

研究简报

常温超高压提取人参总皂苷

陈瑞战, 张守勤, 王长征

(吉林大学生物与农业工程学院, 吉林 长春 130025)

摘要: 在常温条件下使用超高压提取了人参皂苷; 采用均匀设计法对提取工艺条件作了优化; 常温超高压提取人参皂苷最优工艺条件为: 溶剂 50% 乙醇、压力 200 MPa、固 (g) 液 (ml) 比 1:100、提取时间 1 min; 提取收率为 7.32%。与煎煮法、回流提取法、超声提取法、超临界 CO₂ 提取等方法做了比较, 结果表明常温超高压提取具有提取温度低 (常温)、提取时间短、提取得率高、能耗低、绿色环保等优点, 为人参皂苷的提取提供了一种新技术、新工艺。

关键词: 超高压提取; 人参皂苷; 均匀设计

中图分类号: TQ 464.3

文献标识码: A

文章编号: 0438-1157 (2005) 05-0911-04

High pressure extraction of total ginsenoside at room temperature

CHEN Ruizhan, ZHANG Shouqin, WANG Changzheng

(Biological and Agricultural Engineering College, Jilin University, Changchun 130025, Jilin, China)

Abstract: A new extraction process, named high pressure extraction (HPE) at room temperature, was used to extract ginsenoside from ginseng. The extraction process of HPE was optimized with the uniform test design method. The optimum HPE process conditions of ginsenoside were: solvent 50% ethanol, pressure 200 MPa, ratio of raw ginseng (g) to solvent (ml) 1:100, extraction time 1 min, yield 7.32%. Compared with the cooking, reflux extraction, ultrasonic and supercritical CO₂ extraction processes, HPE have many advantages, such as higher yield, no heating, shorter extracting time and energy saving. HPE provides a new process for the extraction of ginsenoside from ginseng at room temperature.

Key words: high pressure extraction; ginsenoside; uniform test design method

引 言

人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey) 为五加科多年生草本植物, 是一种传统的名贵中药材, 其根、茎、叶、花及果中均含有多种生物活性物质, 其主要成分人参皂苷 (ginsenoside) 具有广泛的药理活性, 有抗肿瘤、抗心率失常、改善心肌缺血、补气、益肺、生津止渴、安神益智等功效。

目前人参皂苷主要用煎煮^[1]、回流法等方法提

取^[2], 这些方法的主要问题是加热容易造成有效成分的变性。有人应用超声波、微波、超临界 CO₂ 萃取的方法提取^[3]。超声波提取的主要问题是难以实现工业规模, 超临界 CO₂ 适于提取脂溶性物质, 人参皂苷则是水溶性的。

超高压全称为“超冷等静压” (cold ultra-high isostatic hydrostatic pressure, CIP), 是在常温下用 100~1000 MPa 的流体静压力作用于料液, 在预定压力保持一段时间, 使药物细胞内外压力达

2004-09-30 收到初稿, 2004-11-30 收到修改稿。

联系人: 张守勤。第一作者: 陈瑞战 (1967-), 男, 博士研究生, 副教授。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30472135)。

Received date: 2004-09-30.

Corresponding author: Prof. ZHANG Shouqin. E-mail: sqzhang@email.jlu.edu.cn

Foundation item: supported by the National Natural Science Foundation of China (30472135).

