

# 均匀设计法优选大孔树脂纯化七叶莲 总皂苷工艺研究



LI Kun-ping

李坤平<sup>1,2</sup>, 潘天玲<sup>1</sup>, 贲永光<sup>1</sup>, 孔繁晟<sup>1</sup>

(1. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006;  
2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

**摘 要:** 以总皂苷比吸附量和解吸率为指标,通过静态和动态吸附解吸试验,从 9 种树脂中筛选出 AB-8 型大孔吸附树脂;以总皂苷收率和总皂苷纯度为指标,通过单因素试验考察了最佳洗脱剂浓度,并利用均匀设计法对大孔树脂富集纯化的工艺进行了优化。结果表明:以 70% 乙醇为洗脱剂,以总皂苷收率为指标,优选的工艺参数为:上样质量浓度 0.976 g/L、上样流速 2.2 mL/min、洗脱剂用量 3.0 BV (1 BV = 80 mL,下同)、洗脱流速 3.6 mL/min,其总皂苷收率 62.17%,总皂苷纯度 41.22%;以总皂苷纯度为指标,优化的工艺参数为:上样质量浓度 0.976 g/L、上样流速 2.8 mL/min、洗脱剂用量 0.6 BV、洗脱流速 0.8 mL/min,其总皂苷收率 41.25%,总皂苷纯度 49.79%。

**关键词:** 七叶莲;大孔树脂;总皂苷;纯化工艺;均匀设计

中图分类号:TQ351.0;R284.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2009)02-0110-05

## Study on Optimum Purification Process for Total Saponins of *Schefflera arboricola* Hayata by Macro-porous Absorptive Resins Using Uniform Design

LI Kun-ping<sup>1,2</sup>, PAN Tian-ling<sup>1</sup>, BI Yong-guang<sup>1</sup>, KONG Fan-sheng<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. School of Chinese Traditional Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** In order to establish a purification process for total saponins of *Schefflera arboricola* Hayata, nine kinds of macro-porous absorptive resins were tested and AB-8 was selected for its excellent absorptive and desorptive properties. Then the process parameters were optimized by single factor tests and uniform design, and statistical methods. Using recovery rate as index, the optimum conditions were obtained as following: sample mass concentration 0.976 g/L, feed rate 2.2 mL/min, elution rate 3.6 mL/min, eluant amount 3.0 BV (1 BV = 80 mL); recovery rate reached 62.17% and purity was 41.22%. Using purity as index, the optimum conditions were obtained as following: sample mass concentration 0.976 g/L, feed rate 2.8 mL/min, elution flow rate 0.8 mL/min, eluant amount 0.6 BV; purity reached 49.79% and recovery rate was 41.25%.

**Key words:** *Schefflera arboricola* Hayata; macroporous resin; total saponins; purification process; uniform design

大孔吸附树脂作为一种新型分离介质,在生物碱、皂苷、黄酮类化合物提取分离等方面的应用越来越广泛,尤其对总皂苷的分离纯化相比溶剂法具有明显的优势,较好地解决了后者易乳化、难回收、效率低等问题,得到了众多研究者的关注<sup>[1-4]</sup>。均匀设计法是一种多因素多水平试验设计方法,可通过较少的试验次数,定量预测优化条件和结果,在工艺优化研究中应用广泛<sup>[5-6]</sup>。七叶莲,五加科鹅掌柴属植物,以茎藤或全枝入药,具有祛风止痛、舒筋活络的功效;前期作者报道了七叶莲总皂苷的溶剂法提取工艺及其定量分析方法<sup>[7]</sup>,现参考相关文献<sup>[2-3,5-7]</sup>,对采用大孔吸附树脂富集纯化七叶莲总皂苷的工艺进

收稿日期:2008-02-18

基金项目:广东省高校重点学科建设资金(无编号)

作者简介:李坤平(1978-),男,湖北公安人,讲师,博士生,从事中药制药工程方面的教学与研究。

行了研究,筛选出了合适的大孔吸附树脂,并利用单因素试验及  $U_{12}(6^5)$  混合水平均匀设计对吸附分离工艺参数进行了优化。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、材料与试剂

仪器:树脂柱,玻璃柱,40 cm × 2 cm;紫外可见分光光度计,TU-1810型;蠕动泵,BT00-100M型。

材料:七叶莲饮片,购自广州致信中药饮片有限公司(批号:060228),由广东药学院药用植物教研室李钟老师鉴定为七叶莲(*Schefflera arboricola* Hayata)干燥茎藤,粉碎,过筛,备用。大孔吸附树脂:D101(天津市海光化工有限公司);AB-8、X-5、NKA、NKA-9(南开大学化工厂);HPD100、HPD300、HPD500、HPD600(河北沧州宝恩化工有限公司)。

