

大孔树脂吸附分离紫苏茎总黄酮的工艺研究

吴元锋^{1,2}, 孟耀庭^{1,2}, 毛建卫^{1,2}, 黄俊^{1,2}, 刘士旺^{1,2}

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023)

摘要: 考察了大孔树脂对紫苏茎提取液中总黄酮的吸附性能, 优化了吸附工艺参数。首先对 D-101、AB-8、DM130、ADS-7 和 ADS-17 共 5 种大孔树脂的静态吸附量和解析率进行了实验, 选择 AB-8 为最佳吸附树脂; 静态吸附表明, 3 h 内吸附即可达到平衡。还考察了上样速率、上样质量浓度、洗脱液乙醇质量分数和洗脱速率对分离的影响, 结果表明优化的条件为: 上样速率为 1 BV/h, 上样质量浓度为 0.15 mg/mL, 洗脱液乙醇质量分数为 70%, 洗脱流速为 2 BV/h。在此条件下, 总黄酮洗脱率为 93.56%, 总黄酮纯度可提高 4.5 倍。

关键词: 紫苏茎; 总黄酮; 大孔树脂; 吸附

中图分类号: TS202.3

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2012)03-0232-05

Study on separation of total flavonoids from stems of *Pefilla frutescens* by macroporous resins

WU Yuan-feng^{1,2}, MENG Yao-ting^{1,2}, MAO Jian-wei^{1,2}, HUANG Jun^{1,2}, LIU Shi-wang^{1,2}

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Chemical and Biological Processing Technology of Agricultural Products, Hangzhou 310023, China)

Abstract: The absorption property of *pefilla frutescens* total flavonoids on macroporous resins were studied, and the adsonrption parameters were optimized. Among five types of macroporous adsorption resin chosen, the results showed that AB-8 type macroporous resin is suitable for separating *Pefilla* flavonoids. Static adsorption showed that adsorption equilibrium can be reached in 3 h. Then the effects of sampling concentration, sampling rate, eluting concentrantion and velocity on the separation were examined, the optimun conditions was: sampling rate 1 BV/h, sampling concentration 0.15 mg/mL, eluting concentration 70%, eluting velocity 2 BV/h. Under this condition, the elution rate of flavone is 93.56%, the purity of flavone can be improved 4.5 times.

Key words: stems of *Pefilla frutescens*; total flavonoids; macroporous resin; adsorption

收稿日期: 2011-12-09

基金项目: 浙江省科技计划项目(2009C32060)

作者简介: 吴元锋(1976—), 男, 浙江省临安人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物提取纯化研究。

紫苏(*Pefilla frutescens* (L.) Britt)别名赤苏、红苏、红紫苏、香苏,系唇形科紫苏属一年生草本植物,目前中国各地均有栽培,主产于江苏、安徽、湖南等地,分布于全国 20 多个省(自治区、直辖市),具有极为广泛的资源价值,是中国传统的药食植物,且富含黄酮类化合物^[1]。紫苏叶、茎、籽可分别入药,药效各有不同,紫苏叶具有解表散寒,行气和胃功效;紫苏梗具有理气宽中,止痛,安胎功效;紫苏籽具有降气消痰,平喘,润肠功效^[2]。李秀信的实验表明,紫苏茎中含有黄酮类、二氢黄酮类、黄酮醇类和二氢黄酮醇类等多种黄酮类化合物^[3]。

国内已有学者对大孔树脂吸附纯化紫苏总黄酮^[4]、紫苏叶总黄酮^[5]、白苏的地上部分总黄酮^[6]等工艺进行了研究。本研究以紫苏茎总黄酮为原料,选用 5 种不同类型的吸附树脂 D-101、AB-8、DM130、ADS-7 和 ADS-17 进行试验,通过静态吸附筛选出最适合紫苏茎总黄酮纯化的大孔树脂,然后对上样总黄酮质量浓度、上样速率、解吸浓度、洗脱速率等进行动态吸附试验,得出优化的分离工艺,为大孔树脂吸附分离紫苏茎总黄酮奠定基础。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器

T6 新世纪紫外现代分光光度计,RE-200 型旋转蒸发器,SHZ-CB 型循环水式多用真空泵,数显恒温水浴锅,自动部分收集器,电子天平,GZX-9070 MBE 数显鼓风干燥箱。