到平衡（有效成分达到溶解平衡）后迅速卸压，使细胞内外渗透压力差突然增大，细胞内的有效成分穿过细胞的各种膜（细胞膜的结构在超高压下发生变化），转移到细胞外的提取液中，达到提取皂苷的目的。超高压技术是一种新兴技术，广泛用于食品加工，达到灭菌、灭酶、改变生物大分子结构的目的^[4]。作者在国际上率先开展了高压提取中药有效成分的研究^[5]，为天然产物有效成分的提取提供了一种新技术、新工艺。

本文考察了人参皂苷的常温超高压提取的工艺参数，并采用均匀设计方法进行了优化。所有超高压提取实验均在室温进行，并与其他提取方法进行了比较，该工艺具有室温提取、提取率高、提取时间短、操作简单、能耗低、绿色环保等特点。

1 超高压提取实验

1.1 仪器与材料

DL700 超高压等静压机（上海大隆机器厂）；UV757CRT 紫外可见分光光度计（上海分析仪器厂）。人参（抚松县万良镇产）；人参皂苷 Re 对照品（中国药品生物制品鉴定所提供）；其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

准确称取人参皂苷 Re 标样 6.2 mg，加甲醇定容成 25 ml ($0.248 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) 标准液；精确量取标准液 0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60 ml 于具塞试管中，加热挥发溶剂；分别加 0.2 ml 5% 香草醛-冰醋酸、0.8 ml 高氯酸，于 60 °C 水浴中加热 15 min，加入 5 ml 冰醋酸，冷却至室温，以溶剂作空白，在 400~800 nm 波长范围内进行波长扫描，得到最大吸收波长为 550 nm；在 550 nm 处测量吸光值，得人参皂苷 Re 对照品浓度 B ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) 与吸光值 A 的回归方程： $B=0.033A$ ，该方程的相关系数 $r=0.9994$ 。

样品（人参干根）干燥，粉碎过 0.45 mm 筛；脱脂：按 1 (g) : 40 (ml) 比例加入三氯甲烷回流 3 h，回收溶剂，残渣挥发溶剂备用。精确称取已脱脂的人参干粉末 0.5 g，准确加入一定量的溶剂，密封混匀，按照预定工艺参数超高压处理（保压 1 min），离心取上清液为待测样。

精确量取待测样 0.2 ml，按照上述方法测得吸光值 A ，依下式计算皂苷提取率 Y (%)

$$Y=0.0198(V/V_1)(1/m)$$

式中 A 为吸光值； V 为提取液总体积，ml； V_1 为检测时所取提取液体积，ml； m 为人参质量，g。

1.3 单因素实验

为了考察超高压提取的各因素影响，进行了单因素的实验考察，得到了超高压提取人参皂苷的合适溶剂为乙醇、溶剂浓度范围 30%~70%、提取压力范围 200~500 MPa、固液比 1 : 10~1 : 100、保压时间 1~2 min。

2 均匀设计优化结果

采用均匀设计方法设计实验方案，并使用均匀设计软件 V4.0 进行实验方案的设计与实验结果的分析。均匀设计方案及实验结果见表 1。

Table 1 Project of $U_{10}(10^3)$ uniform design and test results (standard deviation is 0.0148)

No.	X_1	X_2	X_3	Yield/%
1	300	90	1 : 10	4.07
2	500	10	1 : 10	6.54
3	600	30	1 : 75	6.79
4	500	90	1 : 100	5.98
5	400	50	1 : 50	7.17
6	300	10	1 : 100	6.96
7	600	70	1 : 25	6.48
8	400	50	1 : 50	7.32
9	200	30	1 : 25	6.36
10	200	70	1 : 75	7.30

由均匀设计软件 V4.0 提供的“数据分析功能”可得到最优回归方程

$$Y=3.2847706+0.0076448X_1+0.0617292X_2+0.0352668X_3-0.0000042X_1^2-0.0000843X_1X_3-0.0008624X_2^2+0.0002261X_2X_3$$

表 1 和回归方程中， Y 为人参总皂苷提取率，%； X_1 为提取压力，MPa； X_2 为溶剂乙醇浓度，%； X_3 为固液比， $\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。回归方程的显著性水平 $P=0.01$ ，复相关系数 $R^2=0.9986$ ， $F=202.5 > F_{0.01}(7,2)=99.34$

