

动态优化方法在人参提取工艺优化中的应用

陈世涛^{1,2}, 查钦^{1,3}, 章军¹, 陈莎¹, 刘安^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医药大学, 南昌 330004;
3. 毕节市中药研究所, 贵州 毕节 551700)

[摘要] 目的:采用动态优化方法优选人参中人参皂苷提取工艺。方法:采用 HPLC 测定人参中人参皂苷 R_{g1}, 人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 的含量变化,Diamonsil RP-18e 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~7 min, 16%~18% A; 7~27 min, 18%~30% A),流速 3.0 mL·min⁻¹,柱温 35 ℃,DAD 检测波长 203 nm,进样量 20 μL。通过比较动态优化工艺与文献提取工艺所得人参提取物中浸膏得率、指标成分含量和指纹图谱的相似度,评价动态优化方法应用于人参中人参皂苷提取工艺优化的可行性。结果:动态优化提取工艺为 8 倍量 70% 乙醇提取 3 次,提取时间为第 1 次 40 min,第 2 次 20 min,第 3 次 40 min,总提取物的浸膏得率为 41.3 mg·g⁻¹。动态优化提取工艺与文献提取工艺的提取物中指标成分含量及浸膏得率的 RSD 均<5%,指纹图谱相似度为 100%,表明 2 种提取方法的提取物基本一致,但是动态优化提取工艺提取时间节约 63%,耗电量节约 60%。结论:动态优化方法可以用于人参中人参皂苷提取的工业化生产,该工艺能大幅减少提取时间,缩短生产周期,降低能耗,能够产生明显的经济价值,具有很好的应用前景。

[关键词] 动态优化法; 文献提取工艺; 人参; 人参皂苷; 提取时间
[中图分类号] R284.1; R283.6; R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)04-0043-04
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017040043

Application of Dynamic Optimization Method in Extraction Process
Optimization of Ginseng Radix et Rhizoma

CHEN Shi-tao^{1,2}, ZHA Qin^{1,3}, ZHANG Jun¹, CHEN Sha¹, LIU An^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;
3. Bijie Institute of Chinese Materia Medica, Bijie 551700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a dynamic optimization technique (DOT) method for the extraction of ginsenosides from ginseng slices. **Method:** The contents of three major ginsenosides (R_{g1}, Re and R_{b1}) were determined by HPLC. The extraction yield, contents of ginsenosides and fingerprints similarity were compared between the DOT method and literature extraction process, to evaluate the feasibility of DOT in optimizing the extraction of ginsenosides from ginseng slices. **Result:** The dynamic optimization process was extracting for thrice with 8 times by 70% ethanol, and extracting time was 40, 20, and 40 minutes in turn with a total extract yield of 41.3 mg·g⁻¹. The extract between DOT process and the literature extraction process was basically the same, but the DOT extraction method could save 63% of extraction time and 60% of power consumption. **Conclusion:** DOT extraction method can provide shorter extraction time and lower energy cost in the industrial production of ginsenosides from Ginsen Radix et Rhizoma, and it can produce obvious economic value.

[Key words] dynamic optimization method; literature extraction process; Ginseng Radix et Rhizoma; ginsenosides; extraction time

[收稿日期] 20160302(017)
[第一作者] 陈世涛, 硕士, 从事天然药物化学研究, Tel:010-64030267, E-mail:Chen_Shi_Tao@126.com
[通讯作者] * 刘安, 博士, 研究员, 从事中药化学研究, Tel:010-64030267, E-mail:la62@163.com

在中药生产过程中,为了控制提取工艺,优化提取工艺显得尤为重要,目前提取工艺优化方法有单因素考察法^[1]、正交试验法^[2]、均匀设计^[3]以及响应曲面分析法^[4]等。这些常用的提取工艺优化方法,主要关注成分提取率的考察,而忽略了提取效率,致使时间过长、效率低、能耗高。

