

人参花中总皂苷的提取工艺优选

孙乐¹, 李春梅¹, 郭迎迎¹, 吴巍¹, 刘淑莹^{1,2*}

(1. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 长春 130117;
2. 中国科学院长春应用化学研究所 长春质谱中心, 长春 130022)

[摘要] 目的: 优选人参花中总皂苷的提取工艺条件。方法: 采用UV测定总皂苷含量, 以人参皂苷Re为指标成分, 检测波长550 nm。以总皂苷提取量为指标, 通过正交试验考察料液比、乙醇体积分数、提取时间和提取次数对人参花中总皂苷提取工艺的影响。结果: 总皂苷最佳提取工艺为料液比1:10, 乙醇体积分数80%, 提取温度85℃, 提取时间1 h, 提取数3次; 总皂苷得率18.66%。结论: 优选的提取工艺稳定、合理, 有效成分提取率高, 为人参花资源的开发利用提供参考。

[关键词] 人参花; 总皂苷; 人参皂苷Re; 提取工艺

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0021-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010021

Optimization of Extraction Process of Ginsenosides from Flowers of Ginseng Radix et Rhizoma SUN Le¹, LI Chun-mei¹, GUO Ying-ying¹, WU Wei¹, LIU Shu-ying^{1,2*} (1. Jilin Provincial Ginseng Research Institute, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of ginsenosides from flowers of Ginseng Radix et Rhizoma. **Method:** UV was adopted to determine the content of total saponins with ginsenoside Re as index ingredient and detection wavelength at 550 nm. Taking extracting amount of total saponins as index, orthogonal test was adopted to optimize extraction technology of ginsenosides with material-liquid ratio, ethanol concentration, extraction time and times as factors. The content of ginsenosides was determined by UV spectrophotometry. **Result:** Optimal extraction conditions were as follows: extracted thrice with 10 times the amount of 80% ethanol at 85℃, 1 h for each time; yield of total saponins was 18.66%. **Conclusion:** This optimized extraction process is stable and reasonable with high yield of active constituents, it can provide a reference for development and utilization of flower resource of Ginseng Radix et Rhizoma.

[Key words] Ginseng Radix et Rhizoma flowers; total saponins; ginsenoside Re; extraction process

人参花性温和, 味甘、微苦^[1], 含有20种皂苷类活性物质, 17种氨基酸, 11种微量元素, 3种抗癌活性硒及粗蛋白等, 具有补气强身、延缓衰老的作用^[2-3]。药理研究证实人参花具有增强免疫力、防止心血管疾病、提高思维能力、抑制血栓形成等活性^[4-10]。据报道, 人参花中人参总皂苷含量为人参根的5.06倍^[11-12]。在人参花中鉴定了13种皂苷类化合物^[13]。目前有关人参药材的研究较多, 但对含有丰富人参皂苷类成分的人参花蕾研究尚少。因

此, 基于人参皂苷类成分的理化性质, 筛选出一种简便、安全的提取工艺并应用于工业化生产, 对于人参花的开发应用具有重大意义。故本实验以总皂苷提取量为评价指标, 采用正交试验优选人参花的提取工艺, 为该组织的合理开发利用提供实验依据。

1 材料

TU-1810型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), FA2004A型分析天平(上海精天电子仪器有限公司), FDU-1100型冷冻干燥机(日

[收稿日期] 20140429(001)

[基金项目] 吉林省高校创新团队发展计划项目(JTD201213)

[第一作者] 孙乐, 在读硕士, 从事中药化学研究, Tel:18343005808, E-mail:18343005808@163.com

[通讯作者] *刘淑莹, 研究员, 从事中药化学和有机质谱学研究, Tel:0431-86045155, E-mail:syliu19@yahoo.com.cn

本 Eyela 仪器公司), A10 型粉碎机(德国 IKA 集团)。人参花(采于吉林抚松,经长春中医药大学王淑敏教授鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥花蕾),人参皂苷 Re 对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110754-200822),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总皂苷的含量测定^[14]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Re 对照品 1 mg,加 80% 甲醇溶解并定容至 1 mL 量瓶中,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取人参花粗粉(过 3 号筛)2 g,加 10 倍量 80% 乙醇于 85 °C 水浴加热回流提取 2 次,每次 1.5 h,合并提取液,于 60 °C 减压回收至无醇味,冻干,得人参花乙醇提取物粗品,计算提取率 35.45%。精密称取该粗品 354.3 mg(相当于生药材 1 g),加 80% 甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,精密移取该溶液 1 mL 加 80% 甲醇定容至 5 mL,即得供试品溶液。

2.1.3 线性关系考察 精密移取对照品溶液 30, 60, 90, 120, 150, 180 μL ,加入干燥具塞试管中,氮气吹干溶剂,各加入新配制的 5% 香草醛-冰乙酸溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL,于 60 °C 恒温水浴锅中加热 15 min,取出,流水冷却 2 min,各加入冰乙酸 5 mL 摇匀,随行试剂作为空白对照,于 550 nm 处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,得回归方程 $A = 0.031C - 0.031$ ($R^2 = 0.9999$),线性范围 5 ~ 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液 30 μL ,加入干燥具塞试管中,氮气吹干溶剂,按 2.1.3 项下方法处理,于 550 nm 处重复测定 6 次 A,计算 RSD 1.0%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一批样品的 6 份供试品溶液各 20 μL ,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算 RSD 2.0%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μL ,分别在 30, 60, 90, 120 min 按 2.1.3 项下方法测定 A,结果 RSD 1.7%,表明供试品溶液在 120 min 内稳定。

