

固定化离子液体吸附分离八角茴香中莽草酸

杜妮¹, 曹树稳^{1,2}, 余燕影^{2*}

1. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047

2. 南昌大学 化学系, 江西 南昌 330031

摘要: 目的 研究固定化离子液体(SILs)对八角茴香提取液中莽草酸的吸附分离性能,并分离制备莽草酸。方法 采用静态与动态吸附-解吸方法,研究SILs对莽草酸的吸附平衡和吸附动力学性能,并采用Freundlich型和Langmuir型方程拟合了303、313、323 K温度下的吸附等温线。结果 SILs对莽草酸具有良好的吸附特性,吸附等温线与Freundlich型和Langmuir型方程拟合效果均较好,且以Freundlich型方程拟合更佳。采用SILs对八角茴香中莽草酸进行富集分离,富集率为80.34%。结论 该方法简便易行、富集率高,可用于八角茴香提取液(物)中莽草酸的富集分离。

关键词: 八角茴香; 莽草酸; 固定化离子液体; 吸附; 富集分离

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)09-1760-04

Adsorption separation of shikimic acid from *Illicium verum* by supported ionic liquids

DU Ni¹, CAO Shu-wen^{1,2}, YU Yan-ying²

1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China

2. Department of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330031, China

Key words: *Illicium verum* Hook. f.; shikimic acid; supported ionic liquids (SILs); adsorption; enrichment and separation

莽草酸(shikimic acid)广泛存在于植物中,在八角科植物中质量分数相对较高,较易提取分离^[1]。八角茴香 *Illicium verum* Hook. f. 既是一种调味品,也是一种疗效确切的中药材,在食品加工及香料工业中应用广泛^[2]。中医认为,八角茴香性味辛、甘、温,入脾、肾二经,具有温阳、散寒、理气的功效,适用于中寒呕逆、寒疝腹痛、肾虚腰痛等病症,如治疗小肠疝气所引起的气坠腹痛方剂中,都会用到八角茴香这味药^[3]。由于我国种质资源丰富,八角茴香已成为莽草酸的丰富材料来源。莽草酸具有很好的抗炎、镇痛和抑制血小板聚集、动静脉血栓形成的作用^[4],同时也是有效对付致命性H5N1型禽流感药物“达菲”的合成中间体。因此,研究植物中莽草酸的有效提取分离方法对节省药材资源、扩大莽草酸的使用范围具有重要意义。

目前,从植物中提取莽草酸的方法主要是有机溶剂萃取法和硅胶柱色谱法^[5-6]。固定化离子液体

(supported ionic liquids, SILs)是将离子液体固定在某种固体载体上,从而得到负载离子液体或表面具有离子液体结构的固体物质,因其结构的可设计性、良好的选择性和分离性能而受到化学界的关注,近年来其作为一种新型填料而广泛应用于分离科学和食品工业等领域^[7-9]。固定化离子液体兼具离子液体和固相载体材料的特性,与常规离子液体相比,可较好地解决离子液体在提取物中的残留及毒性问题,为其在生命科学、食品及医药领域的应用排除了安全性障碍;另外其在与提取物的分离,溶剂交叉污染,以及回收利用方面也具有明显的优势^[10-11]。本实验采用SILs作为固体吸附剂研究其对莽草酸的吸附特性,以期获得分离莽草酸的最佳条件,为其工业化生产应用提供实验依据。

1 材料与仪器

固定化离子液体按文献方法^[12]合成, $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ (喹啉类,键合量为 $2.8\text{ }\mu\text{mol}/\text{m}^2$)、 $\text{SiO}_2\cdot\text{Qu}^+\cdot\text{Cl}^-$

收稿日期: 2011-12-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20662008, 20962014)

作者简介: 杜妮(1985—),女,陕西韩城人,硕士,研究方向为固定化离子液体的应用。

*通讯作者 余燕影 Tel: (0791)3969610 E-mail: yuyanying@ncu.edu.cn

网络出版时间: 2012-08-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120816.1038.001.html>

(咪唑类, 键合量为 $2.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2$); 硅胶 (青岛海浪硅胶干燥剂厂); D-101、AB-8 大孔吸附树脂; 莽草酸对照品 (质量分数 98%) 由宁波德康生物制品有限公司提供; 八角茴香 (市售, 广西产) 经南昌大学生物系杨柏云教授鉴定为木兰科八角属植物八角茴香 *Illicium verum* Hook. f. 的干燥成熟果实; 色谱乙腈 (上海景颜化工科技有限公司); 液相色谱所用用水为超纯水; 其他试剂为分析纯。

L—2000 日立液相色谱仪 (日本); RE—52C 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); 超纯水机 (阿修罗科技发展有限公司); DZF—150 数显小型恒温真空干燥箱; AS3120 超声波清洗器 (天津奥特塞恩恩仪器有限公司); SHB—III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)。

