

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80493

# 大力参炮制工艺优化及抗氧化活性分析

李根悦 王昱丹 杨凯丽 韩路生 王恩鹏

(长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130117)

**摘要:** [目的] 优化大力参(Dali ginseng, DG)炮制加工工艺并分析其抗氧化活性。[方法] 以人参总皂苷为指标, 液料比、炮制温度、炮制时间为考察因素, 基于 Box-Behnken 设计的响应面法考察大力参的最佳炮制工艺; 采用超高效液相色谱—三重四极杆质谱联用技术(UPLC-QQQ-MS)分析人参皂苷类成分含量; 利用抗氧化指标分析不同极性大力参萃取物[氯仿萃取物(CE)、乙酸乙酯萃取物(EAE)、正丁醇萃取物(NBE)和萃取水相(WE)]的抗氧化能力。[结果] DG 的最佳炮制工艺条件为炮制温度 95 °C, 液料比 22:1 (mL/g), 炮制时间 30 min, 此条件下 DG 总皂苷含量为 3.75%。大力参各萃取物均具有一定抗氧化活性, 其中乙酸乙酯萃取物的抗氧化活性最强。[结论] 得到大力参最佳炮制工艺和抗氧化活性部位。

**关键词:** 大力参; 人参皂苷; 抗氧化; 响应面设计; 工艺优化

## Optimization of processing technology of Dali ginseng and analysis on its anti-oxidation activity

LI Genyue WANG Yudan YANG Kaili HAN Lusheng WANG Enpeng

(Changchun University of Chinese Medicine, Jilin Provincial Institute of Ginseng Science, Changchun, Jilin 130117, China)

**Abstract:** [Objective] This study aimed to determine the optimal processing conditions for Dali ginseng (DG) and evaluate its antioxidant activity. [Methods] Total ginsenosides content in DG was measured under different liquid-material ratios, temperatures, and extraction time. The response surface method was employed to optimize the processing conditions. UPLC-QQQ-MS was used to analyze the ginsenoside content, and the antioxidant activity of DG extracts with different polarities was evaluated using various antioxidant indexes. [Results] The optimal processing conditions of DG were processing at 95 °C with liquid-solid ratio 22:1 (mL/g) for 30 mins. Under the control of these conditions, the maximum content of total ginsenosides at 3.75% was achieved. All the DG extracts certain antioxidant activity, among which the ethyl acetate extract has the strongest antioxidant activity. [Conclusion] The optimum processing technology and antioxidant active parts of Dali ginseng were obtained.

**Keywords:** Dali ginseng; ginsenosides; anti-oxidation; response surface method; process optimization

大力参(Dali ginseng, DG)是由鲜人参经沸水浸泡或蒸汽烫制后干燥而成, 又称为烫通参或烫参<sup>[1]</sup>。与未加工的人参相比, 大力参所含的稀有人参皂苷的种类与含量更高<sup>[2-3]</sup>。现代研究<sup>[4]</sup>表明, 大力参炮制过程中会发生化学反应, 使得人参皂苷的种类与含量发生变化。

现有的炮制标准规范中, 有关大力参的加工无详细的规范, 只规定了大概的范围与时间, 较为粗略<sup>[5]</sup>。在大力参的炮制过程中, 长时间的高温可能导致其有效成分人参皂苷含量降低<sup>[6]</sup>。响应面法是优化制备工艺的有效

工具<sup>[7]</sup>, 具有减少试验次数的优点, 并能够分析变量之间的多重交互作用。研究拟以人参总皂苷为指标, 考察炮制温度、液料比和炮制时间对 DG 中人参总皂苷含量的影响, 采用超高效液相色谱—三重四极杆质谱(UPLC-QQQ-MS)法分析其成分, 探究炮制加工过程中人参含量的变化<sup>[8]</sup>。并采用不同极性溶剂萃取 DG 不同极性部位, 考察其抗氧化活性, 为后续有效开发利用抗衰老产品提供依据。

**基金项目:** 国家自然科学基金重点项目(编号:82073969); 吉林省科技发展计划项目(编号:20210401108YY)

**通信作者:** 王恩鹏(1983—), 男, 长春中医药大学教授, 博士。E-mail: wangep@ccucm.edu.cn

**收稿日期:** 2024-05-28 **改回日期:** 2024-11-16

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

5年生新鲜人参:长春中医药大学中药资源与开发实验室陈长宝研究员鉴定为5年生五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的根,抚松丰泽农业种植开发有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),维生素C标准品( $V_c$ ),人参皂苷Re、Rb<sub>2</sub>、Rb<sub>3</sub>、Rc、Rd、Re、Rg<sub>1</sub>、Rg<sub>2</sub>、Rg<sub>3</sub>、Rb<sub>1</sub>标准品:上海源叶生物有限公司;

2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS):分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

超纯水:美国Millipore公司;

其他试剂均为国产分析纯;

超高效液相色谱—三重四极杆质谱(UPLC-QQQ-MS):TSQENDURA,美国Agilent Technologies公司;

酶标仪:Infinite M200 PRO,美国Costar公司;

旋转蒸发器:N-1300型,日本EYELA公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 人参总皂苷含量测定

(1) 供试品溶液的配制:取大力参粉碎,过80目筛,精密称取大力参粉末1.0 g于索氏提取器中,加入25 mL乙醚,煮沸提取2 h,弃去乙醚;挥干乙醚后于索氏提取器中,加入25 mL甲醇浸泡过夜,煮沸提取3 h,回收甲醇,水浴蒸干,用甲醇复溶,定容至5 mL。

