

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2019.02.008

市售牛蒡制品绿原酸含量测定^{*}

李 茜

(济宁医学院公共卫生学院, 济宁 272013)

摘要 目的 测定牛蒡及其加工制品绿原酸的含量,了解加工工艺对绿原酸含量的影响。**方法** 将牛蒡及其制品(牛蒡酱、牛蒡酒、牛蒡咸菜、牛蒡胶囊和三种牛蒡茶)预处理后,采用 70% 甲醇溶液提取其绿原酸,高效液相色谱法测定绿原酸含量。**结果** 牛蒡、牛蒡胶囊、牛蒡茶丝、牛蒡茶片、特级牛蒡茶绿原酸含量分别为 7.57g/kg、 2.32×10^{-3} g/l、3.06g/kg、5.29g/kg、5.96g/kg,牛蒡酱、牛蒡酒和牛蒡咸菜中均未检出。精密度试验 RSD = 0.66%,稳定性试验 RSD = 1.06%,重复性试验 RSD = 0.72%,回收率试验回收率为 99.2%,RSD = 1.14%。**结论** 牛蒡绿原酸的含量最高,各种加工制品绿原酸含量均有损失。

关键词 牛蒡;绿原酸;高效液相色谱法

中图分类号:R283.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2019)02-108-05

Determination of chlorogenic acid content in commercially available burdock products

LI Qian

(School of Public Health, Jining Medical University, Jining 272013, China)

Abstract: Objective To determine the chlorogenic acid content in burdock and its processed products and to explore the effects of processing technology on chlorogenic acid content. **Methods** After pretreatment of burdock and its products (burdock sauce, burdock wine, burdock pickles, burdock capsules and three kinds of burdock tea), chlorogenic acid was extracted with 70 % methanol solution, and chlorogenic acid content was determined by HPLC. **Results** The content of chlorogenic acid in burdock, burdock capsule, burdock tea wire, burdock tea tablet and super burdock tea were 7.57g/kg, 2.32×10^{-3} g/l, 3.06g/kg, 5.29g/kg, 5.96g/kg, respectively. The content of chlorogenic acid in burdock sauce, burdock wine and burdock pickles were not detected. The precision test result RSD = 0.66 %, the stability test result RSD = 1.06 %, the repetitive test result RSD = 0.72 %, and the recovery rate test result is a recovery rate of 99.2 %, RSD = 1.14 % . **Conclusion** The content of chlorogenic acid in burdock was the highest, and the content of chlorogenic acid in all kinds of processed products was decreased.

Keywords: Burdock; Chlorogenic acid; High performance liquid chromatography

牛蒡(*Arctium lappa* L),又称东洋参、恶实,是桔梗目菊科牛蒡属的二年生草本植物^[1]。牛蒡在我国东北、华北、西北以及华东、华中、西南部分地区均有种植,主要产地分布于苏、鲁两省,其中以江苏徐州和山东临沂居多^[2]。

牛蒡中的功能成分赋予牛蒡极高的保健价值,经常食用可促循环、清肠胃、防衰老、降血糖、抗氧

化^[3]。其中绿原酸具有抗氧化、抗过敏、抗致畸、抗肿瘤细胞株毒活性、抗艾滋病毒等作用,并能有效抑制多种致病菌^[4-7]。

目前市面上牛蒡产品种类繁多,常见的有牛蒡茶、牛蒡酒、牛蒡酱和牛蒡罐头等^[8]。测定牛蒡及其制品绿原酸含量对于提高牛蒡利用价值,改进牛蒡加工工艺,对居民合理膳食具有一定的指导意义。

^{*} [基金项目] 济宁市科技发展计划项目(2016-56-96);济宁医学院青年教师科研扶持基金(JYFC2018 KJ032)

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料 牛蒡、牛蒡酱、牛蒡酒、牛蒡咸菜、牛蒡胶囊和三种牛蒡茶(市售,产地均为山东省临沂市兰陵县)。

1.1.2 仪器 数显式三用电热恒温水浴箱(上海跃进医疗器械有限公司,型号 S·HH·W21·600)、超声波清洗机(宁波新艺超声波设备有限公司,型号 SB-3200DTS)、电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司,型号 FB323)、高效液相色谱仪(美国 Agilent,型号 1260 Infinity)。

1.1.3 试剂 绿原酸标准品(纯度 $\geq 99\%$)、乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、乙酸(优级纯)、超纯水。