2 方法

2.1 线性关系考察

精密称取在 60°C 减压干燥 6 h 的莽草酸对照品 5 mg, 加蒸馏水定容至 25 mL 得莽草酸对照品溶液, 取一定量溶液在紫外可见分光光度计上测定其吸收曲线, 获得莽草酸的最大吸收波长为 213 nm。分别取对照品溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加蒸馏水定容, 在最大波长处测其吸光度 (A) 值, 得到 A 值与质量浓度 (C) 的回归曲线方程 $A=46.449\ 28\ C+0.007\ 51$, $r=0.999\ 6$ 。

2.2 静态吸附与解吸试验^[13]

2.2.1 试验操作及数据处理 准确称取 0.5 g 吸附剂, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 1 mg/mL 莽草酸溶液 25 mL, 于 25°C 恒温振荡器中振荡吸附 30 min, 平衡后静置, 离心, 取上清液用 UV 法测定其中莽草酸的质量浓度, 计算饱和吸附量 (Q) 及吸附率 (E)。根据莽草酸的溶解性、极性以及溶剂的洗脱特性, 本实验以甲醇为洗脱剂。吸附平衡后将溶液滤过, 再加入 25 mL 甲醇于具塞锥形瓶中, 25°C 恒温振荡 30 min, 离心, 取上清液测定莽草酸质量浓度, 并计算解吸率 (D)。

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

$$E=(C_0-C_e)/C_0$$

$$D=C_dV_d/[(C_0-C_e)V_i]$$

C_0 为供试样液中莽草酸初始质量浓度 (mg/mL), C_e 为吸附平衡时上清液中的莽草酸质量浓度 (mg/mL), V_i 为样液体积 (mL), W 为吸附剂的干质量 (g), C_d 为解吸液中莽草酸质量浓度 (mg/mL), V_d 为解吸剂体积 (mL)

2.2.2 吸附剂的筛选 分别称取两种不同的固定化

离子液体, 相同条件下进行静态吸附试验, 同时, 还选用几种常用的大孔吸附树脂和原料硅胶进行比较, 结果见表 1。可以看出, 两种 SILs 的吸附效果明显优于大孔吸附树脂和原料硅胶, 且咪唑类 SILs 的吸附效果略高于喹啉类 SILs, 这可能是由于咪唑类 SILs 的空间位阻小, 分子体积小, 键合量较高, 因此其吸附效果优于喹啉类。因此, 本实验选取 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 作为吸附剂。

表 1 不同吸附剂对莽草酸的吸附与解吸性能比较

Table 1 Comparison on adsorption and desorption properties of shikimic acid by various adsorbents

吸附剂	$Q/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$E/\%$	$D/\%$
$\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$	45.48	90.96	92.68
$\text{SiO}_2\cdot\text{Qu}^+\cdot\text{Cl}^-$	44.39	88.73	89.11
硅胶	36.72	73.43	81.27
AB-8	33.93	67.86	80.45
D-101	26.39	52.78	88.52

2.2.3 吸附等温线 配制莽草酸质量浓度为 $0.2\sim 1.2\text{ mg/mL}$ 的溶液, 分别在温度 303、313、323 K 下测定 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸平衡吸附量, 并绘制吸附等温线 (图 1)。可以看出, 等温线起始段斜率较大, 当质量浓度达到一定程度后, 曲线斜率降低。这类等温线表示溶剂对溶质的吸附影响很小, 即溶剂无强烈竞争吸附能力。同时说明, 莽草酸分子和 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 之间的亲和力随着莽草酸溶液质量浓度的增加而降低。随着温度的升高, $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的平衡吸附量降低; 相同平衡质量浓度时, $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 吸附莽草酸的量随着温度的升高而减小, 说明 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 吸附莽草酸的过程是个放热过程。

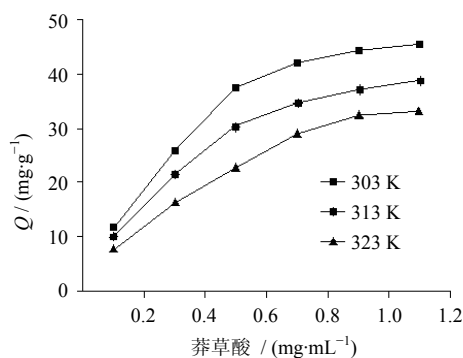


图 1 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 在 303、313、323 K 的吸附等温线

Fig. 1 Isotherm curves of $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ at 303, 313, and 323 K

