

D101 型大孔树脂纯化鸡骨草总黄酮的工艺优选

廖春燕*, 杨欣绿

(广西工学院生物与化学工程系, 广西 柳州 545006)

[摘要] 目的: 优选 D101 型大孔吸附树脂纯化鸡骨草总黄酮的工艺条件。方法: 以芦丁为对照品, 采用紫外比色法测定总黄酮含量, 以吸附率和洗脱率为指标, 通过单因素试验考察对大孔树脂动态吸附和解吸条件。结果: 最佳工艺条件为上样质量浓度 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 上样流速 $3 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 2 BV 80% 乙醇为洗脱剂, pH 6.0, 洗脱流速 $3.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。鸡骨草黄酮纯度由 17.95% 提高到 52.80%。结论: D101 型大孔树脂对鸡骨草黄酮类物质有较好的纯化效果, 该优选的工艺简单可行。

[关键词] 鸡骨草; 总黄酮; D101 型大孔树脂; 吸附; 解吸; 纯化

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0038-03

Optimization of Purification Technology of Total Flavonoid from *Abrus cantoniensis* by D101 Macroporous Resin

LIAO Chun-yan*, YANG Xin-lv

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification technology conditions of total flavonoid from *Abrus cantoniensis* by D101 macroporous resin. **Method:** With rutin as reference, the content of total flavonoid was determined by UV colorimetry, with adsorption rate and desorption rate as indexes, conditions of absorption and desorption were investigated by single factor test. **Result:** The best technology conditions were as follows: the concentration of sample solution $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, sample flow rate $3 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, with 2 BV 80% ethanol as eluant, pH 6.0, elution flow rate $3.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$. Under these conditions, purity of total flavonoid was increased from 17.95% to 52.80%. **Conclusion:** D101 macroporous resin had good purification effect for total flavonoid from *A. cantoniensis*, optimized process was simple and feasible.

[Key words] *Abrus cantoniensis*; total flavonoid; D101 macroporous resin; absorption; desorption; purification

鸡骨草全草含生物碱、三帖皂苷类、黄酮类等化学成分^[1]。其中黄酮类的生理活性较强, 具有清除自由基、抗氧化、抗癌等作用, 近年来在医疗、保健及食品等方面被应用广泛^[2-6]。鸡骨草药用价值高、资源丰富, 但目前对鸡骨草总黄酮的研究较少。大孔吸附树脂具有吸附量多、易于操作、再生处理简单等优点, 被广泛用于粗纯化中草药有效成分, 尤其适

用于低极性或非极性的物质^[7-9]。通过对多种大孔树脂的初步筛选, 发现 D101 型大孔树脂对鸡骨草总黄酮的吸附及解吸附性能较强。本试验以芦丁为对照品, 通过单因素试验考察 D101 型大孔树脂纯化鸡骨草总黄酮的工艺条件, 为鸡骨草总黄酮的研究提供试验依据。

1 材料

ZHWY-110X 型水浴恒温摇床(上海智城分析仪器有限公司), AR124CN 型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司], UV-2000 型紫外-可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]。

鸡骨草产于广西南宁, 经广西工学院蒋世云教授鉴定为豆科植物广州相思子 *Abrus cantoniensis*

[收稿日期] 20120820(004)

[基金项目] 广西科技大学(筹)科学基金项目(校科自 1261103)

[通讯作者] *廖春燕, 讲师, 硕士, 从事药物提取与分离研究, Tel: 0772-2687033, E-mail: sophie0509@sohu.com

Hance 的干燥全株。D101 型大孔树脂(天津光复精细化工研究所),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0080-9705),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 鸡骨草提取液的制备 鸡骨草洗净烘干,粉碎,过 40 目筛。取鸡骨草粉末 10 g,加 20 倍量 60% 乙醇,置于 80 °C 恒温水浴中回流 2 次,每次 1 h,抽滤,取滤液于 70 °C 浓缩,即得,备用。

