

# 不同年限人参中水溶性蛋白含量的比较<sup>△</sup>

白雪媛\*, 赵雨#, 张惠, 王思明, 李晓华(长春中医药大学, 长春 130117)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1779-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.18

**摘要** 目的:比较不同年限人参中水溶性蛋白的含量,以鉴别人参质量的年限差异。方法:选取吉林省抚松县同一产地、不同年限的4批人参,应用Bradford蛋白质定量试剂盒测定水溶性蛋白含量,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法获得水溶性蛋白的电泳胶片,通过凝胶成像软件将胶片转化成含量-比移值图谱,累积叠加不同年限人参的图谱,比较分析不同条带的含量变化情况。结果:不同年限人参中水溶性蛋白的SDS-PAGE谱带条数无明显差异,主要谱带为9条,但因含量的不同而引起的谱带指纹信息差异较大。结论:人参中水溶性蛋白的含量在不同年限间存在差异,以4年生含量最低,5~7年生没有明显差异。

**关键词** 人参;生长年限;水溶性蛋白;含量;十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法

## Comparison of Water-soluble Protein Content in *Panax ginseng* from Different Years

BAI Xue-yuan, ZHAO Yu, ZHANG Hui, WANG Si-ming, LI Xiao-hua (Changchun University of TCM, Changchun 130117, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To compare the content of water-soluble protein in *Panax ginseng* of different years, and to identify the quality of *P. ginseng* with the different years. **METHODS:** 4 batches of *P. ginseng* of different year from Fusong county of Changbai mountain area were selected, and the content of water-soluble protein was determined by Bradford quantitative kit; we get the electrophoresis spectrum about water-soluble protein of *P. ginseng* with SDS-PAGE. The electrophoresis spectrum was transformed into concentration-R<sub>f</sub> spectrum through the gel imaging software; the spectrums of water-soluble protein in *P. ginseng* from different years were superimposed, and the concentrations of different bands were compared. **RESULTS:** There was no significant difference in SDS-PAGE bands of water-soluble protein in *P. ginseng* of different years. There were 9 main absorption peak, and the number of absorption peaks are similar, but the different of fingerprint was great among different concentrations. **CONCLUSIONS:** The contents of water-soluble protein are different in *P. ginseng* of different years; the content of 4 years is the least, and the content of 5-7 years haven't the obvious differences.

**KEY WORDS** *Panax ginseng*; Different years; Water-soluble protein; Content; SDS-PAGE

得醇质体粒径均匀,包封率较高,可为黄芩苷二元醇质体的制备提供参考。

### 参考文献

- [1] 蔡薇薇,孟建伟,寇红云,等.黄芩治疗糖尿病并发症机制研究进展[J].中国药房,2008,19(12):947.
- [2] 初正云,初明,滕宇.黄芩苷体内抗流感病毒作用[J].中国中药杂志,2007,32(22):2 413.
- [3] 汤立建,赵良才,李庆林,等.黄芩黄酮类成分抗肿瘤作用及机制研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(1):21.
- [4] 郑加嘉,曾繁涛.黄芩苷对脑组织缺血模型大鼠神经营养因子含量的影响[J].中国药房,2006,17(13):9 771.
- [5] 曾昭,王小丽.苦参碱醇质体的制备[J].中国组织工程研

究与临床康复,2008,41(12):8 107.

- [6] 聂继红,王萍,孙蕾,等.黄芩中黄芩苷提取工艺的研究[J].中国药房,2005,16(14):1 051.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:282.
- [8] Zhou Y, Wei YH, Liu HX, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of ethosomal total alkaloids of *Sophora alopecuroides* loaded by a transmembrane pH-gradient method [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2010, 11(3):1 350.
- [9] 王军,何文.酮洛芬二元醇质体凝胶的研制及其质量考察[J].中国药师,2012,15(6):780.