(2) 对照品溶液的配制:精密称取5.0 mg人参皂苷Re标准品,用甲醇溶解,定容至5 mL。

(3) 标准曲线的绘制:精密吸取10, 20, 30, 40, 60, 80, 100  $\mu$ L人参皂苷Re对照品于磨口带塞试管中,水浴蒸干(水浴温度 $\leq 90$   $^{\circ}$ C)。依次加入1 mL 10%香草醛乙醇试剂液、10 mL硫酸溶液,水浴搅拌10 min,冷却,用酶标仪测定542 nm处吸光度,绘制标准曲线 $Y=11.23X+0.02474$ ,  $R^2=0.9998$ 。按式(1)计算人参总皂苷含量。

$$X = \frac{M \times (V_1 \times V_2)}{m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$X$ ——人参总皂苷含量,%;

$M$ ——回归方程计算供试品皂苷质量, $\mu$ g;

$V_1$ ——容量瓶体积,mL;

$V_2$ ——样品体积, $\mu$ L;

$m$ ——供试品质量,mg。

#### 1.2.2 单因素试验

(1) 炮制温度:选取无锈病疤痕、参长6 cm的鲜人参,浸泡30~60 min后洗净,室温通风晾晒24 h,在液料比15:1 (mL/g)、炮制时间30 min,炮制温度分别为80, 85,

90, 95, 100  $^{\circ}$ C下进行炮制,55  $^{\circ}$ C下干燥48 h,下须继续烘干至水分含量 $<10\%$ ,测定各炮制温度下人参总皂苷含量。

(2) 液料比:选取无锈病疤痕、参长6 cm的人参,浸泡30~60 min后洗净,室温通风晾晒24 h,在炮制温度95  $^{\circ}$ C、炮制时间30 min,液料比分别为10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1 (mL/g)下进行炮制,55  $^{\circ}$ C干燥48 h,下须继续烘干至水分含量 $<10\%$ ,测定各液料比下人参总皂苷含量。

(3) 炮制时间:选取无锈病疤痕、参长6 cm的鲜人参,浸泡30~60 min后洗净,室温通风晾晒24 h,在炮制温度95  $^{\circ}$ C、液料比20:1 (mL/g),炮制时间分别为10, 20, 30, 40, 50 min下进行炮制,55  $^{\circ}$ C干燥48 h,下须继续烘干至水分含量 $<10\%$ ,测定各炮制时间下人参总皂苷含量。

1.2.3 响应面试验 根据单因素试验结果,选取较优的因素水平,以人参总皂苷含量为响应值,通过响应面法对大力参炮制工艺进行三因素三水平优化。

1.2.4 UPLC-QQQ-MS分析大力参皂苷成分 精密称取适量9种人参皂苷对照品,分别制成质量浓度为0.1, 0.5, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 mg/L的混合液,过0.45  $\mu$ m滤膜。色谱条件:ZORBAXSB-C<sub>18</sub>柱(3.0 mm $\times$ 5.0 cm, 2.7  $\mu$ m),柱温30  $^{\circ}$ C,流动相A为水,流动相B为乙腈,梯度洗脱:0~5 min, 15%~19% B; 5~10 min, 19% B; 10~13 min, 19%~25% B; 13~15 min, 25%~28% B; 15~18 min, 28% B; 18~22 min, 28%~30% B; 22~25 min, 30%~35% B; 25~30 min, 35%~40% B; 30~35 min, 40%~60% B。质谱条件:电喷雾离子(ESI)源,负离子模式,喷雾器温度350  $^{\circ}$ C;喷雾电压2 500 V;鞘气压力 $2.4 \times 10^5$  Pa;辅助气压力 $6.9 \times 10^4$  Pa;毛细管温度325  $^{\circ}$ C;采用全扫描/等离子模式检测,质量扫描范围100~1 500  $m/z$ 。

分别考察9种人参皂苷的仪器精密性、重复性、稳定性精、加样回收率及加样回收RSD。

#### 1.2.5 大力参各极性萃取物的抗氧化活性

(1) 不同极性溶剂萃取物制备:取大力参粉末100 g,分别用20倍不同体积分数乙醇(依次使用95%, 75%, 55%)和纯水超声提取,合并提取液,60  $^{\circ}$ C下减压浓缩,冷冻干燥,粉碎,过筛,得大力参冻干粉。准确称取大力参冻干粉(FDP)30 g,加入300 mL蒸馏水,涡旋混匀,依次使用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇按体积比1:1进行萃取,合并萃取液,浓缩蒸干,分别得到氯仿萃取物(CE)、乙酸乙酯萃取物(EAE)、正丁醇萃取物(NBE)和水相萃取物(WE),称重,分别按式(2)、式(3)计算萃取物得率和冻干粉出膏率。

$$M = \frac{A_1 - A_2}{30} \times 100\%, \quad (2)$$

$$F_{DP} = \frac{A}{A_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

$M$ ——不同萃取溶剂的得率, %;

$A_1$ ——蒸发皿与不同溶剂萃取物蒸干后质量之和, g;

$A_2$ ——烘干至恒重的蒸发皿质量, g;

$F_{DP}$ ——大力参冻干粉出膏率, %;

$A$ ——冻干粉质量, g;

$A_0$ ——大力参原料质量, g。

(2) OH 自由基清除率测定: 取适量 CE、EAE、NBE、WE, 用 20% DMSO 溶解 CE 和 EAE, 其余萃取物用蒸馏水溶解。根据 Wu 等<sup>[9]</sup>的方法修改反应条件: 分别加入 50  $\mu$ L FeSO<sub>4</sub> 溶液、水杨酸溶液、样品溶液及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液, 等待 30 min, 测定 510 nm 处吸光度, 并按式(4)计算 OH 自由基清除率。

$$E = \frac{(A_1 - A_2) - (A_3 - A_4)}{A_1 - A_2} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

$E$ ——自由基清除率, %;

