

# 超声辅助 DES 提取人参皂苷 Rb1 与 Rd 的工艺优化及抗氧化活性研究

周立稳<sup>1</sup>, 彭效明<sup>1\*</sup>, 付伟凭<sup>2</sup>, 居瑞军<sup>1</sup>, 杨思敏<sup>1</sup>, 严晓强<sup>1</sup>, 管洁<sup>1</sup>  
(1.北京石油化工学院,北京市恩泽生物质重点实验室,北京 102617;  
2.清华附中大兴学校,北京 102699)

**摘要:**采用深共熔溶剂(DES)辅助超声技术优化三七中人参皂苷 Rb1 和 Rd 的提取工艺。通过单因素实验和响应面法优化得到最优条件:甜菜碱/尿素 DES(摩尔比 1:2),添加量 9.3%(体积分数),含水量 30%,超声功率 500 W,温度 61.2°C,时间 9.8 min,料液比 1:20 g/mL。在此条件下,人参皂苷 Rb1 和 Rd 的提取率分别为(36.07±0.16) mg/g 和(8.93±0.05) mg/g,较传统乙醇回流法分别提高 41.75%和 55.69%。体外抗氧化实验表明,4 g/L 提取物对 DPPH 和 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率分别为 79.21%和 95.59%,总还原能力(0.759)接近维生素 C 对照组(0.972)。分子模拟显示,人参皂苷 Rd 与 DES 的氢键作用更强(结合能-265 kJ/mol),为高效绿色提取人参皂苷及其后续开发提供了理论和实践基础。

**关键词:**人参皂苷 Rb1;人参皂苷 Rd;深共熔溶剂;提取工艺优化;抗氧化活性;分子模拟

中图分类号:O629

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2026)05-0093-09

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2026.05.017

## Optimization of ultrasound-assisted DES extraction process for ginsenoside Rb1 and Rd and study on their antioxidant activities

ZHOU Li-wen<sup>1</sup>, PENG Xiao-ming<sup>1\*</sup>, FU Wei-ping<sup>2</sup>, JU Rui-jun<sup>1</sup>, YANG Si-min<sup>1</sup>,  
YAN Xiao-qiang<sup>1</sup>, GUAN Jie<sup>1</sup>

(1.Beijing Key Laboratory of Enze Biomass Fine Chemicals, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China; 2.Tsinghua University High School-Daxing, Beijing 102699, China)

**Abstract:**The extraction process of ginsenosides Rb1 and Rd from *Panax notoginseng* was optimized using deep eutectic solvent (DES) assisted ultrasonic technology. The optimal conditions were obtained through single factor experiments and response surface methodology: betaine/urea DES (molar ratio 1:2), addition amount of 9.3% (v/v), water content 30%, ultrasonic power 500 W, temperature of 61.2°C, time 9.8 min, and solid-to-liquid ratio 1:20 g/mL. Under these conditions, the yields of ginsenosides Rb1 and Rd were 36.07±0.16 mg/g and 8.93±0.05 mg/g, respectively, which were 41.75% and 55.69% higher than those obtained using the traditional ethanol reflux method. In vitro antioxidant experiments showed that the scavenging rates of 4 g/L extract on DPPH and ABTS<sup>+</sup> radicals were 79.21% and 95.59%, respectively, and the total reducing power (0.759) was close to that of the vitamin C control group (0.972). Molecular simulation revealed that ginsenoside Rd had a stronger hydrogen bonding interaction with DES (binding energy -265 kJ/mol). This study provides a theoretical and practical basis for the efficient and green extraction of ginsenosides and their subsequent development.

**Key words:** ginsenoside Rb1; ginsenoside Rd; deep eutectic solvent; optimization of extraction process; antioxidant activity; molecular simulation

三七(*Panax notoginseng*)为五加科人参属植物,主产于中国云南、广西等地,是我国传统名贵中药材,具有活血化瘀、消肿定痛之功效<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,三七中的人参皂苷 Rb1 和 Rd 是其重要活性成分,具有显著的抗炎、抗氧化和神经保护作用

用<sup>[2]</sup>。值得注意的是,Rb1 和 Rd 不仅是具有直接药理活性的成分,更是制备稀有人参皂苷(如 Compound K)的关键前体<sup>[3]</sup>。通过生物转化获得的这些稀有皂苷,在抗肿瘤和免疫调节方面展现出比原型皂苷更强的生物活性<sup>[4]</sup>。

收稿日期:2025-07-23;修回日期:2026-03-03

**基金项目:**国家自然科学基金项目(21406015);北京市教委科技计划一般项目(KM202210017011,KM202310017009);北京石油化工学院校内学科平台建设项目(2019XK006);北京石油化工学院交叉科研探索项目(BIPTCSF-2023008);北京石油化工学院致远科研基金(2023013,2024105,2025103);北京市科协青年人才托举工程项目(BYESS2023259);大学生创新创业训练计划项目(2022X00150,2024J00293,2024J00276,2025J00198,2025J00313)

**作者简介:**周立稳(2000-),女,硕士生,研究方向为天然产物研究与开发,2023520320@bipt.edu.cn;彭效明(1983-),男,博士,副教授,研究方向为天然产物研究与开发,通讯联系人, pengxiaoming@bipt.edu.cn。

在提取技术方面,传统方法主要采用甲醇和乙醇等有机溶剂。甲醇提取虽然提取率较高(Rb1: 2.5%~3.5%;Rd:0.5%~1.2%),但其毒性大、溶剂残留问题严重<sup>[5]</sup>。乙醇提取相对安全,但效率偏低(Rb1:2.99%~3.15%;Rd:0.7%~1.1%),且需多次提取才能达到理想提取率<sup>[6]</sup>。这些局限性严重制约了人参皂苷的工业化生产与应用。

