

天山堇菜秦皮乙素大孔树脂分离纯化工艺优化

Optimization on separation and purification process of esculetin from *Viola tianshanica* Maxim by macroporous resin

赵丽娟¹ 李倩² 李晨阳² 徐芳² 赵军²

ZHAO Li-juan¹ LI Qian² LI Chen-yang² XU Fang² ZHAO Jun²

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046;

2. 新疆药物研究所维吾尔药重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830004)

(1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046, China;

2. Key Laboratory for Uighur Medicine, Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi, Xinjiang 830004, China)

摘要:通过静态吸附与解吸附试验,从 8 种大孔树脂中筛选出适合纯化天山堇菜秦皮乙素的树脂,并进行吸附性能的研究。结果表明,HPD500 树脂对天山堇菜秦皮乙素具有良好的吸附效果,其吸附动力学可用拟二级动力学方程描述,不同温度下的等温吸附可用 Freundlich 方程很好地拟合,其吸附的自由能变 ΔG 、焓变 ΔH 和熵变 ΔS 均 < 0 , 吸附过程是一个自发、放热的物理行为。最佳纯化工艺条件为上样浓度 2.593 5 mg/mL,最大上样量 7.780 5 mg/g · 树脂,上样流速 2.0 mL/min,除杂用水量 7 BV,50% 乙醇洗脱,洗脱剂用量 7 BV,洗脱流速 2.0 mL/min。该条件下,秦皮乙素纯度达到 37%,回收率达到 93%。

关键词:天山堇菜;秦皮乙素;大孔树脂;吸附动力学;吸附热力学

Abstract: The resin suitable for the purification of esculetin from *Viola tianshanica* Maxim was selected from eight macroporous resins by static adsorption and desorption experiments, and its kinetics and thermodynamics behavior on compound was studied. The result indicated that HPD500 was the optimum material for the adsorption of esculetin. The adsorption dynamic behavior was well described by the pseudo-second-order kinetics equation. The adsorption isotherm data from the thermodynamics behavior were fitted better with Freundlich equation. The thermodynamic parameters were found to be $\Delta H < 0$, $\Delta S < 0$, and $\Delta G < 0$ respectively, so this adsorbing process was a spontaneous exothermic

process. The optimal purification conditions of HPD500 on esculetin were as follows: loading concentration 2.593 5 mg/mL, maximum loading adsorption capacity 7.780 5 mg/g resin, adsorption rate 2.0 mL/min, 7 BV deimpurity water, 7 BV 50% ethanol elution, elution rate 2.0 mL/min. Under these conditions, the purity of esculetin was greater than 37% and the recovery rate was greater than 93.0%.

Keywords: *Viola tianshanica* Maxim; esculetin; macroporous resins; adsorption dynamics; adsorption thermodynamic

天山堇菜是堇菜科堇菜属多年生草本植物,以全草入药,主要分布于海拔 3 000 m 以上的天山山区^[1-2]。该药材可水煎或泡茶使用,气味微苦,具有清热祛风、解毒消肿的疗效,主要用于发烧、头痛、咽痛、小儿惊厥等疾病的治疗。现代药理学研究^[3]表明天山堇菜具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗氧化等多种生物活性,其化学成分包含香豆素、黄酮、生物碱、皂苷和挥发油等,其中秦皮乙素是其主要标识性成分。秦皮乙素又名七叶内酯,6,7-二羟基香豆素,具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤和保肝等多种生物活性^[4]。对天山堇菜秦皮乙素的研究仅限于其含量测定及抗肿瘤活性筛选研究^[3,5],其提取纯化工艺尚未见报道。大孔树脂具有吸附容量大、吸附速度快、再生简便等优点,被广泛用于医药食品行业中有效成分纯化中^[6-8]。因此,为了天山堇菜及其成分秦皮乙素的开发,本试验拟以秦皮乙素含量为指标,建立天山堇菜秦皮乙素大孔树脂纯化工艺,以获得富含秦皮乙素的提取物,同时分析其吸附动力学和热力学特征,为天山堇菜进一步研究提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

天山堇菜:批号 160601,亳州市华云中药饮片有限

基金项目:新疆维吾尔自治区科技支撑计划(编号:2016B03044-5)

作者简介:赵丽娟,女,新疆大学在读硕士研究生。

通信作者:赵军(1973—),男,新疆维吾尔自治区药物研究所研究员,博士。

收稿日期:2018-12-04

公司;

秦皮乙素对照品:批号 110741-201708,中国食品药品检定研究院;

