

生脉注射液生产过程五味子药渣中资源性物质的分析与循环利用途径探讨

陶小芳^{1,2}, 沈飞¹, 宿树兰^{2*}, 郭盛², 欧阳臻¹, 丛旭东³, 唐仁茂³, 唐海涛³, 段金廐^{2*}

1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013

2. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023

3. 江苏苏中药业集团股份有限公司, 江苏 姜堰 225500

摘要: **目的** 对生脉注射液生产过程五味子药渣中多种类型可利用资源性化学成分进行分析与评价, 以期五味子药材深加工产业化过程的循环利用提供科学依据。 **方法** 对五味子药渣采用 HPLC-UV 法对木脂素类成分进行分析; 采用碱液法提取蛋白质类成分, BCA 法以牛血清白蛋白为对照测定总蛋白质质量分数; 采用紫外-可见分光光度计测定中性多糖和酸性多糖的组成及质量分数; 采用 FIWE3/6 纤维测定法测定粗纤维质量分数。 **结果** 研究表明, 五味子药渣中五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙和五味子酯甲的质量分数依次为 1.442 4、3.788 0、1.350 9、4.399 3、3.231 3、0.505 3 mg/g; 与原药材相比, 在生脉注射液生产过程中五味子醇甲的提取利用率为 20.84%; 而五味子醇乙几乎未被利用而残留于药渣中; 五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和五味子酯甲在药渣中的质量分数略高于原药材。五味子药渣中可利用生物大分子类物质分别为总蛋白质质量分数为 14.69%; 中性多糖质量分数为 3.82%, 酸性多糖质量分数为 1.31%; 粗纤维素类成分质量分数为 43.80%。 **结论** 通过分析表明生脉注射液生产过程产生的五味子药渣中尚含有丰富的木脂素类、蛋白质类、多糖类及粗纤维素类等资源性化学物质, 针对水提工艺产生的五味子药渣中可利用资源性化学物质探索性地提出了其循环利用对策与可能途径, 为中药资源深加工产业化过程废弃物的资源化利用提供借鉴, 为提倡和推进资源节约和环境保护发展, 实现经济和生态和谐共生提供参考。

关键词: 生脉注射液; 五味子; 药渣; 资源性化学成分; 循环利用; 五味子甲素; 五味子乙素; 五味子丙素; 五味子醇甲; 五味子醇乙; 五味子酯甲

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)18-2712-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.18.008

Analysis on resource material and discussion on reutilization methods of *Schizandrae Fructus* residues in process of Shengmai Injection production

TAO Xiao-fang^{1,2}, SHEN Fei¹, SU Shu-lan², GUO Sheng², OUYANG Zhen¹, CONG Xu-dong³, TANG Ren-mao³, TANG Hai-tao³, DUAN Jin-ao²

1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, and National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Suzhong Pharmaceuticals Co., Ltd., Jiangyan 225500, China

Abstract: Objective Multi-type resource chemical constituents in *Schizandrae Fructus* residues were analyzed in the process of Shengmai Injection production, in order to provide the scientific basis for *Schizandrae Fructus* in the further process of

收稿日期: 2015-05-12

基金项目: 江苏高校中药资源产业化过程协同创新中心建设专项(2013年度); 江苏省“333 高层次人才工程”第一层次培养对象资助项目(2013年度); 江苏省高校中药学优势学科 II 期建设项目(ysxk-2014)

作者简介: 陶小芳(1990—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药资源化学研究。Tel: 18351870656 E-mail: 18351870656@163.com

***通信作者** 段金廐(1956—), 男, 教授, 博士生导师; 中国自然资源学会中药及天然药物资源专业委员会主任委员; 国家“973”计划首席科学家。Tel: (025)85811116 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

宿树兰(1974—), 女, 副教授, 主要从事中药及方剂功效物质基础研究。Tel: 13809043258 E-mail: sushulan@njutcm.edu.cn

industrialization. **Methods** The lignan components were analysed and evaluated by HPLC-UV method. After using NaOH to extract sample, the BCA method was adopted to measure the mass fraction of total protein and take bovine serum albumin as the reference. Using UV-Vis spectrophotometer to measure the mass fraction and constitutes of neutral polysaccharide and acidic polysaccharide, respectively. The equipment for raw fiber determination was taken to gauge the crude fiber content of *Schizandrae Fructus* residues.

