

巴戟天低聚果糖树脂法脱色的工艺考察

张华林, 杨红艳, 周中流, 林三清, 夏敬民*
(湛江师范学院化学科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

[摘要] 目的: 考察树脂法对巴戟天低聚果糖中所含色素的脱除能力。方法: 以脱色率、寡糖保留率为指标, 筛选合适树脂对巴戟天低聚果糖进行脱色, 采用单因素试验考察其静态及动态吸附工艺。HPLC-ELSD 测定耐斯糖含量。结果: 确定采用 D941 型树脂, 其最佳工艺条件为室温 (25 ℃) 下, 15 g·L⁻¹ 巴戟天寡糖溶液 (pH 5.88) 4 BV, 流速 4 BV·h⁻¹, 径高比 1:10。脱色率 92.54%, 寡糖保留率 82.76%, 耐斯糖质量分数由 22.46% 升高至 29.94%。结论: D941 型树脂对巴戟天低聚果糖具有良好的脱色能力。

[关键词] 巴戟天; 低聚果糖; 耐斯糖; 树脂; 脱色

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0035-05

Investigation of Decolorization Process for Fructo-oligosaccharide from *Morinda officinalis* by Resin Adsorption

ZHANG Hua-lin, YANG Hong-yan, ZHOU Zhong-liu, LIN San-qing, XIA Jing-min*
(Chemistry Science and Technology School, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang 524048, China)

[Abstract] **Objective:** To study on elution property of pigment contained in fructo-oligofructose from *Morinda officinalis* suitable by resin adsorption. **Method:** With decolorization rate and retention rate of oligosaccharide as indexes, suitable resin was chosen, and static and dynamic adsorption tests were carried out to investigate decolorization effect of fructo-oligofructose from *M. officinalis* by single factor test. The content of nystose was determined by HPLC-ELSD. **Result:** D941 resin was chosen, optimum technology conditions were as follows: room temperature (25 ℃), oligosaccharide solution 4 BV (pH 5.88, 15 g·L⁻¹), flow rate 4 BV·h⁻¹, diameter high ratio 1:10. Under these conditions, decolorization rate and retention rate of oligosaccharide were 92.54%, 82.76%, respectively, and the content of nystose increased from 22.46% to 29.94%. **Conclusion:** D941 resin had good decolorization effect on fructo-oligofructose from *M. officinalis*.

[Key words] *Morinda officinalis*; fructo-oligofructose; nystose; resin; decolorization

巴戟天为四大南药之一, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效, 临床中用于治疗阳痿遗精、宫冷不

孕、月经不调、风湿痹痛、筋骨痿软等^[1], 同时作为药食同源的高级滋补品在民间广泛使用, 以药材熬汤、炖肉等作为药膳进补。其主要活性成分有寡糖、多糖、蒽醌、环烯醚萜苷等^[2], 其中巴戟天寡糖主要为菊糖型低聚果糖^[3], 具有抗抑郁^[4-5]、促进血管新生^[6]、抗心肌缺血再灌注损伤^[7]、促进精子生成^[8]等生理活性。由于水溶性多糖的大量存在, 巴戟天低聚果糖主要采用高体积分数的乙醇进行提取, 所得提取物除了含寡糖外, 还有环烯醚萜苷、蒽醌等成分, 外观呈现深黑色, 需要进一步的脱色纯化处理。目前文献报道的脱色方法包括有机溶剂分级萃取^[6]、活性炭脱色^[8]、高效液相 ODS 色谱柱分离^[9]、

[收稿日期] 20120808(006)

[基金项目] 湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目(湛科[2010]174号); 湛江师范学院博士专项(ZL1008)

[第一作者] 张华林, 博士, 讲师, 从事天然药物有效成分研究, Tel: 0759-39943043, E-mail: zhanghualin303@163.com

[通讯作者] *夏敬民, 学士, 教授, 从事天然药物药效评价研究, Tel: 0759-39943043, E-mail: xiajingmin88@163.com

