

快速溶剂萃取仪提取保健食品中人参皂苷 条件优化

石 矛^{1*}, 陈丽娜²

(1. 吉林省疾病预防控制中心, 长春 130062; 2. 长春大学食品科学与工程学院, 长春 130022)

摘 要: **目的** 建立快速溶剂萃取仪对保健食品中人参总皂苷进行在线提取的方法。**方法** 通过正交试验设计, 采用快速溶剂萃取法确定最佳工艺。**结果** ASE 快速溶剂萃取仪法萃取仪处理样品最佳工艺参数为提取温度 140 ℃、提取时间 5 min, 循环次数 3 次, 采用最佳工艺提取所测 6 种保健食品中人参总皂苷的质量分数为 0.24~1.60 g/100 g。在 0.005~1.0 mg 内线性关系良好($r=0.9998$), 加标回收率为 92.9%~102.3%, RSD 为 1.8%~2.5% ($n=6$)。**结论** 快速溶剂萃取仪能够准确快速提取检测保健食品中的人参总皂苷, 可以考虑应用到其他保健食品中功效成分的测定中。

关键词: 快速溶剂萃取仪; 人参总皂苷; 提取

Optimization of extraction condition for total ginsenosides from health food by accelerated solvent extraction

SHI Mao^{1*}, CHEN Li-Na²

(1. Jilin Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changchun 130062, China; 2. College of Food Science, Changchun University, Changchun 130022, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the extraction of total ginsenosides from health food online by accelerated solvent extraction (ASE). **Methods** The optimal extraction conditions were defined by orthogonal test using ASE. **Results** The best process parameters with ASE were as follows: temperature 140 ℃, time 5 min, times 3. The ginsenosides mass fraction of the 6 kinds of health foods measured by the best optimum extraction was 0.24~1.60 g/100 g. There was a good linear relationship ($r=0.9998$) in the range of 0.005~1.0 mg, the recovery was 92.9%~102.3%, and the RSD was 1.8%~2.5% ($n=6$). **Conclusion** Total ginsenosides from health food is extracted quickly and detected accurately by accelerated solvent extraction, which can be used for the measurement of other health food effectiveness ingredients.

KEY WORDS: accelerated solvent extraction; total ginsenosides; extraction

基金项目: 吉林省卫生计生委课题(2014ZC041)、长春市科技局项目(2015-JB-A-13-L10)

Fund: Supported by the Jilin Provincial Health and Family Planning Commission (2014ZC041) and Changchun Municipal Science and Technology Bureau Project (2015-JB-A-13-L10)

*通讯作者: 石矛, 主管技师, 硕士, 主要研究方向为保健食品的理化检测。E-mail: shi_mao@163.com

*Corresponding author: SHI Mao, Technologist-in-charge, Jilin Province Center for Disease Control and Prevention, Changchun 130022, China. E-mail: shi_mao@163.com

1 引言

人参为五加科(*Araliaceae*)人参属(*Panax*)植物人参(*Panax ginseng* C.A.Mey)的干燥根,有效成分为人参皂苷,具有抗疲劳、抗肿瘤、提高机体的适应性、对心血管系统有降血脂及促进肝脏毒素代谢等作用^[1-3]。近些年国内许多保健食品厂家开发利用人参资源,开发保健食品中加入人参有效成分人参皂苷,制成人参保健品。保健食品中人参皂苷的分析方法主要有分光光度法和高效液相色谱法。研究表明分光光度法适合人参总皂苷的测定, HPLC 法适合对人参皂苷单体测定,但保健食品中成分复杂,给人参总皂苷检测带来很多干扰^[4-6]。

快速溶剂萃取仪(accelerated solvent extraction, ASE)是用溶剂对固体、半固体的样品进行萃取^[6],原理是选择合适的溶剂、通过增加温度(通常为40~200℃)和压力(通常为1500~2000 psi)来提高萃取过程的效率。ASE 可用来取代索氏提取、超声萃取、微波萃取、手工振摇、煮沸法和其他萃取方法^[7-10]。采用 ASE 法在线净化提取,可在20 min内完成对多种参类样品目标分析物的自动快速提取,所得提取液也无需进行进一步的净化和浓缩,即可直接进样分析,大大简化了样品的处理过程,有利于成分复杂保健食品中人参总皂苷的测定。

本研究主要采用正交试验设计,确定快速溶剂萃取仪在线提取保健食品中人参皂苷的最佳条件,为建立保健食品人参皂苷的检测标准提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

