

利用大孔树脂吸附纯化头花蓼总多酚工艺的研究

Purification of total polyphenols in *polygonum capitatum* by macroporous adsorption resins

李潇彬¹ 顾曼琦¹ 郑奎玲¹ 卫 钢² 廖莉玲¹

LI Xiao-bin¹ GU Man-qi¹ ZHENG Kui-ling¹ WEI Gang² LIAO Li-ling¹

(1. 贵州师范大学化学与材料科学学院, 贵州 贵阳 550001;

2. 联邦科学与工业研究组织材料科学与工程分部, 澳大利亚 新南威尔士州 2070)

(1. School of Chemistry and Material Science, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China;

2. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Materials
Science and Engineering, New South Wales 2070, Australia)

摘要:采用 Folin-Ciocalteu 比色法测定多酚含量, 研究 10 种大孔树脂对头花蓼总多酚的吸附和解吸效果, 筛选出适合分离纯化头花蓼总多酚的树脂, 并以总多酚的吸附率和解吸率为指标对 HPD-722 纯化头花蓼总多酚的工艺进行了研究。结果表明: HPD-722 为纯化头花蓼总多酚的最佳树脂。确定其最佳工艺条件为: 上样浓度控制在 2.0~4.5 mg/mL, 上样流速 2 BV/h, 用体积为 7.5 BV 的 50% 乙醇溶液集中洗脱。纯化后总多酚的含量可达到 59.02%。

关键词:头花蓼; 总多酚; 大孔树脂; 纯化

Abstract: The total content of polyphenols in *polygonum capitatum* was determined by Folin-Ciocalteu colorimetry. 10 types of macroporous resins were tested by static adsorption and desorption experiments for purifying polyphenols in *polygonum capitatum* and purifying conditions by the best resin were investigated. The results showed that HPD-722 was the best resin. Purifying conditions were as follows: concentration of adsorption sample 2.0~4.5 mg/mL, 2 BV/h adsorption velocity, 7.5 BV 50% ethanol solution as eluent, the content of the total polyphenol sample was up to 59.02%.

Keywords: *polygonum capitatum*; total polyphenol; macroporous resin; purification

头花蓼(*Polygonum capitatum*)为蓼科蓼属植物头花蓼(*Polygonum capitatum* Buch.-han. ex D. Don)干燥的全草或

者是地面上的部分, 又名小红要、小红藤、骨虫草、沙滩子, 具有清热利湿、解毒止痛、活血散瘀、利尿通淋的功能, 是著名的苗药^[1-2]。

众多研究表明头花蓼的主要成分为黄酮类和酚酸类, 而且多酚具有较强的抗氧化^[3]及抑菌效果^[4], 但是, 已有的研究主要集中于酚酸类的含量测定^[5-6], 从头花蓼中分离纯化多酚类鲜见报道。因此对头花蓼总多酚进行提取分离等进一步的深入研究具有较高的研究价值。大孔树脂用于多酚的分离纯化已有较多的文献报道^[7-8], 该方法工艺简单, 成本较低。本试验拟通过静态试验和动态试验对头花蓼多酚利用大孔树脂纯化的工艺条件进行研究, 优化出最佳纯化条件, 以期对头花蓼的进一步研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

头花蓼: 施秉三元威门公司 GAP 种植基地;

FC 试剂、D296、D301、SA-1、SA-2、LSA-10、HPD-100、HPD-600、聚酰胺、AB-8、HPD-722: 沧州宝恩吸附材料科技有限公司;

其余试剂均为分析纯;

试验所用水均为二次蒸馏水;

电热鼓风干燥箱: 101-1A 型, 天津市泰斯特仪器有限公司;

电子天平: A 200S 型, 德国科恩公司;

循环水式多用真空泵: SHB-III A 型, 郑州长城科工贸有限公司;

控温电热套: KDM 型, 山东鄞城华鲁电热仪器有限公司;