(收稿日期:2012-12-19 修回日期:2013-03-25)

<sup>△</sup> 基金项目:国家科技重大专项课题资助(No.2011ZX09401-305); 国家科技支撑计划资助课题(No.2012BAI29B05);吉林省医药产业发展专项资金项目(No.YYZX201134)

\* 助理研究员,硕士。研究方向:中药有效成分研发及产品开发。电话:0431-81660061。E-mail:baixy1212@163.com

# 通信作者:研究员,博士。研究方向:中药有效成分研发及产品开发。电话:0431-86172300。E-mail:cnzhaoyu@yahoo.com.cn

## 本栏目协办

### 江阴天江药业有限公司

地址:江苏省江阴市经济开发区秦望山路8号 电话:400 066 9211  
传真:0510-86409611 网址: <http://www.tianjiang.com>

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer.)为五加科草本植物,性平,味甘、微苦,归脾、肺、心经,具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津、安神的功效<sup>[1]</sup>。人参作为吉林省道地药材,近年来的种植规模不断扩大。吉林省作为人参的主产区,每年鲜参产量近2 000万吨。因此,如何控制人参药材的质量是一个重要研究课题。笔者对吉林省人参产区抚松县2011年采收的4~7年生人参进行了水溶性蛋白含量分析,拟为人参药材的质量控制提供一定的理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Quixstand中空纤维过滤系统、EPS301电泳仪、SE260垂直板电泳槽(美国GE公司);Dolphin-1D凝胶图像分析系统(美国Wealtec公司);DS-1高速组织捣碎机(上海标本模型厂);AL204电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);GS-6R台式大容量冷冻离心机(德国Beckman公司);Minispin高速离心机(德国Eppendorf公司);LL3000冷冻干燥机(德国Heto公司)。

### 1.2 试剂

过硫酸铵(Ammonium persulfate,纯度:98.6%)、甘氨酸(Glycine,纯度:95%)、甲叉双丙烯酰胺(*N,N'*-Methylene bisacrylamide,纯度:99%)、三羟甲基氨基甲烷(Tris,纯度:98%)、丙烯酰胺(Acrylamide,纯度:98%)、溴酚蓝(Bromophenol blue,纯度:98%)均购于美国Amresaco公司;十二烷基硫酸钠(SDS,纯度:99%)、甘油(Glycerol,纯度:98%)、四甲基乙二胺(TEMED,纯度:97.5%)、 $\beta$ -巯基乙醇( $\beta$ -Mercaptoethanol,纯度:97.8%)、考马斯亮蓝R<sub>250</sub>(Coomassie brilliant blue R<sub>250</sub>,纯度:95%)均购于德国Sigma公司;低分子量标准蛋白质(包括6种标准蛋白,分子质量分别为97 400Da、66 200Da、43 000Da、31 000Da、20 100Da、14 400Da,纯度均为99%)购于中国科学院上海生物化学研究所;其他试剂均为分析纯。

### 1.3 药材

试验用4~7年生人参于2011年采自吉林抚松县,经长春中医药大学生药教研室王哲副教授鉴定均为真品,共4批次。

## 2 方法

### 2.1 样品制备

将4批鲜品人参样品洗净,用滤纸吸干表面水分,分别称质量(每批样品至少取3根人参),匀浆,按料液比1:10(*m/V*)加入10 mmol/L pH 7.4的Tris-HCl缓冲液,4℃浸提20 h,浸提液以4 000 r/min低温离心30 min,取上清液,用0.45  $\mu$ m中空纤维膜过滤系统进行微滤,滤液再用膜孔径10 kDa的中空纤维膜过滤系统进行超滤,截留分子质量>10 kDa的成分,冷冻干燥,即得人参水溶性蛋白冻干品,-20℃冰箱贮藏,备用。

### 2.2 水溶性蛋白的含量测定

应用Bradford蛋白质定量试剂盒对4批样品中的水溶性蛋白进行含量测定,测定方法见试剂盒使用说明书。

### 2.3 电泳试验

采用垂直板SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)法进行试

验。浓缩胶质量分数为5%,分离胶质量分数为10%,电极缓冲液为Tris-甘氨酸,4批样品均按同样鲜质量称取水溶性蛋白冻干品(约1.0 mg)后等体积溶解,以溴酚蓝作指示剂,每孔加样20  $\mu$ l,每板恒流15 mA进行电泳。电泳结束后用考马斯亮蓝R<sub>250</sub>染色,然后用脱色液(甲酸:冰醋酸:蒸馏水=4.5:4.5:1,*V/V/V*)脱色至胶片背景清晰。

