

· 药剂与工艺 ·

微波辅助降解三七茎叶总皂苷生成人参皂苷 Rg₅ 的工艺研究刘慧颖¹, 王承潇^{1,2,3}, 杨野^{1,2,3}, 杨晓艳^{1,2,3}, 崔秀明^{1,2,3}, 曲媛^{1,2,3*}

1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

2. 云南省三七资源可持续发展利用重点实验室, 云南 昆明 650500

3. 国家中医药管理局三七资源可持续发展利用研究室, 云南 昆明 650500

摘要:目的 通过正交试验联用响应面法优化微波辅助降解三七茎叶总皂苷生成人参皂苷 Rg₅ 的工艺。方法 运用微波辅助技术使三七茎叶总皂苷降解生成稀有人参皂苷, HPLC 法测定人参皂苷 Rg₅ 含量, 以人参皂苷 Rg₅ 降解产率为评价指标, 在单因素试验的基础上进行正交试验及响应面法试验, 考察微波温度、微波功率和微波时间对人参皂苷 Rg₅ 降解产率的影响。结果 正交试验与响应面法试验中各因素对人参皂苷 Rg₅ 降解产率的影响程度一致, 影响次序为微波温度 > 微波功率 > 微波时间。正交试验优化得到的最佳工艺条件为微波功率 500 W、微波温度 150℃, 微波时间 20 min, 在此条件下得到的人参皂苷 Rg₅ 产率为 44.76%; 响应面法优化得到的最佳工艺条件为微波功率 540 W、微波温度 153℃ 和微波时间 20 min, 在此条件下得到的人参皂苷 Rg₅ 产率为 43.07%。结论 2 种优化工艺方法各具优势, 均对从三七茎叶中制备稀有皂苷具有应用价值。关键词: 微波转化; 正交试验; 响应面法; 人参皂苷 Rg₅; 工艺优化; 三七; 总皂苷; 单因素试验

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)14-3245-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.14.009

Optimization of production of ginsenoside Rg₅ by microwave-assistant degradation method of total saponins from stems and leaves of *Panax notoginseng*LIU Hui-ying¹, WANG Cheng-xiao^{1,2,3}, YANG Ye^{1,2,3}, YANG Xiao-yan^{1,2,3}, CUI Xiu-ming^{1,2,3}, QU Yuan^{1,2,3*}

1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

2. Yunnan Provincial Key Laboratory of *Panax notoginseng*, Kunming 650500, China3. Key Laboratory of *Panax notoginseng* Resources Sustainable Development and Utilization of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To optimize the production of ginsenoside Rg₅ by microwave-assistant degradation method of total saponins from the stems and leaves of *Panax notoginseng* (PN) by orthogonal design and response surface method. **Methods** Using microwave-assistant degradation technology to obtain rare ginsenosides from the stems and leaves of PN. The content of ginsenoside Rg₅ was determined by HPLC. With the production of ginsenoside Rg₅ as the evaluation index, the orthogonal experiment design and response surface method were performed on the basis of single factor experiments to investigate the effects of microwave temperature, microwave power, and microwave time on the degradation yield of ginsenoside Rg₅. **Results** The influence of each factor on the yield of ginsenoside Rg₅ was the same by the two methods, the order of which was microwave temperature > microwave power > microwave time. Results indicated that the optimum conditions were the microwave power of 500 W, the microwave temperature of 150℃, and the microwave time of 20 min by orthogonal design, resulting in the yield of ginsenoside Rg₅ of 44.76%. The yield of ginsenoside Rg₅ was 43.07% when the conditions was optimized by response surface method under microwave power 540 W, temperature 153℃, and time 20 min. **Conclusion** Each of the two methods had its own advantages, all of which are valuable for the preparation of rare saponins from the stems and leaves of PN.

收稿日期: 2018-01-22

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2017YFC1702506); 昆明理工大学分析测试基金项目 (2016T20120047)

作者简介: 刘慧颖 (1992—), 女, 山东人, 硕士研究生, 主要从事中药质量研究。Tel: 18213595829 E-mail: 389058066@qq.com

*通信作者 曲媛 E-mail: quyuan2001@126.com

Key words: microwave transformed method; orthogonal design; response surface method; ginsenoside Rg₅; optimization; *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; total saponins; single factor experiments

