

ZTC 1+1 用于养阴清肺糖浆水提液的絮凝工艺研究

孙 姣^{1,2}, 孙泽沾¹, 康 勇^{1*}

1. 天津大学化工学院, 天津 300072

2. 河北工业大学化工学院, 天津 300130

摘要: 目的 优化养阴清肺糖浆的生产工艺, 更好地保留有效成分, 提高药液的澄清度。方法 采用天然高分子絮凝剂 ZTC 1+1 对养阴清肺糖浆原药水提液进行絮凝处理, 以有效成分甘草酸保留率和药液浊度为衡量指标, 考察絮凝剂用量、絮凝温度、搅拌速度、搅拌时间对絮凝效果的影响, 并将絮凝后的药液离心处理, 以确定最佳工艺条件。结果 最佳絮凝提纯工艺条件为药液温度 30 ℃, ZTC 1+1 用量 0.6 g/L, 快搅速度 450 r/min, 快搅时间 2 min, 慢搅速度 50 r/min, 慢搅时间 10 min, 絮凝后的药液再在转速 3 000 r/min 下离心 20 min, 此时甘草酸保留率为 84%, 药液浊度只有 1.3 NTU。结论 ZTC 1+1 用于养阴清肺糖浆原药水提液的絮凝提纯效果明显优于醇沉法, 絮凝法可以替代醇沉法用于养阴清肺糖浆水提液的提纯。
关键词: 养阴清肺糖浆; 水提液; ZTC 1+1; 絮凝; 浊度; 保留率

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)03-0478-06

Flocculation procedure of water extract from Yangyin Qingfei Syrup with ZTC 1 + 1

SUN Jiao^{1,2}, SUN Ze-zhan¹, KANG Yong¹

1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. School of Chemical Engineering and Technology, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China

Abstract: **Objective** To optimize the production procedure of Yangyin Qingfei Syrup (YQS), improve the clarity, and reserve more active components in water extract solution of YQS. **Methods** The natural macromolecule flocculant ZTC 1 + 1 was applied to purify the solution of YQS. By analyzing the turbidity degree of the upper solution and the retention rate of glycyrrhizic acid, the influences of the dosage of flocculant, temperature, mixing speed, and time on flocculation effect were investigated and the optimum process conditions were obtained. **Results** The optimum process conditions were as follows: the flocculation temperature was 30 ℃, the dosage of ZTC 1 + 1 was 0.6 g/L, the fast mixing speed was 450 r/min, and the fast mixing time was 2 min, the slow mixing speed was 50 r/min and the slow mixing time was 10 min, then the treated solution was centrifuged for 20 min at 3 000 r/min. Under above conditions, the retention rate of glycyrrhizic acid was 84% and the turbidity degree was 1.3 NTU. **Conclusion** Compared with ethanol precipitation, the flocculation effect of the solution of YQS with ZTC 1 + 1 has distinct advantages. Flocculation technology can replace traditional ethanol precipitation technique for purification of the solution of YQS.

Key words: Yangyin Qingfei Syrup (YQS); water extract solution; ZTC 1 + 1; flocculation; turbidity degree; retention rate

养阴清肺糖浆具有养阴清肺、清热利咽的功效, 对于阴虚引起的咳嗽、咽喉干燥疼痛、干咳少痰、痰中带血等症均有显著疗效^[1-2]。养阴清肺方是祖国医药宝库中的名方之一, 最早收载于清代郑梅涧《重楼玉钥》, 由地黄、麦冬、玄参、川贝母、白芍、牡丹皮、薄荷、甘草 8 味中药组成。养阴清肺糖浆的生产过程中, 其原药水提液主要通过醇沉工艺提纯,

不仅生产周期长、能耗大、操作复杂, 而且在去除杂质的同时, 有效成分损失严重; 提纯后的药液稳定性差, 长期放置易发生粘壁现象, 影响制剂质量^[3-5]。

ZTC 1+1 天然絮凝剂是一种新型的食品添加剂, 其安全无毒, 由 A、B 两种组分组成。其作用原理是第一种组分加入后, 在不同的可溶性大分子之间架桥连接, 使分子迅速增大; 第二种组分在第