1.1.2 材料与试剂

原料:紫苏茎,产自浙江衢州。

标准品:二水栝精(纯度 98%),购自上海阿拉丁。

主要试剂:无水乙醇、冰醋酸、石油醚、醋酸钠、无水三氯化铝均为分析纯。

大孔树脂:D-101、AB-8、DM130、ADS-7、ADS-17,购自沧州宝恩吸附材料科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 粗提物的制备

粉碎干燥紫苏样品,以 60%乙醇为提取剂,料液比为 1:30,提取时间为 60 min,提取温度 50℃,进行超声波辅助提取,得到紫苏提取液,将紫苏提取液浓缩得浸膏。

1.2.2 标准曲线的绘制

采用氯化铝法:二水栝精标准品(纯度 98%)用 50%乙醇配成 0.1 mg/mL 溶液,分别精密吸取该标准溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 于 25 mL 容量瓶中,加 8 mL1.5%三氯化铝溶液与 4 mL pH 5.5 的醋酸钠缓冲液,然后用 50%乙醇溶液定容,静置 0.5 h 后,于紫外分光光度计 415 nm 处测定,得回归方程 $Y=0.5196X+0.0331$, $R^2=0.9952$ 。

1.2.3 树脂静态吸附量及解吸率的测定

三角瓶中加入经过预处理的 D-101、AB-8、DM130、ADS-17 和 ADS-7 大孔树脂各 2 g,加入质量浓度为 0.46 mg/mL 的紫苏黄酮提取液各 30 mL,置于 25℃摇床上震荡 24 h 后测溶液未被吸附的黄酮含量,按下式计算静态吸附量:

$$A_1=\frac{(C_0-C_1)V}{W}$$

式中: A_1 —黄酮吸附量,mg/g; C_0 、 C_1 —初始、残余黄酮质量浓度,mg/mL; V —料液体积,mL; W —大孔树脂质量,g。

根据树脂的吸附量,选择 2 种吸附率较大的树脂,加入 70%的乙醇后放入摇床解吸,根据下式计算解吸率:

$$A_2=\frac{C_3}{C_0-C_2}\times 100\%$$

式中： A_2 —解析率； C_2 、 C_3 —吸附饱和时，解吸液黄酮质量浓度，mg/mL。

1.2.4 大孔树脂静态吸附曲线

大孔树脂滤至没有水流出，精确称取 2 g 大孔树脂放入 100 mL 三角瓶中，加入 30 mL 紫苏茎总黄酮提取液（质量浓度为 0.46 mg/mL），放入 25℃ 摇床中进行吸附实验，每 1 h 吸取 1 mL 溶液，分光光度法测定溶液中黄酮含量，共吸附 12 h，得出大孔树脂静态吸附曲线。

1.2.5 大孔树脂吸附紫苏茎总黄酮工艺的确定

1.2.5.1 上样黄酮质量浓度对吸附的影响 分别配制质量浓度为 0.46、0.15、0.05 mg/mL 的黄酮溶液，大孔树脂湿法装柱，用大量水淋洗后分别上样 3 种不同质量浓度黄酮溶液，每 1 柱床体积（BV）收集 1 瓶，上样流速为 1 BV/h，直至流出液黄酮质量浓度为上样液的 1/10（即穿透）。

1.2.5.2 上样流速对吸附的影响 选择上样液质量浓度为 0.15 mg/mL，依次用 0.6、1、2 BV/h 流速上样，测定流出液黄酮质量浓度，直至流出液黄酮质量浓度为上样液的 1/10。

1.2.5.3 乙醇质量分数对洗脱的影响 大孔树脂经过紫苏黄酮吸附饱和后，分别用 50%、70%、90% 的乙醇溶液洗脱，流速为 1 BV/h，分别测定流出液黄酮质量浓度，得出解吸曲线。

1.2.5.4 乙醇洗脱速率对洗脱的影响 大孔树脂经过紫苏黄酮吸附饱和后，分别以 1 BV/h、2 BV/h、3 BV/h 流速洗脱，乙醇质量分数为 70%，分别测定流出液黄酮质量浓度，得出解吸曲线。

