

锈腐病和受伤原料参对红参品质的影响研究

朱丽娟¹, 叶正良^{2*}, 郭巧生^{1*}, 路政民³

1. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300402

3. 集安人参研究所, 吉林 集安 134200

摘要: 目的 比较锈腐病鲜参、受伤鲜参与正常鲜参加工而成的红参品质, 为人参加工利用提供依据。方法 测定锈腐病鲜参、受伤鲜参和正常鲜参加工而成的红参中 10 种人参皂苷、总灰分、酸不溶性灰分、挥发性醚浸出物和总蛋白、糖类成分的量。结果 锈腐病鲜参、受伤鲜参加工而成的红参中的总灰分、酸不溶性灰分、挥发性醚浸出物、蔗糖量都显著高于正常鲜参加工而成的红参, 而 10 种人参皂苷量均显著低于正常鲜参加工而成的红参。结论 锈腐病、受伤原料参对其加工后红参质量有显著影响。

关键词: 红参; 锈腐病; 受伤鲜参; 品质; 人参皂苷; 蔗糖; 麦芽糖

中图分类号: R286.01 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)07-1042-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.07.019

Quality evaluation of rust rot red ginseng and injured red ginseng

ZHU Li-juan¹, YE Zheng-liang², GUO Qiao-sheng¹, LU Zheng-min³

1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China

3. Ji'an Ginseng Research Institute, Ji'an 134200, China

Abstract: Objective To compare the quality of rust rot red ginseng and injured red ginseng, and thus provide the basis for ginseng cultivation and processing. **Methods** Based on *Chinese Pharmacopoeia* and literature related to red ginseng, ten ginsenosides, total ash, acid-insoluble ash, ether extract, carbohydrate, and total protein of red ginseng in different transplanting systems were studied or determined. **Results** The contents of total ash, acid-insoluble ash, volatile ether extract, and sucrose in rust rot red ginseng are significantly higher than those in normal red ginseng. The contents of ginsenoside Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂, Re, Rf, Rb₃, Rd, Rg₂, and Rg₃ in rust rot red ginseng and injured red ginseng are significantly lower than those in normal red ginseng. **Conclusion** The raw materials of rust rot red ginseng and injured red ginseng have a significant effect on the quality of the processed red ginseng.

Key words: red ginseng; rust rot; injured red ginseng; quality; ginsenoside; sucrose; maltose

红参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的栽培品经蒸制干燥加工而成。具有大补元气、复脉固脱、益气摄血等功效^[1]。人参在栽培过程中, 锈腐病是最普遍、危害最大的病害之一^[2], 不仅降低人参的产量, 还会影响参根的品质。白容霖等^[3]研究发现, 锈腐病参根体内的总皂苷、粗淀粉、总糖量减少, 而木质素、脂肪酸和还原糖量增加。人参移栽和采挖时, 由于人为原因会造成参根受伤而形成烂疤。受伤后的人参品质会受到严重影响,

参场同时会受到严重经济损失。红参是人参重要的加工品之一, 其原料鲜参质量对红参品质具有重要影响。本实验以锈腐病鲜参和受伤鲜参为原料进行红参加工, 比较研究锈腐病鲜参、受伤鲜参与正常鲜参加工而成的红参的内在质量, 为红参科学化、规范化加工提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

人参为 6 年生鲜人参, 采自吉林省长白县, 经

收稿日期: 2014-10-16

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09502-004)

*通信作者 郭巧生 Tel: (025)84395980 E-mail: gqs@njau.edu.cn

叶正良 Tel: (022)86342066 E-mail: yezl@tasly.com

南京农业大学郭巧生教授鉴定为人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.。锈腐病鲜参（参体有明显的红褐色病变）、受伤鲜参（参体有明显的烂疤，无红褐色病变）及正常鲜参（参体无红褐色病变，无烂疤）均于 2011 年 9 月 25 日采自东北泥粒河参场，栽培类型为二马牙类型。

