

# 大孔吸附树脂分离杭白菊中总黄酮的工艺优选

付艳丽, 宋红\*, 童志平, 王思文, 曾峥, 周许  
(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 611756)

**[摘要]** 目的: 优选分离杭白菊中总黄酮的最佳树脂型号及工艺条件。方法: 以总黄酮为指标, 紫外分光光度法测定总黄酮含量, 考察 HPD100, DM130, D101, AB-8 等不同型号大孔树脂对杭白菊中总黄酮的吸附和解吸性能, 筛选最佳大孔树脂型号, 并优选其分离工艺条件。结果: AB-8 型大孔树脂吸附容量和解吸率均最大, 分别为  $44.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 87.9%。当供试液总黄酮质量浓度在  $12.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 于  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  下吸附 1 h, 用 95% 乙醇进行解吸, 可较好地对抗白菊中总黄酮进行吸附分离。结论: AB-8 型大孔树脂适用于杭白菊中总黄酮的吸附分离。

**[关键词]** 大孔树脂; 菊花; 总黄酮; 吸附; 分离

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0053-03

## Optimization of Purification Technology for Total Flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* by Macroporous Resin

FU Yan-li, SONG Hong\*, TONG Zhi-ping, WANG Si-wen, ZENG Zheng, ZHOU Xu  
(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 611756, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize macroporous resin for purifying total flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* and its technology conditions. **Method:** Using the content of total flavonoids as index which was determined by UV spectrophotometry, adsorption and desorption performance of HPD100, DM130, D101, AB-8 four macroporous resins for total flavonoids from *C. morifolium* were investigated, in order to screen optimum macroporous resin and optimize its separation technology conditions. **Result:** Adsorption capacity and desorption rate of AB-8 was the most in these resins, values were  $44.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and 87.9%, respectively. Optimum

**[收稿日期]** 20120509(004)

**[第一作者]** 付艳丽, 本科, 从事天然药物分离纯化的研究, Tel: 15196630407, E-mail: 977692815@qq.com

**[通讯作者]** \* 宋红, 硕士, 高级工程师, 从事药物化学的研究, Tel: 13198519306, E-mail: songho008@163.com

患在使用上更方便。故将鲜药材制备成配方颗粒无疑是解决鲜药材临床缺断货的重要途径, 具有可观的发展前景。

### [参考文献]

- [1] 马红, 龚婕宁. 论《温病条辨》中地黄之运用[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 348.
- [2] 梁爱华, 薛宝云, 王金华, 等. 鲜地黄与干地黄止血和免疫作用比较研究[J]. 中国中药杂志, 1992, 24(11): 663.
- [3] 董诚明, 李增光, 李汉伟. 地黄常见品种“温 85-5”性状变异研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 99.

- [4] 崔景朝, 赵自明. 中药配方颗粒研究进展(I)——文献综合分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 235.
- [6] 伍小燕, 龚敏阳, 孙翠, 等. 抗复感颗粒的成型工艺研究[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(20): 1728.
- [7] 程敏. 心脑血管通胶囊成型工艺研究[J]. 现代中医药, 2006, 26(6): 48.
- [8] 刘中秋, 周华, 苏子仁, 等. 生脉成骨胶囊制剂工艺成型工艺研究[J]. 中成药, 1998, 20(4): 2.
- [9] 郝近大. 国内鲜药研究的状况与展望[J]. 中国新药杂志, 2001, 10(12): 896.

[责任编辑 仝燕]

separation technology was: the content of total flavonoids from sample solution  $12.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , desorption time 1 h at  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 95% ethanol as eluent. **Conclusion:** AB-8 resin was suitable for adsorption and separation of total flavonoids from *C. morifolium*.

[ **Key words** ] macroporous resin; *Chrysanthemum morifolium*; total flavonoids; adsorption; separation

菊花具有疏风、明目解毒的功效,临床上用于治疗高血压和冠心病<sup>[1]</sup>。菊花中所含黄酮类成分主要有金合欢素-7-O-β-D-葡萄糖苷、芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷等<sup>[2]</sup>,具有抗炎、抗病毒、抗真菌、抗疟疾、降血脂等药理活性<sup>[3]</sup>,对抑制肿瘤、延缓衰老及增强人体免疫力有一定功效<sup>[4]</sup>。