$A_1$ ——样品溶剂代替样品溶液的吸光度;

$A_2$ ——样品溶剂代替样品溶液和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液的吸光度;

$A_3$ ——样品组的吸光度;

$A_4$ ——样品溶剂代替 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液的吸光度。

(3) DPPH 自由基清除率测定: 根据文献[8], 依次加入 100  $\mu$ L 样品溶液、DPPH 溶液, 避光反应 30 min, 测定 517 nm 处吸光度, 并按式(4)计算 DPPH 自由基清除率。

(4) ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率测定: 配制 2 mL 7.4 mmol/L 的 ABTS 和 180  $\mu$ L 2.6 mmol/L 的过硫酸钾溶液混合液, 避光静置 12 h, 使用前稀释至 734 nm 处吸光度为 0.70~0.80。样品溶液与 ABTS 溶液各 100  $\mu$ L, 避光反应 6 min, 测定 734 nm 处吸光度, 并按式(4)计算 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率。

### 1.3 数据处理

使用 Design-Expert 13.0 软件进行响应面设计及数据分析。使用 SPSS 22.0 软件进行数据处理, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用最小显著差数法 LSD 进行多重比较;  $P < 0.05$  为显著性差异,  $P < 0.01$  为极显著性差异。使用 Graphpad prism 9.3.0 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 炮制温度 由图 1(a)可知, 随着炮制温度的升高, 总皂苷含量逐渐增多, 当炮制温度为 95  $^{\circ}$ C 时, 大力参总皂苷含量最大, 此后随着炮制温度的升高, 总皂苷含量降低, 可能是因为随着炮制温度的升高, 人参皂苷发生一定程度的转化和美拉德反应<sup>[10]</sup>。炮制温度对总皂苷含量的影响具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。故选择炮制温度为 90~100  $^{\circ}$ C。

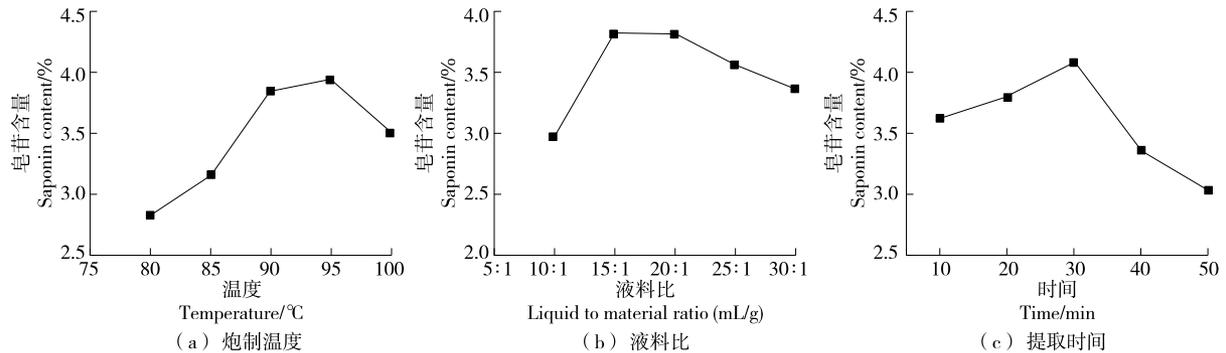


图 1 炮制因素对大力参总皂苷含量的影响

Figure 1 Influence of preparation factors on the total saponin content of DG

2.1.2 液料比 由图 1(b)可知, 随着液料比的增大, 总皂苷含量升高, 当液料比为 15:1 (mL/g) 时, 总皂苷含量最大, 此后随着液料比的增加, 总皂苷含量逐渐降低。液料比较低时, 大力参炮制不完全, 总皂苷含量降低; 随着液料比过大, 部分人参皂苷溶出进入水中, 总皂苷含量降低<sup>[11]</sup>。液料比对皂苷含量的影响具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。故选择液料比为 10:1~20:1 (mL/g)。

2.1.3 炮制时间 由图 1(c)可知, 随着炮制时间的延长,

总皂苷含量逐渐升高, 当炮制时间为 30 min 时, 总皂苷含量最大, 此后随着炮制时间的延长, 总皂苷含量降低。炮制过程中伴随着人参皂苷的转化和炮制时间的延长, 人参皂苷含量增多, 但继续延长炮制时间人参中的皂苷含量反而降低, 可能是长时间的高温破坏了皂苷的结构<sup>[12-14]</sup>。炮制时间对总皂苷含量的影响具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。故选择炮制时间为 20~40 min。

2.1.4 多重比较分析 由表 1 可知, 炮制方法、炮制因素

(炮制温度、液料比、炮制时间)对总皂苷含量具有显著性影响;炮制方法的  $F=20.561, P=0.000$ ;炮制因素的  $F=44.518, P=0.000$ 。由表 2 可知,除炮制时间与炮制温度 ( $P=0.582>0.05$ )外,其他各组之间对人参总皂苷含量具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

表 1 主体间效应的检验<sup>†</sup>

Table 1 Tests for between-subjects effects

来源	III类平方和	自由度	均方	F值	显著性
修正模型	5.762	12	0.480	17.794	0.000
截距	502.434	1	502.434	18 620.155	0.000
炮制方法	5.548	10	0.555	20.561	0.000
炮制因素	1.201	1	1.201	44.518	0.000
误差	0.863	32	0.027		
总计	550.897	45			
修正后总计	6.625	44			

