

人参花蕾提取液清除羟基自由基作用分析

蒋日琼（霸王（广州）有限公司，广东 广州 510450）

摘要：人参是一种重要的重要，其具备较强的医用价值与商业价值，人参中富含丰富的皂苷物质，其具备良好的抗衰老和细胞修复作用。就目前情况而言，对人参根须的研究颇多，但据笔者调查研究显示，人参花蕾比人参根须更具有研究价值，这是由于人参花蕾中富含丰富的皂苷，而皂苷则是人参中最具药用价值及商业价值的元素，其具备良好的清楚羟基自由基的功能，将其应用于养发、护发的产品研究中，可达到防脱发的目的，这对于提升产品的使用功能是尤为重要的。基于此，本文开展了对人参花蕾提取液清除羟基自由基作用研究，期望对相关人员进行有所启示。

关键词：人参花蕾；皂苷；提取液；羟基自由基

Abstract: ginseng is an important plant with strong medical and commercial value. Ginseng is rich in saponins, which has good anti-aging and cell repair effects. As far as the current situation is concerned, there are a lot of studies on ginseng root whiskers, but according to the author's investigation and research, ginseng flower buds are more valuable than ginseng root whiskers. This is because ginseng flower buds are rich in saponins, and saponins are the most medicinal and commercial element of ginseng. They have a good function of clarifying hydroxyl free radicals and can be used in hair care. In the research of hair care products, the purpose of preventing hair loss can be achieved, which is particularly important to improve the use function of the products. Based on this, this paper carried out the study on the scavenging effect of ginseng flower bud extract on hydroxyl radical, hoping to give some enlightenment to relevant personnel.

Key words: ginseng flower bud; Saponins; Extract; Hydroxyl radical

0 引言

人参花为完全花，其花蕾中富含 20 种皂苷活性物质，其不仅具备良好的防脱发、养发、护发功能，同时也能够提高人体免疫力，抑制癌细胞增长，具有较高的研究价值。

笔者在人参等中草药语法活性物质提取的研发项目中发现，人参花蕾的皂苷具备良好的清除羟基自由基的能力，故本文开展了对人参花蕾提取液清除羟基自由基作用的分析，以期促使人参花蕾的相关研究得到进一步的完善，并进一步扩增人参花蕾的商业价值。

1 人参花蕾概述

1.1 人参花蕾

就目前情况而言，野生人参主要分布在我国黑龙江、吉林、辽宁等地，而人参养殖户主要集中在辽宁地区。人参生长缓慢，通常情况下，人参三年一开花，每次只开一朵，普遍为黄绿色和紫白色。以往的人参花蕾普遍仅是在晒干之后供社会居民泡茶引用，而并未发现人参花蕾中的药用价值。其实，人参花蕾具有良好的抗自由基能力，且具备延缓衰老、增强免疫力及抗肿瘤等作用。笔者在经过多次在人参花蕾中提取护发物质的研究中发现，人参花蕾的有效提取物能够增强发丝的强韧度，改善发丝干枯、分叉的问题，这还是由于人参花蕾中富含的皂苷，皂苷属于一种活性物质，其具备良好的清除羟基自由基的功能，在医学领域具有极高的研究价值，而将人参花蕾中提取的皂苷添加至防脱发产品的研发中，不仅能够提升产品的使用功能，还能够改善使用用

