

大孔吸附树脂法分离纯化当归中阿魏酸的工艺研究

金汝城¹, 李贵文², 马素丽³

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 2. 兰州理工大学石油化工学院, 甘肃 兰州 730050; 3. 兰州理工大学理学院, 甘肃 兰州 730050)

摘要:目的 选择较合适的大孔吸附树脂, 对当归中阿魏酸进行富集纯化, 提高产品质量。方法 采用大孔吸附树脂对阿魏酸进行吸附及洗脱性能试验, 同时采用 HPLC 法进行分析检测。结果 筛选出较合适的吸附树脂 DA201, 得到了最佳的工艺参数, 使阿魏酸的质量分数由原材料中的 0.15% 富集提高到 25.1%。结论 该工艺成本低, 效果好, 树脂可重复使用, 对于当归中阿魏酸的纯化有很好的应用前景。

关键词:当归; 阿魏酸; 大孔吸附树脂; 高效液相色谱

中图分类号: R296.02; R286.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)09-1324-04

Separation and purification technology of ferulic acid in *Angelica sinensis* by macroporous adsorption resinJIN Ru-cheng¹, LI Gui-wen², MA Su-li³

(1. School of Life Science and Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; 2. School of Petrochemical Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; 3. School of Science, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: **Objective** To select the suitable macroporous adsorption resins for enrichment and purification ferulic acid from *Angelica sinensis* so as to improve the product quality. **Methods** Macroporous adsorption resins were used to study the adsorption and desorption characteristics of ferulic acid. At the same time HPLC was used in detection. **Results** The best resin DA201 was chosen and the optimum parameters were obtained. The content of ferulic acid was increased from 0.15% in the raw material to 25.1%. **Conclusion** The material has a low cost and the operation is easy. The adsorption resins can be used again, which has a good applied foreground.

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; ferulic acid; macroporous adsorption resin; HPLC

当归是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 有补血、和血、调经止痛、润肠通便之功效, 为医家所常用。其主要活性成分阿魏酸是公认的天然抗氧化剂, 有很好的抗氧化活性, 能够清除自由基、调节免疫、调血脂和改善动脉粥样硬化、抗血栓、抗心肌缺血及抗肝损伤^[1]。传统醇提法得到的当归提取液中阿魏酸的量较低, 不能很好的发挥阿魏酸的药用价值。大孔吸附树脂具有吸附性强, 解吸附容易, 机械强度高, 可反复使用和流体阻力小等优点。近年来大孔吸附树脂在天然药物化学成分提取、分离纯化、制剂工艺改革、制剂质量分析等方面有了较广泛的应用研究^[2]。因此本实验采用不同型号的大孔吸附树脂研究当归中阿魏酸的吸附和解吸性能, 筛选出最佳的树脂, 并对影响阿魏酸吸附和解吸的工艺参数进行了研究。

1 仪器与试剂

日本分光公司 JASCO LC—2000 高效液相色谱仪, UV—2075 紫外检测器; 玻璃色谱柱 (300 mm × 10 mm) 美国 Amersham Biosciences 公司; D-101、AB-8、NKA-9、S-8 和 DA-201 大孔吸附树脂 (天津市海光化工有限公司); ME235S 电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); PHS—4CT 型精密酸度计 (上海大普仪器有限公司)。当归产地为岷县梅川, 购于甘肃岷县岷海药材有限公司, 经西北师范大学生命科学院孙坤教授鉴定为伞形科植物当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根; 阿魏酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0773-9910)。色谱纯甲醇, 三蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 阿魏酸的 HPLC 法测定^[3]

收稿日期: 2007-12-01

作者简介: 金汝城, 男, 甘肃人, 博士后, 1982 年毕业于兰州大学化学系, 先后工作于美国加州大学伯克利分校、加拿大卑斯省大学、香港浸会大学, 研究方向为天然产物药物与生物药物, 非处方药物及相关生物材料。

Tel: (0931) 2973706 E-mail: jinrucheng@lut.cn

2.1.1 色谱条件:色谱柱 HiQsil C₁₈W (150 mm×4.6 mm);流动相为甲醇-1%冰醋酸 (35:65);体积流量:1 mL/min;检测波长:315 nm;柱温 20 ℃。

2.1.2 标准曲线的制备:精密称取阿魏酸对照品 1.87 mg,置于 250 mL 量瓶中,加入流动相溶解并稀释至刻度,摇匀即得含阿魏酸 7.48 μg/mL 的对照品溶液。阿魏酸对照品溶液经微孔滤膜滤过,分别精密吸取 5、7.5、10、12.5、15 μL 注入高效液相色谱仪,测定阿魏酸峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标,阿魏酸进样量为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=4\times 10^6 X-14\ 117$, $r=0.999\ 8$,表明阿魏酸在 0.037 4~0.112 2 μg 具有良好的线性关系。色谱图见图 1。