†  $R^2=0.870, R_{Adj}^2=0.821$ ;因变量为总皂苷含量。

表 2 多重比较结果<sup>†</sup>

Table 2 Results of multiple comparison

炮制方法	炮制因素	平均值差值	显著性	95%置信区间	
				下线	上线
炮制温度	液料比	-0.033 3	0.012	-0.155 5	0.088 8
	炮制时间	-0.160 0*	0.582	-0.282 2	-0.037 8
液料比	炮制温度	0.033 3	0.012	-0.088 8	0.155 5
	炮制时间	-0.126 7*	0.043	-0.248 8	-0.004 5
炮制时间	炮制温度	0.160 0*	0.582	0.037 8	0.282 2
	液料比	0.126 7*	0.043	0.004 5	0.248 8

† \* 为显著性水平  $P=0.05$ ;因变量为总皂苷含量。

## 2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果 响应面试验因素水平见表 3,试验设计及结果见表 4。

2.2.2 模型拟合分析 根据响应面试验得二元拟合回归方程为

$$Y=3.98-0.041 2A-0.078 7B-0.24C+0.057 5AB-0.07AC-0.005BC-0.355 3A^2-0.100 3B^2-0.272 17C^2。 \quad (5)$$

表 3 响应面试验因素水平表

Table 3 Factors and levels table of response surface experiment

水平	A 炮制温度/°C	B 液料比(mL/g)	C 炮制时间/min
-1	90	15:1	20
0	95	20:1	30
1	100	25:1	40

表 4 响应面试验设计及结果

Table 4 Results of response surface test

试验号	A	B	C	总皂苷含量/%
1	0	-1	0	3.89±0.012 7
2	0	0	0	3.94±0.025 4
3	0	0	0	3.99±0.014 7
4	-1	0	-1	3.55±0.075 2
5	-1	-1	0	3.74±0.374 0
6	0	-1	1	3.42±0.047 2
7	1	1	0	3.42±0.072 9
8	1	0	1	3.01±0.037 1
9	0	1	-1	3.80±0.028 4
10	0	0	0	3.98±0.059 2
11	-1	1	0	3.41±0.084 3
12	1	0	-1	3.63±0.045 1
13	-1	0	1	3.21±0.053 1
14	0	1	1	3.31±0.074 4
15	1	1	0	3.52±0.053 7
16	0	0	0	3.98±0.052 3
17	0	0	0	4.01±0.065 9

由表 5 可知,模型  $P<0.000 1$ ,极显著;失拟项  $P=0.067 2>0.05$ ,不显著,说明非试验性因素对试验结果影响不显著;回归模型的相关系数  $R^2=0.993 4$ ,说明试验中 99.34%的数据是合理的。炮制时间、液料比和炮制温度

表 5 回归模型方差分析<sup>†</sup>

Table 5 Variance analysis of regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	1.530	9	0.170	116.47	<0.000 1	***
A	0.014	1	0.014	9.32	0.018 5	*
B	0.050	1	0.050	33.96	0.000 6	**
C	0.460	1	0.460	315.46	<0.000 1	***
AB	0.013	1	0.013	9.05	0.008 0	**
AC	0.020	1	0.020	13.42	0.801 1	
BC	<0.001	1	<0.001	0.07	0.019 7	*
A <sup>2</sup>	0.530	1	0.530	365.83	<0.000 1	***
B <sup>2</sup>	0.043	1	0.043	29.55	0.001 0	*
C <sup>2</sup>	0.320	1	0.320	216.01	<0.000 1	***
残差	0.010	7	$1.461 \times 10^{-3}$			
失拟项	$7.625 \times 10^{-3}$	3	$2.542 \times 10^{-3}$	5.47	0.067 2	
纯误差	$2.600 \times 10^{-3}$	4	$6.500 \times 10^{-4}$			
总和	1.540	16				

† \*\*\*为差异极显著 ( $P<0.000 1$ );\*\*为差异高度显著 ( $P<0.01$ );\*为差异显著 ( $P<0.05$ ); $R^2=0.993 4, R_{Adj}^2=0.984 8$ ;  $CV=1.05\%$ 。

对大力参总皂苷含量影响显著 ( $P < 0.05$ )。

2.2.3 交互作用分析 由表 5 可知, AB 的交互效应极显著 ( $P < 0.01$ ), BC 的交互效应显著 ( $P < 0.05$ )。由图 2 可

知, 各因素交互作用均存在响应最大值, AB 和 BC 的轮廓线稠密、呈椭圆状, 说明相互作用强烈; AC 的响应曲面坡度平缓, 交互作用弱, 与方差分析结果一致。

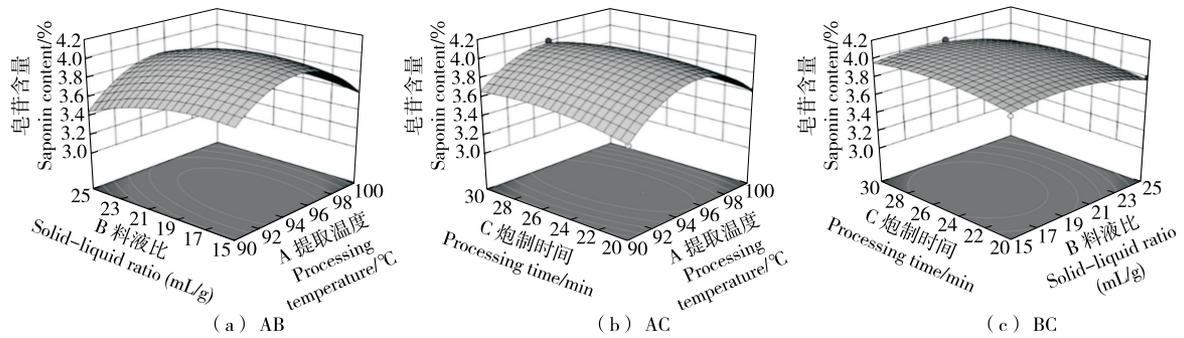


图 2 各因素交互作用的等高线示意图

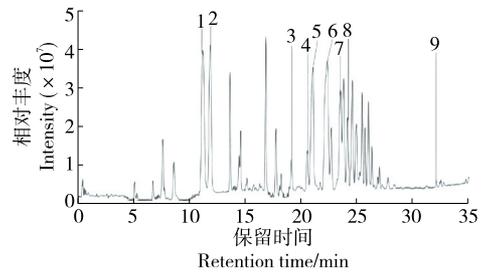
Figure 2 Response surface and contours of the interaction of various factors on the content of saponins in DG

