

中药工业

三七总皂苷超声波提取工艺研究[△]丁艳芬^{1,2,3*}, 陈金东^{1,2}, 黎福南^{1,2,4}, 杨崇仁^{1,2,4}, 李海舟³

(1. 云南维和药业股份有限公司, 云南 昆明 653100;

2. 云南省植物提取物工程研究中心, 云南 昆明 653100; 3. 昆明理工大学, 云南 昆明 650093; 4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 653100)

摘要 目的: 优化三七中三七总皂苷的超声波提取工艺。方法: 采用高效液相色谱法, 以提取物中三七总皂苷含量和收率为考察指标, 应用正交试验法对提取工艺进行优化。结果: 以 75 % 的乙醇为提取溶剂, 超声波高频(50 kHz) 提取 4 次, 每次 30 min, 提取温度 40 ℃, 经纯化后三七总皂苷(以 R_1 、 R_{G_1} 、 R_{B_1} 、 R_e 、 R_d 的总含量计) 达 80 % 以上, 提取物收率达到 12 % 以上。结论: 该工艺简便易行, 提取率高, 生产成本低, 适合工业生产。

关键词 三七总皂苷; 提取工艺; 高效液相; 正交试验

三七总皂苷(notoginseng saponins, PNS) 是中药三七的主要生理活性物质, 由人参皂苷 R_{G_1} 、 R_{B_1} 、 R_e 、 R_d 和三七皂苷 R_1 等达玛烷型四环三萜配糖体按一定的比例组成^[1], 是生产血塞通和血栓通等中成药和天然药物的原料^[2]。《中国药典》2010 年版规定 PNS 是用 70 % 乙醇提取三七的地下部分(包括根或根茎), 经大孔树脂柱层析处理, 脱色, 精制, 干燥即得^[3]。由于对提取和精制工艺的具体操作过程没有统一的规范, 导致各单位生产的 PNS 的含量、组成、颜色等均不同, 影响终端产品的质量。按《中国药典》规定的制备方法, 进一步优化提取单元, 优选技术参数, 才能保证产品质量的稳定性。近年, 化工工程技术单元不断改进, 新技术的引入与推广为植物提取开拓了新的领域, 也为中药提取技术的现代化提供了基础。应用现代植物提取工程技术, 建立高效、低能耗、低成本的生产工艺, 保证产品质量。本试验采用正交试验法优选 PNS 的超声波提取工艺参数, 为工业化生产提供指导意义的基础数据。

1 材料、试剂与仪器

1.1 材料与试剂

三七剪口采集于文山三七种植基地, 经中国科学院昆明植物研究所杨崇仁研究员鉴定, 粉碎至 3 mm。三七总皂苷(PNS) 对照品(购于中国生物制品检定所, 5 个主要皂苷成分的比例为 R_1 - R_{G_1} - R_e - R_{B_1} - R_d = 7:30:4:30:7)。提取用乙醇符合药用要求,

甲醇为色谱纯, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

提取设备: GDC-TG-ZS-4 型超声波提取仪(金百特工程机械公司); 旋转蒸发器; 喷雾干燥仪; 离心分离机; DM-430 大孔吸附树脂(山东鲁抗)。

分析设备: 高效液相色谱仪(Agilent 1200 型); ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。

2 方法

2.1 正交试验

2.1.1 因素和水平 选择提取时间(A)、提取温度(B)、提取次数(C)等 3 个因素, 设计 3 个水平, 选用 $L_9(3^3)$ 正交表。正交试验设计见表 1。

表 1 正交试验考察因素及水平

水平	A 提取次数/次	B 提取时间/min	C 提取温度/℃
1	2	30	40
2	3	45	50
3	4	60	60

2.1.2 正交试验与 PNS 的提取 取三七剪口 9 份, 每份 5 kg, 加入 5 倍量的 75 % 的乙醇浸泡 1 h(浸泡转速 $15 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 后, 超声波高频(50 kHz) 提取(提取转速 $25 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)。提取液经浓缩、澄清、离心、纯化、喷雾干燥, 即得 PNS。以提取物中人参皂苷 R_{G_1} 、 R_{B_1} 、 R_e 、 R_d , 以及三七皂苷 R_1 的总含

[△] 基金项目 云南省玉溪市党政“一把手”科技工程【2008】17 号——中药制药现代化工程技术研究及产业化(2009-2-16)
通讯作者 * 丁艳芬, Tel: (0877) 2666755, E-mail: waj20050212@sina.com

