

制川乌炮制废水中生物碱类成分的回收利用

易剑平¹, 杜菁¹, 孟贺¹, 迟玉明^{1*}, 陈加富^{2*}

(1. 北京中研同仁堂医药研发有限公司, 北京 100079;

2. 北京同仁堂科技发展股份有限公司, 北京 100079)

[摘要] **目的:**优化大孔吸附树脂回收制川乌炮制有毒废水中 6 种生物碱类成分的工艺条件, 为其他药物炮制废水的处理提供参考。**方法:**以苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱和乌头碱的吸附率和洗脱率为考察指标, 利用静态吸附-洗脱试验对 15 种大孔吸附树脂进行筛选, 并通过与动态吸附相结合的方法, 优选大孔树脂的回收工艺参数。**结果:**D101 型大孔树脂对制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分具有较好的吸附和洗脱效果, 最佳工艺参数为每克大孔树脂可处理 4.3 g 川乌的炮制废水, 上样速度 $\leq 3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 为宜, 水洗除杂用量 2 BV, 加 70% 乙醇 6 BV 洗脱。苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的回收率依次为 98.03%, 94.09%, 96.53%, 78.15%, 85.40%, 70.57%。**结论:**D101 型大孔树脂在进行制川乌炮制废水减毒处理的同时, 还可对其所含的 6 种生物碱类成分进行有效回收, 在解决环保问题的同时, 创造了一定的经济效益, 且优选的工艺条件稳定可行。

[关键词] 川乌; 炮制废水; 生物碱; 大孔树脂; 回收利用; 吸附; 乌头碱

[中图分类号] R22; R28; R94; TE992.2; TQ016 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0108-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190752

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20181215.1607.003.html>

[网络出版时间] 2018-12-21 13:50

Recovery and Utilization of Alkaloids in Processing Wastewater of Aconiti Radix

YI Jian-ping¹, DU Jing¹, MENG He¹, CHI Yu-ming^{1*}, CHEN Jia-fu^{2*}

(1. Beijing Zhongyan Tongrentang Pharmaceutical Research and Development Co. Ltd., Beijing 100079, China;

2. Beijing Tongrentang Science and Technology Development Co. Ltd., Beijing 100079, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the recovery technology for 6 kinds of toxic alkaloids in the toxic wastewater from processing of Aconiti Radix with macroporous resin. **Method:** With the rates of adsorption and elution of benzoylmesaconine, benzoylaconine, benzoylhypaconine, mesaconitine, hypaconitine and aconitine as indexes, static and dynamic adsorption-elution tests were used to select the best one from 15 kinds of macroporous resin, and the recovery technology parameters of six toxic alkaloids in the wastewater from processing of Aconiti Radix were optimized. **Result:** D101 macroporous resin had a good adsorption and elution effect on 6 kinds of toxic alkaloids in the wastewater from processing of Aconiti Radix, its optimum technology conditions were as follows: each gram of macroporous resin could be used to treat processing wastewater from 4.3 g of Aconiti Radix, the sample loading speed was not higher than $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the resin column was eluted with 6 BV of 70% ethanol after removing impurities with 2 BV of water. The recoveries of benzoylmesaconine, benzoylaconine, benzoylhypaconine, mesaconitine, hypaconitine and aconitine were 98.03%, 94.09%, 96.53%, 78.15%, 85.40% and 70.57%, respectively. **Conclusion:** D101 macroporous resin can be used for detoxification treatment

[收稿日期] 20181012(003)

[基金项目] 北京市东城区 2015 年科技计划项目(2015-3-001)

[第一作者] 易剑平, 博士, 副研究员, 从事中药开发研究, E-mail: jianping74@163.com

[通信作者] * 迟玉明, 博士, 主任药师, 从事中药研究与管理, Tel: 010-87632503, E-mail: chi_yuming@hotmail.com;

* 陈加富, 博士, 主管药师, 从事中药研究与管理, Tel: 010-87632897, E-mail: chentiantian2001@163.com

of processing wastewater of Aconiti Radix, at the same time, 6 kinds of alkaloids are effectively recovered, which can solve the environmental problems and create certain economic benefits, and the optimized process conditions are stable and feasible.