三七茎叶为五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥地上部分^[1], 主产于云南文山、砚山、建水、屏边等地。我国对三七的研究开发和利用主要集中于其地下部分, 而对茎叶研究较少。三七茎叶资源丰富, 但年平均利用率只有 5%。三七茎叶的功效成分是皂苷^[2-5], 质量分数为 4%~6%, 主要包括人参皂苷 Rb₁、Rb₃、Rc 及三七皂苷 Fc 等。三七中稀有皂苷具有广泛的生物活性, 其中人参皂苷 Rg₅ (Rg₅) 具有保护记忆缺失、抗肿瘤、抗炎、清除自由基、改善认知功能等多方面的药理活性^[6-11]。由于三七茎叶中稀有皂苷含量极低, 限制了其开发与应用。因此, 快速高效地制备稀有皂苷已成为人们关注的热点。

目前, 采用微生物转化、酸水解、碱水解等均可将三七中大量皂苷转化为稀有皂苷, 但这些方法存在产率低、时间长、耗能高等问题^[12-14]。而微波辅助提取已被广泛应用于获取中药材活性成分, 具有高效、省时等优点^[15-20]。据报道, 采用微波辅助降解方法提取西洋参叶和人参中有效成分, 有助于人参皂苷的降解转化及生物活性的提高^[7,21], 但有关三七微波辅助降解研究尚未见报道。

本实验以三七茎叶总皂苷为研究对象, 采用高压微波辅助降解法得到转化产物, 以稀有人参皂苷 Rg₅ 的转化产率为指标, 对三七茎叶总皂苷微波转化工艺进行研究。由于不同优化方法在不同转化工艺上的适用性差异^[22], 故本实验在单因素试验的基础上, 采用正交试验和响应面试验分别对三七茎叶总皂苷微波转化工艺进行优化, 并探讨 2 种方法在应用上的优劣, 为三七茎叶资源的开发利用提供科学参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MDS-6G 型多通量微波消解仪, 上海新仪微波化学科技有限公司; LC-20AB 高效液相色谱仪, 日本岛津公司, 包括在线脱气机 DGU-20A3R (C)、二元泵 LC-20AB、自动进样器 SIL-20A、柱温箱 CTO-20A、检测器 SPD-20A; BL10-250A 型超声波清洗仪, 上海比朗仪器有限公司; UPT-I-20T 优普系列超纯水器, 成都超纯科技有限公司; CP114 型电子分析天平, 上海奥豪斯仪器有限公司; SHZ-DIII

循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司。

1.2 材料与试剂

三七茎叶总皂苷购自南京泽朗医药有限公司, 批号 ZL150513; Rg₅ 对照品, 批号 P20N6F6253, 购自上海源叶生物科技有限公司, HPLC 测定其质量分数 ≥ 98%; 乙腈为色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 其他试剂均为分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 三七茎叶皂苷在微波降解中的变化规律

三七茎叶皂苷中 7 种常见的皂苷单体在微波降解条件下的变化规律如图 1 所示。通过 HPLC^[7] 分析可知, 三七茎叶中原人参二醇型皂苷人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd 以及三七皂苷 Fa、Fc 经微波处理后, 在短时间内几乎全部被降解, 转化为稀有皂苷如 Rg₅。随着微波功率和温度的升高, 三七茎叶中主要皂苷的 C-20 位的糖基容易失去, 生成 20(S)- 或 20(R)-人参皂苷 Rg₃, 然后其进一步脱水得到 Rg₅。这与微波加工条件下人参中皂苷的转化规律一致^[7]。

2.2 三七茎叶总皂苷微波降解产物的制备

精密称取 200 mg 的三七茎叶总皂苷, 按照一定的固液比加入去离子水使其完全溶解, 按照设定的条件将样品溶液转移至微波反应罐中处理, 对称放置。反应结束后, 冷却至室温, 离心, 取上清液定容至 10 mL 量瓶中备用。

2.3 HPLC 法测定微波降解产物中 Rg₅ 的含量^[7]

2.3.1 色谱条件 Vision HT C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%乙腈; 20~45 min, 20%~46%乙腈; 45~55 min, 46%~55%乙腈; 55~60 min, 55%乙腈; 60~65 min, 55%~100%乙腈; 65~80 min, 100%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 203 nm; 柱温 25 °C; 理论塔板数以 Rg₅ 计为 3 500。色谱图见图 2。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取 Rg₅ 对照品 10 mg, 用甲醇定容于 2 mL 量瓶中, 得到质量浓度为 5 mg/mL 的 Rg₅ 对照品溶液。

