

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.005

# 响应曲面法优选人参葛根煎膏醇沉工艺

丛婧<sup>1</sup>, 王秀丽<sup>2</sup>

(1. 北京典奥中卫医药科技有限公司, 北京 100054; 2. 北京中医药大学, 北京 102488)

**摘要:**目的 优选人参葛根煎膏的醇沉工艺。方法 采用响应曲面法,以乙醇体积分数和醇沉时间为考察因素,沉淀率和总皂苷含量为评价指标进行工艺优选。结果 优选工艺为乙醇体积分数 60%,醇沉 24 h,沉淀率为 76.09%,总皂苷含量为 3.77%,经验证,该工艺稳定、合理可行。结论 制得的煎膏符合产品质量标准,可用于工业化生产。

**关键词:**响应曲面法;醇沉提取;煎膏;工艺优选;总皂苷含量;沉淀率

中图分类号:R932;TQ460.6

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)16-0017-03

## Optimization of Ethanol Precipitation Process of *Panax Ginseng* and *Pueraria Lobata* Concentrated Decoctions by Response Surface Method

CONG Jing<sup>1</sup>, WANG Xiuli<sup>2</sup>

(1. Beijing Dian'ao Zhongwei Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Beijing, China 100054; 2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China 102488)

**Abstract: Objective** To optimize the ethanol precipitation process of *Panax ginseng* and *Pueraria lobata* concentrated decoction.

**Methods** The response surface method was used to optimize the process with the ethanol concentration and the ethanol precipitation time as the factors, the precipitation rate and total saponin content as the indexes. **Results** The optimum process was as follows: the ethanol concentration was 60%, the ethanol precipitation time was 24h, the precipitation rate was 76.09%, and the total saponin content was 3.77%. After verification, the process was stable, reasonable and feasible. **Conclusion** The prepared concentrated decoction meets the quality standard of the product, which can be used in industrial production.

**Key words:** response surface method; ethanol precipitation process; concentrated decoction; process optimization; content of total saponins; precipitation rate

保健食品不以疾病治疗为目的,可调节机体功能<sup>[1]</sup>,符合传统医学的“未病先防”理念<sup>[2]</sup>,近年来得到了规范化发展。人参葛根煎膏是拟开发的一款以人参、葛根等为原料的保健食品制剂。产品水提液中含有淀粉等成分,浓缩成清膏放冷后易成糊状,影响成品质量,需对提取液进行醇沉。为确保工艺的合理,需对醇沉工艺进行优选。本试验中以沉淀率和浓缩膏总皂苷含量为评价指标进行工艺优选<sup>[3-4]</sup>。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

D100B 型数显定时恒流泵(上海青浦沪西仪器厂);DHG-9055A 型鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器厂);DTG 系列超声波清洗机(鼎泰<湖北>生化科技设备有限公司);SE402F 型电子分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司);MS204TS/00 型万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);Q/IROE-07-201 型微量移液器(1 000  $\mu$ L,上海求精生化试剂仪器有限公司)。

#### 1.2 试药

无水乙醇(分析纯,天津市北辰方正试剂厂,批号为 20170503);冰乙酸(分析纯,天津市富宇精细化工有限

公司,批号为 20170715);Amberlite® XAD-2 大孔树脂(Ballancome chemical Co.);中性氧化铝(100~200 目,层析用 FCP,国药集团化学试剂有限公司,批号为 20170110);人参皂苷 Re 对照品(中国食品药品检定研究院,含量 93.4%);香兰素(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司,批号为 20160326);高氯酸(上海桃浦化工厂)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 总皂苷含量测定

试样处理:取人参皂苷 Re 对照品 0.010 1 g,精密称定,用甲醇溶解并定容至 10 mL,即得每 1 mL 含人参皂苷 Re 0.969 6 mg 的人参皂苷 Re 对照品溶液。

取香草醛 0.5 g,精密称定,加冰乙酸溶解并定容至 10 mL,即得 5% 香草醛-冰乙酸溶液,使用前新制。

线性关系考察:精密吸取人参皂苷 Re 对照品溶液 50,100,150,200,250  $\mu$ L,分别加入 5 支锥形瓶中,60℃ 热风挥发溶剂,用 0.5 mL 移液管各准确加入新鲜制备的 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸 0.8 mL,60℃ 恒温加热 10 min,取出,流水冷却 2 min,准确加入冰醋酸 5 mL,充分摇匀,随行试剂空白,按紫外分光光度法,在 560 nm 波长处测定吸光度。以吸光度(Y)为纵坐