6种人参保健食品,购于长春市各保健食品专柜;人参皂苷 Re 标准品(批次110754-201123),购于中国食品药品检定研究院。

2.2 仪器与设备

ASE350-加速溶剂萃取仪(美国赛默飞世尔公司); N-EVAP116 型氮吹仪(美国 Organomation 公司); 721E 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 标准品溶液的配制

精密称取人参皂苷 Re 标准品 10.0 mg 置于 10.0

mL 容量瓶中,加适量甲醇使其溶解后稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度 1.0 mg/mL 的人参皂苷 Re 标准使用液溶液。

2.3.2 样品的制备^[8,10-12]

分别将适量保健食品样品磨成粉末状与硅藻土混合后装入 5 mL 的 ASE[®]萃取池。在 ASE[®]萃取池底部预先加入适量氧化铝,用来吸附色素、脂类等杂质使色谱的干扰峰减少。ASE[®]条件:140℃温度;1500 psi(10.34 MPa)压力;甲醇静态萃取 5 min;循环 3 次。得到提取液 40 mL 左右,用甲醇定容到 50 mL 容量瓶中。取 1 mL 定容液置于 10 mL 具塞试管中,6 种人参保健食品样品制备方法相同。

$$\text{人参皂苷 Re 含量: } X = \frac{A_1}{A_2} \times C \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000}$$

式中: X-样品中人参皂苷含量, mg/100 g; A₁-被测液的吸光度值; A₂-标准液的吸光度值; C-标准管人参皂苷 Re 的量, μg; V-试样稀释体积, mL; m-试样质量, g。

2.3.3 标准曲线的绘制

精密移取人参皂苷 Re 标准品使用溶液 10、20、40、60、100 μL 分别置于 10 mL 具塞试管中,用氮吹仪吹干后加入 0.2 mL 5%香草醛-冰醋酸溶液和 0.8 mL 高氯酸,振摇混匀后置于 60℃恒温水浴加热 15 min 后立即取出在冰水浴中冷却 2 min 后加入 5 mL 冰醋酸,振摇混匀。以试剂空白作参比,560 nm 处分别测定吸光度(A),以吸光度值为纵坐标,人参皂苷 Re 质量为横坐标,绘制标准曲线^[9,13]。

2.3.4 ASE 法提取人参皂苷正交实验设计^[14-16]

根据预实验结果,选取提取温度(A)、提取时间(B)、循环次数(C)3个因素,每个因素3个水平,按 L₉(3⁴)正交表进行实验,每组平行3次,试验因素水平见表1。

表1 提取人参皂苷 L₉(3⁴)正交试验设计
Table 1 The L₉(3⁴)orthogonal experimental design of total ginsenosides extraction

因素 水平	提取温度 (A)(℃)	提取时间(B) (min)	循环次数(C) (次)
1	120	3	1
2	140	5	2
3	160	7	3

3 结果与讨论

3.1 测定波长的选择

人参皂苷 Re 标准品溶液加香草醛-高氯酸溶液显色后, 用紫外可见分光光度计在 400~740 nm 进行扫描。结果表明, 标准品溶液在 560 nm 处有最大吸收。

3.2 标准曲线的绘制

按 2.3.3 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=0.0072X-0.0006$, $r^2=0.9998$, 实验结果见图 1。

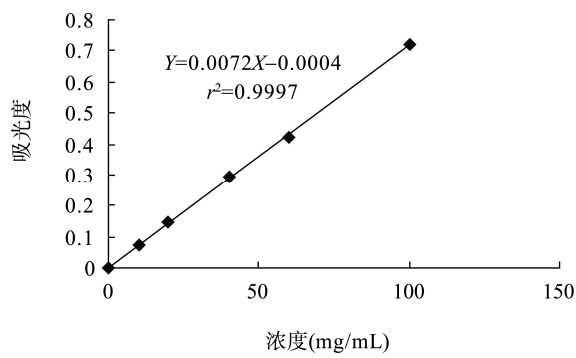


图 1 人参皂苷 Re 标准品的标准曲线图
Fig. 1 Reference standard curve of ginsenoside Re

3.3 提取溶剂的选择

人参皂苷的提取溶剂主要有水、甲醇和乙醇, 由于人参保健食品成分较为复杂, 其中添加了较多的多糖类、油脂类物质, 如果用水作提取溶剂, 浸提液中多糖类物质对实验过程中显色带来干扰较大, 因此本研究采用甲醇提取, 以降低测定误差, 减少提取液中的杂质。

