

# 三七茎叶总皂苷提取工艺及抗氧化活性研究

刘秀薇<sup>1</sup>, 李 宏<sup>1</sup>, 牛之瑞<sup>2</sup>, 易 霞<sup>1</sup>, 潘 俊<sup>1</sup>, 秦力悦<sup>1</sup>, 田 浩<sup>1\*</sup>

(1. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 昆明 650221; 2. 云南省产品质量监督检验研究院, 昆明 650221)

**摘要:** 目的 建立并优化了乙醇热回流提取三七茎叶总皂苷的工艺条件, 高效提取三七茎叶总皂苷。方法 以人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率和纯度为指标, 通过部分析因设计和中心组合设计实验, 对乙醇浓度、液料比、提取时间、提取温度 4 个因素进行考察, 筛选最佳提取工艺参数, 并进一步对 4 种不同提取方法所获三七茎叶总皂苷的抗氧化活性进行评价。**结果** 最佳提取工艺参数为乙醇浓度 50%、液料比 10 (mL/g)、提取时间 1 h 和提取温度 60 °C, Rb<sub>3</sub> 提取率为 90.6%±1.77%, 纯度为 8.41%±0.39%, 且该提取方法所获皂苷的抗氧化活性高于其他提取方法。**结论** 该工艺流程在保证获得较高人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 纯度和含量的基础上, 具有经济、快速、高效的特点, 为后续三七茎叶的进一步开发奠定了理论基础。

**关键词:** 七茎叶; 总皂苷; 加热回流; 响应面法; 抗氧化活性

## Study on the extraction technology and antioxidant activity of total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng*

LIU Xiu-Wei<sup>1</sup>, LI Hong<sup>1</sup>, NIU Zhi-Rui<sup>2</sup>, YI Xia<sup>1</sup>, PAN Jun<sup>1</sup>, QIN Li-Yue<sup>1</sup>, TIAN Hao<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Agro-products Processing, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China;  
2. Yunnan Institute of Product Quality Supervision and Inspection, Kunming 650221, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish and optimize the process conditions for extracting total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng* with the heating reflux extraction technology, and extract the total saponins from *Panax notoginseng* stems and leaves efficiently. **Methods** With the extraction rate and purity of ginsenoside Rb<sub>3</sub> as the index, 4 factors including ethanol concentration, liquid-solid ratio, extraction time and extraction temperature were investigated through partial factor experiment design and central composite experiment design to select the best extraction process parameters. The antioxidant activity of total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng* obtained by 4 kinds of different extraction methods was evaluated further. **Results** The optimum extraction conditions were as follows: Ethanol concentration was 50%, liquid-solid ratio was 10 (mL/g), extraction time was 1 h and extraction temperature was 60 °C. The extraction rate of Rb<sub>3</sub> was 90.6%±1.77%, and the purity was 8.41%±0.39%. The antioxidant activity of total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng* obtained by this method was higher than that of other extraction methods. **Conclusion** On the basis of ensuring high purity and content of ginsenoside Rb<sub>3</sub>, the process is economic, rapid and efficient, which lays a theoretical foundation for further development of *Panax notoginseng* stem-leaf.

基金项目: 云南省科技计划重点项目(2018BB025)、2020 年云南省农业科学院科技创新及成果转化试点专项(202002AE320007-03)

**Fund:** Supported by the Key Science and Technology Program of Yunnan Province (2018BB025), and the Scientific and Technological Innovation and Achievement Transformation Pilot Project of Yunnan Academy of Agricultural Sciences in 2020 (202002AE320007-03)

\*通信作者: 田浩, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品精深加工。E-mail: tianhao.630@163.com

**Corresponding author:** TIAN Hao, Ph.D, Associate Professor, Institute of Agro-products Processing, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, No.9 Xueyun Road, Wuhua District, Kunming 650221, China. E-mail: tianhao.630@163.com

**KEY WORDS:** *Panax notoginseng* stem-leaf; total saponins; heating reflux extraction technology; response surface methodology; antioxidant activity