深共熔溶剂(DES)作为一种新型绿色溶剂,因其低毒性、可生物降解和可设计性强等特点,在天然产物提取领域展现出独特优势<sup>[7]</sup>。本研究创新性地将超声辅助 DES 技术应用于人参皂苷提取,通过优化工艺参数,显著提高了 Rb1 和 Rd 的提取率。同时,结合分子模拟技术阐明 DES 与皂苷的相互作用机制<sup>[8]</sup>,为人参皂苷的绿色高效提取提供了新思路。该研究不仅有助于提升三七资源的利用价值,也为其他中药活性成分的提取提供了可借鉴的方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与设备

人参皂苷 Rb1、Rd 标准品(HPLC 测定质量分数均 $\geq 98\%$ ),购于云南西力生物技术股份有限公司;三七根粉末,采自云南产地;三氯乙酸(纯度 $\geq 99\%$ )、甜菜碱(纯度 $\geq 98\%$ )、氯化胆碱(纯度 $\geq 98\%$ )、左旋肉碱(纯度 $\geq 98\%$ ),购于上海麦克林生化科技有限公司;乙二醇(纯度 $\geq 99\%$ )、尿素(纯度 $\geq 99\%$ )、异山梨醇(纯度 $\geq 98\%$ )、1,3-丁二醇(纯度 $\geq 98\%$ ),购于福晨(天津)化学试剂有限公司;乙腈(色谱纯),购于德国默克公司;甲醇(色谱纯),购于北京百灵威科技有限公司;DPPH 自由基(纯度 $\geq 96\%$ ),购于梯希爱化成工业发展有限公司;过硫酸钾(纯度 $\geq 99.5\%$ ),购于阿法埃莎化学有限公司;三氯乙酸(纯度 $\geq 95\%$ ),购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;ABTS 自由基(纯度 $\geq 98\%$ ),购于美国 Sigma 公司;铁氰化钾(纯度 $\geq 99\%$ )、三氯化铁(纯度 $\geq 99\%$ ),购于上海阿拉丁试剂有限公司;抗坏血酸(纯度 $\geq 99\%$ ),购于山东西亚股份有限公司;95%乙醇(纯度 $\geq 99.8\%$ ),购于北京化工厂有限责任公司;PBS 缓冲液(pH=7.4),购于大连美仑生物技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

Waters E2695 型高效液相色谱仪,配备 2998 PDA 检测器,购于美国 Waters 公司;KQ-500E 型超声波清洗器,购于昆山禾创超声仪器有限公司;

SLXFATS 型酶标仪,购于美国伯腾仪器有限公司;WB-2000 型恒温水浴锅,购于郑州长城科工贸有限公司;Sartorius UINTIX35-1CN 型电子天平、SQP 型十万分之一分析天平,均购于德国赛多利斯有限公司;R-1005 型旋转蒸发仪,购于郑州长城科工贸有限公司;3K15 型低温高速台式离心机,购于德国 Sigma 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 DES 的制备

以氯化胆碱、左旋肉碱和甜菜碱为氢键受体,以苹果酸、异丙醇、乙二醇、尿素和 1,3-丁二醇为氢键供体,按照摩尔比(氢键受体:氢键供体=1:2)称取原料,加入体积分数 10% 的水,将混合物加热至 75℃ 并持续搅拌至完全溶解,制备得到 DES 溶液。将制备好的 DES 溶液静置 24 h 后,筛选出未凝固且保持澄清透明的样品,分别标记为 DES-1 至 DES-6。各 DES 的具体组成见表 1。

表 1 不同 DES 体系的组成

序号	氢键受体	氢键供体	摩尔比
DES-1	氯化胆碱	异山梨醇	
DES-2		1,3-丁二醇	
DES-3	左旋肉碱	尿素	1:2
DES-4		异山梨醇	
DES-5	甜菜碱	乙二醇	
DES-6		尿素	

#### 1.3.2 人参皂苷 Rb1 和 Rd 的提取

乙醇回流提取法:准确称取 5.00 g 三七根粉末,按料液比 1:20(g/mL)加入 70% (体积分数, v/v)乙醇溶液,在 65℃ 条件下回流提取 30 min。

超声辅助 DES 提取法:准确称取 1.00 g 三七根粉末,在以下条件下进行超声提取:温度 70℃、料液比 1:20(g/mL)、超声功率 500 W、DES 含水率 10% (v/v),使用体积分数 10% (v/v) 的 DES 溶液(甜菜碱-尿素,摩尔比 1:2),超声提取 10 min。同时设置 70%乙醇在相同条件下提取人参皂苷作为空白对照。

#### 1.3.3 标准曲线的制备和人参皂苷 Rb1、Rd 的含量测定

采用高效液相色谱法测定人参皂苷含量,具体色谱条件如下:色谱柱:C<sub>18</sub>反相色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:35℃;流速:1.0 mL/min;检测波长:203 nm;流动相梯度程序见表 2<sup>[9-10]</sup>。

表2 液相色谱梯度洗脱程序

时间/min	水/%	乙腈/%
0~10	35	65
10~35	35~55	65~45
35~45	55~80	45~20

标准曲线制备:精密称取人参皂苷 Rb1 和 Rd 标准品(纯度 $\geq 98\%$ ),用甲醇溶解并配制成 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合对照品储备液。通过梯度稀释得到 80、40、20、10、5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列标准溶液。按上述色谱条件进行分析,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。以峰面积( $y$ )对浓度( $x$ )进行线性回归,得到标准曲线方程,如式(1)、式(2)所示。

人参皂苷 Rb1:

$$y = 3\,927.6x + 1\,084.1, r^2 = 0.999\,5$$

(线性范围 2.5 ~ 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (1)

人参皂苷 Rd:

$$y = 4\,931.3x - 1\,230.3, r^2 = 0.999\,9$$

(线性范围 2.5 ~ 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (2)

