

# 泡沫分离绞股蓝粗提液中绞股蓝皂苷的工艺研究

王琳, 吴兆亮\*, 赵艳丽, 李金, 胡春风

(河北工业大学 生物工程系, 天津 300132)

**摘要:** 目的 研究泡沫分离法分离绞股蓝粗提液中皂苷的工艺。方法 利用泡沫分离法对绞股蓝粗提液中的皂苷进行分离, 以回收率和富集比为指标确定最佳分离工艺。结果 最佳分离工艺为粗提液皂苷质量浓度为 3.21  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、气体流速 30 mL/min、塔装液量 110 mL、pH 值 9.0 时, 皂苷回收率为 49.20%, 富集比可达 4.511。结论 泡沫分离法是分离绞股蓝粗提液中皂苷的简单、有效方法。

**关键词:** 绞股蓝; 绞股蓝皂苷; 泡沫分离

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0203-04

## Technology of extracting gypenoside from crude *Herba Gynostemmae Pentaphylli* solution by foam ing separation

WANG Lin, WU Zhao-liang, ZHAO Yan-li, LI Qian, HU Chun-feng

(Department of Biengineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300132, China)

**Abstract: Objective** To study the method of extracting the gypenoside from crude *Herba Gynostemmae Pentaphylli* solution. **Methods** The gypenoside was extracted from crude *Herba Gynostemmae Pentaphylli* solution by foam ing separation. The optimum conditions were obtained through calculating the recovery rate and enrichment ratio. **Results** Under the optimum conditions: the concentration of the gypenoside in crude *Herba Gynostemmae Pentaphylli* solution was 3.21  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , the gas flow rate was 30 mL/min, the volume of the solution was 110 mL, and pH value was 9.0 as well, the recovery rate of gypenoside was 49.20% and the enrichment ratio could reach 4.511. **Conclusion** Foam separation is a simple and effective method of extracting gypenoside from crude *Herba Gynostemmae Pentaphylli* solution.

**Key words:** *Herba Gynostemmae Pentaphylli*; gypenoside; foam ing separation

绞股蓝为葫芦科绞股蓝属长梗绞股蓝 *Gynostemma longipes* C. Y. Wu ex C. Y. Wu et S. K. Chen 的全草, 其中的皂苷类物质为其活性成分。皂苷是一类结构复杂的双亲性大分子苷类化合物, 具有重要的生理活性<sup>[1,2]</sup>。传统的皂苷的提取方法主要是水提法和醇提法, 这些方法存在耗时长、溶剂耗量大、易污染环境、分离成本高及在提取过程中有效成分损失严重等缺点, 收率一般在 30% 左右<sup>[3]</sup>。泡沫分离法具有操作工艺简单、对环境不产生污染、设备投资和操作费用低等优点, 收率可达 49%<sup>[4]</sup>。根据绞股蓝皂苷是一类生物表面活性物质的特性, 本实验提出采用泡沫分离法提取绞股蓝粗提液中皂苷的工艺研究, 以探索泡沫吸附分离技术应用于绞股蓝粗提液中成分分离的新途径。

### 1 仪器、试剂与材料

752 型紫外可见分光光度计(上海精密科学仪

器有限公司); 高速离心机(北京医用离心机厂); 表面张力仪(承德实验机厂); 泡沫分离塔(内径 35 mm, 高 500 mm, 自制)。

人参皂苷 Rb<sub>1</sub>(中国药品生物制品检定所); 其他试剂为分析纯, 水为去离子水; 绞股蓝购于天津敬医堂大药房, 经廊坊师范大学生命科学学院王建普教授鉴定。

### 2 方法与结果

2.1 绞股蓝粗提液的制备: 取绞股蓝 20 g, 加入蒸馏水 600 mL 浸泡一夜(18 h 左右), 加热煮沸 30 min, 冷却至室温, 4 500 r/min 离心 10 min, 取上清液减压滤过, 定容至 500 mL, 相当于每毫升粗提液中含绞股蓝 40 mg。

#### 2.2 绞股蓝皂苷的测定

2.2.1 标准曲线的绘制<sup>[5]</sup>: 精密称取人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 5 mg 于 2 mL 量瓶中, 加蒸馏水溶解稀释至刻度, 分