提取工艺动态优化方法^[5]作为一种新发展的提取工艺优化方法,能同时考察成分提取率和提取效率。该工艺所得提取物与正交试验所得提取物基本一致,但能够大幅度减少提取时间,降低生产成本,在葛根芩连汤^[6]、牛蒡子^[7]、天麻^[8]、何首乌^[9]、蓝芩口服液^[10]等提取工艺优化中已得到应用。人参是百草之王,人参皂苷是其主要成分,已经被证明有多种生物活性,包括抗氧化、调节免疫、促肾生长素作用及促进肾皮质 DNA 合成^[11]。文献报道^[2]正交试验人参皂苷提取方法提取时间长达 270 min,提取时间长、能量消耗多,且在提取过程中可能促进人参皂苷的分解^[12]。而动态优化提取工艺能够明显缩短提取时间,减少耗能,可能降低皂苷类成分的分解。故本文将研究动态优化方法在人参皂苷提取中应用,以明确动态优化方法的应用优势。

1 材料

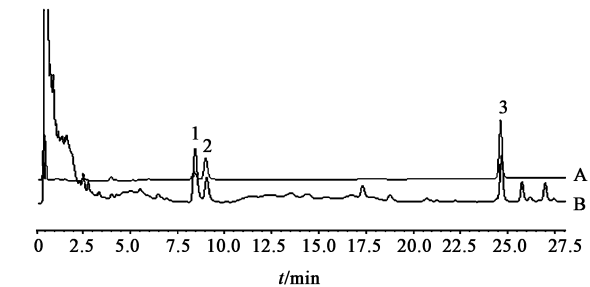
LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司, DGC-20 A 型在线脱气系统, SIL-20 A 型自动进样系统, CTO-20 A 型柱温箱, SPD-M20 A 型二极管阵列检测), BS224S-型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司), DDSF1334 型单相电子式电能表(青岛电能电度有限公司)。人参饮片购买于北京仟草中药饮片有限公司,经中国中医科学院中药研究所孙伟博士鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根;人参皂苷 R_{g₁}, Re, R_{b₁}(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110703-201027, 10754-200822, 110704-200921),乙腈为色谱纯(美国 Fisher),水为娃哈哈纯净水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 R_{g₁}, Re, R_{b₁} 的含量测定^[13]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 R_{g₁}, Re, R_{b₁} 对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.2 mg 的混合对照品溶液,摇匀,即得。

2.1.2 色谱条件 Diamonsil RP-18e 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~7 min, 16%~18% A; 7~27 min, 18%~30% A),流速 3.0 mL·min⁻¹,柱温 35℃,DAD 检测波长 203 nm,进样量 20 μL,见图 1。



A. 对照品;B. 样品;1. 人参皂苷 R_{g₁};2. 人参皂苷 Re;3. 人参皂苷 R_{b₁}

图 1 人参 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Ginseng Radix et Rhizoma

2.2 动态过程提取工艺优化 称取人参饮片 40 g,加入 8 倍量 70% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 1.5 h。每次分别在 0,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 min 时量取提取液 3 mL,每次再补足相同体积的 70% 乙醇。提取过程中采集的提取液,冷却,分别精密量取上清液 1 mL 置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液按 2.1.2 项下色谱条件测定,结果见表 1~3。表 1~3 显示第 1 次提取在 40 min 后,第 2 次提取在 20 min 后,第 3 次提取在 40 min 后,指标性成分人参皂苷 R_{g₁}, Re, R_{b₁} 峰面积的变化率基本 <5%。以每隔 10 min 峰面积的变化率 <5% 为提取终点,故确定动态优化工艺为,70% 乙醇提取 3 次,提取时间依次为 40,20,40 min。

表 1 人参第 1 次提取各时间点指标性成分的峰面积变化率

Table 1 First time to extract constituent of indexes at each time point of peak area change rate

t/min	人参皂苷 R _{g₁}		人参皂苷 Re		人参皂苷 R _{b₁}	
	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%
0	128 566	—	52 644	—	39 609	—
10	253 590	97.24	112 898	114.46	87 878	121.86
20	273 598	7.89	126 875	12.38	104 438	18.84
30	277 282	1.35	129 880	2.37	113 921	9.08
40	279 431	0.78	133 095	2.48	119 475	4.88
50	280 573	0.41	133 591	0.37	124 934	4.57
60	283 241	0.95	134 526	0.70	130 903	4.78
70	295 545	4.34	137 728	2.38	138 796	6.03
80	282 632	-4.37	133 214	-3.28	139 278	0.35
90	283 226	0.21	133 842	0.47	144 283	3.59

