

# 泡沫分离法提取竹节参总皂苷的工艺优选

张海滨<sup>1</sup>, 何毓敏<sup>1</sup>, 张长城<sup>1</sup>, 关乔中<sup>2</sup>, 毛帅<sup>2</sup>, 孙志伟<sup>1</sup>, 袁丁<sup>1\*</sup>

(1. 三峡大学医学院, 湖北 宜昌 443002; 2. 三峡大学化学与生命科学学院, 湖北 宜昌 443002)

[摘要] 目的: 优选泡沫分离法提取竹节参总皂苷的工艺条件。方法: 以富集比、纯度比、回收率为指标, 对气泡大小、原料液温度、电解质质量浓度及 pH 等影响泡沫分离的主要因素进行考察, 采用单因素试验优化泡沫分离法提取竹节参皂苷的工艺条件。结果: 最佳提取工艺为气泡直径 0.4~0.5 mm, 温度 65 ℃, pH 5.5, 电解质 NaCl 摩尔浓度 0.015 mol·L<sup>-1</sup>, 总皂苷富集比 2.1, 纯度比 2.6, 回收率 98.33%。结论: 泡沫分离法分离竹节参总皂苷方法稳定可靠, 产品收率高, 为天然竹节参皂苷的开发利用提供实验依据。

[关键词] 泡沫分离; 竹节参皂苷; 富集比; 回收率; 纯度比

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)01-0018-03

## Optimization of Extraction Technology for Total Saponins from *Panax japonicus* by Foam Separation

ZHANG Hai-bin<sup>1</sup>, HE Yu-min<sup>1</sup>, ZHANG Chang-cheng<sup>1</sup>, GUAN Qiao-zhong<sup>2</sup>,  
MAO Shuai<sup>2</sup>, SUN Zhi-wei<sup>1</sup>, YUAN Ding<sup>1\*</sup>

(1. College of Medical, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

2. College of Chemistry and Bioscience, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction conditions of total saponins from *Panax japonicus* by foam separation technique. **Method:** Taking enrichment ratio, purity ratio and recovery as indexes, effect of pH, bubble size, temperature of mixture, electrolyte concentration and other main influencing factor on foam separation was investigated, single factor test was used to optimize extraction technology of total saponins from *P. japonicus* by foam separation. **Result:** Optimum extraction conditions were as followings: bubble diameter 0.4-0.5 mm, temperature 65 ℃, pH 5.6, the concentration of NaCl 0.015 mol·L<sup>-1</sup>, under these conditions, enrichment ratio of total saponins was 2.1, purity ratio was above 2.6 and recovery was 98.33%. **Conclusion:** Foam separation technique could be applied to separate total saponins from *P. japonicus* with stability, reliability and high yield, it provided a reference for development and utilization of natural total saponins in *P. japonicus*.

[Key words] foam separation; saponins from *Panax japonicus*; enrichment ratio; recovery; purity ratio

泡沫分离是以气泡作分离介质, 利用被分离物质在气液两相界面吸附性质的差异来富集分离溶液中表面活性物质<sup>[1]</sup>。皂苷类成分具有一定表面活性, 可被黏附在从溶液中升起的泡沫表面上, 从而与

母液分离<sup>[2]</sup>。竹节参的主要化学成分为皂苷类<sup>[3]</sup>, 其分子结构中糖基部分和皂苷元所表现出的亲水性和亲脂性达到分子内动态平衡, 具有表面活性<sup>[4]</sup>, 而竹节参中的竹节参多糖、多种氨基酸、无机盐等不是表面活性物质, 因此可利用表面活性差异用泡沫分离来实现竹节参皂苷富集提<sup>[5]</sup>。目前竹节参总皂苷的提取工艺大体分为两类, 一类是渗漉法、浸渍法、水煎煮法等传统方法, 此类方法成本较低, 但提取效率低; 另一类是微波萃取法、超临界流体萃取法等现代仪器提取法<sup>[6]</sup>, 提取率高, 但操作复杂, 设备要求较高。泡沫分离法作为一种新兴绿色工艺, 使

