

西洋参鲜品与干品蛋白质、维生素 C、维生素 E、 挥发油成分及超氧化物歧化酶活性的比较

张建遼¹, 高睿¹, 康廷国¹, 窦德强^{1*}, 王谷强²

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600;

2. 辽宁省宽甸长白山石柱野山参发展有限公司, 辽宁 丹东 118000)

[摘要] 目的:对西洋参鲜品和干品蛋白质、维生素 C、维生素 E、挥发油成分及超氧化物歧化酶活性进行比较,为西洋参的合理应用提供参考。方法:蛋白质分析采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法;维生素 C、维生素 E 含量测定采用分光光度法;挥发油成分分析采用 GC-MS 的方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用邻苯三酚自氧化法;并对测定结果进行 *t* 检验。结果:西洋参鲜品与西洋参干品的蛋白质电泳谱带有所不同,但鲜品蛋白质含量高于干品;维生素 C、维生素 E 含量、SOD 活性西洋参鲜品极显著高于干品($P < 0.01$),挥发油含量、成分种类西洋参鲜品多于干品,且成分有所不同。结论:西洋参鲜品与干品的蛋白质、维生素 C、维生素 E、挥发油成分有所不同,SOD 活性有所差异,这可能是二者药性及作用不同的原因之一。

[关键词] 西洋参; 维生素 C; 维生素 E; 超氧化物歧化酶; 气相色谱-质谱联用; SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0102-05

[doi] 10.11653/syjf2013080102

[收稿日期] 20120724(006)

[基金项目] 辽宁省高等学校优秀人才支持计划项目(2008RC34)

[第一作者] 张建遼, 讲师, 在读博士研究生, 从事中药资源及品质评价研究, Tel: 0411-87586004, E-mail: lnzyzjk@sina.com

[通讯作者] * 窦德强, Tel: E-mail: qoudeqiang2003@yahoo.com.cn

关于文中的含量测定方法,笔者结合文献[9-10],对提取溶剂(正丁醇饱和水、70%乙醇、甲醇和水饱和正丁醇)、提取方法(超声提取法、回流提取法和冷浸法)、样品前处理方法以及 HPLC 色谱条件进行了考察,最后确定了用甲醇进行冷浸提取、再用水饱和正丁醇萃取后去除基质干扰制备样品, HPLC 条件采用柱温控制在 40℃、流动相中加入 0.1% 磷酸可以达到较好的分离效果。

[参考文献]

- [1] 舒思洁. 西洋参及其活性成分的药理学研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2603.
- [2] 金辉, 王保忠, 刘智斌. 辐射对云南特色中药的灭菌效果及品质影响研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(22): 1700.
- [3] 李奉勤, 史冬霞, 范文成, 等. 考察不同剂量⁶⁰Co-γ射线辐照对冠心胶囊灭菌效果和含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(3): 5.

- [4] 孙建宇, 何富根, 陈红, 等. ⁶⁰Co-γ射线辐照对中药地黄和龙胆有效成分的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(1): 39.
- [5] 哈益明. 辐照食品及其安全性[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 112.
- [6] FAO/WHO. Codex general standard for irradiated foods[S]. CODEX-STAN, 1983: 106.
- [7] 刘淑芝, 费虹, 汤亚池, 等. 中药巴布剂制备工艺的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 9.
- [8] 刘林, 方永奇, 薛中峰. β-细辛醚巴布剂制备工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 42.
- [9] 王晓燕, 朱宝珠. HPLC 测定脑脉舒康胶囊中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 56.
- [10] 刘常青, 何百寅, 赖小平, 等. HPLC 测定经络贴巴布剂中 3 种皂苷的含量[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(6): 586.

[责任编辑 顾雪竹]

Comparative Study on the Component of Protein, Vitamin C, Vitamin E and Volatile Oil and SOD Activity of Fresh and Dried American Ginseng

ZHANG Jian-kui¹, GAO Rui¹, KANG Ting-guo¹, DOU De-qiang^{1*}, WANG Gu-qiang²

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Liaoning Kuandian Chinese Shizhu Panax Wild Ginseng Development Co Ltd., Dandong 118000, China)

[Abstract] Objective: To compare the component of protein, vitamin C, vitamin E and volatile oil and superoxide dismutase (SOD) activity of fresh and dried American ginseng and provide reference for reasonable application of American ginseng. **Method:** SDS-PAGE electrophoresis was carried out for protein analysis; UV spectrophotometry was used for determination of vitamin C and vitamin E; GC-MS was used for the analysis of volatile oil; SOD activity assay was detected with the methods of pyrogallol autoxidation and the data were analyzed by t-test. **Result:** The electrophoresis bands between fresh and dried American ginseng was different and the content of protein in fresh American ginseng was higher than dried one. The content of vitamin C and vitamin E, SOD activity assay in fresh American ginseng were significantly higher than dried one ($P < 0.01$). The content and the kind of components of volatile oil were different and in fresh American ginseng was more than dried one. **Conclusion:** The component of protein, vitamin C, vitamin E, volatile oil, SOD activity in fresh American ginseng and dried one was different, which may be one of the reasons for the different of properties and efficacy.