2.3.3 线性关系考察 移取配制好的 Rg₅ 对照品溶液 5、25、50、200、800 μL 用甲醇定容于 1 mL 量

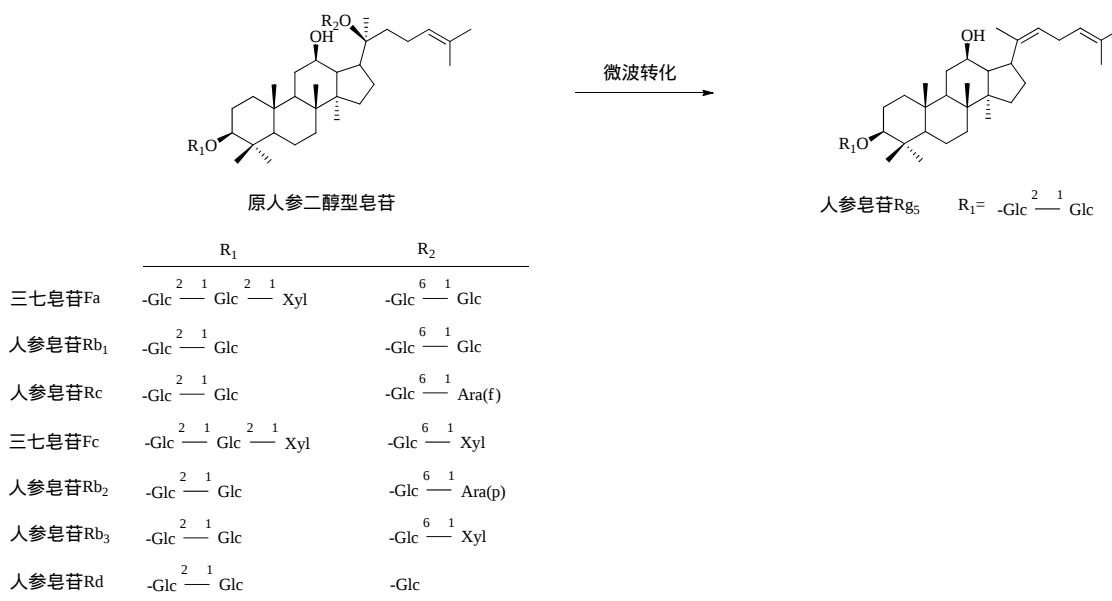


图 1 微波降解制备 Rg₅

Fig. 1 Preparation of Rg₅ under microwave degradation method

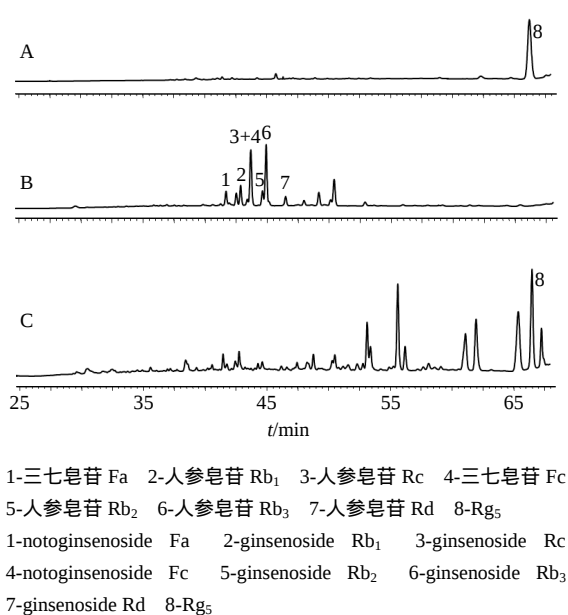


图 2 Rg₅ 对照品 (A)、三七茎叶总皂苷 (B) 及三七茎叶总皂苷微波降解产物 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of Rg₅ standard (A), total saponins from stems and leaves of *P. notoginseng* (B), and degradation product by microwave-assisted method (C)

瓶中，配制成不同质量浓度的对照品储备液。按“2.3.1”项色谱条件进行色谱分析，进样体积为 10 μ L。以 Rg₅ 质量浓度为横坐标 (X)，峰面积积分值为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，其线性方程为 $Y = 758\,099 X + 45\,996$ ， $R^2 = 0.999\,7$ ，结果显示 Rg₅ 的线性关系良好。

2.3.4 样品测定 将“2.2”项得到的样品溶液，经 0.45 μ m 滤膜滤过，按照“2.3.1”项色谱条件进样，记录色谱峰面积。采用线性回归方程计算三七茎叶总皂苷微波降解产物中 Rg₅ 的含量，并计算 Rg₅ 产率 (产率 = m_g/m_s ， m_g 为所得稀有人参皂苷 Rg₅ 的质量， m_s 为样品粉末的质量)。

