

文章编号:1673-1689(2009)01-0044-04

大孔树脂对射干萃取液中鸢尾苷物质的提取

段丽红, 郑必胜, 郭祀远*

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 研究了几种大孔吸附树脂的静态吸附特性, 筛选出一种吸附性能较好的 XDA-1 大孔吸附树脂, 并应用于柱层析进行射干正丁醇萃取液的分离纯化。研究了萃取液中鸢尾苷物质浓度、流量及温度等参数对大孔吸附树脂吸附性能的影响。对操作条件的优化得到了满意的实验结果: XDA-1 大孔吸附树脂对鸢尾苷物质的静态吸附率达到 83.48%, 柱层析用体积分数 70% 乙醇洗脱, 洗脱率达到 93%。在一般室温下, 操作温度对大孔树脂的吸附效果影响较小。

关键词: 鸢尾苷; 射干; 分离纯化; 大孔吸附树脂

中图分类号: R 282.4

文献标识码: A

Study on the Separation and Purification of Tectoridin from the Extract of *Rhizoma belamcandae* with Macroporous Resin

DUANG Li-hong, ZHENG Bi-sheng, GUO Si-yuan*

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: By compare the absorption static characteristic of several macroporous resin, the XDA-1 macroporous resin was selected and applied to separated and purify Tectoridin from the n-butanol residual extract of *Rhizoma belamcandae*. The effect of absorption parameters, such as concentration of tectoridin, flow rate of solvent and temperature, was investigated in this study. Through optimizing the operation conditions, a series of excellent results was achieved: the absorption rate of the resin was 83.48%, 70% ethanol was used as washout solvent, the washout rate was 93%. Furthermore, the normal room temperature has no effect on the absorption. There is no much effect on absorption at normal room temperature.

Key words: Tectoridin, *Rhizoma belamcandae*, isolation and purifying, macroporous resin

现代药理研究表明, 中草药射干具有抗炎、抗病毒、抗过敏、兴奋咽喉粘膜和促进唾液分泌等作用^[1]。射干中的活性成分鸢尾苷、鸢尾黄素可作为具有器官选择性的雌性激素样药物, 选择性地治疗

和预防血管疾病、骨质疏松和更年期综合症^[2]。近年来, 日本的学者对射干中主要成分鸢尾苷及其鸢尾黄素的抗炎作用进行了深入的研究, 发现射干中的鸢尾苷及鸢尾黄素在体内外均具有抗透明质酸

收稿日期: 2008-01-08

基金项目: 广东省科技计划项目(2003B31701; 2007A050100025)。

作者简介: 段丽红(1981-), 女, 江西景德镇人, 制糖工程博士研究生。

* 通讯作者: 郭祀远(1939-), 男, 广东潮阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然组分分离纯化研究。

Email: lfsyguo@scut.edu.cn

酶的作用,且不为半胱氨酸所阻断^[3]。

作者通过对几种大孔吸附树脂对鸢尾苷物质的吸附性能进行比较,找出吸附和分离效果较好的树脂,并研究其对鸢尾苷物质的吸附及洗脱条件,旨在改进射干中鸢尾苷的提取纯化工艺,以获得高纯度的产品。

1 材料与方 法

1.1 原料、试剂及仪器

射干:购于广州清平药材市场;鸢尾苷标准品:成都思科华生物技术有限公司产品;树脂:西安蓝晓科技有限公司产品;乙醇:工业级;乙醚、乙酸乙酯、正丁醇:均为分析纯级试剂。

KQ5200DE 型数控超声清洗器:江苏昆山超声仪器有限公司生产;UV2102PC 紫外-可见分光光度计:上海 Unico 公司生产;LD5-10 型低速离心机:北京医用离心机厂生产;RE-52A 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂生产;SHZ-III 型循环水真空泵:上海亚荣生化仪器厂生产;ZK-828 型真空干燥箱:上海实验仪器总厂生产;层析柱:上海亚荣生化仪器厂生产;BT-200 型恒流泵:上海沪西分析仪器有限公司生产;SBS-100 型数控计滴自动部份收集器:上海沪西分析仪器有限公司生产。

1.2 树脂预处理

取定量大孔吸附树脂,用体积分数 95%乙醇浸泡数小时,再用蒸馏水反复洗涤,除去醇溶性杂质直至无醇味,备用。

1.3 射干正丁醇萃取液的制备

取适量射干粉末于平底烧瓶,加入 9 倍量体积分数 70%乙醇,用功率为 180 W 的 45 kHz 超声波回流提取 60 min,过滤,滤液浓缩干燥,再分别用乙醚、乙酸乙酯、正丁醇进行索式抽提,正丁醇部分冷却,装入试剂瓶备用。