人参皂苷 Rg₁（批号 110703-200726）、Re（批号 110754-200822）、Rf（批号 111719-200703）、Rb₃（批号 111686-200501）、Rg₃（批号 110804-200402）、Rb₁（批号 110704-200420）、Rb₂（批号 111715-200501）、Rg₂（批号 111779-200801）对照品购自中国食品药品检定研究院；人参皂苷 Rd、Rc 对照品购自南京泽朗医药科技有限公司，质量分数均大于 98%；蔗糖（批号 111507-200302）、麦芽糖（批号 100287-200701）购自中国食品药品检定研究院。

1.2 仪器

高效液相色谱仪（Waters 2695）；紫外检测器（2489）；Dismonsil C₁₈ 色谱柱（200 mm×4.6 mm，5 μm）；4001 型旋转蒸发器（Heidolph 公司）；紫外可见光分光光度计（Hach DR 5000）。

2 方法

2.1 红参加工

采用多指标正交试验法^[4]优选的红参加工方法，将鲜人参洗净下须后，按正常鲜参、锈腐病鲜参、受伤鲜参分批放在蒸架上，缓缓加热，在加热蒸制 3.5 h 后，再小火加热 30 min。取出样品，65 ℃烘 10 h 取出样品，然后在 50 ℃下烘至完全干。

2.2 灰分和挥发性醚浸出物的测定^[1]

按照《中国药典》2010 年版一部附录的方法进行测定。

2.3 蔗糖和麦芽糖的测定

2.3.1 色谱条件 PrevailTM Carbohydrate ES（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱；柱温 30 ℃；以乙腈-四氢呋喃（100：2）为流动相 A，0.1%乙酸水溶液为流动相 B，按表 1 进行梯度洗脱，体积流量 0.8 mL/min。以 ELSD 检测器进行检测，参数设置为增益 10，气压 137.9 kPa，漂移管 65 ℃，Neb heater：60%。理论板数按果糖色谱峰计算应不低于 10 000。分别取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL，注入色谱仪，测定。该色谱条件下，蔗糖和麦芽糖得到较好分离，见图 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

t_R /min	A/%	B/%
0	83	17
22	83	17
26	75	25
33	75	25
34	72	28
48	72	28
49	83	17
60	83	17

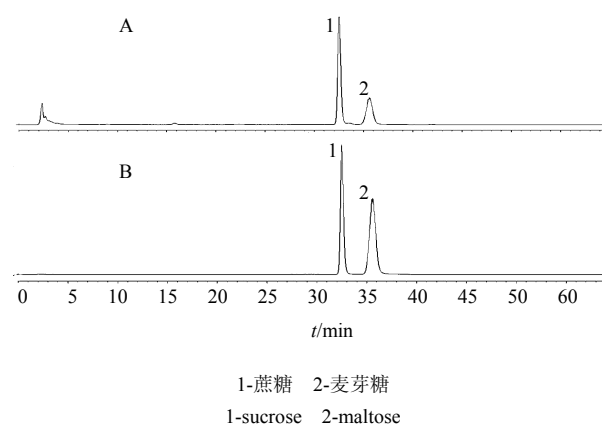


图 1 人参药材样品 (A) 和混合对照品 (B) 的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC of *Ginseng Radix* samples (A) and mixed reference substances (B)

2.3.2 供试品制备 将红参干燥、粉碎，过四号筛，精密称取 2 g，置于 100 mL 圆底烧瓶中，加水 50 mL，加热回流提取 3 h，于 3 000 r/min 离心 20 min，弃去药渣，浓缩至干，放冷后加水 5 mL 溶解，上样至已处理好的固相萃取柱，再用水分次洗涤，收集上样液和洗涤流出液于 50 mL 量瓶中，加水定容至刻度，摇匀。取上述溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中，加水定容至刻度，摇匀，过 0.45 μm 滤膜即得。

2.3.3 对照品溶液制备 精密称取经五氧化二磷干燥过的蔗糖、麦芽糖各适量，置于 10 mL 量瓶中，加水溶解定容，制得含蔗糖 0.541 mg/mL 和麦芽糖 1.025 mg/mL 的混合对照品溶液。取混合对照品溶液 2、4、6、8 mL，分别置于 10 mL 量瓶中，加水溶解，定容备用。