凝胶色谱柱分离^[10]等。有机溶剂萃取存在溶剂残留且存在生产安全风险,活性炭脱色后除碳工艺操作繁琐,ODS 色谱柱、凝胶填料色谱柱分离价格昂贵,都不利于巴戟天低聚果糖的开发及产业化生产。而大孔树脂具有吸附容量大、吸附速度快、工艺操作简便、能减少有机溶剂的使用等诸多优点,目前已被广泛应用于多糖的脱色除杂^[11-13]。本试验通过筛选大孔树脂型号,并研究其关键工艺参数,建立采用树脂对巴戟天低聚果糖进行脱色的工艺技术,巴戟天低聚果糖的研究与开发提供实验依据。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU,LCsolution 色谱工作站,Alltech 3300 型蒸发光散射检测器),TU-1810 系列紫外-可见分光光度计(北京通用仪器设备公司),AL204 型电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO),PHS-3C 型 pH 计(上海精密雷磁公司),巴戟天药材采购于广东省德庆县,经中山大学药学院杨得坡教授鉴定为 *Morinda officinalis* How 的干燥根。耐斯糖对照品(纯度 $\geq 98\%$,南京泽朗医药科技有限公司,批号 13133-07-8-021),果糖对照品(纯度 99.8%,阿拉丁试剂公司,批号 57-48-7-200802),树脂均购自山东鲁抗树脂厂,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 巴戟天寡糖的提取^[8] 巴戟天药材低温干燥,粉碎成粗粉,用乙酸乙酯加热回流提取 3 次,每次 2 h,滤过,弃去滤液。滤渣挥干溶剂后加 80% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,滤过,收集滤液,除去溶剂,浓缩,冷冻干燥,即得巴戟天寡糖提取物。

2.2 脱色率的测定 称取适量巴戟天寡糖提取物,加水配置成 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液。取经过树脂脱色前、后的巴戟天寡糖溶液各 1 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加水稀释、定容,作为供试品溶液。采用紫外分光光度法于 200~800 nm 扫描。结果显示脱色前巴戟天寡糖在 200~400 nm 处有紫外吸收,尤其在 230 nm 处有一个明显的吸收峰;经过树脂脱色后,巴戟天寡糖溶液由黑色变成无色,全波长图谱也发生明显改变,呈趋于没有紫外吸收的平缓基线,230 nm 处的吸收峰消失。故选择 230 nm 为脱色率检测波长。

$$\text{脱色率} = (A_1 - A_2) / A_1 \times 100\%$$

A_1 为脱色前吸光度, A_2 为脱色后吸光度。

2.3 寡糖保留率的测定

^[14]

2.3.1 对照品溶液 精密称取果糖对照品适量,加

水溶解,制备成 0.01,0.02,0.03,0.04,0.05 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 巴戟天寡糖提取物加水配置成 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液。取经过树脂脱色前、后的巴戟天寡糖溶液各 0.1 mL,分别置于 50 mL 量瓶中,加水稀释并定容,即得。

2.3.3 方法学考察 对照品溶液及供试品溶液采用硫酸-苯酚法显色,于 490 nm 处测定 A。以果糖质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得标准曲线 $Y = 7.6518X + 0.1989$ ($R^2 = 0.9995$),线性范围 0.01~0.05 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。取供试品溶液进行精密度试验、稳定性试验(12 h)、重复性试验及加样回收率试验,结果 RSD 分别为 0.86%,1.03%,1.24%,2.79%。

$$\text{寡糖保留率} = M_2 / M_1 \times 100\%$$

M_1 和 M_2 分别为脱色前、后寡糖质量。

2.4 耐斯糖含量测定^[15] 耐斯糖为四聚糖,巴戟天低聚果糖的代表性成分,《中华人民共和国药典》2010 年版一部巴戟天药材标准将其列为含量测定的分析指标。本试验采用 HPLC-ELSD 检测巴戟天寡糖经树脂脱色前、后耐斯糖含量。Inertsil ODS-3 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm),流动相水-甲醇(97:3),流速 0.7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 25 $^\circ\text{C}$,进样量 20 μL ,漂移管温度 70 $^\circ\text{C}$,载气为氮气,增益倍数 8。