[Key words] Aconiti Radix; processing wastewater; alkaloids; macroporous resin; recycling; absorption; aconitine

川乌属于大毒类中药,其炮制品制川乌在我国药用历史悠久,是一味应用十分普及、疗效确切的中药,具有祛风除湿、温经止痛的功效,临床用于治疗风寒湿痹、关节疼痛、心腹冷痛、寒疝作痛以及麻醉止痛^[1]。制川乌炮制废水中含有的生物碱成分主要包括双酯型生物碱(新乌头碱、次乌头碱、乌头碱)和单酯型生物碱(苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱),其中的 3 种单酯型生物碱成分虽是毒性成分同时也是具有药效的活性成分^[2-3]。目前,2015 年版《中国药典》中规定了川乌中 3 种双酯型生物碱和制川乌中 3 种单酯型生物碱的总量范围,以保证临床用药的安全性和有效性。

在制川乌炮制的浸泡工序中,浸泡使生物碱类成分含量降低,随浸泡程度加深(炮制不及、适中及太过),双酯型生物碱总量的降低率分别为 28.7%, 36.8%, 44.9%;单酯型生物碱总量的降低率依次为 21.8%, 25.5%, 40%^[4],在此过程中,川乌中生物碱类成分会转移到炮制废水中,形成川乌炮制废水。川乌炮制废水如果排入生产企业现有的污水处理体系中,将会对其形成冲击(尤其是对活性污泥法生物菌群的冲击),进而影响其处理效果;川乌炮制废水如果不经处理直接排入环境中,不仅会对环境中动植物产生危害,最终也会危害人类。本课题组以斑马鱼进行的初步毒理实验结果表明该废水具有一定的毒性,能造成斑马鱼的死亡,说明川乌炮制废水的毒性需要重点关注,推测该毒性很可能是乌头碱类成分造成的。目前,针对川乌的研究主要集中在炮制前后化学成分的差异性等方面,除了本课题组外,尚无有效处理川乌炮制废水的报道,但对该废水中生物碱成分进行回收利用意义重大。

当前,制药工业废水常用的处理方法有物化法、化学法、生化法等。其中物化法主要有混凝沉淀法、气浮法、吸附法等。吸附法是指利用多孔性固体吸附废水中某种或几种污染物以回收或去除污染物,从而使废水得到净化的方法。大孔吸附树脂属于有机高聚物吸附剂,具有较好的吸附性能^[5-6]。本实验拟采用大孔吸附树脂处理川乌炮制工艺中产生的含生物碱成分的废水,以实现在除去废水中有毒生物碱成分、降低环境污染的同时,对废水中的 6 种

生物碱类成分进行富集、纯化,在研究过程中,可以明确不同种类大孔吸附树脂对川乌(制川乌)中 3 种双酯型生物碱和 3 种单酯型生物碱的吸附和洗脱效果,为川乌炮制废水的综合处理及其生物碱类成分的回收利用提供实验依据。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), AB135-S 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司), Milli-Q 型超纯水系统(美国密理博公司)。乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110720-200410, 110798-200805, 110799-200404, 111794-200901, 111796-200901, 111795-200901, 纯度依次为 100%, 99.5%, 100%, 98.6%, 99.5%, 99.6%),供试品溶液[由北京同仁堂(亳州)饮片有限责任公司提供,按 2008 年版《北京市中药饮片炮制规范》^[7]川乌炮制项下规定制备所产生的炮制废水];HPD100, HPD200A, HPD300, HPD700, D101, HPD722, AB-8, HPD400, HPD400A, DM130, HPD750 型大孔树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司);HP20, SP700, HP2MGL, SP825L 型大孔树脂(北京绿百草科技发展有限公司);水为超纯水,乙腈、四氢呋喃为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 生物碱类成分的含量测定^[8]