2.3.4 线性关系考察 将“2.3.3”项制备的 5 个系列质量浓度混合对照品溶液，按照“2.3.1”项下的色谱条件注入高效液相色谱仪，得到液相色谱图，

积分,以质量浓度的自然对数值(X)与测得峰面积的自然对数值(Y)进行线性回归,回归方程为蔗糖 $Y=1.5149X-12.436$, $r=0.9996$,线性范围为 $0.108\sim 0.541$ mg/mL;麦芽糖 $Y=1.6152X-11.643$, $r=0.9998$,线性范围为 $0.205\sim 1.025$ mg/mL。

2.3.5 精密度试验 取“2.3.3”混合对照品溶液,在“2.3.1”项色谱条件下,连续进5针,得到液相色谱图,得到蔗糖和麦芽糖的峰面积积分值。蔗糖峰面积积分值的RSD为1.52%,麦芽糖峰面积积分值的RSD为1.83%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取按“2.3.2”项制备好的红参供试品溶液,在“2.3.1”项色谱条件下,分别在1、6、12、18、24 h测定,蔗糖峰面积积分值的RSD为1.71%,麦芽糖峰面积积分值的RSD为1.36%。

2.3.7 重复性试验 取同一批红参药材粉末,按“2.3.2”项方法平行制备6份供试品溶液,按“2.3.1”项色谱条件进行测定,计算蔗糖和麦芽糖的质量分数的RSD分别为3.16%和3.08%。

2.3.8 加样回收率试验 取与重复性试验同一批的红参药材粉末1 g,共6份,分别精密加入蔗糖、麦芽糖对照品,按“2.3.2”项方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项色谱条件进行测定,并计算加样回收率,蔗糖和麦芽糖的平均加样回收率分别为100.80%和102.93%,RSD分别为2.74%和2.90%。

2.4 红参中总蛋白的测定^[5]

2.4.1 供试品溶液制备 取不同原料制得的红参,粉碎过4号筛,混匀,分别精密称取2.0 g红参粉于试管中,按料液比1:15加入Tris缓冲溶液(pH 7.0, 10 mmol/L),4℃浸提18 h,将提取液6 000 r/min离心30 min,浸提次数为2次,合并2次上清液,即得供试品溶液。

2.4.2 标准曲线绘制 将0、40、80、160、240、320、400 μL牛血清蛋白(BSA)溶液(0.25 mg/mL)分别加入到试管中,加入蒸馏水补足到400 μL混匀,加碱性铜溶液2 mL,摇匀,室温静置10 min,快速加入Folin-酚试剂200 μL摇匀,室温静置30 min,显色后,在波长700 nm处测定吸光度(A)值。以不含BSA溶液的 A 为空白对照,以蛋白质浓度为横坐标(X), A 值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,回归方程为 $Y=1.1418X+0.0010$, $r=0.9989$,线性范围为10~100 μg。

2.4.3 样品的测定 按“2.4.1”项方法制备供试品溶液分别稀释10倍后,取400 μL,按“2.4.2”项

下的方法测定红参总蛋白的量。

2.5 人参皂苷的测定^[6]

2.5.1 色谱条件 以乙腈为流动相A,以0.05%磷酸水溶液为流动相B,按表2的流动相系统进行梯度洗脱;检测波长为203 nm;柱温为30℃。

表2 梯度洗脱流程
Table 2 Gradient elution program

t_R /min	体积流量/(mL·min ⁻¹)	A/%	B/%
0	1.2	19	81
15	1.2	19	81
24	1.0	22	78
25	1.0	22	78
32	1.0	24	76
35	1.0	30	70
43	1.0	31	69
53	1.0	33	67
73	1.0	55	45
85	1.0	75	25
95	1.0	90	10
105	1.0	100	0
115	1.0	100	0
116	1.0	19	81
120	1.0	19	81

