

## 金银花提取液超滤工艺优化

王永香, 徐海娟, 张静, 刘涛, 王振中, 萧伟\*  
(江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的: 考察聚砜材质中空纤维超滤膜精制金银花提取液的适用性并进行膜超滤过程优化设计。方法: 采用截留相对分子质量分别为  $50 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$  的中空纤维膜对金银花提取液进行超滤, 以药液固含物转移率、有效成分含量转移率、有效成分含量提高率为指标, 优选最佳截留相对分子质量; 并采用正交试验方法优选超滤过程的最佳工艺参数。结果: 截留相对分子质量为  $10 \times 10^3$  的中空纤维超滤膜有较好的分离效果, 超滤最佳参数为压差 0.1 MPa、料液温度 30、进料体积流量  $2.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结论: 中空纤维超滤膜精制药液时选择合适孔径的膜及最佳膜滤条件能有效的提高生产效率。

[关键词] 中空纤维膜; 超滤; 绿原酸

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0012-03

## Research of Ultrafiltration Techniques on Water-extraction of Lonicera

WANG Yong-xiang, XU Hai-juan, ZHANG Jing, LIU Tao, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei\*  
(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the possibility for application of the ultrafiltration technology using polysulfone (PS) hollow fiber membrane to purify water-extraction of Lonicera and optimize the preparation procedure. **Method:** The PS membrane of different aperture 50 000, 10 000 and 6 000 were studied on the applicability with water-extraction of Lonicera. The proper molecular weight retention was optimized with removal of liquid impurities and the transformation ratio of luteolin and chlorogenic acid as index, while the proper ultrafiltration condition was optimized by orthogonal tests. **Result:** The PS membrane with 10 000 interception molecular weight had better separation efficiency and the preferred operation parameters were 0.1 MPa of pressure, 30 of liquid temperature, and  $2.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  of liquid speed. **Conclusion:** The preferred aperture of PS membrane and the operation conditions are feasible for the purification of water-extraction of Lonicera, which can effectively improve the production efficiency.

[Key words] polysulfone hollow fiber membrane; ultrafiltration; chlorogenic acid

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 具有清热解毒, 凉散风热功效; 用于痈肿疔疮, 喉痹, 丹毒, 热毒血痢,

热毒感冒, 温病发热。金银花中主要有效成分为绿原酸, 具有抗菌、抗病毒的功效, 对金银花中绿原酸含量测定也多有报道<sup>[1]</sup>。超滤技术目前在中药行业应用的越来越广<sup>[2-4]</sup>, 通过膜表面的微孔结构对物质进行选择分离, 当混合溶液在一定压力下流经膜表面时, 小分子溶质透过膜, 而大分子物质则被截留, 使原液中大分子浓度逐渐提高, 从而实现大、小分子的分离、浓缩、净化的目的。本文采用 3 种截留相对分子质量的聚砜中空纤维超滤膜对金银花提取液进行超滤, 根据超滤前后药液固含物、有效成分转移率优选膜的最佳截留相对分子质量, 并采用正

[收稿日期] 20100714(004)

[基金项目] 国家科技部中药生产技术及过程控制技术标准平台资助项目(2009ZX09308-003)

[第一作者] 王永香, 工程师, 主要从事中药制药新技术和工艺过程研究, Tel: 13511569289, E-mail: xiaoyu99201@163.com

[通讯作者] \* 萧伟, 博士生导师, 研究员级高级工程师, Tel: 0518-85521933

交试验法优选膜超滤过程最佳工艺参数。

## 1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); PBCC 型蠕动泵(Milipore 公司); TDL-5-A 型台式离心机; 中空纤维超滤膜组件 3 组, 聚砜材质, 截留相对分子质量分别为  $50 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$  (规格型号 CLW(N)-05, 北京旭邦膜设备有限公司)。绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110753-200413), 甲醇为色谱纯(淮阴精细化工研究所), 水为超纯水, 药材符合 2005 年版《中国药典》一部标准, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 膜截留相对分子质量筛选

**2.1.1 金银花水提液制备** 取金银花药材 20 kg, 10 倍量水煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并提取液, 以  $2 \text{万 r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 min, 得离心液 275 kg, 作为超滤前药液, 待用。