收稿日期: 2010-06-06

基金项目: “十一五”国家重大新药创制科技重大专项综合性新药研究开发项目子课题 (2009ZX09301-008)

作者简介: 孙 姣 (1978—), 女, 河北辛集市人, 天津大学在读博士研究生, 河北工业大学讲师, 研究方向为中药提取液的净化除杂。

Tel: (022)27408813 13602062166 E-mail: sunjiao2007@163.com

*通讯作者 康 勇 Tel: (022)27408813 E-mail: ykang@tju.edu.cn

一种组分形成的复合物的基础上再架桥,使絮体尽快形成沉淀而除去^[6-7]。絮凝法不仅操作简便、节约成本,而且可明显提高药液中有效成分的保留率和药液的稳定性^[8-9]。本实验将 ZTC 1+1 天然絮凝剂用于养阴清肺糖浆原药水提液的絮凝除杂工艺,并将絮凝后的药液进行离心处理,通过与醇沉工艺进行比较,考察添加 ZTC 1+1 天然絮凝剂对养阴清肺糖浆原药水提液纯化效果的影响。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司),MY3000—6K 六联式混匀试验搅拌仪(潜江市梅宇仪器有限公司),WGZ—100 型散射式光浊度仪(上海珊科仪器厂),LG10—2.4A 高速离心机(北京医用离心机厂),激光粒度分析仪(英国马尔文公司)。

地黄、麦冬、玄参、甘草干药材购自天津市中药饮片厂,由原天津乐仁堂制药厂赵继霄工程师鉴定合格。甘草酸单铵盐对照品(质量分数≥99%,深圳市时得佳科技有限公司,批号 40439),ZTC 1+1(III 型,天津正天成澄清剂有限公司)。甲醇、冰醋酸为色谱纯;水为去离子水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 ZTC 1+1 絮凝剂的制备

取 A 组分 1 g,用少量去离子水搅成糊状,然后再加入适量去离子水,溶胀 24 h,搅拌,配成质量分数为 1%的 A 溶液;取 B 组分 2 g,用少量 1%醋酸溶解并搅成糊状,再加入适量 1%醋酸,溶胀 24 h,搅拌,配成质量分数为 1%的 B 溶液。

2.2 养阴清肺糖浆原药水提液的制备

按处方取地黄、麦冬、玄参和甘草适量,加水煎煮两次,第 1 次 3 h,第 2 次 2 h,合并煎液,添加去离子水适量,配制质量浓度为 0.1 g 生药/mL 药液的原药水提液,备用。

2.3 ZTC 1+1 絮凝养阴清肺糖浆原药水提液

取养阴清肺糖浆原药水提液适量,按 ZTC 1+1 组分 A 和 B 1:2 加入一定量絮凝剂,先加 A 组分,边加边搅拌,使其分散均匀,静置 30 min 后加入 B 组分,搅拌一定时间,放置,吸取上层澄清液作为药液,测定其有效成分甘草酸的量及药液浊度。

2.4 养阴清肺糖浆中甘草酸的测定

按天津乐仁堂制药厂规定,养阴清肺糖浆原药水提液中的主要质控成分为甘草酸,成品药甘草酸的质量浓度≥0.15 mg/mL 为养阴清肺糖浆的质控

指标之一,本实验采用 HPLC 法对其进行测定^[10]。

2.4.1 色谱条件 色谱柱 Waters Spherisorb ODS₂ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 254 nm,柱温 40 ℃。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取甘草酸单铵盐对照品 0.8 mg,用流动相定容于 25 mL 量瓶中,制得质量浓度为 32 μg/mL 甘草酸单铵盐(折合成甘草酸 31.344 μg/mL)对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密吸取原药水提液 2 mL 置 25 mL 量瓶中,加流动相至刻度,称定质量,超声处理 10 min,放冷,再称定,用流动相补足减失的质量,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4.4 样品测定 精密吸取上述对照品和供试品溶液各 10 μL,分别注入液相色谱仪中测定,计算公式如下:

$$\text{甘草酸的质量浓度} = (\text{对照品的质量浓度} \times \text{样品峰面积} \times 25) / (\text{对照品峰面积} \times 2)$$
$$\text{甘草酸的保留率} = \text{处理后药液中甘草酸的量} / \text{原料液中甘草酸的量}$$