2.2.4 验证实验 根据响应面模型, 得到大力参的最佳炮制工艺条件为炮制温度 94.688 °C, 液料比 21.74:1 (mL/g), 炮制时间 30.47 min, 此条件下大力参总皂苷含量为 3.89%。根据实际情况, 将工艺条件调整为炮制温度 95 °C, 液料比 22:1 (mL/g), 炮制时间 30 min, 进行 3 次重复试验, 得大力参总皂苷含量为 3.75%, 与预测值接近, 说明该工艺可行。

2.3 UPLC-QQQ-MS 法分析大力参总皂苷成分

2.3.1 仪器精密度、重复性及稳定性 由表 6 可知, 9 种人参总皂苷峰面积的 RSD < 3%, 说明仪器精密度良好。由图 3 可知, 6 次检测均在相同位置出现色谱峰。9 种总皂苷含量的 RSD 为 1.02%~3.96%, 表明该方法重复性良好。9 种总皂苷含量在 48 h 内的 RSD 为 1.27%~3.79%, 表明供试品溶液在 48 h 内具有较好的稳定性。

2.3.2 加样回收率 由表 6 可知, 各皂苷的平均回收率为 96.43%~99.67%, 相对标准偏差为 1.41%~3.08%, 说明该



1~9 分别为人参皂苷 R<sub>g1</sub>、Re、R<sub>g2</sub>、R<sub>b1</sub>、R<sub>c</sub>、R<sub>b2</sub>、R<sub>b3</sub>、R<sub>d</sub>、R<sub>g3</sub>

图 3 供试品总离子流图

Figure 3 Total ion chromatography figure

方法的准确性较好, 加样回收率较好, 可以满足样品分析的要求。

2.2.3 人参总皂苷标准曲线绘制 以对照品的峰面积 (Y) 对相应的质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程、相关系数和线性范围结果如表 7 所示。

2.3.4 大力参总皂苷成分比较 由表 8 可知, 人参皂苷

表 6 9 种人参皂苷的方法学考察结果

Table 6 Results of methodological investigation of nine kinds of ginsenosides %

成分	精密度 RSD	重复性 RSD	稳定性 RSD	加样回收率	加样回收 RSD
R <sub>g1</sub>	1.31	3.96	2.14	97.27	1.63
Re	1.83	3.25	3.78	99.67	2.14
R <sub>g2</sub>	2.64	1.02	1.27	97.52	2.48
R <sub>b1</sub>	1.60	2.77	3.79	98.36	2.78
R <sub>c</sub>	1.66	1.08	2.02	98.99	1.74
R <sub>b2</sub>	1.24	2.03	2.81	96.43	2.68
R <sub>b3</sub>	0.92	3.35	3.16	98.24	1.41
R <sub>d</sub>	2.00	2.00	3.50	96.79	1.58
R <sub>g3</sub>	2.05	2.28	1.92	98.02	3.08

表 7 线性关系考察

Table 7 Linear relationship investigation

标准品	线性范围/ (mg·L <sup>-1</sup> )	线性回归方程	R <sup>2</sup>
R <sub>g1</sub>	0.100 2~20.04	Y=10 586 638X+26 311 284	0.998 8
Re	0.110 3~22.06	Y=4 705 653X+543 753	0.995 9
R <sub>g2</sub>	0.090 2~18.04	Y=9 288 790X+21 549 996	0.996 5
R <sub>b1</sub>	0.098 7~19.74	Y=5 569 069X+10 920 017	0.999 6
R <sub>c</sub>	0.102 5~20.50	Y=4 479 875X+9 848 236	0.995 5
R <sub>b2</sub>	0.119 5~23.90	Y=7 327 237X+25 905 176	0.998 6
R <sub>b3</sub>	0.104 3~20.86	Y=7 194 829X+26 740 805	0.999 3
R <sub>d</sub>	0.097 2~19.44	Y=3 992 092X+4 702 247	0.991 3
R <sub>g3</sub>	0.095 3~19.06	Y=10 465 331X+15 707 426	0.996 8

Re 在炮制温度 85 °C、液料比 15:1 (mL/g)、炮制时间 30 min 下的含量最高。人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、Rg<sub>3</sub> 在炮制温度 100 °C、液料比 20:1 (mL/g)、炮制时间 30 min 下的含量最高。随着炮制温度的上升和炮制时间的增加,人参皂苷

Re 含量不断下降,人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Rg<sub>2</sub>、Rg<sub>3</sub>、Rd 含量不断上升,可能是高温下三醇型人参皂苷 Re 能降解为人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Rg<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub><sup>[15]</sup>;二醇型人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>2</sub> 和 Rc 能降解为人参皂苷 Rd,之后可继续降解为人参皂苷 Rg<sub>3</sub><sup>[16]</sup>。

表 8 大力参样品中皂苷类成分含量测定<sup>†</sup>

Table 8 Determination of saponins in DG samples (n=3)