绿原酸标准储备液(2.00mg/ml):精确称取绿原酸标准品 0.0200g 加流动相定容至 10ml(棕色瓶保存,现用现配)。

绿原酸标准使用液(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$):准确量取 1.00ml 绿原酸标准储备液于 10ml 容量瓶中,用流动相定容至刻度(置于棕色瓶中,现用现配)。

1.2 方法

1.2.1 样品溶液的制备 精确称取 0.5000g 固体样品,充分研磨后,用 70% 甲醇溶液(50ml)转移入圆底烧瓶,称重,记为 m_1 。60℃ 回流 30min,擦干外壁,冷却至室温,再称重,记为 m_2 。用 70% 甲醇溶液补足 $m_1 - m_2$,混匀后过滤,滤液过 0.45 μm 滤膜备用。液体试样 3000r/min 离心 10min 后过 0.45 μm 滤膜备用^[9]。

1.2.2 标准曲线的制备 吸取绿原酸标准使用液 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00ml 分别置于 10ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,配置成标准系列。

1.2.3 色谱分析 取标准溶液和试样溶液分别注入高效液相色谱仪配套的棕色进样瓶,以保留时间定性,以试样峰面积与标准使用液比较定量,进样分析。

1.2.4 色谱条件 C18 色谱柱(5 μm , 4.6nm $\times$ 250nm);流动相:乙腈,0.5% 乙酸(10:90);流速:1.0ml/min;柱温:35℃;检测波长:327nm;进样量:10 μl 。

1.2.5 公式

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000}$$

式中:X,试样中绿原酸含量,g/kg 或 g/l;c,由标准曲线求得进样溶液中的绿原酸浓度, $\mu\text{g}/\text{ml}$;

V,试样定容体积,ml;m,试样质量或体积,g 或 ml。计算结果保留 3 位有效数字。

1.2.6 方法学考察

1.2.6.1 精密度试验 取牛蒡样品溶液于进样瓶中,连续进样 6 次进行测定。

1.2.6.2 稳定性试验 将牛蒡样品溶液移入 6 只不同的进样瓶中,分别于 0、1、2、4、6、8h 进样,同时记录峰面积并计算出绿原酸含量。

1.2.6.3 重复性试验 取同一规格牛蒡研磨充分,精确称量 6 份,每份 0.5g(精确到 0.0001)。按上述样品制备方法得到样品溶液,测定每一份试样中的绿原酸含量。

1.2.6.4 回收率试验 精确称取 6 份牛蒡粉末,每份 0.5g(精确到 0.0001),分别加入绿原酸标准品 0.0038g,按以上方法制备供试液,并测定每一份样品中的绿原酸含量。

2 结果

2.1 标准曲线的绘制

以试样浓度为横坐标,峰面积分值为纵坐标绘制标准工作曲线,得到回归方程为 $Y = 24.68482X - 11.33665$, $r = 0.99989$ 。结果表明绿原酸含量在 5.0~80.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内,试样浓度与峰面积之间线性关系良好。见表 1、图 1。

表 1 绿原酸标准曲线测定结果

序号	浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	峰面积
1	5.0	112.08745
2	10.0	235.51155
3	20.0	482.35975
4	40.0	976.05615
5	80.0	1963.44895