### 2.4 数据分析

采用Origin7.5软件对数据图谱进行叠加分析。

## 3 结果

### 3.1 不同年限人参中水溶性蛋白含量的常规计算

4批不同年限人参中水溶性蛋白总含量的测定结果见表1。根据表1结果,可以把不同年限人参中水溶性蛋白总含量划分为两个区段:一区段为4年生人参,二区段为5~7年生人参。4年生人参中水溶性蛋白总含量明显低于5~7年生人参;5~7年生人参中水溶性蛋白总含量与4年生相比高约40%,且彼此间没有明显差别。不同年限人参中水溶性蛋白总含量散点图见图1。

表1 不同年限人参中水溶性蛋白总含量的测定结果

Tab 1 The total contents of protein in *P. ginseng* of different years

年限	总蛋白含量, $\mu$ g/mg
4年	0.392
5年	0.577
6年	0.576
7年	0.567

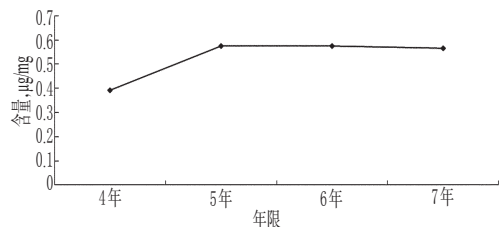


图1 不同年限人参中水溶性蛋白总含量散点图

Fig 1 The scatter plot of the total contents of protein in *P. ginseng* of different years

### 3.2 不同年限人参中水溶性蛋白含量的凝胶成像分析

不同年限人参中水溶性蛋白的SDS-PAGE图见图2。通过Dolphin-1D凝胶成像分析系统对电泳图进行分析,得到指纹图谱后再经Origin7.5软件生成各泳道的指纹图谱叠加图[含量-比移值( $R_f$ )图谱],详见图3。

由电泳结果可知,不同年限人参中水溶性蛋白谱带条数无明显差别,均显示13条谱带;但在含量上差异较大,水溶性蛋白相对分子质量主要分布在9 300~86 000 Da之间。

由图3可见,不同年限人参中水溶性蛋白指纹图谱的叠加图主要显示出9个蛋白条带峰,根据 $R_f$ 可将其分为四个区段: I区, $R_f$ 在0~0.3之间,仅见1号、2号蛋白条带峰,且为弱峰; II区, $R_f$ 在0.3~0.5之间,可见3号、4号蛋白条带峰,均为强峰且以肩峰形式存在; III区, $R_f$ 在0.5~0.85之间,可见5号、6号、7号、8号蛋白条带峰,其中5号、6号条带峰较强且为所有条带

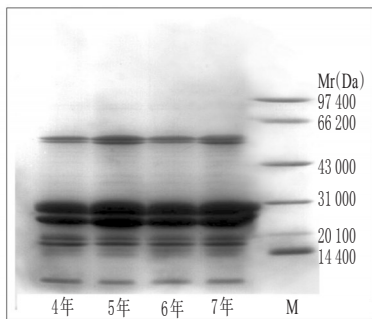


图2 不同年限人参中水溶性蛋白的SDS-PAGE图

Fig 2 SDS-PAGE electrophoresis of water-soluble protein in *P. ginseng* of different years

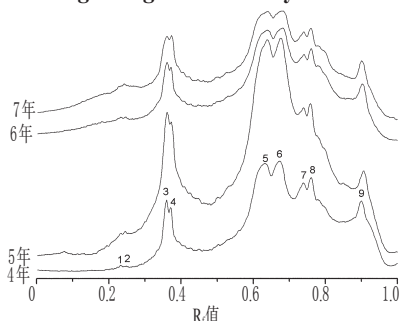


图3 不同年限人参中水溶性蛋白的指纹图谱叠加图

Fig 3 Fingerprint overlay plot of water-soluble protein in *P. ginseng* of different years

峰中最强峰,7号、8号条带峰较弱且以肩峰形式存在;IV区, $R_f$ 在0.85~1.0之间,可见9号蛋白条带的强峰。

不同年限人参中水溶性蛋白含量差异较大,但从蛋白条带指纹图谱的峰形上大致可以划分为两类:第一类为4年生人参,其蛋白条带含量均较低;第二类为5~7年生人参,其蛋白条带含量较高,以3号、4号、5号、6号和9号条带最为明显。