2.1.1 对照品溶液的制备 取乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱对照品适量,精密称定,加乙腈-0.05% 乙酸水溶液(30:70)混合液制成质量浓度分别为 9.41, 9.03, 12.05, 12.61, 11.82, 9.03 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液,用乙腈-0.05% 乙酸水溶液(30:70)混合液稀释 10 倍,备用。

2.1.2 色谱条件 Phenomenex Luna 5u C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-四氢呋喃(25:15, A)-0.1 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液(B, 每 1 L 含冰乙酸 0.5 mL)梯度洗脱(0~48 min, 15%~26% A; 48~49 min, 26%~35% A; 49~58 min, 35% A; 58~65 min, 35%~15% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,

进样量 50 μL , 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 235 nm。

2.2 大孔树脂型号的选择

2.2.1 大孔树脂的预处理 取各大孔树脂适量, 用 95% 乙醇浸泡 24 h 以充分溶胀, 湿法装柱, 用 95% 乙醇洗脱至流出液与水按比例 1:5 混合后不产生白色混浊为止, 加水洗至流出液无醇味, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 制川乌按照 2015 年版《中国药典》(一部)^[1] 和《北京市中药饮片炮制规范》^[7] 进行炮制, 炮制过程中所产生的有毒废水主要来源于前期的“水浸泡至内无干心”阶段, 该过程历时较长, 约 7~10 d, 且每天均需换水 2 次, 产生的毒性废水量大。取川乌适量, 加 10 倍量水浸泡 10 d, 每天换水 2 次, 水样编号依次为 1, 2, 3……20。

2.2.3 静态吸附-洗脱预试验 称取抽干的 HPD100, HPD200A, HPD300, HPD400, HPD400A, HPD700, HPD750, D101, HPD722, AB-8, DM130, HP20, SP700, HP2MGL, SP825L 型 15 种预处理好的大孔树脂各 10 g, 分别置于 250 mL 锥形瓶中, 分别精密加入 2.2.2 项下水样 1~6 的混合溶液(上样液) 200 mL, 常温静置 24 h, 按 2.1 项下方法测定 6 种生物碱类成分的含量; 将静态吸附饱和后的大孔树脂抽滤, 置于 100 mL 锥形瓶中, 依次加水, 30% 乙醇, 75% 乙醇各 25 mL 进行洗脱, 每次洗脱均静置 24 h 后抽滤, 滤液按 2.1 项下方法分别测定 6 种生物碱类成分的质量浓度。结果表明 HP2MGL 型大孔树脂对 6 种生物碱类成分吸附效果较差, 在吸附液中能明显检测到 6 种生物碱成分; D101, AB-8, HPD100, HPD200A, HPD300, HPD400A, HPD700, HPD750, HP20 型大孔树脂对 6 种生物碱成分吸附效果较好, 在吸附液中未能检测到 6 种生物碱成分; 考察洗脱溶剂的试验结果表明, 水无洗脱效果, 75% 乙醇洗脱效果较好, 是较为适宜的洗脱溶剂。由于其中 9 种型号大孔树脂吸附残留的差异较小, 需要重新调整大孔树脂和川乌浸泡液的比例, 以达到筛选大孔树脂的目的。

2.2.4 静态吸附-洗脱预试验 称取抽干的 D101, AB-8, HPD100, HPD200A, HPD300, HPD400A, HPD700, HPD750, HP20 型 9 种预处理好的大孔树脂各 5 g, 分别置于 500 mL 锥形瓶中, 精密加入上样液 250 mL, 常温静置 24 h, 按 2.1 项下方法测定溶液中 6 种生物碱成分的质量浓度, 计算静态吸附量、吸附率及其综合评分, 综合评分 = 0.1 \times (苯甲酰新乌头原碱吸附率 + 苯甲酰乌头原碱吸附率 + 苯甲酰次乌头原碱吸附率) / 3 + 0.3 \times (新乌头碱吸附率 +