收稿日期: 2007-03-29

作者简介: 王琳(1981—), 女, 河北廊坊人, 硕士, 研究方向为生物分离工程及生物发酵工程。E-mail: wanglin810325@163.com

\* 通讯作者 吴兆亮 Tel: (022)26564304 E-mail: zhaoliangwu@163.com

别取 0、5、10、15、20、25  $\mu\text{L}$ ，用香草醛-冰醋酸法显色，用紫外分光光度计在 545 nm 波长下测定吸光度，绘制标准曲线，得线性方程  $A = 0.014\ 04\ C$ ， $r = 0.996$ ，线性范围：0~ 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2.2 测定：取实验中的溶液，测定吸光度，依线性方程得出皂苷质量浓度，然后进行各项计算。

2.3 工艺衡量指标的确定：根据泡沫分离的特点，采用两个参考指标：回收率和富集比衡量工艺。

回收率 = (泡沫液中皂苷的质量浓度  $\times$  泡沫液的体积) / (粗提液中皂苷的质量浓度  $\times$  粗提液的体积)  $\times 100\%$

富集比 = 泡沫液中皂苷的质量浓度 / 粗提液中皂苷的质量浓度

### 2.4 影响工艺参数的考察

2.4.1 pH 值的影响：取 500 mL 绞股蓝粗提液，加相同体积蒸馏水稀释，测定，计算得其中绞股蓝皂苷的质量浓度为 4.274  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将绞股蓝粗提液分装在 5 个小烧杯中，用盐酸和氢氧化钠分别调节 pH 7.0、8.0、9.0、10.0、11.0（由于绞股蓝皂苷在酸性条件下易分解，不稳定，而在 pH 8~ 9 时较稳定<sup>[6]</sup>），室温下用表面张力测定仪测其表面张力，结果见图 1。可见溶液的表面张力随着 pH 值的变化而变化，pH 值 9 时表面张力值最低，此时原料液的起泡性能最好，适于进行泡沫分离，所以选取泡沫分离操作时的 pH 值在 9.0 左右。

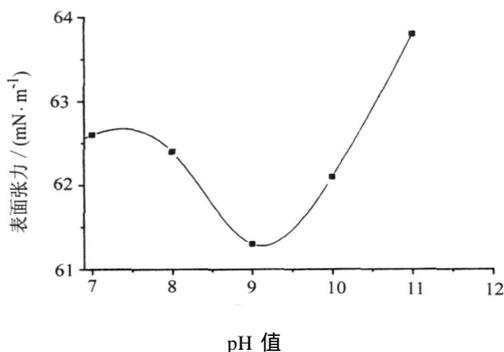


图 1 pH 值对溶液表面张力的影响

Fig. 1 Effects of pH value on solution surface tension

2.4.2 粗提液质量浓度的影响：取 500 mL 绞股蓝粗提液，分别稀释至不同质量浓度，测其表面张力和吸光度，结果见图 2。

可以看出随着原料液质量浓度的增大，表面张力逐渐减小。粗提液表面活性的大小可以通过表面张力值反映出来，表面张力值小则表面活性较高。又由于若表面活性物质的质量浓度高于临界胶束浓度，该物质便会在溶液中及溶液表面形成胶团或半胶团，从而影响泡沫分离的效果。由图 2 得绞股蓝皂苷溶液的临界胶束浓度为 12.11  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，所以选择

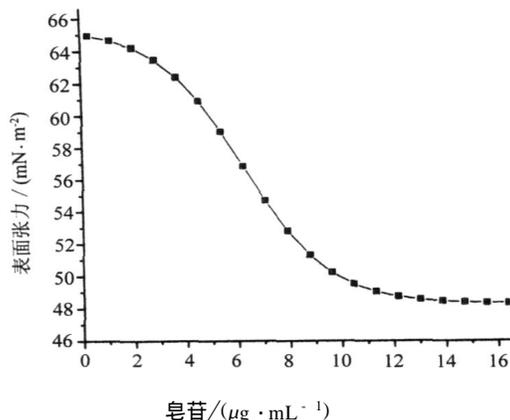


图 2 提取液质量浓度对溶液表面张力的影响

Fig. 2 Effects of concentration on solution surface tension

进料质量浓度应小于此值。

绞股蓝粗提液稀释至不同质量浓度，分别在 20  $^\circ\text{C}$ ，pH 9，气速 30 mL/min，塔装液量均为 110 mL 情况下进行泡沫分离，测定吹出的泡沫液体积及其粗提液和泡沫液的吸光度，计算富集比和回收率，见图 3。