基金项目: 贵州省科技厅_2014 年度贵州省科技厅与贵州师范大学联合基金计划项目(编号: 黔科合 LH 字【2014】7064 号)

作者简介: 李潇彬, 女, 贵州师范大学在读硕士研究生。

通信作者: 廖莉玲(1963—), 女, 贵州师范大学教授。

E-mail: lll6383@163.com

收稿日期: 2016-09-13

分光光度计:U V 2300 型,上海天美科学仪器有限公司;

微型植物粉碎机:FZ 102 型,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 标准曲线的绘制

称取 0.050 0 g 的没食子酸配成 0.050 0 g/L 的标准没食子酸溶液。分别取 1,2,3,4,5 mL 标准没食子酸溶液,分别加入 2.5 mL 的 FC 试剂、7 mL 12% 的碳酸钠溶液,以试剂空白做参比,均定容在 25 mL 的棕色容量瓶中,反应温度为 35 ℃,反应时间为 40 min,在波长为 760 nm 处测定各溶液的吸光度,绘制标准曲线(见图 1)。

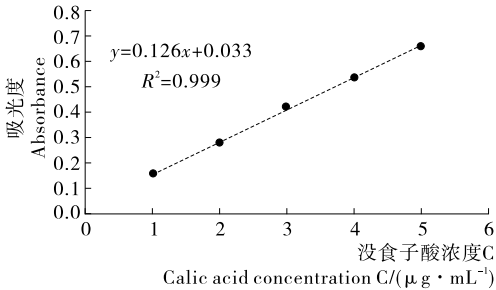


图 1 没食子酸标准曲线图

Figure 1 Standard curve for the determination of gallic acid

1.3 大孔吸附树脂的预处理

将树脂放在水中浸泡 24 h 后,用蒸馏水反复洗涤,再用乙醇浸泡 24 h,除去醇溶物,用蒸馏水洗至无醇味;4% 盐酸浸泡 3 h,用蒸馏水洗至中性,4% 氢氧化钠浸泡 3 h,用蒸馏水洗至中性^[9]。将处理好的树脂用蒸馏水浸泡备用。

1.4 头花蓼提取液的制备

将头花蓼用植物粉碎机粉碎过 60 目筛,按料液比 1 : 25 (g/mL)用 40% 乙醇回流提取 2 次,一次 1.5 h,抽滤合并滤液,滤液蒸发除去大部分乙醇后得到样液,测样液多酚的浓度^[10-12],备用。

1.5 大孔树脂的筛选

1.5.1 静态吸附解析试验 分别在 10 种处理好的树脂中称取 2 g 置于干燥的锥形瓶中,加入 1.106 6 mg/mL 头花蓼多酚样液 100 mL,静置 24 h,按 FC 比色法测定大孔树脂吸附后各样液中头花蓼多酚含量,计算各树脂对头花蓼多酚的吸附率。然后洗去树脂表面残余样液,加入 100 mL 70% 乙醇溶液浸泡洗脱,静置 24 h,使其充分解吸。测定各解吸溶液中头花蓼多酚含量,计算各树脂的解吸率。

$$R_1 = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\%, \tag{1}$$

$$R_2 = \frac{m_2}{m_0 - m_1} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:

R_1 ——吸附率,%;

R_2 ——解吸率,%;

m_0 ——起始量,mg;

m_1 ——平衡量,g;

m_2 ——解吸量,g。

1.5.2 动态吸附解析试验 将处理好的 HPD-722、AB-8、SA-2、SA-1 4 种大孔树脂装入层析柱中,装柱体积为 30 cm³ (1 BV)。用浓度为 3.373 3 mg/mL 的头花蓼多酚试液以 2 BV/h 的流速缓慢流过层析柱使其达到吸附饱和。收集过滤液,测量头花蓼多酚含量并计算吸附率。用蒸馏水将层析柱中树脂洗涤至流出液无色,用 150 mL 50% 的乙醇溶液以 2 BV/h 的流速缓慢流过层析柱,收集树脂洗涤液并旋干称重。计算解吸率和多酚含量。

$$Q = \frac{m_3}{m_4} \times 100\%, \tag{3}$$

式中:

Q ——多酚含量,mg;

m_3 ——纯化后旋干物的量,mg;

m_4 ——旋干物中头花蓼多酚的质量,mg。

1.6 HPD-722 大孔树脂纯化总多酚条件

1.6.1 上样浓度对动态吸附率的影响 将已处理好的 HPD-722 树脂等体积(30 cm³)分别装入 5 根规格相同的层析柱中,将浓度分别为 0.999 9,2.371 3,2.839 9,4.635 5,5.345 mg/mL 的总多酚提取液以 2 BV/h 流速上样。吸附饱和后收集流出液,并测定其流出液多酚含量,计算吸附率。

1.6.2 上样流速及吸附泄漏曲线的考察试验 取 3 份浓度为 2.839 9 mg/mL 的总多酚试液 100 mL,分别以 2,3,4 BV/h 的流速通过层析柱。每 10 mL 收集一瓶流出液,并以积累上样溶液的体积与各瓶溶液的浓度为坐标绘制曲线图。

1.6.3 洗脱剂浓度的选择 取 2.839 9 mg/mL 的总多酚试液 100 mL 以 2 BV/h 流速通过层析柱,充分吸附,然后依次用 100 mL 蒸馏水、10% 乙醇、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、90% 乙醇以 2 BV/h 流速进行梯度洗脱,每 25 mL 收集一次洗脱液。收集洗脱液时需排尽树脂中原有的溶液即加入洗脱剂流出 25 mL 溶液后开始收集第一瓶洗脱液。测定每瓶洗脱液中总多酚的含量,并以瓶子编号和总多酚的含量为坐标绘制曲线图。

1.6.4 洗脱剂用量的选择 4.035 5 mg/mL 的总多酚试液 100 mL 以 2 BV/h 流速通过层析柱,充分吸附后,先用蒸馏水冲洗层析柱至流出液为无色,再用 50% 乙醇溶液对树脂进行洗脱。流速同样控制在 2 BV/h,每 25 mL 收集一次洗脱液,测定每管洗脱液中总多酚的含量,并以累积洗脱体积和总多酚的含量为坐标绘制曲线图。

2 结果与讨论

2.1 树脂静态吸附解析筛选试验结果

由表 1 可知,由于树脂的极性、孔径、比表面、孔容等不同,不同类型树脂对头花蓼多酚的吸附程度不同。从吸附率上看聚酰胺最大为 72%,但其解吸率为 22%,解吸率低。综合吸附率和解吸率,吸附率比较接近的有 SA-2、SA-1、AB-8、HPD-722 这 4 种树脂,并有良好的解吸率,因此进一步做动态吸附试验。

表 1 静态吸附解析筛选结果

Table 1 Results of static adsorption and desorption %

树脂种类	吸附率	解吸率	树脂种类	吸附率	解吸率
AB-8	51	71	HPD-722	54	86
SA-1	55	75	D101	45	75
SA-2	56	84	D301	14	10
HPD-100	46	80	LSA-10	45	76
HPD-600	45	60	聚酰胺	72	22

2.2 动态吸附解析筛选结果

由表 2 可知,HPD-722 大孔树脂对头花蓼多酚的吸附率和解吸率都比较高,经过 HPD-722 吸附解吸后,头花蓼多酚含量最高。结合静态吸附和动态吸附结果,可以确定 HPD-722 为适合纯化头花蓼总多酚的大孔吸附树脂。

表 2 动态吸附解析筛选结果

Table 2 Results of dynamic adsorption and desorption %

树脂种类	吸附率	解吸率	含量
AB-8	65.80	77.37	41.77
SA-1	33.36	66.58	33.37
SA-2	34.35	62.02	31.39
HPD-722	82.55	76.03	55.14