3.4 ASE 法提取人参皂苷正交实验结果及分析

由正交表 2 结果可以看出, ASE 法提取人参皂苷最佳工艺条件是 $A_2B_2C_3$, 即提取温度为 140 ℃、提取时间为 5 min, 循环次数为 3 次, 其中影响人参皂苷提取率的最大因素是提取温度, 提取时间对实验结果影响不显著。

由表 3 方差分析可知, 各因素在所选水平上对提取效果的影响为: 温度(A) > 循环次数(C) > 提取时间(B)。人参总皂苷提取温度对总皂苷提取率有显著影响, 其余两个因素均不显著, 说明正交实验设计合理。

表 2 正交试验结果分析
Table 2 Orthogonal test results

因素 \ 水平	温度(A)	时间(B)	循环次数(C)	g/100 g	
实验 1	1	1	1	1	43.8
实验 2	1	2	2	2	45.7
实验 3	1	3	3	3	46.1
实验 4	2	1	2	3	48.2
实验 5	2	2	3	1	49.6
实验 6	2	3	1	2	47.3
实验 7	3	1	3	2	48.4
实验 8	3	2	1	3	46.9
实验 9	3	3	2	1	48.5
均值 1	45.20	46.80	46.00	47.30	
均值 2	48.36	47.40	47.46	47.13	
均值 3	47.93	47.30	48.03	47.06	
极差	3.16	0.60	2.03	0.23	

表 3 正交实验方差分析表
Table 3 Orthogonal analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	18.282	2	19.264	19.000	*
时间	0.949	2	1.000	19.000	
循环次数	5.749	2	6.058	19.000	
误差	0.95	2			

3.5 精密度和稳定性

随机选取 1 份样品, 按上述方法做 6 次($n=6$)平行试验, 随机选取样品中标识含量为 450 mg/100 g, ASE 法测得结果平均值为 451.3 mg/100 g, 方法 RSD 为 1.8%, 表明方法精密度良好。

3.6 加标回收率

随机选取 1 份样品, 标识含量为 450 mg/100 g。按样品含量进行加标实验, 分为低浓度(20%)、中浓度(50%)和高浓度(80%)3 个层次, 结果如表 4。由表 4 可得, 用 ASE 法测保健食品中人参皂苷含量, 平均加标回收率为 92.9%~102.3%, 表明 ASE 法测保健食品中人参皂苷含量方法可靠, 可以用于保健食品中人参皂苷的测定。

表 4 实测样品加标回收率表($n=6$)
Table 4 Measured sample recoveries table ($n=6$)

序号	人参皂苷含量(mg/100 g)			回收率 (%)	RSD (%)
	本底值	加入量	实测平均值		
1	450	90	501.7	92.9	1.95
2	450	225	664.2	98.4	1.86
3	450	360	828.6	102.3	1.9

3.7 样品分析

对 6 种不同剂型人参保健食品采用 ASE 法测人参皂苷含量, 结果如表 5。结果表明, ASE 法测人参皂苷含量精密度 RSD 为 1.8%~2.5%, 方法精密度良好。说明用 ASE 法测不同剂型保健食品中人参皂苷含量方法可靠。

表 5 6 种人参保健食品含量测定结果
Table 5 Content determination of 6 kinds of ginseng health food

序号	人参皂苷含量(mg/100g)		RSD(%)
	样品标识含量	实测平均值	
1	240	226.8	1.9
2	450	451.3	1.8
3	540	542.5	2.1
4	960	982.5	2.3
5	1225	1258.2	2.4
6	1600	1632.5	2.5

4 结 论

采用 ASE 法对人参保健食品中人参总皂苷进行在线提取和净化, 使人参保健食品中多糖、油脂等杂质与人参总皂苷得到分离, 所得制备液不会对显色带来干扰, 克服了传统方法中由于纯化不彻底所带来的问题。该方法比较简便易行, 测试时间短, 且精确度、稳定性和回收率较好。

参考文献

[1] 郑义, 陆辉. 人参总皂苷提取工艺的优化研究[J]. 金陵科技学院学报, 2008, 24(2): 89–91.
Zheng Y, Lu H. Optimization of the extraction process of saponins from panax ginseng [J]. J Jinling Inst Technol, 2008, 24(2): 89–91.

[2] 杨武韬. 人参的化学成分和药理研究进展[J]. 中国医药指南, 2014, 12(3): 33–35.
Yang WT. Ginseng chemical composition and pharmacological research progress [J]. Guide China Med, 2014, 12(3): 33–35.