Results The mass fractions of schisandrin A, schizandrin B, schizandrin C, gomisin A, gomisin B, and schisantherin A were 1.442 4, 3.788 0, 1.350 9, 4.399 3, 3.231 3, and 0.505 3 mg/g, respectively. Compared with the original medicinal materials, the technology utilization rate of gomisin A was 20.84% during the process of Shengmai Injection production. But the gomisin B virtually was unused and remained in the residues. The mass fractions of schisandrin A, schizandrin B, schizandrin C, and schisantherin A were higher than that of the original medicinal material. The available macromolecular substances are proteins, polysaccharide, and crude fiber. The content of total proteins was 14.69%. The mass fractions of neutral polysaccharide and acidic polysaccharide were 3.82% and 1.31%, respectively. The analysis on crude fiber showed that the mass fraction of crude fiber in *Schizandrae Fructus* residues was 43.80%.

Conclusion The analysis shows that *Schizandrae Fructus* residues contain many resource chemical components in the process of Shengmai Injection production, such as lignins, protein, saccharides, and crude fiber. The strategy for recycling and possible way is proposed exploringly based on the available resource chemical components of *Schizandrae Fructus* residues and water-extracting technology. It provides the reference for the utilization of waste resource in further process of industrialization, promoting the resource conservation, and development of environmental protection, realizing the harmonious coexistence between the economy and ecology.

Key words: Shengmai Injection production; *Schizandrae Fructus*; residues; resource chemical composition; reutilization; schisandrin A; schizandrin B; schizandrin C; gomisin A; gomisin B; schisantherin A

生脉注射液为依据我国古验方生脉散研制而成的中药注射剂,由红参、麦冬、五味子经水提取后制成的灭菌水溶液,具有益气养阴、复脉固脱的功效^[1];常用于气血两亏、脉虚欲脱的心悸、气短、四肢厥冷、汗出及心肌梗死等病症。据统计,由于生脉注射液在心血管、内分泌及免疫系统方面的显著疗效,以及对肿瘤治疗中独特的增效减毒作用,其临床应用需求和产量不断增长。然而由于生脉注射液生产过程中产生大量人参、麦冬和五味子等药渣及沉淀物的固体废弃物,以及废水等液体废弃物等造成中药资源的巨大浪费和环境污染。亟待通过现代科学技术及集成技术对生脉注射液生产过程产生的固、液废弃物进行系统回收利用。

生脉注射液配方所用五味子为兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,习称“北五味子”,具有丰富的药用、食用价值,是临床配伍饮片和五味子相关制剂生产的重要原料之一。现代研究表明,五味子中主要功效成分为木脂素类化学成分,包括五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲和五味子酯甲等^[2-3];此外,尚含有挥发性成分、萜类等。临床上多以五味子为主治疗以丙氨酸转氨酶升高为主要体征的肝炎等症。现已利用该资源及其所含资源性化学成分研制成中成药制剂如联苯双酯胶囊、五仁醇胶囊等。五味子具有养心安神的功效,可用于治疗神经衰弱等症,如五味子颗粒、复方五味子酊和复方北五味子

片等。此外,五味子还具有敛肺止咳的功效,用于治疗咳嗽、干咳等症,如九仙散等。

五味子制剂尤其是注射液生产过程中常以水提醇沉工艺^[4-5]为主,因此废弃的五味子药渣中尚残留大部分可利用物质而造成资源的浪费^[6]。例如,在生脉注射液生产过程产生的五味子采用水蒸气蒸馏提取挥发性成分,采用水提醇沉方法获得水溶性化学成分,而产生的大量五味子药渣中尚富含木脂素类、蛋白质类、糖类以及纤维类等可利用物质,具有重要的多途径利用价值,值得进一步开发利用和资源化。

因此,在前期研究的基础上^[7-9],本实验针对生脉注射液生产过程产生的五味子药渣中可利用资源性化学物质,包括木脂素类、蛋白质类、多糖类和粗纤维类进行分析与评价,并探讨采用水提工艺五味子药渣中可利用资源性化学物质的循环利用对策和资源化途径,以期五味子药材深加工产业化过程提高资源利用效率,实现中药产业的绿色经济发展和保护环境的生态效益提供依据与支撑。

1 仪器与试剂

美国 Water 2695 高效液相色谱系统, Water 2996 UV 检测器, Empower 数据管理系统, Lab Teach UV-2000 紫外可见分光光度计, 南京菲勒仪器有限公司; Enspire 多功能酶标仪, Perkin Elmer; FIWE 3/6 纤维测定仪, 北京盈盛恒泰科技有限责任公司; FW80 型高速万能粉碎机, 天津市泰斯特仪器有限

公司; ML204/02、MS-205 电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; TDL-80-2B 型离心机, 上海安亭科学仪器厂; KH-500 型超声波清洗仪器, 昆山禾创声波仪器有限公司; HH 数显恒温水浴锅, 金坛市医疗仪器厂。