[Key words] *Panax quinquefolium* L; vitamin C; vitamin E; SOD; GC-MS; SDS-PAGE

西洋参为五加科植物西洋参的干燥根,具有补气养阴、清热生津等功效^[1],是卫生部公布的可用于保健食品的物品之一。药用西洋参多为干品,而在食疗保健等方面,西洋参多用鲜品^[2]。中药新药的研究,是近 10 年的研究热点^[3-6]。西洋参鲜品含大量浆液,能直接以汁补体,滋润五脏,其汁气味浓郁,清凉柔润,易于消化道吸收,比干品西洋参具有更强的滋补作用^[7]。二者在药性及作用方面的差异,在作为药效物质基础的化学成分上也会有所体现。本实验采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)对二者在蛋白分布及含量上的差异进行了比较;采用分光光度法测定并比较了二者在维生素 C、维生素 E 含量上的差异采用 GC-MS 的方法比较了二者在挥发油种类及含量上的差异;采用邻苯三酚自氧化法测定并比较了二者在超氧化物歧化酶活性上的差异,为西洋参的合理应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 DYY-6C 型双稳定时电泳仪(北京东南仪城实验设备有限公司),VE-186 型转移电泳槽、Tanon-2500 型全自动数码凝胶图像分析系统(上海天能科技有限公司),台式冷冻离心机(Fresco),水浴锅(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),Sartorius BP 211D 型、BT125D 型电子分析天平(德国赛多利斯

公司),PCJ-10 型超纯水机(成都品成科技有限公司),HITACHI UV-3010 型紫外可见双光束扫描分光光度计(日本日立集团),高速离心机(上海安亭仪器制造厂),UB-7 型精密 pH 计(郑州南北仪器设备有限公司),GC-9A 型气相色谱仪(日本岛津公司),配 FID 检测器,Class-5000 型数据处理系统,QP5050A 型色谱-质谱联用仪(日本岛津公司),HP-5MS(30m×0.25mm)弹性石英毛细管柱(美国安捷伦科技有限公司),挥发油提取器(天津玻璃仪器厂),微量电动组织匀浆器(美国 Kimble 公司)。

1.2 试剂 丙烯酰胺、溴酚蓝、三异丙基乙磺酰(Amresco 公司),*N-N* 亚甲基双丙烯酰胺(美国 sigma 公司),过硫酸铵(天津市凯信化学工业有限公司),TEMED(*N,N,N',N'*-四甲基乙二胺),SDS(十二烷基磺酸钠)(日本 Reanta 科技有限公司),甘氨酸(上海康达氨基酸厂),考马斯亮蓝 R-250, β -巯基乙醇、95% 乙醇、甘油、冰醋酸、盐酸、乙二胺四乙酸二钠(EDTA·2Na),硫酸铜、草酸、甲醇、乙醚为均分析纯,均为天津市科密欧化学试剂化学试剂有限公司生产。三羟甲基氨基甲烷为分析纯,维生素 E 对照品,纯度 $\geq 99\%$,均购于上海源叶生物科技有限公司,邻苯三酚为分析纯,抗坏血酸(Vc)纯度为 99.6%,均购于上海华蓝化学科技有限公司。

1.3 药材 4 年生西洋参由辽宁省宽甸长白山石柱野山参发展有限公司提供,经辽宁中医药大学康廷国教授鉴定为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的干燥根。将同一支西洋参鲜品沿纵向切开,一半置冰箱内保存,作为西洋参鲜品,另一半置烘箱内 40 ℃ 烘干,为西洋参干品。

2 方法与结果

2.1 SDS-PAGE 电泳分析 取西洋参的鲜品、干品各 10 g,分别将其切成薄片,分别浸于 50 mL pH 5.0,浓度 0.02 mol·L⁻¹ 的醋酸-醋酸钠缓冲盐溶液中,4 ℃ 冷提 24 h,过滤,取上清液 1 mL 浓缩至 100 μL,并向其中加入去离子水 200 μL,高速离心 25 min,使上清液再次浓缩至 100 μL,重复操作一次,得到浓缩液备用。按文献[8]的方法制备胶及上样,电泳条件为:起始电压 100 V,下层胶电压 120 V,电流 30~50 mA,至溴酚蓝到达分离胶底部上方约 1 cm,关闭电源,停止电泳,取下凝胶。电泳时间 2~3 h。实验结果见图 1。