次乌头碱吸附率 + 乌头碱吸附率), 依据 6 种生物碱毒性大小拟定权重系数, 由文献可知, 双酯型二萜生物碱乌头碱、新乌头碱、次乌头碱 C-8 位上的乙酰基水解或分解, 失去一分子乙酸, 得到相应的苯甲酰单酯型生物原碱, 即苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱, 其毒性仅为双酯型二萜生物碱的 0.002~0.005^[3,9-10]。将静态吸附饱和后的大孔树脂抽滤, 置于 100 mL 锥形瓶中, 加入 75% 乙醇 100 mL, 静置 24 h, 抽滤, 滤液按 2.1 项下方法测定 6 种生物碱的质量浓度, 计算静态回收量、回收率及其综合评分, 综合评分 = 0.3 \times (苯甲酰新乌头原碱回收率 + 苯甲酰乌头原碱回收率 + 苯甲酰次乌头原碱回收率) + 0.1 \times (新乌头碱回收率 + 次乌头碱回收率 + 乌头碱回收率) / 3, 鉴于单酯型生物碱为制川乌的有效成分, 且毒性较低, 回收利用价值较高, 双酯型生物碱毒性较大, 回收利用价值较低拟定权重系数。

$$\text{静态吸附量} = (C_0 - C_1) V_1 / m;$$

$$\text{静态吸附率} = (C_0 - C_1) V_1 / C_0 V_1;$$

$$\text{静态回收量} = C_2 V_2 / m;$$

$$\text{静态回收率} = C_2 V_2 / C_0 V_1$$

式中 C_0 为原液中指标成分的质量浓度, C_1 为残液中指标成分的质量浓度, V_1 为原液体积, C_2 为洗脱液中指标成分的质量浓度, V_2 为洗脱液体积, m 为树脂质量, 见表 1。结果表明 9 种型号的大孔树脂对 6 种生物碱成分均有较好的吸附和洗脱效果, 综合考虑吸附率与洗脱率以及成本等因素, 最终选取 D101 型大孔树脂进行后续研究。

2.3 动态吸附试验

2.3.1 泄漏曲线考察 取已预处理的 D101 型大孔树脂 5 g, 共 3 份, 装柱, 径高比依次为 1:10, 1:3, 1:1.75, 分别以相同流速 (3.0 mL \cdot min⁻¹) 上样, 每 10 mL 收集为 1 份, 共收集 40 份, 按 2.1 项下方法测定泄漏液中 6 种生物碱类成分的质量浓度, 第 1~32 份每 4 份检测 1 次, 第 32~40 份每 2 份检测 1 次。以 6 种生物碱成分的峰面积为纵坐标, 泄漏液份数为横坐标, 绘制泄漏曲线, 见图 1。结果表明在 3 个不同径高比条件下, 6 种生物碱成分的泄漏顺序基本为苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、次乌头碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、乌头碱; 提示 D101 型大孔树脂对双酯型生物碱的吸附效果优于单酯型生物碱; 上样量以每克大孔树脂上样液体积不高于 30 mL 为宜。

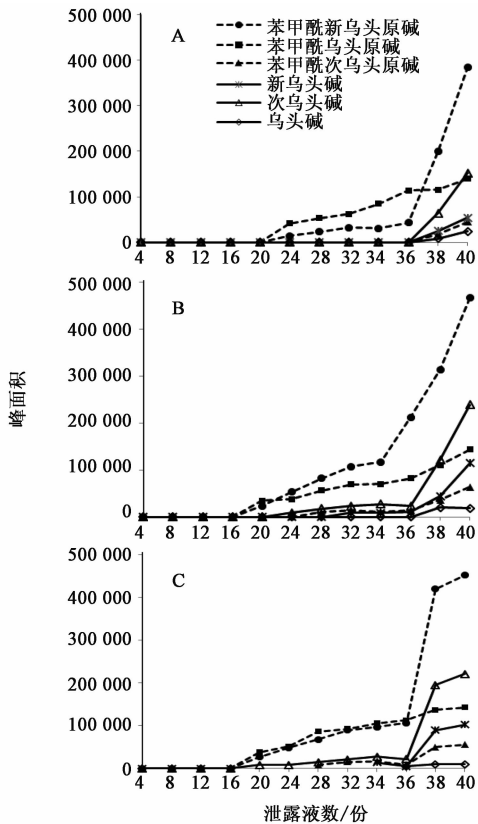
2.3.2 上样速度 取已预处理的 D101 型大孔树

表 1 不同型号大孔树脂对制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分的静态吸附-洗脱性能考察

Table 1 Investigation of static absorption-elution effect of different types of macroporous resin on 6 kinds of alkaloids in processing wastewater of Aconiti Radix

