

党参的亚临界水提取工艺优选

张锐*, 张旭, 刘建群, 舒积成, 刘红, 陈泣

(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 优选党参的亚临界水提取工艺。方法: 以党参炔苷和党参多糖提取率的综合评分为指标, 采用单因素试验和正交试验考察料液比、提取时间和温度对党参亚临界水提取工艺的影响, 并与传统提取工艺进行比较。结果: 最佳亚临界水提取工艺为提取温度 150 ℃, 提取时间 45 min, 料液比 12 mL·g⁻¹; 党参炔苷和党参多糖的提取率分别达 0.110 2, 195.1 mg·g⁻¹。结论: 与传统水煎煮工艺相比, 优选的工艺可明显降低提取时间, 并显著提高党参炔苷和党参多糖的提取率。

[关键词] 党参; 亚临界水提取; 党参炔苷; 党参多糖; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0034-04

[doi] 10.11653/syjf2013100034

Optimization of Subcritical Water Extraction Technology of *Codonopsis tangshen*

ZHANG Rui*, ZHANG Xu, LIU Jian-qun, SHU Ji-cheng, LIU Hong, CHEN Qi
(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize subcritical water extraction technology of *Codonopsis tangshen*. **Method:** With composite score of yield of lobetyolin and polysaccharides from *C. tangshen* as index, effects of

[收稿日期] 20121127(029)

[基金项目] 江西省教育厅青年科学基金项目(GJJ11186)

[通讯作者] *张锐, 硕士, 副研究员, 从事中药制剂研究, Tel:13870071355, E-mail:work037@sohu.com

本实验证明, 吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱能较好地透过豚鼠皮肤, 单位面积累积透皮量与时间呈良好线性关系, 具有制成经皮吸收制剂的可行性。

[参考文献]

[1] 冯松杰, 陶兴, 韦政瑛. 吴茱萸粉外敷涌泉穴治疗肾性高血压 44 例[J]. 中医外治杂志, 2001, 10(1): 44.
[2] 崔瑛, 纪彬, 苗明三. 吴茱萸外用功效的探讨[J]. 北方药学, 2009, 6(4): 11.
[3] 严春临, 张季, 薛贵平. 中药吴茱萸药理作用研究概况[J]. 河北北方学院学报, 2009, 26(1): 77.
[4] 彭丽华, 刘淑芝, 郭春燕, 等. 两种巴布剂基质的体外经皮渗透性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 1.
[5] 杜茂波, 刘淑芝, 李曼玲, 等. 黄连巴布剂体外释放和透皮行为的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 969.

[6] 张蓓, 王东凯, 高红, 等. 正交试验法优化吴茱萸巴布剂的基质配方[J]. 中国药剂学杂志, 2005, 3(3): 144.
[7] 梅莹, 冯伟红, 刘淑芝, 等. 不同微乳配方对药物经皮渗透的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 1.
[8] 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: 160.
[9] 程建明, 陈新民, 彭稳稳, 等. 丹黄凝胶体外释放和经皮渗透特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 24.
[10] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 282.
[11] 甄攀, 杨风珍. 吴茱萸总生物碱提取条件的考察[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(8): 504.

[责任编辑 仝燕]

liquid-solid ratio, extraction time and temperature on subcritical water extraction technology was investigated by single-factor tests and orthogonal test, and compared with traditional extraction technology. **Result:** Optimum extraction conditions were obtained as follows: extraction temperature 150 °C, liquid-solid ratio 12 mL·g⁻¹, extraction time 45 min; Under these conditions, yield of lobetyolin and polysaccharides from *C. tangshen* was up to 0.110 2, 195.1 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** Comparing with conventional water boiling technology, this optimized technology could significantly shorten extraction time and significantly improve yield of lobetyolin and polysaccharides from *C. tangshen*.