2.5 树脂的静态吸附试验

2.5.1 树脂的筛选 取各树脂 1.0 g 置于锥形瓶中,分别加入 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液 15 mL,室温下置于摇床(100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)振荡 12 h。滤过,离心,取上清液测定、计算脱色率及寡糖保留率。结果显示阴离子树脂的脱色率最高,表明巴戟天寡糖里的色素容易被阴离子树脂吸附(表 1)。综合考虑脱色率及寡糖保留率 2 个指标,确定选用 D941 型树脂。

2.5.2 吸附时间对脱色效果的影响 取 D941 型树脂 1.0 g 置于锥形瓶中,共 6 份,分别加入 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液 15 mL,室温下置于摇床分别振荡 1,2,3,5,7,9 h,考察不同吸附时间对脱色效果的影响。结果显示脱色率在 3 h 时达最大后保持平稳,而寡糖保留率的变化比较平缓(图 1)。确定最佳吸附时间为 3 h。

2.5.3 pH 对脱色效果的影响 取 D941 型树脂 1.0 g 置于锥形瓶中,共 6 份,分别加入 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液 15 mL,pH 分别为 3,5,6,7,8,9,室温下置于摇床分别振荡 3 h,考察 pH 对脱色效果的

表1 不同类型大孔树脂对巴戟天寡糖的脱色能力比较 /%

型号	类型	脱色率	寡糖保留率
D941	阴离子交换树脂	88.66	83.32
D202	阴离子交换树脂	82.54	78.46
D261	阴离子交换树脂	80.25	77.84
D296	阴离子交换树脂	76.58	80.95
D301	阴离子交换树脂	65.79	79.64
NKA-9	阳离子交换树脂	9.76	72.43
D61	阳离子交换树脂	8.54	67.68
HPD417	阳离子交换树脂	6.35	59.41
HPD826	阳离子交换树脂	6.81	54.84
D152	阳离子交换树脂	5.53	60.36
D001	阳离子交换树脂	4.56	64.87
DM130	弱极性大孔吸附树脂	9.98	92.63
D101	非极性大孔吸附树脂	7.85	95.59

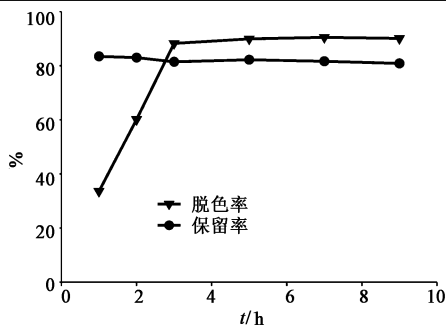


图1 吸附时间对巴戟天寡糖溶液脱色效果的影响

影响。结果显示寡糖保留率随 pH 的增大变化不明显,脱色率呈现先增大后变小的趋势,pH 6 时达到最大(图2)。巴戟天寡糖溶液的原液 pH 5.88,故可选择巴戟天寡糖溶液原液直接上样。

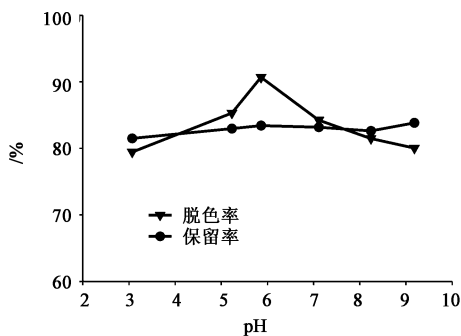


图2 巴戟天寡糖溶液 pH 对脱色效果的影响

2.5.4 温度对脱色效果的影响 取 D941 型树脂 1.0 g 置于锥形瓶中,共 5 份,分别加入 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液 15 mL,分别置于 20,25 (室温),30,35,40 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下,摇床振荡 3 h,考察不同温度对脱色效果的影响。结果脱色率分别为 88.36%,89.74%,90.86%,91.62%,92.81%;寡糖保留率分别为 82.62%,81.17%,82.53%,83.95%,82.46%。