2.5 浊度的测定

采用散射式光电浊度仪测定药液的浊度,以浊度来表征提取液的澄清状况。

2.6 颗粒粒度及蛋白质水平的测定

采用激光粒度测定法测定药液中颗粒粒度与粒度分布;采用 Bradford 检测法测定蛋白质水平。

2.7 ZTC 1+1 絮凝除杂工艺的考察

为了得到较好的絮凝效果,除了确定合适的絮凝剂用量和絮凝温度外,还必须提供适宜的絮凝条件。合适的扰动强度及时间,一方面要使絮凝剂均匀地分散于水中,并与周围颗粒充分接触,使絮凝剂的作用得以充分发挥,另一方面又要防止高分子絮凝剂的剪切降解和絮体破碎,达到最佳絮凝效果。本实验采用先快速搅拌后慢速搅拌的方式,以甘草酸保留率和药液浊度为主要指标,考察了絮凝剂用量、絮凝温度、快搅速度、快搅时间、慢搅速度及慢搅时间对絮凝效果的影响,在前者最优的条件下确定后者,逐一确定最佳值,并对后续分离工艺进行探讨。

2.7.1 絮凝剂用量对絮凝效果的影响 见图 1。可以看出,随着絮凝剂用量的增大,药液浊度先迅速减小后缓慢增大。絮凝剂加入量较少时,絮凝剂在药液中极为分散,与胶体和悬浮颗粒的碰撞机率较

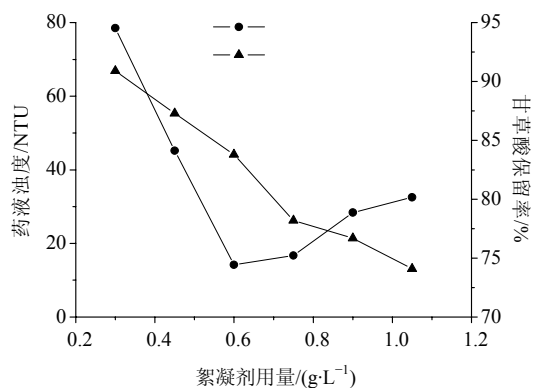


图1 ZTC 1+1用量对絮凝效果的影响

Fig. 1 Effect of ZTC 1+1 dosage on flocculation

小,絮凝剂的高分子支链只能吸附少量的悬浮颗粒,架桥作用难以充分发挥,致使药液较为浑浊。随着絮凝剂用量的增加,分子间的碰撞几率增大,架桥和电中和作用增强,药液浊度降低,絮凝效果逐渐达到最佳。但当絮凝剂加入量过高时,絮凝剂对颗粒产生了过度吸附作用,链形的絮凝剂分子难以在溶液中很好地伸展而影响其架桥能力,且部分絮体在溶液中易出现“再稳”现象,使絮凝效果反而变差。甘草酸保留率随着 ZTC 1+1 用量的增加呈明显下降趋势,尤其在用量小于 0.75 g/L 时甘草酸保留率降低很快,说明甘草酸的羧基与 ZTC 1+1 的分子间有结合的能力,甘草酸与絮凝剂之间应该是以化学吸附为主,随着絮凝剂用量的增大,吸附作用增强,甘草酸的量减少。综合考虑以上结果,ZTC 1+1 絮凝剂的最佳用量为 0.6 g/L,即 A 组分 0.2 g/L, B 组分 0.4 g/L。