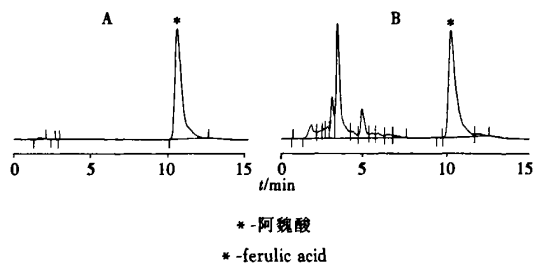


图 1 阿魏酸对照品(A)和当归样品(B)的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of ferulic acid reference substance (A) and *A. sinensis* (B)

2.1.3 测定:精密吸取一定量的样品溶液于量瓶中,流动相定容,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取滤液作为供试品溶液,进样 10 μL,测定阿魏酸峰面积积分值,代入回归方程计算阿魏酸的质量浓度。

2.2 样品中阿魏酸的测定:称取约 5 g 的当归粉,加入一定量的 1%醋酸甲醇溶液,浸泡 8 h 后超声提取 30 min,滤过,滤渣继续多次提取,直至最后检测不到阿魏酸为止。滤液合并浓缩定容至 250 mL,测定。平行进行 3 组试验,结果阿魏酸的质量分数分别为 0.155%、0.149%、0.163%,均值为 0.156%。

2.3 上柱溶液的制备:将当归粉研过 50 目筛,加入 8 倍量的 95%乙醇溶液,浸泡 12 h,水浴回流提取。提取液滤过,滤渣按上述操作继续提取 1 次。合并提

取液,减压回收乙醇后加入少许蒸馏水,离心除去不溶物等杂质(防止树脂中毒)。测定阿魏酸后加入一定量的蒸馏水稀释,得到上柱液。

2.4 树脂预处理:在玻璃柱内加入高于树脂层 10~20 cm 的乙醇浸泡 3~4 h,放净洗涤液。同样方法反复洗至出口洗涤液在试管中加 3 倍量水不出现浑浊为止,再用清水充分淋洗至无醇味,即可使用。

2.5 静态吸附解吸试验

2.5.1 吸附量的测定:将湿树脂低温烘干,分别称取 1 g,处理后加入具塞锥形瓶中。精密加入含阿魏酸 293.2 mg/L 的上柱液 100 mL,室温下震荡吸附 24 h,取样分析,计算吸附量(Q)。

$$Q=(C_0-C_e)\times V/W$$

C₀-起始上样液中阿魏酸的质量浓度, C_e-平衡吸附后溶液中阿魏酸的质量浓度, V-吸附液体积, W-树脂质量

2.5.2 洗脱率的测定:选择适当的洗脱剂对树脂进行洗脱,计算洗脱率(D)。

$$D=C_D V_D/((C_0-C_e)\times V)\times 100\%$$

C_D-洗脱液中阿魏酸的质量浓度, V_D-洗脱液体积, C₀-起始上样液中阿魏酸的质量浓度, C_e-平衡吸附后溶液中阿魏酸的质量浓度, V-吸附液体积

2.5.3 树脂的筛选:5 种树脂在相同条件下对当归提取液中阿魏酸的吸附量和解吸率见表 1。可知 DA-201 树脂的吸附量高于其他树脂,这与树脂的性质和阿魏酸的性质密切相关,DA-201 树脂是苯乙烯型极性共聚体,对具有一定极性的酚类物质有很强的吸附能力,而阿魏酸本身就带有酚羟基,因而很适于树脂的吸附。且其解吸率也明显高于其他树脂,故选择 DA-201 树脂进行进一步的试验。

2.6 DA-201 树脂对阿魏酸的动态吸附性能

2.6.1 静态吸附动力学过程:将一定量树脂放入上柱液中,使其充分吸附达到饱和。以吸附时间为横坐标,吸附量为纵坐标,作出阿魏酸在 DA-201 树脂上的吸附动力学曲线,见图 2。可见初始阶段吸附速率较快,100 min 后吸附量增加缓慢,160 min 后已基本达最大吸附量。

表 1 树脂的主要特征及静态吸附解吸结果

Table 1 Characters of macroporous adsorption resins and their state adsorption and desorption