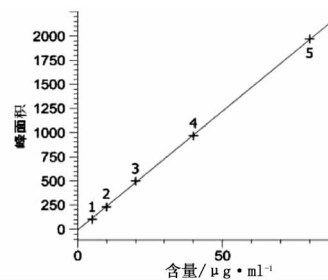
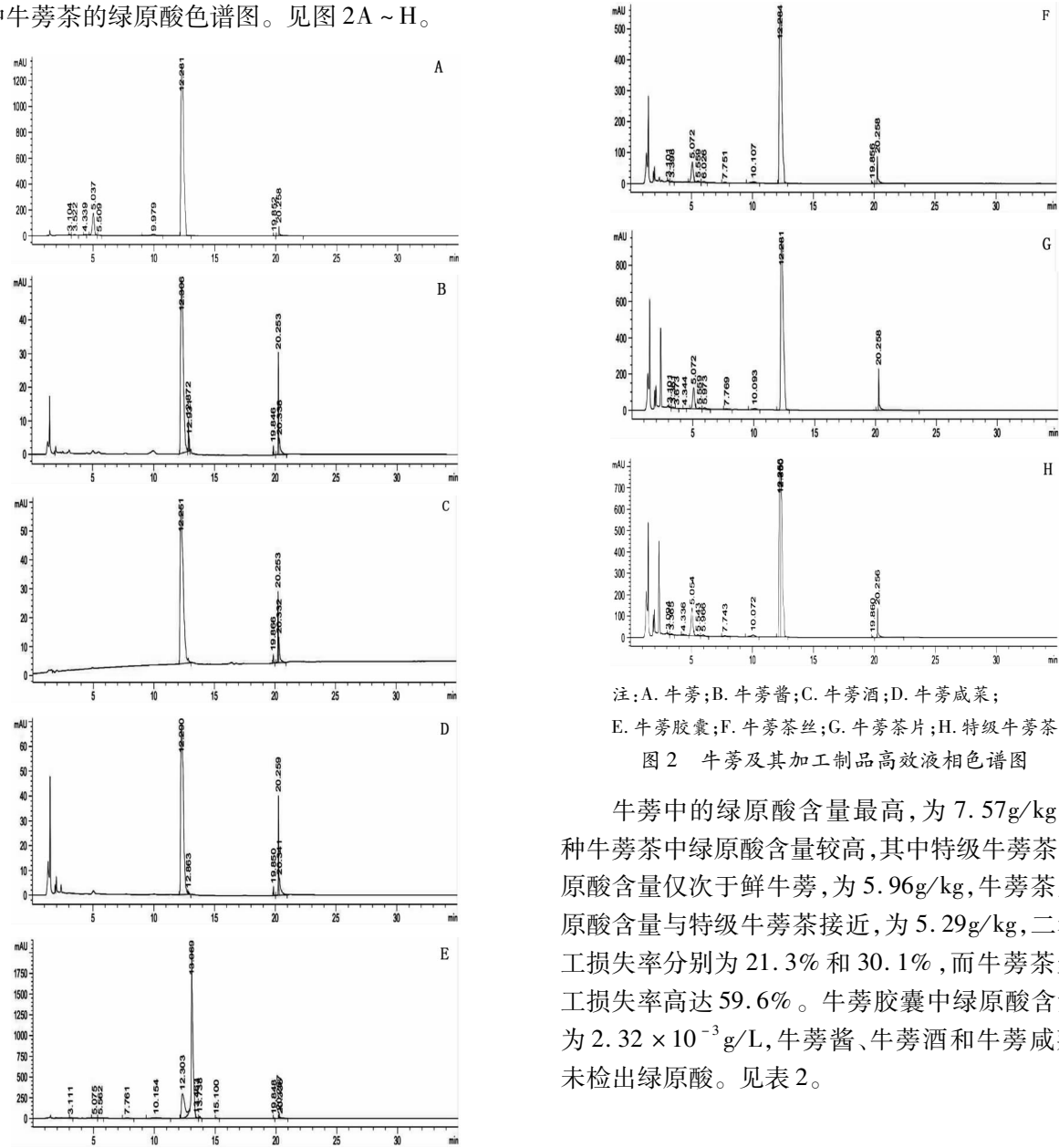


图 1 绿原酸标准曲线

2.2 样品中绿原酸含量测定结果

牛蒡、牛蒡酱、牛蒡酒、牛蒡咸菜、牛蒡胶囊和

3 种牛蒡茶的绿原酸色谱图。见图 2A ~ H。



注:A.牛蒡;B.牛蒡酱;C.牛蒡酒;D.牛蒡咸菜;
E.牛蒡胶囊;F.牛蒡茶丝;G.牛蒡茶片;H.特级牛蒡茶
图2 牛蒡及其加工制品高效液相色谱图

牛蒡中的绿原酸含量最高,为 7.57g/kg。三种牛蒡茶中绿原酸含量较高,其中特级牛蒡茶的绿原酸含量仅次于鲜牛蒡,为 5.96g/kg,牛蒡茶片绿原酸含量与特级牛蒡茶接近,为 5.29g/kg,二者加工损失率分别为 21.3% 和 30.1%,而牛蒡茶丝加工损失率高达 59.6%。牛蒡胶囊中绿原酸含量仅为 2.32×10^{-3} g/L,牛蒡酱、牛蒡酒和牛蒡咸菜中未检出绿原酸。见表 2。

表 2 样品中绿原酸含量测定结果

名称	牛蒡	牛蒡酱	牛蒡酒	牛蒡咸菜	牛蒡胶囊	牛蒡茶丝	牛蒡茶片	特级牛蒡茶
峰面积/mAU · s	1857.25378	—	—	—	45.94728	743.02490	1295.29297	1459.67273
保留时间/min	5.037	5.019	5.019	5.019	5.075	5.072	5.072	5.054
浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	75.69796	—	—	—	2.32061	30.55974	52.93252	59.59166
含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 或 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	7.57	0.00	0.00	0.00	2.32×10^{-3}	3.06	5.29	5.96