说明脱色率随温度的升高而轻微的增大,寡糖保留率则呈不规则的轻微变化。故选择室温条件下进行吸附。

2.5.5 寡糖溶液用量对脱色效果的影响 取 D941 型树脂 1.0 g 置于锥形瓶中,共 5 份,分别加入 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 巴戟天寡糖溶液 10,15,20,30,40 mL,室温下置于摇床振荡 3 h,考察寡糖溶液用量对脱色效果的影响。结果脱色率分别为 90.99%,89.74%,72.86%,56.72%,37.84%;寡糖保留率分别为 85.53%,82.84%,82.62%,81.17%,80.44%,说明随寡糖溶液用量的增加,脱色率呈降低的趋势,尤其在寡糖溶液用量超过 15 mL 时骤然降低,说明寡糖溶液的用量超出了树脂的处理能力;而寡糖保留率呈平缓降低趋势。故 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 寡糖溶液 15 mL 是 1.0 g 树脂的最大处理量。

2.6 树脂的动态吸附试验 在静态吸附工艺参数研究的基础上,进行动态吸附工艺研究。取 D941 型树脂 10 g 湿法装柱,径高比 1:10。

2.6.1 流速对脱色效果的影响 取 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 巴戟天寡糖溶液 200 mL,共 6 份,分别以流速 1,2,3,4,5,6 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 进行吸附,考察流速对脱色效果的影响。结果显示随流速的增加,脱色率在流速 1~4 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 呈平缓降低,超过 4 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 时骤然降低,而寡糖保留率呈平缓升高的趋势(图3)。故此选择流速 4 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

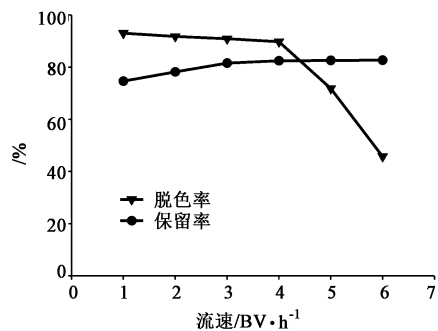


图3 流速对巴戟天寡糖溶液脱色效果的影响

2.6.2 寡糖溶液质量浓度考察 取质量浓度分别为 5,10,15,20,25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖溶液各 200 mL,以流速 4 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 进行吸附,考察寡糖溶液浓度对脱色效果的影响。结果脱色率分别为 90.74%,89.86%,88.23%,63.81%,44.69%;寡糖保留率分别为 81.17%,81.53%,80.44%,72.53%,67.88%。说明脱色率及寡糖保留率在 5~15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 变化不大,超过 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时骤然降低。故确定寡糖溶液质量浓度 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6.3 上样量考察 取 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 巴戟天寡糖溶液 300 mL,以流速 $4\text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 进行吸附,每 0.5 BV 流出液收集 1 次,考察寡糖溶液用量对脱色效果的影响。结果显示脱色率先有轻微降低,当收集到第 8 试管(即 4 BV)时降低明显,此时收集的流出液颜色显著加深,说明超过了树脂的脱色处理能力;寡糖保留率先轻微升高,当收集到第 8 试管时则明显降低,说明此时对寡糖有一定的吸附截留作用(图 4)。