树脂型号	苯甲酰新乌头原碱		苯甲酰乌头原碱		苯甲酰次乌头原碱		新乌头碱		次乌头碱		综合评分	
	吸附率	回收率	吸附率	回收率	吸附率	回收率	吸附率	回收率	吸附率	回收率	吸附率	回收率
D101	83.29	60.15	100.00	27.55	86.08	46.75	87.34	57.70	88.09	60.50	91.61	45.25
AB-8	89.38	46.40	100.00	19.75	100.00	33.65	91.11	42.80	89.91	45.35	93.95	33.57
HPD100	73.39	50.90	100.00	27.85	80.72	38.75	76.61	46.30	75.73	50.80	84.17	39.39
HPD200A	75.78	49.65	100.00	24.25	79.04	41.10	76.51	49.15	75.39	53.60	84.06	38.83
HPD300	78.92	44.90	100.00	20.80	87.33	34.00	79.91	41.80	82.02	46.55	87.45	33.58
HPD400A	71.39	53.25	100.00	29.90	77.12	42.60	71.95	44.55	74.75	51.75	82.29	41.65
HPD700	76.71	48.85	77.44	25.00	78.67	42.65	78.24	47.10	78.76	47.10	84.86	38.80
HPD750	73.50	52.65	100.00	26.05	77.74	43.80	74.04	51.20	75.54	51.55	83.25	41.10
HP20	76.38	54.45	100.00	31.70	80.15	50.00	79.07	40.50	78.72	48.50	85.89	44.44

注:乌头碱的吸附率均为 100%,回收率分别为 29.15%,20.80%,27.00%,27.20%,21.65%,21.40%,21.40%,27.70%,18.85%。



A. 1:10; B. 1:3; C. 1:1.75

图 1 制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分经 D101 大孔树脂处理的泄漏曲线

Fig. 1 Leakage curves of 6 kinds of alkaloids in processing wastewater of Aconiti Radix by D101 macroporous resin

脂 4 g,共 3 份,装柱,柱直径 1.5 cm,径高比 1:3,分别以 1.5,3.0,4.5 mL·min⁻¹ 流速上样,收集过柱液,每份 10 mL,依据不同径高比泄漏曲线的结果,收集 36 份过柱液,每 4 份检测 1 次,按 2.1 项下方法测定。结果表明上样流速不能过快,在其流速为

4.5 mL·min⁻¹ 时即有快速泄漏的情况,考虑到流速过慢在生产中不易于控制,故上样流速以不高于 3.0 mL·min⁻¹ 为宜。

2.3.3 水洗用量考察 取已预处理的 D101 型大孔树脂 4 g,共 5 份,上样液体积 120 mL,待充分吸附后分别加水 0,2,3,4,6 BV(1 BV = 7 mL) 洗涤,分别收集过柱液、水洗脱液,按 2.1 项下方法测定,计算过柱液平均出膏率 85.65% (以上样液的出膏量为基数计算出膏率),不同体积水洗脱液的出膏率依次为 0,5.02%,5.08%,5.26%,5.49%。结果表明过柱液和水洗脱液中均未检测到 6 种生物碱成分,即水对该 6 种生物碱无洗脱效果,以 2 BV 的水洗脱即可达到较好的杂质去除效果。