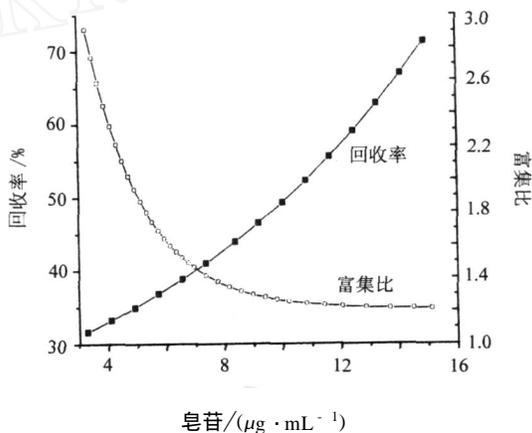


图 3 提取液质量浓度对泡沫分离的影响

Fig. 3 Effects of concentration on foaming separation

可见在温度、pH 值、气速和装液量相同的条件下，富集比随粗提液质量浓度增大而下降，回收率随粗提液质量浓度增大而上升。这是由于随粗提液质量浓度的增大，形成的气泡变小，从而总的气液界面面积增大，且小气泡在液相主体中的上升速度减慢，这样有利于皂苷在气泡上的吸附。此时泡沫层中小气泡较稳定，不易聚并破裂从而使得泡沫的持液量增大，故导致富集比下降同时回收率上升。而在实际生产中既希望能得到较高的回收率又要有较大的富集比，故需要综合考虑这两个指标选取适当的粗提液质量浓度。根据实验情况，选取泡沫分离操作时粗提液质量浓度为 2.85~ 7.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4.3 气速的影响：取皂苷质量浓度为 5.20

$\mu\text{g}/\text{mL}$  绞股蓝粗提液, 在室温  $20^\circ\text{C}$ 、pH 值为 9.0、塔装液量为 88 mL 情况下, 以 20、30、40、60、80、100、120 mL/min 的气速下进行泡沫分离, 量出泡沫液的体积, 测定泡沫液的吸光度, 计算回收率和富集比, 结果见图 4。

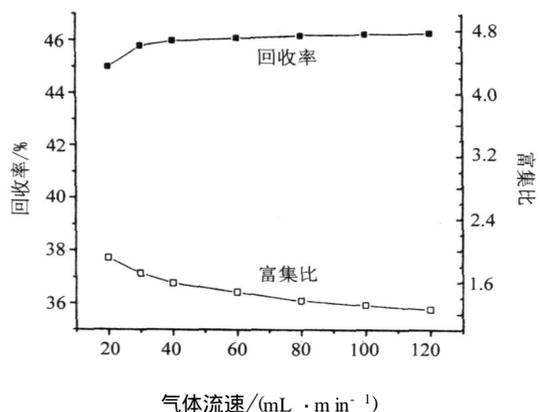


图 4 气体流速对泡沫分离的影响

Fig. 4 Effects of gas flow rate on foam ing separation

可见随着气速的增大, 皂苷富集比缓慢下降, 回收率缓慢上升。这主要是由于低气速时, 气泡数量少, 分离介质少, 同时推动泡沫层上升动力小, 泡沫在柱中停留时间长, 泡沫层排水充分, 因此泡沫相持液量少, 故富集比较大, 回收率较低; 随着气速增大, 单位体积溶液分离介质增多, 皂苷分子吸附到气液两相界面的几率增多, 推动泡沫层上升动力增强, 泡沫在柱中停留时间缩短, 泡沫层持液量增多, 故回收率上升, 但富集比下降。综合考虑两个指标, 选取泡沫分离操作气速为 30 mL/min 左右。