量(按《中国药典》2010 年版三七总皂苷项下检测)和收率(总皂苷量/投料量 $\times 100\%$)为考察指标,进行分析总结。

3 结果

表 2 为正交试验结果,若以提取率为考察指标,应选择的最佳工艺参数是 $A_3B_2C_3$,即提取 4 次,每次 45 min,提取温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 。按此条件,PNS 的收率是 13.46%,5 个单体皂苷的含量是 86.9%。若以含量为考察指标,则应该选择的最佳工艺参数是 $A_2B_2C_1$,即提取 3 次,每次 45 min,提取温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 。按此条件,PNS 的收率为 13.03%,5 个单体皂苷的含量为 84.9%。

为找到提取率和含量二者之间的最佳切合点,进行了方差分析,结果如表 3 和表 4。由表 3 可知,若以提取率为考察指标,则 A 是显著因素,B 和 C 因素为不显著因素。由表 4 可知,若以含量为考察指标,则 A、B、C 均不是显著因素。综合考虑到能耗、时间等成本因素,选定最佳提取工艺条件为 $A_3B_1C_1$,即提取 4 次,每次 30 min,提取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

表 2 正交试验结果

序号	A	B	C	D	收率/%	含量/%
1	1	1	1	1	11.31	84.0
2	1	2	2	2	11.88	83.2
3	1	3	3	3	12.03	83.0
4	2	1	3	3	12.78	84.2
5	2	2	1	1	13.03	84.9
6	2	3	2	2	12.78	84.3
7	3	1	2	2	13.29	84.3
8	3	2	3	3	13.46	86.9
9	3	3	1	1	13.19	81.8
收率	K_1	35.22	37.38	37.55	37.53	
	K_2	38.59	38.37	37.85	37.95	
	K_3	39.94	38.00	38.35	38.27	
	R	4.72	0.99	0.78	0.75	
	s_j	3.92	0.17	0.10	0.09	
含量	K_1	250.20	252.50	255.20	250.70	
	K_2	253.40	255.00	249.20	251.80	
	K_3	253.00	249.10	252.20	254.10	
	R	3.21	5.91	6.0	3.39	
	s_j	2.03	5.87	6.00	2.00	

表 3 提取率方差分析表

变异来源	离均差平方和	均方	F	P
A	3.92	1.96	39.20	>0.05
B	0.17	0.09	1.80	<0.05
C	0.10	0.05	1.00	<0.05
误差	0.09	0.05		
总计	4.28			

注: (1) $n=2$, (2) $F_{0.05}(2, 2) = 19$

表 4 含量方差分析表

变异来源	离均差平方和	均方	F	P
A	2.03	1.02	1.02	<0.05
B	5.87	2.94	2.94	<0.05
C	6.00	3	3.00	<0.05
误差	2.00	1		
总计	15.90			

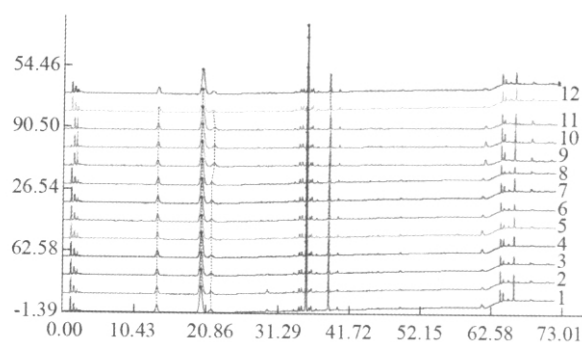
注: (1) $n=2$, (2) $F_{0.05}(2, 2) = 19$

4 验证实验

以正交试验得到的优化参数,即取三七剪口 5 kg,加入 5 倍量的 75% 的乙醇浸泡 1 h(浸泡转速 15 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)后,超声波高频(50 kHz)提取(提取转速 25 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),提取 4 次,每次 30 min,提取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,提取液经浓缩、澄清、离心、纯化、喷雾干燥,平行进行 3 个批次的验证实验,验证实验结果见表 5。指纹图谱见图 1。

表 5 验证实验结果

序号	收率	含量	指纹图谱相似度
1	12.74	81.9	>95
2	12.65	82.5	>95
3	12.58	82.5	>95



R. 对照品 1~12. 样品

图 1 三七总皂苷指纹图谱

5 讨论

超声波是频率在 20 kHz ~ 10 MHz 的声波,在超声波的作用下,产生超声空化,液体内部的空化核形成强烈的冲击波和微射流,产生聚能效应,导致液体温度升高,空化的微小气泡爆裂,产生极大的压力,促使介质细胞瞬间破碎。同时,产生界面效应和微扰效应,使介质表面积增大,促进微孔扩散,增加溶剂穿透力,提高提取效率。超声提取基于液体的空化作用,加速提取过程的分散、均化、雾化过程,避免高温对目标成分的破坏。超声波提取不仅速度快、效率高,而且室温提取节约能源,对中心