2.5.2 供试品溶液制备 取红参100 g(原药材去芦头),粉碎过4号筛,混匀。取5 g粉末,精密称定,置圆底烧瓶中,加入氯仿50 mL加热回流3 h,弃去氯仿液;药渣挥干溶剂后,80 mL的85%乙醇回流2次,2次回流时间分别为2 h和1 h。提取液减压回收至无醇味,用0.5 mol/L NaOH的20%甲醇溶液转移定容至100 mL量瓶中。精密量取上述溶液10 mL,上预先处理好的AB-8树脂柱(80~100目,柱内径6~8 mm,树脂柱高约5 cm;10 mL甲醇冲洗,再用0.5 mol/L NaOH的20%甲醇溶液约5 mL冲洗处理),以0.5 mol/L NaOH的20%甲醇溶液5 mL冲洗,流出液弃去,再以20%甲醇溶液10 mL冲洗,流出液弃去,然后用甲醇洗脱收集于10 mL量瓶中至近刻度,加甲醇至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.5.3 对照品溶液制备 精密称取10种人参皂苷对照品适量,加甲醇制成含209.6 μg/mL人参皂苷Rg₁、98.0 μg/mL Re、298.8 μg/mL Rb₁、197.6 μg/mL Rb₂、104.8 μg/mL Rc、92.4 μg/mL Rf、46.0 μg/mL

Rg₃、68.8 μg/mL Rb₃、10.0 μg/mL Rd、106.0 μg/mL Rg₂ 的混合对照品溶液。

2.5.4 线性关系考察 取上述混合对照品溶液，按

设定的色谱条件，分别进样 2、4、8、10、12 μL，以峰面积（Y）对进样量（X）进行回归处理，得回归方程见表 3。

表 3 对照品回归方程

Table 3 Regression equation of reference substances

人参皂苷对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围/μg
Rg ₁	$Y=304\ 668\ X-17\ 644$	0.999 7	0.419 2~2.515 2
Re	$Y=397\ 561\ X-9\ 987.7$	0.999 7	0.196 0~1.176 0
Rf	$Y=339\ 514\ X-6\ 754.4$	0.999 8	0.184 8~1.108 8
Rb ₁	$Y=237\ 923\ X-18\ 239$	0.999 7	0.597 6~3.585 6
Rg ₂	$Y=481\ 945\ X-13\ 289$	0.999 6	0.212 0~1.272 0
Rc	$Y=299\ 005\ X-11\ 990$	0.999 5	0.209 6~1.257 6
Rb ₂	$Y=310\ 604\ X-16\ 730$	0.999 6	0.395 2~2.371 2
Rb ₃	$Y=267\ 040\ X-6\ 644.1$	0.999 5	0.137 6~0.825 6
Rd	$Y=398\ 565\ X-9\ 403.8$	0.999 6	0.200 0~1.200 0
Rg ₃	$Y=712\ 685\ X-7\ 722.7$	0.999 7	0.092 0~0.552 0

2.5.5 样品测定 取供试品 10 μL，在“2.1.1”项下色谱条件测定不同原料参制得红参中 10 种人参皂苷量。

3 结果与分析

3.1 非皂苷类成分的测定结果

锈腐病、受伤及正常鲜参加工而成的红参中非皂苷类成分量检测结果见表 4。从表 4 中可以看出锈腐病、受伤鲜参加工成的红参中总灰分、酸不溶性灰分、挥发性醚浸出物、蔗糖量都显著高于正常

鲜参加工成的红参。正常鲜参和受伤鲜参加工成的红参中总蛋白量显著高于锈腐病鲜参加工成的红参。锈腐病鲜参加工成的红参中麦芽糖量显著高于正常鲜参加工成的红参，受伤鲜参加工成的红参中麦芽糖量显著低于正常鲜参加工成的红参。

3.2 10 种人参皂苷量比较

锈腐病、受伤及正常鲜参加工而成的红参中 10 种人参皂苷量测定结果见表 5。从表 5 可以看出锈腐病、受伤鲜参加工成的红参的人参皂苷 Rg₁、Rb₁、

表 4 常规指标比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 4 Comparison on regular indices ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