甲醇、无水乙醇、氢氧化钠、氢氧化钾、苯酚, 南京化学试剂有限公司; 四硼酸钠、硫酸、正辛醇, 上海凌峰化学试剂有限公司; 葡萄糖, 国药集团化学试剂有限公司; 丙酮, 南京奥佳化工有限公司; 石油醚, 无锡市亚盛化工有限公司; 以上试剂均为分析纯。咔唑为化学纯, 国药集团化学试剂有限公司。对照品 *D*-葡萄糖醛酸, 阿拉丁公司, 批号 B1411057; 对照品五味子甲素 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 WWJS20140114)、五味子乙素 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 WWYS20140525)、五味子丙素 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 WWBS20140217)、五味子醇甲 (批号 WWJC20140409, 质量分数 $\geq 98\%$)、五味子醇乙 (批号 WWCY20140610, 质量分数 $\geq 98\%$), 均为南京春秋生物工程有限公司产品; 五味子酯甲 (质量分数 99.4%, 批号 111529-200604), 中国食品药品检定研究院; BCA 蛋白测量试剂盒, Thermo Scientific; 水为实验室自制超纯水。五味子药材与五味子药渣收集于江苏苏中药业集团股份有限公司, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定, 五味子药材为兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实 (批号 20131208); 五味子药渣为五味子药材在生脉注射液生产过程中产生的固体废弃物。

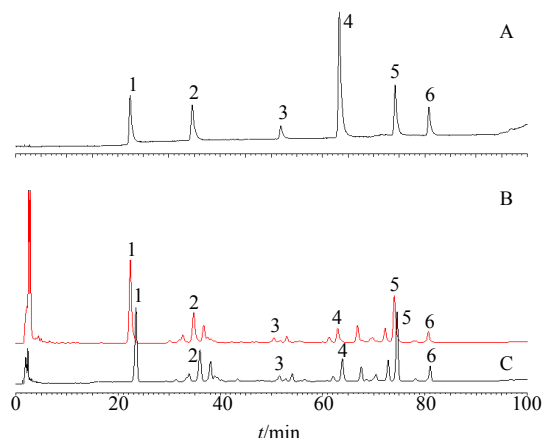
2 方法与结果

2.1 HPLC-UV 法分析五味子药渣中木脂素类成分

2.1.1 对照品溶液的制备 分别精密称取五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲对照品适量, 用甲醇配成质量浓度分别为 0.346、0.170、0.113、0.252、0.153、0.165 mg/mL 的对照品储备液。

2.1.2 供试品溶液的制备 将五味子药材与五味子药渣分别于 60 °C 下烘干, 取干燥药材打粉, 过 40 目筛, 装入自封袋中于干燥器内保存。随机选取 60 °C 干燥粉末 2 g, 精密加入甲醇溶液 30 mL, 精密称定, 在 30 °C、100 kHz 下超声 60 min, 称量补足减失质量, 滤过, 滤液在 3 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液过 0.45 μ m 滤膜, 进样。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为 BDS HYPERSIL C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 柱温 25 °C; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μ L, 以甲醇-超纯水为流动相进行梯度洗脱: 0~20 min, 50%~55%甲醇; 20~30 min, 55%~58%甲醇; 30~60 min, 58%~70%甲醇; 60~80 min, 70%~79%甲醇; 80~90 min, 79%~83%甲醇; 90~100 min, 83%~100%甲醇; 样品的 HPLC 色谱图见图 1。



1-五味子醇甲 2-五味子醇乙 3-五味子酯甲 4-五味子甲素
5-五味子乙素 6-五味子丙素
1-gomisin A 2-gomisin B 3-schisantherin A 4-schisandrin A 5-schizandrin B 6-schizandrin C

图1 五味子对照品 (A)、五味子药材 (B)、五味子药渣 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of *Schizandrae Fructus* reference substances (A), *Schizandrae Fructus* (B), and *Schizandrae Fructus* residues (C)

2.1.4 线性范围考察 取适量五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲对照品, 进样 1、2、5、10、20 μ L, 按“2.1.3”项色谱条件测定, 记录峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标 (y), 进样量为横坐标 (x), 得五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲的回归方程分别为 $y_1=2.1 \times 10^6 x_1+2.0 \times 10^5$, $R^2=0.999 5$, 线性范围 0.346~6.92 μ g; $y_2=2.0 \times 10^6 x_2+1.8 \times 10^5$, $R^2=0.999 1$, 线性范围 0.170~3.40 μ g; $y_3=1.2 \times 10^6 x_3-2.514 2 \times 10^4$, $R^2=1.000 0$, 线性范围 0.113~2.26 μ g; $y_4=1.9 \times 10^6 x_4-9.418 5 \times 10^4$, $R^2=1.000 0$, 线性范围 0.252~5.04 μ g; $y_5=1.3 \times 10^6 x_5-6.389 4 \times 10^4$, $R^2=1.000 0$, 线性范围 0.153~3.06 μ g; $y_6=7.6 \times 10^5 x_6-4.623 5 \times 10^4$, $R^2=1.000 0$, 线性范围 0.165~3.30 μ g。