2.3 HPD-722 大孔树脂动态工艺参数的确定

2.3.1 上样浓度对树脂吸附率的影响 由图 2 可知,上样浓度对头花蓼总多酚的吸附率影响较为明显,浓度为 0.99 mg/mL 左右时,吸附效果最好,但是达到吸附饱和的时间较长,耗工耗时。浓度在 2.0~4.5 mg/mL 时,吸附效果较好且相差不大。浓度大于 4.64 mg/mL 后吸附率下降较快。综合考虑,上样浓度应控制在 2.0~4.5 mg/mL。

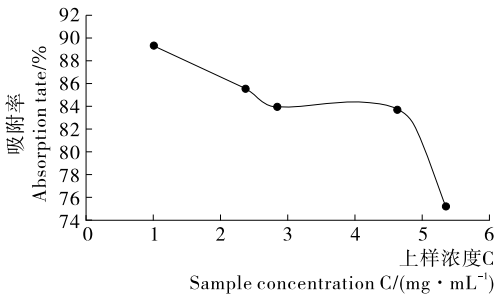


图 2 上样浓度对总多酚吸附率的影响

Figure 2 The effect of concentration of total polyphenols on the absorption rate

2.3.2 上样流速及吸附泄漏曲线的考察试验 由图 3 可知,当流速为 2,3,4 BV/h 且上样量为 80 mL 时,开始有 10%上样液总多酚量泄漏,吸附达到饱和;可以看出流速对吸附的影响不大,考虑到流速过快树脂吸附不完全,因此将进样流速定为 2 BV/h。

2.3.3 洗脱剂浓度的选择 由图 4 可知,总多酚的洗脱量主要集中在 50%的乙醇洗脱的部分,其中水洗脱量较少,考虑到水洗可将部分水溶性杂质除去。因此,可推出洗脱条件

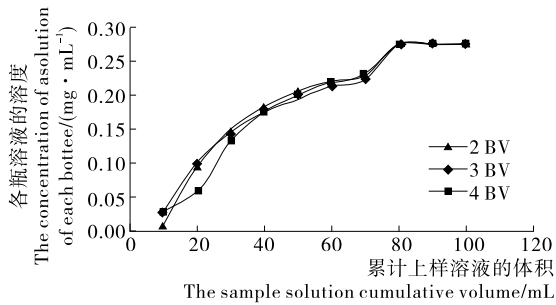
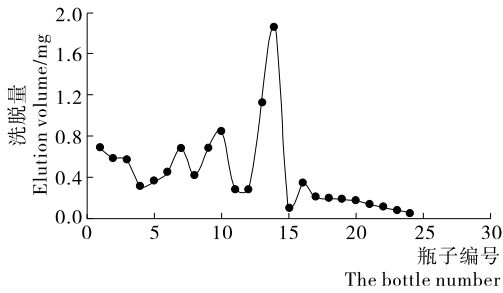


图 3 不同上样流速对吸附的影响

Figure 3 The influence of the velocity of sample on adsorption



1~4 号为水洗脱液;5~8 号为 10%乙醇洗脱液;9~12 号为 30%乙醇洗脱液;13~16 号为 50%乙醇洗脱液;17~20 号为 70%乙醇洗脱液;21~24 为 90%乙醇洗脱液

图 4 不同浓度乙醇的总多酚洗脱量曲线图

Figure 4 Different concentrations of ethanol elution volume curve of total polyphenols

为:先将水溶性杂质用蒸馏水洗去,然后用 50%的乙醇溶液进行洗脱,收集 50%的乙醇洗脱部分。

2.3.4 洗脱剂用量的选择 由图 5 可知,当 50%乙醇洗脱用量超过 7.5 BV 时,洗脱下来的总多酚的量可以忽略,因此从实际工业生产上考虑,洗脱剂用量保持在 7.5 BV 为最佳选择。