2.2 总黄酮的测定 准确称取芦丁对照品 10 mg 置于 50 mL 量瓶中,用 30% 乙醇溶液稀释至刻度。精密吸取 0.5,1.0,1.2,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0 mL,分别置于 10 mL 具塞刻度的比色管中,加 30% 乙醇至 5 mL,加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4% 氢氧化钠 2 mL,加 30% 乙醇至 10 mL,静置 15 min,于 510 nm 波长处测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标,芦丁质量浓度为横坐标,得线性回归方程 $A = 10.076C + 0.0038$ ($r = 0.9997$),表明芦丁在 0 ~ 0.08 g·L⁻¹ 与 A 呈良好线性关系。取样液 3 mL,按上述条件测定 A,计算样液中总黄酮的质量浓度。

2.3 大孔树脂纯化工艺考察 将处理好的 D101 型大孔树脂加入玻璃柱(D 1.5 cm,H 12 cm),加入供试品溶液 30 mL,收集流出液,测定总黄酮含量。分别按下式计算吸附率和洗脱率。

$$\text{吸附率} = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100\%$$

$$\text{洗脱率} = C_2 V_2 / (C_0 - C_1) V_1 \times 100\%$$

式中 C_0 为吸附液初始质量浓度; C_1 为吸附后样液中剩余的质量浓度; C_2 为洗脱液的质量浓度; V_1 为吸附液体积; V_2 为洗脱液体积。

2.3.1 上样液质量浓度考察 确定上样量 30 mL,上样流速 3 BV·h⁻¹,提取液的质量浓度分别为 1,2,3,4,5 g·L⁻¹,进行动态吸附,收集流出液,结果吸附率分别为 87.6%,88.6%,89.8%,86.3%,85.8%。说明吸附率随上样液质量浓度的增大先增加后减小。故确定上样液质量浓度 3 g·L⁻¹。

2.3.2 上样流速考察 取 3 g·L⁻¹ 鸡骨草总黄酮提取液 30 mL 进行动态吸附,调节上样流速分别为 0.5,2,2.5,3,4,5,9.5 BV·h⁻¹,收集流出液,结果吸附率分别为 91.33%,90.24%,89.78%,87.92%,83.44%,77.00%。说明上样流速越小越有利于吸附的进行。但当流速 < 3 BV·h⁻¹,吸附率随流速的减小而增加缓慢,变化不显著,且上样流速越小,耗时越长。故选择上样流速 3 BV·h⁻¹。

2.3.3 乙醇体积分数考察 按上述条件进行吸附

平衡后,加 4 BV 水冲洗柱子,分别用体积分数为 30%,50%,70%,80%,95% 的乙醇溶液进行洗脱,洗脱流速 3 BV·h⁻¹,收集洗脱液,测得洗脱率分别为 57.7%,77.1%,86.0%,90.0%,92.0%。说明洗脱率随乙醇体积分数的升高而增大。但当体积分数 > 80% 后,洗脱率增长较缓慢,且容易洗脱出其他杂质。故选择 80% 乙醇。

2.3.4 洗脱液 pH 考察 用 80% 乙醇溶液洗脱,洗脱流速为 3 BV·h⁻¹,调节 pH 分别为 2.0,3.0,4.0,6.0,8.0,10.0,收集洗脱液,计算洗脱率分别为 84.5%,82.9%,82.3%,81.7%,78.0%,21.0%。说明酸性 pH 对洗脱率影响不大,碱性 pH 对洗脱率影响随 pH 增大而显著下降。可能是因为 pH 对物质吸附的影响主要取决于化合物的酸碱度,黄酮类物质含有酚羟基,具有弱酸性,在酸性条件下以分子状态存在,主要以分子间力与树脂吸附,溶液为碱性时酚羟基离子化,与树脂间的分子间力下降。但 pH 较小时,对总黄酮有破坏性。故选 pH 6.0。

2.3.5 洗脱流速考察 以 pH 6.0 的 80% 乙醇为洗脱液,控制流速分别为 1.5,2.0,3.0,3.5,4.0,7.0 BV·h⁻¹,收集洗脱液,测得洗脱率分别为 83.4%,84.1%,84.3%,84.5%,82.9%,79.7%。说明洗脱率在 1.5 ~ 3.5 BV·h⁻¹ 变化不显著,之后随流速的增加洗脱率下降。故选择洗脱流速 3.5 BV·h⁻¹。

2.3.6 洗脱剂用量考察 用 pH 6.0 的 80% 乙醇洗脱,流速 3.5 BV·h⁻¹,分段收集洗脱液,每 0.2 BV 为 1 份,结果见图 1。总黄酮主要集中在 0.6 ~ 2 BV,在 2 BV 时,总黄酮基本已洗脱完全,无明显的拖尾现象。故选择洗脱剂体积为 2 BV。