## 0 引言

三七(*Panax notoginseng*)隶属于五加科人参属, 主要以根及根茎部位入药, 在云南有着悠久的栽培历史, 是最具特色的道地药材之一, 其供给量占全国的 9 成以上<sup>[1]</sup>。三七茎叶中含有大量的原人参二醇型皂苷(人参皂苷 R<sub>c</sub>、Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>2</sub>、Rb<sub>3</sub> 和 Rd)和三七特有的三七皂苷 Fc<sup>[2]</sup>。其中人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 含量最高, 具有抗氧化、抗炎、抗糖尿病、神经保护、心血管保护、镇静安神、保护细胞免受损伤等作用<sup>[3-8]</sup>。自 2016 年起, 云南省卫计委批准三七茎叶作为地方特色食品, 但目前对三七茎叶的开发利用还较少, 仅有 2% 用于原料药, 3% 用于茶叶、食品, 其余均被当作废弃物丢弃, 造成了大量的资源浪费<sup>[9-10]</sup>。因此优化三七茎叶提取工艺, 高效提取有效成分, 对未来三七茎叶的充分利用尤为重要。

本研究以 DBS 53/024—2017《干制三七茎叶》中的人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的含量为评价标准, 通过部分析因设计(fractional factorial design, FFD)和中心组合设计(central composite design, CCD)实验对工艺进行优化, 利用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)和 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]自由基清除实验进一步验证优化提取工艺后三七茎叶总皂苷的抗氧化活性, 最终获得三七茎叶总皂苷的最佳提取工艺, 以为后续三七茎叶有效成分的开发利用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

三七茎叶, 购自文山圣农道地药材种植农民专业合作社。

无水乙醇、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、氯化钾、氯化钠(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、过硫酸钾(K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>)(分析纯, 北京华越洋生物科技有限公司); 抗坏血酸(vitamin C, VC, 天津市天新精细化工开发中心)。

UltiMate 3000 高效液相色谱仪(high performance

liquid chromatography, HPLC, 美国 Agilent 公司); Spectrophotometer 1510 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); HPLC VP-ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、AUY220 分析天平(日本 SHIMADZU 公司)。

### 1.2 三七茎叶中三七总皂苷的工艺优化

#### 1.2.1 三七茎叶总皂苷提取及部分析因设计实验

三七茎叶粉碎后过四号筛, 分别称取 10 g 粉末样品, 按表 1 所示的 4 因素 3 水平的部分析因设计实验方案, 加热回流提取三七茎叶总皂苷, 将提取液进行过滤, 并真空干燥滤液, 获得三七茎叶的提取物浸膏。以人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率和纯度进行评价, 其计算如公式(1)、(2)。

$$\text{人参皂苷 Rb}_3 \text{ 提取率}(\%) =$$

$$\frac{\text{提取物中人参皂苷 Rb}_3 \text{ 含量}(\text{mg/g})}{\text{三七茎叶中人参皂苷 Rb}_3 \text{ 含量}(\text{mg/g})} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{人参皂苷 Rb}_3 \text{ 纯度}(\%) =$$

$$\frac{\text{提取物中人参皂苷 Rb}_3 \text{ 质量(g)}}{\text{浸膏质量(g)}} \times 100\% \quad (2)$$

表 1 FFD 设计方案的因素和水平

Table 1 Factors and levels of FFD design scheme

| 因素                         | 水平  |     |      |
|----------------------------|-----|-----|------|
|                            | -1  | 0   | 1    |
| 乙醇浓度(X <sub>1</sub> )/%    | 60  | 75  | 90   |
| 液料比(X <sub>2</sub> )(mL/g) | 6:1 | 8:1 | 10:1 |
| 提取时间(X <sub>3</sub> )/h    | 1   | 2   | 3    |
| 提取温度(X <sub>4</sub> )/℃    | 60  | 75  | 90   |

#### 1.2.2 中心组合设计实验确定最佳工艺参数

根据 1.2.1 中的部分析因设计实验结果, 并综合考虑后期生产实践中的实际成本, 选取 FFD 实验中相对适中的时间和提取温度作为中心组合实验设计实验参数, 通过响应面分析获取提取三七茎叶总皂苷的最优条件。