2.7.2 絮凝温度对絮凝效果的影响 见图 2、3。可以看出,随着絮凝温度的升高,絮体沉降速度加快,从 20~50 °C 沉降速度几乎增长了 8 倍,超过 50 °C 沉降速度略有下降;而药液浊度则是先降低后升高。随着絮凝温度的升高,药液黏度减小,絮凝剂分子在药液中的分散速度加快,且温度升高使药液中颗粒热运动加剧,颗粒间的碰撞几率增大,电中和与吸附架桥作用增强,絮凝更加充分;根据 Stokes 公式,沉降速度与黏度成反比,因此温度升高絮体的沉降速度加快,药液澄清度提高,浊度下降。当温度过高时,溶液中的高分子链收缩,使架桥性能降低,絮凝作用减弱;而沉降速度过大,使絮体在沉降过程中来不及捕获悬浮颗粒就沉落到底层,从而导致药液澄清度变差。另外,温度升高在导致黏度下降的同时也使搅拌杯中的平均剪切速率增加,使

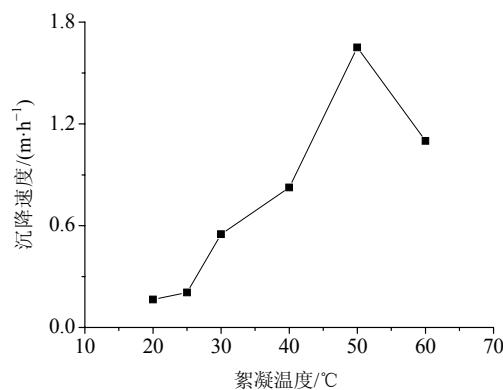


图2 絮凝温度对絮体沉降速度的影响

Fig. 2 Effect of flocculating temperature on sedimentation velocity of floc

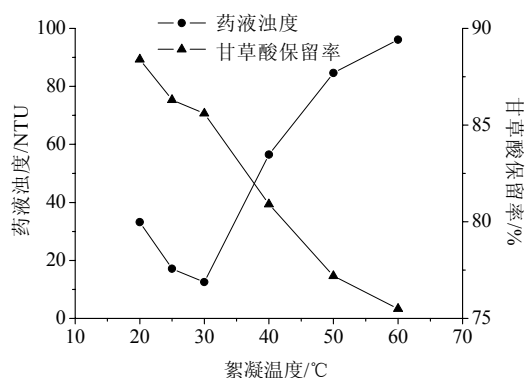


图3 絮凝温度对絮凝效果的影响

Fig. 3 Effect of flocculating temperature on flocculation

絮体尺寸减小,当絮体尺寸减小到一定程度时则会影响沉降速度,因此当温度超过 50 °C 时,沉降速度略有下降。随着絮凝温度的升高,甘草酸保留率下降很快,进一步证实甘草酸与絮凝剂主要以化学吸附相结合,随着温度的升高吸附量增大,甘草酸和 ZTC 1+1 之间的吸附应该是吸热反应。通过以上分析,得出最佳絮凝温度为 30 °C。

2.7.3 快搅速度和快搅时间对絮凝效果的影响 快速搅拌主要使絮凝剂与药液充分混合接触,生成初级絮体或小絮体。由图 4、表 1 可知,快搅速度不宜过大,因为快搅速度增大,流体的剪切力增大,新生成的絮体会被破坏,在快搅速度为 750 r/min 时生成的絮体直径仅为 10.52 μm,明显小于其他转速下的絮体直径(15 μm 左右),小絮体无法有效地发挥后续架桥网捕作用,且短时间内难以靠自身重力沉降,悬浮于药液中从而导致药液浊度上升。

由图 5、表 2 可知,快搅时间太短,絮凝剂在药液中分散不均匀,絮凝剂与颗粒之间有效碰撞次

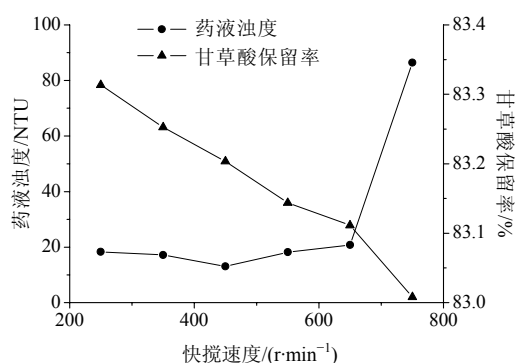


图 4 快搅速度对絮凝效果的影响

Fig. 4 Effect of fast mixing speed on flocculation

表 1 不同快搅速度下絮体的平均直径

Table 1 Average diameter of floc with different fast mixing speeds

快搅速度/ (r·min ⁻¹)	絮体直径/ μm	快搅速度/ (r·min ⁻¹)	絮体直径/ μm
250	15.75	550	14.31
350	15.49	650	14.03
450	15.22	750	10.52