HPD100A、HPD400、HPD500、HPD750、NKA、X-5、D101、AB-8 型大孔吸附树脂:天津南开大学化学厂;

甲醇:色谱纯,美国 Fisher 公司;

其他试剂:均为分析纯。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪:LC-10ATvp 型,日本岛津公司;

电子天平:AL204 型,美国梅特勒—托利多仪器有限公司;

超声清洗机:AS10200AD 型,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;

小型粉碎机:ST-02A 型,永康市帅同工具有限公司;

水浴恒温振荡器:SHA-B 型,金坛市医疗仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 天山董菜提取液的制备 准确称取石油醚脱脂粉碎后的天山董菜药材 360 g,以 30 倍量 95%乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,浓缩至无醇味,用水反复混悬溶解过滤,滤液定容至 600 mL,即得样品溶液,测定秦皮乙素的浓度,备用。

1.3.2 对照品溶液的制备 精密称取秦皮乙素对照品 0.008 6 g,加甲醇溶解并定容至 50 mL,即得浓度为 0.172 0 mg/mL 的对照品溶液。

1.3.3 树脂的预处理 称取 HPD100A、HPD400、HPD500、HPD750、NKA、X-5、D101 和 AB-8 型树脂适量,加入 95%乙醇,浸泡 24 h,装柱,梯度乙醇洗脱至洗脱液和水混合不出现白色浑浊为止,用蒸馏水洗至无醇味,备用。

1.3.4 天山董菜秦皮乙素的测定 色谱柱:Phenomenex Gemini-NX C18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1% 磷酸水溶液—甲醇(体积比 70:30);柱温 30 ℃;流速 1.0 mL/min;检测波长 258 nm;进样量 10 μL。精密量取对照品溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 于 10 mL

容量瓶,用甲醇溶解并定容,摇匀后 HPLC 测定,以峰面积对秦皮乙素标准溶液的浓度(μg/mL)绘制标准曲线: $A=14\ 955X+14\ 853$, $r=0.999\ 5$,线性范围 3.44~137.60 μg/mL。

1.3.5 不同型号树脂的筛选 分别称取 0.5 g 处理好的各种型号树脂于 25 mL 具塞锥形瓶中,加入供试品溶液稀释成 0.206 8 mg/mL 的溶液 10 mL,25 ℃水浴恒温振荡器(频率为 120 r/min)中振摇吸附 24 h,过滤,各取 10 μL 按 1.3.4 测定秦皮乙素浓度。抽干树脂表面水分,加入 95%乙醇溶液 10 mL,相同条件下振摇 24 h,各取 10 μL 测定秦皮乙素含量,分别按式(1)、(2)计算吸附率和解吸率。

$$R_1 = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\%, \quad (1)$$

$$R_2 = \frac{C_2 V_2}{(C_0 - C_1) V_1} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_1 ——吸附率,%;

R_2 ——解析率,%;

C_0 ——吸附前秦皮乙素浓度,mg/mL;

C_1 ——吸附后秦皮乙素浓度,mg/mL;

C_2 ——解析液中秦皮乙素浓度,mg/mL;

V_1 ——样液体积,mL;

V_2 ——解析液体积,mL。

大孔树脂的特性如表 1。

1.3.6 静态吸附动力学试验 称取最佳树脂 5.0 g 于 250 mL 具塞锥形瓶中,加入供试品溶液稀释成 0.103 4 mg/mL 的溶液 100 mL 后,置于 120 r/min,温度 298 K 恒温振荡器中振荡吸附 12 h。分别于 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h 吸取 0.5 mL 上清液,并通过 HPLC 测定秦皮乙素浓度,按式(3)计算树脂的吸附量,并绘制 HPD500 对秦皮乙素的静态吸附动力学曲线。

$$R_3 = \frac{(C_0 - C_1) V_1}{m}, \quad (3)$$

表 1 大孔吸附树脂的物理性质

Table 1 Physical properties of macroporous adsorption resin

树脂型号	粒径范围/mm	比表面积/($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	平均孔径/nm	极性	外观
HPD100A	0.30~1.20	650~700	9.5~10.0	非极性	白色不透明球状颗粒
HPD400	0.30~1.20	500~550	7.5~8.0	中极性	白色不透明球状颗粒
HPD500	0.30~1.20	500~550	5.5~7.5	极性	白色不透明球状颗粒
HPD750	0.30~1.20	650~700	8.5~9.0	中极性	白色不透明球状颗粒
NKA	0.30~1.00	570~590	20.0~22.0	非极性	白色不透明球状颗粒
X-5	0.30~1.25	500~600	29.0~30.0	非极性	白色不透明球状颗粒
D101	0.25~0.84	500~550	9.0~10.0	非极性	白色不透明球状颗粒
AB-8	0.30~1.25	480~520	13.0~14.0	弱极性	白色不透明球状颗粒

