

大孔树脂吸附纯化大叶紫薇叶中总三萜的研究

纵伟^{1,2}, 夏文水^{1*}, 崔宝良³

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214036; 2. 郑州轻工业学院食品工程系, 河南郑州 450000;

3. 无锡杰西医药科技有限公司, 江苏无锡 214036)

摘要: 采用树脂吸附法分离大叶紫薇叶中总三萜, 通过对 5 种不同类型的树脂的筛选, 发现 HPD100 树脂对大叶紫薇叶中总三萜具有较大的吸附量。对 HPD100 树脂吸附大叶紫薇叶中总三萜的吸附性能进行了研究, 得到了吸附等温线、动力学曲线、穿透曲线。经过树脂纯化, 大叶紫薇叶总三萜提取物的纯度从 15.6% 提高到 30.3%。

关键词: 大孔吸附树脂, 吸附, 大叶紫薇总三萜

Abstract: Five kinds of macroporous resins named as HPD-100, AB-8, D101, NAK-II and S-8 have been selected to purify *Lagerstroemia speciosa* total triterpenes. The comparative research on adsorption isotherm, sorption capacity, desorption ratio and sorption kinetics have also been done. The result showed that HPD-100 resin was an excellent adsorbent. The yield of *Lagerstroemia speciosa* total triterpenes purified with HPD-100 resin was increased from 15.6% to 30.3%.

Key words: macroporous adsorptive resins; adsorption; total triterpenes of *Lagerstroemia speciosa*

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)09-0049-04

大叶紫薇 (*Lagerstroemia speciosa* L.) 叶中的降血糖物质主要是三萜类物质^[1-3], 因此, 分离纯化大叶紫薇叶中的三萜物质具有重要意义。

目前, 三萜类化合物的纯化主要是采用有机溶剂萃取法或反复硅胶柱层析法。萃取法消耗大量溶剂, 且产品纯度不高; 硅胶吸附柱层析法对原料预处理要求高, 生产能力低且成本高。大孔吸附树脂吸附纯化是近年来在天然产物的分离纯化中广泛采用的技术, 具有成本低、效率高、可再生等优点。

一般大孔吸附树脂吸附纯化天然产物中的成分是在水相中吸附, 而大叶紫薇中的三萜物质不溶于水, 易溶于乙醇、石油醚等有机溶剂, 所以本文通过对几种树脂进行筛选, 选出了在乙醇溶液中吸附总

三萜的合适树脂, 研究了大孔吸附树脂在醇溶液中对大叶紫薇中的三萜物质的吸附特性, 为采用大孔吸附树脂吸附纯化大叶紫薇中的三萜物质提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

大叶紫薇总三萜提取物 自制; 乙腈、甲醇 色谱纯; 磷酸、乙醇、丙酮 为分析纯; 树脂 (HPD-100、AB-8、D101、NAK-II、S-8) 购于天津南开大学化工厂和沧州宝恩公司, 各树脂的理化性质见表 1。

HL-2S 恒流泵 上海沪西分析仪器厂; BS-IE 震荡培养箱 常州国华电器有限公司; UV-2100 紫外-可见分光光度计 尤尼克上海仪器有限公司; HH-2 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司; FA1104 数显电子天平 上海天平仪器厂; 2.6×50cm 的玻璃层析柱 上海沪西层析设备厂; Waters709 高效液相色谱仪 日本 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 树脂的预处理 树脂先用乙醇充分浸泡, 然后用乙醇洗至洗出液加适量水无白色浑浊, 再用去离子水洗净醇, 去醇后再进行酸碱处理: 先用 5% HCl (V/V) 溶液浸泡 3h, 然后用去离子水洗至中性, 接着用 5% NaOH 溶液浸泡 3h, 最后用去离子水洗至中性。

1.2.2 样品溶液的配制 精确称取干燥的大叶紫薇叶总三萜粗品, 乙醇溶解, 稀释到适当的浓度备用。

1.2.3 静态吸附实验

1.2.3.1 总三萜吸附容量的测定 精确称取预处理的干树脂 1.0g, 置于 100mL 具塞磨口三角瓶中, 加 50mL 总三萜乙醇溶液, 置于恒温摇床上震荡吸附 24h, 充分吸附后过滤, 测定剩余总三萜乙醇溶液中总三萜的浓度, 按下式计算各树脂对总三萜的吸附