树脂型号	结构	极性类别	比表面积/ (m ² ·g ⁻¹)	孔隙率/%	表观密度/ (g·cm ⁻³)	湿真密度/ (g·cm ⁻³)	吸附量/ (mg·g ⁻¹)	解吸率/%
D-101	PSD	非极性	≥400	68~72	0.32~0.36	1.15~1.19	9.78	75.2
AB-8	PSD	弱极性	≥480	42~46	0.44~0.48	1.05~1.09	17.60	81.6
DA-201	PAD	极性	≥150	48~52	0.48~0.52	1.14~1.18	20.65	97.1
S-8		极性	≥100				18.63	78.6
NKA-9		极性	≥250				17.84	86.5

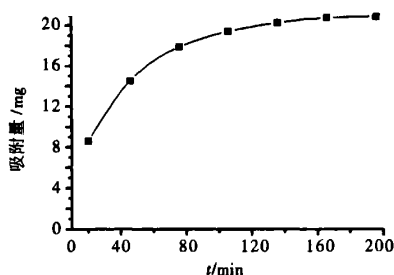


图 2 阿魏酸吸附量随时间的变化

Fig. 2 Change of ferulic acid on adsorption quantity at different times

2.6.2 上柱液浓度对吸附性能的影响:取相同量的树脂,分别放入含阿魏酸不同质量浓度的上柱液中使吸附达饱和,见图 3。可见阿魏酸质量浓度过低、过高都不利于吸附的进行,过低时的树脂处理量大,但需时较长,效率低;过高时不利于吸附的进行,阿魏酸质量浓度在 250~300 mg/L 吸附量达最大值。

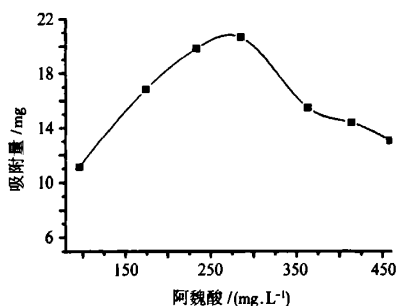


图 3 阿魏酸吸附量随上柱液质量浓度的变化

Fig. 3 Change of ferulic acid on adsorption quantity at different concentration

2.6.3 上柱液 pH 值对吸附性能的影响:称取相同量的树脂,分别放入不同 pH 值的上柱液中使吸附达到饱和,结果见图 4。可知在 pH 4.0 左右吸附量最大,pH 值过低可能会引起阿魏酸的水解,不利于其吸附,过高则其水溶性增强也不利于吸附的进行,

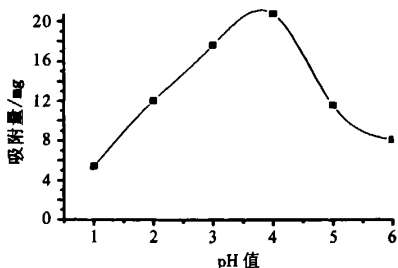


图 4 阿魏酸吸附量随上柱液 pH 值的变化

Fig. 4 Change of ferulic acid on adsorption quantity by various pH values

故选择 pH 4.0 作为最佳 pH 值。

2.6.4 上柱液流速对吸附的影响:在最佳上柱液质量浓度和 pH 值条件下分别以 1、2、3 BV/h 的流速进行动态吸附,定时取样测定流出液中阿魏酸的质量浓度,结果见图 5。表明流速越慢越有利于吸附的进行,树脂的处理量越大,但流速过慢需时较长,效率低。在上柱液中含阿魏酸质量浓度 293.2 mg/L 下,1 BV/h 的上柱流速可处理的上柱液是 18 BV,2 BV/h 可处理 16 BV,而 3 BV/h 只能处理 11 BV,1 BV/h 和 2 BV/h 处理的量相差不是太大,考虑到经济性,选择 2 BV/h 作为最佳上柱流速。

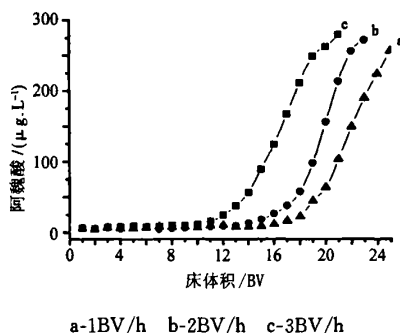


图 5 流出液中阿魏酸质量浓度随床体积的变化

Fig. 5 Change of ferulic acid on content in solution with different bed volumes

2.7 DA-201 树脂对阿魏酸的动态解吸性能

2.7.1 洗脱液质量浓度对解吸性能的影响:配制含阿魏酸不同质量浓度的洗脱液,先水洗已吸附达饱和的树脂至还原糖反应为阴性,再用 15%乙醇将极性杂质洗下,然后以相同洗脱流速对树脂进行动态洗脱,测定洗脱液中阿魏酸的质量浓度,计算洗脱率,见图 6。表明在乙醇体积分数为 35% 时洗脱率已接近最大值,体积分数过低不利于洗脱的进行,过高则会将色素等杂质一并洗下,影响产品质量,故选择最佳乙醇体积分数为 35%。