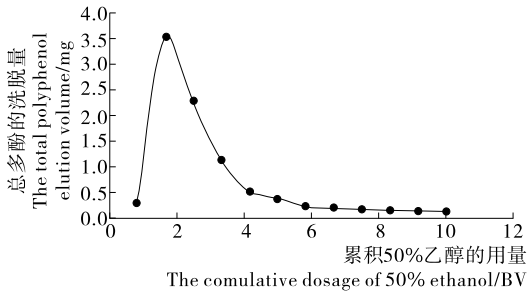


图 5 洗脱剂用量的考察曲线图

Figure 5 The dosage of eluent graph

2.3.5 验证实验 取浓度为 2.355 mg/mL 提取原液 100 mL,上样流速 2 BV/h,洗脱剂为 7.5 BV 50%乙醇,对头花蓼总多酚进行分离纯化,测定纯化后总多酚的质量分数,结果表明样品中总多酚的含量最高可达 59.02%。

3 结论

通过大孔树脂多头花蓼多酚的静态和动态吸附研究对比得出,大孔树脂静态吸附交换能力以SA-2、SA-1、AB-8、

(下转第 216 页)

[43] 朱俊玲, 卢智. 超临界 CO₂萃取芦荟多糖工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(10): 5 794-5 795.

[44] 李亚辉, 马艳弘, 黄开红, 等. 响应面法优化复合酶提取芦荟多糖工艺及其抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2014, 35(18): 63-68.

[45] 安胜欣, 王纪纪, 唐小琼, 等. 微波辅助提取芦荟多糖的研究[J]. 安徽理工大学学报: 自然科学版, 2012, 32(3): 37-40.

[46] 刘胜利, 刘晓露, 黄锁义, 等. 桑葚多糖提取方法的比较[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(5): 2 699-2 700, 2 705.

[47] 丘丹萍, 邹勇芳, 黄锁义, 等. 白茅根多糖提取方法的比较研究[J]. 中国酿造, 2010(1): 108-110.

[48] PAN Li-hua, WANG Jian, YE Xing-qian, et al. Enzyme-assisted extraction of pol-ysaccharides from *Dendrobium chrysotoxum* and its functional properties and immunomodulatory activity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1 149-1 154.

[49] 翁梁, 温鲁, 杨芳, 等. 不同提取方法对蛹虫草多糖抗氧化性的影响[J]. 食品科技, 2008, 33(11): 180-182.

[50] 范巧宁, 赵珮, 高晓梅, 等. 不同提取方法对槐米多糖抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 273-277.

[51] 赵晨淦, 刘钧发, 冯梦莹, 等. 不同提取方法对龙眼多糖性质的影响[J]. 现代食品科技, 2012, 28(10): 1 298-1 301, 1 305.

[52] 陈卫云, 张名位, 魏振承, 等. 不同方法提取荔枝多糖抗氧化活性的比较[J]. 食品工业科技, 2012(4): 192-194, 199.

[53] QI Hui-min, ZHAO Ting-ting, ZHANG Quan-bin, et al. Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta)[J]. Journal of Applied Phycology, 2005, 17(6): 527-534.

[54] CHEN Hua-guo, ZHOU Xin, ZHANG Jun-zeng. Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Astragalus membranaceus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 111(5): 567-575.

[55] 邢东旭, 廖森泰, 刘吉平, 等. 热水浸提和微波萃取桑叶多糖的药效比较及降血糖机制初探[J]. 蚕业科学, 2008, 34(3): 529-533.

[56] 吴建中, 郭开平, 陈静, 等. 番石榴多糖的降血糖作用研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(6): 80-82.

[57] 王元凤, 金征宇. 不同溶剂分级提取的茶多糖的组成及降血糖活性[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(5): 813-817.

[58] 杨少波, 张其安, 王娟. 降血糖天然食品资源及其降血糖机理研究进展[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4): 211-215.

[59] 宫春宇, 张劲松, 唐庆九, 等. 室温下龙须菜多糖提取工艺及免疫活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 38-41.