2 结果与讨论

2.1 大孔树脂对紫苏茎总黄酮的吸附量

按 1.2.3 方法，分别计算出 5 种大孔树脂对总黄酮的静态吸附量，结果见表 1。

由于大孔树脂极性、孔径、比表面积、孔容等不同，故不同的大孔树脂对吸附分离的影响很大。在所选择的 5 种大孔树脂中，D-101 是非极性，AB-8 是弱极性，DM130 是中等极性，ADS-7 和 ADS-17 是极性大孔

树脂。从表 1 可以看出，5 种型号大孔树脂中，以 AB-8 对吸附量最高，其次是 D-101，这可能是由于 AB-8 是弱极性吸附树脂，因此对于极性较弱的总黄酮有较好的吸附性能。非极性的 D-101 树脂对总黄酮也有较好的吸附效果。而中等极性和极性的大孔树脂对紫苏黄酮吸附效果较差。在下面的解析率实验中，选取 AB-8 和 D-101 树脂进一步实验。

2.2 大孔树脂对紫苏茎总黄酮的解吸率

静态吸附实验中吸附饱和的 AB-8、D-101 大孔树脂用 70% 乙醇解吸 12 h，其解吸率结果见表 2。从表 2 可以看出，从吸附量和解吸率来看，AB-8 树脂都优于 D-101 树脂。这是因为紫

苏茎总黄酮是弱极性物质，在弱极性柱上更容易被吸附，同时可能是由于比表面积较大的原因，也较容易被洗脱，故解析率更高，因此在静态吸附和动态吸附实验中，选择 AB-8 为吸附树脂。

2.3 AB-8 对紫苏茎总黄酮静态吸附曲线绘制

选择 AB-8 大孔树脂，按 1.2.4 方法，测定不同时间总黄酮浓度，绘制静态吸附曲线，如图 1 所示。从图 1 中可看出，总黄酮的初始质量浓度为 0.46 mg/mL，1 h 后即降到 0.29 mg/mL，但此后吸收率变化开始变小，3 h 后吸附率基本趋于稳定，吸附量不再明显变化。

表 1 大孔树脂对紫苏茎总黄酮的吸附量

Table 1 Adsorption capacity of macroporous resin to total flavonoids of stem of *Pefilla frutescens*

树脂型号	料液初始总黄酮质量 浓度/(mg · mL ⁻¹)	吸附 24 h 后总黄酮质 量浓度/(mg · mL ⁻¹)	大孔树脂吸附 量/(mg · g ⁻¹)
D-101	0.46	0.23	3.36
AB-8	0.46	0.22	3.53
DM130	0.46	0.33	1.91
ADS-7	0.46	0.31	2.24
ADS-17	0.46	0.35	1.70

表 2 AB-8、D-101 大孔树脂的解吸率

Table 2 Desorption capacity of macroporous resin AB-8 and D-101

树脂型号	黄酮吸附量/mg	黄酮解吸量/mg	解吸率/%
AB-8	3.53	3.08	87.38
D-101	3.36	2.76	82.14

2.4 不同上样质量浓度对 AB-8 吸附的影响

按 1.2.5.1 方法,试验不同上样质量浓度对 AB-8 大孔树脂吸附性能的影响,结果见图 2。

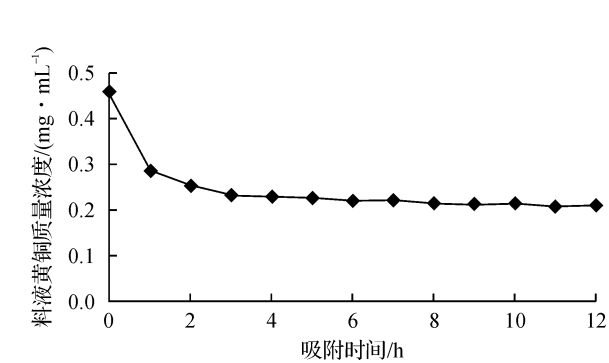


图 1 AB-8 大孔树脂的静态吸附曲线

Fig. 1 Static absorption curve of macroporous resin AB-8 to *Pefilla* flavone

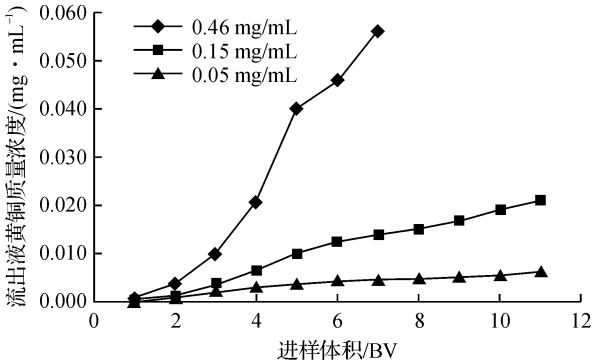


图 2 上样质量浓度对大孔树脂吸附性能的影响

Fig. 2 Effect of *Pefilla* flavone concentration on adsorption capacity of macroporous resin