2.3 方法学试验结果

2.3.1 精密度试验结果 由精密度试验结果可以看出,RSD 为 0.66%,表明仪器检测系统的精密度良好。见表 3。

2.3.2 稳定性试验结果 根据稳定性试验结果可以看出,RSD 为 1.06%,表明样品溶液在 8h 内稳定性好。见表 4。

2.3.3 重复性试验结果 重复性试验结果见表

5, RSD 为 0.72%, 表明该法的重现性较好。

表 3 精密度试验结果

序号	峰面积/mAU · s	浓度/μg · ml ⁻¹	含量/g · kg ⁻¹	RSD/%
1	1857.25378	75.69796	7.57	0.66
2	1864.00391	75.97141	7.60	
3	1845.88724	75.23749	7.52	
4	1869.58372	76.19745	7.62	
5	1837.06105	74.87993	7.49	
6	1862.00836	75.89057	7.59	

表 4 稳定性试验结果

序号	时间/h	峰面积/mAU · s	浓度/μg · ml ⁻¹	含量/g · kg ⁻¹	RSD/%
1	0	1857.25378	75.69796	7.57	1.06
2	1	1845.96102	75.24048	7.52	
3	2	1831.28075	74.64577	7.46	
4	4	1822.69413	74.29792	7.43	
5	6	1816.71935	74.05588	7.41	
6	8	1802.64239	73.48561	7.35	

表 5 重复性试验结果

序号	取样量/g	峰面积/mAU · s	浓度/μg · ml ⁻¹	含量/g · kg ⁻¹	RSD/%
1	0.5003	1861.10935	75.85415	7.58	0.72
2	0.5001	1843.27446	75.13164	7.51	
3	0.5002	1855.35792	75.62115	7.56	
4	0.5000	1839.87241	74.99382	7.50	
5	0.5004	1846.35077	75.25627	7.52	
6	0.5002	1822.48139	74.28930	7.43	

2.3.4 回收率试验结果 上一步已测得绿原酸含量为 3.76mg, 计算加标回收率, 结果见表 6。由表中数据可知, 平均回收率为 99.2%, RSD 为 1.14%, 表明该法的回收率良好。

表 6 回收率试验结果

序号	取样量/g	含量/mg	对照品加入量/g	总含量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.5003	3.79	0.0038	7.62	100.7	99.2	1.14
2	0.5001	3.76	0.0038	7.51	98.8		
3	0.5002	3.78	0.0038	7.57	99.7		
4	0.5000	3.75	0.0038	7.53	99.5		
5	0.5004	3.76	0.0038	7.46	97.3		
6	0.5002	3.71	0.0038	7.49	99.4		

本试验方法操作简单, 准确度高, 重现性好, 可用于牛蒡及其制品中绿原酸含量的测定。经测定发现牛蒡中绿原酸含量最高, 各种加工制品中绿原酸含量均有损失。

3 讨论

本文发现牛蒡中绿原酸含量最高, 各种加工方式都会造成绿原酸含量的损失, 温度对绿原酸损失率影响较大^[10]。牛蒡茶制品相较于其他牛蒡制品绿原酸损失较少, 是由于加工工艺简单, 加工温度较低, 因此能较大程度保留其中的绿原酸。本试验选取了三种市售牛蒡茶, 其中牛蒡茶丝和牛蒡茶片仅外观不同, 加工均采取分割后干燥处理。同等处理条件下, 丝状比片状更易升温失水, 里面的活性成分更易受温度影响而发生变化, 因此, 绿原酸损失率更大。特级牛蒡茶采用发酵工艺, 严格的温度控制最大程度地保留了里面的活性成分, 同时在微生物和酶的共同作用下可能会促进绿原酸生成, 可通过进一步试验进行验证。牛蒡胶囊中绿原酸含量为 2.32 × 10⁻³g/L, 因为在加工时需经过高温提取、蒸馏浓缩等一系列过程, 绿原酸遭到了破坏。牛蒡酱和牛蒡咸菜在熟制过程中, 经热油加热至 150℃ 以上的高温, 造成绿原酸大量损失。牛蒡酒经发酵、蒸馏、酿制而成, 长时间的高温会破坏绿原酸。因此, 在牛蒡加工时应尽可能采用较低的温度, 并减少受热时间, 以避免绿原酸大量损失。目前市面上许多主打保健功能的牛蒡制品, 其功效到底如何, 有待进一步商榷。

参考文献:

[1] 窦培元, 栾晓宁, 朱连连, 等. 牛蒡根中有效成分的含量测定[J]. 山西中医学院学报, 2018, 19(4): 30-33.