[60] 朱地琴, 潘迎捷, 唐庆九, 等. 不同提取水温对龙须菜多糖的得率、组成和免疫活性的影响[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2012, 31(5): 395-401.

[61] 姜玥, 潘利华, 罗建平. 超声辅助提取对茯苓多糖免疫活性的影响[J]. 食用菌学报, 2012, 19(4): 79-82.

[62] 翟蓉, 吕丽爽, 金邦荃. 何首乌多糖降血脂作用的研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 87-90, 101.

[63] 彭梅, 唐健波, 肖雄, 等. 提取方法对仙茅多糖提取率及抗肿瘤活性的影响[J]. 中成药, 2014, 36(9): 1 985-1 988.

[64] 张雅利, 梁花香, 曹娜. 提取方法对柿多糖提取率及生物活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(6): 18-22.

[65] 陈丽华. 龙眼壳多糖的提取、分离纯化与性质研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009: 1.

[66] WANG Yuan-feng, LI Yong-fu, LIU Yang-yang, et al. Extraction, characterization and antioxidant activities of Se-enriched tea polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 77(2): 76-84.

[67] CHEN Yi, ZHANG Hui, WANG Yuan-xing, et al. Sulfated modification of the polysaccharides from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities[J]. Food Chemistry, 2015, 186(1): 231-238.

(上接第 165 页)

HPD-722 4 种树脂吸附能力最强。通过动态吸附试验比较这 4 种树脂可得出, HPD-722 树脂对头花蓼多酚有较高的吸附量, 而且易于解吸, 其产物总多酚含量高, HPD-722 树脂更适合于头花蓼总多酚的分离提纯。通过对 HPD-722 大孔吸附树脂进行动态工艺参数研究, 可得出体系最佳优化条件为: 上样浓度控制在 2.0~4.5 mg/mL, 上样流速为 2 BV/h, 用体积为 7.5 BV 树脂体积的 50%乙醇溶液集中洗脱。本研究仅纯化头花蓼总多酚, 其总多酚中所含的成分等有待进一步的检测鉴定。

参考文献

[1] 贵州省食品药品监督管理局. 贵州省中药材民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 147.

[2] 王洪平, 曹芳, 杨秀伟. 头花蓼地上部分的化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(1): 24-30.

[3] 张丽娟, 廖尚高, 詹哲浩, 等. 头花蓼酚酸类化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1 946-1 947.

[4] 刘瑜新, 宋晓勇, 康文艺, 等. 头花蓼对多重耐药金黄色葡萄球

菌抗菌作用研究[J]. 中成药, 2014, 36(9): 1 817-1 821.

[5] 曹芳, 谭辉, 邓先扩. 头花蓼化学成分及其黄酮类化合物含量的研究进展[J]. 黔南民族医专学报, 2012, 25(2): 121-125.

[6] 李占彬, 杨鸿波, 谭红, 等. 贵州特色中药头花蓼中六种酚酸类有效成分的 HPLC—MS/MS 同时测定[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 850-852.

[7] 熊建华, 汤凯洁, 罗秋水, 等. 大孔吸附树脂纯化金银花叶总多酚的工艺优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 52-55, 67.

[8] 唐丽丽, 刘邻渭, 孙丽芳, 等. 大孔树脂对石榴皮中多酚物质的吸附研究[J]. 食品与机械, 2011, 32(5): 48-51.

[9] 封帆, 张永萍, 宋信莉, 等. 大孔吸附树脂纯化丹参总酚酸的工艺研究[J]. 中南药学, 2011, 1(1): 27-30.

[10] 崔紫姣, 张彩云, 刘彬彬, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定甜茶总多酚含量[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(3): 158-160.

[11] 居正英, 赵慧芳, 吴文龙. Folin-Ciocalteu 比色法测定测定核桃青皮中多酚含量条件的优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 122-125.

[12] 牛广财, 闫公昕, 朱丹, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定沙棘酒中总多酚含量的工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(4): 80-83, 142.