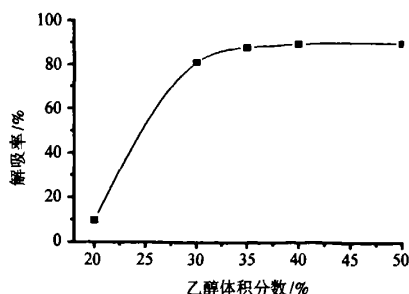


图 6 阿魏酸解吸率随乙醇体积分数的变化

Fig. 6 Change of ferulic acid on desorption rate with different ethanol contents

2.7.2 洗脱流速对解吸性能的影响:分别采用 0.5、1、2 BV/h 的洗脱流速对已吸附达饱和的树脂进行洗脱,定量取样,测定流出液中阿魏酸的质量浓度,见图 7。结果表明,流速越慢洗脱效果越好,这主要是因为流速越慢越有利于阿魏酸在树脂和洗脱液间进行相扩散和膜扩散,从而达到溶解平衡。在 0.5 BV/h 的流速下,洗脱峰比较集中,4.5 BV 的洗脱液就可达到洗脱完全,而 1.2 BV/h 流速的则分别为 5 BV 和 8 BV,因而选择 0.5 BV/h 作为最佳洗脱流速。

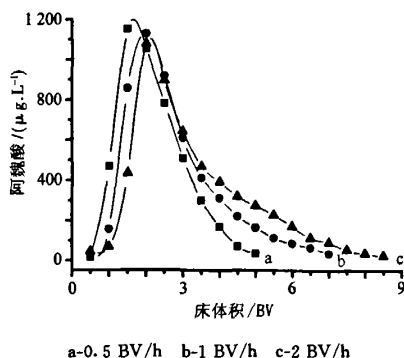


图 7 洗脱液中阿魏酸质量浓度随床体积的变化
Fig. 7 Change of ferulic acid on contents in eluent with different bed volumes

2.8 产品的制备:在最佳的吸附和解吸条件下(含阿魏酸质量浓度为 293.2 mg/L, pH 4.0, 吸附流速 2 BV/h 下,可处理样品溶液 16 BV。在洗脱剂乙醇体积分数 35%,洗脱流速 0.5 BV/h 的流速下,4.5 BV 就可将阿魏酸充分洗脱下,过柱得率达到 89.2%)对阿魏酸进行吸附和解吸,解吸液浓缩,真空低温干燥后取样测定阿魏酸的量。平行进行 3 次试验,结果产品中阿魏酸的平均质量分数为 25.1%,而原料中仅为 0.156%,见图 8。可见所得产品与当归药材相比杂质峰明显减少,说明采用大孔树脂吸附法显著富集,纯化产品的效果良好。

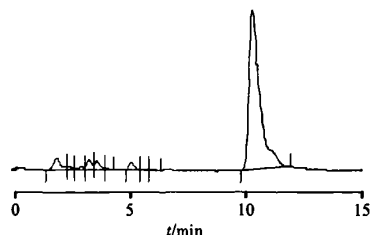


图 8 纯化后产品的 HPLC 色谱图
Fig. 8 HPLC Chromatogram of purified product

3 讨论

虽然大孔树脂吸附作用的根本因素是吸附剂与树脂间的范德华力作用,但是具有酚羟基结构的阿魏酸易形成氢键,更有利于与极性树脂吸附^[4]。此外大孔树脂在实际应用中还有许多的问题需要解决,如大孔吸附树脂中残留物的去除、实际应用中树脂吸附能力下降或降解的问题、废弃树脂的处理等均需要更多的改进与研究。

实验中发现阿魏酸溶液在加入少量醋酸后能够抑制其分解,在乙醇或水溶液中不稳定,此外低温可使其稳定性增加,因此其提取液及纯化后产品要低温保存。

当归化学成分复杂,吸附阿魏酸后的流出液中还有许多药效成分,选择其他适宜型号的树脂对其其他药效成分进行吸附纯化,以充分利用药材资源应该作为今后研究工作的重点。

参考文献:

- [1] 王芳,李东.当归的化学及药理研究进展[J].中国药房,2003,14(10):630-631.
- [2] 李作平,霍长虹.大孔吸附树脂在水溶性天然药物化学成分提取分离中的应用[J].河北医科大学学报,2002,23(2):121-123.
- [3] 于森,于治国,李昕昊,等.高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量[J].中国冶金工业医学杂志,2004,21(2):96-97.
- [4] 李家政,孙江晓,史作清.氢键吸附及其展望[J].离子交换与吸附,2001,17(6):561-566.