样品	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	醚浸出物/%	总蛋白/%	蔗糖/%	麦芽糖/%
正常	4.140±0.123 bA	0.170±0.009 cB	0.066±0.002 bB	3.836±0.115 bA	8.197±0.053 bB	9.718±0.093 bB
受伤	4.360±0.037 aA	0.226±0.015 bA	0.080±0.004 aA	4.283±0.350 aA	9.099±0.239 aA	9.224±0.085 cC
锈腐	4.229±0.056 abA	0.246±0.002 aA	0.078±0.001 aA	3.149±0.063 cB	8.905±0.032 aA	10.477±0.123 aA

组间均值多重比较中小写字母为 0.05 水平下比较；大写字母为 0.01 水平下比较（表 5 同）

Lower-case letters present 0.05 level and up-case letters present 0.01 level in multiple comparison of mean values among groups

表 5 10 种人参皂苷量测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 5 Determination of ten kinds of ginsenosides ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

样品	Rg ₁ /(mg·g ⁻¹)	Re/(mg·g ⁻¹)	Rf/(mg·g ⁻¹)	Rb ₁ /(mg·g ⁻¹)	Rg ₂ /(mg·g ⁻¹)	Rc/(mg·g ⁻¹)
正常	3.428±0.026 aA	1.190±0.007 aA	1.080±0.006 aA	5.581±0.012 aA	0.270±0.007 aA	3.800±0.092 aA
受伤	2.359±0.021 cB	0.637±0.004 bB	0.659±0.008 cC	4.282±0.018 cC	0.166±0.002 bB	1.751±0.058 bB
锈腐	3.340±0.046 bA	0.458±0.021 cC	0.747±0.010 bB	4.551±0.046 bB	0.086±0.003 cC	1.825±0.054 bB
样品	Rb ₂ /(mg·g ⁻¹)	Rb ₃ /(mg·g ⁻¹)	Rd/(mg·g ⁻¹)	Rg ₃ /(mg·g ⁻¹)	10 种皂苷总量/(mg·g ⁻¹)	
正常	1.740±0.045 aA	0.342±0.010 aA	0.966±0.018 aA	0.138±0.004 aA	18.535±0.082 aA	
受伤	1.061±0.053 cC	0.166±0.006 cC	0.386±0.008 cC	0.115±0.003 bB	11.582±0.137 cC	
锈腐	1.447±0.053 bB	0.202±0.005 bB	0.499±0.015 bB	0.097±0.002 cC	13.252±0.099 bB	

Rc、Rb₂、Re、Rf、Rb₃、Rd、Rg₂、Rg₃量和10种人参皂苷总量都显著低于正常鲜参加工成的红参。

4 讨论

锈腐病、受伤鲜参加工成的红参的人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Rc、Rb₂、Re、Rf、Rb₃、Rd、Rg₂、Rg₃量都显著低于正常鲜参加工成的红参。受伤、锈腐病和正常鲜参加工成的红参的人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg₁的总量都大于0.25%，人参皂苷 Rb₁量都大于0.2%，表明受伤、锈腐病和正常鲜参加工成的红参的品质均符合《中国药典》2010年版规定。现代研究表明，人参皂苷是红参的活性成分，具有抗肿瘤^[7-9]、抗衰老^[10-11]、提高免疫力^[12]及抗心律失常^[13]等多种药理作用。受伤鲜参和锈腐病鲜参加工成的红参中的人参皂苷 Re、Rg₁、Rb₁虽然符合《中国药典》2010年版中的规定，但是其10种人参皂苷的量都显著低于正常鲜参加工成的红参。

受伤、锈腐病和正常鲜参加工成的红参的总灰分量<5%，酸不溶性灰分量<0.3%，符合《中华人民共和国国家标准》红参分等质量中关于普通红参的规定。锈腐病和受伤鲜参加工成的红参的总灰分、酸不溶性灰分、挥发性醚浸出物、蔗糖量都显著高于正常鲜参加工成的红参。正常鲜参和受伤鲜参加工成的红参中的总蛋白量显著高于锈腐病鲜参加工成的红参。锈腐病鲜参加工成的红参的麦芽糖量显著高于正常鲜参加工成的红参，受伤鲜参加工成的红参的麦芽糖量显著低于正常鲜参加工成的红参。

