

正交试验法优选西洋参醇提工艺

段晓颖(河南中医学院第一附属医院中心实验室,河南 郑州 450000)

摘要:目的 优选西洋参最佳醇提工艺。方法 采用正交试验 $L_9(3^4)$,以 D101 大孔吸附树脂-比色法对正交试验回流液中人参总皂苷进行含量测定。结果 优选出西洋参最佳提取工艺为加 70% 乙醇 4 倍,回流 2 次,每次 2h。结论 该提取工艺合理,具有实用价值。

关键词:西洋参;正交试验;比色法;人参总皂苷;含量测定

中图分类号:R284.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)08-0772-02

西洋参主要含人参皂苷类成分,为人参皂苷 Rb_1 , Rg , Re , F_{11} 等。据报道,人参皂苷提取率乙醇回流法明显高于水煎法^[1];也有报道,人参皂苷 Re 随着水煎时间延长其浓度迅

速下降,是由于煎煮法温度高,对成分造成破坏^[2]。故选择醇提工艺,以人参总皂苷的提取量为指标,采用正交试验优选西洋参回流提取工艺。

1 仪器及试药

可见紫外分光光度计(日本岛津 UV-260 型),电子天平(德国 sartorius BS210S),西洋参(产地:加拿大),人参皂苷 Rb₁对照品(110704/200318 中国药品生物制品检定所),D101 大孔吸附树脂,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 西洋参提取次数的考察

将西洋参粉碎为颗粒,加 70% 乙醇回流 3 次,每次 1h,测定 1、2 次回流液中人参总皂苷的提取总量为 42.8mg/g,第三次回流液中为 5.1mg/g,结果表明回流 2 次即可将西洋参中大部分人参总皂苷提取出,因此将西洋参的乙醇回流次数固定为 2 次。

2.2 正交试验法优选西洋参醇提工艺

2.2.1 试验设计表

正交试验考察因素为乙醇浓度,回流时间,加醇倍数,见表 1。

表 1 因素水平表

Tab 1 The factors and levels of orthogonal design

水平	因素		
	乙醇浓度(%)A	加醇倍数 B	回流时间 C
1	70	4	1
2	60	6	1.5
3	50	8	2

2.2.2 回流液中人参总皂苷的测定

采用比色法测定西洋参回流液中人参总皂苷的含量^[3],方法为:

标准曲线制备:精密称取人参皂苷 Rb₁对照品适量,加甲醇制成 0.538mg/mL 的对照品溶液。精密吸取 40、80、120、160、200μL 对照品,置 10mL 具塞试管中,水浴挥干,精密加入 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2mL,再精密加入高氯酸溶液 0.8mL,混匀,置 60℃ 水浴中 15min,取出,立即放入冰浴中 2min,精密加入冰醋酸 5mL,混匀,置可见紫外分光光度计上,于 546nm 处测定吸收度。以人参皂苷 Rb₁的含量为横坐标,吸收度为纵坐标,制备出标准曲线为: $y = 4.3 \times 10^{-3}x - 7.6 \times 10^{-3}$, $r = 0.9996$ 。

样品的测定:精密吸取 1~9 号回流液一定量,分别置蒸发皿中,水浴挥干,残渣用水溶解,通过处理好的大孔吸附树脂,用水 50mL 洗脱,弃去洗脱液,再用 20% 乙醇 50mL 洗脱,弃去 20% 乙醇洗脱液,继续用 80% 乙醇 80mL 洗脱,收集洗脱液 70mL,蒸干,残渣加甲醇溶解并定量转移至 5mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得^[4]。精密吸取适量,置 10mL 具塞试管中,水浴蒸干,加 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2mL,再加高氯酸 0.8mL,振摇,置 60℃ 水浴中 15min 后取出,立即置冰浴中 2min,精密加入冰醋酸 5mL,于 546nm 处测定吸收度,从标准曲线上读出供试品溶液中人参总皂苷的含量,计算,即得。

2.2.3 正交试验及结果

正交试验结果及方差分析见表 2、3。

表 2 L₉(3⁴) 正交试验及结果

Tab 2 The experimenst results of orthogonal design

试验号	因素				指标
	乙醇浓度(%)A	加醇倍数 B	回流时间(h)C	D	人参总皂苷提取量(mg/g)
1	1(70%)	1(4)	1(1)	1	35.3
2	1	2(6)	2(1.5)	2	42.8
3	1	3(8)	3(2)	3	50.4
4	2(60%)	1	2	3	35.1
5	2	2	3	1	47.7
6	2	3	1	2	30.0
7	3(50%)	1	3	2	42.1
8	3	2	1	3	31.8
9	3	3	2	1	38.0
I	128.5	112.5	97.1	121.0	G = 353.2 CT = 13861.1
II	112.8	122.3	115.9	114.9	
III	111.9	118.4	140.2	117.3	
SS _j	58.1	16.3	311.3	6.3	

表 3 方差分析表

Tab 3 Analysis of standard of deviation

方差来源	离均差	自由度	方差	F	显著性
A	58.1	2	29.0	9.1	$P < 0.1$
B	16.3	2	8.2	2.6	$P > 0.1$
C	311.3	2	155.7	48.7	$P < 0.05$
误差 e(D)	6.3	2	3.2		

$F_{0.05(2,2)} = 19.00, F_{0.1(2,2)} = 9.00$

方差分析结果表明,因素 A、C 具有显著性差异, $A_1 > A_2 \approx A_3, C_3 > C_2 > C_1$, 选择 A_1C_3 , 因素 B 无显著性差异, 选择最低水平 B_1 。最佳提取工艺为 $A_1B_1C_3$, 即加 70% 乙醇 4 倍, 回流 2 次, 每次 2h。

3 讨论

3.1 西洋参中主要含人参皂苷 Rb₁, Rg, Re 等, 由于 Rb₁ 含量较高, 因此以人参皂苷 Rb₁ 为对照品制备标准曲线。

3.2 比色法测定人参总皂苷含量, 温度对测定结果影响较大, 样品中加入冰醋酸后, 在比色测定之前这段时间, 样品应始终放在冰浴中, 若在室温下放置, 测定结果会有较大的波动。

3.3 采用大孔吸附树脂分离纯化人参总皂苷, 然后用比色法测定人参总皂苷, 可以消除杂质干扰。但最好用同一牌号的大孔吸附树脂, 否则数据误差较大。

参考文献

[1] 闫光军, 陈建, 邵明杰. 渗漉法提取三七总皂苷的工艺研究. 山东医药工业, 2003, 22(5): 4-5.
[2] 张崇禧, 郑友兰, 张春红. 不同方法提取人参总皂苷工艺的优化研究. 长春: 人参研究, 2003(4): 5-6.
[3] 桂双英, 周亚球. 比色法测定人参中人参总皂苷的含量. 安徽中医学院学报, 2003, 22(4): 51-52.
[4] 中国药典一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 8.

收稿日期: 2005-12-12