[收稿日期] 20120926(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31070314)

[第一作者] 张海滨, 硕士, 从事中药化学及中药资源开发利用研究, Tel: 0717-6397366, E-mail: 7765hui@163.com

[通讯作者] \*袁丁, 教授, 从事中药药理与中药化学研究, Tel: 0717-6397366, E-mail: yxyd@ctgu.edu.cn

用简单装置迅速处理大量试液,进行富集分离,并可实现连续化和自动化<sup>[7]</sup>。

## 1 材料

2690 型高压液相色谱仪(美国 Waters 公司), AB204-N 型分析天平(超杰电子天平), PHS-25 型酸度计(上海雷磁仪器厂), U-1900 型紫外-可见分光光度计(日立), Power Wave XS2 型酶标仪(美国 Molecular Devices), DK-600S 型恒温水浴箱(上海精宏实验设备), ZM100 型粉碎研磨仪(德国 Retsch)。

人参皂苷 Ro 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110807-200205), 乙腈为色谱纯, 水为二次重蒸水, 其他试剂均为分析纯。竹节参药材采购于湖北省恩施州椿木营竹节参种植基地, 由三峡大学汪鋈植教授鉴定为五加科人参属竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎。

## 2 方法与结果

**2.1 竹节参提取液的制备** 称取竹节参药材粗粉 100 g, 加 6 倍量 65% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤除去滤渣, 合并药液, 回收乙醇至无醇味, 离心 15 min ( $3\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 取上清液, 即得<sup>[8]</sup>。

**2.2 泡沫分离装置** 图 1 为泡沫分离试验装置示意图,  $\text{N}_2$  通过转子气体流量计, 通过控制控制阀, 控制  $\text{N}_2$  流速,  $\text{N}_2$  经过孔径约  $30\ \mu\text{m}$  气体分布计, 形成均匀大小气泡通过竹节参皂苷溶液, 同时通过进水口注入一定温度的热水控制鼓泡溶液温度, 每次直至不再产生泡沫为止, 收集产生的泡沫, 真空干燥得固体粉末, 即皂苷样品。采用分光光度法测定其总皂苷含量, 以富集比、回收率及纯度比为指标评价泡沫分离效果。

富集比 = 泡沫中总皂苷质量浓度 / 原料液中总皂苷质量浓度;

回收率 = 泡沫液中总皂苷的总质量 / 原料液中总皂苷的总质量  $\times 100\%$ ;

纯度比 = 泡沫液中竹节参总皂苷纯度 / 原料液中总皂苷纯度。

### 2.3 竹节参总皂苷含量测定

**2.3.1 对照品溶液的制备** 精密称定人参皂苷 Ro 对照品 20.8 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得  $2.08\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  对照品溶液。

**2.3.2 供试品溶液的的制备** 精密称定泡沫分离所得竹节参皂苷粉末 100 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过滤。

**2.3.3 标准曲线的建立** 精密吸取人参皂苷 Ro 对照品溶液 20, 40, 80, 120, 160, 200  $\mu\text{L}$ , 分别置 10

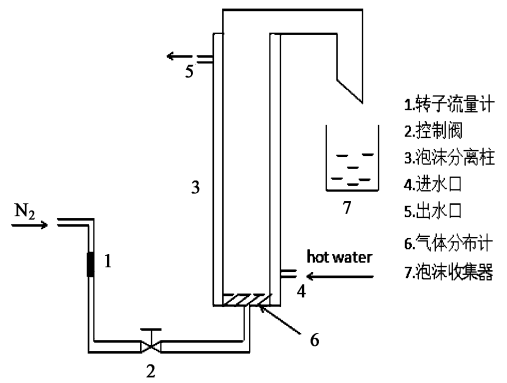


图 1 泡沫分离装置原理示意

mL 具塞试管中, 低温吹干溶剂, 加入 1% 香草醛高氯酸溶液 0.5 mL, 漩涡混匀, 置  $60\ ^\circ\text{C}$  恒温水浴加热 15 min, 立即用冰水冷却 2 min, 加入 77% 硫酸溶液 5 mL, 振荡摇匀, 超声消除气泡, 以试剂作空白, 于 552 nm 处紫外-可见分光光度法测定吸光度 ( $A$ ), 得标准曲线  $A = 2.958X + 0.094$  ( $R^2 = 0.996$ )。