1.4 最大吸收波长的确定

精密量取样品溶液和标准品溶液各 0.3 mL,分别置于 100 mL 的量瓶中,加体积分数 70%乙醇稀释至刻度,摇匀。以体积分数 70%乙醇作空白,于紫外分光光度计上在 200~400 nm 波长范围内绘制吸收曲线。结果表明,样品和标准品均在(265.6±0.2) nm 波长处有最大吸收^[4]。

1.5 标准曲线的绘制

精密称取鸢尾苷标准品 3 mg,置于 100 mL 容量瓶中,用体积分数 70%乙醇溶解并定容,摇匀。精密量取上述标准液 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,以体积分数 70%乙醇定

容,摇匀,于 265.6 nm 处测定吸光度。以质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。结果表明,鸢尾苷质量浓度在 0.000 3~0.002 7 mg/mL 范围内符合比耳定律,线性回归方程为: $A = 0.029 9 C + 0.010 7$, $r = 0.999 8$ 。

1.6 相关的计算

采用分光光度法,测定上柱前后溶液在 265.6 nm 处的吸光度,计算吸附量。用不同吸脱剂洗脱吸附了定量鸢尾苷物质的树脂,测定洗脱液在 265.6 nm 处的吸光度,计算洗脱率,公式如下:

$$Q = (C_0 - C_s) \cdot V_1 / W$$

$$E = ((C_0 - C_s) / C_0) \times 100\%$$

$$Q_0 = C_x \cdot V_2 / W$$

$$R = (Q_0 / Q) \times 100\%$$

式中:Q 为吸附量(mg/mL);E 为吸附率;Q₀ 为洗脱量(mg/mL);R 为洗脱率;C₀ 为初始质量浓度(mg/L);C_s 为剩余质量浓度(mg/L);C_x 为洗脱液质量浓度(mg/L);V₁ 为原料液体积(L);V₂ 为洗脱剂体积(L);W 为树脂用量(mL)。

2 结果与讨论

2.1 静态吸附实验筛选树脂

大孔树脂对不同的物质具有不同的吸附性能,通过测定静态时树脂对鸢尾苷物质的吸附率来考察树脂对鸢尾苷物质的吸附容量,从而选择合适的树脂用于分离鸢尾苷物质。

选用 4 种已预处理好的不同大孔吸附树脂各 1 g 于 250 mL 的锥形瓶中,加入 50 mL 一定体积分数的正丁醇萃取液,在恒温摇床中恒温 28 ℃ 下以 100 r/min 振荡 24 h。分别测定吸附前后样品在 265.6 nm 处的吸光度,比较它们的饱和吸附量和吸附率的大小,结果见表 1。

表 1 不同树脂的饱和静态吸附量(24 h)

Tab. 1 The saturated absorption in static state of different resins (24 h)

| 树脂 | 类型 | 饱和吸附量(以树脂计)/(mg/g) | 吸附率/% |
|--------|---------|--------------------|-------|
| XDA-1 | 极性 | 9.956 | 83.48 |
| AB-8 | 弱极性 | 8.669 | 65.63 |
| LSA-5B | 活性高比表面积 | 9.617 | 78.45 |
| HPD600 | 极性 | 9.753 | 80.22 |

称取 4 种已预处理的大孔吸附树脂各 1 g 于 250 mL 的锥形瓶中,加入 50 mL 一定体积分数的正丁醇萃取液,28 ℃,恒温摇床 100 r/min,分别于 0、0.5、1、

2、4、8、24 h 取样测吸光度,计算吸附率^[5]。

由表 1 和图 1 可知,XDA-1 大孔吸附树脂对鸢尾苷物质吸附率最大,说明 XDA-1 大孔吸附树脂对鸢尾苷物质的吸附性能最好,因此选用 XDA-1 树脂进行后续实验。

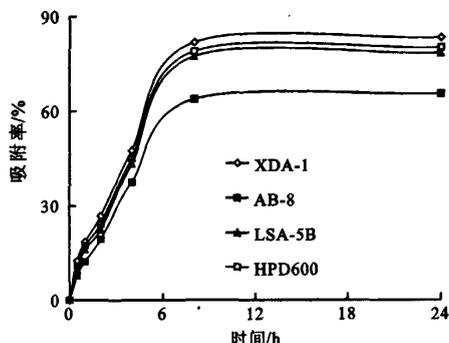


图 1 不同树脂的吸附曲线

Fig. 1 Adsorption curves of different resins

另取适量预处理好的 XDA-1 树脂置于锥形瓶中,加 50 mL 正丁醇萃取液,恒温振荡,定时取样测定在 265.6 nm 处的吸光度。

表 2 XDA-1 树脂的静态吸附时间与吸光度的关系

Tab. 2 The relation between the adsorbed time in static state and the absorbency

| 吸附时间/ min | $A_{265.6}$ | 吸附时间/ min | $A_{265.6}$ |
|--------------|-------------|--------------|-------------|
| 0 | 0.970 | 70 | 0.164 |
| 10 | 0.552 | 80 | 0.142 |
| 20 | 0.348 | 90 | 0.123 |
| 30 | 0.303 | 100 | 0.083 |
| 40 | 0.261 | 120 | 0.082 |
| 50 | 0.218 | 150 | 0.081 |
| 60 | 0.192 | 180 | 0.079 |