2.3.4 洗脱剂的选择 取已预处理的 D101 型大孔树脂 4 g,共 4 份,装柱,上样量 100 mL,收集过柱液,分别以体积分数为 65%,75%,85%,95% 的乙醇 60 mL 洗脱,收集洗脱液,按 2.1 项下方法测定生物碱类成分的含量。结果表明过柱液中未检出上述 6 种生物碱成分,说明在该条件下未发生泄漏,洗脱液中 6 种生物碱成分的回收率见表 2。结果表明洗脱剂为 65% 乙醇和 75% 乙醇时的效果较佳,且差异不大,但 75% 乙醇的综合洗脱效果略优于 65% 乙醇,综合考虑 6 种生物碱成分的洗脱情况和成本,选取 70% 乙醇为洗脱剂。

2.3.5 正交试验考察 为进一步优化大孔树脂的动态洗脱参数,以 6 种生物碱成分的洗脱率和出膏率为指标,以径高比、洗脱剂用量、洗脱速度为考察因素,每个因素设定 3 个水平,以 L₉(3⁴) 正交表安排试验。收集过柱液、洗脱液,按 2.1 项下方法测定 6 种生物碱类成分的含量,计算出膏量,以上样液的出膏量为基数计算出膏率,试验安排及结果见表 3,

表 2 洗脱剂对制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分大孔树脂回收工艺的影响

Table 2 Effect of eluent on recovery process of 6 kinds of alkaloids in processing wastewater of Aconiti Radix by D101 macroporous resin

乙醇体积 分数/%	回收率/%					
	苯甲酰新 乌头原碱	苯甲酰 乌头原碱	苯甲酰次 乌头原碱	新乌 头碱	次乌 头碱	乌头碱
65	93.56	95.00	93.11	81.21	92.04	72.55
75	90.78	89.45	94.31	84.32	94.07	77.23
85	80.37	70.43	74.74	72.39	86.65	57.96
95	67.64	50.45	58.79	55.98	69.55	44.01

表 3 制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分大孔树脂回收工艺的正交试验分析

Table 3 Orthogonal experimental analysis of recovery process of 6 kinds of alkaloids in processing wastewater of Aconiti Radix by D101 macroporous resin

No.	A 径高比	B 洗脱剂 用量/BV	C 洗脱速度 /mL·min ⁻¹	D (空白)	回收率						出膏率		综合 评分
					苯甲酰新 乌头原碱	苯甲酰 乌头原碱	苯甲酰次 乌头原碱	新乌 头碱	次乌 头碱	乌头碱	过柱液	洗脱液	
1	1:2	5	1.5	1	98.53	105.21	94.03	81.67	83.62	79.61	83.66	14.19	97.49
2	1:2	10	3.0	2	98.75	94.85	95.01	81.49	85.95	71.96	81.38	15.31	94.56
3	1:2	15	4.5	3	89.69	80.16	92.36	71.48	78.56	64.58	80.11	15.36	85.82
4	1:5	5	3.0	3	98.06	100.05	94.96	81.25	83.51	81.57	81.65	13.16	96.13
5	1:5	10	4.5	1	95.29	96.31	90.82	79.82	84.75	76.34	81.77	14.36	92.76
6	1:5	15	1.5	2	104.19	97.99	101.53	83.21	94.23	79.33	84.94	15.82	99.67
7	1:8	5	4.5	2	100.66	105.75	98.58	81.08	85.30	81.55	83.05	12.72	99.76
8	1:8	10	1.5	3	99.29	93.19	94.69	82.01	87.82	65.42	82.11	11.25	93.99
9	1:8	15	3.0	1	95.98	89.33	89.21	72.84	80.30	45.45	83.59	13.91	88.98

表 4 综合评分的方差分析

Table 4 Variance analysis of composite score

方差来源	SS	MS	F	P
A	26.986	13.493	0.709	>0.05
B	49.244	24.622	1.295	>0.05
C	60.631	30.316	1.594	>0.05
D(误差)	38.037	19.019		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