2.4 单因素考察

微波功率、微波温度、微波时间以及料液比共 4 种单因素对三七茎叶总皂苷微波降解转化产率的影响考察如下。

2.4.1 微波功率对 Rg₅ 产率的影响 按“2.2”项三七茎叶总皂苷微波降解产物的制备方法，固定其他降解条件为微波温度 135 $^{\circ}$ C、微波时间 15 min、料液比 1:60，考察微波功率分别为 300、400、500、600、800、900、1 000 W 对 Rg₅ 降解产率的影响，结果 Rg₅ 产率分别为 (8.03 $\pm$ 0.18) %、(9.85 $\pm$ 0.21) %、(16.77 $\pm$ 0.16) %、(12.51 $\pm$ 0.19) %、(7.83 $\pm$ 0.28) %、(6.65 $\pm$ 0.32) %、(6.34 $\pm$ 0.24) %，表明固定其他条件不变，Rg₅ 的降解产率随着微波功率的升高而提高，在 500 W 时达到最高。

2.4.2 微波温度对 Rg₅ 产率的影响 固定其他降解条件为微波功率 500 W、微波时间 15 min、料液比 1:60，考察微波温度分别为 60、80、100、120、130、135、140、150、160、180 $^{\circ}$ C 对 Rg₅ 降解产率的影响，结果 Rg₅ 产率分别为 (2.37 $\pm$ 1.17) %、(2.39 $\pm$ 0.87) %、(2.71 $\pm$ 1.00) %、(8.26 $\pm$ 0.77) %、

(9.33 ± 0.65)%、(16.02 ± 1.12)%、(18.91 ± 1.27)%、(38.73 ± 1.21)%、(7.91 ± 0.95)%、(0.95 ± 0.07)% , 表明在微波温度低于 120 时, R_{g5} 产率增长缓慢, 而高于此温度后转化产率明显增高, 且在 150 时 R_{g5} 的产率高达 38.73%。此结果可能是由于温度和功率过高会引起稀有皂苷的降解, 使产率降低。

2.4.3 微波时间对 R_{g5} 产率的影响 固定其他降解条件为微波功率 500 W、微波温度 150 、料液比 1 60, 考察微波时间分别为 5、10、15、20、25、30、40、50 min 对 R_{g5} 降解产率的影响, 结果 R_{g5} 产率分别为 (8.37 ± 0.92) %、(11.35 ± 0.87) %、(33.95 ± 1.10)%、(40.27 ± 1.13)%、(38.16 ± 0.91)%、(35.63 ± 1.08)%、(5.74 ± 0.84)%、(0.69 ± 0.73)% , 表明微波时间对 R_{g5} 转化产率具有影响, 在 15 ~ 30 min 时, R_{g5} 产率较高。

2.4.4 料液比对 R_{g5} 产率的影响 固定其他降解条件为微波功率 500 W、微波温度 150 、微波时间 20 min, 考察料液比分别为 1 10、1 20、1 40、1 60、1 80、1 100 对 R_{g5} 降解产率的影响, 结果 R_{g5} 产率分别为(0.90 ± 1.05)%、(16.47 ± 1.12)%、(42.36 ± 1.32)%、(37.25 ± 0.86)%、(15.32 ± 1.02)%、(15.00 ± 0.90) % , 表明料液比过高或过低, 均会降低 R_{g5} 产率, 当料液比为 1 40 时, R_{g5} 产率达到最高。

综上所述, 微波辅助降解三七茎叶总皂苷的最佳条件为微波功率 500 W, 微波温度 150 , 微波消解时间 20 min, 料液比 1 40。根据单因素试验结果, 固定料液比为 1 40, 选取微波功率、微波温度、微波时间 3 个影响因素分别进行正交和响应面试验, 对三七茎叶总皂苷的微波降解工艺进行优化。