#### 1.2.3 不同提取方法提取三七茎叶总皂苷

应用本研究与另外 3 种已报道的三七根部提取总皂苷的方法<sup>[11-13]</sup>对三七茎叶内总皂苷进行提取, 实验方法如表 2 所示。

表 2 4 种不同提取方法  
Table 2 Four kinds of different extraction methods

| 序号 | 提取方法               | 液料比(mL/g) | 溶剂浓度  | 提取温度/功率   | 提取次数 | 提取频率     |
|----|--------------------|-----------|-------|-----------|------|----------|
| 1  | 回流(1.2.2)          | 10:1      | 50%乙醇 | 60 ℃      | 2    | 1 h/次    |
| 2  | 回流 <sup>[11]</sup> | 8:1       | 60%乙醇 | 100 ℃     | 2    | 2 h/次    |
| 3  | 超声 <sup>[12]</sup> | 5:1       | 75%乙醇 | 高频 50 kHz | 4    | 30 min/次 |
| 4  | 微波 <sup>[13]</sup> | 4:1       | 80%甲醇 | 600 W     | 5    | 2 min/次  |

#### 1.2.4 人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的测定

依据云南省食品安全地方标准 DBS 53/024—2017 中附录 A《三七茎叶中人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的测定方法》对 1.2.1 中所获三七茎叶和提取物中的人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 含量进行测定。HPLC 条件为: 色谱柱: Shimadzu HPLC VP-ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 °C; 流速: 1 mL/min; 流动相: A 为乙腈, B 为水; 梯度洗脱程序: 0~10 min, 75% B; 10~65 min, 75%~63% B; 进样体积: 20 μL。

### 1.3 抗氧化活性评价

通过测定 DPPH、ABTS 自由基清除率, 对以上 3 种方法及 1.2.2 最佳提取工艺所获三七茎叶总皂苷的抗氧化活性进行对比, 从而评价经 1.2.2 提取工艺后三七茎叶总皂苷的抗氧化活性。

#### 1.3.1 DPPH 自由基清除率测定

DPPH 自由基清除率测定实验参照李钢等<sup>[14]</sup>的方法进行修改, 将 4 种三七茎叶提取物及阳性对照(VC)用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)配制成为 5、10、50、100、200、500、1000、2000 μg/mL 的待测样品。DPPH 粉末用无水乙醇配制成 0.1 mmol/L 的 DPPH 工作液。取 50 μL DPPH 工作液与 50 μL 待测样品混匀, 室温避光放置 30 min, 于 517 nm 波长下检测吸光度。每个样品设置 3 个平行, 计算 DPPH 自由基清除率的如公式(3)。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中:  $A_1$  表示样品吸光度(样品+DPPH);  $A_2$  为样品对照吸光度(样品+无水乙醇);  $A_0$  为空白对照(无水乙醇+DPPH)。

#### 1.3.2 ABTS 自由基清除率测定

ABTS<sup>+</sup>自由基清除率测定实验参照 RE 等<sup>[15]</sup>的方法进行修改, 将 4 种三七叶提取物及阳性对照(VC)用磷酸盐缓冲液配制成为 5、10、50、100、200、500、1000、2000 μg/mL 的待测样品。用 PBS 配制 7 mmol/L ABTS 溶液和 4.9 mmol/L K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 溶液, 将二者以 1:1 (V:V) 混合后, 室温避光放置 12~16 h, 稀释 20 倍, 得 ABTS 自由基工作液。取 20 μL 待测样品和 80 μL ABTS 自由基工作液混匀, 室温避光放置 6 min, 于 734 nm 波长下检测吸光度。每个样品设置 3 个平行, 按公式(4)计算 ABTS 自由基清除率:

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中:  $A_1$  表示样品吸光度(样品+ABTS);  $A_2$  表示样品对照吸光度(样品+PBS);  $A_0$  表示空白对照(PBS+ABTS)。

### 1.4 数据分析

通过对不同提取方法所获三七茎叶总皂苷之间清除自由基的能力, 评价三七茎叶总皂苷的质量。采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对所获抗氧化数据进行分析, 数据以均值±标准误差表示, 并计算半抑制浓度(half maximal

inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)值。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同提取参数对人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 提取率和纯度的影响