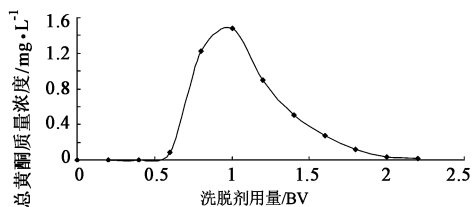


图 1 鸡骨草总黄酮 D101 型大孔树脂动态洗脱曲线

3 讨论

在考察上样液质量浓度对树脂吸附能力的影响时,质量浓度越高,洗脱时出现柱床堵塞、流速缓慢的情况越加严重。堵塞现象可能是因为提取液杂质太高影响树脂吸附性能引起的。考察洗脱条件时,发现洗脱率随乙醇体积分数的升高而升高;洗脱率在酸性条件下影响不大,但在碱性条件下影响显著。

木香中去氢木香内酯和木香炔内酯提取工艺优选

周广涛,高鹏,戴兵,代龙*
(山东中医药大学,济南 250355)

[摘要] 目的:优选木香中去氢木香内酯和木香炔内酯的提取工艺。方法:以木香炔内酯和去氢木香内酯提取率为指标,采用单因素试验考察提取方法;以木香炔内酯和去氢木香内酯提取率为指标,选取乙醇体积分数、料液比、提取时间及提取次数为考察因素,通过正交试验优选 2 种内酯的提取工艺。结果:最佳提取工艺为采用乙醇温浸法,加 6 倍量 90% 乙醇于 40 ℃ 温浸提取 2 次,每次 2 h。木香炔内酯提取率 92.3%,去氢木香内酯提取率 94.1%,得膏率 12.7%。结论:优选的提取工艺稳定可行,木香中 2 种内酯的提取率高,适用于工业大生产。

[关键词] 木香;木香炔内酯;去氢木香内酯;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0040-03

Optimization of Extracting Technology of Costunolide and Dehydrocostus Lactone from *Aucklandia lappa*

ZHOU Guang-tao, GAO Peng, DAI Bing, DAI Long*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extracting technology of costunolide and dehydrocostus lactone from *Aucklandia lappa*. **Method:** With extraction rate of costunolide and dehydrocostus as indexes, extraction method was screened by single factor test; With extraction rate of costunolide and dehydrocostus as indexes, orthogonal test was used to evaluate effect of 4 factors on extracting technology, including solid-liquid ratio, the concentration of ethanol, extraction time and times. **Result:** The best extraction method was ethanol warm immersion method,

[收稿日期] 20120907(016)

[第一作者] 周广涛,在读硕士,从事中药制剂工艺及质量标准研究,Tel:13405310860,E-mail:zgt880528@163.com

[通讯作者] *代龙,教授,从事中药新药开发及新剂型研究,Tel:0531-68684868,E-mail:dailongdailong@263.net

鸡骨草总黄酮提取液经大孔树脂纯化后,纯度从原提取液的 17.95% 提高至 52.80%,树脂纯化后总黄酮纯度提高了 2.94 倍。表明纯化效果较好。

[参考文献]

- [1] 陈晓白,莫志贤. 中药鸡骨草化学成分及药理性研究进展[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):79.
- [2] 张睿,徐雅琴,时阳. 黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品与机械,2003(1):21.
- [3] 鲁晓翔. 黄酮类化合物抗氧化作用机制研究进展[J]. 食品研究与开发,2012,33(3):220.
- [4] 黄华艺,查锡良. 黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国新药与临床杂志,2002,21(7):428.

- [5] 马洁桃,张岭,王茵. 黄酮类化合物的降脂活性及其作用机制的研究进展[J]. 中国预防医学杂志,2011,12(4):370.
- [6] 郭军,凌和平,李良俊,等. 园艺作物黄酮类化合物研究进展[J]. 江苏农业学报,2011,27(2):430.
- [7] 张旭,王锦玉,全燕,等. 大孔树脂技术在中药提取纯化中的应用及展望[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):286.
- [8] 于国峰,丁嘉信,王超,等. 红花总黄酮大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):39.
- [9] 王跃生,王洋. 大孔吸附树脂研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(12):961.

[责任编辑 全燕]