

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 2 Result of $L_9(3^4)$ orthogonal test

编号	A	B	C	D	干膏收 率/%	鞣质提 取率/%
1	1	1	1	1	60.825	37.315 0
2	1	2	2	2	69.745	40.706 7
3	1	3	3	3	75.885	45.855 4
4	2	1	2	3	82.740	47.055 1
5	2	2	3	1	62.845	36.451 2
6	2	3	1	2	69.245	36.842 8
7	3	1	3	2	69.230	39.531 0
8	3	2	1	3	73.457	42.506 3
9	3	3	2	1	65.045	38.274 8
干膏收率 K_1 206.455 212.795 203.545 188.715						
K_2 214.830 206.065 217.530 208.220						
K_3 207.850 210.175 207.960 232.100						
R 8.375 6.730 13.985 43.385						
鞣质 K_1 123.877 1 123.901 1 116.272 5 112.041 0						
提取 K_2 120.349 1 119.664 5 126.036 6 117.080 5						
率 K_3 120.312 1 120.973 0 121.837 6 135.416 8						
R 3.5650 4.236 6 9.764 1 23.375 8						

$B > A$ 。综合评价最佳优选条件为： $A_2B_1C_2D_3$ ，即选用 30% 丙酮水溶液，8 倍量溶剂，加热回流 30 min，提取 3 次。

2.5 验证试验：按照最佳工艺制备 3 批样品，结果干膏收率和鞣质提取率分别为 82.501% 和 47.182 7%。结果均符合要求。

3 讨论

本实验确定了元宝枫果壳中鞣质的提取最佳工

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of Variance

方差来源	离差平方和	自由度	均 方	F 值	显著性
干 A	29.918 8	2	14.959 4	2.94	
膏 B(误差)	10.188 3	2	5.094 2		
收 C	36.589 1	2	18.294 6	3.59	
率 D	317.289 2	2	158.644 6	31.14	$P < 0.05$
鞣质 A(误差)	2.795 3	2	1.397 6		
提取 B	3.161 5	2	1.580 7	1.13	
率 C	15.712 6	2	7.856 3	5.62	
D	100.893 8	2	50.446 9	6.10	$P < 0.05$

$$F_{0.05}(2,2)=19.0 \quad P_{0.01}(2,2)=99.0$$

艺为 30% 丙酮水溶液，8 倍量溶剂，加热回流 30 min，提取 3 次。其中因素提取次数为主要影响因素，具有显著性，这些指标可为生产提供参考依据。

作为以鞣质为主要治疗组成成分的新药，其制剂会更有前景。元宝枫果壳中含有较高的鞣质，这是罕见的，尤其是其药理作用值得重视，拟进一步考察其抗肿瘤、抗艾滋病疗效。

References:

- [1] The type analysis and content determination of the tannin on the same genus of the *Acer truncatum* Bunge [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 1995, 16(3): 290-291.
- [2] Zhang B S, Li C, Zhang R Z. Quantative determination of tannins in *Songaria cynomorium* by complexometry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23(11): 517.
- [3] Wang L, Wang X, Shi D W. Determination of tannins in Chinese traditional medicine *Suo-Yang* (*Herba Cynomorii*) [J]. *J Shanghai Med Univ* (上海医科大学学报), 1996, 23 (2): 150.

甘草酸提取液膜除杂浓缩对酸沉工序的影响

崔朝亮, 凌秀菊, 李 祝, 王 梅, 万端极

(湖北工业大学化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430068)

甘草是我国的传统中药材,主产地为内蒙古、甘肃、新疆等地。甘草味甘、平,功能清热解毒、润肺止咳、调和诸药。甘草具有抗炎、抗变态反应、抗溃疡、抗 HIV、抗癌、诱生干扰素、调节细胞免疫等功能。甘草中含有多种黄酮类化合物、三萜类化合物、香豆素、生物碱、氨基酸、雌性激素、有机酸等多种成分。其中三萜类化合物甘草酸是其主要活性成分。甘草酸及其盐类不仅具有增甜、增香和增加风味的作用,而且还可以调理身体和预防某些疾病(如肥胖症、糖尿病、心血管病等)^[1]。膜分离技术是一门新型分离技术,兼有分离、浓缩、纯化和精制的功能,又有高

效、节能、环保、分子级滤过以及过程简单、易于自动化控制等特性。甘草酸的传统提取工艺采用碱溶酸沉法,但是甘草酸收率低、质量分数低;酸沉时耗酸量大,且产生大量酸性废液,难以治理,对环境造成严重污染。针对这些问题本实验采用膜分离技术对此工艺进行了改造,经微滤除杂、纳滤浓缩(浓缩 10 倍)后,对浓缩液进行酸沉,并找到了最佳 pH 值,与原工艺进行了比较。