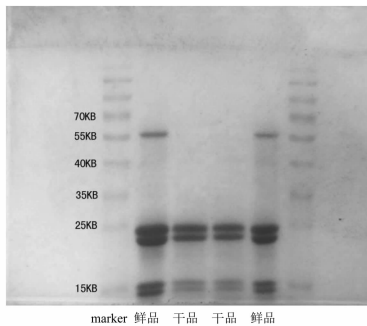


图 1 西洋参蛋白质 SDS-PAGE 电泳

电泳谱带根据染色深浅可分为三级:染色深而明显的为一级带,染色较深的为二级带,染色浅但可以分辨的为三级带。从图 1 中可知,在 55~70 KB 处,西洋参鲜品有 1 条 III 级谱带,而在相应的位置上,西洋参干品则没有该谱带,说明西洋参鲜品和干品的电泳谱带有所不同;在 15 KB 处,鲜品为 2 条 III 级谱带,而干品为 2 条 II 级谱带,说明在蛋白质的含量上,鲜品高于干品。

2.2 维生素 C 含量的比较 取西洋参鲜品 1 g,精密称定,用组织匀浆器匀浆后,转移至锥形瓶中,加入 100 mL 2% 草酸溶液浸泡 24 h,过滤,收集滤液至 100 mL 的量瓶中,加 2% 草酸稀释至刻度,备用。取西洋参干品粉末 1 g,精密称定,加 2% 草酸 100 mL 浸泡过夜,过滤,收集滤液至 100 mL 的量瓶中,加 2% 草酸稀释至刻度,备用。按紫外分光光度法^[9]测定并计算维生素 C 的含量。结果见表 1。

对以上数据的差值进行正态性检验,结果表明,

表 1 西洋参维生素 C 含量测定 (n=3) %

批次	西洋参鲜品	西洋参干品
1	0.231 2	0.177 4
2	0.286 6	0.163 5
3	0.304 9	0.142 7
4	0.194 2	0.110 6
5	0.298 0	0.179 6

$P = 0.922 > 0.05$,可认为差值符合正态分布,进而对两组数据进行配对 *t* 检验,结果表明, $P = 0.004 < 0.01$,可认为西洋参鲜品维生素 C 含量极显著高于西洋参干品。

2.3 维生素 E 含量的比较 取西洋参鲜品 1 g,精密称定,用组织匀浆器匀浆后,转移至锥形瓶中,加甲醇 100 mL,置于超声波中超声处理 15 min,过滤,收集滤液至 100 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,备用。取西洋参干品粉末 1 g 至锥形瓶中,精密称定,加甲醇 100 mL,置于超声波中超声处理 15 min,过滤,收集滤液至 100 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,备用。然后采用紫外分光光度法^[10]测定并计算维生素 E 的含量(以上操作应避光进行)。结果见表 2。

表 2 西洋参维生素 E 含量测定 (n=3) %

批次	西洋参鲜品	西洋参干品
1	0.345 1	0.220 3
2	0.298 7	0.214 2
3	0.433 8	0.325 0
4	0.375 9	0.267 4
5	0.406 6	0.321 5

对以上数据的差值进行正态性检验,结果表明, $P = 0.313 > 0.05$,可认为差值符合正态分布,进而对两组数据进行配对 *t* 检验,结果表明, $P = 0.000 < 0.01$,可认为西洋参鲜品 Ve 含量极显著高于西洋参干品。

2.4 挥发油成分分析

2.4.1 挥发油提取 将西洋参鲜品 1 000 g 切成薄片后精密称定,加蒸馏水 1 000 mL,用挥发油提取器按常规水蒸气蒸馏法提取 1 次,共 6 h,另取西洋参干品粉末(40 目)1 000 g 精密称定,加蒸馏水 1 000 mL,同法提取挥发油,二者均得到淡黄色透明的挥发油。其中西洋参鲜品出油率为 0.11%,西洋参干品出油率为 0.04%。

2.4.2 挥发油成分分析 色谱条件:进样口和检测器 280 ℃,柱温采用程序升温,初温 50 ℃,恒温 5

min,再以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升至 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$,恒温 10 min。载气为氦气(99.999%),流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,尾吹 $40\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,分流比 2:1。质谱条件:EI 源,离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$,离子电压 70 eV,质量扫描范围 m/z 33~500。取挥发油 0.1 mL 置 5 mL 量瓶中,用乙