2.1.5 精密度试验 精密吸取对照品储备液 10

μL, 连续进样 6 次, 测定五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲色谱峰峰面积, 计算得其 RSD 分别为 0.61%、0.70%、1.60%、1.47%、2.75%、1.88%, 表明本实验方法精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一批样品溶液, 每隔 2 h 测定 1 次, 测定 6 次, 最终五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲的 RSD 分别为 0.37%、0.21%、1.84%、0.49%、1.81%、2.08%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 按照“2.1.2”项方法制备 6 份样品溶液, 按“2.1.3”项色谱条件测定五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲的 RSD 分别为 1.76%、1.55%、2.74%、0.93%、4.90%、2.71%, 表明方法重复性良好。

2.1.8 回收率试验 精密称定已知质量分数的样品 9 份, 以样品浓度的 80%、100%、120%加入适量对

照品, 混匀, 每个质量浓度平行 3 次, 按照“2.1.2”项方法处理, 在上述色谱条件测定 6 种有效成分的质量分数, 计算平均加样回收率, 结果五味子甲素的平均回收率分别为 98%、97.05%、101.03%, RSD 分别为 3.50%、4.70%、4.34%; 五味子乙素的平均回收率分别为 99.37%、97.81%、99.36%, RSD 分别为 2.53%、3.73%、2.34%; 五味子丙素的平均回收率分别为 91.15%、98.89%、92.2%, RSD 分别为 2.82%、4.87%、3.20%; 五味子醇甲的平均回收率分别为 94.61%、96.17%、1.02%, RSD 分别为 2.30%、1.44%、0.81%; 五味子醇乙的平均回收率分别为 98.57%、1.04%、1.05%, RSD 分别为 3.97%、0.89%、1.02%; 五味子酯甲的平均回收率为 103.05%、95.54%、96.16%, RSD 分别为 1.68%、2.93%、2.16%。

2.1.9 样品分析测定 精密吸取样品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 计算样品中五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲的量, 结果见表 1。

表 1 五味子药渣与药材中木脂素类化学成分的质量分数分析比较

Table 1 Determination of chemical composition of lignans in *Schizandrae Fructus* and its residues

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	五味子甲素	五味子乙素	五味子丙素	五味子醇甲	五味子醇乙	五味子酯甲	总量
五味子药材	1.069 5	3.107 1	1.206 9	5.557 2	3.411 9	0.462 3	14.918 2
五味子药渣	1.442 4	3.788 0	1.350 9	4.399 3	3.231 3	0.505 3	14.717 2

2.2 BCA 试剂盒比色法分析五味子药材和药渣中总蛋白质类成分^[10]

2.2.1 标准曲线的绘制 根据 BCA 蛋白测量试剂盒说明书操作配制“工作液”。按 50 体积 BCA 试剂 A 溶液加 1 体积 BCA 试剂 B 溶液配制, 充分混匀备用。

取试剂盒中蛋白标准品牛血清蛋白适量, 用 0.9%生理盐水稀释, 使终质量浓度为 2 mg/mL, 再用超纯水梯度稀释, 使其质量浓度为 1、0.75、0.5、0.25、0.125、0.025 mg/mL, 即为对照品稀释液。精密吸取 6 个不同质量浓度的标准品稀释液 25 μL 加入到 96 孔平板的标准品孔中, 分别向对照品孔中加入 200 μL BCA 工作液, 轻微振荡, 使其充分混合。将微孔板密封, 在 37 °C 孵育培育 30 min。取出 96 孔平板待冷却至室温于多功能酶标仪上测定吸光度, 测定波长为 562 nm。

以吸光度为纵坐标 (Y), 对照品质量浓度为横坐标 (X), 进行回归运算, 求得曲线方程分别为 $Y=$

$1.302 3 X + 0.119 3$, $R^2=0.999 1$ 。可见当波长为 562 nm 时, 吸光度与对照品质量浓度在 0.025~1 mg/mL 时呈良好的线性关系。故选用波长为 562 nm。

2.2.2 样品溶液的制备 精密称取 60 °C 下烘干的五味子药材和药渣各 1 g, 平行称取 3 份, 每份药材加入 1% NaOH 溶液 800 mL, 每份药渣加入 1% NaOH 溶液 200 mL, 并放入 80 °C 的数显恒温水浴锅中浸提 60 min。