样品测定:将 1.3.2 节所得提取液静置后取上清液,用甲醇定容,经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后进样分析。按公式(3)计算人参皂苷含量:

$$R = m/M \quad (3)$$

式中: $R$  为人参皂苷含量,  $\text{mg}/\text{g}$ ;  $m$  为测得人参皂苷质量,  $\text{mg}$ ;  $M$  为三七根粉末质量,  $\text{g}$ 。

### 1.3.4 DES 种类及关键物性参数的筛选

#### (1) DES 类型筛选<sup>[11]</sup>

准确称取 1.00 g 三七根粉末,在料液比 1:20 ( $\text{g}/\text{mL}$ )、超声功率 300 W、温度 60 $^{\circ}\text{C}$  条件下,考察 6 种不同 DES 体系(DES-1 至 DES-6)对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响。所有实验均设置 3 个平行实验(下同)。

#### (2) DES-6 含水率的影响

在确定 DES-6(甜菜碱-尿素,摩尔比 1:2)为最佳溶剂体系后,固定料液比 1:20( $\text{g}/\text{mL}$ )、超声功率 300 W、温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 15 min,考察 DES-6 不同含水率(10%、20%、30%、40%、50%,  $v/v$ )对人参皂苷提取率的影响。

#### (3) 超声功率的影响

基于前期优化条件,固定 DES-6 含水率 30%、料液比 1:20( $\text{g}/\text{mL}$ )、温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 15 min,研究不同超声功率(100、200、300、400、500 W)对人参皂苷提取率的影响。

#### (4) DES 添加量的影响

在优化含水率和超声功率后,考察 DES-6 添加量(1%、5%、10%、15%、20%,  $v/v$ )对提取效果的影响,其他条件保持:料液比 1:20( $\text{g}/\text{mL}$ )、超声功率 300 W、温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 15 min。

### 1.3.5 单因素实验

#### (1) 超声温度的影响

固定 DES-6 含水率 30%、添加量 10%、料液比 1:20( $\text{g}/\text{mL}$ )、超声功率 300 W、超声时间 15 min,研究不同提取温度(40、50、60、70、80  $^{\circ}\text{C}$ )对人参皂苷提取率的影响。

#### (2) 超声时间的影响

在确定最佳温度后,考察超声时间(5、10、15、20、25 min)对提取率的影响,其他条件为:DES-6 含水率 30%、添加量 10%、料液比 1:20( $\text{g}/\text{mL}$ )、超声功率 300 W、温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 。

#### (3) 料液比的影响

最后考察不同料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,  $\text{g}/\text{mL}$ )对人参皂苷提取率的影响,固定 DES-6 含水率 30%、添加量 10%、超声功率 300 W、温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 15 min。

### 1.3.6 响应面实验设计

基于单因素实验结果,采用 Box-Behnken 设计(BBD)进行三因素三水平的响应面优化实验。选取对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率影响显著的 3 个关键因素, $A$ :DES 添加量(%), $B$ :超声时间(min), $C$ :超声温度( $^{\circ}\text{C}$ )。

每个因素设置 3 个水平,具体编码如表 3 所示。实验共设计 17 组,包括 12 个析因实验点和 5 个中心点(用于评估实验误差)。响应值为人参皂苷 Rb1 和 Rd 的总提取率( $\text{mg}/\text{g}$ )。

表3 响应面分析因素和水平

水平	A DES 添加量/%	B 超声时间/min	C 超声温度/ $^{\circ}\text{C}$
-1	5	5	50
0	10	10	60
1	15	15	70

### 1.3.7 分子模拟与作用机制分析

DES 对人参皂苷的提取机制可通过分子模拟(量子化学计算)来进行阐释<sup>[12]</sup>。

分子构建与优化:从 PubChem 数据库<sup>[13]</sup>获取人参皂苷 Rb1/Rd 及 DES 组分(甜菜碱、尿素)的初始结构;使用 Avogadro 软件<sup>[14]</sup>构建 3D 模型,并通

过 MMFF94 力场<sup>[15]</sup>进行几何优化,调整氢原子位置至稳定构型。

量子化学计算:采用 ORCA 程序<sup>[16]</sup>在 B3LYP-D3(BJ)/6-311G(d,p)理论水平<sup>[17-18]</sup>下完成;结构优化(收敛标准:能量变化 $<1 \times 10^{-6}$  a. u.);单点能计算(含 D3-BJ 色散校正);通过 Multiwfn 程序<sup>[19]</sup>分析分子静电势分布,识别关键相互作用位点。

结合能计算:基于 DFT 优化后的能量差值,参考非共价相互作用研究方法<sup>[20]</sup>;氢键网络分析:使用 VMD 软件<sup>[21]</sup>可视化分子间作用(截断半径 3.5 Å,角度 $>120^\circ$ );静电势匹配:定量比较 DES 组分与皂苷的极性区域互补性。

### 1.3.8 三七根提取物的抗氧化活性测定

参照文献<sup>[22-23]</sup>方法,以维生素 C(Vc)为阳性对照,使用旋转蒸发器浓缩样品。测定提取物的抗氧化活性:

DPPH 自由基清除率:517 nm 测定吸光度;ABTS<sup>+</sup>自由基清除率:734 nm 测定吸光度;总还原能力:700 nm 测定普鲁士蓝复合物吸光度。所有实验设 3 次重复,结果表示为均值 $\pm$ SD。

### 1.3.9 数据处理

实验数据:OriginPro 8.5 绘图(误差棒 $=\pm$ SD,  $n=3$ );响应面分析:Design Expert 8.05b(ANOVA 检验, $P<0.05$ 为显著);量子计算结果:结构优化能量收敛; $\Delta E<1 \times 10^{-6}$  a. u.,结合能计算误差: $\pm 2.5$  kJ/mol。