**2.3.4 样品测定** 精密吸取供试品溶液 100  $\mu\text{L}$  置具塞试管中, 按 2.3.3 项下方法测定。

### 2.4 单因素试验

**2.4.1 气泡大小的控制** 选用孔径  $30\ \mu\text{m}$  的微孔塑料筛板做气体分布器, 置泡沫分离柱底部, 使气体均匀通过, 控制气泡直径在  $0.1\sim 0.5\ \text{mm}$ <sup>[9]</sup>。

**2.4.2 温度的影响** 将竹节参皂苷原料液均匀分成 5 份, 通过控制进水口水温分别控制原料液温度为  $55, 60, 65, 70, 75\ ^\circ\text{C}$ , 气流速度  $400\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ <sup>[10]</sup>, 进料液质量浓度  $0.17\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7, 进行鼓泡。结果竹节参皂苷的纯度比、富集比及回收率随温度的升高而升高, 当温度为  $65\ ^\circ\text{C}$  时, 分离效果较好, 纯度比 2.58, 富集比 2.78, 回收率 94.93%, 之后随温度继续升高, 泡沫稳定性变差, 泡沫变薄, 容易破裂<sup>[11-13]</sup>。故泡沫分离操作时温度应控制在  $65\ ^\circ\text{C}$ 。

**2.4.3 pH 考察** 分别将竹节参皂苷原料液分装在 5 个小烧杯中, 用 HCl 和 NaOH 调节 pH 分别为 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 控制原料液温度  $65\ ^\circ\text{C}$ , 气体流速  $400\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进料液质量浓度  $0.17\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 进行泡沫分离。结果随 pH 的升高, 回收率和纯度比逐渐升高, 但富集率随之下落, 当 pH 为 5.5 时纯度比达 2.68, 富集比 1.54, 回收率 95.02%, 分离效果较好。因此选择 pH 5.5。

**2.4.4 电解质质量浓度考察** 分别配制 NaCl 质量浓度分别为 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.1, 0.2  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的原料液<sup>[14]</sup>, 原料液温度  $65\ ^\circ\text{C}$ , 鼓泡速度  $400\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进料液质量浓度  $0.17\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 5.6, 进

行泡沫分离。结果纯度比几乎不受 NaCl 浓度的影响,随 NaCl 浓度的升高富集比和回收率升高,当达 NaCl 浓度  $>0.015 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,富集比和回收率均有所下降。因此选 NaCl 质量浓度  $0.015 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.4.5 验证试验** 根据优化得到的工艺条件,称定同一批次竹节参药材粗粉 100 g,提取浓缩至 500 mL,控制温度  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ , pH 5.6,电解质 NaCl 质量浓度  $0.015 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,气体流速  $400 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  条件下重复进行 3 次泡沫分离,结果纯度比分别为 2.58, 2.38, 2.67;富集比分别为 2.13, 2.67, 2.18;回收率分别为 97.54%, 98.01%, 97.92%;说明优选的竹节参皂苷泡沫分离法具有良好的稳定性。

**2.4.6 泡沫分离与其他分离方法比较** 精密称取同一批次竹节参 300 g 进行提取,得 1 500 mL 原料液,等分为 3 份,其中 500 mL 浓缩至 100 mL,用 D101 型大孔吸附树脂吸附,加 60% 乙醇洗脱;取 500 mL 加等量正丁醇萃取 3 次;取 500 mL 按优化的工艺条件进行泡沫分离,比较不同工艺对竹节参皂苷的分离纯化效果<sup>[15]</sup>。结果纯度比分别为 1.72, 2.40, 2.68;富集比分别为 2.01, 2.33, 2.13;回收率分别为 60.58%, 54.25%, 95.22%;说明除了富集比略低于正丁醇萃取外,泡沫分离法在回收率、纯度比等方面均具有一定优势,其中回收率远远高于传统工艺,并且泡沫分离操作简单,整个过程不应用有机试剂,符合环保观念,是一种值得进一步探索的竹节参皂苷提取新工艺。