[Key words] *Codonopsis tangshen*; subcritical water extraction; lobetyolin; polysaccharides from *Codonopsis tangshen*; orthogonal test

党参味甘性平,无毒,具有补中益气、健脾益肺之功效。传统评价党参的品质以“味甜者”为佳,同时党参多糖又具有免疫调节、抗肿瘤等多种药理活性^[1-2],因此多糖含量已成为衡量党参质量的重要指标之一。化学成分研究发现,党参炔苷是党参中特征和共有成分,药理试验证明其具有抗溃疡活性,是党参发挥胃黏膜保护作用的物质基础^[3],目前以其作为活性成分指标评价党参质量的研究也日益增多^[4-5]。

目前,对党参的研究主要集中在质量评价^[6]、化学成分^[7]、药理作用^[8]等方面。而有关其提取工艺的研究较少^[9-10],且多选择单一评价指标,存在一定的片面性。亚临界水提取法是一种绿色、廉价、快速、高效的提取方法。亚临界水是指在一定压力下,水被加热至>100 °C且<374 °C(临界温度)的高温高压水。采用亚临界水提取的优势主要表现在三方面:①随温度的升高,水的氢键被打开或减弱,水的极性降低,使得对中低极性的化合物的溶解能力增加;②提高温度能降低水的表面张力和黏度,结合其高压的特性,能增强水对细胞组织的穿透性,加速细胞破壁和细胞内物质的溶出速度;③无有机溶剂残留,最符合中药传统的水提取工艺的特点。本实验旨在探讨采用亚临界水提取党参中党参炔苷和党参多糖的可行性,并通过单因素试验和正交试验优选其提取工艺,为党参的亚临界水提取工艺提供实验依据。

1 材料

XP6 型 1/100 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),AR5120 型 1/千电子天平(美国奥豪斯),FCFD1-20 型高压磁力搅拌反应釜(烟台科立化工设备有限公司,容积 1 L,设计压力 <20 MPa,设计温度 <300 °C),EYELA NE 1101 型旋转薄膜蒸发器(日本东京理化),Shimadzu LC-10A vp 型高效液相色谱仪系统(日本岛津),UV-2550 型紫外-可见分光

光度计(日本岛津)。

党参购至南昌市汇仁堂大药房,为已切制为厚片的党参饮片,经本校药用植物教研室赖学文教授鉴定为桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根。D-无水葡萄糖、党参炔苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110833-200904, 111732-200905),乙腈为色谱纯,水为 Millipore 纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备 准确称取党参饮片 40 g,置于高压反应釜中,加入不同体积的纯化水,于一定提取时间和提取温度下进行亚临界水提取,提取液减压浓缩,过滤,用水洗涤滤饼,合并滤液,定容于 1 L 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2 党参炔苷的含量测定 色谱条件为 Kromsail C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(含 0.4% 冰乙酸)(25:75),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 267 nm,进样量 10 μL。精密称取党参炔苷对照品 1.506 mg,置于 20 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,精密吸取该溶液 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 7.53 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。分别精密吸取该溶液 1,2,4,6,8,10 μL 进样,测定峰面积,以峰面积为纵坐标,党参炔苷进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 1.163 \times 10^6 X - 315$ ($R^2 = 1.000$),线性范围 0.007 53 ~ 0.075 3 μg。

2.3 党参多糖的含量测定 采用苯酚-硫酸法。精密称取 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖对照品 10.25 mg,置于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得葡萄糖对照品溶液。精密吸取该溶液 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7 mL 置干燥试管中,各加水至 1.0 mL,另取 1.0 mL 水作空白对照,加 5% 苯酚溶液 1.6 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 7.0 mL,充分摇匀,室温放置 30 min,于 490 nm 处测定吸光度(A),以 A

为横坐标,质量浓度为纵坐标,得回归方程 $Y = 0.0111X + 0.0163$ ($R^2 = 0.9990$),线性范围 $10.25 \sim 70.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。精密吸取党参的亚临界水提取液 100 mL,浓缩至约 2 mL,加无水乙醇 18 mL,混匀,4 ℃ 静置 24 h,取出,减压过滤沉淀物,分别用无水乙醇、丙酮、乙醚各 5 mL 洗涤滤饼。滤饼用水溶解,转移至 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL,置于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,定容,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取滤液作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 1 mL,进行 A 测定,计算党参多糖提取率。

$$\text{提取率} = m_{\text{提取液中党参多糖}} / m_{\text{党参饮片}} \times 100\%$$

2.4 单因素试验考察

2.4.1 提取时间

固定提取温度 130 ℃,液料比 $15 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,考察提取时间分别为 0, 15, 30, 45, 60, 75 min 对提取工艺的影响(图 1)。结果表明,党参炔苷提取率在 0 ~ 15 min 时增加较快,15 ~ 60 min 时增加缓慢,60 min 后略有下降。而党参多糖提取率在 0 ~ 30 min 时增加较为显著;30 ~ 60 min 时增加缓慢,60 min 后呈下降趋势。可能是随提取时间的延长,糖苷化合物和多糖成分均容易分解。结合生产实际,提取时间不宜过长,因此选择提取 45 min。