同样，依均匀设计软件 V4.0 得到：

① 最优工艺条件，溶剂浓度 50%，料液比 1 : 100，提取压力 200 MPa；

② 提取率的预测区间 3.60%~8.55%。

按照上述优化的最佳工艺条件，进行了 3 次验证实验。实验结果与预测结果非常接近，而且重复性也很好，说明优化结果是可靠的。

3 不同提取方法的比较

用同一批次的脱脂样品, 分别进行如下考察: ①50 ml 蒸馏水煎煮 4 h; ②50 ml 50% 乙醇回流 6 h; ③50 ml 50% 乙醇, 在 250 W、50 Hz、恒温条件下, 超声 30 min; ④50 ml 50% 乙醇, 加压 200 MPa、保压 1 min; ⑤超临界 CO₂ 萃取, 萃取压力 30 MPa, 萃取温度 40 °C, 95% 乙醇为携带剂, 携带剂含量为 3%, 萃取时间 4.0 h, CO₂ 流速 2 L·min⁻¹. 实验结果见表 2.

Table 2 Comparison of different extraction technologies

Extraction method	Yield/%
water-reflux	4.98
ethanol-reflux	5.75
ethanol ultrasonic	5.89
ethanol-HPE	7.33
supercritical CO ₂	2.32

从实验结果知, 超高压提取较乙醇回流, 人参皂苷的提取收率提高了 27%, 但提取时间是醇回流的 0.4%. 因此超高压提取方法具有收率高、时间短、能耗低、效益高等优点.

4 实验结果的分析 and 超高压提取的机理探讨

图 1 为压力和溶剂浓度对皂苷得率的影响, 由图 1 可见, 固液比确定时, 在 250~450 MPa 范围内, 溶剂乙醇浓度在 30%~50% 的范围内, 随提取压力升高, 人参中总皂苷的提取收率增高.

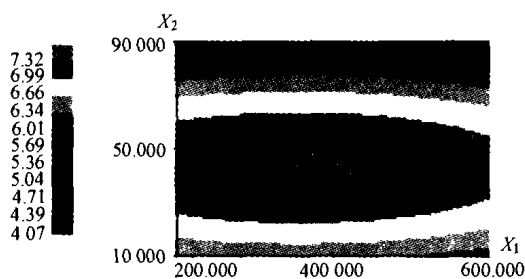


Fig. 1 Yield (%) depending on pressure and concentration of solvent

增加压力可以提高得率, 主要原因为: (1) 增加压力增大了细胞内外压力差, 加快了溶剂的浸润过程, 使人参基块内部毛细孔内快速充满溶剂, 提高了浸润速率; (2) 增压改变了维持药物结构稳定的各种化学键, 推动了化学平衡的移动, 有效成分快速达到溶解平衡, 缩短了提取时间; (3) 超高压

造成了细胞壁和细胞膜的破坏, 有效成分充分暴露出来, 从而使药材成分的溶出更加迅速完全, 提高了得率. 由于人参中皂苷种类多、结构复杂, 要达到快速高效的提取目的, 需要根据皂苷结构、极性的大小等情况选择合适浓度的提取溶剂, 以增大皂苷的溶解度, 降低杂质成分的溶出.

图 2 为溶剂浓度确定时, 压力和料液比对提取收率的影响. 从图上可以看到, 当提取压力在 200~500 MPa, 料液比在 1:55~1:100 时, 人参皂苷提取收率可以达到 7.32% 以上.