试剂:齐墩果酸标准品,购自中国药品生物制品检定所(批号:110709-200304)。香草醛、冰醋酸、高氯酸、乙醇均为市售分析纯。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 七叶莲总皂苷供试液的制备及其浓度的测定** 参考文献[7],总皂苷质量浓度 1.952 g/L。

**1.2.2 大孔树脂的预处理与含水率的测定** 对 D101、AB-8、X-5、NKA、NKA-9、HPD100、HPD300、HPD500、HPD600 等 9 种型号树脂,以 95% 乙醇(体积分数,下同)反复浸渍,再用水洗涤至无醇味,蒸馏水浸渍,备用。对各种大孔树脂过滤,用滤纸吸干后,准确称取湿树脂各 1.00 g ( $m_1$ ),105 °C 烘干后称其质量 ( $m_2$ ),测定其含水率 ( $M$ ),即:  $M = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100\%$ 。

**1.2.3 大孔树脂静态吸附-解吸附实验** 准确称取一定量(相当于 1.00 g 绝干树脂)经预处理的各型号树脂,置于 100 mL 烧杯中,加入提取液 50 mL ( $c_0 = 0.488$  g/L),30 °C,120 r/min 吸附 24 h,测定总皂苷质量浓度 ( $c_1$ ),则静态比吸附量 =  $[(c_0 - c_1) \times 50] / 1.00$ ;再滤出上述已吸附的树脂,用少量去离子水冲洗树脂表面后用滤纸吸干,转入另一烧杯中,加入 20 mL 70% 乙醇,30 °C,浸渍 2 次,每次 3 h,过滤,少量乙醇洗涤,合并洗涤液与滤液,定容至 50 mL,测其总皂苷质量浓度 ( $c_2$ ),则静态解吸附率 =  $(c_2 \times 50) / [(c_0 - c_1) \times 50] \times 100\%$ 。

**1.2.4 大孔树脂动态吸附-解吸附实验** 准确称取一定量(相当于 10.00 g 绝干树脂)1.2.3 节筛选的性能较好的 3 种大孔树脂,湿法装柱,以 2 mL/min 的流速上样 ( $c_3 = 1.952$  g/L,  $v = 100$  mL),同时以相同流速收集吸附后的试液,并将该试液再上柱吸附,如此循环吸附 2 次后放出柱中所有试液,测其总皂苷质量浓度 ( $c_4$ ),则动态比吸附量 =  $(c_3 - c_4) \times 100 / 10$ 。再以 2 mL/min 的流速用 120 mL 蒸馏水洗去杂质,然后以相同流速用 100 mL 70% 乙醇洗脱,收集洗脱液并测其总皂苷质量浓度 ( $c_5$ ),则动态解吸附率 =  $(c_5 \times 100) / [(c_3 - c_4) \times 100] \times 100\%$ 。

**1.2.5 树脂柱洗脱剂体积分数的选择** 按 1.2.4 节方法装柱、上样 ( $c = 1.952$  g/L,  $v = 100$  mL),先用 120 mL 水洗,每 30 mL 收集 1 份,再依次用 10%、30%、50%、70%、95% 乙醇各 40 mL 以 2 mL/min 的流速动态洗脱,每 10 mL 收集 1 份,分别测定各流分的总皂苷含量,根据不同体积分数乙醇洗脱的总皂苷量的多少确定适当的洗脱剂体积分数。

**1.2.6 均匀设计优化工艺参数** 参考文献[8],采用 DPS 软件生成  $U_{12}(6^5)$  均匀设计表安排试验条件;每次取一定量大孔树脂(相当于 10.00 g 绝干树脂)湿法装柱、循环吸附上样,对大孔树脂吸附分离的影响因素,包括试样的 pH 值,上样液浓度,上样流速,洗脱流速,洗脱剂用量等进行优化。

## 2 结果与讨论

### 2.1 大孔树脂静态吸附-解吸附实验与动态吸附-解吸附实验

大孔吸附树脂种类较多,不同型号树脂的结构和性状不同,其吸附分离性能差异较大,为筛选出对

七叶莲总皂苷富集分离性能较好的大孔树脂,进行了静态吸附-解吸附实验与动态吸附-解吸附实验,结果见表1。

表1 大孔树脂静态吸附解吸附实验结果<sup>1)</sup>

Table 1 Results of static adsorption-desorption experiments with macroporous resins