式中:

R_3 ——吸附量, mg/g;

C_0 ——吸附前秦皮乙素浓度, mg/mL;

C_1 ——吸附后秦皮乙素浓度, mg/mL;

V_1 ——样液体积, mL;

m ——树脂质量, g。

1.3.7 吸附等温线和吸附热力学 分别称取最佳树脂 0.5 g 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 分别加入 10 mL 浓度为 0.051 7, 0.103 4, 0.155 1, 0.206 8, 0.258 5, 0.310 2, 0.361 9, 0.413 6 mg/mL 系列溶液, 分别在 298, 308, 318 K 恒温振荡器中以 120 r/min 振摇 24 h, 使其达到吸附平衡, 测得不同温度下的吸附等温线, 并计算样品的平衡浓度、大孔树脂的平衡吸附量。

1.3.8 大孔树脂的动态吸附与解析试验

(1) 上样浓度的影响: 分别称取 5 份 HPD500 树脂 10.0 g 装入玻璃柱($\phi 20$ mm $\times$ 500 mm)(各因素考察均以此法装柱), 以 2.0 mL/min 的流速各加入浓度为 0.866 2 (50 mL), 1.732 5 (25 mL), 2.593 5 (16.7 mL), 3.464 9 (12.5 mL), 4.331 2 (10 mL) mg/mL 的提取液, 用 7 BV 水洗脱, 测定秦皮乙素含量并计算吸附量。

(2) 最大上样量的选择: 以 2.0 mL/min 的流速将浓度为 2.593 5 mg/mL 样液缓缓加入树脂柱中, 每 10 mL 收集一流份, 测定流出液中秦皮乙素的含量, 以考察树脂的最大吸附量。

(3) 上样流速的确定: 以 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL/min 的流速分别加入 2.593 5 mg/mL 样液 30 mL, 用 7 BV 水洗脱, 测定秦皮乙素含量并计算吸附量。

(4) 除杂用水量的确定: 以 2.0 mL/min 的流速分别加入 2.593 5 mg/mL 溶液 30 mL 充分吸附, 用水洗脱除杂, 每一柱体积收集一流份, 浓缩干燥, 称重。

(5) 洗脱剂浓度的确定: 以 2.0 mL/min 的流速分别加入浓度为 2.593 5 mg/mL 溶液 30 mL, 上样完成后, 用 7 BV 蒸馏水除杂, 再以 10%, 30%, 50%, 70%, 95% 乙醇洗脱。收集洗脱液, 减压浓缩干燥, 按式(4)、(5)计算纯度和回收率。

$$R_4 = \frac{M_1}{M_2} \times 100\%, \quad (4)$$

$$R_5 = \frac{M_1}{1\ 000 \times M_3} \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

R_4 ——回收率, %;

R_5 ——纯度, %;

M_1 ——洗脱液中秦皮乙素含量, mg;

M_2 ——上样液中秦皮乙素含量, mg;

M_3 ——浓缩干燥后质量, g。

(6) 洗脱剂用量的确定: 以 2.0 mL/min 的流速分别

加入浓度为 2.593 5 mg/mL 溶液 30 mL, 用 7 BV 蒸馏水除杂, 再以 50% 乙醇洗脱, 每一个柱体积收集一个流份, 测定含量, 绘制洗脱曲线。

(7) 洗脱流速的确定: 以 2.0 mL/min 的流速分别加入浓度为 2.593 5 mg/mL 溶液 30 mL, 用 7 BV 蒸馏水洗脱除杂, 再用 7 BV 50% 乙醇以 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL/min 流速洗脱, 测定含量, 计算回收率。

(8) 验证实验: 按最佳条件以 2.0 mL/min 的流速分别加入浓度为 2.593 5 mg/mL 样液 30 mL, 平行 3 份, 然后用 7 BV 蒸馏水除杂, 再用 7 BV 50% 乙醇以 2.0 mL/min 流速洗脱, 收集 50% 乙醇洗脱液, 计算回收率和纯度。