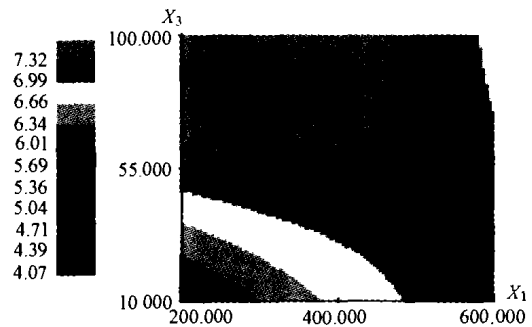


Fig. 2 Yield (%) depending on pressure and the ratio of ginseng and solvent

用一定的溶剂提取固体颗粒中的有效成分时, 溶质通过多孔固体的扩散可以用有效扩散系数来描述, 有效扩散系数与 Fick 定律有关, 溶质在溶剂中的浓度越大, 则在垂直于扩散方向上的摩尔通量越小, 增大固液比, 有利于有效成分的溶出. 因此, 在实际生产中可以采用加大固液比来获得最大的提取得率. 但固液比过大, 有效成分在溶剂中的浓度过低, 会发生分离纯化困难.

图 3 表示提取压力为 200 MPa 时, 以溶剂浓度、固液比为自变量的总皂苷提取收率的关系. 从图上可以看到, 随着溶剂浓度的升高、固液比的增大, 总皂苷的溶出量也相应增多; 当溶剂浓度在 25%~70%, 料液比在 1:55~1:100 时, 总皂苷提取收率可以达到 7.32% 以上.

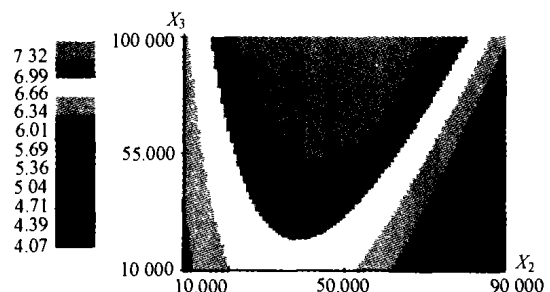


Fig. 3 Yield (%) depending on concentration of solvent and the ratio of ginseng and ethanol

5 结 论

(1) 在常温下使用超高压可以快速、高效地提取人参皂苷, 避免了皂苷因受热发生的结构变化。

(2) 使用超高压提取得率高, 与醇回流方法比较, 提高了 27%。验证实验表明结果可靠。

(3) 超高压提取时间短, 仅是醇回流的 1/360。

(4) 超高压提取能耗低。因为超高压提取只是在升压阶段消耗能量, 在保压、卸压过程并没有能量的消耗。

(5) 提取过程是在一个封闭系统下进行, 没有溶剂的挥发, 绿色环保。

(6) 超高压提取的最佳工艺参数为: 在提取压力 200 MPa、溶剂为浓度 50% 的乙醇、料液比 1:100 时, 皂苷提取得率最高为 7.32%。

超高压提取人参皂苷得率高, 提取时间极短, 工艺操作简单, 能耗低, 绿色环保, 适合于人参皂苷的工业化生产, 为其他天然产物有效成分的提取提供了一种新技术、新工艺。

References

- [1] Zhou Jing (周静), Wang Caiqin (王彩琴), Yuan Yuan (袁媛), Jiang Xuehua (蒋学华). Study on the extraction method of ginseng spohin Re. *Acta. Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2003, **23** (4): 667—670
- [2] Zhang Jing (张晶), Chen Quancheng (陈全成), Gong Xiaojie (弓晓杰), Zheng Yinan (郑毅男), Liu Wenxiu (刘文秀). Effect of different method on extracting ratios of ginsenosides. *Journal of Jilin Agricultural University* (吉林农业大学学报), 2003, **25** (1): 71—73
- [3] Song Qihuang (宋启煌), Bai Yan (白研), Zhou Jiahua (周家华), Song Zhaobin (宋照斌), Yan Wenfeng (闫文峰). Study on process of extracting ginsenosides from pfalfia. *The Chemical Engineering of Guangzhou* (广州化工), 2000, **28** (4): 94—96
- [4] Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies, high pressure processing. <http://vm.cfsan.fda.gov/comm/ift-hpp.html>
- [5] Zhang Shouqin, Zhu Junjie, Wang Changzheng. Novel high pressure extraction technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004, **278**: 471—474