编号	Rg <sub>1</sub>	Re	Rg <sub>2</sub>	Rb <sub>1</sub>	Rc	Rb <sub>2</sub>	Rb <sub>3</sub>	Rd	Rg <sub>3</sub>	总和
A <sub>1</sub>	1.06±0.008 1	3.59±0.016 9	0.47±0.008 7	1.77±0.017 0	1.94±0.021 3	3.08±0.018 4	0.56±0.007 5	0.41±0.027 6	0.19±0.023 5	13.07±0.032 3
A <sub>2</sub>	1.42±0.001 4	3.74±0.002 1	0.66±0.015 9	1.81±0.028 0	1.94±0.005 8	2.62±0.028 3	0.64±0.016 9	0.62±0.011 9	0.17±0.018 5	13.23±0.045 2
A <sub>3</sub>	1.65±0.001 9	3.43±0.034 1	0.76±0.021 0	2.11±0.013 3	1.82±0.018 5	2.56±0.002 2	0.73±0.018 5	0.60±0.016 2	0.38±0.005 0	14.04±0.022 1
A <sub>4</sub>	2.61±0.014 5	2.58±0.038 3	0.90±0.019 6	2.29±0.018 2	1.56±0.011 7	1.65±0.016 1	0.82±0.022 0	0.68±0.008 0	0.71±0.013 0	13.80±0.012 8
A <sub>5</sub>	2.72±0.035 5	2.14±0.021 6	0.90±0.025 3	2.13±0.004 2	1.28±0.023 1	1.56±0.014 7	1.08±0.027 1	0.75±0.029 3	0.72±0.019 8	13.68±0.004 2
B <sub>1</sub>	2.36±0.007 9	2.30±0.016 4	0.42±0.015 5	1.76±0.027 9	1.44±0.026 2	1.26±0.014 5	0.74±0.017 2	0.72±0.014 2	0.66±0.025 4	11.66±0.042 6
B <sub>2</sub>	2.66±0.002 8	2.70±0.012 2	0.90±0.026 3	2.76±0.018 3	1.70±0.014 5	1.56±0.025 1	0.82±0.021 1	0.76±0.017 7	0.61±0.004 6	13.70±0.002 4
B <sub>3</sub>	2.47±0.009 4	2.56±0.029 8	0.94±0.019 0	2.31±0.029 1	1.55±0.023 1	1.63±0.012 1	0.86±0.011 4	0.80±0.024 8	0.58±0.017 6	13.57±0.004 1
B <sub>4</sub>	1.87±0.027 8	1.83±0.026 7	0.74±0.002 2	2.16±0.009 7	1.34±0.010 8	1.38±0.008 5	0.75±0.012 0	0.64±0.024 9	0.35±0.014 8	11.06±0.031 4
B <sub>5</sub>	1.62±0.017 9	1.73±0.012 4	0.67±0.010 2	2.13±0.012 3	1.27±0.013 8	1.30±0.026 2	0.71±0.016 9	0.36±0.005 6	0.22±0.011 1	10.01±0.037 5
C <sub>1</sub>	1.58±0.004 2	2.61±0.005 4	0.58±0.005 6	1.31±0.018 1	1.01±0.009 3	1.44±0.029 0	0.66±0.010 3	0.57±0.010 7	0.18±0.022 1	9.94±0.056 3
C <sub>2</sub>	1.72±0.047 0	2.58±0.014 2	0.70±0.016 2	2.27±0.016 6	1.53±0.024 3	2.06±0.004 3	0.78±0.028 2	0.76±0.014 1	0.31±0.011 1	11.90±0.008 7
C <sub>3</sub>	2.35±0.004 9	2.16±0.022 3	0.87±0.008 2	2.25±0.023 0	1.56±0.017 7	1.62±0.015 3	0.86±0.002 4	0.71±0.009 3	0.55±0.020 0	12.65±0.004 9
C <sub>4</sub>	2.59±0.011 2	1.63±0.007 3	1.09±0.025 3	1.61±0.017 2	1.43±0.025 7	1.59±0.026 0	0.70±0.014 5	0.62±0.015 7	0.64±0.018 6	12.93±0.073 0
C <sub>5</sub>	2.72±0.087 0	1.51±0.039 2	1.19±0.022 1	1.08±0.002 6	1.26±0.004 5	1.44±0.010 4	0.74±0.016 9	0.64±0.023 0	0.86±0.027 0	11.44±0.003 4

† A<sub>1</sub>~A<sub>5</sub>为炮制时间 10, 20, 30, 40, 50 min; B<sub>1</sub>~B<sub>5</sub>为液料比 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1 (mL/g); C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>为炮制温度 80, 85, 90, 95, 100 °C。

由表 9 可知,炮制方法、炮制因素对皂苷含量具有显著性影响。炮制方法的  $F=10.015, P=0.000$ ;炮制因素的  $F=43.063, P=0.000$ 。由表 10 可知,除炮制时间与炮制温度 ( $P=0.540 > 0.05$ ) 外,其他各组之间均具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

2.4 不同极性萃取物的抗氧化活性

2.4.1 大力参各极性萃取物的出膏率 各极性萃取物的出膏率的大小 WE (63.60%) > FDP (31.32%) > NBE

表 9 主体间效应检验<sup>†</sup>

Table 9 Tests for between-subjects effects

来源	III 类平方和	自由度	均方	F 值	显著性
修正模型	62.870	12	5.239	14.544	0.000
截距	6 584.069	1	6 584.069	18 277.628	0.000
炮制具体方法	36.078	10	3.608	10.015	0.000
炮制因素	15.512	1	15.512	43.063	0.000
误差	11.527	32	0.360		
总计	7 148.761	45			
修正后总计	74.397	44			