2.5 正交试验

在单因素试验的基础上, 以微波功率 (A) \ 微波温度 (B) \ 微波时间 (C) 为考察因素, 以 R_{g5} 产率为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对三七茎叶总皂苷微波转化工艺进行优化考察, 试验因素、水平及设计与结果见表 1^[23-24], 方差分析结果见表 2。根据表 1 中极差 R 值可以看出, 各因素对 R_{g5} 转化产率的影响程度的大小依次为微波温度 > 微波功率 > 微波时间。由表 2 方差分析结果可知, 微波温度对 R_{g5} 转化产率的影响为显著水平 ($P < 0.05$)。通过正交试验结果得到三七茎叶总皂苷微波降解的最优工艺条件为 $A_2B_3C_2$, 即微波功率为 500 W, 微波温度为 150 , 微波时间为 20 min。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	A/W	B/	C/min	D (误差)	R_{g5} 产率/%
1	300 (1)	120 (1)	10 (1)	(1)	3.68
2	300 (1)	135 (2)	20 (2)	(2)	12.59
3	300 (1)	150 (3)	40 (3)	(3)	31.33
4	500 (2)	120 (1)	20 (2)	(3)	11.59
5	500 (2)	135 (2)	40 (3)	(1)	7.53
6	500 (2)	150 (3)	10 (1)	(2)	45.67
7	800 (3)	120 (1)	20 (2)	(2)	4.91
8	800 (3)	135 (2)	10 (1)	(3)	7.46
9	800 (3)	150 (3)	40 (2)	(1)	33.90
K_1	47.60	20.18	56.81	45.11	
K_2	64.79	27.58	58.08	63.17	
K_3	46.27	110.90	43.77	50.38	
R	18.52	90.72	14.31	18.06	

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	71.139 5	2	1.237 2	
B	1 691.900 1	2	29.423 2	$P < 0.05$
C	41.825 6	2	0.727 4	
D (误差)	57.502 3	2		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00 \quad F_{0.01}(2, 2) = 99.00$$

2.6 响应面试验

2.6.1 实验设计 在单因素试验的基础上, 选取对结果影响较大的 3 个因素微波功率 (X_1) \ 微波温度 (X_2) \ 微波时间 (X_3)。运用 Design Expert 8.0.5 软件, 采用 Box-Behnken 试验设计原理, 以 R_{g5} 产率 (Y) 为考察指标, 对三七茎叶总皂苷的微波降解工艺进行响应面优化, 试验因素与水平设计见表 3^[25]。

2.6.2 响应面试验结果及方差分析 本实验根据 Box-Behnken 试验设计原理, 以 Y 为响应值, 结合单因素试验结果选取 X_1 、 X_2 、 X_3 为考察因素, 用 -1、0、1 来表示低、中、高 3 水平, 设计 3 因素 3 水平响应面优化试验, 试验结果见表 3。在 17 组试验中, R_{g5} 的最高产率为 45.21%, 试验方案为编号 11 (500 W, 150 , 20 min); 最低产率为 9.40%, 试验方案为编号 7 (600 W, 150 , 25 min)。

利用 Design Expert 8.0.5 软件对表 3 数据进行多元回归拟合, 得到 Y 对 X_1 、 X_2 、 X_3 3 个变量的多元回归模型方程: $Y = 41.01 + 4.31 X_1 + 4.39 X_2 - 0.71$

$X_3 + 6.36 X_1X_2 + 5.61 X_1X_3 + 1.79 X_2X_3 - 8.21 X_1^2 - 12.82 X_2^2 - 11.17 X_3^2$ 。

对该模型进行回归方差分析和显著性检验, 结果见表 4。结果显示该回归模型为极显著 ($P < 0.01$);

表 3 响应面试验设计及结果

Table 3 Design and results of response surface method

序号	X_1/W	$X_2/$	X_3/min	Rg ₅ 产率/%
1	600 (1)	150 (0)	25 (1)	28.57
2	500 (0)	160 (1)	25 (1)	24.39
3	600 (1)	160 (1)	20 (0)	35.39
4	400 (-1)	140 (-1)	20 (0)	17.29
5	400 (-1)	160 (1)	20 (0)	13.38
6	500 (0)	160 (1)	15 (-1)	18.38
7	400 (-1)	150 (0)	25 (1)	9.40
8	600 (1)	140 (-1)	20 (0)	13.86
9	500 (0)	150 (0)	20 (0)	41.03
10	500 (0)	150 (0)	20 (0)	43.65
11	500 (0)	150 (0)	20 (0)	45.21
12	500 (0)	150 (0)	20 (0)	43.75
13	600 (1)	150 (0)	15 (-1)	22.63
14	400 (-1)	150 (0)	15 (-1)	25.89
15	500 (0)	140 (-1)	25 (1)	12.08
16	500 (0)	140 (-1)	15 (-1)	13.21
17	500 (0)	150 (0)	20 (0)	31.39