收稿日期: 2004-12-21 * 通讯联系人

作者简介: 纵伟 (1965-), 男, 博士生, 副教授。

表 1 各种树脂的理化性质

树脂	极性	外观	比表面(m ² /g)	平均孔径 Å
HPD-100	非极性	乳白色不透明球状颗粒	650~700	85~90
AB-8	弱极性	乳白色不透明球状颗粒	480~520	130~140
D101	非极性	乳白色不透明球状颗粒	500~550	
NAK-II	极性	红棕色不透明球状颗粒	160~200	145~155
S-8	极性	乳白色不透明球状颗粒	100~120	280~300

容量(mg/g 干树脂):

$$Q = \frac{(C_0 - C_V)V}{W}$$

式中:Q: 吸附量,mg/g;C₀: 初始浓度,mg/mL;C_V: 剩余浓度,mg/mL;V: 溶液体积,mL;W: 树脂质量,g。

1.2.3.2 总三萜解吸率的测定 吸附饱和的树脂精密加入丙酮溶液 50mL, 置于恒温摇床上震荡解吸 24h, 过滤, 测定丙酮溶液中总三萜的浓度, 按下式计算总三萜解吸率:

$$E\% = \frac{C_b V_b}{Q} \times 100\%$$

式中:E%: 解吸率;C_b: 丙酮溶液中总三萜的浓度(mg/大叶紫薇叶总三萜);V_b: 丙酮溶液体积(mL)。

1.2.3.3 静态吸附动力学实验 取大孔树脂 1g, 放入具塞三角瓶中, 准确加入大叶紫薇叶总三萜溶液 50mL, 在恒温摇床上震荡, 4h 内每隔一定时间取 100μL 的溶液测定其总三萜浓度, 绘制静态吸附动力学曲线。

1.2.4 动态吸附实验 通过大孔吸附树脂对大叶紫薇叶总三萜溶液的静态吸附实验, 对筛选的理想树脂继续进行动态吸附实验。将预处理好的树脂装入玻璃层析柱中, 树脂装样量 100g, 柱床体积为 220mL, 将大叶紫薇叶总三萜溶液提取液上柱, 控制一定的流速, 分步收集, 每管 5mL, 当流出液浓度达到上样液的 1/10 时, 可认为总三萜溶液已透过, 停止上样, 计算吸附量。

$$Q = \frac{(C_1 - C_2)V}{W}$$

式中:Q: 吸附量,mg/g;C₁: 上样浓度,mg/mL;C₂: 流出浓度,mg/mL;V: 上样溶液体积,mL;W: 树脂质量,g。

1.2.5 总三萜含量的测定 采用薄层分光光度法进行^[4]。

1.2.6 HPLC 分析 Luna C₁₈ 色谱柱 (5μm, 250×4.60mm), 流动相为乙腈和 0.2%磷酸(45:55), 流速 1.0mL/min, 检测波长 204nm, 进样量 10μL。

2 结果与讨论

2.1 五种树脂吸附能力的比较

以五种树脂进行吸附后, 结果见图 1。从图中可见, 二种非极性树脂 HPD-100 和 D101 的吸附量较大, 分别达到 56mg/g 和 51mg/g; 弱极性树脂 AB-8

的吸附量居中, 为 49mg/g; 而二种极性树脂 NAK-II 和 S-8 的吸附量较小, 仅为 37mg/g 和 38mg/g。

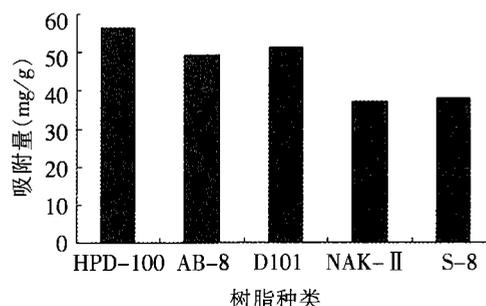


图 1 树脂种类对吸附量的影响

分子极性的大小直接影响分离的效果, 极性较大的化合物一般适宜于在中极性的树脂上分离, 而极性小的化合物适宜于在非极性的树脂上分离。极性大小是个相对的概念, 要根据分子中极性基团(如羟基、羧基等)与非极性基团(如烷基、环烷母核等)的数量与大小来确定。大叶紫薇中三萜酸类化合物的极性较小, 这是由于大叶紫薇中三萜酸类化合物虽然具有少量的羟基、羧基, 但其三萜母核较大, 极性较低, 所以整体极性较低。由于大叶紫薇中三萜酸类化合物极性较低, 所以在极性大的树脂上难于被吸附, 而在极性小的树脂上易于被吸附。