标、人参皂苷 Re 进样量 ( $X$ ) 为横坐标进行线性回归, 得回归方程  $Y = 3.5344X - 0.0054$ ,  $R^2 = 0.9993$  ( $n = 5$ )。结果表明, 人参皂苷 Re 进样量在  $58.17 \sim 407.20 \mu\text{g}$  范围内与吸光度线性关系良好。

## 2.2 响应曲面优选试验

水提醇沉是中药制药重要除杂方法, 醇沉的醇体积分数多选  $50\% \sim 70\%$  [15-61], 且为主要影响因素, 醇沉时间多选 1 d, 因随时间的延长, 变化趋于平稳, 故本试验设计醇沉时间为  $20 \sim 28 \text{ h}$  [17-91]。采用响应曲面优选设计 (JMP 软件), 以醇沉浓度和时间为影响因素, 确定水提醇沉工艺最佳区域。因素设计见表 1, 试验数据见表 2。

表 1 试验设计因素表

| 影响因素   | 取值范围         | 响应因素  |
|--------|--------------|-------|
| 乙醇体积分数 | (50%, 70%)   | 总皂苷含量 |
| 醇沉时间   | (20 h, 28 h) | 沉淀率   |

注: 总皂苷含量为 100 g 浸膏中总皂苷含量, 表 2、表 4、表 5 同。

表 2 试验数据表

| 试验号 | 乙醇体积分数 (%) | 醇沉时间 (h) | 总皂苷含量 (%) | 沉淀率 (%) |
|-----|------------|----------|-----------|---------|
| 1   | 60         | 24       | 3.19      | 76.75   |
| 2   | 70         | 20       | 2.54      | 63.25   |
| 3   | 60         | 18.3     | 3.98      | 63.75   |
| 4   | 45.8       | 24       | 2.03      | 73.52   |
| 5   | 50         | 20       | 1.73      | 71.00   |
| 6   | 60         | 24       | 3.54      | 78.13   |
| 7   | 60         | 24       | 3.92      | 76.61   |
| 8   | 60         | 29.6     | 4.28      | 77.78   |
| 9   | 50         | 28       | 2.48      | 74.51   |
| 10  | 70         | 28       | 3.78      | 63.89   |
| 11  | 60         | 24       | 4.20      | 75.89   |
| 12  | 60         | 24       | 4.17      | 76.75   |
| 13  | 74.1       | 24       | 3.22      | 46.01   |

取相对密度为  $1.10 \sim 1.15$  ( $60^\circ\text{C}$ ) 的煎膏水提浓缩液。13 份样品做醇沉试验, 按表 1 安排响应曲面试验, 各取 80 mL 样品, 在一定量程的量筒中醇沉, 达到规定的醇沉体积分数和时间后, 记录醇沉后上清液体积 ( $V_1$ ), 并吸取一定体积 ( $V_2$ ) 的上清液, 减压浓缩 ( $60 \sim 70^\circ\text{C}$ ,  $-0.06 \sim -0.08 \text{ MPa}$ ) 去醇, 放置表面皿中预冻, 冷冻真空干燥 12 h 后称质量为  $m_1$ , 80 mL 浓缩液的固形物总质量为  $m_0$ , 折算出沉淀量, 按下列公式计算沉淀率。醇沉后将上清液收集浓缩至相对密度为  $1.20 \sim 1.30$  ( $60^\circ\text{C}$  测), 以此样品测定总皂苷含量。

$$\text{沉淀率}(\%) = m_1 V_1 / (m_0 V_2) \times 100\%$$

## 2.3 数据分析

方差分析: 结果见表 3 和表 4。

表 3 沉淀率方差分析结果

| 项目           | 平方和    | 自由度 | F 值   | 概率     |
|--------------|--------|-----|-------|--------|
| A            | 410.05 | 1   | 27.89 | 0.0011 |
| B            | 71.95  | 1   | 4.89  | 0.0626 |
| A × B        | 2.06   | 1   | 0.14  | 0.7193 |
| A × A        | 423.90 | 1   | 28.83 | 0.0010 |
| B × B        | 37.00  | 1   | 2.52  | 0.1567 |
| 失拟项          | 100.28 | 3   | 50.75 | 0.9974 |
| 纯误差          | 2.63   | 4   |       |        |
| $R^2$        | 0.899  |     |       |        |
| Adjust $R^2$ | 0.827  |     |       |        |