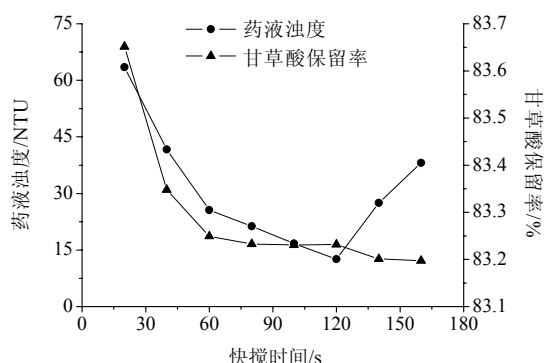


图 5 快搅时间对絮凝效果的影响

Fig. 5 Effect of fast mixing time on flocculation

表 2 不同快搅时间下絮体的平均直径

Table 2 Average diameter of floc with different fast mixing time

快搅时间/s	絮体直径/μm	快搅时间/s	絮体直径/μm
20	—	100	15.09
40	9.15	120	15.72
60	14.32	140	12.53
80	15.57	160	11.76

数少,尚不能生成较多的微絮体,絮凝剂水平高的部位容易形成抱团式絮体,难以发挥网捕卷扫作用,

不利于药液澄清;随着快搅时间的加长,絮凝剂与颗粒之间的接触几率增大,生成的微絮体数量增多,尺寸增大,絮体的网捕架桥能力增强,易于捕捉胶体和悬浮颗粒,使药液澄清度提高。但超过一定的快搅时间时,微絮体中脆弱的部位因无法承受长时间的水流剪切作用而断裂,导致絮体破碎,絮体尺寸明显减小,致使药液浊度上升。另外,当 ZTC 1+1 与甘草酸结合的化学键的利用度达到饱和时,将不再吸附甘草酸;由于甘草酸为小分子物质,已生成的絮体无法将其网捕沉淀,仅是随着混合度的增大,ZTC 1+1 与甘草酸的接触几率增大,致使甘草酸保留率随着搅拌速度的增大和搅拌时间的延长略有下降的趋势。

综合分析以上结果,在快搅速度 450 r/min、快搅时间 120 s 时絮凝效果较好。

2.7.4 慢搅速度和慢搅时间对絮凝效果的影响 快速搅拌形成的絮体体积较小,单靠絮体本身的自由沉降不能得到较好的澄清效果,甚至会有絮体漂浮现象。通过慢搅,颗粒间的碰撞几率增大,絮体的吸附架桥作用增强,促进絮体的成长,使絮体捕获小颗粒或絮体之间形成大絮团。由图 6 可以看出,随着慢搅速度的增大,药液浊度先减小后增大,存在一个最低值。药液浊度随慢搅时间的延长,出现波动现象(图 7)。慢搅时间 10 min 时形成的絮团较松散,网捕吸附颗粒的能力较强,药液浊度达到最低值 13.7 NTU。随着慢搅时间的延长,絮团之间相互碰撞破碎,而后又重新脱水结合形成较为密实的絮团,这种絮团抗剪切能力较高,易达到再稳定状态。絮团经过“稳定-受力剪切破碎-再稳定”过程,因此浊度曲线出现波动现象。慢搅速度和慢搅时间对甘草酸保留率影响类似,均是先迅速降低后趋于平缓,慢搅速度 30 r/min,慢搅时间 8 min 左右 ZTC 1+1 对甘草酸的吸附即开始趋于平稳,水流情况对其影响较小。慢搅初期,由于搅拌强度低难以形成全场流动,絮凝剂与甘草酸的接触碰撞几率较小,甘草酸保留率较高。随着混合程度的增大,絮凝剂对甘草酸的吸附很快达到饱和,甘草酸保留率趋于平稳。