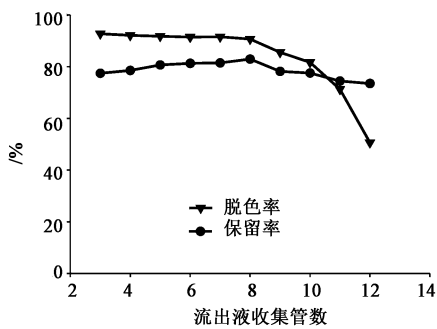


图 4 上样量对巴戟天寡糖溶液脱色效果的影响

2.6.4 验证试验 按上述确定的工艺参数进行 5 次验证试验。结果平均脱色率 $(92.54 \pm 1.06)\%$,寡糖保留率 $(82.76 \pm 1.29)\%$,耐斯糖含量由未脱色前 22.46% 增加到 $(29.94 \pm 2.32)\%$,表明该工艺的脱色除杂效果明显,重复性良好。

3 讨论

巴戟天寡糖提取物中色素有紫外吸收,故需通过全波长扫描来确定吸收波长。此外巴戟天寡糖属于菊淀粉型果糖,果糖量占绝对优势,故此采用果糖为对照品进行寡糖含量的测定。

阴离子交换树脂的脱色效果优于其他类型树脂,说明巴戟天寡糖溶液中存在阴离子色素,可通过离子交换的方式被树脂吸附。D941 型树脂在巴戟天寡糖溶液偏酸性条件下脱色效果最佳,可能在该条件下除了离子交换途径外某些色素通过疏水力结合的方式被吸附^[14]。碱性或酸性条件下,可能改变了色素分子的理化性质以及与树脂形成氢键的能力,从而影响脱色效果^[16]。

通过工艺比较发现静态吸附工艺为 1 g 树脂 3 h 内处理 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天寡糖液 15 mL;动态吸附工艺为 10 g 树脂 1 h 内处理同样浓度的巴戟天寡糖液 200 mL,说明动态工艺较优。

巴戟天根中寡糖含量丰富,可达根干物质质量的 10%^[17]。然而少量环烯醚萜苷、蒽醌等色素的存在,使巴戟天寡糖呈现深黑色,脱色除杂是开发巴戟天寡糖的重要环节。采用树脂法对巴戟天寡糖脱

色,脱色率 $>90\%$,寡糖保留率 $>80\%$,且耐斯糖含量脱色后有明显提高,表明 D941 型树脂具有良好的脱色效果。与有机溶剂分级萃取、活性炭脱色等传统脱色除杂方法比较,树脂法更有利于巴戟天寡糖的工业化生产。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:75.
- [2] 王欣,徐勇,梁丽敏. 巴戟天功能因子研究进展[J]. 中国食品添加剂,2007,85(6):92.
- [3] Yang Z M, Hu J, Zhao M Y. Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of *Morinda officinalis* [J]. Carbohydr Polym, 2011, 83(4):1997.
- [4] 蔡兵,崔承彬,陈玉华,等. 中药巴戟天中菊淀粉型低聚糖类单体成分对小鼠的抗抑郁作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,1996,10(2):109.
- [5] Li Y F, Liu Y Q, Yang M, et al. The cytoprotective effect of inulin-type hexasaccharide extracted from *Morinda officinalis* on PC12 cells against the lesion induced by corticosterone [J]. Life Sci, 2004, 75(3):1531.
- [6] 杨景柯,冯国清,于爽,等. 巴戟天寡糖促进鸡胚绒毛尿囊膜血管生成研究[J]. 中国药理学杂志,2010,35(3):360.
- [7] 杨景柯,冯国清,于爽,等. 巴戟天寡糖对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2010,45(5):792.
- [8] 丁平,梁英娇,刘瑾,等. 巴戟天寡糖对小鼠精子生成作用的研究[J]. 中国药理学杂志,2008,43(19):1467.
- [9] 姚令文,王钢力,林瑞超. 巴戟天中菊淀粉型五聚糖的分离与制备[J]. 药物分析杂志,2009,29(10):1665.
- [10] 韩笑,杨明,崔承彬. 高效液相色谱法定量测定巴戟天中菊淀粉型寡糖的含量[J]. 军事医学,2011,35(4):296.
- [11] 李厚兵,任爱农,邹义芳. 大孔吸附树脂纯化野菊花多糖工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):49.
- [12] 李奇豫,张贵君,李素丽,等. 桂蚕沙多糖组分的制备与 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):113.
- [13] 冯承恩,田素英. 金樱根多糖的制备及其体内抗肿瘤作用初探[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):209.
- [14] 李丹丹,金征宇. 牛蒡菊糖脱色工艺的研究[J]. 农业工程学报,2007,23(8):241.