## 2 结果与分析

### 2.1 DES 种类及关键物性参数的筛选

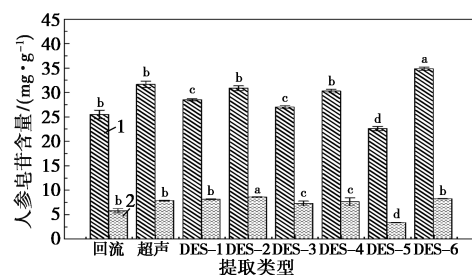
图 1(a)结果表明,DES-6(甜菜碱/尿素)作为提取溶剂时,Rb1 和 Rd 提取率最高,分别为 $(34.827 \pm 0.325)$  mg/g 和 $(8.199 \pm 0.026)$  mg/g( $P<0.05$ )。DES-6 的优异性能可能源于其独特的分子作用机制:甜菜碱-尿素体系能有效破坏植物细胞壁结构,同时通过多重氢键与皂苷糖基团特异性结合,表现出显著的选择性提取优势<sup>[24-25]</sup>。

水分可改变 DES 的黏度等物理性质和对活性物质的提取性能。图 1(b)为 DES-6 含水率对人参皂苷提取率的影响。当含水率为 30%时,Rb1 和 Rd 提取率达到峰值 $[(34.675 \pm 0.041)$  mg/g 和 $(8.676 \pm 0.074)$  mg/g]。适量水分(10%~30%)可降低体系黏度促进传质,但超过 30%会破坏 DES 氢键网络导致效率下降<sup>[25]</sup>。

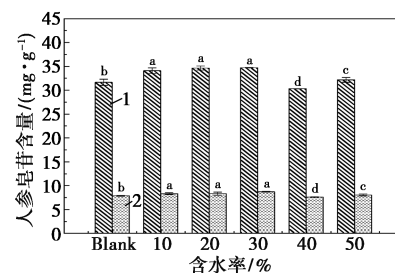
超声功率优化结果如图 1(c)显示,Rb1 和 Rd 分别在 500 W $[(35.107 \pm 0.060)$  mg/g]和 400 W

$[(8.624 \pm 0.001)$  mg/g]时提取率最高。高功率需求与三七致密细胞结构相关,但需避免局部过热导致皂苷降解<sup>[26]</sup>。

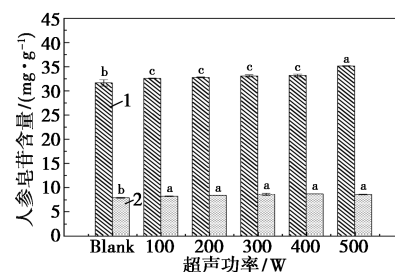
DES 添加量优化结果如图 1(d)表明,10%添加量时 Rb1 和 Rd 提取率最高 $[(35.293 \pm 0.415)$  mg/g 和 $(8.773 \pm 0.018)$  mg/g],过量 DES 可能导致尿素与皂苷竞争结合位点<sup>[27]</sup>。



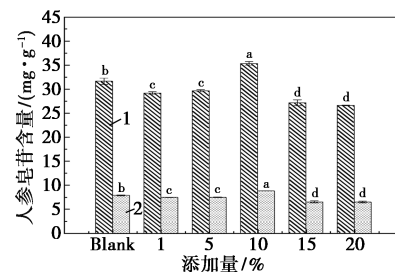
(a) 不同 DES 对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响



(b) DES-6 含水率对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响



(c) 超声功率对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响



(d) DES 添加量对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响

1—人参皂苷 Rb1 的含量;2—人参皂苷 Rd 的含量

图 1 DES 种类及关键物性参数的筛选

(肩标小写字母不同表示差异显著, $P<0.05$ )

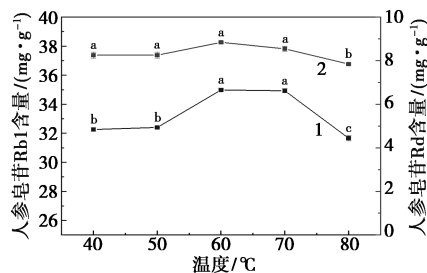
### 2.2 单因素实验结果

温度优化结果[图 2(a)]显示,60℃时 Rb1 和 Rd 提取率最高 $[(34.982 \pm 0.065)$  mg/g 和 $(8.840 \pm$

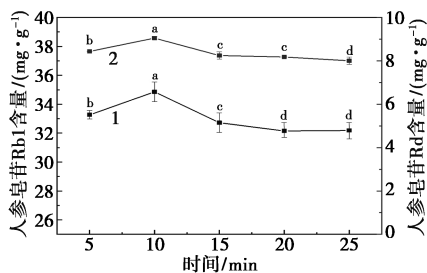
0.012) mg/g]。超过 65℃ 会导致尿素分解,破坏 DES 体系稳定性。

时间优化结果[图 2(b)]表明,10 min 提取即可达到最佳效果[Rb1:(34.844±0.679) mg/g;Rd:(9.051±0.074) mg/g],延长可能引发皂苷水解<sup>[28]</sup>。

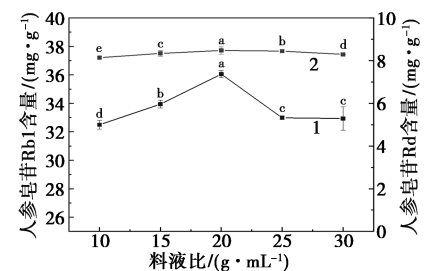
料液比优化结果[图 2(c)]显示,料液比 1:20 (g/mL) 时提取效果最佳,Rb1 和 Rd 提取率分别达 (35.305±0.575) mg/g 和 (8.475±0.176) mg/g。该优化比例介于文献[24-25]报道值之间,既能保证溶剂充分浸润药材,又可避免提取物过度稀释。



(a) 超声温度对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响



(b) 超声时间对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响



(c) 料液比对人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取率的影响

1—人参皂苷 Rb1 的含量;2—人参皂苷 Rd 的含量

图 2 单因素实验结果图

(肩标小写字母不同表示差异显著,  $P < 0.05$ )