2 结果与分析

2.1 不同型号大孔树脂的筛选

树脂的吸附量受被吸附物质的特性、树脂的比表面积、孔结构及极性等因素影响。孔径小的树脂有利于吸附分子质量较小的物质, HPD500 树脂孔径 5.5~7.5 nm, 在所筛选 8 种树脂中最小, 秦皮乙素为小分子化合物(相对分子量为 178.14)。由表 2 可知, HPD500 树脂对天山莖菜秦皮乙素有较好的吸附与解吸附效果, 吸附率和解吸率分别达到了 87.76%, 86.82%。因此, 选择 HPD500 树脂为该化合物纯化的最佳树脂。

表 2 不同型号大孔树脂对秦皮乙素的吸附与解吸附情况

Table 2 The absorption and desorption characteristics of the different resin on esculetin %

树脂型号	吸附率	解吸率	比吸附率
HPD100A	57.69	81.65	47.10
HPD400	78.05	85.26	66.54
HPD500	87.76	86.82	76.19
HPD750	78.01	84.50	65.92
NKA	58.93	83.94	49.46
X-5	68.02	77.55	52.75
AB-8	62.01	81.73	50.68
D101	79.32	90.80	72.02

2.2 静态吸附动力学曲线

溶质在溶液体系中进行吸附时, 溶剂、溶质对吸附剂进行竞争, 假设溶剂的吸附可忽略时, 吸附体系可用单组分吸附来处理。静态吸附动力学曲线显示了吸附剂对溶质的吸附量随时间的变化过程^[9]。如图 1 所示, 5 h 内 HPD500 树脂的吸附量不断增加; 5 h 后, HPD500 树脂的吸附量已基本保持平衡。因此, HPD500 树脂对天山莖菜秦皮乙素的吸附时间为 5 h。

2.3 HPD500 树脂对秦皮乙素的吸附动力学模型

大孔树脂对有效成分的吸附为物理过程, 主要通过

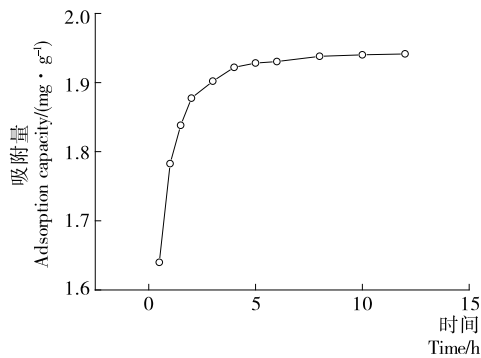


图 1 298 K 时 HPD500 树脂对秦皮乙素的静态吸附动力学曲线

Figure 1 The kinetics curve of static adsorption of esculetin on HPD500 at 298 K

范德华力或者氢键进行。为阐明吸附机理,分别将拟一级、拟二级动力学模型应用于结果的分析讨论中^[10]。

拟一级动力学模型的表达式: $\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$,

通过取对数变换为 $q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$,

拟二级动力学模型表达式: $\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$, (8)

式中:

q_t ——某一时间的吸附量,mg/g;

q_e ——平衡吸附量,mg/g;

k_1 ——拟一级动力学模型的速率常数;

k_2 ——拟二级动力学模型的速率常数。

以 q_t 为纵坐标对 t 作图,可判断反应是否符合拟一级动力学规律并求得反应系数 k_1 。

以 t/q_t 对 t 作图,可判断反应是否符合拟二级动力学规律并求得反应系数 k_2 。

由表 3 可知,拟二级动力学方程能更好地描述 HPD500 树脂对秦皮乙素的吸附过程,相关系数 R^2 为 0.999。

进一步用粒子扩散动力学 Kannan 方程 ($q_t = k_3 t^{0.5} + C$, 式中 k_3, C 为常数) 分析结果,以 $t^{0.5}$ 为横坐标, q_t 为纵坐标,拟合动力学试验数据^[11]。由表 3 可知,粒子扩散动力学 Kannan 方程不适合描述整个吸附过程,吸附速率的控制步骤除颗粒内扩散外,可能还存在边界层扩散和液膜扩散等其他吸附作用。

表 3 HPD500 型大孔树脂对秦皮乙素吸附量的动力学参数

Table 3 Kinetic parameters of adsorption capacity of HPD500 macroporous resin for esculetin

拟一级动力学			拟二级动力学			粒子扩散方程		
K_1	$q_e / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	R^2	K_2	$q_e / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	R^2	K_3	C	R^2
3.713	1.908	0.794	5.741	1.958	0.999	0.083	1.707	0.616