在所筛选的 5 种树脂中, NAK-II 和 S-8 属于极性树脂, AB-8 属于弱极性树脂, 而 HPD-100 和 D101 属于非极性树脂, 所以从分子极性的角度来看, HPD-100 和 D101 具有较好的吸附作用。HPD-100 和 D101 虽然都属于非极性树脂, 但两种树脂的比表面和孔径大小不同, 吸附与交换是在树脂颗粒内部活性基团表面进行, 无论液体或气体, 在固体表面的吸附过程, 主要由外扩散、内扩散和在树脂内表面的吸附 3 步组成, 在这三步中, 哪一步的阻力大, 哪一步就是扩散过程的控制步骤。在保证良好的扩散条件下, 外扩散和内扩散的影响较小, 在吸附剂的内表面上吸附质能否被吸附剂有效吸附成为吸附的关键。吸附树脂的内表面越大, 吸附量越高, 特别是对分子较小的吸附质更为显著。在扩散条件相近的条件下, 树脂的吸附量和比表面大小成正比, 比表面大, 吸附量大。HPD-100 和 D101 树脂相比, HPD-100 的比表面积为 650~700m²/g, 而 D101 树脂的比表面积为 500~550m²/g。

2.2 解吸能力的比较

在选择洗脱剂时,对非极性树脂,一是要求采用对化合物有较好溶解度的溶剂,二是要求洗脱液有较好的极性,这样可得到高浓度的洗脱液,常用的溶剂是水、低级醇、丙酮、乙酸乙酯等,由于吸附时采用的溶剂是乙醇,因此,洗脱时可采用比乙醇极性低的溶剂。采用丙酮、乙酸乙酯进行解吸发现,两者都具有较好的解吸能力,从经济角度考虑,采用丙酮作为解吸剂,图2是丙酮对五种树脂的解吸效果。

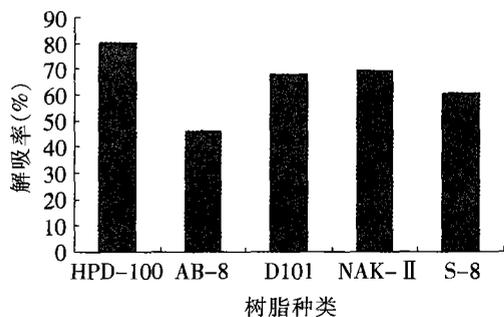


图2 不同树脂的解吸曲线

从图中可见,HPD-100、D101和NAK-II树脂都具有较高的解吸率,分别达到79.5%、69.1%和67.7%,结合吸附能力的比较,最终选择HPD-100作为纯化大叶紫薇中三萜酸类化合物的树脂。

2.3 静态吸附等温线

图3为树脂HPD-100的静态吸附曲线。从图3可见,吸附等温线的形状为对数曲线形,在相同的浓度条件下,吸附量 $40^{\circ}\text{C} < 30^{\circ}\text{C} < 20^{\circ}\text{C}$,表明吸附过程为放热过程。目前,对静态吸附有许多不同的吸附经验方程,其中应用最广泛的、最经典的是Freundlich方程($\log q = n \log C + \log K_f$, n 和 K_f 为常数)。

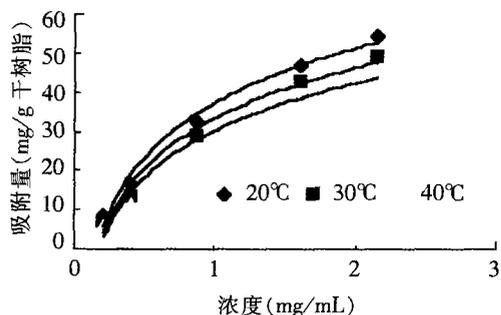


图3 HPD-100的静态吸附曲线

对图3的静态吸附曲线按Freundlich方程进行拟合,表明Freundlich方程能够很好的拟合实验数据。

表2 Freundlich拟合方程及其参数

温度(°C)	回归方程	K_f	n	r
20	$\log q = 0.7902 \log C + 1.5079$	32.20	0.7902	0.9883
30	$\log q = 0.8267 \log C + 1.4524$	28.34	0.8261	0.9898
40	$\log q = 0.8676 \log C + 1.4022$	25.25	0.8676	0.9923