2.1.7 加样回收率试验 取已知含量的人参花总皂苷 100 mg 于 5 mL 量瓶中,共 6 份,各加入 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Re 对照品溶液 2 mL,加甲醇定容至刻线,按 2.1.3 项下方法测定 A,结果平均回收率 101.5%,RSD 1.9%,表明该方法测得结果准确可靠。

2.1.8 样品测定 精密移取人参花总皂苷供试品

溶液 20 μL 至干燥具塞试管中,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算人参花 1 g 可提取出人参总皂苷 182.53 mg。

2.2 提取工艺优化 称取人参花粉末(过 3 号筛) 15 g,共 9 份,于 85 °C 加热回流提取,提取前浸泡 1 h,提取液 60 °C 减压回收溶剂,冷冻干燥,得冻干粉。选择乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间及提取次数为考察因素,以总皂苷提取量为评价指标,利用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对人参花总皂苷提取量的影响顺序为 $D > C > A > B$ 。以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果显示因素 C, D 的影响具有显著性差异,因素 A 则无显著性差异,考虑到人参花粉末具有较强的吸水性和溶胀性,同时随着乙醇体积分数的降低,多糖类成分溶出量可能增加,致使过滤和减压浓缩非常困难,故确定最佳工艺条件组合 $A_3B_3C_1D_3$,即料液比 1:10,乙醇体积分数 80%,提取时间 1 h,提取数 3 次,提取温度 85 °C。

表 1 人参花中皂苷类成分醇提工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of alcohol extraction process of total saponins in flower of Ginseng Radix et Rhizoma

No.	A 乙醇 体积分数 /%	B 乙醇 用量 /倍	C 提取时间 /h	D 提取数 /次	总皂苷 提取量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	60	6	1	1	134.42
2	60	8	1.5	2	121.31
3	60	10	2	3	156.37
4	70	6	1.5	3	147.23
5	70	8	2	1	116.13
6	70	10	1	2	163.99
7	80	6	2	2	150.27
8	80	8	1	3	183.51
9	80	10	1.5	1	121.01

表 2 醇提工艺方差分析

Table 2 Variance analysis of alcohol extraction process

方差来源	SS	MS	F	P
A	311.955	155.978	4.481	>0.05
B(误差)	69.624	343.812	1.000	
C	1459.390	729.695	20.961	<0.05
D	2233.939	1116.970	32.086	<0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.3 验证试验 称取人参花粉末(过 3 号筛) 15 g,

共3份,按最佳工艺条件进行验证试验,按2.1项下方法测定,计算总皂苷提取量 $186.62\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,提取率18.66%,RSD 1.3%,说明该工艺稳定可行、重复性好。

3 讨论

多数皂苷类成分极性较大,易溶于乙醇,经预试验证实采用回流法提取人参花总皂苷时,溶剂用量少、提取过程简单、方法易行且浸提较完全,机械化程度高,适宜于大工业生产。药材粒度和提取前的浸泡对药材中有效成分的浸出具有一定意义,本文在提取前将人参药材粉碎成粗粉,于提取溶媒中浸泡12 h,让药材粗粉充分接触溶媒且促进溶媒渗透于药材粗粉细胞组织内部,以利于有效成分的浸出,提高浸提效率。

[参考文献]

[1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:38.
[2] 《中华本草》编写组. 中华本草[M]. 5版. 上海:上海科学技术出版社. 1999:830-831.
[3] 谢晓燕,肖寄平,蔡广知,等. 人参花的生药学鉴别[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(24):2130-2131.
[4] Sung K K, Ok S C, Hye M B, et al. Quantitative analysis of ginsenosides composition in flower buds of various ginseng plants[J]. J Korean Soc Appl Biol Chem, 2011, 54(1):154-157.

[5] 于永利,杨贵贞. 吉林人参花总皂甙对 NKC-IFN-IL-2 调节网的作用及其抑瘤效应[J]. 中国免疫学杂志, 1987,3(1):41-45.
[6] 邢德君,杜葵琴,孙连坤,等. 人参花蕾皂甙对失血性休克犬心、肝、肺组织 SOD 及五种金属元素含量的影响[J]. 中国病理生理杂志,1995,11(1):83-85.
[7] Shivakumar B R, Kolluri S V R, Ravindranath V. Glutathione homeostasis in brain during reperfusion following bilateral carotid artery occlusion in the rat [J]. Mol Cell Biochem,1992,111(1/2):125-129.
[8] 张丽君,吕文伟,王志,等. 人参花蕾皂苷对脑缺血-再灌注损伤大鼠的抗氧化作用及其机制[J]. 中草药, 2005,36(11):1693-1694.
[9] 林楠,钟琳琳,李娜,等. 人参花提取物抗疲劳作用的研究[J]. 长春中医药大学学报,2010,26(3):336-337.
[10] 黄俊明,李文立,杨国光,等. 人参花蕾提取物对90 d 喂养大鼠生化指标及细胞凋亡的影响[J]. 中国职业医学,2007,34(2):93-95.
[11] 杨慧洁,杨世海,庞立杰. 人参花蕾研究进展[J]. 人参研究,2013,25(1):56-57.
[12] 王艳杰. 人参花生药学及炮制配伍研究[D]. 长春中医药大学,2011.
[13] 秦波. 人参花皂甙的药理、药化及其开发研究进展[J]. 人参研究,1992(4):5-12
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.

[责任编辑 刘德文]