁 大连 11660)

[摘要] 目的:建立桑叶中绿原酸、芦丁、异槲皮苷、紫云英苷、槲皮素含量的方法,对不同来源的桑叶药材质量进行评价。方法:HPLC 同时测定 Thermo ODS 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温 35 ℃,流动相为磷酸乙腈溶液(0.1%,A)和磷酸(0.16%)-三乙胺(0.18%)水溶液(B)梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 360 nm。结果:桑叶中绿原酸、芦丁、异槲皮苷、紫云英苷、槲皮素 5 种活性成分在 60 min 内分离效果理想,线性范围分别为 0.32~13.73 μg ($r=0.9996$),0.05~3.13 μg ($r=0.9998$),0.03~9.50 μg ($r=0.9994$),0.03~5.60 μg ($r=0.9995$),0.001~0.05 μg ($r=0.9997$);平均加样回收率在 99.61%~106.09%,RSD≤2.8%。结论:该方法操作简单,结果准确,专属性强,可为桑叶药材的质量控制标准提高提供参考。

[关键词] 桑叶;绿原酸;芦丁;异槲皮苷;紫云英苷;槲皮素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0092-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150092

Simultaneous Determination of Chlorogenic Acid, Rutin, Isoquercetin, Astragaloside and Quercetin in Mori Folium by HPLC

DI Xue, GU Li-yan, WANG Hai-bo, XU Liang, BAO Lin-lin

(School of Pharmaceutical Sciences, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC method for simultaneous determination of chlorogenic acid, rutin, isoquercetin and astragaloside quercetin in Mori Folium. **Method:** A HPLC equipped with a Thermo ODS

[收稿日期] 20130715(007)

[第一作者] 邸学,硕士,实验师,从事中药品种鉴定评价研究,E-mail: dix_email@163.com

[参考文献]

[1] 南京中医药大学. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2006:2724.
[2] Séverine V D, Pascal G, Patrick F. Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from the Indian Ocean[J]. Marine Drugs, 2010, 8(1):173.
[3] 张淑瑜, 汤海峰, 刘世君, 等. 海参中海参烷型皂苷的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2008, 26(5):321.
[4] Xiaoqian Hu, Yuming Wang, Jingfeng Wang, et al. Dietary saponins of sea cucumber alleviate orotic acid-induced fatty liver in rats via PPAR α and SREBP-1c signaling[J]. Lipids in Health and Disease, 2010, 9(1):25.

[5] 廖玉麟. 中同动物志棘皮动物门海参纲[M]. 北京:科学出版社, 1997:108.
[6] 刁小琴, 田晓菊, 关海宁, 等. 以齐墩果酸为标准品测定大豆皂甙的研究[J]. 中国油脂, 2009(11):53.
[7] 张小鸿, 吴杨峥, 徐先祥. 不同显色剂对牛膝总皂苷含量测定的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21):113.
[8] 董平. 革皮氏海参皂苷化合物的分离鉴定、结构修饰及活性研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2008.
[9] 董平, 薛长虹, 盛文静, 等. 海参中总皂苷含量测定方法的研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2008, 27(1):28.

[责任编辑 顾雪竹]