表 4 回归模型方差分析及显著性检验

Table 4 Analysis on variance and significant testing of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2 277.10	9	253.01	11.40	0.002 1	极显著
X_1	148.70	1	148.70	6.70	0.036 0	显著
X_2	154.00	1	154.00	6.94	0.033 7	显著
X_3	4.02	1	4.02	0.18	0.683 2	
X_1X_2	161.80	1	161.80	7.29	0.030 6	显著
X_1X_3	125.78	1	125.78	5.67	0.048 8	显著
X_2X_3	12.74	1	12.74	0.57	0.473 3	
X_1^2	283.75	1	283.75	12.79	0.009 0	极显著
X_2^2	691.66	1	691.66	31.17	0.000 8	极显著
X_3^2	525.74	1	525.74	23.69	0.001 8	极显著
残差	155.32	7	22.19			
失拟项	30.65	3	10.22	0.33	0.8068	
纯误差	124.66	4	31.17			
总偏差	2 432.42	16				

相关系数 (R^2) 为 0.936 1, 修正相关系数 (R_{adj}^2) 为 0.854 1, 预测复相关系数 (R_{pred}^2) 为 0.718 3, 说明此模型拟合程度较好, 误差较小; 失拟项不显著 ($P = 0.806 8 > 0.05$), 说明试验误差对结果影响不大; 本模型中信噪比 $= 8.545 > 4$, 表明该模型可得到较强的响应信号, 有足够的分辨力来真实反映试验结果^[26-27]。回归模型的方差分析结果显示, 一次项 X_1 、 X_2 和交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 对 Rg₅ 产率影响显著 ($P < 0.05$), 二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对 Rg₅ 产率影响极显著 ($P < 0.01$), 而一次项 X_3 、交互项 X_2X_3 对 Rg₅ 产率影响不显著。通过比较表 4 中 F 值大小或方程一次项系数绝对值大小, 判断 3 个因素对 Rg₅ 转化产率的影响程度由强到弱依次为 $X_2 > X_1 > X_3$ 。

通过 Design Expert 8.0.5 软件对试验模型进行响应面分析, 得出各因素在考察范围内的理论最佳工艺条件为微波功率 540.13 W、微波温度 152.78 和微波时间 20.45 min。在此工艺条件下, 预测理论 Rg₅ 降解产率可达 42.46%。

2.6.3 响应面曲面和等高线分析 利用 Design-Expert 8.0.5 软件对 3 个因素两两拟合得到相应三维响应曲面图及等高线图, 通过响应面图可直观地分析各因素和皂苷转化产率之间的关系, 等高线的形状可直接反映两因素间交互作用的强弱。响应面坡度较缓, 说明该因素对 Rg₅ 产率影响相对较小; 反之, 则表明该因素对 Rg₅ 产率影响较大。因此, 可判断出各因素对 Rg₅ 产率影响由大到小为微波温度、微波功率、微波时间, 与方差分析结果相同。等高线为椭圆形表示交互作用较强, 圆形则表示交互作用较弱^[28-29], 从图 3 判断出各因素对 Rg₅ 产率影响由大到小为微波温度、微波功率、微波时间, 与方差分析结果相同。从图 3 等高线图可看出微波功率与微波温度的交互作用对 Rg₅ 产率影响最大。

2.7 2 种优化工艺的验证及比较

分别对以上 2 种方法得到的最优工艺结果进行验证性试验。结果表明, 正交试验优化得到的最佳工艺条件为微波功率 500 W、微波温度 150 、微波时间 20 min, Rg₅ 最大产率为 45.67%; 而响应面法优化得到的最佳工艺条件为微波功率 540.13 W、微波温度 152.78 、微波时间 20.45 min, Rg₅ 理论最大产率为 42.46%。分别对上述 2 种方法进行 3 次验证试验, 正交试验法得到的 Rg₅ 产率平均值为 44.76%, 响应面法得到的 Rg₅ 产率平均值为 43.07%。正交试验具有工作量较小、快速经济、简单易行的