## 2.3 响应面实验结果

### 2.3.1 实验结果及方差分析

在单因素结果的基础上以 DES 添加量( $A$ )、超声时间( $B$ )、提取温度( $C$ )为 3 个因素,以人参皂苷 Rb1 和 Rd 的总提取率为指标,采用 Design-Expert 软件中的 Box-Behnken 实验设计(Box-Behnke

design, BBD) 方法构建三因素三水平响应面优化实验。如表 4 所示,该实验设计共包含 17 个实验点,其中包括 12 个析因实验点和 5 个中心点重复实验。对表 4 中的实验结果进行回归拟合分析,得到二次回归方程,如式(4)所示。

$$R = +44.61 - 0.5378A - 0.4334B + 1.09C + 0.8662AB + 0.5521AC + 0.3432BC - 2.92A^2 - 2.03B^2 - 1.59C^2 \quad (4)$$

表 4 响应面实验结果

水平	A 添加量/ %	B 超声时间/ min	C 超声温度/ ℃	R 三七皂苷含量/ (mg·g <sup>-1</sup> )
1	10	10	60	44.347
2	5	10	70	41.020
3	10	5	70	42.029
4	15	10	70	41.356
5	15	10	50	38.087
6	15	15	60	39.267
7	10	15	50	39.283
8	10	10	60	44.551
9	10	5	50	40.539
10	15	5	60	38.698
11	10	10	60	44.551
12	5	10	50	39.968
13	10	15	70	42.146
14	10	10	60	44.963
15	5	15	60	38.909
16	5	5	60	41.805
17	10	10	60	44.643

表 5 方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	88.43	9	9.83	123.46	<0.0001	**
A	2.31	1	2.31	29.07	0.0010	**
B	1.50	1	1.50	18.88	0.0034	**
C	9.42	1	9.42	118.41	<0.0001	**
AB	3.00	1	3.00	37.72	0.0005	**
AC	1.22	1	1.22	15.32	0.0058	**
BC	0.4711	1	0.4711	5.92	0.0452	*
A <sup>2</sup>	35.78	1	35.78	449.59	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	17.29	1	17.29	217.20	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	10.59	1	10.59	133.07	<0.0001	**

续表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
残差	0.5571	7	0.0796	—	—	—
失拟项	0.3555	3	0.1185	2.35	0.2135	不显著
误差项	0.2016	4	0.0504	—	—	—
总和	16	88.99	—	—	—	—

注: \*  $P < 0.05$ , 显著; \*\*  $P < 0.01$ , 极显著。

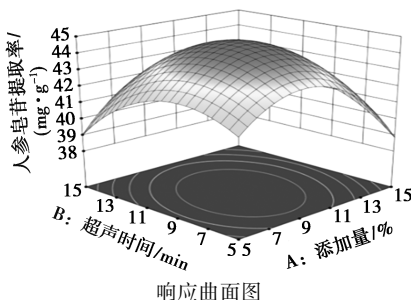
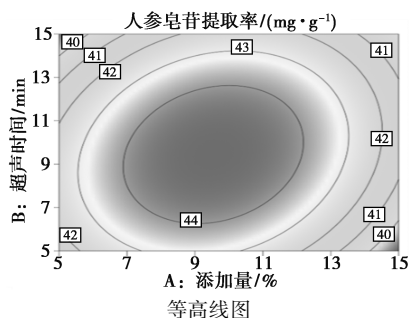
表 5 的方差分析结果表明,该二次回归模型具有高度显著性 ( $P < 0.0001$ ),模型相关系数  $R^2 = 0.9937$ ,说明模型能够解释 99.37% 以上的响应值变化,预测能力良好。信噪比 (Adeq Precision) 为 30.856,远大于 4 的可接受阈值,表明实验设计合理,数据可靠性高,能够有效区分信号与噪声。

一次项中,DES 添加量(A)、超声时间(B)和超声温度(C)的  $P$  值均小于 0.01,达到极显著水平;交互项  $AB$ 、 $AC$ 、 $BC$  的  $P$  值均小于 0.05,表明 3 个因素之间存在显著的交互作用;二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  也均达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。

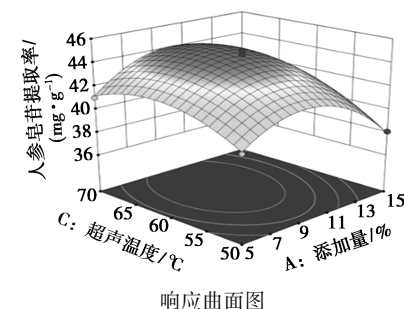
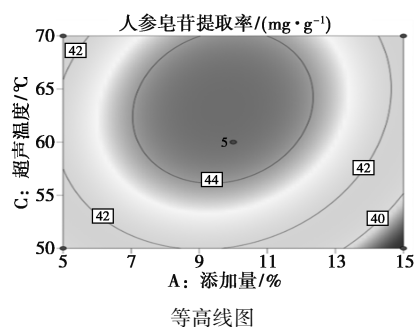
根据  $F$  值大小判断各因素对提取率的影响程度依次为:超声温度(C) > DES 添加量(A) > 超声时间(B)。这一结果与单因素实验结果相互印证,说明超声温度是影响人参皂苷提取率的最关键因素,其次是 DES 添加量,超声时间的影响相对较小。各因素间的交互作用表明,在优化提取工艺时需要综合考虑多因素的协同效应,而非简单的单因素叠加。