6 种生物碱成分得到了很好的富集。

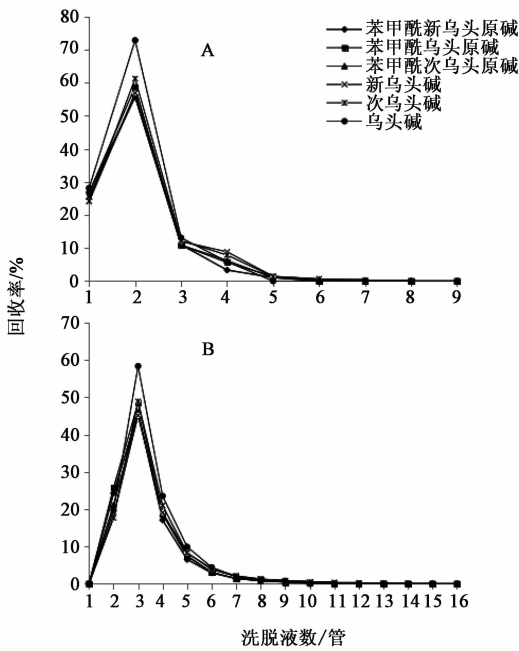
2.3.6 洗脱特性考察 取已预处理的 D101 型大孔树脂 2 份,按 2 种不同条件进行研究:①D101 型大孔树脂质量 3.2 g,上样量 90 mL,其洗脱液前 8 管收集每 5 mL 为 1 管,随后每 10 mL 为 1 管,②D101 型大孔树脂质量 8 g,上样量 240 mL,其洗脱液前 14 管收集每 5 mL 为 1 管,随后每 10 mL 为 1 管。其他条件选择上述优选的工艺,按 2.1 项下方法测定,以收集的洗脱液管数为横坐标,6 种生物碱类成分的回收率为纵坐标,绘制洗脱曲线,见图 2。结果表明随着洗脱剂用量的增加,6 种生物碱成分

方差分析见表 4。结果发现过柱液中未检测到 6 种生物碱成分,即 6 种生物碱成分均被大孔树脂吸附。

由表 3,4 可知,3 种单酯型生物碱的洗脱效果均较佳,径高比、洗脱剂用量、洗脱速度对 6 种生物碱类成分的洗脱影响均不大,需要对洗脱时的情况进行动态考察。D101 型大孔树脂对 3 种双酯型生物碱的洗脱效果次于单酯型生物碱,考虑到 6 种生物碱的毒性和生物活性,该洗脱效果更有利于制川乌废水的回收利用。出膏率结果表明,在上柱过程中,>80% 的上样液中固体物未被树脂吸附,直接流出,与之相对应的是洗脱液的出膏率较低,说明

均出现了先升后降的趋势,即有一个集中洗脱的阶段,将 HPLC 检测结果与洗脱过程中洗脱液颜色的变化情况进行对比分析,发现当洗脱液颜色深时其检测到的生物碱成分含量高,当洗脱液几乎无颜色时其检测到的生物碱成分含量低或未检出,说明还可依据洗脱液颜色确定洗脱剂的用量。

2.4 验证试验 取已处理的 D101 型大孔树脂 70 g,共 3 份,装柱,生川乌 300 g 炮制时产生的废水(每次加 10 倍量水浸泡,每天换水 2 次,共 7 d;炮制废水直接上样,共上样 14 次)上样,按优选的工艺条件进行回收处理,按 2.1 项下方法测定,结果表明过柱液中 6 种生物碱成分均未检出,即以 D101 型大孔树脂 70 g 能完全吸附生川乌 300 g 炮制废水中的 6 种生物碱成分,且各生物碱成分主要是在前 3 次上样时洗脱出来,第 4 次上样的炮制废水中 6 种生物碱含量很少,总量约为第 3 次炮制废水中的 35%。3 种双酯型生物碱新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的回收率依次为 78.15%,85.40%,70.57%,单酯型生物碱苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯



A. 条件①; B. 条件②

图 2 不同条件下 D101 型大孔树脂对制川乌炮制废水中 6 种生物碱类成分的洗脱曲线

Fig. 2 Elution curves of six alkaloids in processing wastewater of Aconiti Radix with D101 macroporous resin under different conditions

甲酰次乌头原碱的回收率依次为 98.03%, 94.09%, 96.53%。说明以 D101 型大孔树脂能用于制川乌炮制有毒废水的减毒处理,且效果良好,说明废水中 6 种生物碱类成分的回收利用是可行的。