大孔树脂是一种不溶于酸、碱及各种有机溶剂的有机高分子聚合物,具有吸附容量大、吸附速度快、解吸条件温和、易于再生等优点。黄酮类化合物具有多酚结构,依靠大孔吸附树脂与其之间的范德华力进行吸附,可取得良好分离纯化效果,近年来已广泛应用于黄酮类化合物等植物活性成分的提取和分离,尤其适于工业化生产<sup>[5]</sup>。本文以杭白菊中黄酮类化合物为研究对象,考察 HPD100, DM130, D101, AB-8 型号等大孔树脂对杭白菊中总黄酮的吸附解吸性能,旨在筛选出适合分离杭白菊中总黄酮的大孔树脂,为优选树脂吸附分离杭白菊中总黄酮的应用提供试验依据。

### 1 材料

722 型光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司), DF101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市峪予华仪器厂), BS110S 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司), 杭白菊(四川省中药饮片有限责任公司,经西南交通大学生命科学与工程学院宋良科副教授鉴定为菊花 *Chrysanthemum morifolium* Ramat 的干燥头状花序, HPD100, DM130, D101, AB-8 型大孔树脂(沧州宝恩化工有限公司), 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200707), 试验所用试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 大孔树脂的预处理**<sup>[6]</sup> 将 HPD100, DM130, D101, AB-8 4 种型号树脂用 95% 乙醇浸泡 24 h, 充分溶胀,用 95% 乙醇洗至洗出液加适量水无白色浑浊现象,用水洗至无醇味后备用。

**2.2 对照品溶液的配制** 精密称取芦丁对照品 12.5 mg,置 25 mL 量瓶中,加适量 60% 乙醇使其充分溶解并定容至刻度,摇匀,即得  $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液。

**2.3 样品溶液的制备**<sup>[7]</sup> 准确称取 10 g 杭白菊,剪碎,放入 250 mL 圆底烧瓶中,加入 60% 乙醇 150 mL,回流 1 h,提取 3 次,药渣用 60% 乙醇洗涤 2~3 次,并入滤液,放冷,定容至 500 mL 量瓶中,摇匀,待用。

### 2.4 总黄酮的含量测定

<sup>[8]</sup>

**2.4.1 标准曲线的绘制** 精密量取芦丁对照品溶液 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 4% 氢氧化钠溶液 10.0 mL,加水到刻度,摇匀,放置 15 min,以相应试剂溶液为空白,在 510 nm 处测量吸光度(A),以对照溶液质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程  $A = 0.044C + 0.0061$  ( $r = 0.9997$ ),芦丁的线性范围 0.75~1.75 mg。

**2.4.2 样品测定** 精密量取 5.0 mL 样品溶液于 25 mL 量瓶中,按 2.4.1 项下方法测定 A,根据标准曲线方程计算样品中总黄酮含量。

**2.5 树脂吸附容量测定**<sup>[9-10]</sup> 准确称取预处理好的不同树脂 3 g,分别置于 100 mL 具有磨塞锥形瓶中,加 30 mL 样品液,室温下用磁力搅拌器搅拌 1 h,静置 24 h 使其吸附饱和,过滤。取滤液 5 mL 于 25 mL 量瓶中,测定滤液中剩余总黄酮的含量,计算树脂吸附容量,结果见表 1。

表 1 4 种大孔树脂对抗白菊中总黄酮的静态吸附容量

树脂型号	样品液质量 浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	吸附液质量 浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	吸附容量 $/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
HPD100	15.12	10.94	41.8
DM130	15.12	12.60	25.2
D101	15.12	13.71	14.1
AB-8	15.12	10.63	44.9

注:吸附容量 = (原液质量浓度 × 原液体积 - 吸附液质量浓度 × 吸附液体积) / 干树脂质量。

**2.6 树脂静态解吸率测定**<sup>[11]</sup> 取上述吸附饱和的树脂,加入 95% 乙醇 30 mL,室温下进行解吸。用磁力搅拌器搅拌 1 h,静置 24 h,过滤。取滤液 5 mL 于 25 mL 量瓶中,测定解吸后乙醇溶液中总黄酮含量分别为 3.31, 1.49, 0.96, 3.95  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,树脂解吸率依

次为 79.2% ,59.4% ,68.1% ,87.9%。

解吸率 = (解吸液质量浓度 × 解吸液体积) / (吸附容量 × 干树脂质量)

4 种树脂中 AB-8 型树脂对菊花总黄酮的吸附量和解吸率均最大,说明 AB-8 树脂对菊花总黄酮不仅吸附能力强,而且容易洗脱,较其他 3 种树脂更适合用于分离纯化菊花总黄酮,故本试验确定选用 AB-8 型大孔树脂分离杭白菊中总黄酮,其分离工艺有待于进一步考察。