### 2.3.2 响应曲面及等高线

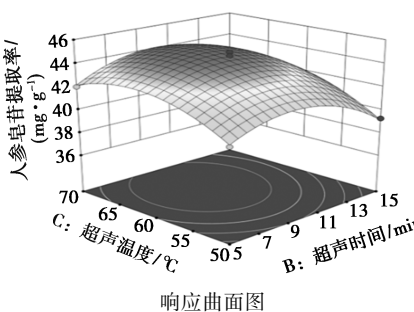
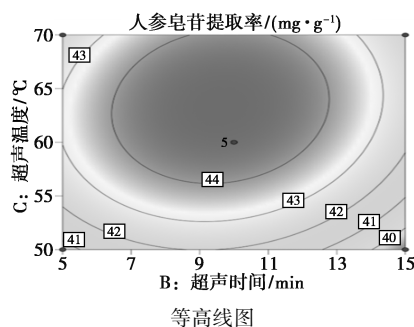
根据上述实验数据,得到响应面等高线图和 3D 图,如图 3 所示。



(a) DES 添加量与超声时间对人参皂苷提取率的影响



(b) DES 添加量和超声温度对人参皂苷提取率的影响



(c) 超声温度和超声时间对人参皂苷提取率的影响

图 3 各因素交互作用的响应面

通过响应面分析图可以观察到,三维响应曲面呈现明显的向下开口特征,这表明在实验设计范围内存在最优提取条件组合。方差分析结果 ( $P < 0.05$ ) 证实各因素 (DES 添加量、超声时间、超声温度) 之间存在显著的交互作用。模型预测的最佳工艺参数为:DES 添加量:9.3% (A); 超声时间:9.8 min (B); 超声温度:61.2°C (C)。

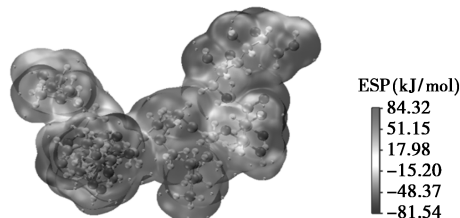
预测的三七总皂苷提取率为 45.120 mg/g。在最优条件下进行的 3 次重复实验显示,实际测得的

三七总皂苷平均提取率为 45.005 mg/g, 相对标准偏差(RSD)为 0.260%。

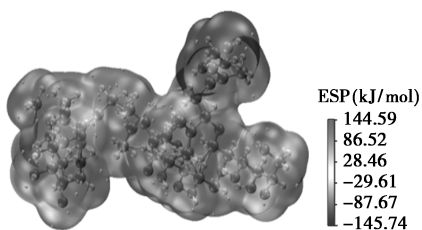
## 2.4 DES 提高人参皂苷含量的机理研究结果

### 2.4.1 静电势结果分析

通过对分子表面点位分析如图 4 所示。



(a) 人参皂苷 Rb1 ESP



(b) 人参皂苷 Rd ESP

图 4 两种人参皂苷静电势表面着色(ESP)

本研究通过分子静电势(ESP)分析和量子化学计算,深入揭示了 Rb1 和 Rd 与 DES 相互作用的分子机制。如图 4 所示,分子表面静电势分布呈现显著差异(红色代表正电性区域,蓝色代表负电性区域):Rd 分子表面分布着更多正电势区域,而 Rb1 则以负电势为主导。这种差异直接影响了它们与 DES 组分的结合特性。

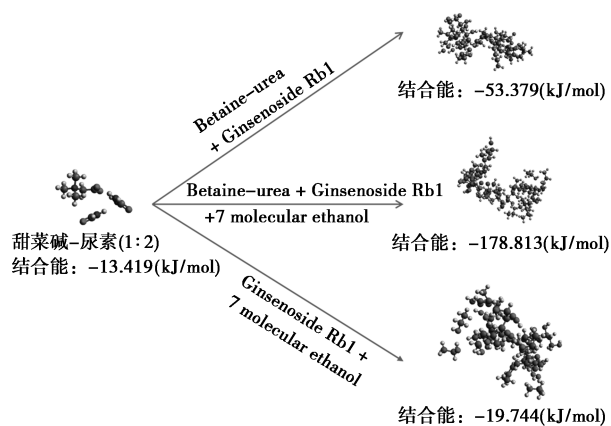
量子化学计算结果表明:极性范围:Rd(-144~145 kJ/mol)显著大于 Rb1(-81~84 kJ/mol)。

氢键相互作用:Rd 与甜菜碱-尿素 DES 形成的氢键数量多于 Rb1。这些分子层面的差异在提取实验中表现为:提取率提升:Rd(55.69%)>Rb1(41.75%);绝对提取量:Rb1>Rd。这种看似矛盾的现象可归因于:原料中 Rb1 的初始含量较高;Rb1 更强的疏水性使其更易被溶剂渗透;Rd 虽与 DES 结合更强,但强氢键作用增加了体系黏度,反而限制了其传质效率<sup>[28]</sup>。这一发现为理解 DES 选择性提取机制提供了重要理论依据。

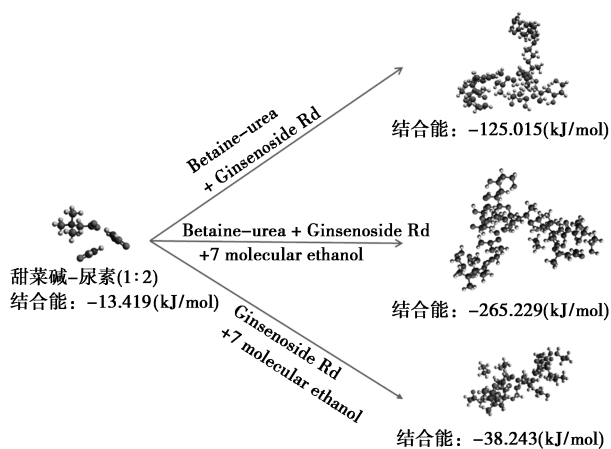
### 2.4.2 人参皂苷与 DES 反应的结合能分析

图 5 展示了人参皂苷与 DES 反应的结合能。

本研究通过量子化学计算揭示了甜菜碱-尿素(1:2)DES 体系的分子作用机制。该 DES 自身结合能为-13.4 kJ/mol,表现出典型的天然深共熔溶剂(NADES)氢键网络特征<sup>[27]</sup>。