† 因变量为 9 种皂苷总含量;  $R^2=0.845, R^2_{Adj}=0.787$ 。

表 10 多重比较结果

Table 10 Results of multiple comparisons

炮制方法	炮制因素	平均值 差值	显著性	95% 置信区间	
				下限	上限
炮制时间	液料比	1.564 7*	0.000	1.118 3	2.011 1
	炮制温度	1.700 5*	0.540	1.254 1	2.146 9
液料比	炮制时间	-1.564 7*	0.000	-2.011 1	-1.118 3
	炮制温度	0.135 9	0.000	-0.310 5	0.582 3
炮制温度	炮制时间	-1.700 5*	0.540	-2.146 9	-1.254 1
	液料比	-0.135 9	0.000	-0.582 3	0.310 5

† \*为显著性水平  $P=0.05$ ; 因变量为 9 种皂苷总含量。

(21.98%) > CE (1.12%) > EAE (0.83%)。

2.4.2 抗氧化活性 由图 4 和表 11 可知, DG 对 OH 自由基的清除效果为 EAE > CE > WE > FDP, EAE 的清除作用最好, 其 IC<sub>50</sub> 值为 (7.25 ± 0.54) mg/mL; 对 DPPH 自由基的清除能力大小为 EAE > CE > FDP > WE > NBE, EAE 的清除作用最好, 其 IC<sub>50</sub> 值为 (3.40 ± 0.20) mg/mL, WE 和 NBE 清除 DPPH 自由基的能力接近; 各极性萃取物对 ABTS<sup>+</sup> 自由基均有一定的清除能力, 其中 EAE 的

清除能力最强,其  $IC_{50}$  值为  $(2.93 \pm 0.04)$  mg/mL, WE 的清除能力最弱。当样品质量浓度为 0~20 mg/mL 时,自由基清除率与样品质量浓度呈正相关,当样品质量浓度 >20 mg/mL 时,自由基清除率达到稳定值。EAE 对 3 种自由基的清除效果均为最好,乙酸乙酯作为常用的中药萃取溶剂<sup>[17]</sup>,可以提取出药材中的中小极性成分,且提取效率高。张慧娥等<sup>[18]</sup>研究发现,人参乙酸乙酯部位主要含有有机酸类、酯类、烃类、醇类、酚类和酮类

等小分子物质,其中有机酸类和酯类等物质居多。徐志佳等<sup>[19]</sup>研究发现,人参乙酸乙酯萃取部位含有总酚酸、人参皂苷 Rb1、总皂苷、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg1、总多糖、总黄酮等化学成分,不同极性部位抗氧化活性的变化趋势与其总酚酸、总黄酮、总皂苷含量具有一致性。DG 作为人参炮制品的一种,其酚酸、黄酮、皂苷类成分可能是 EAE 萃取部位发挥抗氧化作用的潜在物质基础。

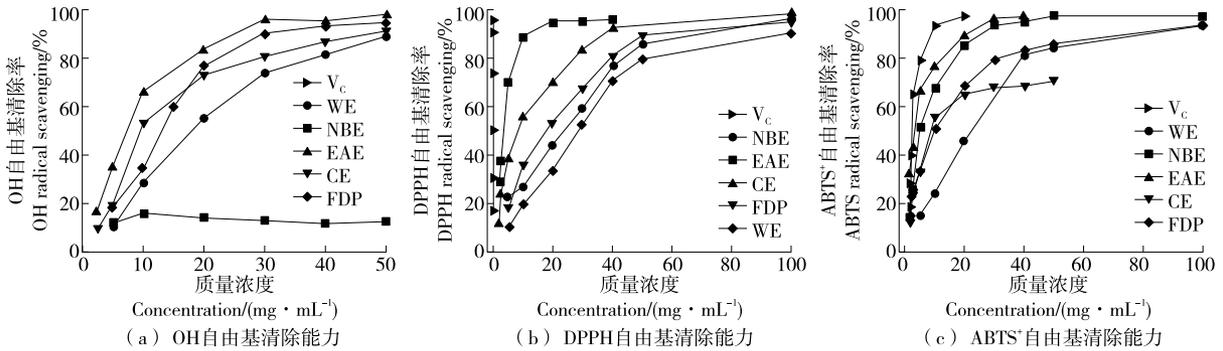


图 4 DG 不同极性萃取物对自由基的清除作用

Figure 4 Free radical scavenging ability of different polar extracts of DG

表 11 各极性萃取部位抗氧化  $IC_{50}$  值

样品	OH 自由基清除率	DPPH 自由基清除率	ABTS <sup>+</sup> 自由基清除率
FDP	$14.14 \pm 0.34$	$21.35 \pm 0.94$	$9.71 \pm 0.23$
CE	$9.29 \pm 0.49$	$6.44 \pm 0.83$	$11.71 \pm 0.47$
EAE	$7.25 \pm 0.54$	$3.45 \pm 0.20$	$2.93 \pm 0.04$
NBE	/	$29.81 \pm 0.78$	$5.14 \pm 0.54$
WE	$17.68 \pm 0.36$	$29.14 \pm 0.67$	$19.77 \pm 0.91$

### 3 结论

通过响应面法得到大力参最佳炮制工艺条件为炮制温度 95 °C、液料比 22:1 (mL/g)、炮制时间 30 min,此条件下人参总皂苷含量可达 3.75%,高于标准规定的 2%,实现了优化增效的预期目的。抗氧化活性表明,大力参乙酸乙酯萃取物对 3 种自由基的清除能力最优,可能与其含有较多的皂苷成分和酚酸、黄酮等小极性物质有关,但具体为哪些成分有待进一步研究。