醚稀释至刻度,取 $1\text{ }\mu\text{L}$ 作 GC 分析,以 GC-MS 定性。从西洋参鲜品中共分离出 54 个峰,从西洋参干品中共分离出 24 个峰,均采用气相色谱数据处理系统,以面积归一化法测得各组分相对百分含量,结果见图 2~3,表 3~4(表中化合物的匹配度均 $>95\%$)。

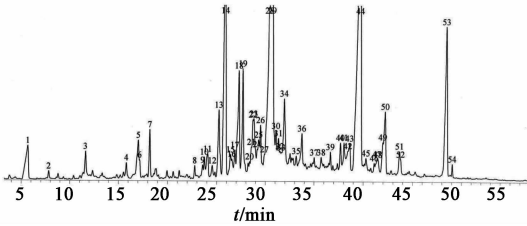


图 2 西洋参鲜品的离子流色谱

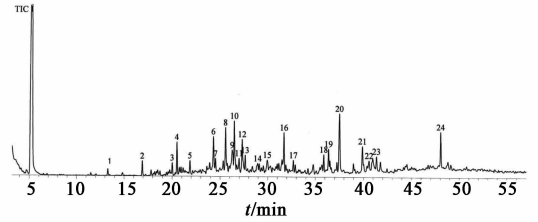


图 3 西洋参干品的离子流色谱

表 3 西洋参鲜品中主要的挥发性成分

No.	t_R /min	成分	分子式	相对 分子质量	相对含量 /%
1	11.645	庚基过氧化氢	$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2$	132	0.77
2	17.054	4-亚甲基环丙基丁醛	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}$	124	1.63
3	18.223	2-甲基癸烷	$\text{C}_{11}\text{H}_{24}$	156	1.15
4	25.250	大牻牛儿烯 D	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	2.37
5	25.913	7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	9.79
6	27.299	5-(2,2-二甲基环丙基)-2-甲基-4-亚甲基-1-戊烯	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}$	164	3.61
7	27.699	Z,Z 3,3,6,6,9,9-六甲基-四环[6.1.0.0(2,4).0(5,7)]壬烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	2.80
8	29.509	α -没药醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222	0.98
9	30.444	1,3-癸二炔	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$	134	7.99
10	30.730	2-甲基-3,5-十二烷二炔	$\text{C}_{13}\text{H}_{20}$	176	13.94
11	31.959	环氧化长蒎烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	220	2.54
12	39.742	镰叶芹醇(Z)-(-)-1,9-七癸二烯-4,6-二炔-3-酚	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}$	244	21.05
13	42.244	2-氮-1-癸烯-4-炔	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_2$	181	2.22
14	48.513	邻苯二甲酸二异辛酯	$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$	390	6.44

表 4 西洋参干品中主要的挥发性成分

No.	t_R /min	成分	分子式	相对分子质量	含量/%
1	5.488	2-(1-甲基乙氧基)-2-丙醇	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_2$	118	71.15
2	16.904	(1-甲基十一基)-苯	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}$	246	1.64
3	20.501	2-甲基辛烷	C_9H_{20}	128	1.79
4	24.309	十二烷基环氧乙烷	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}$	212	2.25
5	25.573	-十八碳二炔酸甲酯	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_2$	290	1.50
6	26.483	3,3-二甲基-己烷	$\text{C}_{18}\text{H}_{38}$	254	2.35
7	31.712	2-甲基-辛烷	C_9H_{20}	128	1.60
8	36.385	4-甲基-1-十一碳烯	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}$	168	0.91
9	37.558	4-甲基辛酸	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_2$	158	3.00
10	48.068	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$	390	2.44

从图 1~2 中可以看出:从西洋参鲜品中分离得到 54 个成分,从西洋参鲜品中分离得到 24 个成分,二者多数成分有所不同,其中:保留时间为 24.549, 26.483, 27.299, 27.699, 29.904, 31.662 min 的峰为二者的共有峰,保留时间为 24.549, 26.483, 29.904, 31.662 min 的峰在西洋参干品中含量高于西洋参鲜品,保留时间为 27.299, 27.699 min 的峰

在西洋参干品中含量低于西洋参鲜品;从表 3 中可知,西洋参鲜品中主要的挥发性成分为酚类、烯类、炔类、酯类成分;从表 4 中可知,西洋参干品中主要的挥发性成分为醇类、烷类、酸类、酯类成分。以上说明:西洋参在干燥过程中,挥发性成分有所变化;另外从出油率上看,干燥的过程会使挥发油含量大幅下降。