大孔吸附树脂富集刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷的研究

杨书良,杨波,田凤,孙婷

(哈尔滨商业大学药学院,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 富集刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷。方法 以紫丁香苷和刺五加总苷为指标,考察 D-101 大孔吸附树脂分离纯化紫丁香苷和刺五加总苷的最佳吸附及洗脱条件。结果 富集紫丁香苷和刺五加总苷的工艺为样品溶液(0.2 g 药材/mL)以 1 mL/min 的上柱速度上柱,最大上样量为 1 g 药材/g 树脂,弃去水洗脱液,收集 5 BV 75%乙醇洗脱液,回收乙醇,浓缩干燥,即得。经 D-101 大孔吸附树脂处理后紫丁香苷和刺五加总苷提取率可达

大孔吸附树脂法分离纯化当归中阿魏酸的工艺研究

作者：[金汝城](#), [李贵文](#), [马素丽](#), [JIN Ru-cheng](#), [LI Gui-wen](#), [MA Su-li](#)
作者单位：[金汝城, JIN Ru-cheng\(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州, 730050\)](#), [李贵文, LI Gui-wen\(兰州理工大学石油化工学院, 甘肃, 兰州, 730050\)](#), [马素丽, MA Su-li\(兰州理工大学理学院, 甘肃, 兰州, 730050\)](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(9)
被引用次数: 7次

参考文献(4条)

1. [王芳;李东](#) 当归的化学及药理研究进展[期刊论文]-[中国药房](#) 2003(10)
2. [李作平;霍长虹](#) 大孔吸附树脂在水溶性天然药物化学成分提取分离中的应用[期刊论文]-[河北医科大学学报](#) 2002(02)
3. [于森;于治国;李昕吴](#) 高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量[期刊论文]-[中国冶金工业医学杂志](#) 2004(02)
4. [李家政;孙江晓;史作清](#) 氢键吸附及其展望[期刊论文]-[离子交换与吸附](#) 2001(06)

本文读者也读过(3条)

1. [王健;沈红平](#) 大孔吸附树脂纯化当归酚类成分的工艺研究[期刊论文]-[科技资讯](#)2010(8)
2. [刘敬;李文建;王春明;颜红梅;LIU Jing;LI Wen-jian;WANG Chun-ming;XIE Hong-mei](#) 当归中有效成分阿魏酸的生物合成及调控[期刊论文]-[中草药](#)2008, 39(12)
3. [李文兰;范玉奇;李宇彬;王艳萍;赵瑛;LI Wen-lan;FAN Yu-qi;JI Yu-bin;WANG Yan-ping;ZHAO Ying](#) 大孔吸附树脂对川芎中阿魏酸及总酚酸的分离纯化[期刊论文]-[中国新药杂志](#)2007, 16(9)

引证文献(7条)

1. [刘树兴;王蓓;朱莉莉](#) 大孔吸附树脂分离纯化麦麸中阿魏酸的研究[期刊论文]-[食品工程](#) 2011(3)
2. [刘树兴;王蓓](#) 大孔吸附树脂分离纯化小麦麸皮阿魏酸研究[期刊论文]-[粮食与油脂](#) 2011(9)
3. [邢建国;翟科峰;何承辉;魏改芹](#) 大孔吸附树脂纯化天山雪莲中有效成分的研究[期刊论文]-[中草药](#) 2009(7)
4. [王梓;李伟;李月茹;刘文丛;郑毅男;张晶](#) 大孔吸附树脂纯化桔梗皂苷的研究[期刊论文]-[中草药](#) 2011(9)
5. [张志清;姚艳艳;白冰;杨雪;顾容;杨雪飞](#) 响应面法优化大孔树脂纯化阿魏酸粗提液工艺研究[期刊论文]-[粮食与油脂](#) 2011(2)
6. [刘雪平](#) 当归有效成分分离纯化工艺的研究进展[期刊论文]-[内蒙古中医药](#) 2011(13)
7. [杨雪;姚艳艳;张志清](#) 麦麸中阿魏酸提取纯化工艺的研究进展[期刊论文]-[农产品加工·创新版](#) 2010(7)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809015.aspx