研究表明提取工艺、温度、乙醇浓度、提取时间对总皂苷含量及得率有显著影响<sup>[16-17]</sup>, 应用部分析因设计实验, 设计四因素三水平实验方案。方案和结果如表 3 所示, 所得 4 个影响因素与人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率( $Y_1$ , %)和人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 纯度( $Y_2$ , %)的回归方程为:  $Y_1=57.31-11.13X_1+9.29X_2+2.54X_3+1.79X_4$ ;  $Y_2=9.74-0.76X_1-0.97X_2+0.67X_3+0.20X_4$ ; 式中:  $Y_1$  表示人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率, %;  $Y_2$  表示人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 纯度, %;  $X_1$  表示乙醇浓度, %;  $X_2$  表示液料比, mL/g;  $X_3$  表示提取时间, h;  $X_4$  表示提取温度, °C。

对所得数据进行 *t* 检验分析, 如表 4 所示, 乙醇浓度( $X_1$ )、液料比( $X_2$ )、提取时间( $X_3$ )和提取温度( $X_4$ )对人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 纯度均无显著影响。以人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率为评价指标时, 乙醇浓度( $X_1$ )和液料比( $X_2$ )显著影响人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率( $P<0.05$ )。

### 2.2 中心组合设计实验和响应面分析

选用 2.1 结果中最短提取时间(1 h)和最低提取温度(60 °C)设计 CCD 实验。CCD 实验方案及分析结果见表 5 和表 6。实验得到 2 个影响因素与三七皂苷提取率( $Y_1$ , %)的回归方程为:  $Y_1=88.54-12.15 X_{12}+4.50 X_{22}-12.84 X_1-2.07 X_2-1.73 X_1 X_2$ ; 式中:  $Y_1$  表示人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率, %;  $X_1$  表示乙醇浓度, %;  $X_2$  表示液料比, mL/g。

根据 CCD 实验结果, 做响应面分析, 其结果如图 1 所示, 其最佳的提取工艺为: 乙醇浓度 47.52%、液料比 10.7 (mL/g)、提取时间 1 h 和提取温度 60 °C, 该提取工艺下, 提取的人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的含量最高, 提取率为 88.54%。为满足实际生产需要, 将最佳提取条件修改为: 乙醇浓度 50%, 液料比 10 (mL/g)。根据调整后的最优实验条件进行实验验证, 在三七茎叶 10 g, 乙醇浓度 50%、液料比 10 (mL/g)、提取时间 1 h 和提取温度 60 °C 的条件下, 提取率为 90.6%±1.77%, 浸膏重量为 2.13 g±0.16 g, 纯度为 8.41%±0.39%, 验证实验的实际值与提取率的预测值之间差异不显著( $P>0.05$ ), 验证了该模型的可行性。

### 2.3 抗氧化活性评价

#### 2.3.1 三七茎叶总皂苷 DPPH 自由基清除率能力

DPPH 自由基清除率能力如图 2 所示, 应用表 2 提取工艺所获得的 4 种提取物 10~2000 μg/mL 清除 DPPH 自由基的趋势大致相同, 在 2000 μg/mL 时, DPPH 自由基的清除率均在 85%以上; 4 种提取物对 DPPH 自由基的半数清除

率( $IC_{50}$ )分别为 421.7、475、521.4、495  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果显示, 应用 50%乙醇回流所获提取物对 DPPH 自由基的清除率最强。该结果与 DPPH 自由基清除实验结果随总皂苷质量浓

度的增大而增大<sup>[18-19]</sup>相符, 即随着皂苷含量增多, 三七皂苷类物质中的酚羟基团所能提供的氢离子也开始增多, 因此表现出良好的清除自由基的作用<sup>[19]</sup>。

表 3 部分析因设计实验结果( $n=3$ )  
Table 3 Results of fractional factorial design ( $n=3$ )