## 2.7 大孔树脂分离工艺优选

**2.7.1 温度考察** 分别称取 5 份 AB-8 树脂,每份 3 g,置于 5 个小烧杯中,分别加入 30 mL 样品溶液,设定恒温磁力搅拌器的温度分别为 17(室温),25,30,40,50 ℃,搅拌吸附 1 h,按 2.4.1 项下方法测定 A,计算树脂吸附容量分别为 44.9,48.5,49.7,44.8,40.0 mg·g<sup>-1</sup>,故选择 30 ℃。

**2.7.2 上样液质量浓度考察** 取样品液分别置于 5 个烧杯中,每份 30 mL,将其稀释成总黄酮质量浓度分别为 6.48,10.08,10.80,12.60,15.12 g·L<sup>-1</sup>,分别称取 5 份 AB-8 树脂置于烧杯中,每份 3 g,将恒温磁力搅拌器的温度为 30 ℃,恒温搅拌吸附 1 h,按 2.4.1 项下方法测定 A,计算树脂吸附容量分别为 42.6,42.4,43.6,45.9,44.9 g·L<sup>-1</sup>,12.6 g·L<sup>-1</sup> 的药业吸附容量最大。

**2.7.3 解吸时间考察** 取吸附饱和的 AB-8 树脂,加入 95% 乙醇 30 mL,室温下进行解吸,用磁力搅拌器搅拌 0.5,1,1.5,2 h 及搅拌 1 h 后静置 24 h,过滤,取滤液 5 mL 于 25 mL 量瓶中,测定解吸后乙醇溶液中总黄酮的含量,计算树脂解吸率分别为 51.7% ,86.8% ,86.1% ,87.3% ,87.9% ,95% 乙醇的解吸。

**2.7.4 乙醇体积分数的考察** 取吸附饱和 AB-8 树脂,用体积分数分别为 50% ,60% ,70% ,80% ,95% 的乙醇进行解吸。用磁力搅拌器搅拌 1 h,过滤,取滤液 5 mL 于 25 mL 量瓶中,测定解吸后乙醇溶液中总黄酮的含量,计算树脂解吸率依次为 68.1% ,68.4% ,68.6% ,70.6% ,87.9% ,95% 乙醇的解吸效果最佳。

## 3 讨论

当温度 < 30 ℃ 时,随温度的升高 AB-8 型树脂

的吸附性能增强,当温度 > 30 ℃ 时,随温度的升高 AB-8 型大孔树脂的吸附性能降低,说明 AB-8 树脂在 30 ℃ 时对杭白菊中总黄酮的吸附最好。样品液总黄酮质量浓度 12.60 g·L<sup>-1</sup> 时,AB-8 树脂的吸附效果最好。解吸时间 > 1 h 解吸过程基本达到平衡,再延长对解吸率的提高并不大,静置 24 h 对解析率影响也不大,当乙醇体积分数较低(≤ 70%) 时,乙醇体积分数对 AB-8 型树脂的解吸结果影响不大,但此时解吸率较低,当乙醇体积分数 > 80% 时,对 AB-8 型树脂的解吸结果有影响,且随乙醇体积分数的增大,解吸率增大。本实验优选的工艺成本低、安全、环保,适合工业化大生产。本研究的不足之处在于菊花黄酮含量测定方法较单一,有待改进。

## [参考文献]

- [1] 张清华,张玲. 菊花化学成分及药理作用的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(18):60.
- [2] 黄亚非,张永明,陶玲,等. 广东野菊花挥发油的化学成分[J]. 分析测试学报,2001,20(6):40.
- [3] 邵华,南蓬. 微甘菊花挥发油成分分析[J]. 中药材,2001,24(5):341.
- [4] 王芸芸,刘利军. AB-8 大孔树脂分离纯化甘草总黄酮[J]. 化学与生物工程.2011,2(28):81.
- [5] 卞庆亚,刘金权,罗崇念. 江苏产白菊花总黄酮纯化工艺研究[J]. 中药材,2009,32(11):1766.
- [6] 丁利君,吴振辉,蔡创海,等. 菊花中黄酮类物质提取方法的研究[J]. 食品工业科技,2002,2(1):20.
- [7] 秦大伟,李树英,孟霞,等. 微波预处理提取嘉菊花总黄酮的工艺研究[J]. 中成药,2008,30(6):845.
- [8] 刘佳,季芳,孙陶利,等. 甘草黄酮分离纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):49.
- [9] 闫克玉,于静. 大孔吸附树脂法纯化杭白菊总黄酮[J]. 现代食品科技,2008,24(1):35.
- [10] 曹跃,王丽,周翎,等. 火绒草中总黄酮的纯化工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):38.
- [11] 雍晓静,刘钢,张境. 应用大孔树脂分离纯化枸杞叶总黄酮的研究[J]. 宁夏大学学报:自然科学版,2005,26(2):148.

[责任编辑 全燕]