2.2.3 精密度试验 精密吸取蛋白浓度为 0.5 mg/mL 的牛血清蛋白标准品稀释液 6 次, 按照标准曲线项下的方法, 把标准品稀释液加入到 96 孔平板中的样品孔中, 测定吸光度, 按照标准曲线计算总蛋白质的质量分数 RSD, 得到 RSD 为 3.53%, 说明本实验方法的精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 按照“2.2.2”项下制备样品溶液后, 在 0.5、1、2、3、4 h 及 562 nm 处测定吸光度, 得到 RSD 为 1.36%, 结果表明在 4 h 内稳定。

2.2.5 重复性试验 分别精密称取 6 份样品溶液,

加入到 96 孔平板的样品孔中,依照标准曲线测定方法,得到吸光度值,计算总蛋白质的质量分数,计算 RSD 为 4.6%,说明该方法测定样品误差较小,方法准确性高,方法切实可行。

2.2.6 回收率试验 精密称定已知质量分数的样品溶液 9 份,加入对照品溶液适量,混匀,按照“2.2.2”项样品溶液的制备方法进行操作,并按标准曲线项下方法测定,得到平均回收率为 101.37%,RSD 为 3.27%。

2.2.7 样品测定 按照“2.2.2”样品溶液的制备方法进行操作及标准曲线项下的方法测定,把样品加入到 96 孔平板中的样品孔中,测定吸光度值,按照标准曲线计算总蛋白质质量分数,结果见表 2。

表 2 五味子药材及药渣中总蛋白质类化学成分的定量分析
Table 2 Quantitative determination of total protein in *Schizandrae Fructus* and its residues

样品	吸光度值	质量分数/(mg·g ⁻¹)	质量占比/%
五味子药材	0.771 9	200.44±4.40	20.04
五味子药渣	0.901 6	121.76±2.81	12.18

2.3 紫外分光光度法分析五味子药材及药渣中中性多糖和酸性多糖^[11]

2.3.1 供试品溶液的配制 精密称取五味子药材及药渣粉末(过 4 号筛)0.5 g,加入 80%的乙醇 50 mL,静置 2 h,在 30 ℃、100 kHz 下超声提取 30 min,并在 70 ℃的恒温水浴锅中水浴 1 h,趁热抽滤并弃去上清液。滤渣和滤纸用热 80%乙醇洗 2~3 次放入锥形瓶中,加入 50 mL 的超纯水连瓶称质量后,在 100 ℃的恒温水浴锅中水浴 2 h,称质量并补足减失质量。取上清液 8 mL 于离心管中,在 3 000 r/min 下离心 10 min,取上清液,即为供试品溶液。

2.3.2 标准曲线的绘制

(1) 中性多糖标准曲线绘制:精密称取葡萄糖 13.4 mg 加入 100 mL 的水,配成葡萄糖对照品溶液。精密量取葡萄糖对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加水补足 1 mL。分别加入 5%的苯酚 2 mL、浓硫酸 7.0 mL 摇匀,放入沸水浴中 20 min。采用紫外分光光度计在 490 nm 处测定吸光度值。以吸光度值为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得到标准曲线方程 $Y=6.383\ 2\ X-0.023\ 1$, $R^2=0.999\ 4$,线性范围为 0.013 4~0.134 mg/mL。

(2) 酸性多糖标准曲线绘制:精密称取葡萄糖

醛酸 6.97 mg 加入 100 mL 的水,配成葡萄糖醛酸对照品溶液。精密量取葡萄糖醛酸对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加水补足 1 mL。分别加入 12.5 mmol/L 的四硼酸钠硫酸溶液 5 mL,摇匀,放入沸水浴中加热 10 min 后。再分别加入 0.125%的咔唑(无水乙醇配制)0.2 mL,摇匀,放入沸水浴中加热 15 min。采用紫外分光光度计在 512 nm 处测定吸光度值。以吸光度值为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得到标准曲线方程 $Y=14.098\ X+0.083\ 1$ ($R^2=0.999\ 1$),线性范围为 6.97~069.7 μg/mL。

2.3.3 精密度考察

(1) 中性多糖的精密度试验:精密量取质量浓度为 0.053 6 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液,按照“2.3.2”项下方法操作,连续测定 6 次,并按标准曲线计算中性多糖质量分数及其 RSD,得到 RSD 为 0.66%,说明本实验方法的精密度良好。

(2) 酸性多糖的精密度试验:精密量取质量浓度为 13.94 μg/mL 的葡萄糖醛酸对照品溶液 6 份,按照“2.3.2”项下方法操作并按标准曲线计算酸性多糖的量及其 RSD。得到 RSD 为 0.69%,说明本实验方法的精密度良好。

2.3.4 稳定性考察

(1) 中性多糖的稳定性试验:将反应结束后的葡萄糖溶液在 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 及 490 nm 处测定吸光度,得到中性多糖 RSD 为 1.28%,结果表明在 4 h 内稳定。