| 序号 | 因素              |                    |                 |                  | 结果(均值±标准误) |            |
|----|-----------------|--------------------|-----------------|------------------|------------|------------|
|    | 乙醇浓度( $X_1$ )/% | 液料比( $X_2$ )(mL/g) | 提取时间( $X_3$ )/h | 提取温度( $X_4$ )/°C | 提取率/%      | 纯度/%       |
| 1  | -1              | -1                 | 1               | 1                | 54.00±1.16 | 13.13±0.39 |
| 2  | 0               | 0                  | 0               | 0                | 67.67±5.18 | 8.53±0.55  |
| 3  | 1               | -1                 | 1               | -1               | 36.67±3.53 | 14.57±0.91 |
| 4  | 1               | 1                  | 1               | 1                | 58.00±3.79 | 7.23±0.29  |
| 5  | -1              | -1                 | -1              | 1                | 59.00±3.61 | 11.40±0.17 |
| 6  | -1              | 1                  | 1               | -1               | 73.00±1.16 | 9.07±0.90  |
| 7  | -1              | 1                  | -1              | -1               | 70.00±3.22 | 10.77±0.20 |
| 8  | 0               | 0                  | 0               | 0                | 67.67±5.18 | 8.41±0.45  |
| 9  | 1               | 1                  | -1              | 1                | 47.67±1.33 | 10.37±0.47 |
| 10 | 0               | 0                  | 0               | 0                | 64.67±2.60 | 8.86±0.42  |
| 11 | 0               | 0                  | 0               | 0                | 64.67±2.60 | 8.48±0.57  |
| 12 | 1               | -1                 | -1              | -1               | 24.67±3.28 | 6.10±0.89  |

表 4 部分析因设计实验统计分析结果  
Table 4 Statistics analysis results of fractional factorial design

| 因素     | 系数     |       |       |       | $t (6)$ |       | $P$ 值    |          |
|--------|--------|-------|-------|-------|---------|-------|----------|----------|
|        | 提取率    | 纯度    | 浸膏重量  | 提取率   | 纯度      | 浸膏重量  | 提取率      | 纯度       |
| 均值/交互项 | 57.31  | 9.74  | 2.27  | 21.82 | 12.33   | 32.76 | 0.000001 | 0.000017 |
| $X_1$  | -11.13 | -0.76 | -0.45 | -3.46 | -0.79   | -5.32 | 0.01     | 0.46     |
| $X_2$  | 9.29   | -0.97 | -0.21 | 2.89  | -1.00   | -2.45 | 0.03     | 0.36     |
| $X_3$  | 2.54   | 0.67  | 0.16  | 0.79  | 0.69    | 1.94  | 0.46     | 0.52     |
| $X_4$  | 1.79   | 0.20  | 0.17  | 0.56  | 0.21    | 2.04  | 0.60     | 0.84     |
|        |        |       |       |       |         |       |          | 0.087    |

表 5 中心组合设计实验和实验结果( $n=3$ )  
Table 5 Central composite design and results ( $n=3$ )

| 序号  | 因素              |                    |            | 结果(均值±标准误) |  |
|-----|-----------------|--------------------|------------|------------|--|
|     | 乙醇浓度( $X_1$ )/% | 液料比( $X_2$ )(mL/g) | 提取率/%      | 浸膏重量/g     |  |
| 4   | 80 (+1)         | 10 (+1)            | 62.4±3.37  | 1.59±0.08  |  |
| 9C  | 60 (0)          | 8 (0)              | 75.67±6.31 | 2.65±0.14  |  |
| 2   | 40 (-1)         | 10 (+1)            | 84.47±6.91 | 2.32±0.11  |  |
| 11C | 60 (0)          | 8 (0)              | 86.7±2.62  | 2.68±0.12  |  |
| 6   | 88.28427        | 8 (0)              | 41.63±1.30 | 1.53±0.02  |  |
| 12C | 60 (0)          | 8 (0)              | 94.37±1.80 | 2.72±0.11  |  |
| 7   | 60 (0)          | 5.17157            | 71.73±3.83 | 3.31±0.06  |  |
| 10C | 60 (0)          | 8 (0)              | 97.43±0.35 | 2.73±0.12  |  |
| 3   | 80 (+1)         | 6 (-1)             | 66.53±1.45 | 2.29±0.05  |  |
| 8   | 60 (0)          | 10.82843           | 98.17±1.04 | 2.25±0.03  |  |
| 5   | 31.71573        | 8 (0)              | 87.93±3.14 | 3.04±0.04  |  |
| 1   | 40 (-1)         | 6 (-1)             | 81.7±3.44  | 3.54±0.14  |  |