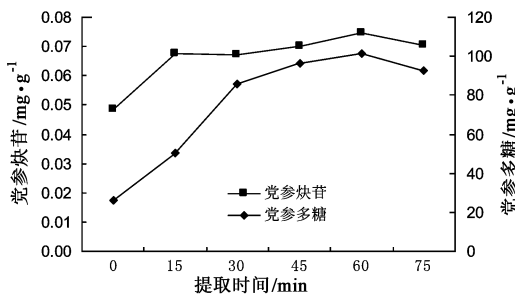


图 1 提取时间对党参炔苷和党参多糖提取率的影响

2.4.2 提取温度

固定提取时间 45 min,液料比 $15 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,考察提取温度分别为 110, 120, 130, 140, 150, 160 ℃ 对提取工艺的影响(图 2)。结果表明党参炔苷的提取率先下降后上升,提示随提取温度的提高,党参炔苷可能存在溶出与分解,两种作用相互竞争。当提取温度 150 ℃ 时,党参多糖提取率最大;130 ~ 150 ℃ 是兼顾党参炔苷与党参多糖提取的一个平衡区域,考虑到 130 ℃ 为党参炔苷的糖苷键开始水解的温度,为减小党参提取液化学组成的变化,因此暂时选择提取温度 130 ℃。

2.4.3 液料比

固定提取温度 130 ℃,提取时间 45 min,考察液料比分别为 6, 8, 10, 12, 15, 18 mL·

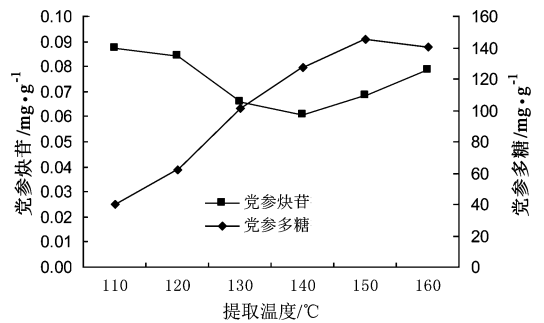


图 2 提取温度对党参炔苷和党参多糖提取率的影响

g^{-1} 对提取工艺的影响(图 3)。结果表明当液料比 $> 12 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,党参多糖提取率趋于恒定。而党参炔苷提取率随液料比的增加基本显现线性增加的趋势。因此综合考虑选择液料比 $12 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

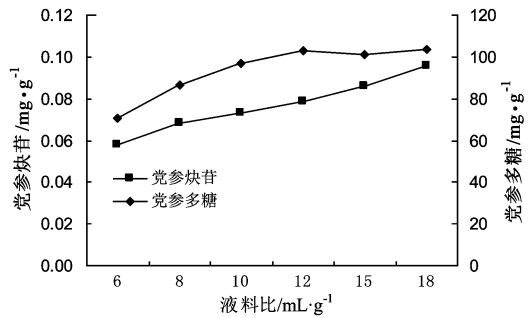


图 3 液料比对党参炔苷和党参多糖提取率的影响

2.5 正交试验优选

在单因素试验基础上,选取提取温度、提取时间、液料比为考察因素,以党参炔苷、党参多糖提取率的综合评分^[11-12]为指标,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。综合评分 = (党参炔苷提取率/党参炔苷的最大提取率 $\times 0.5$) + (党参多糖的提取率/党参多糖的最大提取率 $\times 0.5$) $\times 100$ 。

从直观分析可知,影响党参中党参炔苷和党参多糖提取率的因素主次顺序为 $A > B > C$ 。方差分析表明,提取温度对综合评分的影响具有统计学差异,而提取时间、液料比的影响不显著。确定最佳提取工艺为提取温度 150 ℃,提取时间 45 min,液料比 $12 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.6 工艺比较