(2) 酸性多糖的稳定性试验:将反应结束后的葡萄糖溶液在 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 及 512 nm 处测定吸光度,得到酸性多糖 RSD 为 1.55%,结果表明在 4 h 内稳定。

2.3.5 重复性考察

(1) 中性多糖的重复性试验:精密称取 60 ℃下烘干的五味子药渣 6 份,每份 0.5 g,分别按照“2.3.1”项方法制备供试品溶液。精密量取各供试品溶液 100 μL,按“2.3.2”项下自“加水补足 1 mL”起依法操作,测定吸光度值,计算 RSD。得到 RSD 为 2.45%,表明方法的重复性良好。

(2) 酸性多糖的重复性试验:精密称取 60 ℃下烘干的五味子药渣 6 份,每份 0.5 g,分别按照“2.3.1”项方法制备供试品溶液。精密量取各供试品溶液 100 μL,按“2.3.2”项下自“加水补足 1 mL”起依法操作,测定吸光度值,计算 RSD。得到 RSD

为 2.86%，表明方法的重复性良好。

2.3.6 回收率考察

(1) 中性多糖的回收率试验：取已知质量分数的样品溶液 9 份，加入对照品溶液适量，混匀，按照“2.3.2”项方法进行操作，得到中性多糖平均回收率为 96.73%，RSD 为 2.16%。

(2) 酸性多糖的回收率试验：取已知质量分数的样品溶液 9 份，加入对照品溶液适量，混匀，按照“2.3.2”项方法进行操作，得到酸性多糖平均回收率为 99.57%，RSD 为 1.71%。

2.3.7 样品测定 精密称取 60 ℃下烘干的五味子

药材及药渣各 6 份，每份 0.5 g，分别按照“2.3.1”项方法制备供试品溶液。精密量取各供试品溶液 100 μL 3 份，按“2.3.2”项下自“加水补足 1 mL”起依法操作，测定吸光值，可得平均吸光度值，计算中性多糖的量。另外 3 份五味子药材或药渣按“2.3.2”项下自“加水补足 1 mL”起依法操作，测定吸光度值，可得平均吸光度值，计算酸性多糖质量分数。结果见表 3。

2.4 五味子药渣中粗纤维的测定与分析^[12]

2.4.1 样品的制备方法 取五味子药材及药渣粉碎，过筛（40~60 目），用四分法缩减至 200 g，每

表 3 五味子药材及药渣中的多糖类物质组成及定量分析

Table 3 Quantitative determination of polysaccharides in *Schizandrae Fructus* and its residues

样品	中性多糖/(mg·g ⁻¹)	中性多糖质量比/%	酸性多糖/(mg·g ⁻¹)	酸性多糖质量比/%
五味子药材	71.50±2.62	7.15	23.68±3.75	2.37
五味子药渣	38.19±2.28	3.82	13.16±4.30	1.32

克样品用 25 mL 石油醚进行脱脂。于 100 ℃左右烘干至恒定质量，置于干燥器内冷却至恒温。坩埚同样烘干至恒定质量。平行称取 3 份已过筛的五味子药材或药渣 2 g（精确至 0.2 mg）作为待测试样。

2.4.2 重复性考察 取五味子药渣粉碎，过筛（40~60 目），用四分法缩减至 200 g，每克样品用 25 mL 石油醚进行脱脂。于 100 ℃左右烘干至恒质量，置于干燥器内冷却至恒温。坩埚同样烘干至恒质量。称取 6 份已过筛的五味子药渣 2 g（精确至 0.2 mg）作为待测试样。按照“2.4.3”项下样品测定的方法进行测定，计算粗纤维的量及 RSD 值，可得 RSD 值为 4.42%，故方法重复性良好。

2.4.3 样品测定及结果 将配制好的硫酸溶液（0.127 mol/L）和 KOH 溶液（0.223 mol/L）分别放在加热器上加热，煮沸。把称好的 3 份五味子药材或药渣试样分别放入玻璃坩埚中，并将其一起放入机器相应位置中，压下操作手柄使玻璃坩埚上下与机器接触严密。将三通阀旋转至 CLOSED 档，在每个反应器中加入已煮沸的硫酸 150 mL，并加入几滴正辛醇。开启机器总电源，在控制面板上设置煮沸

时间 30 min。用沸腾的硫酸清洗完后，待稍微冷却，将控制旋钮旋转至 VACUUM 位置，并按下 VACUUM 以排放硫酸。再用热的蒸馏水 30 mL 左右清洗样品 3 次，每次将控制旋钮旋转至 COMPRESS 进行反吹清洗。