表 6 中心组合设计实验统计分析结果  
Table 6 Statistics analysis of central composite design

| 因素           | 系数       |           | <i>t</i> (6) |          | <i>P</i> 值 |          |
|--------------|----------|-----------|--------------|----------|------------|----------|
|              | 提取率      | 浸膏重量      | 提取率          | 浸膏重量     | 提取率        | 浸膏重量     |
| 平均           | 88.5417  | 2.694883  | 18.13753     | 60.7895  | 0.000002   | 0.000000 |
| (1) $X_1(L)$ | -12.8389 | -0.513446 | -3.71941     | -16.3794 | 0.009859   | 0.000003 |
| $X_1(Q)$     | -12.1521 | -0.228323 | -3.14877     | -6.5148  | 0.019846   | 0.000624 |
| (2) $X_2(L)$ | 4.5020   | -0.424912 | 1.30421      | -13.5551 | 0.239957   | 0.000010 |
| $X_2(Q)$     | -2.0688  | 0.019019  | -0.53604     | 0.5427   | 0.611210   | 0.606914 |
| $X_1X_2$     | -1.7250  | 0.128183  | -0.35336     | 2.8915   | 0.735901   | 0.027640 |

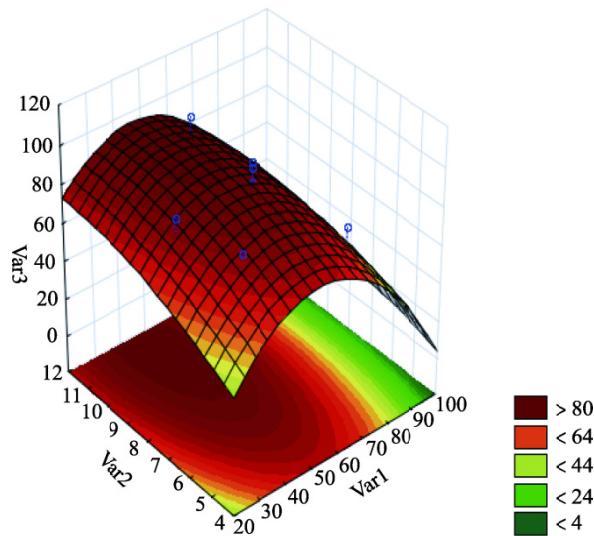
图 1 乙醇浓度和液料比对人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 提取率影响的响应面图

Fig.1 Response surfaces diagram of the effect of ethanol concentration and solid-liquid ratio on ginsenoside Rb<sub>3</sub> yield

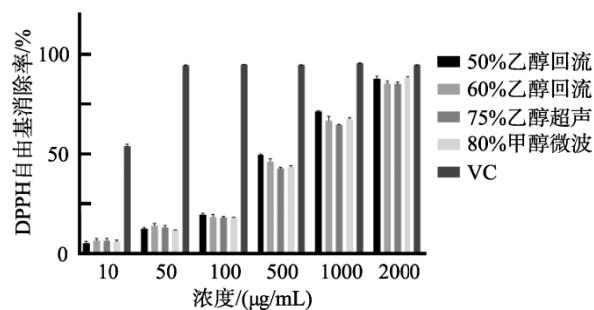
图 2 三七茎叶总皂苷 DPPH 自由基清除能力(*n*=3)

Fig.2 DPPH free radical scavenging capacity of total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng* (*n*=3)

### 2.3.2 三七茎叶总皂苷 ABTS 自由基清除率能力

应用表 2 提取工艺所获得的 4 种提取物对 ABTS 自由基的清除效果如图 3 所示, 工艺 1 和工艺 2 效果相近, 工艺 3 和工艺 4 对 ABTS 自由基的清除能力相对较弱, 在 2000 μg/mL 时, 工艺 1~4 提取物对 ABTS 自由基清除率分别为

92.07%±0.04%、93.28%±0.15%、81.87%±0.08% 和 85.81%±0.12%; 4 种提取物对 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 分别为 167.6、176.7、243.8、209.9 μg/mL, 结果表明, 50% 乙醇回流所获提取物对 ABTS 自由基的清除率最强。符合提取物中总皂苷含量与 ABTS 自由基清除率成正比的结论<sup>[20~21]</sup>。