户的肤质，这对于实现产品的优化是十分重要的。

1.2 人参花蕾的主要成分分析

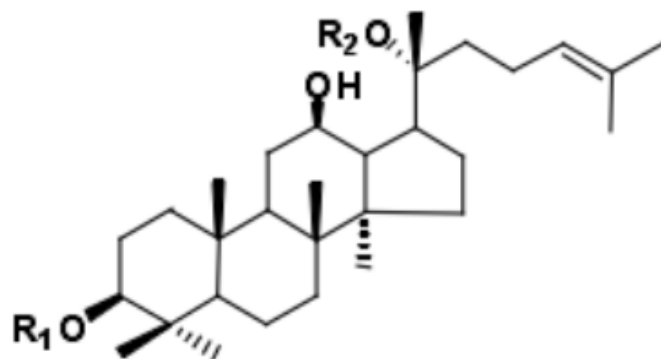


图 1 原人参二醇型皂苷化学结构示意图

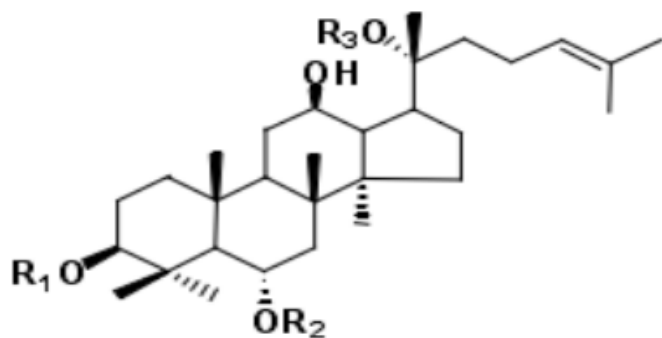


图 2 原人参三醇型皂苷化学结构示意图

人参花蕾中富含丰富的皂苷物质，其是人参的主要活性物质，同时还包括糖类、脂肪酸类、挥发油类等物

质。

首先,对人参花蕾中皂苷类物质进行分析。人参花蕾中皂苷物质是一种固醇类化合物,是人参中最主要的活性物质,同时也是促使人参具有较强药用价值的主要物质。通常情况下,皂苷为无色结晶或白色无定型粉末,据笔者调查研究显示,目前已在人参花蕾中分离了60多种皂苷,通过相关学者的研究发现,人参花蕾中皂苷可大致分为四种类型,分别为原人参二醇型皂苷、原人参三醇型皂苷、齐墩过烷型皂苷及奥克梯隆型皂苷。其中,研究最多的便是原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷。图1、图2为原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷化学结构示意图。

其次,对人参花蕾中其他物质进行分析。据笔者调查研究显示,人参花蕾中糖物质多为粗多糖GFL,粗多糖GFL具有较高的药用价值,其能够帮助人体补气、提神。人参花蕾中的脂肪酸类物质主要包括棕榈酸和亚油酸,且据研究表明,人参花蕾中含有的脂肪酸类物质的结构与西洋参花蕾的基本相似,但并没有西洋参花蕾的含量多,同时,在进行人参花蕾皂苷物质的提取中,对试验结果影响最大的便是脂肪酸类物质,因此,在进行皂苷提取时,首先需要将人参花蕾进行脱脂处理。人参花蕾中含量最大的挥发油类物质为棕榈酸乙酸,且其中富含了56种化合物。

2 试验材料

2.1 材料与试剂

本试验的研究目的是分析人参花蕾中是否含有丰富的皂苷物质,并分析皂苷物质十分具有良好的清除羟基自由基的功能,因此,本试验应分为两个部分,第一部分为人参花蕾中皂苷物质的提取及含量的测定,第二部分则是分析皂苷清除羟基自由基功能的测定。

故本试验的主要原材料为人参花蕾。在人参花蕾皂苷提取中主要的是提取分析提取液中皂苷的含量,采用的是蒸馏法提取,因此,为其配备的甲醇、乙醇、正丁醇等溶液作为分析纯。在皂苷清除羟基自由基功能的试验中,需要利用人参花蕾提取液对羟基自由基的清除率进行分析从而测定清除羟基自由基的功能,故需要配备亚硫酸亚铁及水杨酸。

2.2 仪器与设备

本试验主要是利用离心提取人参花蕾中的皂苷,故需要选择合适的离心机。本试验选择的是由上海申光仪器有限公司生产的800型离心沉淀器,同时配备了循环水真空泵及光栅分光光度计。

3 试验方法

由于人参具有较高的药用价值,故相关领域对人参的研究较为深入。就目前情况而言,人参花蕾皂苷的提取方式有很多,传统的提取方法为煎煮法、浸渍法及回流法,但伴随着近年来我国社会科技的发展,各类先进仪器设备被广泛应用与人参花蕾的研究中,致使人参花

蕾皂苷提取方法更为丰富,近代人参花蕾皂苷提取方法主要包括超声提取法、微波提取法和超流界流体萃取法。但经过大量的试验研究表明,回流法的提取效果最佳,其中,溶剂回流提取法使用成本低且流程相对简单,故本文主要选择的是溶剂回流法提取人参花蕾皂苷物质。溶剂回流提取法主要是利用有甲醇、乙醇等机溶液提取人参花蕾中的皂苷物质,且提取的溶液能够为人参花蕾清除羟基自由基的研究奠定良好的基础。

3.1 人参花蕾的预处理——脱脂

由于人参花蕾中的脂类物质会与试验容易乙醇发生化学反应,脂类会溶于乙醇当中,故而需要在进行试验之前,对人参花蕾进行脱脂处理,以避免影响皂苷的提取。在试验的过程中,需要将人参花蕾处于干燥的环境下且温度为60℃,干燥1h后将人参花蕾碾碎,并用目筛过滤,提取10g过滤后的人参花蕾进行二次脱脂,二次脱脂的主要方法是10g碾碎的人参花蕾放置磁力搅拌器进行搅拌,且在搅拌的过程中需要加入乙醚,按照1:15的比例添加150g乙醚,两次搅拌,每次搅拌1.5h,并见到淡绿色的滤渣沉在搅拌器底部,并过滤滤渣剔除溶液,得到淡绿色的残渣。将得带的淡绿色残渣放置室内,致使残渣内乙醚气味消除,将残渣放置60℃干燥环境下干燥1h,得到完成脱脂的人参花蕾。