清洗结束后，在每个反应器中加入已煮沸的 KOH 溶液 150 mL，并加入几滴正辛醇。设置煮沸时间为 30 min。待煮沸后，稍微冷却排空液体后，用热的蒸馏水 30 mL 左右清洗样品 3 次，每次将控制旋钮旋转至 COMPRESS 进行反吹清洗。用温水清洗 1 次后，再用冷水清洗 2 次，以降低坩埚温度。接着用 25 mL 的丙酮清洗 3 次，每次都应进行反吹，保证清洗彻底。

将清洗残留物及玻璃坩埚一起放入烘箱中于 130 ℃烘干 1 h，在干燥器中冷却至室温并称质量为含灰分量（ W_1 ）。将试样和玻璃坩埚于 500 ℃马弗炉中灼烧 3 h，在干燥器中冷却至室温并称质量为灰分量（ W_2 ）。根据计算公式：粗纤维质量分数 = $(W_1 - W_2)/W$ （ W 为待测试样质量）可得粗纤维质量分数，结果见表 4。

表 4 五味子药材及药渣中粗纤维素类物质的定量分析结果

Table 4 Quantitative determination on crude fibers in *Schizandrae Fructus* and its residues

样品	W_1/g	W_2/g	粗纤维质量分数/(mg·g ⁻¹)	质量占比/%
五味子药材	31.231 6	30.438 6	396.50±4.27	39.65
五味子药渣	31.324 8	30.448 8	438.00±3.50	43.80

3 讨论

3.1 五味子药渣中可利用资源性化学成分及其资源利用价值

研究发现,生脉注射液生产过程中五味子药渣中木脂素类成分几乎未被利用而残留于药渣中,其中五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和五味子酯甲在药渣中的质量分数尚有上升趋势。因此,五味子药渣中木脂素类资源性物质值得进一步循环利用与开发,可作为提取木脂素类成分的重要原料,以提升五味子资源的利用效率。

五味子药渣中生物大分子类可利用物质主要为蛋白质类^[8,13]、多糖类和粗纤维素类化学成分,其中蛋白质类成分质量分数较高,为12.18%。五味子药渣中中性多糖质量分数为3.82%,酸性多糖质量分数为1.32%。已有文献报道经水提醇沉后^[9],得到五味子粗多糖收率为9.14%,多糖量达42.33%^[14]。多糖可作为天然抗氧化剂、功能性食品和药品的原料进一步开发利用^[15-16]。五味子药渣中的粗纤维质量分数为43.80%,可通过一定的转化利用使粗纤维得以充分利用。此外,五味子中蛋白质类、多糖类、纤维素类成分尚可利用生物转化技术制备饲料添加剂、生物肥料等高附加值产品,以实现废弃物的转化增效价值。

3.2 五味子药渣中可利用物质的循环利用策略

通过对生脉注射液生产过程产生的五味子药渣中可利用物质的创新资源价值,实现其循环利用,最大限度的加以利用,减少环境污染,改善生态环境,提升五味子资源的综合利用效率,产生良好的经济效益、生态效益和社会效益,使之持续发展和永续利用^[17]。其中木脂素类资源性物质具有明确的治疗以谷丙转氨酶高为主要体征的肝炎等疾病,且资源性化学成分五味子乙素对原代培养的大鼠肝细胞脂质过氧化具有较好的抗氧化作用^[18]。因此,可作为提取获得五味子木脂素类成分的原料,提升五味子资源利用价值和利用效率。

五味子药渣中含有丰富的粗多糖,五味子多糖具有保护肝脏、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老和免疫增强等多种生物活性^[19-20],仍具有一定的药用和营养价值,可开发为天然抗氧化剂、动物饲料添加剂、食用菌培养基等。五味子药渣中的水不溶性植物蛋白、粗纤维等可利用物质亦可挖掘和创新其利用价值^[21],实现其资源循环利用。此外,五味子药渣中的脂溶性脂肪酸类成分约70%为不饱和脂肪酸^[13],可用于制备具有软化血管,降低血脂的保健食品。五味子药渣循环利用途径如图2所示。