从上样质量浓度对吸附性能的影响来看,上样总黄酮质量浓度为 0.46 mg/mL 时,穿透点出现最早,在 6 BV 附近即可穿透,此时总黄酮质量浓度较高,可能造成大孔树脂使用周期短,树脂再生次数增多;而上样总黄酮质量浓度为 0.05 mg/mL 时,穿透点出现最晚,在 11 BV 附近才穿透,这将会使生产周期过长;上样总黄酮质量浓度 0.15 mg/mL 时,穿透点出现在 8 BV 附近。因此,选择最佳上样质量浓度为 0.15 mg/mL。

2.5 不同上样速率对 AB-8 吸附性能的影响

进样质量浓度为 0.15 mg/mL 时,对不同上样速率下进行大孔树脂吸附性能试验,3 种不同上样流速下的吸附性能如图 3 所示。

由图 3 可知,上样流速在 0.6 BV/h 时,穿透点出现最晚,在 11 BV 处才穿透;上样流速为 1 BV/h 时,穿透点在 8 BV 处出现;而上样流速为 2 BV/h 时,6 BV 处即可实现穿透。黄酮溶液越慢通过树脂柱,越能和树脂充分接触,从而提高吸附效果,但是流速慢会导致整个吸附时间大大延长。而流速太快,导致穿透点过早出现,吸附效果也会变差,紫苏茎总黄酮在树脂上吸附量会变小。因此,从工业化生产成本上综合考虑,取上样流速为 1 BV/h,此时吸附效果较好,生产周期也较短。

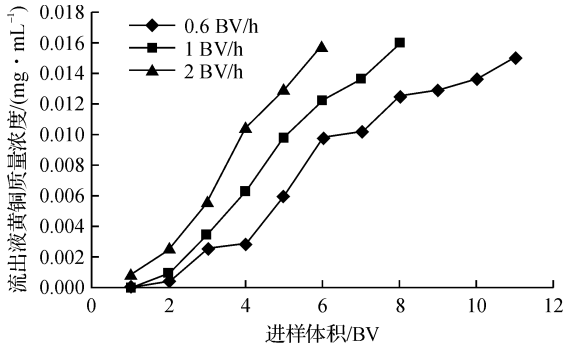


图 3 上样流速对 AB-8 大孔树脂吸附性能的影响

Fig. 3 Effect of flow rate on adsorption capacity of macroporous resin AB-8

2.6 不同乙醇质量分数洗脱对 AB-8 洗脱性能的影响

按 1.2.5.3 方法,依次采用 3 种不同质量分数的乙醇溶液对大孔树脂进行洗脱,解吸曲线见图 4。

从不同质量分数乙醇溶液对洗脱效果的影响来看,总的效果是乙醇质量分数越高,总黄酮洗脱的速率越快,但差别不是很大。另外,还测定了 3 种质量分数乙醇溶液的洗脱率,50%、70%、90% 质量分数乙醇溶液对总黄酮的洗脱率分别为 87.79%、95.35%、91.56%。综合来看差别不大,但是乙醇质量分数选在 70% 稍好。

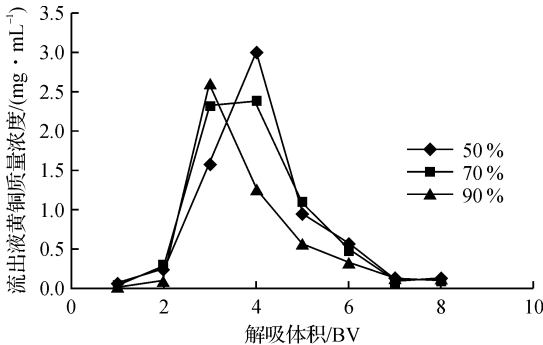


图 4 不同乙醇质量分数洗脱对 AB-8 洗脱性能的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on desorption capacity of macroporous resin AB-8