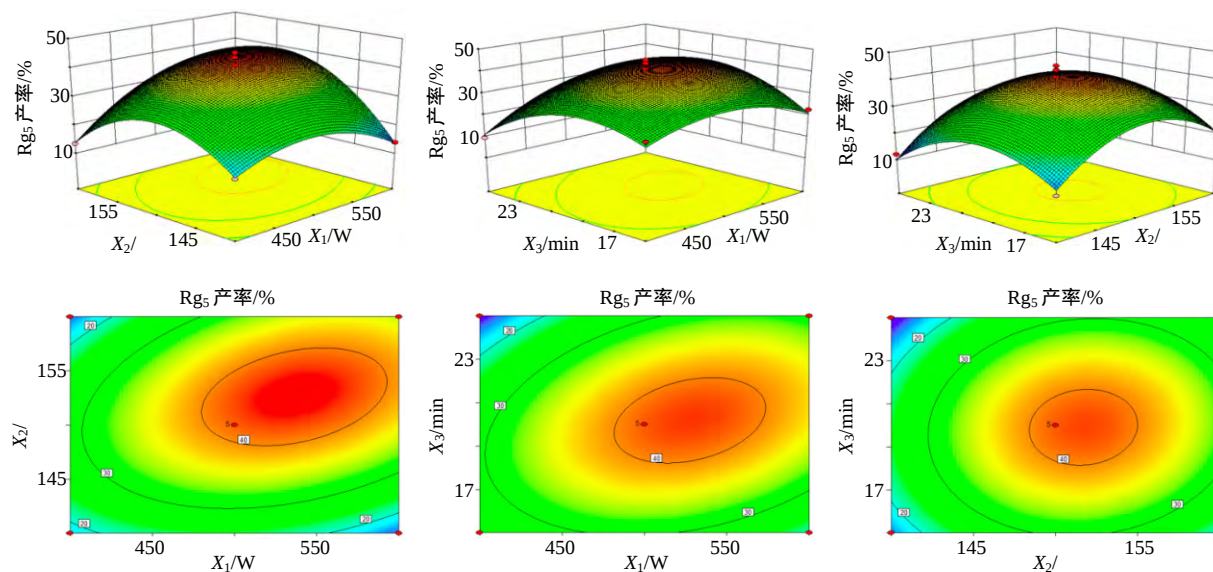


图 3 X_1 、 X_2 、 X_3 的交互作用对 Rg_5 产率影响的响应面图和等高线图

Fig. 3 Response surface (A) and contour plots (B) for effect of X_1 , X_2 , and X_3 on yield of ginsenoside Rg_5

特点。但从数据分析来看，正交试验设计采用线性模型，在交互作用存在时，可能出现交互作用混杂等情况，而响应面法采用非线性模型，得到整个区域范围内的最佳条件组合，且能反映出各因素间的交互作用，更加直观准确^[22,30-31]。

3 讨论

三七茎叶中大量的原人参二醇型皂苷经微波降解后，在短时间内生成 Rg_5 。在三七茎叶总皂苷微波降解工艺的单因素试验的基础上，通过正交试验设计和响应面法对三七茎叶总皂苷微波降解工艺进行优化。2 种方法中各因素对 Rg_5 产率的影响程度一致，由大到小依次为微波温度、微波功率、微波时间。正交试验优化得到的最佳工艺条件为微波功率 500 W、微波温度 150℃，微波时间 20 min；响应面法优化得到的最佳工艺条件为微波功率 540 W、微波温度 153℃ 和微波时间 20 min。对正交试验和响应面法进行验证试验，得到 Rg_5 产率分别为 44.76%、43.07%。产率差异可能是由于二者优化得到的最佳微波功率和微波温度不同而造成的。因此，该方法优化得到的工艺对从三七茎叶中制备稀有皂苷具有应用价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 贺旭, 刘英飞, 王伟, 等. 三七总皂苷对全脑缺血大鼠海马脑水肿及 GFAP 表达的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4695-4700.
- [3] 刘静, 赵海霞, 吴秋月, 等. 基于 ATR/Chk1/P53 信

号通路探讨三七总皂苷对自然衰老大鼠睾丸生殖细胞 DNA 损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 935-940.

- [4] 贺旭, 葛金文, 黄俊, 等. 三七总皂苷对全脑缺血成年大鼠侧脑室室管膜区神经再生的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1535-1540.
- [5] Han L F, Sakah K J, Liu L L, *et al.* Saponins from roots of *Panax notoginseng* [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(2): 159-163.
- [6] Lee W J, Chan Y S, Yoo B K, *et al.* Induction of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in lipopolysaccharide-stimulated primary astrocytes is mediated by extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 (Erk1/2) [J]. *Glia*, 2003, 41(1): 15-24.
- [7] Choi P, Park J Y, Kim T, *et al.* Improved anticancer effect of ginseng extract by microwave-assisted processing through the generation of ginsenosides Rg_3 , Rg_5 and Rk_1 [J]. *J Funct Foods*, 2015(14): 613-622.
- [8] Chu S, Gu J, Feng L, *et al.* Ginsenoside Rg_5 improves cognitive dysfunction and beta-amyloid deposition in STZ-induced memory impaired rats via attenuating neuroinflammatory responses [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2): 317-326.
- [9] Kim E J, Jung I H, Van Le T K, *et al.* Ginsenosides Rg_5 and Rh_3 protect scopolamine-induced memory deficits in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(1): 294-299.
- [10] Kang K S, Kim H Y, Yamabe N, *et al.* Stereospecificity in hydroxyl radical scavenging activities of four ginsenosides produced by heat processing [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(19): 5028-5031.