2.4.4 装液量的影响: 取皂苷质量浓度为  $5.34 \mu\text{g}/\text{mL}$  绞股蓝粗提液, 分别将 40、67、88、110、130、152 mL, pH 值为 9.0 的绞股蓝粗提液以 30 mL/min 的气速对其进行泡沫分离, 量出泡沫液的体积, 测定泡沫液的吸光度, 计算不同装液量时的回收率和富集比, 结果见图 5。

可见 pH 值、气速及料液浓度恒定的条件下, 塔装液量越大, 回收率就越高且最终增加缓慢, 富集比就越小。这是由于塔装液量越大, 气泡在液层中的停留时间就越长, 液膜上吸附的皂苷就越多, 回收率就越高。而当皂苷在液膜上的吸附接近饱和时, 装液量的增加不再使液膜上吸附的皂苷显著增加, 此时回收率的增加趋势趋于平缓。在塔高一定的情况下液层深度增大, 泡沫层的高度就减小, 泡沫在泡沫层中的排液时间就会缩短, 从而使得泡沫间夹带的液量增大, 富集比减小。根据实际情况选取泡沫分离操作时塔装液量为 67~110 mL。

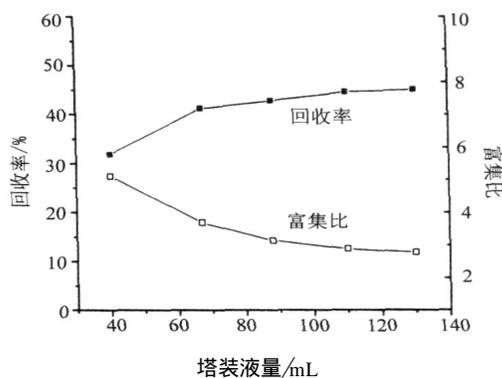


图 5 装液量对泡沫分离的影响

Fig. 5 Effects of solution volume on foam ing separation

2.5 绞股蓝最佳泡沫分离条件的正交试验优选: 在单因素考察试验的基础上, 选取 pH 值、粗提液浓度、气速、装液量 4 个因素, 做 4 因素 3 水平的正交试验, 结果见表 1。

表 1 正交试验优选泡沫分离的结果

Table 1 Results of orthogonal test for foam ing separation

试验号	pH 值	气体流速/ (mL · min <sup>-1</sup> )	塔装液量/ mL	皂苷/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回收率/ %	富集比
1	8	20	67	3.21	36.3	8.111
2	8	30	88	4.85	36.0	3.014
3	8	40	110	6.49	49.2	1.692
4	9	20	88	6.49	41.1	3.143
5	9	30	110	3.21	49.2	4.511
6	9	40	67	4.85	47.0	3.000
7	10	20	110	4.85	35.7	3.145
8	10	30	67	6.49	61.3	2.648
9	10	40	88	3.21	43.6	3.200
$K_1$	40.5	37.7	48.2	43.0		
$K_2$	45.8	48.8	40.2	39.6		
$K_3$	46.9	46.6	44.7	50.5		
$R$	6.4	11.1	8.0	10.9		
$K_1$	4.272	4.800	4.586	5.274		
$K_2$	3.551	3.391	3.119	3.053		
$K_3$	2.998	2.631	3.116	2.494		
$R$	1.274	2.169	1.470	2.780		

综合考虑回收率和富集比两个指标, 得到泡沫分离粗提液中绞股蓝皂苷的最佳操作条件为: 粗提液皂苷质量浓度为  $3.21 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、气速 30 mL/min、装液量 110 mL、pH 值 9.0。

2.6 最佳分离条件的验证试验: 皂苷质量浓度为  $3.21 \mu\text{g}/\text{mL}$  的绞股蓝粗提液, 在 pH 值为 9.0、装液量为 110 mL、气速为 30 mL/min 的条件下进行泡沫分离, 测定泡沫液吸光度及体积, 计算得回收率为 49.20%, 富集比为 4.511。

参考文献:

[1] 刘绣华, 陈伯森, 汪汉卿. 皂甙分离和结构鉴定研究进展[J]. 化学研究, 1997, 8(3): 28-34.