3.2 人参花蕾中人参皂苷的提取

待人参花蕾经过脱脂处理之后,需要提取脱脂人参花蕾残渣,同时,为了保证试验结果的精准度,需要根据要求使用精密仪器精密提取规定的残渣重量。根据试验要求,本试验选择提取6.00g的脱脂人参花蕾。将6.00g脱脂人参花蕾全部放置于蒸馏瓶中,将准备好的乙醇容易倒入蒸馏瓶中,且要求乙醇浓度为50%,乙醇与脱脂人参花蕾之间的固液比为1:20,故需要向蒸馏瓶导入120mL 50%浓度的乙醇,均匀搅拌后加热处理,挥发后的溶剂会在蒸馏装置中冷却并又重新转变为溶液回到液体当中并重新浸提原料,经过多次操作后会便能够提取人参花蕾中的皂苷物质,在提取皂苷物质时,需要采用离心法清楚溶液内的残渣,将蒸馏瓶中的液体溶液进行减压处理,通过减压处理后能够将为完成反应的乙醇容易收回,并得到膏状的人参皂苷,将此称为粗制人参皂苷。随后,粗制人参皂苷放入蒸馏瓶中,并导入水饱和正丁醇浸泡粗制人参皂苷,萃取,随后将蒸馏瓶中的液体溶液进行减压处理,通过减压处理后能够将为完成反应的正丁醇容易收回。经过上述试验流程之后,蒸馏瓶中会留有膏状物体,此膏状物体便是人参花蕾中的皂苷物质,将其成为人参皂苷浸膏。得到人参皂苷浸膏之后,需要对其进行液化处理,以便于进行含量的测定及功能的测定。在进行液化处理时,首先需要将人参皂苷浸膏放入蒸馏瓶中,为为了促使人参皂苷浸膏能够溶解为溶液,则需要倒入甲醇溶液溶解人参皂苷浸膏,根据相关计算结果及试验要求,需要保证倒入的甲醇溶液

与皂苷浸膏总容量达到 40mL 即可, 摇匀之后得到黄绿色的人参皂苷提取液。

3.3 人参皂苷的测定

提取 5.0mg 人参皂苷标准物 Re 放入 2.50mL 甲醇溶液中, 充分摇匀搅拌后获得 $2.00 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的溶液, 提取 $100 \mu\text{g}$ 、 $150 \mu\text{g}$ 、 $200 \mu\text{g}$ 、 $250 \mu\text{g}$ 、 $300 \mu\text{g}$ 该溶液, 并将其放置与 25mL 的比色管内进行人参皂苷的测定。在测定过程中, 首先需要需要对溶液进行干燥处理, 处理方式为利用热吹风机将溶液吹干, 待溶液吹干后, 分别向吹干后的比色管内方式 0.20mL 5% 的香草醛冰醋酸, 随后在比色管内放入高氯酸, 高氯酸的量均为 2.80mL。准备温度为 60℃ 的温水, 并将 5 个比色管均放入 60℃ 的水中预热, 在此过程中需要注意比色管的密封性, 避免水蒸气进入比色管内。加热 15min 后将 5 个比色管取出, 并向其中加入冰醋酸, 冰醋酸量均为 10mL, 摇匀后静置。静置 15min 后利用光栅分光光度计进行人参皂苷的测定, 将 5 个比色管均放置于 500nm 波长处, 对溶剂的吸光进行测量, 随后计算人参皂苷标准物 Re 的吸光度。

待人参皂苷标准物 Re 的吸光度确定之后, 将得到了黄绿色的人参皂苷提取液提取 20, 并将其分为三份分, 分别放置于比色管当中, 随后需要进行人参花蕾皂苷提取率的计算。计算公式如下所示:

$$T(\%) = \frac{C \times V_1}{M \times \frac{V_1}{V_2}}$$

其中, $T(\%)$ 为人参花蕾皂苷提取率, C 为人参皂苷提取液浓度, V_1 为人参皂苷提取液倒入比色管的体积, M 为人参花蕾质量 (10g), V_2 为人参皂苷提取液总体积 (40mL)。