1 仪器与材料

PHS-2C 数显酸度计(上海宇隆仪器有限公司),膜除杂浓缩装置(湖北工业大学轻工技术工程中

心), 惠普 HP1100 液相色谱仪, FA-N/JA-N 电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司), 超声波药品处理机(济宁金百特电子有限责任公司), DZX-3 型真空干燥箱(上海福玛实验设备有限公司)。

乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 由新疆尉犁县金兴甘草制品有限公司安伟山提供并鉴定, 甘草酸单铵盐对照品(Sigma 公司), 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取分离的工艺流程: 甘草按传统的氨提工艺分 3 次制得提取液, 滤过后的滤液进行微滤, 所得滤液再进行纳滤, 所得浓缩液进行直接酸沉、不除杂直接浓缩酸沉、除杂浓缩后酸沉试验。得到的沉淀干燥后得到甘草酸粗品。其中甘草取量 15 kg, 用含 1.5 L 氨水的 120 kg 自来水提取 1 次, 再加入含 0.75 L 氨水的 90 kg 自来水提取第 2 次。

2.2 甘草酸的 HPLC 法测定^[2]

2.2.1 色谱条件: Agilent C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1); 检测波长: 250 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备: 取甘草酸单铵盐对照品 10 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备: 取粗粉约 0.3 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 加流动相至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 测定方法: 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 计算甘草酸的质量和质分数。

2.3 微滤过程试验: 甘草酸提取液经滤过后的滤液用微滤膜滤过除杂, 在 48 ℃, 进口压力 0.3 MPa, 出口压力 0.2 MPa 的操作条件下, 一定时间间隔测定其膜通量, 并做出膜通量衰减曲线, 见图 1。结果表明膜的平均通量可达 300 L/(h · m²) 左右, 说明此微滤膜系统具有较强的处理能力。膜通量随滤过时间的延长而逐步衰减, 但膜通量衰减的速度较缓慢, 在实际生产中, 浸提液的总量较大, 可长时间稳定运行, 维持较高的膜通量。

2.4 纳滤过程试验: 经微滤膜除杂后的滤液再用纳滤膜浓缩, 在 38 ℃, 进口压力为 1.65 MPa, 出口压力为 1.6 MPa 的操作条件下, 一定时间间隔测定其膜通量, 并做出膜通量衰减曲线, 见图 2。结果表明膜的平均通量可达 1.2 L/(min · 支) 左右, 这说明

此纳滤膜系统具有较强的处理能力。膜通量的衰减随滤过时间的延长而逐步衰减, 但膜通量衰减的速度较缓慢, 且平均通量较大, 当膜通量降至较低时, 已基本达到了浓缩的目的(10 倍)。因此, 此纳滤系统能长时间稳定运行, 满足生产的需要。

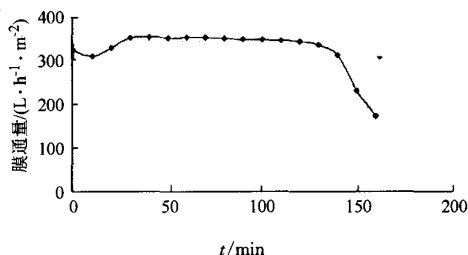


图 1 微滤膜通量的衰减

Fig. 1 Flux attenuation pattern of micro-filtration membrane

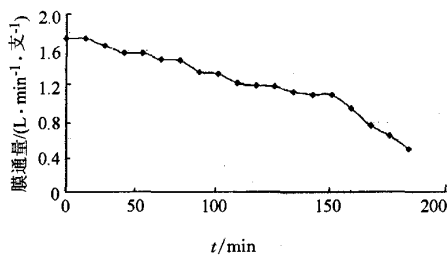


图 2 纳滤膜通量的衰减

Fig. 2 Flux attenuation pattern of nano-filtration membrane

2.5 酸沉 pH 值的确定

2.5.1 未除杂未浓缩提取液酸沉 pH 值的确定: 分别取 400 mL 浸提液在不同 pH 值下用 98% 浓硫酸进行酸沉试验, 结果见表 1。可以看出, 未经浓缩的提取液在 pH 1.5 时沉淀的现象最好, 收率和质量分数也较高, 因此, 酸沉 pH 值应选定为 1.5。将 400 mL 提取液在 pH 1.5 酸沉时消耗的 98% 浓硫酸的量折算成每千克甘草消耗 98% 浓硫酸的量为 101 mL, 每千克甘草产生的酸性废液的量为 16.8 kg。

2.5.2 未除杂浓缩 10 倍的浓缩液酸沉 pH 值的确定: 分别取 400 mL 未除杂浓缩液在不同 pH 值下用 98% 浓硫酸进行酸沉试验, 结果见表 2。可以看出, 未经除杂的浓缩液酸沉的沉淀效果不好, 收率和质量分数很低。其最佳 pH 值选定为 2.0。将 400 mL 提取液在 pH 2.0 酸沉时消耗的 98% 浓硫酸的量折算成每千克甘草消耗 98% 浓硫酸的量为 21.17 mL, 每千克甘草产生的酸性废液的量为 1.69 kg。