综合分析以上情况,慢搅速度 50 r/min,慢搅时间 10 min 时,药液浊度较低且甘草酸损失较小。

2.7.5 后续分离工艺的考察 对絮凝后的药液进行粒径分析,发现药液中仍有部分悬浮颗粒的粒径分布在 1~200 μm (图 8)。这些颗粒粒径较大,可用

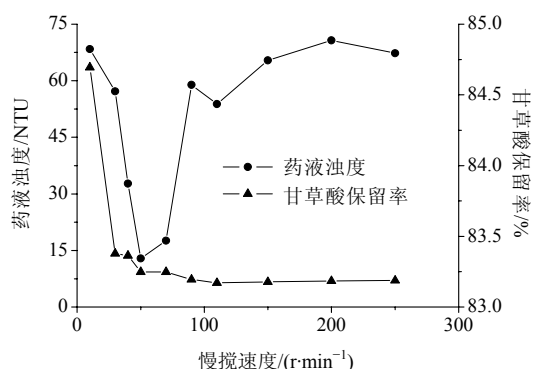


图 6 慢搅速度对絮凝效果的影响

Fig. 6 Effect of slow mixing speed on flocculation

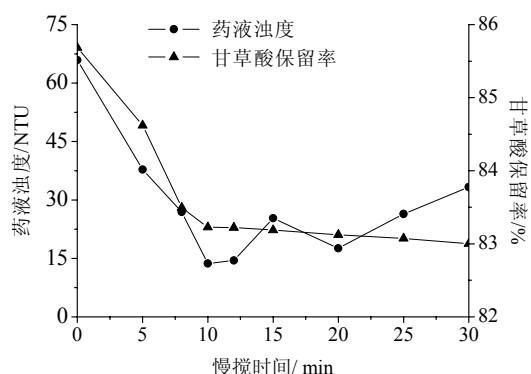


图 7 慢搅时间对絮凝效果的影响

Fig. 7 Effect of slow mixing time on flocculation

离心法去除, 将药液在 3 000 r/min 下离心 20 min, 再测定离心后药液的粒径分布 (图 9), 发现大于

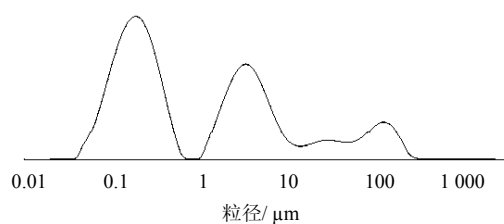


图 8 絮凝后上清液的粒径分布

Fig. 8 Particle diameter distribution of supernatant of flocculation

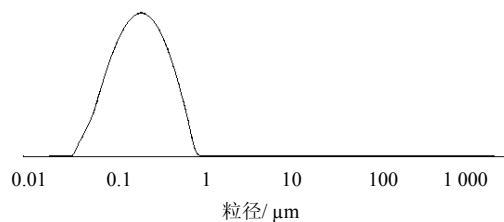


图 9 絮凝-离心后上清液的粒径分布

Fig. 9 Particle diameter distribution of supernatant of flocculation after centrifugation

1 μm 的悬浮颗粒已全部除去。因此本实验采用离心法对絮凝后的药液做后续处理。

2.7.6 不同处理方法的比较 为进一步考察絮凝工艺的可行性, 在上述实验确定的最佳絮凝分离工艺条件下进行验证实验, 并与经过高速离心 (6 000 r/min) 处理及醇沉处理的药液的纯化效果进行比较, 用药液放置一个月后的浊度表征了药液的稳定性, 结果见表 3。

表 3 不同处理方法下药液纯化效果的比较

Table 3 Comparison of purification effect of solution with different processing methods