[2] 张嫒, 李爽, 万国福, 等. 响应面法优化牛蒡中绿原酸提取分离条件[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(24): 32-36. DOI: 10.3969/j.issn.1005-6521.2017.24.007.

[3] 朱连连, 栾晓宁, 窦德强. 牛蒡根固体茶制剂中功能性成分含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 66-69. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2019.02.017.

[4] Hou B, Wang WC, Gao H, et al. Effects of aqueous extract of *Arctium lappa* L. roots on serum lipid metabolism [J]. J Int Med Res, 2018, 46(1): 158-167. DOI: 10.1177/0300060517716341.

[5] Chen WC, Hsu YJ, Lee MC, et al. Effect of burdock ex-

- tract on physical performance and physiological fatigue in mice[J]. J Vet Med Sci, 2017, 79(10):1698-1706. DOI:10.1292/jvms.17-0345.
- [6] Hwang SH, Paek JH, Lim SS. Simultaneous ultra performance liquid chromatography determination and antioxidant activity of linarin, luteolin, chlorogenic acid and apigenin in different parts of compositae species[J]. Molecules, 2016, 21(11):E1609. DOI:10.3390/molecules21111609.
- [7] 王玲娜, 姚佳欢, 马超美. 绿原酸的研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(11):1121-1130. DOI:10.3969/j.issn.1673-1689.2017.11.001.
- [8] Lee D, Kim CY. Influence of roasting treatment on the antioxidant activities and color of burdock root tea[J]. Prev Nutr Food Sci, 2017, 22(1):21-29. DOI:10.3746/pnf.2017.22.1.21.
- [9] Cao TL, Yang SY, Song KB. Development of burdock root Inulin/Chitosan blend films containing oregano and thyme essential oils[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1):E131. DOI:10.3390/ijms19010131.
- [10] 张爱丽, 刘德军, 苟琼心. 银翘解毒丸制备工艺中绿原酸转移率的影响因素研究[J]. 药物评价研究, 2016, 39(1):92-96. DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2016.01.017.
- (收稿日期 2019-03-11)
(本文编辑:石俊强)

·····
(上接第 107 页)

- [6] 郭玉芳, 张娜, 张静平. 独生与非独生护生积极心理品质及其影响因素的比较[J]. 解放军护理杂志, 2016, 33(21):11-15, 20. DOI:10.3969/j.issn.1008-9993.2016.21.003.
- [7] 戴晓阳. 常用心理评估量表手册[M]. 北京:人民军医出版社, 2010:13-16.
- [8] 周海茸, 洪忻, 王志勇, 等. 南京中学生健康危险行为与抑郁症状关系[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(1):49-52. DOI:10.11847/zgggws2015-31-01-15.
- [9] 方栓锋, 经承学, 王琳琳. 独生子女与非独生子女心理健康状况分析[J]. 临床合理用药杂志, 2010, 3(10):49-50. DOI:10.3969/j.issn.1674-3296.2010.10.022.
- [10] 张晓娟. 儿童青少年心理健康状况及其影响因素[J]. 中国健康心理学杂志, 2013, 21(6):959-961.
- [11] 雍那, 任玉玲, 王春元, 等. 南充市中学生心理健康状况调查[J]. 中国健康心理学杂志, 2018, 26(10):1592-1597. DOI:10.13342/j.cnki.cjhp.2018.10.040.
- [12] 刘振红, 苏便苓, 李拥军, 等. 农村高中独生女与非独生女个性与心理健康分析[J]. 中国健康心理学杂志, 2011, 19(3):336-338.
- [13] 张晓娟, 芦珊, 刘松涛, 等. 不同年龄段青少年同胞关系的调查[J]. 中国健康心理学杂志, 2018, 26(2):305-308. DOI:10.13342/j.cnki.cjhp.2018.02.037.
- [14] 苏林雁. 同胞竞争障碍的诊治与预防[J]. 中国儿童保健杂志, 2017, 25(3):221-222, 226. DOI:10.11852/zgetbjzz2017-25-03-02.
- (收稿日期 2019-02-10)
(本文编辑:甘慧敏)
-

· 简讯 ·

《济宁医学院学报》影响因子创历史新高

据 2018 年中国科技期刊引证报告统计结果显示:《济宁医学院学报》影响因子 0.849;中国学术期刊影响因子年报也显示:《济宁医学院学报》0.595, 期刊影响力指数 197.34。

万方数据及知网两家权威数据库期刊评价结果均显示:《济宁医学院学报》的多项期刊评价指标连续 9 年不断攀升, 2018 年创历史新高。

本刊编辑部