2.5.3 除杂并浓缩 10 倍的浓缩液酸沉 pH 值的确定: 分别取 400 mL 浓缩液在不同的 pH 值下用 98% 浓硫酸进行酸沉试验, 结果见表 3。可以看出,

表 1 未除杂未浓缩提取液中甘草酸的酸沉结果

Table 1 Results of acid recipitation of glycyrrhizic acid for extraction liquid without impurity removal and concentration

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
2.5	0.629 1	36.8	2.65	1.8	溶液变浑浊,产生少量沉淀
2.0	1.582 1	35.2	6.66	2.1	生成沉淀,分散性较好
1.5	2.098 2	30.6	8.83	2.4	产生沉淀,分散性较好
1.0	2.257 9	28.4	9.50	2.6	产生沉淀,黏度变大

表 2 未除杂的 10 倍浓缩液的酸沉结果

Table 2 Results of acid precipitation for ten times condensed liquid without impurity removal

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
3.0	2.531 2	8.0	1.06	3.125	出现少量沉淀
2.5	4.463 9	12.0	1.87	3.53	出现少量沉淀,黏度大
2.0	6.459 1	11.2	2.71	3.95	有一定沉淀,黏度很大
1.5	5.023 3	9.8	2.11	4.33	有一定沉淀,沉淀物成流动状

除杂后的 10 倍浓缩液在 pH 2.5 时进行酸沉,沉淀均匀,所得甘草酸的质量分数和收率都较高,因此,酸沉 pH 值应选定为 2.5。将 400 mL 浓缩液在 pH 2.5 酸沉时消耗的 98% 浓硫酸的量折算成每千克甘草消耗 98% 浓硫酸的量为 21.15 mL,每千克甘草的酸性废液的量为 1.68 kg。

表 3 除杂后的 10 倍浓缩液酸沉结果

Table 3 Results of acid precipitation for ten times condensed liquid with impurity removal

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
3.5	3.926 1	48.0	1.65	3.87	溶液变浑浊,出现少量沉淀
3.0	12.047 6	47.8	5.06	4.44	产生沉淀,分散性较好
2.5	17.309 5	41.2	7.27	5.04	产生沉淀,分散性较好
2.0	18.404 8	38.9	7.73	5.51	产生结块,黏度变大

3 讨论

产生不经过除杂直接浓缩的甘草浓缩液几乎不能酸沉甘草酸,主要原因是植物蛋白、胶体等杂质浓度增高,造成甘草酸析晶时包含杂质而不能成晶,故所得甘草酸的质量分数和收率都很低。经过除杂再浓缩的工艺是最佳工艺。根据结果认为,在此方法的基础上进一步除杂后寻找合理的酸沉条件,可直接得到 60% 左右质量分数的甘草酸产品,且收率也会再提高。故生产 60% 左右质量分数的产品可不用工序复杂、污水量大、收率低的树脂精制法或单盐醇沉法。本工艺能为企业降低能耗,增加效益,降低对环境的污染。

References:

- [1] Wang Z D. Preparation and application of glycyrrhizic acid [J]. *Sichuan Chem Ind* (四川化学工业), 1998(2): 53-56.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2005.

5 种中药注射液细菌内毒素检测方法的建立

宋晓坤¹, 李利娟²

(1. 天津医科大学附属肿瘤医院, 天津 300060; 2. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

中药注射液是我国特有的品种,临床应用越来越广泛。由于中药注射剂提取、制备复杂,流程长,极易引入热原,因此,中药注射剂造成污染的因素较多,质量标准也较难控制。中药注射剂一般采用热原检查法检查细菌内毒素。鉴于热原检查法成本高、繁琐等缺点,采用 BET 对中药注射剂进行检查已成为发展趋势。因此,本实验采用 BET 法对复方苦参注射液、注射用穿琥宁、艾迪注射液、参麦注射液和华蟾素注射液进行了细菌内毒素的检查。

1 实验材料

复方苦参注射液(山西金晶药业有限公司,规格 5 mL×5 支),注射用穿琥宁(哈尔滨三联药业有限

公司,规格 40 mL×10 支),艾迪注射液(贵州益佰制药股份有限公司,规格 10 mL×5 支),参麦注射液(正大青春宝药业有限公司,规格 10 mL×3 支),华蟾素注射液(安徽金蟾生化股份有限公司,规格 5 mL×10 支)。

鲎试剂(TAL, 0.1 mL/支, $\lambda=0.5, 0.25$ EU/mL, 批号 20030830、20030509),细菌内毒素工作标准品(10 EU/mL, 批号 20021206),细菌内毒素检查用水(5 mL/支, 批号 20020531、20030324)。以上试剂均由福州新北生化工业有限公司,湛江安度斯生物制品厂提供。

电热恒温培养箱(天津市中环试验电炉有限公