树脂类型 resin types	$c_0/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	$c_1/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	$c_2/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	静态比吸附量/( $mg \cdot g^{-1}$ ) static adsorption amount	静态解吸附率/% static desorption rate
D101	0.488	0.178	0.169	15.50	54.52
NKA	0.488	0.275	0.112	10.65	52.58
NKA-9	0.488	0.297	0.089	9.55	46.74
X-5	0.488	0.266	0.115	11.10	51.66
AB-8	0.488	0.172	0.192	15.80	60.76
HPD-100	0.488	0.183	0.167	15.25	54.79
HPD-300	0.488	0.177	0.178	15.55	57.21
HPD-500	0.488	0.214	0.152	13.70	55.48
HPD-600	0.488	0.191	0.106	14.85	48.37

1)  $c_0$ : 上样液初始浓度 sample initial concn.;  $c_1$ : 静态吸附平衡浓度 static adsorption equilibrium concn.;  $c_2$ : 静态解吸附平衡浓度 static desorption equilibrium concn.

由表1可知,D-101、AB-8、HPD-300这3种树脂的静态比吸附量和解吸附率均较高,但实际生产中均是以动态操作,故对其动态吸附解吸附性能进行进一步考察和筛选,结果见表2。

表2 大孔树脂动态吸附解吸附实验结果<sup>1)</sup>

Table 2 Results of dynamic adsorption-desorption experiments with macroporous resins

树脂类型 resin types	$c_3/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	$c_4/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	$c_5/$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	动态比吸附量/( $mg \cdot g^{-1}$ ) dynamic adsorption amount	动态解吸附率/% dynamic desorption rate
AB-8	1.952	0.273	1.483	16.79	88.33
HPD-300	1.952	0.453	1.349	14.99	90.00
D101	1.952	0.409	1.322	15.43	85.68

1)  $c_3$ : 上样液初始浓度 sample initial concn.;  $c_4$ : 动态吸附平衡浓度 dynamic adsorption equilibrium concn.;  $c_5$ : 动态解吸附平衡浓度 dynamic desorption equilibrium concn.

从表2可以看出,3种树脂的动态比吸附量都较高,达到了15 mg/g左右,其动态解吸附率也都在85%以上,其中AB-8的动态比吸附量和动态解吸附率分别达到了16.79 mg/g和88.33%,而HPD-300的解吸附率最大而比吸附量最小,D-101的比吸附量和解吸附率均小于AB-8,根据其综合性能选用AB-8型树脂用于七叶莲总皂苷富集纯化工艺研究。

## 2.2 最佳洗脱剂体积分数的选择

表3是AB-8型大孔吸附树脂柱吸附后的洗脱过程中总皂苷量的变化及其分析结果。从表中可以看出,不同体积分数的乙醇解吸附总皂苷的能力差别较大,在10%~30%乙醇洗脱区间内,总皂苷洗脱量较小;总皂苷量主要在50%乙醇和70%乙醇洗脱区间,其洗脱量占总吸附量的70.46%。因此在后续工艺优化研究中,洗脱工艺定为上样后先用1.5 BV(1 BV = 80 mL,下同)水洗脱后,继以30%乙醇洗脱除杂,再用70%乙醇洗脱并收集七叶莲总皂苷部位。

## 2.3 均匀设计试验结果和数据统计与分析

按照1.2.6节 $U_{12}(6^5)$ 混合水平均匀设计表的试验条件,上样吸附并洗脱;70%乙醇洗脱液分成两份,一份测其总皂苷质量浓度,另一份回收溶剂、干燥后测定称质量,计算总皂苷纯度及其收率,结果见表4。

表3 AB-8型大孔吸附树脂柱洗脱过程总皂苷含量变化

Table 3 Changes of total saponins contents in eluates from AB-8 resin column

试样号 sample No.	洗脱溶剂 eluant	总皂苷含量/mg total saponins content
1~6	水 water	9.882
7~10	10% EtOH	8.999
11~14	30% EtOH	12.577
15~18	50% EtOH	39.199
19~22	75% EtOH	79.106
23~26	95% EtOH	27.878

表4 AB-8型大孔树脂  $U_{12}(6^5)$  混合水平均匀设计试验结果<sup>1)</sup>Table 4 Results of  $U_{12}(6^5)$  uniform design test on AB-8 resin