- [11] Cho Y L, Hur S M, Kim J Y, *et al.* Specific activation of insulin-like growth factor-1 receptor by ginsenoside Rg₅ promotes angiogenesis and vasorelaxation [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(1): 467-477.
- [12] 李绪文, 金永日, 桂明玉, 等. 碱催化降解法制备抗癌活性化合物 20(S)-原人参二醇 [J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(3): 478-481.
- [13] 成乐琴, 金瑜真, 梁德春. 微生物酶催化制备人参皂苷 20(S)-Rg₂, 20(S)-Rh₁ 和 20(S)-PPT [J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(1): 67-73.
- [14] Oh S J, Lee S, Choi W Y, *et al.* Skin anti-photoaging properties of ginsenoside Rh₂ epimers in UV-B-irradiated human keratinocyte cells [J]. *J Biosci*, 2014, 39(4): 673-682.
- [15] 王月亮, 陈 凯, 李 慧, 等. 石菖蒲无溶剂微波提取工艺的优化研究及其挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 414-419.
- [16] 陈 猛, 袁东星, 许鹏翔. 微波萃取法研究进展 [J]. 分析测试学报, 1999, 18(2): 82-86.
- [17] 李雪梅, 李立平. 微波萃取技术研究进展 [J]. 科技信息: 学术版, 2006, (7): 57.
- [18] 邓丽芳. 微波萃取技术在提取黄酮类化合物中的应用 [J]. 西安文理学院学报: 自然科学版, 2013, 16(4): 16-21.
- [19] 吕玲霞, 辛立红, 管仁伟, 等. 山楂多糖药理作用和提取工艺研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 1081-1085.
- [20] Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction-an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research [J]. *Pharmacogn Rev*, 2007, 1(1): 7-18.
- [21] Bai Y P, Zhao L S, Qu C L, *et al.* Microwave degradation of floatation-enriched ginsenoside extract from *Panax quinquefolium* L. leaf [J]. *J Agr Food Chem*, 2009, 57(21): 10252-10260.
- [22] 黄 菊, 翟淑敏. 正交设计和响应面法优化荞麦中芦丁提取工艺的比较 [J]. 粮食与油脂, 2014, 27(9): 45-48.
- [23] 薛宏坤, 徐 浩, 朱广浩, 等. 微波辅助萃取蓝莓中花青素降解工艺研究 [J]. 农机化研究, 2018, 40(3): 226-237.
- [24] 杨晶晶, 曲 媛, 杨晓艳, 等. 三七茎叶中 γ -氨基丁酸提取工艺研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2014, 34(6): 907-911.
- [25] 汪佳丹, 彭茹洁, 韩 伟. 试验设计优化金针菇多酚提取工艺 [J]. 南京工业大学学报: 自科版, 2017(6): 59-67.
- [26] 石嘉悻, 张檬达, 鞠兴荣. 响应面法优化籼稻挥发性成分 SPME 萃取条件的研究 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(12): 120-125.
- [27] 张 平, 李春阳, 袁旭江. 响应面法优化毛鸡骨草叶中黄酮成分提取工艺 [J]. 中成药, 2015, 37(10): 2325-2328.
- [28] 万 俊, 蒋爱民, 曲 直, 等. 响应面法优化 Camembert 干酪加工工艺 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(7): 840-844.
- [29] Xu H, Sun L P, Shi Y Z, *et al.* Optimization of cultivation conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by *Morchella esculenta*, As51620 [J]. *Biochem Eng J*, 2008, 39(1): 66-73.
- [30] 董 心, 王 勇, 高 锐, 等. 正交实验联用响应面法优化脱皮马勃总生物碱提取的研究 [J]. 药物生物技术, 2013, 20(3): 245-249.
- [31] 陈 敬, 温庆果, 刘 韶, 等. 正交设计与响应面法优化壳聚糖对莲子心提取液除杂工艺对比研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2183-2188.