2.4 静态吸附热力学考察

由图 2 可知,随着秦皮乙素质量浓度增加,吸附等温线逐渐趋于平缓。随着温度的升高, q_e 降低,表明低温有利于吸附,HPD500 树脂吸附秦皮乙素是个放热过程。

等温吸附模型的拟合常用 Langmuir 和 Freundlich 方程^[12]。Langmuir 模型为单分子层吸附过程,假定吸附剂的表面分布是均匀的、且吸附物之间无相互作用,该模

型比较适合解释单层吸附,即吸附作用仅发生在吸附剂的外表面。Freundlich 模型不仅能用于单层吸附,还能用于不均匀表面的吸附情况,能很好地解释试验结果。

Langmuir 方程: $q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e}$, (9)

Freundlich 方程: $q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}}$, (10)

式中:

q_e ——平衡吸附量,mg/g;

C_e ——平衡浓度,mg/mL;

q_m ——饱和吸附量,mg/g;

K_L ——Langmuir 常量;

K_F, n ——Freundlich 常数。

由表 4 可知,随着温度的升高, K_F, K_L, q_m 都降低,表明此吸附为放热过程,低温有利于吸附。Freundlich 方程的相关系数 R^2 接近于 1,说明 HPD500 树脂对秦皮乙素的等温吸附更符合该方程,也说明秦皮乙素在 HPD500 上的吸附是非均匀的多层吸附。 $n > 1$,说明该吸附为“优惠吸附”,具有较强的吸附能力。

2.5 吸附热力学参数的计算

吸附热力学参数包括吸附焓变 (ΔH)、吸附自由能

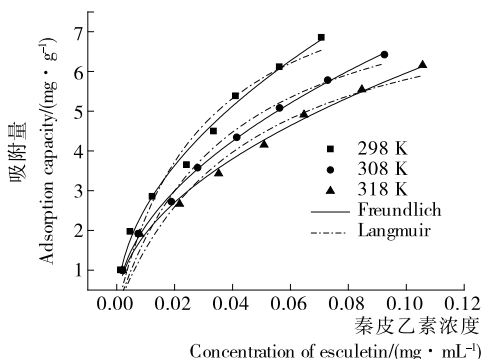


图 2 HPD500 型大孔吸附树脂对秦皮乙素的吸附等温线

Figure 2 Adsorption isotherms of esculetin on macroporous resin HPD500

表 4 两个方程拟合参数
Table 4 Two equation fitting parameters

等温吸附模型	温度/K	表达式方程	K_F	n	R^2
Freundlich	298	$q_e = 25.361\ 57C_e^{0.496\ 67}$	25.361 57	2.013 41	0.990 11
	308	$q_e = 21.379\ 66C_e^{0.502\ 26}$	21.379 66	1.991 00	0.997 66
	318	$q_e = 18.471\ 5C_e^{0.491\ 22}$	18.471 50	2.035 75	0.993 84
等温吸附模型	温度/K	表达式方程	K_L	q_m	R^2
Langmuir	298	$q_e = \frac{9.293\ 37C_e}{0.029\ 86 + C_e}$	33.485 62	9.293 37	0.961 24
	308	$q_e = \frac{8.783\ 67C_e}{0.038\ 56 + C_e}$	25.934 18	8.783 67	0.968 47
	318	$q_e = \frac{8.375\ 64C_e}{0.044\ 45 + C_e}$	22.497 42	8.375 64	0.945 48

变(ΔG)和吸附熵变(ΔS)。按文献[13—14]的方法计算热力学参数。等量吸附焓变 ΔH 和树脂吸附量有密切关系, Van't Hoff 方程:

$$\ln(1/C_e) = \ln K_0 + (-\Delta H/RT), \tag{11}$$

式中:

K_0 ——Van't Hoff 方程常数;

R ——理想气体常数 8.314 J/(mol·K)。

ΔH 按式(11)计算,以 $\ln(1/C_e)$ 对 $1/T$ 作图,通过拟合方程计算 ΔH 。

吸附自由能 ΔG 可通过 Gibbs 方程从吸附等温线衍生计算得式(12):

$$\Delta G = -RT \int_0^x q \frac{dx}{x}, \tag{12}$$

式中:

q ——吸附量, mg/g;

x ——溶液中吸附质的摩尔分数。

如 q, x 符合 Freundlich 方程,则 $q = kx^{\frac{1}{n}}$, $\tag{13}$

将式(13)代入式(12)得式(14):

$$\Delta G = -nRT, \tag{14}$$

式中:

n ——Freundlich 方程中的参数。

说明 ΔG 与吸附量 q 无关。

吸附熵 ΔS 按式(15)算:

Gibbs-Helmholtz 方程: $\Delta S = (\Delta H - \Delta G)/T$ 。 $\tag{15}$

由表 5 可知,不同初始浓度下的 ΔH 均 <0 ,表明吸附为放热过程,与吸附等温线得出的结论一致。 ΔG 均 <0 ,说明树脂吸附秦皮乙素是自发的,且随温度的升高, ΔG 逐渐增大,自发程度减小,升温不利于吸附。 ΔG 和 ΔH 的绝对值分别 $<20, 40$ kJ/mol,说明吸附为物理过程^[15-16]。 ΔS 始终 <0 ,说明吸附后溶液体系的混乱程度降低,可能由于溶质分子被吸附到树脂表面上而导致溶质分子在溶液中的自由度降低。

2.6 大孔树脂动态吸附与解析

2.6.1 单因素试验 由图 3(a)可知,当上样浓度 $< 2.593\ 5$ mg/mL 时,随浓度的增大,吸附量逐渐增加;超过 2.593 5 mg/mL 时,吸附量下降。因此,选择最适的上样浓度为 2.593 5 mg/mL。由图 3(b)可知,当上样体积为 30 mL(即两个柱体积,2 BV)时,有少量的秦皮乙素泄漏,

表 5 HPD500 树脂吸附秦皮乙素的热力学参数

Table 5 Thermodynamic parameters for the adsorption of esculetin on HPD500 resin

$C_0/$ (mg·mL ⁻¹)	$\Delta H/$ (kJ·mol ⁻¹)	$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$			$\Delta S/(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1})$		
		298 K	308 K	318 K	298 K	308 K	318 K
0.051 7	-17.92	-4.99	-5.10	-5.38	-43.39	-41.63	-39.42
0.103 4	-21.91	-4.99	-5.10	-5.38	-56.80	-54.60	-51.99
0.155 1	-22.72	-4.99	-5.10	-5.38	-59.51	-57.22	-54.53
0.206 8	-14.89	-4.99	-5.10	-5.38	-33.22	-31.79	-29.89
0.258 5	-16.52	-4.99	-5.10	-5.38	-38.71	-37.10	-35.04
0.310 2	-18.03	-4.99	-5.10	-5.38	-43.76	-41.98	-39.77
0.361 9	-16.23	-4.99	-5.10	-5.38	-37.71	-36.13	-34.10
0.413 6	-15.89	-4.99	-5.10	-5.38	-36.57	-35.03	-33.03