通过对五味子药中可利用资源性物质的循环利

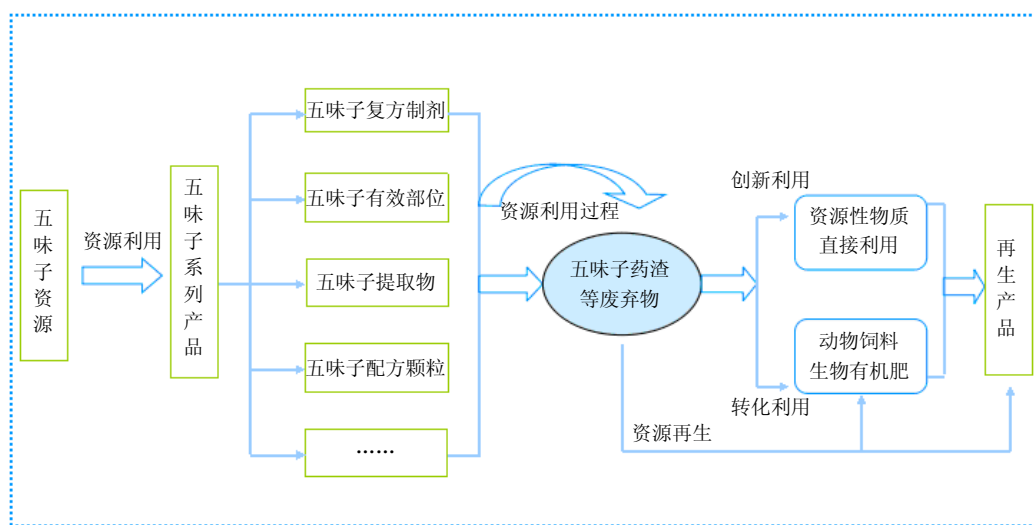


图2 五味子资源循环利用模式示意图

Fig. 2 Pattern sketch of recycling of *Schizandrae Fructus* resources

用,达到资源节约和保护环境的目,实现经济和生态的和谐共生,推动中药资源产业经济活动由物质消耗向价值提升转变,创新资源价值,延伸资源经济产业链。按照循环经济理论,以中药废弃物的循环利用为切入点链接农业、林业、渔业、畜牧业,

以及资源工业和服务业等领域,以构建中药资源经济循环发展模式。从生态工艺学的观点来看,发展“无废”或“少废”生产工艺,实施对废弃物的无害化处理,从一定量的资源中开发出多种产品和最大产量,形成高效低耗、高产低碳的生产循环模式。

参考文献

- [1] 刘海涛. 五味子科药用植物亲缘学初探及两种五味子科药用植物化学成分的研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2009.
- [2] 于俊林, 秦 瑀, 胡彦武, 等. HPLC 法测定五味子茎藤中木质素的含量 [J]. 中草药, 2003, 34(10): 附 9-附 10.
- [3] 史 琳, 王志成, 冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 208-212.
- [4] 马春慧. 北五味子活性成分高效分离纯化技术及资源多级利用工艺研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013.
- [5] 周洪玉. 生脉注射液药效物质基础研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2011.
- [6] 郑天孝. 生脉注射液的工业制备 [J]. 华西药学杂志, 1987(3): 16.
- [7] 段金廛. 中药废弃物的资源化利用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2013.
- [8] 段金廛, 宿树兰, 郭 盛, 等. 中药资源产业化过程废弃物的产生及其利用策略与资源化模式 [J]. 中草药, 2013, 44(20): 2787-2797.
- [9] 段金廛, 宿树兰, 郭 盛, 等. 中药废弃物的转化增效资源化模式及其研究与实践 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(24): 1-7.
- [10] 曹玉华. BCA 法测神奇灵颗粒剂中的蛋白含量 [J]. 中国实用医药, 2009, 4(7): 43-44.
- [11] 赵 文, 黄亚东, 任永凤, 等. 阿克苏黄芪中多糖成分的分析 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 271-273.
- [12] 张洁梅, 刘东豪. 细粉类大豆样品粗纤维的检测研究 [J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 129-130.
- [13] 杨艳辉, 王喆之. 南五味子脂溶性成分的 GC-MS 分析 [J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(3): 367-369.
- [14] 郭志欣, 顾地周, 朱俊义, 等. 五味子药渣中活性多糖成分的制备方法: 中国, CN102492050A [P]. 2012-06-13.
- [15] 谭晓虹, 王志宝, 李 雪, 等. 南五味子多糖的提取及其体外抗氧化作用 [J]. 食品研究与开发, 2013, 34(7): 20-23.
- [16] Xv G X, Jun M X, Hai L J, *et al.* Hypoglycemic effects of a water-soluble polysaccharide isolated from *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill in alloxan-induced diabetic mice [J]. *J Biotechnol*, 2008. doi:10.1016/j.jbiotec.2008.07.1727.
- [17] 段金廛, 张伯礼, 宿树兰, 等. 基于循环经济理论的中药资源循环利用策略与模式探讨 [J]. 中草药, 2015, 46(12): 1715-1722.
- [18] 蔡 晶, 张 庆, 肖 峰, 等. 五味子乙素对人肝细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(5): 766-769.
- [19] 汪艳群. 五味子多糖的分离, 结构鉴定及免疫活性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2012.
- [20] 仰榴青, 陈荣华, 吴向阳, 等. 五味子醇提残渣中粗多糖的免疫活性研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(6): 392-394.
- [21] 万志强, 严铭铭, 展 月, 等. 五味子蛋白的提取纯化及含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 119-122.