注:变化率=(后一次峰面积-前一次峰面积)/前一次峰面积×100%。

2.3 提取工艺比较

2.3.1 原提取工艺^[2] 称取人参饮片 313 g,加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h,趁热过滤,合并滤液,定容至 2 L。

表 2 人参第 2 次提取各时间点指标性成分的峰面积变化率

Table 2 Second time to extract constituent of indexes at each time point of peak area change rate

t/min	人参皂苷 R _{g1}		人参皂苷 Re		人参皂苷 Rb ₁	
	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%
0	16 488	—	5 754	—	9 880	—
10	20 518	24. 44	8 190	42. 34	13 534	36. 98
20	21 365	4. 13	8 549	4. 38	14 198	4. 91
30	22 378	4. 74	8 867	3. 72	14 734	3. 78
40	21 834	-2. 43	8 799	-0. 77	14 583	-1. 02
50	22 505	3. 07	9 020	2. 51	14 821	1. 63
60	22 337	-0. 75	9 235	2. 38	15 349	3. 56
70	21 083	-5. 61	9 271	0. 39	15 325	-0. 16
80	21 674	2. 80	9 616	3. 72	15 797	3. 08
90	21 420	-1. 17	9 695	0. 82	15 860	0. 40

表 3 人参第 3 次提取各时间点指标性成分的峰面积变化率

Table 3 Third time to extract constituent of indexes at each time point of peak area change rate

t/min	人参皂苷 R _{g1}		人参皂苷 Re		人参皂苷 Rb ₁	
	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%	峰面积	变化率/%
0	71 393	—	32 202	—	36 832	—
10	95 220	33. 37	41 634	29. 29	50 675	37. 58
20	97 705	2. 61	43 053	3. 41	53 774	6. 12
30	96 199	-1. 54	43 562	1. 18	55 724	3. 63
40	98 411	2. 30	43 502	-0. 14	57 513	3. 21
50	98 824	0. 42	43 507	0. 01	57 992	0. 83
60	104 406	5. 65	44 999	3. 43	61 118	5. 39
70	100 834	-3. 42	43 459	-3. 42	60 001	-1. 83
80	100 636	-0. 20	43 476	0. 04	61 117	1. 86
90	103 519	2. 86	43 041	-1. 00	62 479	2. 23

2. 3. 2 动态优化工艺 称取人参饮片 313 g, 加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 提取时间分别为 40, 20, 40 min, 趁热过滤, 合并滤液, 定容至 2 L。

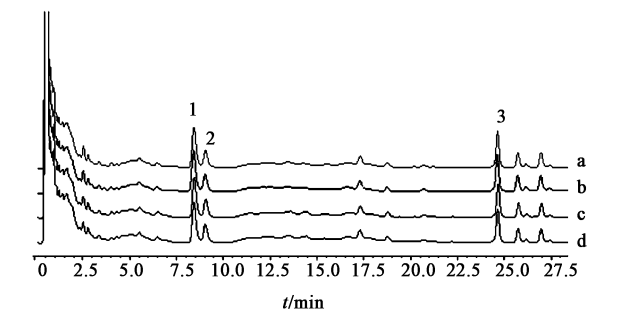
2. 3. 3 提取结果比较 精密量取上述 2 种提取液各 1 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 经 0. 45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按 2. 1. 2 项下色谱条件测定指标成分的含量, 结果见表 4; 分别精密量取上述提取液 20 mL, 置于干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于 105 ℃干燥 3 h, 干燥器中冷却 30 min 后, 迅速称定质量, 计算浸膏得率分别为 40. 2% 和 41. 3%。2 种提取工艺的人参皂苷含量和浸膏得率无显著差异。将上述色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2008A 版进行相似度分析, 见图 2。结果显示 2 种工艺提取的色谱图相似度 100%, 表明原提取工艺与动态优化提取工艺的化学成分基本一致; 采用单相电子式电能表测量电量, 对节省的电量估算见表 5, 显示动态优化工