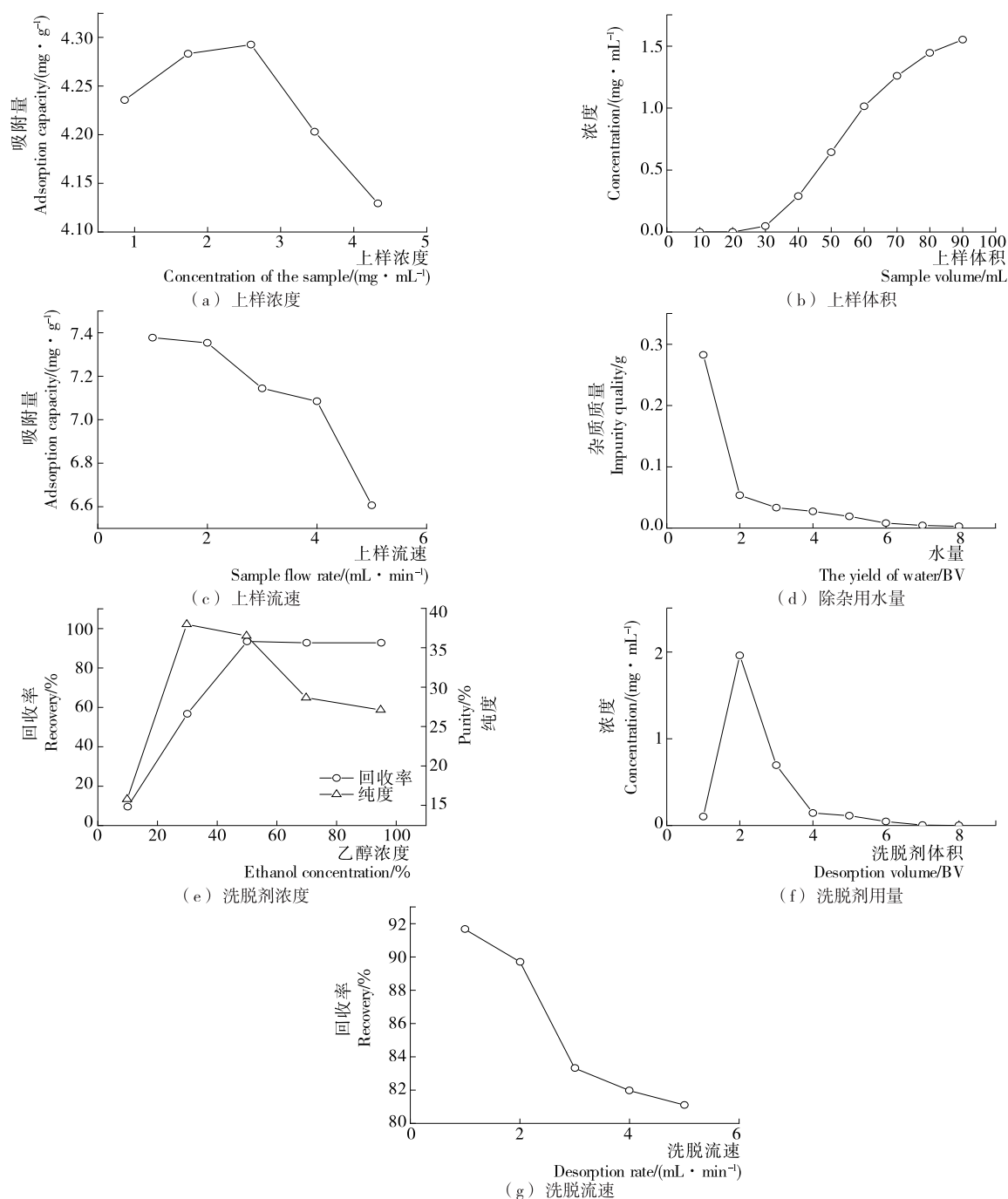


图3 大孔树脂动态试验结果

Figure 3 Dynamic experiment results of macroporous resin

超过 30 mL,出现大量泄漏。通过换算,确定最大上样量为 7.780 5 mg/g · 树脂。如图 3(c)所示,随着流速的增大,吸附量不断降低,秦皮乙素未被吸附就洗脱。上样流速小,化合物能被树脂充分地吸附。考虑时间成本因素,选择上样流速为 2.0 mL/min。由图 3(d)可知,除杂用水量增加,所得杂质的质量明显减少;达到 7 BV 时,杂质的质量变化很小,绝大部分杂质已被洗脱下来。故选取 7 倍量的蒸馏水除杂。由图 3(e)可知,乙醇浓度越高,回收率

较高,可能是由于秦皮乙素分子量小,脂溶性较大。乙醇浓度 > 50% 时,其浓度越高,洗脱下的杂质越多,纯度也越低。故洗脱溶剂确定为 50% 乙醇。由图 3(f)可知,7 BV 的 50% 乙醇溶液可将秦皮乙素几乎全部洗脱下来。故选择 7 BV 的 50% 乙醇洗脱。如图 3(g)所示,洗脱流速过快,越不利于秦皮乙素的洗脱,其回收率逐渐减小。因此,选取 2.0 mL/min 为洗脱流速。

2.6.2 验证实验 在最佳条件下,秦皮乙素的平均回收

率为 93.32%, RSD 为 1.20%; 平均纯度为 37.16%, RSD 为 0.56%, 说明优选的工艺稳定可行。

3 结论

HPD500 树脂对秦皮乙素具有较高的吸附率和解吸附率; 吸附过程符合 Freundlich 等温方程, 降温有利于吸附; 吸附是一个自发 ($\Delta G < 0$)、放热 ($\Delta H < 0$) 的物理过程。熵变 $\Delta S < 0$, 表明吸附为熵减的过程; 吸附动力学符合拟二级动力学方程, 相关系数为 0.999, 能有效反映 HPD500 树脂对秦皮乙素的吸附过程。动态试验结果显示, 天山董菜秦皮乙素上样浓度 2.593 5 mg/mL, 最大上样量 7.780 5 mg/g · 树脂, 上样流速 2.0 mL/min, 除杂水量 7 BV, 7 BV 50% 乙醇溶液洗脱, 洗脱流速 2.0 mL/min 时, 解吸率可达 93.32%, 所得提取物中秦皮乙素含量由上样前的 0.90% 提高到 37.16%, 提高了 41 倍。以上试验结果表明, 该工艺成本低、简单易操作, 适用于天山董菜秦皮乙素的工业化大生产。后续可通过各种色谱技术进一步探索建立从提取物中获得高纯度秦皮乙素的纯化方法。