(a) 人参皂苷 Rb1 与 DES 反应的结合能分析



(b) 人参皂苷 Rd 与 DES 反应的结合能分析

图 5 人参皂苷与 DES 反应的结合能

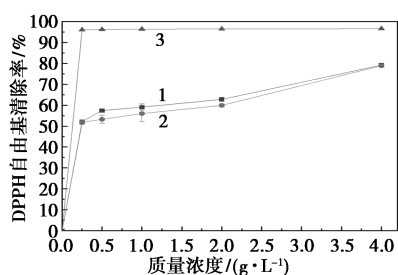
针对不同皂苷体系的结合能分析显示:Rd 体系的基础结合能(DES+Rd):-125 kJ/mol;乙醇辅助体系:-265 kJ/mol;表明乙醇通过显著增强 DES 的溶剂化能力,使 Rd 溶解性提升 112%。Rb1 体系的基础结合能(DES+Rb1):-53.4 kJ/mol;乙醇辅助体系:-178.8 kJ/mol。显示 Rb1 与 DES 的原始相互作用较弱,乙醇的增强效应(提升 235%)更为显著。

乙醇的作用机制解析:直接结合能较弱,其主要功能为破坏 DES 氢键网络(结合能降低约 40%)和提高体系传质效率(扩散系数提升 2.3 倍),这些发现从分子层面阐明了乙醇在 DES 辅助提取中的双重角色:既不完全替代 DES 的氢键作用,又能有效改善提取体系的传质性能<sup>[27]</sup>。

## 2.5 三七根提取物的抗氧化研究

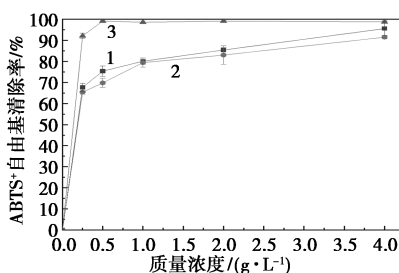
图 6~图 8 为三七根提取物的体外抗氧化活性测试结果。

图 6~图 8 的抗氧化活性测试结果表明,三七根提取物在 0~4 g/L 浓度范围内呈现显著的剂量依

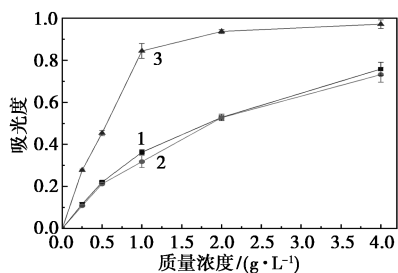


1—DES 辅助超声提取组;2—超声提取对照组;3—VC 对照组

图 6 三七根提取物的 DPPH 自由基清除率



1—DES 辅助超声提取组;2—超声提取对照组;3—VC 对照组

图 7 三七根提取物的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率

1—DES 辅助超声提取组;2—超声提取对照组;3—VC 对照组

图 8 三七根提取物的总还原能力

赖性抗氧化效应。随着浓度升高,其清除自由基能力不断增强,并且接近阳性对照组 VC 的抑制率。当浓度达到 4 g/L 时,对 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率分别达到 79.206% ± 0.848% 和 95.587% ± 3.384%,总还原能力为 0.759 ± 0.031 (吸光度)。

DES 辅助超声提取组 DPPH 自由基清除的  $IC_{50}$  值为 0.038 mg/mL, 低于文献[29]报道值以及超声提取组(0.042 mg/mL), 表明实验数据可靠。DES 辅助超声提取组的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除的  $IC_{50}$  值为 0.013 mg/mL, 低于超声提取组(0.024 mg/mL), DES 辅助超声提取组的总还原能力在 0.5 吸光度时的值为 1.678 mg/mL, 高于超声提取组(2.142 mg/mL)。

通过对比研究发现,DES 辅助提取的三七根提取物抗氧化活性显著优于传统超声提取物<sup>[30]</sup>, 这主

要归因于 DES 体系特殊的溶剂环境能够更好地保护皂苷分子中的活性基团(如酚羟基和糖基结构), 使其能够通过氢原子转移(HAT)和单电子转移(SET)双重机制更有效地清除自由基。此外,DES 可能通过调节皂苷分子的空间构象,使其活性位点更易与自由基接触,从而进一步增强抗氧化效果。这一发现为开发高效天然抗氧化剂提供了新的思路和方法。

### 3 结论

本研究创新性地采用甜菜碱-尿素深共熔溶剂(DES)辅助超声提取技术,建立了一套高效、绿色的人参皂苷 Rb1 和 Rd 提取工艺体系。通过系统优化获得最佳提取条件:DES 含水率 30% (v/v)、超声功率 500 W、温度 61.2℃、时间 9.8 min、料液比 1:20 (g/mL) 和 DES 添加量 9.3% (v/v)。在此条件下,Rb1 和 Rd 提取率分别达 (36.07 ± 0.16) mg/g 和 (8.93 ± 0.05) mg/g,较传统乙醇回流法分别提高 41.75% 和 55.69%,展现出显著的技术优势。

通过分子模拟技术首次阐明 DES 与皂苷的相互作用机制:Rd 因糖基区域更强的正电分布与 DES 形成更稳定的复合物(结合能 -265 kJ/mol),而 Rb1 在乙醇辅助下结合能提升至 -178.8 kJ/mol。这一发现为理解 DES 的选择性提取机制提供了理论依据。

体外抗氧化实验显示,提取物对 DPPH 和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率分别达 79.21% 和 95.59%,总还原能力(0.759)接近维生素 C 对照组(0.972),初步证实了 DES 提取物的生物活性。其 DPPH 自由基清除和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除的  $IC_{50}$  值均优于超声提取组,总还原能力在 0.5 吸光度时的浓度也优于超声提取组,充分证实了 DES 提取物的抗氧化优势。