[3] 王勇, 高阳. 吉林省人参产业发展现状、问题及建议[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(11): 28–29.
Wang Y, Gao Y. Problems and suggestions of ginseng industry in Jilin province [J]. Food Nutr China, 2013, 19(11): 28–29.

[4] 陈英红, 罗浩铭, 王颖, 等. HPLC 法建立人参糖肽注射液特征图谱的研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(2): 360–363.
Chen YH, Luo HM, Wang Y, et al. Study on establishing fingerprint chromatogram of Ginseng glycopeptide injection by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(2): 360–363.

[5] 孙成贺, 李亚丽, 王英平, 等. UPLC 法测定西洋参中 7 种人参皂苷含量[J]. 人参研究, 2013, (4): 9–11.
Sun CH, Li YL, Wang YP, et al. Determination of 7 ginsenoside in Root of *Panax quinquefolium* L. by UPLC [J]. Ginseng Res, 2013, (4): 9–11.

[6] 刘志, 阮长春, 刘天志, 等. HPLC 法同时测定林下参、鲜人参、生晒参和红参中 14 种人参皂苷[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2431–2434.
Liu Z, Ruan CC, Liu TZ, et al. Simultaneous determination of 14 kinds of ginsenosides in similar wild ginseng, fresh ginseng, white ginseng, and red ginseng by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2012, 43(12): 2431–2434.

[7] 屈键. 加速溶剂萃取技术的原理及应用[J]. 中国兽药, 2005, 39(6): 46–48.
Qu J. The principle and application of accelerated solvent extraction technology [J]. Chin Vet Med, 2005, 39(6): 46–48.

[8] Richter BE, Ezzell JL, J Felix, et al. A comparison of accelerated solvent extraction for organo phosphorus pesticide and herbicides [J]. LC/GC North America, 1995, 13: 390–398.

[9] 刘静. ASE 快速溶剂萃取: 解决半固体样品前处理的新技术[J]. 现代科学仪器, 2002, (3): 59–61.
Liu J. Accelerated solvent extraction (ASE): new technology to solve the former semi-solid solid sample handling [J]. Mod Sci Instrum, 2002, (3): 59–61.

[10] 袁琳, 袁春龙, 胡立志, 等. 快速溶剂萃取仪提取葡萄籽中原花青素条件优化[J]. 食品科学, 2013, 34(14): 157–159.
Yuan L, Yuan CL, Hu LZ, et al. Optimization of extracion conditions for proanthocyanidins from grape seeds by accelerated solvent extraction [J]. Food Sci, 2013, 34(14): 157–159.

[11] 牛改改, 邓建朝, 李来好, 等. 加速溶剂萃取及其在食品分析中的应用[J]. 食品工业科技, 2013, 1(35): 375–379.
Niu GG, Deng JC, Li LH, et al. Accelerated solvent extraction and its application in food analysis [J]. Sci Technol Food Ind,

- 2013, 1(35): 375–379.
- [12] Cassazza AA, Aliakbarian B, Sannita E, *et al.* High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2011, 47(2): 399–405.
- [13] 李攻科, 胡玉玲, 阮贵华, 等. 样品前处理仪器与装置[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- Li GK, Hu YK, Ruan GH, *et al.* Sample pre-treatment equipment and apparatus [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [14] Wang WT, Meng BJ, Lu XX, *et al.* Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, (602): 211–222.
- [15] 马薇, 彭涛, 朱明达, 等. 加速溶剂萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥保健食品中 11 中食欲抑制剂[J]. *分析化学*, 2009, 37(11): 1583–1589.
- Ma W, Peng T, Zhu MD, *et al.* Accelerated solvent extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in 11 health food diet appetite suppressants [J]. *Chin J Anal Chem*, 2009, 37(11): 1583–1589.
- [16] Erdogan S, Ates B, Durmaz G, *et al.* Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Anatolia propolis and their radical scavenging capacities [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, (49): 1592–1597.
- [17] 徐慧, 武晓静, 庄件兵, 等. 加速溶剂萃取-气相色谱法快速测定食品中反式脂肪酸[J]. *现代科学仪器*, 2009, (2): 87–89.
- Xu H, Wu XJ, Zhuang JB, *et al.* Determination of trans fat acids in foods by ASE/GC [J]. *Mod Sci Instrum*, 2009, (2): 87–89.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



石 矛, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为保健食品的理化检测。
E-mail: shi_mao@163.com