药与天然产物的提取,具有显著的优势,已得到广泛的认同。在超声波提取过程中,超声功率、频率、时间、以及超声体系等空化因素均影响超声提取的效能。因此,工艺参数的优化对于提高超声波提取的效率十分重要。

本试验在正交试验前从超声波频率、提取溶剂、原料的粒径等 3 个方面进行了对比研究,从研究结果可看出超声波频率、提取溶剂、原料的粒径对三七总皂苷的提取效率和含量均影响较大,因此,本试验最终确定超声波频率为高频,提取溶剂为 75 % 的乙醇,原料粒径为 3 mm 最优。

通过上述试验,PNS 超声波提取的优化工艺为:取三七剪口粉碎成 3 mm,加入 5 倍量的 75 % 的乙醇浸泡 1 h 后,开启超声波高频(50 kHz),提取 4 次,每次 30 min,提取温度 40 °C,提取液经分离纯化后干燥,即得到 PNS。PNS 的含量以人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、R_e、R_d,以及三七皂苷 R₁ 的总量计,

达 80 % 以上,提取收率达到 12 % 以上。

试验结果表明,利用超声波的空化效应,可以加速三七药材的皂苷成分进入溶剂,大大提高提取的效应。超声波提取三七总皂苷具有显著的优势,不仅提取率高,而且缩短提取时间,降低能耗。该试验的研究结果,对规模化生产起到一定的指导意义。产业化生产时还需根据实际生产需要、设备条件、生产环境等进行适当的调整。

参考文献

- [1] 鲍建才,刘刚,丛登立. 三七的化学成分研究进展 [J]. 中成药,2006,28(2):246-253.
- [2] 张继,赵朝伟,赵睿. 三七的药理作用研究进展 [J]. 中国药业,2003,12(11):76-77.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典 [S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:369-370.

(收稿日期 2011-08-15)

The Process Engineering of Ultrasonic Extraction of Notoginseng Saponins

DING Yan-fen^{1,2,3}, CHEN Jin-dong^{1,2}, LI Fu-nan^{1,2,4}, YANG Chong-ren^{1,2,4}, LI Hai-zhou³

(1. Yunnan Weiho Pharmaceutical Company, Kunming 653100, China; 2. Yunnan Engineer Research Center of Plant Extracts, Kunming 653100, China; 3. Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China; 4. Kunming Institute of Botany, CAS, Kunming 653100, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the technical parameter of ultrasonic extraction of notoginseng saponins (PNS). **Methods:** To examine saponin yields by orthogonal design experiments and determine saponin contents by HPLC analysis. **Results:** An optimize technical parameter of ultrasonic extraction of PNS is high-frequency ultrasonic (50 kHz) with 75 % ethanol at 40 °C by extracting 30 minutes every time for four times. PNS content (total content of ginsenosides R_{g1}, R_{b1}, R_e, R_d and notoginsenoside R₁) is up to 80 % with yield above 12 %. **Conclusion:** The results show that ultrasonic extract is a suitable method for extraction of PNS and this optimize process could be used in large scale production of PNS.

[Key words] Notoginseng saponins; Ultrasonic extraction; HPLC; Orthogonal experiments

(上接第 33 页)

Study of the Optimum Harvest Time of *Schisandra chinensis*

WANG He¹, ZHAO De-wei¹, LV Xiao-qian², WANG Xiu-quan^{3,4}, LI Yan¹, YANG Guo-qing⁵

(1. Benxi Agricultural Technology Centre of Liaoning Province, Benxi 117000, China;
2. Benxi Productivity Council of Liaoning Province, Benxi 117000, China;
3. College of Chinese Medicinal Materials Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
4. Laboratory-Medicinal Plant cultivation and breeding laboratory, Changchun 130118, China;
5. Feng Du schisandra cooperative in Benxi Manchu Autonomous County, Benxi 117000, China)

[Abstract] **Objective:** Determine the optimum harvest time of *Schisandra chinensis*. **Methods:** Using drying rate experiment to study the yield of different growth periods, to determine the content of schizandrin by HPLC method in the same periods. **Results and conclusion:** From the view of content and yield, the optimum harvest time is after September 19 in Benxi Bianli and Xiaoshi, or after September 24 in Benxi Bianwai and Huanren.

[Key words] *Schisandra chinensis*; Drying rate; Schizandrin; Determination; Optimum harvest time