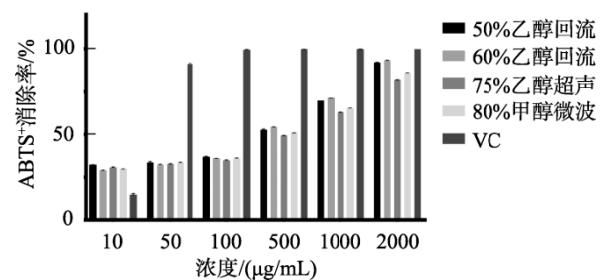
图 3 三七茎叶总皂苷 ABTS 自由基清除能力(*n*=3)

Fig.3 ABTS free radical scavenging capacity of total saponins from stem-leaf of *Panax notoginseng* (*n*=3)

## 3 结 论

本研究针对乙醇加热回流提取三七茎叶总皂苷工艺设计 FFD 和 CCD 实验, 并对该工艺进行优化。通过 FFD 实验, 发现乙醇浓度和液料比对人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 的提取率具有显著影响。通过 CCD 实验, 并结合响应面分析得到最佳的提取条件为乙醇浓度 50%、液料比 10 (mL/g)、提取时间 1 h 和提取温度 60 °C。对不同提取方法所获三七茎叶总皂苷的抗氧化活性评价发现, 4 种提取工艺所获三七茎叶总皂苷的抗氧化活性具有致趋势, IC<sub>50</sub> 结果显示, 应用本研究最佳工艺所获得的提取物抗氧化效果最强。本研究具有乙醇浓度和提取温度更低、提取时间更短的优势, 为三七茎叶总皂苷的高效提取以及进一步开发利用提供了参考。

## 参 考 文 献

- [1] 乔进超, 李旭伟, 易娟, 等. 云南省道地药材高效生产路径探究[J]. 山西农经, 2020, (19): 80~83.