#### 参考文献

[1] 曲正义, 逢世峰, 王兆森, 等. 基于近红外光谱技术的大力参含水量快速无损检测[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(11): 2 653-2 655.  
 QU Z Y, FENG S F, WANG Z S, et al. Rapid non-destructive

detection of water content of Radix et Rhizoma Ginseng based on near infrared spectroscopy[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2020, 31(11): 2 653-2 655.  
 [2] OLUDEMI T, BARROS L, PRIETO M A, et al. Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology[J]. Food & Function, 2018, 9(1): 209-226.  
 [3] MOSTAFA R E, SHAFFIE N M, ALLAM R M. *Panax ginseng* alleviates thioacetamide-induced liver injury in ovariectomized rats: crosstalk between inflammation and oxidative stress[J]. PLoS One, 2021, 16(11): e0260507.  
 [4] CHU C, XU S J, LI X N, et al. Profiling the ginsenosides of three ginseng products by LC-Q-TOF/MS[J]. Food Science, 2013, 78(5): C653-C659.  
 [5] 国家市场监督管理总局. 大力参分等质量: GB/T 22537—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1-7.  
 State Administration for Market Regulation. Grade quality of boiled ginseng: GB/T 22537—2018[S]. Beijing: China Quality and Standards Press, 2018: 1-7.  
 [6] 孙卫东, 刘倡. 古法红参、大力参、糖参加工炮制方法[J]. 人参研究, 2018, 30(5): 57-59.  
 SUN W D, LIU S. Ancient method of artisanal concoction of red ginseng, Dali ginseng and sugar ginseng[J]. Ginseng Research, 2018, 30(5): 57-59.  
 [7] 孙思源, 孔令杰, 朱和权, 等. 蜂胶脂质体制备工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2024, 40(6): 192-198, 232.  
 SUN S Y, KONG L J, ZHU H Q, et al. Optimization of the

- preparation process for propolis liposome and antioxidant activity analysis[J]. Food & Machinery, 2024, 40(6): 192-198, 232.
- [8] WANG X Y, REN H. Optimization of dynamic-microwave assisted enzymatic hydrolysis extraction of total ginsenosides from stems and leaves of *Panax ginseng* by response surface methodology[J]. Prep Biochem Biotechnol, 2019, 49(5): 419-426.
- [9] WU X, JIA L, WU J, et al. Simultaneous determination and quantification of triterpene saponins from *Camellia sinensis* seeds using UPLC-PDA-QTOF-MS/MS[J]. Molecules, 2019, 24(20): 3 794.
- [10] 宫瑞泽, 霍晓慧, 张磊, 等. 美拉德反应对中药品质的影响及调控研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(1): 243-251.
- GONG R Z, HUO X H, ZHANG L, et al. Advances in effects and regulation of Maillard reaction on quality of Chinese materia medica[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(1): 243-251.
- [11] 唐盼盼, 崔承弼, 姜欣, 等. 复合红参膏制备工艺优化及体外美白作用研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(9): 159-166.
- TANG P P, CUI C B, JIANG X, et al. Optimization of the preparation process of compound *Panax ginseng* cream and its in vitro whitening effects[J]. Food & Machinery, 2024, 40(9): 159-166.
- [12] 屈文佳, 徐文娟, 李春帅, 等. HPLC法同时测定红参中6种稀有皂苷的含量[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(6): 2 874-2 877.
- QU W J, XU W J, LI C S, et al. Determination of 6 rare ginsenosides in red ginseng by HPLC[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2023, 38(6): 2 874-2 877.
- [13] 汤淼淼, 赵姝婷, 李冉琪, 等. 红参的炮制方法、化学成分及药理研究进展[J/OL]. 特产研究. (2024-04-01) [2024-04-22]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.037>.
- TANG M M, ZHAO S T, LI R Q, et al. Research progress on processing methods, chemical composition and pharmacology of red ginseng[J/OL]. Special Wild Economic Animal and Plant Research. (2024-04-01) [2024-04-22]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.037>.
- [14] 韩红亮, 周修腾, Thomas Avery Garran, 等. 黑人参的炮制方法、化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(3): 912-920.
- HAN H L, ZHOU X T, GARRAN T A, et al. Research progress on processing methods, chemical constituents and pharmacological action of black ginseng[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(3): 912-920.
- [15] 张颖, 郝颖, 杨立曼, 等. 不同蒸制工艺对红参中人参皂苷类成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 16-20.
- ZHANG Y, HAO Y, YANG L M, et al. Effects of different steaming processes on ginsenosides from Ginseng Radix et Rhizoma Rubra[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulas, 2013, 19(21): 16-20.
- [16] 肖盛元, 罗国安. 红参加工过程中人参皂苷化学反应 HPLC/MS/MS研究[J]. 中草药, 2005, 36(1): 40-43.
- XIAO S Y, LUO G A. Chemical reactions of ginsenosides in red ginseng processing by HPLC/MS/MS[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36(1): 40-43.
- [17] 马飞跃, 张明, 李娅, 等. 人心果叶不同极性组分的抗氧化与抗菌活性[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 144-148.
- MA F Y, ZHANG M, LI Y, et al. Antioxidant and antibacterial activities of different polar parts from Manilkara zapota leaves [J]. Food & Machinery, 2021, 37(5): 144-148.
- [18] 张慧娥, 侯剑峰, 王经元, 等. 人参不同部位提取物体外抗氧化活性及成分差异[J]. 应用化学, 2021, 38(11): 1 531-1 540.
- ZHANG H E, HOU J F, WANG J Y, et al. A differential study on *in vitro* antioxidant activity and extract composition of different parts of *Panax ginseng*[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2021, 38(11): 1 531-1 540.
- [19] 徐志佳, 李胜楠, 周文文, 等. 基于熵权法和灰色关联度结合成分分析优选人参提取物抗氧化活性最佳极性部位[J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 211-220.
- XU Z J, LI S N, ZHOU W W, et al. Optimization of the best polar site for antioxidant activity of *Panax ginseng* extract based on entropy weight method and grey relational analysis combined with component analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 211-220.