2.7 不同洗脱速率对大孔树脂洗脱性能的影响

按 1.2.5.4 方法,选择 3 种洗脱流速进行洗脱,洗脱曲线如图 5 所示。

从图 5 中可以看出,洗脱速率越快,总黄酮出峰时间越早。洗脱流速为 3 BV/h 时,洗脱体积为 2 BV 时黄酮质量浓度即达到最大;洗脱流速为 2 BV/h 时,对应的洗脱体积为 3 BV;而洗脱流速为 1 BV/h 时,洗脱体积为 4 BV 后流出液总黄酮质量才开始下降。另外,测定了 3 种洗脱流速下总黄酮的洗脱率,洗脱速率下为 1、2、3 BV/h 时,AB-8 大孔树脂对总黄酮的洗脱率分别为 95.35%、93.56%和 76.67%。因此,洗脱速率为 3 BV/h 时,出峰时间最短,但洗脱率最低;洗脱速率为 1 BV/h 时,洗脱率最高,但是出峰时间最长,而且拖尾严重,生产周期较长。因此,选择最佳洗脱速率为 2 BV/h。

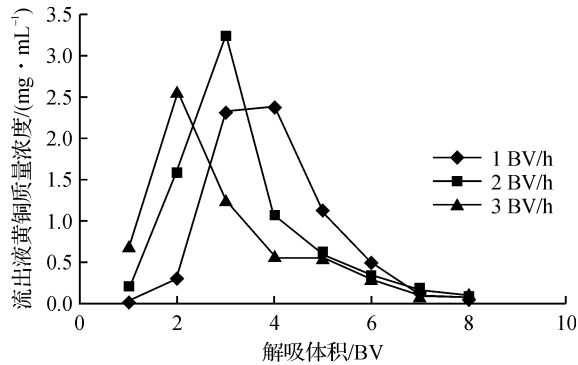


图 5 不同洗脱流速对 AB-8 洗脱性能的影响

Fig. 5 Effect of elution rate on desorption capacity of macroporous resin AB-8

2.8 大孔树脂吸附后总黄酮纯度比较

根据氯化铝法测定吸附前后黄酮的含量,得出大孔树脂吸附前紫苏茎总黄酮纯度为 11.3 %;经过大孔树脂吸附纯化后的总黄酮纯度为 50.7 %,说明 AB-8 树脂适合分离以紫苏茎为原料提取得到的总黄酮。

3 结 语

本研究从吸附性能、上样质量浓度、上样速率、洗脱浓度、洗脱速率等方面考察了紫苏茎总黄酮的分离工艺。静态吸附试验表明,AB-8 大孔树脂对紫苏茎总黄酮的吸附量较高;动态吸附试验表明,上样速率与上样质量浓度分别为 1 BV/h 和 0.15 mg/mL,乙醇洗脱的质量分数为 70%,洗脱速率为 2 BV/h 时,总黄酮洗脱率为 93.56%,总黄酮纯度可提高 4.5 倍。

参考文献:

[1] 刘大川,王静,苏望懿,等. 紫苏的开发研究及进展[J]. 武汉工业学院学报,2000(4):1-3.

[2] 邹盛勤,刘坤,陈武. 紫苏不同部位中乌索酸和齐墩果酸的含量比较[J]. 食品工业科技,2008(4):284-286.

[3] 李秀信,汪晓峰,王兰珍,等. 紫苏茎中黄酮类化合物的提取及鉴定[J]. 西北农业学报,2002,11(4):49-51.

[4] 聂彝,余陈欢,王芳芳,等. 大孔树脂分离纯化紫苏总黄酮的工艺研究[J]. 中华中医药学刊,2008(2):423-425.

[5] 胡晓丹,孙爱东,徐瑞聪,等. 大孔吸附树脂纯化紫苏叶总黄酮的研究[J]. 中药材,2009(3):438-441.

[6] 王薇,余陈欢,刘晶晶,等. 大孔树脂吸附纯化白苏总黄酮的工艺研究[J]. 食品科技,2009,34(1):152-155.