3.4 人参皂苷提取回收率测定

提取两份淡绿色的脱脂花蕾残渣, 每份提取 1.0034g, 分别至于蒸馏瓶中, 将其分别编号为 1# 和 2#, 并在 1# 脱脂人参花蕾中方入 0.0023g 的人参皂苷标准物 Re, 摇匀后进行人参皂苷提取回收率的测定。在两个脱脂人参花蕾蒸馏瓶中倒入乙醇溶液, 乙醇溶液比例需要按照试验中要求的溶剂与溶液比例倒入, 故将两瓶蒸馏瓶定容为 5.5mL。随后计算 1# 脱脂人参花蕾蒸馏瓶中人参皂苷的平均质量及 2# 脱脂人参花蕾蒸馏瓶中人参皂苷的平均质量, 按照下式对人参皂苷提取回收率进行计算:

$$P(\%) =$$

$$\frac{2\# \text{脱脂人参花蕾蒸馏瓶中人参皂苷的平均质量} - 1\# \text{脱脂人参花蕾蒸馏瓶中人参皂苷的平均质量}}{2\# \text{脱脂人参花蕾蒸馏瓶中人参皂苷 Re 标准物的质量}}$$

$$\times 100\%$$

3.5 人参花蕾提取物活性研究 - 体外清除羟基自由基

向羟基自由基中加入黄绿色人参花蕾提取液, 羟基自由基主要来自于 Fenton 反应生成。亚铁离子在水杨酸的作用下会显色, 但由于人参花蕾提取与本身并非纯色液体, 故而需要利用分光光度法测定亚铁离子浓度。

将处理完的人参花蕾提取液活性研究样品分别放入三个比色管中, 分别加入 9mmol/L 的硫酸亚铁, 9mmol/L 的水杨酸 - 乙醇 2mL, 摇匀, 并对其编号为 3#、4#、5#, 在 4# 和 5# 溶液中加入人参花蕾提取液, 在 4# 溶液中加入 8.8mmol/L 的过氧化钠 2mL, 摇匀, 在 3#、4#、5# 中分别加入 8mL pH3.8 的醋酸 - 醋酸钠缓冲溶液, 定容 25mL。随后将 3#、4#、5# 溶液均放置与 37℃ 的温水中预热, 在此过程中需要注意比色管的密封性, 避免水蒸气进入比色管内。预热 15min 后将比色管取出并放置室内冷却, 10min 后以蒸馏水为参比, 于波长 510nm 处分别进行吸光度的测定。

4 结果与分析

4.1 人参皂苷提取结果与分析

根据上述计算公式测得人参花蕾皂苷提取率为 8.17%, 2# 脱脂人参花蕾乙醇溶液回收率为 93.6%, 3# 脱脂人参花蕾回收率为 93.6%, 故乙醇溶液的回收率较高。

4.2 人参花蕾提取液体外清除羟基自由基的能力测定

根据吸光测定结果显示, 当人参花蕾提取液浓度增加时, 清除率也会增加, 故人参花蕾提取液清除羟基自由基的效果会随着添加量的增加而增大, 但当添加量达到一定浓度后, 清除率便会降低。人参花蕾提取液添加量与羟基自由基清除效果关系如图 3 所示。

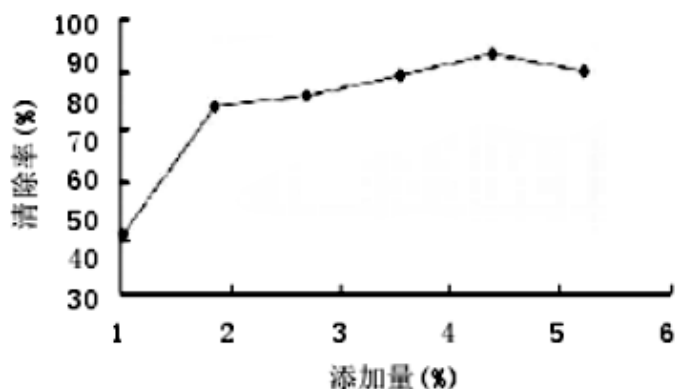


图 3 参花蕾提取液添加量与羟基自由基清除效果关系图

通过对上图的分析可知, 当人参花蕾添加量达到 5.00% 左右时, 羟基清除能力最强。

5 结论

综上所述, 人参花蕾的皂苷含量要比让人参根须的含量更多, 且在利用甲醇、乙醇等溶液进行人参花蕾皂苷的提取时, 人参皂苷提取回收率较高。人参花蕾具提取液具有良好的清除羟基自由基的能力, 故将其应用于护发、养发产品的研发中, 能够很好的提升产品的质量与功能, 因此, 相比于人参根须而言, 人参花蕾更具备商业价值。故在未来的养发、护发产品的研发中, 可加大对人参花蕾的研究。

参考文献:

- [1] 贾丽. 基于离线三维色谱 - 高分辨质谱与代谢组学技术的人参花、西洋参花、三七花系统物质基础及其差异比较研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2020.