2.4 静态吸附动力学

吸附量随时间的变化曲线如图4所示。

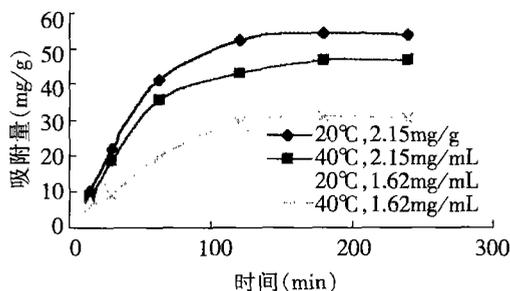


图4 动力学曲线

从图可见,吸附开始时很快,当时间超过120min后,吸附趋于平衡,温度升高,吸附量减小,浓度提高,吸附量增大。

2.5 动态吸附和解吸

采用浓度2.15mg/mL的总三萜溶液进行动态吸附,吸附透过曲线如图5所示。从图中可见,当采用2mL/min的流速进行洗脱时,穿透体积为10BV;采用3mL/min的流速进行洗脱时,穿透体积为12BV;采用2mL/min的流速进行洗脱时,穿透体积为14.5BV;流速越小,穿透体积越小。

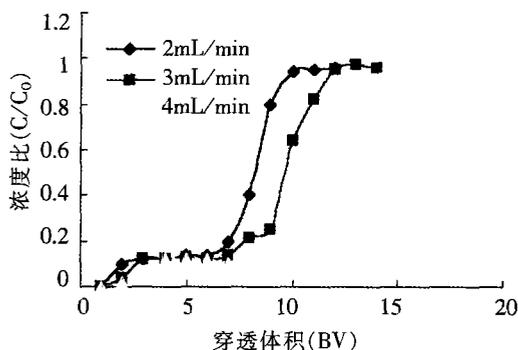


图5 不同流速的透过曲线

采用丙酮溶液对吸附的总三萜溶液进行洗脱,结果如图6所示。从图中可见,采用丙酮溶液进行洗脱时,峰形集中,峰形基本对称,无明显拖尾现象,采用2.5倍柱体积的丙酮,基本可将吸附的总三萜物质洗脱下来。

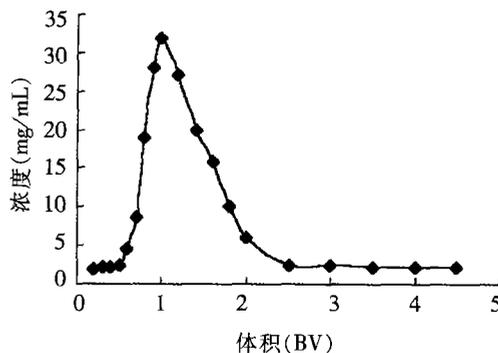


图6 解吸曲线

2.6 纯化后产品的分析

(下转第185页)

表1 成本分析表(元/kg)

品名	粉状原料价格	油脂脂香味等值价格	差价
豆蔻	121	84.25	36.75
黑胡椒	30	18.3	11.7
八角	23	21.33	1.66
大蒜	11	8	3
花椒	29	18.34	10.66
辣椒	16	5.57	10.43

表2 香辛料对肉毒梭状芽孢杆菌的抑制

品名	最小抑制浓度 (mg/L)	品名	最小抑制浓度 (mg/L)
多香果	2000	肉桂	2000
白胡椒	125	红辣椒	>500
姜	2000	洋葱	>2000
大蒜	>2000	肉豆蔻	125
月桂叶	125	肉豆蔻衣	31
丁香	500	迷迭香	500