白容霖等^[3]测定人参锈腐病根和健根中多种有机物质，发现病根中人参总皂苷、淀粉、总糖和6种氨基酸的量减少，但脂肪酸、木质素、还原糖和10种氨基酸的量比健参根增加。本实验研究锈腐鲜参与正常鲜参加工成的红参中化学物质质量变化结果与白容霖等^[3]的实验结果基本一致，分析指出人参锈腐病根体内氮代谢遭到较严重的干扰。人参根体内氮代谢的异常必然会影响到其他代谢途径，例如产生活性成分人参皂苷的代谢途径也会受到影响。研究结果表明锈腐病参中人参皂苷量较健康参根降低。蛋白质、糖类物质是人参的初生代谢产物，而人参皂苷是人参的次生代谢产物。正常人参受伤或发生锈腐病害后，体内的代谢途径受到严重影响，导致其参根内的化学物质如蛋白质、糖类及人参皂苷等的量发生变化。人参体内物质成分蛋白质、糖类物质及人参皂苷等与其代谢

途径的关系还有待进一步研究。

鲜参加工成红参后，其活性成分人参皂苷不仅量会发生变化，还会产生微量人参皂苷 Rg₂、Rg₃、Rg₅、Rh₁、Rh₂^[14]。因此，将样品的鲜参和红参比较，其结果的差异会与红参加工的过程有关。本研究过程中供试材料鲜参采用统一的红参加工方法，避免了因红参加工过程不同而引起实验结果差异。锈腐病鲜参和受伤鲜参加工成的红参与正常鲜参加工成的红参相比较，其含有的活性成分人参皂苷量较低，因此建议红参加工过程中避免采用锈腐病、受伤的鲜参为原料，以免影响红参饮片的临床疗效。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部 2010.
- [2] 赫荣琳, 马贵龙, 李 玉. 人参锈腐病研究进展 [J]. 菌物研究, 2005, 3(4): 47-51.
- [3] 白容霖, 王子权. 人参锈腐病参根体内若干生物化学变化 [J]. 植物病理学报, 1989, 19(2): 75-78.
- [4] 李卓艳, 李德坤, 周大铮, 等. 正交试验法优选红参加工工艺 [J]. 中成药, 2011, 33(6): 1005.
- [5] 幺宝金, 赵 雨, 杨士慧. 人参总蛋白的提取工艺研究 [J]. 中药材, 2009, 32(2): 293-295.
- [6] 李卓艳. 高量 Rg₃ 红参加工工艺研究 [D]. 南京: 中国药科大学, 2009.
- [7] 辛 颖, 姜 新, 崔俊生, 等. 人参皂苷 Rg₃ 抑制 B₁₆ 黑色素瘤新生血管生成及其机制的探讨 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(8): 590-593.
- [8] 陶丽华, 高 峰, 付招娣, 等. 20 (R)-人参皂苷 Rh-2 对 DMBA/巴豆油诱发小鼠皮肤乳头状瘤的抑制作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 1953-1954.
- [9] Mosaad A, Nabila S, Hassan A A, *et al.* Red ginseng extract protects against aflatoxin B1 and fumonisins-induced hepatic pre-cancerous lesions in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(2): 733-742.
- [10] 雷秀娟, 冯 凯, 孙立伟, 等. 人参皂苷抗衰老机制的研究进展 [J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(1): 44-47.
- [11] Hiroaki K, Hisao N, Teruko U, *et al.* Effects of nonsaponin fraction of red ginseng on learning deficits in aged rats [J]. *Phys Behavior*, 2004, 82(2/3): 345-355.
- [12] 张仲苗, 江 波, 章荣华, 等. 人参皂甙 Rg₃ 对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中药药理与临床, 2004, 20(6): 4-6.
- [13] 付双全. 人参的心血管作用药理学研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(2): 357-359.
- [14] 李凤伟. 人参皂苷脂肪酸结构修饰与体外抗肿瘤活性研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2007.