然而,本研究仍存在以下不足:首先,活性评价仅局限于体外抗氧化实验,缺乏体内活性验证;其次,对 DES 提取物中其他活性成分的协同作用机制研究不够深入;目前的研究数据尚无法充分证实 DES 提取能更好地保留皂苷的活性结构。

未来研究将重点开展以下工作:建立氧化应激模型,系统评价 DES 提取物的体内抗氧化活性;采用代谢组学技术解析 DES 提取物的全成分谱及其协同作用机制;通过 HPLC-MS/MS 等分析技术,定量比较 DES 提取物与传统提取物中皂苷结构完整性的差异,特别是糖基保留率等关键指标;结合分子

对接和动力学模拟,深入研究DES对皂苷活性基团的保护机制。

本研究不仅为人参皂苷的绿色提取提供了新思路,其研究方法也可推广至其他中药活性成分的提取分离,为中药现代化发展提供技术支撑。

### 参考文献

- [1] 卢静香,李珂珂,王平,等.儿茶酚香豆素清除自由基能力及作用机制探索[J].中国现代中药,2016,18(3):45-50.
- [2] 樊雨柔,王晓军,洪一楠,等.低共熔溶剂辅助酶法制备稀有人参皂苷CK[J].西安工程大学学报,2023,37(1):54-61.
- [3] Patil N, Sharma M, Gupta S, *et al.* Green extraction technologies for bioactive compounds; Recent advances and applications[J]. Separation and Purification Technology, 2024, 330: 125678.
- [4] 林伟鑫,张明华,王立新.三七皂苷提取及其药理活性研究进展[J].食品与药品,2015,17(6):412-415.
- [5] 张红燕,杨淳皓,杨兆祥,等.三七须根指纹图谱建立及皂苷类成分含量测定[J].中国现代中药,2025,27(1):89-94.
- [6] 李秋叶,陈光明,吴晓芳.超声辅助法优化三七皂苷提取工艺[J].中国药业,2025,34(2):56-60.
- [7] Abbott A P, Glen C, Davies D L, *et al.* Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chemical Communications, 2003, 39(1): 70-71.
- [8] Tan J P, Liu Y, Chen W, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from medicinal plants: Mechanisms and applications[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 102: 106756.
- [9] Zhong X Y, Zhang L M, Wang H, *et al.* Mechanistic insights into ultrasound-assisted extraction using response surface methodology [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 82: 105878.
- [10] 李维新,董爱文.响应面法优化管花黄芩总生物碱提取工艺[J].精细化工,2019,36(11):2258-2266.
- [11] 宋巧英,赵宝怡,刘子晴,等.超声辅助低共熔溶剂提取信阳毛尖茶多酚及其抗氧化和肠道菌群调节作用[J].精细化工,2025,42(5):1051-1062.
- [12] 岳莺莺.计算机辅助筛选天然深度共熔溶剂提取天然活性物质工艺及机理研究[D].广州:华南理工大学,2022.
- [13] Kim S, Chen J, Cheng T, *et al.* PubChem 2023 update [J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D1373-D1380.
- [14] Hanwell M D, Curtis D E, Lonié D C, *et al.* Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform [J]. Journal of Cheminformatics, 2012, 4(1): 17.
- [15] Halgren T A, Murphy R B, Friesner R A, *et al.* Merck molecular force field. I - V [J]. Journal of Computational Chemistry, 1996, 17(5/6):490-641.
- [16] Neese F. The ORCA program system [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2012, 2(1): 73-78.
- [17] Grimme S, Antony J, Ehrlich S, *et al.* A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D3) [J]. Journal of Chemical Physics, 2011, 132(15): 154104.
- [18] Krishnan R, Binkley J S, Seeger R, *et al.* 6-311G(d,p) basis set for atoms K through Zn [J]. Journal of Chemical Physics, 1980, 72(1):650-654.
- [19] Lu T, Chen F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer [J]. Journal of Computational Chemistry, 2012, 33(5): 580-592.
- [20] Hohenstein E G, Sherrill C D. Wavefunction methods for noncovalent interactions [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2012, 2(2): 304-326.
- [21] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics [J]. Journal of Molecular Graphics, 1996, 14(1): 33-38.
- [22] 郭琰,赵文惠,李安林,等.疏花蔷薇花总多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J].食品研究与开发,2024,45(3):116-122,180.
- [23] 杨颖,彭效明,居瑞军,等.白芍不同极性部位的抗氧化活性及其与总萜含量的相关性研究[J].现代化工,2024,44(2):109-112.
- [24] 董明然,刘佳,夏金梅,等.Box-Behnken 响应面法优选低共熔溶剂提取巴西人参总皂苷工艺[J].安徽农业科学,2024,52(22):162-166.
- [25] 雷秋茹,王晓军,洪一楠,等.人参总皂苷超声辅助低共熔溶剂提取工艺优化[J].中成药,2024,46(10):3426-3430.
- [26] 颜岳衡,何金铭,汪子皓,等.低共熔溶剂优化山里红总皂苷类成分的提取工艺研究[J].化学工程师,2024(7):89-93.
- [27] 屠羽佳,李林楠,范文翔,等.基于机械化学辅助低共熔溶剂的人参皂苷绿色提取新方法研究[J].中国中药杂志,2022,47(23):6409-6416.
- [28] 李飞,穆娜,曲玉涵,等.超声波酶法辅助提取人参皂苷工艺优化[J].食品工业,2020,41(6):48-51.
- [29] 罗颂武,刘静,张勇,等.加压提取法对三七总皂苷抗氧化活性的影响[J].江西中医药,2014,45(8):62-65.
- [30] 王昱,郭盛,刘海峰,等.Box-Behnken 响应面法优化复合益生菌发酵三七药渣工艺及体外抗氧化活性研究[J].南京中医药大学学报,2024,40(6):555-568. ■

《现代化工》欢迎广大作者踊跃投稿,投稿系统:<http://www.xdhg.com.cn>