- QIAO JC, LI XW, YI J, et al. Exploration on the efficient production path of genuine me-dicinal materials in Yunnan province [J]. *Shanxi Agric Econ*, 2020, (19): 80–83.
- [2] LIU F, MA N, HE CW, et al. Qualitative and quantitative analysis of the saponins in *Panax notoginseng* leaves using ultra-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight tandem mass spectrometry and high performance liquid chromatography coupled with UV detector [J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(2): 149–157.
- [3] 郑梦梦, 张锋, 赵启韬. 人参皂苷 Rb<sub>3</sub>的生物学活性研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(9): 1249–1252.
- ZHENG MM, ZHANG F, ZHAO QT. Research progress in biological activity of ginsenoside Rb<sub>3</sub> [J]. *Cent South Pharm*, 2017, 15(9): 1249–1252.
- [4] CHEN X, WANG QY, SHAO MY, et al. Ginsenoside Rb<sub>3</sub> regulates energy metabolism and apoptosis in cardiomyocytes via activating PPAR $\alpha$  pathway [J]. *Biomed Pharm*, 2019, 120: 109487.
- [5] SUN J, YU XH, HUANGPU HQ, et al. Ginsenoside Rb<sub>3</sub> protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury via activating the antioxidation signaling pathway of PERK/Nrf2/HMOX1 [J]. *Biomed Pharm*, 2019, 109: 254–261.
- [6] 林光柱, 徐国良, 曹鸿雁, 等. 人参皂苷 Rb<sub>3</sub>联合二甲双胍对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 人参研究, 2018, 30(2): 2–4.
- LIN GZ, XU GL, CAO HY, et al. Protective Effect of ginsenoside Rb<sub>3</sub> combined with metformin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced damage of vascular endothelial cells [J]. *Ginseng Res*, 2018, 30(2): 2–4.
- [7] ZHANG Y, JI HX, QIAO O, et al. Nanoparticle conjugation of ginsenoside Rb<sub>3</sub> inhibits myocardial fibrosis by regulating PPAR $\alpha$  pathway [J]. *Biomed Pharm*, 2021, 139: 111630.
- [8] WANG M, CHEN X, JIN W, et al. Ginsenoside Rb<sub>3</sub> exerts protective properties against cigarette smoke extract-induced cell injury by inhibiting the p38 MAPK/NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$ 1/VEGF pathways in fibroblasts and epithelial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1751–1758.
- [9] 杨光, 崔秀明, 陈敏, 等. 三七茎叶、三七花新食品原料研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(7): 543–547.
- YANG G, CUI XM, CHEN M, et al. Research on using stems and leaves of *Panax notoginseng* and flowers of *Panax notoginseng* as new food ingredients [J]. *Chin Pharm J*, 2017, 52(7): 543–547.
- [10] 高明菊, 赵爱, 朱琳, 等. 三七茎叶新资源食品的研究开发[J]. 现代中药研究与实践, 2012, 26(3): 34–35.
- GAO MJ, ZHAO A, ZHU L, et al. Research and development of new resource food for stems and leaves of *Panax notoginseng* [J]. *Chin Med J Res Pract*, 2012, 26(3): 34–35.
- [11] 侯茂奇, 王长虹, 杨莉, 等. 正交实验优选三七总皂苷的提取工艺研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2009, 23(4): 79–81.
- HOU MQ, WANG CH, YANG L, et al. Extraction process optimization for total saponins from roots of *Panax notoginseng* by orthogonal design [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*, 2009, 23(4): 79–81.
- [12] 丁艳芬, 陈金东, 黎福南, 等. 三七总皂苷超声波提取工艺研究[J]. 中国现代中药, 2012, 14(1): 38–40.
- DING YF, CHEN JD, LI FN, et al. The process engineering of ultrasonic extraction of notoginseng saponins [J]. *Mod Chin Med*, 2012, 14(1): 38–40.
- [13] 郭子杰, 黄儒强. 微波对三七中皂苷浸取作用的影响效果研究[J]. 中药材, 2007, 30(2): 232–234.
- GUO ZJ, HUANG RQ. Effect of microwave on extraction of saponins from *Panax notoginseng* [J]. *J Chin Med Mater*, 2007, 30(2): 232–234.
- [14] 李钢, 彭飞, 尹洪洋, 等. 板栗叶总黄酮提取工艺的优化及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(3): 64–72.
- LI G, PENG F, YIN HX, et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from chestnut leaves and its antioxidant activity [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(3): 64–72.
- [15] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. *Free Radical Biol Med*, 1999, 26(9–10): 1231–1237.
- [16] TSALTAKI C, KATSOULI M, KEKES T, et al. Comparison study for the recovery of bioactive compounds from *Tribulus terrestris*, *Panax ginseng*, *Ginkgo biloba*, *Lepidium meyenii*, *Turnera diffusa* and *Withania somnifera* by using microwave-assisted, ultrasound-assisted and conventional extraction methods [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 142: 111875.
- [17] HU Y, CUI X, ZHANG Z, et al. Optimisation of ethanol-reflux extraction of saponins from steamed panax notoginseng by response surface methodology and evaluation of hematopoiesis effect [J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1206.
- [18] 杨秀东, 白子凡, 徐永涛, 等. 响应面法优化托盘根总皂苷提取工艺及抗氧化活性研究 [J/OL]. 食品工业科技, 1–15. [2021-06-24]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120266>
- YANG XD, BAI ZF, XU YT, et al. Optimization of extraction process of total saponins from *Rubus Crataegifolius* Bunge. root by response surface methodology and its antioxidant activity [J/OL]. *Sci Technol Food Ind*, 1–15. [2021-06-24]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120266>
- [19] 陈红惠, TARUN BELWAL, 李刚凤, 等. 表面活性剂协同超声波酶法提取三七花总皂苷工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(20): 178–186.
- CHEN HH, TARUN B, LI GF, et al. Enzymolysis-ultra-sound-assisted surfactant extraction and antioxidant activity of saponins from *Panax notoginseng* flowers [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(20): 178–186.
- [20] 石子林, 李军乔, 王雅琼, 等. 密花香薷总皂苷提取工艺优化及其生物活性[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(1): 185–191.
- SHI ZL, LI JQ, WANG YQ, et al. Optimization on the extraction process of total saponins from the *Elsholtzia densa* Benth. and its biological activity [J]. *Jiansu J Agric Sci*, 2021, 37(1): 185–191.
- [21] KIM MS, JEON SJ, YOUN SJ, et al. Enhancement of minor ginsenosides contents and antioxidant capacity of American and Canadian ginsengs (*Panax quinquefolius*) by puffing [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(11): 527.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

## 作者简介



刘秀徽, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为生物多样性挖掘与利用。

E-mail: liuxiwei0305@hotmail.com



田浩, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品精深加工。

E-mail: tianhao.630@163.com