2.5 超氧化物歧化酶(SOD)活性比较 取 2 g 西洋参鲜品,精密称定,加入 10 mL 0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液,用组织匀浆器匀浆,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液用 0.45 μm 滤膜过滤,备用。取西洋参干品粉末 2 g,精密称定,加入 10 mL 0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液,4 ℃ 浸提 24 h,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液用 0.45 μm 滤膜过滤,备用。按照 GBT5009.171-2003^[11],采用邻苯三酚自氧化法进行测定,并计算西洋参鲜品和西洋参干品中的 SOD 活性,结果见表 5。

表 5 西洋参 SOD 活性测定(n=3)

SOD /U·mL ⁻¹	批次	西洋参鲜品	西洋参干品
	1	433.73	108.43
	2	688.53	192.61
	3	842.92	358.78
	4	532.88	163.28
	5	376.45	148.40

对以上数据的差值进行正态性检验,结果表明, $P = 0.580 > 0.05$, 可认为差值符合正态分布,进而对两组数据进行配对 *t* 检验,结果表明, $P = 0.002 < 0.01$, 可认为西洋参鲜品 SOD 活性极显著高于西洋参干品。这可能与 SOD 酶遇热变性,活性降低有关。

3 讨论

何晶晶等^[12]认为,一般鲜药在干制过程中,化学成分的种类和含量可能会发生明显变化,许多药材在干制过程中其有效成分(尤其是挥发性成分和易氧化或易分解的成分)均有程度不同的损失。本实验的结果表明,西洋参鲜品与干品的蛋白质电泳谱带有所不同,鲜品蛋白质含量高于干品,这可能与西洋参在干燥过程中部分蛋白质被破坏变性有关。

维生素 C、维生素 E、SOD 均具有抗氧化、清除体内自由基的作用^[13-14],这可能与西洋参有抗衰老的作用有关。本实验的结果表明,维生素 C 含量西洋参鲜品极显著高于干品,这可能与维生素 C 极易受温度、氧、酶等因素影响而发生降解有关^[13];维生素 E 含量西洋参鲜品极显著高于干品,这可能与维生素 E 对氧、氧化剂、紫外线敏感,易被氧化破坏有关^[14];SOD 活性西洋参鲜品极显著高于干品,这可能与 SOD 遇热变性,活性降低有关。此外,西洋参鲜品挥发油的含量、成分种类多于干品,说明西洋参

在干燥过程中,挥发性含量及成分种类发生了变化。

西洋参主要成分为人参皂苷,其鲜品与干品在人参皂苷种类及含量上的差别有待于在今后的实验中进一步研究。

以上研究表明,西洋参鲜品与干品的成分有所不同,在作为保健食品食用时,鲜品西洋参的营养成分(维生素 C、维生素 E 等)极显著的高于干品西洋参,营养价值更大,食用价值更大,应采取措施尽量长时间的保鲜;西洋参干品在作为药用时,其成分与鲜品有所不同,功效也会有所差异,应根据病症的不同有所选择。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:122.
- [2] 李建生,郝近大. 鲜药图谱[M]. 北京:中国医药科技出版社,2006:66.
- [3] 杨桦,郝近大. 中药鲜药制剂研究的现状与展望[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(s1):110.
- [4] 周焕第,李丽. 中药鲜药的药理作用和临床应用研究概况[J]. 中国民族民间医药,2012,21(1):43.
- [5] 梁友强,王抗战. 中药新鲜药物的特点和应用[J]. 甘肃中医,2011,24(2):62.
- [6] 黄海燕,卢晓峰. 中药鲜药的现代应用浅析[J]. 浙江中医杂志,2011,46(1):61.
- [7] 傅建国. 神奇的鲜活西洋参——饮用西洋参鲜品显奇效[J]. 健康指南:中老年,2011(6):45.
- [8] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京:科学出版社,2001:141.
- [9] 李志英,赵二劳,张海容. 紫外分光光度法测定沙棘中维生素 C 含量[J]. 山西大学学报:自然科学版,2003,26(4):339.
- [10] 沈富林,王蓓,商军,等. 紫外分光光度法测定亚硒酸钠维生素 E 注射液及预混剂中维生素 E 含量[J]. 中国兽药杂志,2002,36(12):35.
- [11] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 保健食品中超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [12] 何晶晶,杜江. 鲜药在民族医学中的应用及现代化发展浅论[J]. 中国民族医药杂志,2011(10):49.
- [13] 阙建全. 食品化学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2008:205.
- [14] 萧能庆,余瑞元,袁明秀,等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京:北京大学出版社,2005:345.

[责任编辑 顾雪竹]