### 3 讨论

本实验对气泡大小、温度、电解质浓度等主要影响泡沫分离的因素进行系统研究。发现气泡过小夹带杂质太多会降低皂苷的纯度比和富集率,但生成泡沫稳定,回收率较高;气泡过大则生成泡沫较不稳定,鼓泡时间变短,回收率大大下降,但泡沫总表面积小,吸附杂质较少,富集率较高;综合考虑,同时根据文献报道以控制气泡大小在  $0.1 \sim 0.5 \text{ mm}$  为宜。室温下竹节参皂苷水溶液具有较高的稳定性和黏性,增加了泡沫层间液体空隙间流动的阻力,会影响泡沫分离速率并大大降低了竹节参皂苷的富集率和回收率。通过适当增加泡沫分离层的温度可降低黏度,提高泡沫的排水速度,进而减少产生泡沫的体积。但温度不宜过高,表面黏度是泡沫稳定性的主要影响因素,随温度升高泡沫表面黏度降低,泡沫变薄,容易破裂,且能耗较高,为实现实验过程中原料液温度的控制,本实验自行设计制作了外循环水控制温度的泡沫分离装置。pH 对竹节参皂苷的回收

率影响较大,酸度过低会严重影响泡沫的稳定性,降低回收率,竹节参皂苷呈现酸性,当溶液 pH 达到碱性时会形成盐不再具有表面活性,影响分离效果;合适的离子浓度能够降低临界胶束浓度,促进表面活性剂形成胶束,增加起泡性。

竹节参总皂苷含量测定时,首先对提取物进行化学成分分析,明确提取物中化学组分后,采用含量最高的人参皂苷 Ro 作为对照品,使测定结果更加准确、可靠。

### [参考文献]

- [1] 王良贵,孙小梅,李步海.三七粗提液中皂苷与多糖泡沫分离的研究[J].分析科学学报,2003,19(3):267.
- [2] 苏艳桃,韩丽,张艳艳,等.甘草皂苷分级泡沫分离工艺研究[J].中成药,2006,28(11):1571.
- [3] 欧阳丽娜,向大位,吴雪,等.竹节参化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2010,41(6):1023.
- [4] 林启寿.中药成分化学[M].北京:科学出版社,1977:418.
- [5] 魏凤玉,张静,解辉.泡沫分离纯化无患子皂苷[J].中成药,2009,31(7):1021.
- [6] 马捷琼,袁博,刘缠民,等.声磁发生器结合响应曲面优化平盖灵芝提取工艺的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(11):6.
- [7] 周春山.化学分离富集方法及应用[M].长沙:中南工业大学出版社,1997:510.
- [8] 何毓敏,鲁科明,袁丁,等.竹节参总皂苷的制备工艺及含量测定[J].中国中药杂志,2008,33(22):2607.
- [9] 徐燕莉.表面活性剂的功能[M].北京:化工出版社,2000:179.
- [10] 张长城,胡远浪,何毓敏,等.泡沫分离法分离竹节参皂苷的工艺研究[J].中国医院药学杂志,2010,30(17):1431.
- [11] Yan J, Wu Z L, Zhao Y L, et al. Separation of tea saponin by two-stage foam fractionation[J]. Sep Purif Technol, 2011, 80(8):300.
- [12] Matthew N, Alistair B, Paula J. Prote in recovery us inggas-liquid dispersions [J]. J Chromatography B, 1998, 711(1/2):31.
- [13] Wina E, Muetzel S, Becker K, et al. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production-a review [J]. Agr Food Chem, 2005, 53(6):8093.
- [14] 王寿武,李泉,于红梅,等.氯化钠对表面活性剂黏度效应的研究[J].海湖盐与化工,2003,32(6):8.
- [15] 陈萍,朱胤龙,彭洁,等.参柏克霉泡沫气雾剂制备工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(7):38.

[责任编辑 全燕]