正交试验优化骨炎消巴布剂的基质处方

徐剑, 郑曙光*

(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 优选骨炎消巴布剂的基质配方。方法: 采用正交设计, 选取聚丙烯酸钠(NP-700), 羧甲基纤维素钠(CMC-Na), 丙三醇和二氧化钛的用量为考察因素, 以初黏力、持黏力、综合感官的综合评分为指标, 优化骨炎消巴布剂的基质处方。结果: 优选的基质处方为 NP-700 3 g, CMC-Na 0.6 g, 丙三醇 16 g, 二氧化钛 0.8 g。结论: 按优选的基质处方制得的骨炎消巴布剂外观、黏附性良好。

[关键词] 骨炎消巴布剂; 正交设计; 基质处方

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0039-03

Optimization of Matrix Prescription for Guyanxiao Catapasm by Orthogonal Test

XU Jian, ZHENG Shu-guang*

(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize matrix prescription of Guyanxiao catapasm. **Method:** Matrix prescription was optimized by orthogonal test with initial viscosity, sustained adhesive strength and general sensory as comprehensive evaluation index, the amount of NP700, CMC-Na, glycerol and titania were chosen as factors. **Result:** Optimal matrix prescription was: NP-700, CMC-Na, glycerol and titania of 3, 0.6, 16, 0.8g, respectively. **Conclusion:** Guyanxiao catapasm with good appearance and adhesion could be prepared by optimized matrix formulation.

[Key words] Guyanxiao catapasm; orthogonal design; matrix formulation

骨炎消巴布剂是由苗医熏蒸验方改剂型而来, 由大血藤、鸡血藤、飞龙掌血等药味组成, 该验方为民间收集, 在黔南、黔东南地区长期应用, 现为贵阳中医学院附属医院经验方, 临床主要用于风湿痹痛、

半身不遂, 主治骨性关节炎、股骨头坏死等, 由于采用熏蒸的方式在临床使用不便, 且处方量较大, 故结合原方用药特点及给药途径等因素, 将其剂型改良成巴布剂。在预试验基础上, 本试验对巴布剂基质

[收稿日期] 20120805(004)

[基金项目] 贵州省中药现代化专项(黔科合中药字[2011]5013号); 贵阳市中药现代化专项([2010]筑科农合同字第1-中13号); 贵阳科技创新公共技术平台项目(2010筑科合同字第3-2)

[第一作者] 徐剑, 硕士, 副教授, 从事中药制剂研究, Tel:0851-5652056, E-mail:tw8489@126.com

[通讯作者] * 郑曙光, 主任医师, 硕士生导师, 从事中医基础、临床及民族医药研究, Tel: 13511924878, E-mail: zhshguang6610@sina.com

[15] 李咏华, 黄裕, 杨中铎, 等. 高效液相色谱法测定巴戟天中低聚糖含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(11):1797.

[16] 罗玺, 唐庆九, 张劲松, 等. 灵芝多糖树脂法脱色工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(16):5.

[17] Yang Z M, Yi Y T, Gao C C, et al. Isolation of inulin-type oligosaccharides from Chinese traditional medicine: *Morinda officinalis* How and their characterization using ESI-MS/MS [J]. J Separ Sci, 2010, 33(1):120.

[责任编辑 全燕]