**2.1.2 超滤方法** 取药液 3 份, 每份 30 kg。分别用截留相对分子质量  $50 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$  中空纤维超滤膜超滤, 超滤过程中均控制进料口压力为 0.15 MPa 左右, 出料口压力控制在 0.05 MPa 左右, 并使进料口和超滤口压力差稳定(0.1 MPa), 待超滤液约为原体积的 2/3 时, 向浓缩液中加入 1/3 原体积的纯化水, 继续超滤, 收集 30 kg 的超滤液。

**2.1.3 考察指标及指标检测方法** 本试验主要考察指标为金银花水提取液超滤前后药液中绿原酸含量、固含物、液相指纹图谱等。绿原酸含量测定方法参照 2005 年版《中国药典》一部金银花项下绿原酸检测方法<sup>[5]</sup>。固含物测定: 精密量取药液 50 mL 放入干燥至恒重的蒸发皿中, 于 105℃ 恒重 3 h, 精密称定质量, 计算药液中的总固物。液相指纹检测条件: phenomenex  $C_{18}$  色谱柱; 流动相以甲醇(A)-0.1% 磷酸(B)水溶液系统为流动相进行色谱分析; 洗脱梯度 0~20 min, 12%~30% A, 88%~70% B; 20~60 min, 30%~50% A, 70%~50% B; 柱温 30℃; 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 检测波长 225 nm。

由表 1 可以看出不同孔径的有机膜对于绿原酸转移率有显著影响, 液相指纹图谱相似度差异不大(采用“中药色谱相似度评价系统 2004 A 版”软件)。截留相对分子质量  $50 \times 10^3$  和  $10 \times 10^3$  的膜对绿原酸的转移率明显高于  $6 \times 10^3$ , 达到 90% 以上。

表 1 不同截留相对分子质量膜对超滤前后检测指标的影响

膜截留相对分子质量	绿原酸转移率/%	固含物转移率/%	绿原酸含量提高率/%	液相指纹相似度
原药液	100.0	100.0	100.0	100.0
$50 \times 10^3$	93.4	75.9	123.1	0.998 7
$10 \times 10^3$	90.7	68.7	132.0	0.997 9
$6 \times 10^3$	85.9	65.4	131.3	0.983 2

截留相对分子质量为  $10 \times 10^3$  的膜绿原酸含量提高率最高。考虑到树脂和果胶、鞣质的相对分子质量在 15 000~300 000, 蛋白质在 5 000~500 000, 采用  $10 \times 10^3$  相对分子质量的膜不仅可以大幅度除去杂质, 同时也可以加大有效成分的富集, 综合考虑, 选用  $10 \times 10^3$  的中空纤维超滤膜。

**2.2 膜优化方法与结果** 膜分离操作参数的选择: 除了膜组件本身的性能外, 膜设备操作参数不同, 也会影响膜分离效果。为了提高效率, 使得有效成分尽量地保留, 而杂质尽可能被洗脱除去, 本试验就操作压差(A)、进料体积流量(B)、药液温度(C)对膜分离效果进行了考察, 正交设计的因素水平见表 2, 其中初始药液体积为 20 kg, 绿原酸的初始浓度为  $1.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 超滤方法同 2.1.2, 试验数据见表 4。

表 2 金银花提取液膜过程因素水平

水平	A/MPa	B/L·min <sup>-1</sup>	C/
1	0.05	1.0	10
2	0.10	2.5	20
3	0.15	5.0	30

表 3 金银花提取液膜过程正交试验结果

No.	A	B	C	D	绿原酸转移率/%	固含物转移率/%	综合评分
1	1	1	1	1	72.23	62.74	115.20
2	1	2	2	2	80.20	66.09	121.35
3	1	3	3	3	87.13	68.85	126.55
4	2	1	2	3	90.10	68.65	131.24
5	2	2	3	1	98.09	71.19	137.68
6	2	3	1	2	89.11	68.26	130.54
7	3	1	3	2	91.09	69.19	131.65
8	3	2	1	3	90.10	67.77	132.94
9	3	3	2	1	96.04	71.31	134.67
综 合 评 分	$K_1$	363.10	378.09	378.68	387.55		
	$K_2$	399.46	391.97	387.26	383.54		
	$K_3$	399.26	391.76	395.88	390.73		
	R	12.12	4.63	5.73	2.40		