艺比原提取工艺节省 60% 电量。

表 4 2 种人参提取工艺中指标性成分含量和浸膏得率的比较

Table 4 Comparison of contents of markers and extraction yield by two extraction process

指标性成分	质量分数/mg·g ⁻¹		RSD/%
	原提取工艺	动态优化工艺	
人参皂苷 R _{g1}	1. 84	1. 97	4. 8
人参皂苷 Re	0. 99	1. 08	6. 1
人参皂苷 Rb ₁	2. 07	2. 04	1. 1



a, b. 原提取工艺; c, d. 动态优化工艺; 1. 人参皂苷 R_{g1}; 2. 人参皂苷 Re; 3. 人参皂苷 Rb₁

图 2 人参不同提取工艺的 HPLC
Fig. 2 HPLC chromatograms of different extraction process of Ginseng Radix et Rhizoma slices

表 5 2 种人参提取工艺的参数比较

Table 5 Comparison of parameters of two extraction process

工艺	提取时间/min	耗电量/kW·h ⁻¹
原提取	270	4. 5
动态优化	100	1. 8
节约	170	2. 7

3 讨论

从原提取工艺和动态优化工艺提取结果比较可以看出, 2 种提取工艺所得 3 种指标性成分和总提取率基本一致, 2 种工艺液相色谱图相似度为 100%, 说明 2 种工艺提取效果相同, 证明动态优化方法应用于人参皂苷提取是可行的。

通过比较 2 种提取工艺参数, 表 5 显示动态优化工艺在提取时间(100 min)上较原工艺(270 min)减少了 170 min, 节约了 63%, 大幅缩短提取时间, 工业生产中能够缩短生产周期; 与原提取工艺相比, 动态优化技术提取工艺能够节约 2. 7 kW·h⁻¹ 电能, 即节省 60% 电量, 这意味着每提取 1 000 kg 人参节约 8 626 kW·h⁻¹, 节约人民币约 5 157 元, 所以该法具有很好的经济价值, 可以明显降低成本。动态优化工艺应用于中药提取, 具有很大的应用前景。

[参考文献]

[1] 陈大业,刘文,施晓伟,等. 单因素考察运脾散挥发油提取工艺研究[J]. 贵阳中医学院学报,2014,36(1): 97-98.

[2] 石丽霞,耿琍. 正交试验法筛选人参皂苷提取工艺的研究[J]. 特产研究,2006,28(2):18-21.

[3] 杨南林,瞿海斌,程翼宇. 用均匀设计和回归分析法优化黄连提取工艺[J]. 高校化学工程学报,2004,18(1):126-130.

[4] 谢宏,曹烨,刘镜,等. 人参籽粕中水溶性多糖提取工艺优化[J]. 食品工业科技,2014,35(9):249-253.

[5] 王东喆,章军,张丽艳,等. 基于动态过程的提取工艺优化方法研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(10): 1388-1391.

[6] 梅新路,章军,王跃生,等. 动态优化方法在葛根苓连汤提取工艺优化中的应用研究[C]//中国药学会. 中药与天然药高峰论坛暨第十二届全国中药和天然药物学术研讨会论文集,2012:1.

[7] 查钦,杨世林,章军,等. 动态优化方法对维 C 银翘片中牛蒡子提取时间的优化[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(21):44-46.

[8] 肖慧,王跃生,陈莎,等. 动态优化法在天麻提取工艺优化中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):35-38.

[9] 马红玉,章军,陈莎,等. 动态优化方法在何首乌提取工艺优化中应用研究[J]. 海峡药学,2015(3): 52-55.

[10] 徐浩淇,杨世林,章军,等. 动态优化方法在蓝芩口服液提取工艺优化中的应用[J]. 山地农业生物学报, 2015,34(2):43-46.

[11] LIU J, DU X H, FU F T. Prevention of membranous nephropathy through removment of reative oxygen-metabolism with ginseng saponin[J]. J Nephrol Dialysis Transplant,1995,4(1):29-32.

[12] Kim S J, Murthy H N, Hahn E J, et al. Parameters affecting the extraction of ginsenosides from the adventitious roots of ginseng[J]. Separat Purif Technol, 2007,56(3):401-406.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:9.

[责任编辑 顾雪竹]

• 46 •