3 讨论

川乌及其炮制品(制川乌)在中药中有较为广泛的应用,是小活络丸、大活络丸、伸筋活络丸、追风透骨片等数十种中成药的主药。制川乌在炮制过程中产生的炮制废水中经过检测含有双酯型生物碱——乌头碱、新乌头碱、次乌头碱和单酯型生物碱——苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱,这 6 种生物碱成分是川乌发挥药效的主要成分,具有镇痛、抗炎、抗癫痫等作用,但也具有心脏和神经毒性,其中双酯型生物碱中毒剂量与治疗剂量接近,使用不当容易引起中毒,且以乌头碱毒性最强。小鼠灌胃给药,乌头碱、新乌头碱、次乌头碱半数致死量(LD₅₀)分别为 1.0~1.8, 1.9, 5.8 mg·kg⁻¹,而单酯型生物碱由于毒性远低于双酯型生物碱且具有生物活性,具有较高的回收利用价值^[11-13]。

本研究考察了 15 种不同极性大孔树脂对制川乌炮制废水的静态吸附-洗脱试验,确定 D101 型大孔吸附树脂对该废水中 6 种生物碱成分具有较好的吸附和洗脱效果,可以有效地降低川乌炮制废水的

毒性,在上柱过程中, >80% 的上样液中固体物未被树脂吸附,直接流出,该部分溶液以斑马鱼进行初步毒理实验,结果表明该水样对斑马鱼的毒性与未上大孔吸附树脂前对比有明显不同,未造成斑马鱼的死亡。洗脱液的出膏率较低,说明 6 种生物碱得到了很好的富集,选择体积分数约 70% 的乙醇为洗脱剂时洗脱效果较好,加水 2 BV 洗脱能达到去除杂质的效果,径高比、洗脱剂用量、洗脱速度对 6 种生物碱成分的洗脱影响不大。本研究探索出了一种川乌有毒炮制废水的处理方法,在达到减毒处理川乌炮制废水目的的同时,还对其所含的 6 种生物碱成分进行了有效回收,后续将对该回收物进行进一步处理以分离出单一成分,实现废物利用,可为中药行业有毒中药炮制废水的减毒处理提供研究思路和方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 39-40.
- [2] 季宗彬. 中药有效成分药理与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 860.
- [3] 刘帅, 李妍, 李卫飞, 等. 乌头类中药毒性及现代毒理学研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(22): 4095-4102.
- [4] 王哲, 谭鹏, 刘红玉, 等. 浸泡程度对川乌炮制品传统质量及生物碱成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(11): 7-9.
- [5] 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): 286-290.
- [6] 张瑜, 杨健, 秦振娟, 等. 大孔吸附树脂富集金银花中环烯醚萜苷类成分的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(24): 18-21.
- [7] 北京市药品监督管理局. 北京市中药饮片炮制规范[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 15-17.
- [8] 易剑平, 迟玉明, 李东影, 等. 絮凝法去除川乌炮制废水中生物碱类成分的可行性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 134-139.
- [9] 蔡超群, 杨春华, 梁敬钰, 等. 乌头属二萜生物碱成分构效关系研究进展[J]. 海峡药学, 2013, 25(3): 1-5.
- [10] Singhuber J, ZHU M, Prinz S, et al. Aconitum in traditional Chinese medicine; a valuable drug or an unpredictable risk? [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 126(1): 18-30.
- [11] 高黎明, 毛学峰, 魏小梅, 等. 二萜类生物碱的药理作用及构效关系研究概况[J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 1999, 35(1): 98-103.
- [12] 刘艳, 章诗伟, 周兰, 等. 乌头类生物碱对心肌的毒性作用及分子毒理学研究进展[J]. 中国法医学杂志, 2009, 24(6): 398-401.
- [13] 王峰峰, 宋兆辉, 张兰兰, 等. 乌头碱、新乌头碱、次乌头碱水解和醇解产物的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1564-1569.

[责任编辑 刘德文]