注: 综合评分 = 绿原酸含量提高率 = 绿原酸含量转移率 / 固含物转移率  $\times 100$ 。

表 4 金银花提取液膜过程试验结果方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	292.18	146.09	33.78	<0.05
B	42.17	21.09	4.88	
C	49.31	24.65	5.70	
D(误差)	8.63	4.33	1.00	

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ ,  $f = 2$ 。

由方差分析得, 3 者对超滤过程影响的主次为  $A > C > B$ , 由方差分析表可知, 因素 A 超滤时膜压差对药液过膜效率有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 超滤时超滤液的温度、进料体积流量没有显著影响。由正交试验结果可得, 金银花水提液最优过膜条件为膜压差为 0.1 MPa, 药液温度 30, 进料体积流量为 2.5 L·min<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

用聚砜材质截留相对分子质量  $50 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$  的膜超滤金银花水提液时, 主要指标的转移率、主要成分含量提高率、固含物的转移率有显著差异, 药液液相指纹图谱没有显著差异。由数据得出截留分子量为  $10 \times 10^3$  的超滤膜超滤时绿原酸含量提高率、固含物截留率均较高。本试验优化膜滤条件能明显的提高工作效率, 对于金银花水提液体系来说, 以绿原酸含量提高率为考察指标得适宜

的操作条件为: 膜进口压力为 0.1 MPa, 药液温度 30, 进料体积流量为 2.5 L·min<sup>-1</sup>。

金银花药材中主要有效成分绿原酸不稳定, 遇热易分解, 采用超滤法可以避免浓缩过程中, 绿原酸的破坏。超滤技术不仅去杂质效果好, 还能提高药液中绿原酸含量; 同时, 此技术装置和操作简单, 周期短, 易放大<sup>[6]</sup>, 适合工业化生产; 此外, 超滤法能够有效除去热原, 可防止加热灭菌对药液的影响。

### [参考文献]

- [1] 林启寿. 中草药化学[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 145.
- [2] 薛冠, 胡小玲, 陈晓佩, 等. 膜分离技术在医药医疗中的研究和应用[J]. 化学工业与工程, 2009, 26(2): 183.
- [3] 郭学锋. 膜分离技术在药物分离纯化中的应用[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(2): 96.
- [4] 万俊辉, 游淦秀. 膜分离技术在中药中的应用概况[J]. 湖南中医杂志, 2007, 23(2): 104.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005: 153.
- [6] 姜忠义, 吴洪. 膜技术在中药有效部位和有效成分提取分离中的应用[J]. 2002, 18(2): 185.

[责任编辑 仝燕]

(上接第 11 页)

### 3 结论与讨论

本试验以收率和圆整度为指标优选制备牛黄上清微丸的最佳工艺: 牛黄上清提取物加等量微晶纤维素, 混匀, 加 30% 水做黏合剂制软材, 选择孔径为 1.0 mm 的筛板, 挤出速度为 30 r·min<sup>-1</sup>, 滚圆速度 50 Hz, 滚圆时间为 6 min。微丸成型工艺简单, 符合工业化生产要求。

本试验曾进行牛黄上清丸与本微丸的溶出度对比研究, 试验结果表明本微丸 45 min 时指标性成分黄芩苷的溶出度达到 80% 以上, 符合要求。但牛黄

上清丸在 pH 6.8 的磷酸盐缓冲溶液条件下 4 h 内的溶出度小于 0.1%, 将溶出介质改为 pH 7.6 的磷酸盐缓冲溶液溶出度也小于 0.1%, 原因可能为牛黄上清丸中黄芩为原药材粉末入药, 在温和的溶出条件下, 黄芩苷不能从药物中释放出来, 说明牛黄上清丸不适宜进行体外溶出度的试验研究。

### [参考文献]

- [1] 谢秀琼. 现代中药制剂新技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 282.

[责任编辑 仝燕]