所有构成肉味的因子都包括在内,可以产生逼真的风味,肉分解物加热产生的肉香味是加热肉产生香味的100倍左右,因为在通常烹调过程中只有极少量的肉被用于形成肉香味。

2.2 热反应香料的概念

热反应性香料是采用美拉德反应等生产的香精,是对实际肉制品加工过程中肉香味形成的模拟,包括了肉制品加工过程中脂肪的氧化分解,糖和氨基酸的羰氨反应以及各种生成物的二次或三次反应而形成了数百种香味香气成分的组合。

2.3 热反应香料的特点

肉味非常逼真,香气浓郁,深厚,但用于热加工

时头香略弱。

2.4 热反应香料的几种形式。

a. 以单体氨基酸、糖和甘油类反应而成;b. 以酵母精、单体氨基酸、水解蛋白、糖和甘油类反应而成;c. 以肉类分解物、单体氨基酸、糖类反应而成。香气程度 $c>b>a$,其中c生产出来的风味最为纯正。

2.5 热反应香料在肉制品加工中的使用

2.5.1 明确使用的目的 根据产品的不同种类选择不同风味的热反应香料,如猪肉香肠一般应选用猪肉热反应香料。

2.5.2 根据不同出品率使用不同的添加量 通用添加量为1g/kg。我们建议;出品率150%时添加热反应香料量为0.1%;出品率200%时添加热反应香料量为0.12%;出品率300%时添加热反应香料量为0.15%。

2.5.3 热反应香料可平衡肉品中的香味 比如,肉制品中香料味太杂时,加入热反应香料后杂味可以减弱或消失,在香辣产品中可以使香辣味饱满而圆润。

2.5.4 热反应香料的使用可减少鲜味剂的使用量 热反应香料中含有大量的氨基酸成分,因此可减少鲜味剂的使用量。

2.5.5 热反应香料不能代替香精 热反应香料主要提供的是逼真的肉香味,没有进行香气的调配,因此头香弱,建议在高出品率产品和对香味要求严格的产品中加入头香香精。

2.5.6 热反应香料耐高温 热反应香料是在120℃以上的温度下反应而成的,在热加工中香味不会损失。

(上接第51页) 对纯化前后的大叶紫薇总三萜产品进行HPLC分析,结果如图7所示。

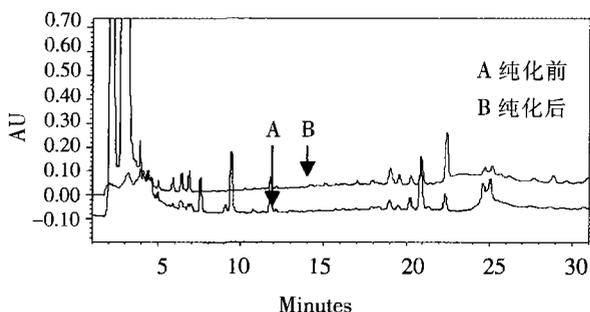


图7 纯化前后产品的高效液相比较分析

从图中可见,纯化前的产品具有较大的杂峰,而纯化后杂质峰很小。对纯化前后的产品进行总三萜分析,样品中总三萜的纯度从15.6%提高到30.3%。

3 结论

通过对5种吸附树脂的吸附和解吸特性的比较,发现树脂的极性、比表面积和平均孔径的大小直接影响树脂的吸附容量和解吸率,综合比较发现,

HPD-100对大叶紫薇总三萜的吸附容量大,解吸率高,吸附速度快,是一种吸附大叶紫薇总三萜的良好吸附剂。采用HPD-100对大叶紫薇总三萜进行纯化,产品的纯度由15.6%提高到30.3%。

参考文献:

- [1] Hamamoto Syoichi, Kogami Hideharu, Kohata Katsuya. Glucose effect on blood glucose in rats[J]. Yakuri to Chiryo, 1999,27(6):1075~1077.
- [2] Ikeda Y, Chen J-T, Matsuda T. Effectiveness and safety of banaba tablet containing extract from banaba in patients with mile type 2 diabetes[J]. Japanese Pharmacology & Therapeutics, 1999,27:829~835.
- [3] Murakami C, Myoga K, Kasai R, et al. Screening of plant constituents for effect on glucose transport activity in Enrich ascites tumour cells[J]. Chemical and Pharmaceutical bulletin, 1993,41:2129~2231.
- [4] 皮文霞,郭胜伟.分光光度法测定山茱萸制剂中总三萜酸的含量[J].南京中医药大学学报,2003,19(2):99~100.