按优选的提取工艺条件进行水煎煮,并与优选的亚临界水提取工艺比较。为模拟实际工业化生产的过程,本实验直接采用党参饮片投料,不对药材作进一步粉碎。结果传统工艺中党参炔苷和党参多糖提取率分别为 $0.07767, 78.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。而优化的亚临界水提取工艺中党参炔苷和党参多糖提取率可分别达 $0.1102, 195.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。说明优选的提取工艺稳定可行,且较传统水煎煮工艺

表1 党参的亚临界水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取温度 /°C	B 提取时间 /min	C 液料比 /mL·g ⁻¹
1	130	30	10.0
2	140	45	12.0
3	150	60	15.0

表2 党参的亚临界水提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	党参炔 苷提取率 /μg·g ⁻¹	党参多 糖提取率 /mg·g ⁻¹	综合 评分
1	1	1	1	1	81.17	72.38	58.52
2	1	2	2	2	86.57	93.46	66.81
3	1	3	3	3	68.21	100.5	59.92
4	2	1	2	3	79.44	116.2	69.56
5	2	2	3	1	74.96	124.8	69.74
6	2	3	1	2	68.56	139.6	70.68
7	3	1	3	2	104.3	133.9	86.25
8	3	2	1	3	76.15	184.6	86.51
9	3	3	2	1	93.80	159.9	88.28
K ₁	61.75	71.44	71.90	72.18			
K ₂	70.00	74.35	74.88	74.58			
K ₃	87.01	72.96	71.97	72.00			
R	25.26	2.910	2.980	2.583			

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	995.70	2	79.88	<0.05
B	12.71	2	1.02	>0.05
C	17.37	2	1.39	>0.05
D(误差)	12.47	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

具有明显优势。

3 讨论

提取方法应该是提取充分、能耗低、快速、减少有机溶剂的使用。亚临界水提取技术完全符合这一要求。在实验过程中发现,亚临界水提取的能耗与水煎煮几乎无异,但提取完成后的亚临界水却具有很高的动能和热能,是一个非常值得再利用的资源,

如果能开发出将其与生产工艺中过滤设备、喷雾干燥设备相偶联的接口装置,将提取、过滤、浓缩融为一体,可加快整个中成药生产的速度,并降低能耗。

在党参有效物质不能完全阐明的情况下,本实验选取党参炔苷和党参多糖的综合评分为评价指标,以筛选党参的最佳提取工艺,为含党参的中成药生产提供实验依据。

[参考文献]

- [1] 陈克克,王喆之. 党参多糖的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2007,7(4):635.
- [2] 杨瑾,袁德培,陈龙全,等. 党参多糖类成分抗肿瘤活性的研究进展[J]. 湖北民族学院学报:医学版,2011,28(3):67.
- [3] 宋丹,王峥涛,李隆云,等. 党参炔苷对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤保护作用的研究[J]. 中国中医急症,2008,17(7):963.
- [4] 贺庆,朱恩圆,王峥涛,等. 党参中党参炔苷 HPLC 分析[J]. 中国药学杂志,2005,40(1):56.
- [5] 宋丹,程雪梅,李隆云,等. HPLC 测定不同产地川党参中党参炔苷的含量[J]. 中国中药杂志,2008,33(17):2133.
- [6] 郭巧生,后彦森,王长林. 明党参种子品质检验及质量标准研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(6):478.
- [7] 贺庆,朱恩圆,王峥涛,等. 党参化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2006,41(1):10.
- [8] 冯佩佩,李忠祥,原忠. 党参属药用植物化学成分和药理研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2012,29(4):307.
- [9] 陈璐,王天志,杨兵,等. 比较和优化党参炔苷的提取工艺[J]. 华西药学杂志,2008,23(4):454.
- [10] 宋艺君,郭涛. 党参多糖提取纯化工艺的研究[J]. 现代中医药,2010,30(3):77.
- [11] 周瑜,陶春蕾,许钊,等. 多指标综合评分法优选当归芍药散提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(19):20.
- [12] 姜雷,郭玉岩,吕少娃,等. 多指标综合评分法优选青防痛散提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):26.

[责任编辑 仝燕]