注: “A”指乙醇体积分数, “B”指醇沉时间。表 4、图 2 同。

表 4 总皂苷含量方差分析结果

| 项目           | 平方和    | 自由度 | F 值   | 概率     |
|--------------|--------|-----|-------|--------|
| A            | 1.80   | 1   | 5.75  | 0.0477 |
| B            | 0.73   | 1   | 2.33  | 0.1709 |
| A × B        | 0.06   | 1   | 0.19  | 0.6746 |
| A × A        | 4.18   | 1   | 13.38 | 0.0081 |
| B × B        | 0.0038 | 1   | 0.01  | 0.9158 |
| 失拟项          | 1.44   | 3   | 2.56  | 0.1933 |
| 纯误差          | 0.75   | 4   |       |        |
| $R^2$        | 0.757  |     |       |        |
| Adjust $R^2$ | 0.583  |     |       |        |

模型适用性分析: 模型拟合是否合适, 需依据预测值与实际值的拟合情况判断。由图 1 可见, 代表实测值的黑点均布于预测值两侧,  $P < 0.05$  表示模型拟合合适。

工艺优选结果: 由图 2 C 响应曲面等高线图的白色区域给出的为最佳操作区域可见, 醇沉体积分数为  $58\% \sim 65\%$ , 醇沉时间为  $22 \sim 28 \text{ h}$ , 总皂苷含量为  $3.75\% \sim 4.05\%$ , 杂质去除率为  $76\% \sim 78\%$ 。经计算, 最佳操作点条件为醇沉体积分数 60%, 醇沉时间 28 h, 总皂苷含量最大值为 4.08%, 沉淀率最大值为 77.58%。考虑到实际生产排班习惯, 在以后的生产中拟取 60% 乙醇醇沉 24 h 为操作条件, 预测总皂苷含量为 3.80%, 沉淀率为 76.88%。

## 2.4 工艺验证

按优选工艺条件, 重复操作 3 次, 取平均值, 并进行工艺验证。结果见表 5。可见, 工艺稳定性和重复性均良好。

## 3 讨论

中药水提液精制工艺中醇沉法较常用, 可澄清提取液、减少服药量和去除杂质等, 操作过程简单、溶剂安全性高、除杂效果好 [10]。醇沉工艺选用适宜体积分数的乙醇, 可有效沉降糊化淀粉、黏液质、蛋白质等杂质。多选用  $50\% \sim 60\%$  乙醇去除蛋白质、无机盐类杂质 [11]。乙醇体积分数是醇沉的主要影响因素 [7], 合理加以控制, 系统地对醇沉工艺进行优选, 可避免制剂中有效成分流失。醇沉体积分数

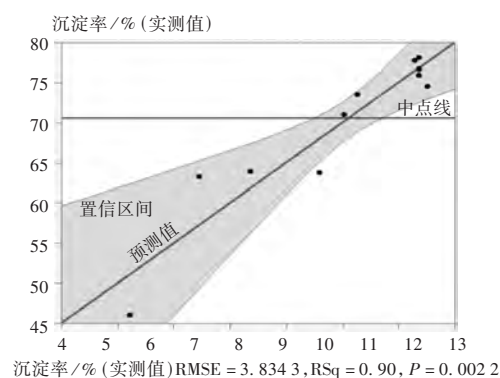
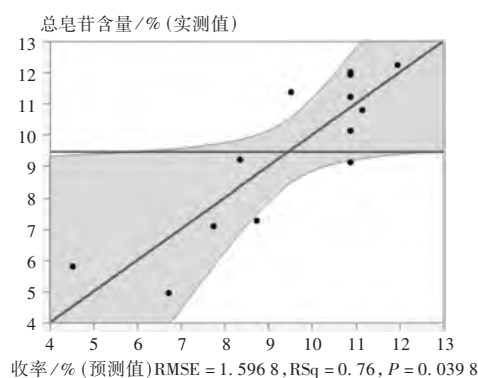


图1 预测值区间散点图

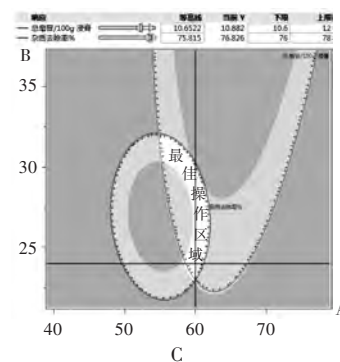
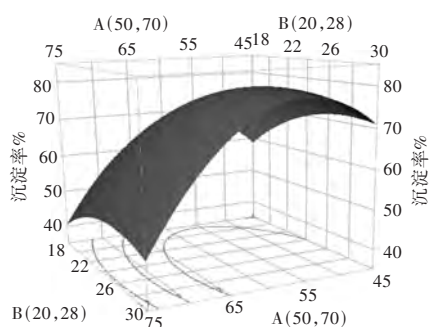
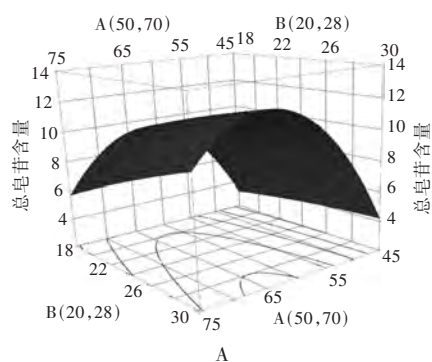