#### 4 讨论

SDS-PAGE法作为一种经典技术,因其方法简单、分辨率较高、重现性较好,在蛋白质研究中被广泛应用。本试验采用SDS-PAGE法对同一产地不同年限的4批人参药材进行了研究,并通过凝胶成像分析系统和Origin7.5软件,将电泳胶片生

成更直观的含量-R<sub>f</sub>图谱形式,导出重要的技术参数,提供了更可靠的分析依据来衡量人参中水溶性蛋白的含量变化情况,可代替对样品进行蛋白含量测定的烦琐试验,具有耗时短、速度快、无物质干扰、结果准确等优点。

该试验结果与常规方法的计算结果基本一致,并且能概括出常规方法中所无法体现的其他重要信息。同一产地不同年限人参中含有9种水溶性蛋白,但各样品间蛋白含量却不完全相同,呈现出不规则变化趋势。其中,5年生人参的水溶性蛋白含量与4年生相比有一个飞跃,含量增高了近40%,包括9种水溶性蛋白的含量都有明显的增高,以5号和6号条带最为明显。而5~7年生人参中水溶性蛋白含量差别较小。

人参蛋白的种类和含量是基因表达的结果,蛋白含量的高低可间接反映样品的年限差异。通过对水溶性蛋白的检测分析以及其他文献的综合报道<sup>[2-6]</sup>,建议采收5年及5年以上生长期的人参。

本试验对进一步推动人参产业的发展和人参系列产品质量的提高等具有一定意义。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:8.
- [2] 石楸鸣.人参皂苷的药理作用研究进展[J].中国药房,2010,21(31):2967.
- [3] 李红艳,赵雨,张鑫,等.不同产地、不同生长年限人参SOD的比较[J].中国医院药学杂志,2010,30(12):994.
- [4] 邢楠楠,赵雨,刘宏,等.不同产地、不同年限人参中淀粉酶、酯酶、酸性磷酸酯酶的活力比较[J].中国现代应用药学,2011,28(1):44.
- [5] 刘宏,赵雨,邢楠楠,等.不同产地、不同年限人参中3种同工酶活力比较[J].中国医院药学杂志,2011,31(14):1149.
- [6] 白雪媛,赵雨,刘海龙,等.不同品种和年限人参中糖类含量比较研究[J].安徽农业科学,2012,40(1):52.

(收稿日期:2012-06-13 修回日期:2012-07-12)

## 国家食品药品监督管理总局局长张勇赴中国食品药品检定研究院调研

本刊讯 2013年4月2日,国家食品药品监督管理总局局长张勇赴中国食品药品检定研究院(以下简称“中检院”)调研。他先后来到食品化妆品检定所、中药标本馆,与科研人员进行座谈,详细了解检验检测设施和技术手段,认真听取大家的意见和建议。他指出,中检院是在我国食品药品检验检测、科研教学领域具有影响力的权威机构,尤其是保证药品质量可靠和安全的重要科技屏障。这些年来,中检院各项建设步伐加快,能力显著提升,为食品药品监管工作提供了有力技术支撑,发挥了重要作用。

张勇强调,我国正处在工业化、信息化、城镇化和农业现代化深入发展阶段,食品安全风险复杂多样,未知风险、衍生风险交织并存;人民群众对药品的安全性、有效性有了更高的

期待。必须充分发挥科技支撑作用,依靠科技创新提升食品药品安全监管能力和保障水平。中检院具有人才、技术、资源优势,要抓住食品药品监管体制改革的有利契机,以加强自身能力建设为重点,不断创新管理、完善机制,提高管理的科学化、规范化水平。要以服务公众健康和提高政府监管能力为己任,不断创新检验检测技术,着力解决监管实践中遇到的技术难题。要坚持科技强安、人才兴安,注重引进优秀人才,培养专业技术人才,建设一支高素质的检验检测技术队伍。要充分发挥中检院的带动、引领和示范作用,加强对系统的业务指导和技术帮扶,加快形成贴近需求、服务监管、体系完善、结构合理、功能强大、资源共享的技术支撑体系,捍卫人民群众的饮食用药安全。