由表 2 可知,XDA-1 大孔吸附树脂静态吸附鸢尾苷物质的平衡时间较短,约 100 min 即可达到平衡,平衡后吸光度基本保持不变,因此可选用 XDA-1 树脂分离鸢尾苷物质。

2.2 正丁醇萃取液上柱条件

2.2.1 流量对 XDA-1 树脂吸附的影响 取适量预处理好的 XDA-1 树脂装柱 $D(2.5 \text{ cm} \times 60 \text{ cm})$,采用不同流速,将正丁醇萃取液上柱,每试管 5 mL 收集,测定试管中溶液在 265.6 nm 处的吸光度,考察不同体积流量对树脂吸附的影响。

由表 3 可知,泄漏点处体积数随着体积流量的增加而减小,体积流量过大时,大量来不及被树脂吸附就提早泄漏了,因此体积流量小有利于吸附,但体积流量过小耗时,且树脂再生困难,树脂寿命

降低。因此体积流量应控制在适宜的范围内,选择体积流量为 4 mL/min。

表 3 不同体积流量对 XDA-1 树脂吸附的影响

Tab. 3 The effect of different flow rates on the adsorption of XDA-1

| 体积流量/(mL/min) | 泄漏点/mL |
|---------------|--------|
| 2 | 145 |
| 4 | 110 |
| 6 | 80 |
| 8 | 60 |

2.2.2 萃取液中鸢尾苷物质质量浓度对 XDA-1 树脂吸附的影响 萃取液中鸢尾苷物质质量浓度对树脂吸附效率的高低是有影响的,如果质量浓度过高,那么树脂相和溶液相平衡后,溶液中的质量浓度也必然高,树脂吸附总量减少,树脂使用周期短;如果质量浓度偏低,则工作效率降低,树脂未得到有效利用。正丁醇萃取液中鸢尾苷物质质量浓度对 XDA-1 树脂吸附的影响见表 4。

表 4 萃取液中鸢尾苷物质质量浓度对 XDA-1 树脂吸附的影响

Tab. 4 The effect of mass concentrations of Tectoridin on the adsorption of XDA-1

| 初始质量浓度/ (mg/L) | 平衡质量浓度/ (mg/L) | 吸附率/ % |
|-------------------|-------------------|-----------|
| 12.64 | 7.47 | 69.21 |
| 16.84 | 9.42 | 78.77 |
| 19.32 | 10.53 | 83.48 |
| 21.06 | 12.38 | 70.11 |

由表 4 可知正丁醇萃取液中鸢尾苷物质质量浓度在 19.32 mg/L 时, XDA-1 树脂对其吸附率最大。

2.2.3 温度对 XDA-1 树脂吸附的影响 树脂吸附过程为放热过程,因而升高温度会降低吸附量,考察了温度对吸附性能的影响。

由表 5 可见,室温下对 XDA-1 树脂吸附性能影响不大,因而选择室温下吸附。

表 5 温度对 XDA-1 树脂吸附的影响

Tab. 5 The effect of temperature on the adsorption of XDA-1

| 温度/ °C | $A_{265.6}$ (吸附前) | $A_{265.6}$ (吸附后) | 吸附率/ % |
|-----------|----------------------|----------------------|-----------|
| 20 | 1.690 | 0.930 | 82.65 |
| 30 | 1.690 | 0.929 | 82.84 |
| 40 | 1.690 | 0.927 | 83.24 |

2.3 洗脱条件

2.3.1 静态洗脱试验选择洗脱剂 各取适量已平

衡的 XDA-1 树脂,分别加入 5 倍体积的蒸馏水、甲醇、乙醚、无水乙醇,振荡 4 h 后过滤,取滤液测定 265.6 nm 处吸光度^[6]。

表 6 不同洗脱剂的洗脱效果

Tab. 6 The elution effect of different eluants

| 洗脱剂种类 | 吸附量/(mg/mL) | 洗脱量/(mg/mL) | 洗脱率/% |
|-------|-------------|-------------|-------|
| 蒸馏水 | 0.381 5 | 0.001 5 | 0.39 |
| 甲醇 | 0.381 5 | 0.337 4 | 88.44 |
| 乙醚 | 0.381 5 | 0.337 7 | 88.51 |
| 无水乙醇 | 0.381 5 | 0.338 1 | 88.62 |