[2] 魏 决. 优质绞股蓝及其产品研制[J]. 饮料工业, 2001, 4(5): 38-43.

[3] 韩 丽, 苏艳桃, 杨 明, 等. 泡沫分离技术在皂苷分离中应用的探讨[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2004, 6(6): 60-62.

[4] 齐 荣, 余兆祥, 李佟茗. 泡沫分离技术及其发展现状[J]. 辽宁化工, 2004, 33(9): 517-522.

[5] 卫志贤, 冉 敏, 李宝璋, 等. 绞股蓝皂甙在D101树脂上的吸附研究[J]. 化学工程, 1998, 26(5): 58-61.

[6] 陈 悦, 李远志, 于 新. 绞股蓝成分的提取及提取液稳定性研究[J]. 广州食品工业科技, 2002, 18(1): 7-10.

## 川芎油的气相色谱指纹图谱研究

李秋怡, 宋 恬, 干国平, 王光忠, 刘焱文

(湖北中医学院, 湖北 武汉 430061)

**摘 要:** 目的 建立川芎油气相色谱指纹图谱的研究方法, 以控制其质量。方法 进样口温度为 250 , 检测器温度为 250 , 载气为氮气, 体积流量为 2 mL /m in, 采用程序升温对 10 批川芎油的气相色谱进行分析, 并采用 GC-M S 联用技术鉴定其指纹特征峰, 并对指纹图谱进行相似度分析。结果 60 m in 内川芎油成分出峰完全。建立的川芎油指纹图谱共标定了 13 个特征峰, 相似度高。结论 本方法精密度、重现性、稳定性好, 油中各成分分离较好, 所建立的指纹图谱可作为川芎油的质量控制依据。

**关键词:** 川芎油; 气相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R 286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670(2008)02- 0206- 03

### GC Fingerprints of *Ligusticum chuanxiong* essential oil

LI Qiu-yi, SONG Tian, GAN Guo-ping, WANG Guang-zhong, LU Yan-wen

(Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

**Abstract:** **Objective** To establish the method of the GC fingerprints for *Ligusticum chuanxiong* essential oil and its quality control. **Methods** The temperature at both feed inlet and detector was 250 , the carrier gas was nitrogen, and the flow rate was 2 mL /m in. GC of the essential oil in ten batches of *L. chuanxiong* was analyzed by adopting temperature programmer and the fingerprint peaks were identified by GC-M S. **Results** To set up the GC fingerprints for *L. chuanxiong* essential oil, 13 peaks were marked out altogether and the GC fingerprints were analyzed by similarity analysis. **Conclusion** The method is of high degree of precision, reproducibility, and stability. The resolving of each component in the essential oil is good. The established fingerprints could be used as one of the quality control index for *L. chuanxiong* essential oil.

**Key words:** *Ligusticum chuanxiong* Hort. essential oil; GC; fingerprint

川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 具有行气活血, 祛风止痛之功效。川芎油为川芎的主要有效部位, 含有藁本内酯、阿魏酸、苯酐类等, 具有抑制血小板聚集, 降低血小板表面活性, 增加冠状动脉流量等作用<sup>[1, 2]</sup>。在对不同来源川芎样品的主要化学成分比较分析的基础上, 本实验采用 GC 法对其指纹图谱进行研究, 以期为川芎油的质量标准的建立及其质量控制提供依据。

### 1 仪器与试药

HA—221—40—11—C 型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置(江苏南通华安公司), 日本岛津 GC 14C 型气相色谱仪, 氢焰离子化检测器(FID), CLASS GC10 色谱工作站。

阿魏酸对照品(批号 0733-9910)由中国药品生物制品检定所提供, 试剂均为分析纯。

川芎药材共 10 批, 分别购自全国各地, 经湖北中医学院中药鉴定教研室吴和珍博士鉴定均为川芎 *L. chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。

收稿日期: 2007-06-04

基金项目: 武汉市科技局专项资金资助项目(20056005130001)

作者简介: 李秋怡(1982—), 男, 湖北随州人, 湖北中医学院硕士研究生在读, 研究方向为中药及其制剂有效成分的研究。

Tel: (027) 61044945 E-mail: lqyxyx2001@163.com