试验号 test No.	A 上样浓度/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) concn.	B 上样流速/ ( $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) feed rate	C 洗脱剂量/BV elution agent volume	D 洗脱流速/ ( $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) elution rate	E pH 值 pH value	收率/% yield ( $Y_1$ )	纯度/% purity ( $Y_2$ )
1	1.464	0.8	1.2	1.6	8.0	53.31	40.33
2	2.928	2.4	2.4	3.2	8.0	56.64	35.62
3	2.440	1.6	0.6	4.0	6.8	41.33	36.82
4	0.976	2.4	1.2	4.8	6.2	50.21	35.96
5	1.952	1.2	3.0	4.8	7.4	57.67	33.07
6	0.488	2.8	1.8	2.4	7.4	56.37	41.55
7	1.464	2.0	3.6	4.0	5.0	60.15	35.28
8	0.488	0.8	2.4	3.2	5.6	57.71	39.16
9	2.440	2.8	3.0	1.6	6.2	59.16	37.75
10	1.952	2.0	0.6	0.8	5.6	42.79	50.06
11	0.976	1.6	3.6	0.8	6.8	61.42	41.23
12	2.928	1.2	1.8	2.4	5.0	56.14	37.85

1) 上样量均为 100 mL every feed volume was 100 mL; 所有试验均在室温操作 all tests run at room temp.

以七叶莲总皂苷试液经大孔树脂柱上样吸附、洗脱后的收率和所得总皂苷的纯度为评价指标,将表 3 数据由 DPS 数据处理系统经二次多项式逐步回归分析,结合试验原理和实际经验,得到回归方程 1:  $Y_1 = 32.078 + 11.025B + 16.022C - 5.074B^2 - 4.170C^2 - 0.826A \cdot B - 0.371A \cdot D + 3.863B \cdot C$  ( $F = 121.736, P = 0.002, R = 0.9977, Ra = 0.9936$ ) 和回归方程 2:  $Y_2 = 46.005 + 4.167B - 4.013D - 0.589A \cdot C - 1.539B \cdot C + 0.741C \cdot D$  ( $F = 33.4587, P = 0.003, R = 0.9825, Ra = 0.9677$ ), 从各方程的统计量看出两个方程拟合度良好,均具有统计学意义;另外,两者均将因素 E 剔除,即试液的 pH 值对总皂苷的收率和纯度均无显著影响。

由软件预测的  $Y_{1\max} = 66.235$  及其各因素组合:  $A = 0.488, B = 2.2, C = 3.0, D = 3.6, E = 7.5$  和  $Y_{2\max} = 52.06$  及其各因素组合:  $A = 0.488, B = 2.8, C = 0.6, D = 0.8, E = 6.8$ 。二者皆要求 A 取最小值,但实际操作中 A 值太小,即上样液质量浓度太小会造成树脂柱富集分离的效率和能力降低;所以后续工艺中 A 取值 0.976,此时由回归方程计算得  $Y'_{1\max} = 65.78, Y'_{2\max} = 51.88$ 。

综上所述,若以总皂苷收率为评价指标,优选的工艺参数为:上样液质量浓度 0.976 g/L、上样流速 2.2 mL/min、洗脱剂用量 3.0 BV、洗脱流速 3.6 mL/min。若以总皂苷纯度为评价指标,优化的工艺参数为:上样液质量浓度 0.976 g/L、上样流速 2.8 mL/min、洗脱剂用量 0.6 BV、洗脱流速 0.8 mL/min。

#### 2.4 优选工艺参数的验证试验结果与分析

按照 2.3 节的优选工艺参数,上样吸附并洗脱,结果以七叶莲总皂苷收率为评价指标的试验组 2 次试验结果的平均收率为 62.17%,总皂苷纯度 41.22%;以七叶莲总皂苷纯度为评价指标的试验组 2 次试验结果的总皂苷收率 41.25%,平均纯度为 49.79%。验证试验结果与回归方程预测值基本吻合,说明前期试验设计比较合理,优选的工艺参数比较稳定。

### 3 结论

**3.1** AB-8 型大孔吸附树脂对七叶莲总皂苷具有良好的吸附分离性能,其动态比吸附量和动态解吸率分别达到了 16.79 mg/g 和 88.33%。

**3.2** 以总皂苷收率( $Y_1$ )和总皂苷纯度( $Y_2$ )为评价指标,试样的 pH 值、上样浓度、上样流速、洗脱流速、洗脱剂用量等因素对评价指标的回归方程:  $Y_1 = 32.078 + 11.025B + 16.022C - 5.074B^2 - 4.170C^2 - 0.826A \cdot B - 0.371A \cdot D + 3.863B \cdot C$  和  $Y_2 = 46.005 + 4.167B - 4.013D - 0.589A \cdot C - 1.539B \cdot C + 0.741C \cdot D$ , 回归方程拟合度良好,具有统计学意义。试液的 pH 值对总皂苷的收率和纯度均无显著影响。