图2 响应曲面和优选等高线图

表5 工艺验证试验结果(%)

| 项目       | 1     | 2     | 3     | $\bar{X}$ | RSD  |
|----------|-------|-------|-------|-----------|------|
| 沉淀率(%)   | 73.96 | 76.63 | 77.68 | 76.09     | 2.52 |
| 总皂苷含量(%) | 3.69  | 3.75  | 3.88  | 3.77      | 2.57 |

对沉淀率和浸膏中总皂苷含量影响较大,随前者增加,后者均先增大后减小,这与总皂苷的溶解度和杂质蛋白质与淀粉的溶解度有关,醇沉时间因素的影响则相对较小。

目前中药类保健食品中提取、醇沉工艺研究多选用单因素试验、正交设计试验对提取工艺进行优化筛选。其中,单因素试验次数多,并未考虑因素之间的交互作用,使得其成本较高;正交设计试验应用较普遍,可得出各因素间的交互作用及可能的影响趋势。响应曲面法<sup>[12]</sup>是优化随机过程的统计学方法,建立连续变量曲面模型,寻找试验指标与各因子间的定量规律,找出各因子水平的最佳组合。其在多元线性回归的基础上主动收集数据,以获得具有较好性质的回归方程。建立的多维空间曲面较接近实际情况,近年来研究应用实例较多,所需要的试验组数相对较少,优化工艺效果较优<sup>[13]</sup>,且不同于正交试验,只能在设定的条件中选择。

本研究中选取的产品是以人参、葛根等为主要原料制成煎膏,以水提醇沉工艺成型,为确保产品的质量,综合考虑产品标志性成分总皂苷含量、沉淀率等因素,利用 JMP 软件可视化能力强的特点,研究水提醇沉工艺最佳条件,结合模型拟合,确定以 60% 乙醇醇沉 24 h,制得的煎膏符合最终产品质量标准。

## 参考文献:

- [1] 马双双. 中国功能性食品的现状及其发展趋势[J]. 现代食品, 2016(11):22-23.
- [2] GB169740-2014, 食品安全国家标准保健食品[S].
- [3] 周泽琴,蔡延渠,张雄飞,等. 中药水提取有效成分转移率低的问题分析[J]. 中草药,2014,45(23):3478-3485.
- [4] 晏晨,丁丽馨,张卫青,等. 枳茵益子安母颗粒醇沉工艺的优化[J]. 中成药,2018,40(7):1630-1632.
- [5] 施天慧,江华. 多指标正交试验优选丹参川芎复方的提取工艺[J]. 中国药业,2017,26(20):29-33.
- [6] 申玉龙,安丽娜,张鹏,等. 多指标优选金麻杏止咳片提取工艺[J]. 中国药业,2017,26(23):4-9.
- [7] 裴莉昕,纪宝玉,陈随清,等. 葛根多糖提取工艺的优化[J]. 中国现代中药,2017,19(4):553-567.
- [8] 万李. 正交试验法优化麻桔止咳颗粒水提醇沉工艺[J]. 中国药业,2016,25(7):8-10.
- [9] 向采芹,侯丰爵,冯建安,等. 金钱草醇提水沉工艺的优化[J]. 中成药,2018,40(10):2308-2311.
- [10] 万丹娜,饶倩如,俞梦莹,等. Box-Behnken 设计-响应面法优化山楂的醇沉工艺[J]. 中国药房,2018,29(15):2078-2081.
- [11] 袁建. 正交试验法优化鼻爽排毒颗粒水提醇沉工艺[J]. 中国药业,2015,24(18):59-61.
- [12] 李红娇,刘婷,孙兴姣,等. 响应面法优化蒙药肋柱花总皂苷超声提取工艺[J]. 中国药业,2018,27(2):26-30.
- [13] 许海燕. 响应面法优化马齿苋多糖醇沉工艺[J]. 食品研究与开发,2017,38(8):65-70.

(收稿日期:2019-02-29)