由表 6 可知,蒸馏水的洗脱能力最差,甲醇、乙醚和无水乙醇的洗脱效果相当,但考虑到安全性,因此选择乙醇作为洗脱剂并对不同体积分数乙醇的洗脱效果作进一步研究。

2.3.2 乙醇不同体积分数对洗脱效果的影响 乙醇溶液的体积分数从两个方面影响鸢尾苷物质在大孔树脂上的吸附。一方面,乙醇体积分数不同,乙醇溶液极性不同,影响鸢尾苷物质和大孔树脂间的分子作用力引起的吸附;另一方面,乙醇体积分数不同,影响鸢尾苷物质在乙醇中的溶解度。不同体积分数乙醇溶液影响鸢尾苷物质在大孔树脂上的解吸作用是两种作用相互竞争的结果(见图 2)。

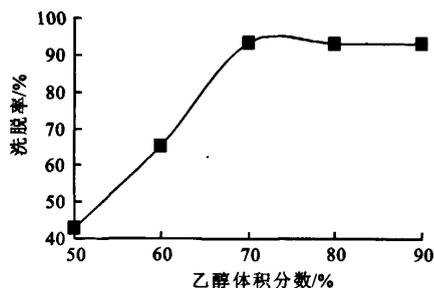


图 2 乙醇体积分数对洗脱效果的影响

Fig. 2 The effect of volume fractions of ethanol on the desorption

由图 2 可知,体积分数 50%、60%乙醇洗脱率较低,乙醇 70%~90%体积分数范围内洗脱率并没有明显的差异,洗脱率已达到 93%;同时高体积分数的乙醇容易挥发,造成溶剂的浪费,所以选用体积分数 70%乙醇为洗脱剂。

3 结 语

通过吸附柱层析静态吸附试验筛选出 XDA-1 大孔吸附树脂作为从射干正丁醇萃取液中分离纯化鸢尾苷物质的吸附剂。研究了正丁醇萃取液中鸢尾苷物质质量浓度、体积流量及温度对其吸附性能的影响。选取萃取液中鸢尾苷物质质量浓度为 19.32 mg/L,体积流量为 4 mL/min 时,在室温下进行吸附,该树脂对鸢尾苷物质的静态质量吸附率达到 83.48%。选用体积分数 70%乙醇溶液作为洗脱剂,洗脱率可达 93%。

参考文献(References):

- [1] 魏吉城,伊惠贤. 射干的研究概况[J]. 中草药,1996,27(12):743-745.
WEI Ji-cheng, YI Hui-xian. Survey from the researches on *Rhizoma belamcandae* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1996, 27(12): 743-745. (in Chinese)
- [2] 王红武,张明发. 射干对消化系统及实验性血栓的影响[J]. 中医药研究,1997,13(5):43.
WANG Hong-wu, ZHANG Ming-fa. The effects of *Rhizoma belamcandae* on digestive system and experiment thrombus [J]. *Research of Traditional Chinese Medicine*, 1997, 13(5): 43. (in Chinese)
- [3] 钟鸣,关旭俊,黄炳生,等. 中药射干现代研究进展[J]. 中药材,2001,24(12):904.
ZHONG Ming, GUAN Xu-jun, HUANG bing-sheng, et al. General research of *Rhizoma belamcandae* at Present [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2001, 24(12): 904. (in Chinese)
- [4] 王威,闫喜英,叶龙凤,等. 正交试验法优选射干提取工艺的研究[J]. 中成药,2000,22(4):260.
WANG Wei, YAN Xi-ying, YE Long-feng, et al. Study on optimum extraction process for *Rhizoma belamcandae* with orthogonal design [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2000, 22(4): 260. (in Chinese)
- [5] 钱竹,徐鹏,章克昌,丁重阳. 大孔树脂分离提取发酵液中灵芝三萜类物质[J]. 食品与生物技术学报,2006,25(6):111-115.
QIAN Zhu, XU Peng, ZHANG Ke-chang, et al. Extraction of ganoderic triterpenes from fermented broth by macroporous resin [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(6): 111-115. (in Chinese)
- [6] 陈向东,刘晓雯,吴梧桐. 灰树花多酚的提取和活性研究[J]. 食品与生物技术学报,2005,24(4):26-30.
CHEN Xiang-dong, LIU Xiao-wen, WU Wu-tong. Extraction and activities of polyphenol from *grifola frondosa* mycelium [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(4): 26-30. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)