参考文献

- [1] 刘勇民. 维吾尔药志: 上册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 35-37.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅. 维吾尔药材标准: 上册[S]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 54.
- [3] 梁承远, 张诗韵, 毛跟年, 等. 秦皮乙素及其衍生物的合成与药理学研究进展[J]. 陕西科技大学学报: 自然科学版, 2015, 33(2): 126-133.
- [4] 盛萍, 堵年生, 古丽·斯坦, 等. HPLC 法测定维吾尔药天山董菜中七叶内酯的含量[J]. 新疆医科大学学报, 2003, 26(6): 586-587.
- [5] 杨瑾. 天山董菜化学成分及生物活性研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2010: 120-122.
- [6] GökMEN V, SEROEN A. Equilibrium and kinetic studies on the adsorption of dark colored compounds from apple juice using adsorbent resin[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 53(3): 221-227.
- [7] BURAN T J, SANGHU A K, LI Z, et al. Adsorption/desorption characteristics and separation of anthocyanins and polyphenols from blueberries using macroporous adsorbent resins[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 128(1): 167-173.
- [8] 米靖宇, 宋纯洁. 大孔吸附树脂在中草药研究中的应用进展[J]. 中成药, 2001, 23(12): 914-917.
- [9] 秦丽红, 张凤宝, 张国亮. NTS 在大孔吸附树脂 E 的吸附动力学及机理[J]. 化学工业与工程, 2007, 24(3): 245-248.
- [10] HO Y S, NG J C Y, MCKAY G. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review[J]. Separation and Purification Methods, 2000, 29(2): 189-232.
- [11] WANG Yan-jun, WU Ye-fei, XUE Feng, et al. Isolation of brefeldin A from Eupenicillium brefeldianum broth using macroporous resin adsorption chromatography[J]. Journal of Chromatography B, 2012, 895(1): 146-153.
- [12] ZHANG Bin, YANG Rui-yuan, ZHAO Yan, et al. Separation of chlorogenic acid from honeysuckle crude extracts by macroporous resins[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 867(2): 253-258.
- [13] 施淑琴, 施群, 钟宇森, 等. 筋骨草总黄酮大孔树脂吸附热力学研究[J]. 离子交换与吸附, 2013, 35(2): 401-403.
- [14] 王晓红, 李万忠. 离子交换纤维吸附银杏黄酮的动力学与热力学研究[J]. 中成药, 2014, 36(2): 276-279.
- [15] 汤春妮, 樊君, 李白存, 等. 大孔吸附树脂纯化草木樨香豆素的动力学和热力学[J]. 化学工程, 2010, 38(9): 1-5.
- [16] 唐文. 大孔树脂分离纯化岩黄莲生物总碱的工艺研究[D]. 南宁: 广西大学, 2009: 40.

信息窗

最新研究: 罐装天然果汁比汽水更致命 患病早死风险高达 24%

根据《CNN》报道, 埃默里大学和康乃尔大学共同做了一项研究, 分析了美国 1.3 万名 45 岁或以上黑人及白人的饮料习惯。研究人员首次把百分百天然果汁, 加入糖分的汽水和柠檬水作样本去比较。

经长达 6 年的时间观察后发现, 当中有 1 000 人因为不同原因死亡, 而 168 人死于冠状动脉疾病。这 1 000 人中, 有 8.4% 人士每日饮用含糖饮品, 另有 4% 人每日饮用百分百天然果汁。结果发现, 每日饮用 1 罐含糖饮品比如可乐, 患病风险增加 11%; 而日饮 1 杯约

340 mL 百分百天然果汁者, 患病风险更增加达 24%。

报告解释, 虽然果汁的糖分天然, 但与含糖饮品及苏打水中的糖分结构相似。1 罐饮料约有 330 mL, 1 罐份量的天然果汁早已超出每日应饮用的份量。

专家建议饮用果汁要适可而止, 每日饮用最好不超过 150 mL (半罐份量) 的果汁, 患病风险就会大大降低。

(来源: <http://news.foodmate.net>)