**3.3** 以总皂苷收率为指标,大孔吸附树脂富集纯化七叶莲总皂苷的工艺为:上样液质量浓度

0.976 g/L、上样流速 2.2 mL/min、洗脱剂用量 3.0 BV (1 BV = 80 mL, 下同)、洗脱流速 3.6 mL/min, 总皂苷收率 62.17%, 总皂苷纯度 41.22%。以总皂苷纯度为指标, 优化的工艺参数为: 上样液质量浓度 0.976 g/L、上样流速 2.8 mL/min、洗脱剂用量 0.6 BV、洗脱流速 0.8 mL/min, 总皂苷平均纯度为 49.79%, 收率 41.25%。

致谢: 感谢中南林业科技大学黄克瀛教授的指导。

#### 参考文献:

- [1] 屠鹏飞, 贾存勤, 张洪全. 大孔吸附树脂在中药新药研究和生产中的应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2004, 6(3): 22-28.
- [2] 张黎明, 李春莲. 大孔吸附树脂分离纯化山楂叶总黄酮的研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(1): 87-90.
- [3] 吴向阳, 侯会绒, 仰榴青, 等. 树脂吸附法分离纯化匙羹藤总皂苷[J]. 江苏大学学报, 2007, 28(5): 434-437.
- [4] 石忠峰, 陈蔚文, 李卫民, 等. 大孔吸附树脂纯化黄芪总皂苷的研究[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1322-1324.
- [5] 丁为民, 王洋, 阎秀峰, 等. 均匀设计法优化桦木醇的超临界二氧化碳萃取工艺[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(3): 63-66.
- [6] 李文兰, 范玉奇, 王艳萍, 等. 均匀设计法优选天麻中天麻苷和天麻总苷的提取工艺[J]. 中成药, 2007, 29(1): 57-60.
- [7] 李坤平, 潘天玲, 贲永光, 等. 七叶莲总皂苷的提取及其定量分析方法研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(4): 99-102.
- [8] 唐启义, 冯明光. DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 278-289.

## 本刊信息

### 《林产化学与工业》征稿简约

《林产化学与工业》是中国林业科学研究院林产化学工业研究所和中国林学会林产化学化工分会共同主办的学术类刊物。报道范围是可再生的木质和非木质林产品和生物质资源的化学加工与利用, 包括生物质能源、生物质化学品和生物质材料等, 主要包括生物质资源的热转化、热化学转化和活性炭, 木材化学和制浆造纸, 生物质原料水解, 松脂及松香、松节油, 植物多酚, 林产香料、油脂、药物和生物活性物质, 木工胶黏剂, 树木寄生产物以及其他森林天然产物等方面的最新研究成果。为了保证刊物的质量, 根据国家的有关标准和本刊的实际, 特制定本简约。

#### 1 文稿基本要求

论文应有一定的科学性、创新性、实用性和可读性, 内容充实, 数据可靠, 论点明确, 文字精练。论文一般不超过 7000 字(含图表)。文稿按顺序应包含: 题目, 作者姓名、单位, 中文摘要, 关键词(3~5 个), 中图分类号, 英文摘要, 正文, 致谢, 参考文献。来稿首页页下请注明第一作者的个人信息、基金项目名称及编号。书写格式具体要求请详见本刊网站投稿指南(<http://www.cifp.ac.cn/cn/tgzn.asp>)。

#### 2 投稿约定

2.1 来稿请登录 [www.cifp.ac.cn](http://www.cifp.ac.cn), 在线投稿, 并请留下作者详细通讯地址、邮政编码及联系电话。稿件一经受理即交纳审稿费。稿件处理结果可登录投稿系统查询。

2.2 对于拟发表的稿件, 作者应根据审稿人和编辑部的意见对稿件进行修改, 在指定时间内修回, 同时提供电子文档, 交纳版面费及照片等。修改后的稿件统一由主编终审后再进行排版印刷(稿件一经发排, 不得擅自修改或变更作者署名, 且一般不得对文稿进行增删)。来稿一经发表, 即酌付稿酬, 并赠送当期期刊 2 册、单行本 5 份。本刊以刊登中文稿件为主, 同时接受英文稿件(附中文摘要)。

2.3 凡属实验研究报告的稿件, 需提供作者所在单位推荐信, 内容包括: 文章题名、作者姓名及其排序, 无泄密情况, 无一稿多投; 若为基金项目请给出项目名称及编号。

2.4 来稿文责自负, 请勿一稿多投。编辑部对来稿有权作技术性和文字修饰, 但实质性内容的修改须征得作者同意。

2.5 凡本刊发表的文章将有可能进入国内外相关数据库并在互联网上运行, 其作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意将文章编入相关数据库, 请在来稿时声明, 本刊将做适当处理。