处理方法	甘草酸/(mg·mL ⁻¹)	蛋白质/(mg·mL ⁻¹)	浊度/NTU	
			放置 0 d	放置 1 个月后
原料液	0.12	0.73	—	—
醇沉法	0.07	0.26	1.4	10.6
高速离心法	0.11	0.64	1.4	38.8
絮凝-离心法	0.10	0.34	1.3	5.4

高速离心法中虽然甘草酸保留率较高, 但其仅去除了药液中悬浮的颗粒类杂质, 对蛋白质及其他胶体大分子的去除效果很差, 使胶体分子残留于药液中, 长期放置由于布朗运动而相互碰撞、脱稳结合成较大颗粒从药液中析出, 影响药液的澄清度和稳定性, 放置一个月后肉眼即可见少量悬浮杂质。醇沉处理后药液中不仅甘草酸的损失严重, 而且药液中的亲水胶体如多糖等也被醇沉除去, 疏水胶体缺乏亲水胶体的“保护”, 长期放置极易产生沉淀,

稳定性较差。经过絮凝-离心后的药液不仅甘草酸保留率较高, 而且大部分胶体物质被絮凝除去, 未去除的少量胶体分子在药液中相互碰撞的几率很少, 难以再结合形成沉淀, 药液的稳定性较好, 放置一个月后浊度仅增加 4.1 NTU。

3 结论与讨论

ZTC 1+1 天然絮凝剂处理养阴清肺糖浆原药水提液的最佳絮凝工艺条件为: 药液温度 30 ℃, ZTC 1+1 加入量 0.6 g/L, A 与 B 组分的用量比例

为 1:2, 先加入 A 组分再加入 B 组分, 在转速 450 r/min 下快搅 2 min, 再在转速 50 r/min 下慢搅 10 min, 絮凝后的药液再在转速 3 000 r/min 下离心 20 min, 此时甘草酸保留率为 84%, 浊度只有 1.3 NTU。

絮凝处理后的药液仍有部分细小絮体未沉降, 应用高速离心工艺做后续处理, 能够明显提高药液的澄清度和稳定性。絮凝法与高速离心法联合使用可以得到较好的提纯效果, 既可以去除大部分杂质, 又可以很好的保留有效成分。

养阴清肺糖浆原药水提液经过 ZTC 1+1 絮凝处理后, 有效成分甘草酸的水平较原工艺醇沉法明显提高, 澄清度和长期稳定性显著增强。可见絮凝法可以替代醇沉法用于养阴清肺糖浆原药水提液的提纯。

ZTC 1+1 对养阴清肺糖浆原药水提液中蛋白质的去除率稍差, 可考虑二次絮凝或与其他方法结合来去除药液中剩余的蛋白质, 以达到进一步的精制提纯。

参考文献

- [1] 冷文章. 养阴清肺糖浆对急性支气管炎的临床疗效观察 [J]. 中草药, 2002, 33(3): 256-257.
- [2] 夏纪, 唐玉霞. 养阴清肺糖浆治疗阴虚喉痹 78 例临床观察 [J]. 中草药, 2002, 33(5): 451.
- [3] 彭平建. 水醇法应用的若干问题 [J]. 基层中药杂志, 1998, 12(4): 46-64.
- [4] 孟根达莱, 刘栓娣, 青格乐, 等. 醇沉工艺对中成药质量的影响 [J]. 中成药, 1996, 18(3): 51.
- [5] 邓修. 中药制药工程与技术 [M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2008.
- [6] 颜红. 天然澄清剂在中药水提液澄清工艺中的应用 [J]. 中医药导报, 2005, 11(1): 80-82.
- [7] 张三平. 吸附澄清剂在中药制剂中的应用研究 [J]. 中国药房, 2008, 19(6): 461-464.
- [8] 谢安, 周文龙, 杨顺龙, 等. 驴胶补血颗粒的壳聚糖纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2010, 41(6): 906-908.
- [9] 吴大章, 刘世琪, 吴品江, 等. 丹参水提液的纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 889-892.
- [10] 王磊. 养阴清肺糖浆静置工艺的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2007.