2.2.4 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的吸附类型 分别采用 Freundlich 型 ($Q=aC^{1/n}$) 和 Langmuir 型 [$Q=k\cdot C/(1+bC)$] 吸附等温公式^[14]对 303、313、323 K 温度下 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的吸附等温线数据进行拟合, 得到 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的等温吸附方程(表 2)。Langmuir 型方程假设吸附剂表面每个吸附位只能接纳一个吸附粒子, 因此它主要描述的是单分子层的吸附; 而 Freundlich 型方程广泛用于物理吸附和化学吸附方程, 也可以描述多分子层的吸附。由表 2 可知, Freundlich 型和 Langmuir 型等温式拟合吸附等温方程, 结果都比较理想。同时, 系数 a 、 k 越大, 吸附量也越大。由相关系数 (R^2) 可知, 采用 Freundlich 型吸附等温式更合适, 即 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的吸附更趋于多分子层吸附过程。

表 2 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对莽草酸的吸附方程
Table 2 Adsorption equations of shikimic acid
by $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$

T/K	方程类型	拟合方程	R^2
303	Freundlich	$Q_m=0.634\ 1\ C_m^{1/1.573\ 9}$	0.981\ 2
	Langmuir	$1/Q_m=0.010\ 53 / C_m+0.021\ 4$	0.922\ 1
313	Freundlich	$Q_m=0.637\ 7\ C_m^{1/1.447\ 2}$	0.985\ 8
	Langmuir	$1/Q_m=0.014\ 08 / C_m+0.028\ 6$	0.924\ 6
323	Freundlich	$Q_m=0.713\ 4\ C_m^{1/1.373\ 8}$	0.985\ 1
	Langmuir	$1/Q_m=0.020\ 8 / C_m+0.029\ 3$	0.928\ 7

2.2.5 静态吸附动力学^[15] 仅用吸附剂的平衡吸附量和解吸率来评价吸附性能是不全面的, 合适的吸附剂不仅要具有较大的吸附量、良好的解吸率, 同时应具有较快的吸附速率。吸附动力学特征与吸附速率密切相关, 所以对 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 静态吸附动力学特征进行研究。按“2.1”项方法操作, 分别在 10、20、30、40、50、60、70 min, 测定上层溶液中莽草酸质量浓度, 计算吸附量, 分别以时间和吸附量为横纵坐标得到图 2。可见 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 在吸附时间为 30 min 时就基本达到平衡。

根据 Langmuir 提出的吸附速率方程: $-\ln(1-F)=kt$ (k 为平衡速率常数, F 值为 Q_t/Q_e ; Q_t 和 Q_e 分别为 t 时刻和平衡时的吸附量), 以达到基本平衡所需的吸附时间为前提, 以 $-\ln(1-F)$ 对时间 t 作图可得一直线, 由直线斜率得到 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 的平衡速率常数为 $8.4\times 10^{-4}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

2.3 动态吸附与洗脱试验

取 10 g 吸附剂填充在玻璃柱(200 mm×20 mm)

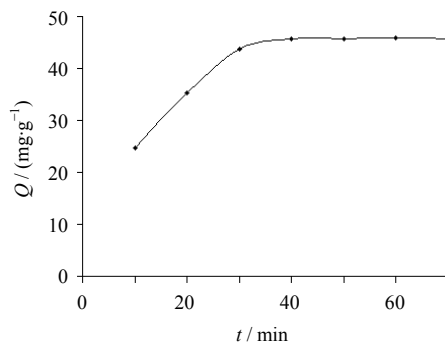


图 2 莽草酸的吸附动力学曲线

Fig. 2 Adsorption kinetic curve of shikimic acid

内, 将 1 mg/mL 莽草酸溶液以 1.5 mL/min 体积流量通过该吸附柱, 用紫外分光光度计跟踪监测, 当吸附柱达到饱和, 即出口溶液质量浓度接近原液质量浓度时, 再用水洗至检测出口几乎无莽草酸, 从上柱莽草酸的总量和洗出量求得 SILs 的吸附量。然后用甲醇以同样的体积流量洗脱, 采用 UV 法测定洗脱液中莽草酸的质量浓度。

在动态吸附和洗脱试验中, 上样和解吸体积流量均为 1.5 mL/min, 按每管 10 mL, 每 2 管为 1 个柱体积分步收集流出液, 测定流出液中莽草酸质量浓度, 当流出液的质量浓度达到原质量浓度的 1/10 时为其泄漏点, 流出液质量浓度不变时达到饱和吸附, 动态吸附和洗脱曲线分别见图 3、4。

由图 3 可知, 莽草酸在第 25 BV 时达到其泄漏点, 而在 34 BV 之后流出液的质量浓度趋于不变, 说明已达到饱和吸附, 饱和吸附量为 56.84 mg/g。由图 4 可知, 采用 5 BV 的洗脱剂可使吸附饱和的莽草酸基本解吸完全, 解吸率为 94.23%。

2.4 固定化离子液体富集分离八角茴香中的莽草酸

按文献方法^[16]制备八角茴香粗提液, 提取条件: 100 ℃时, 取粒度为 40 目的八角茴香粉末与蒸馏水

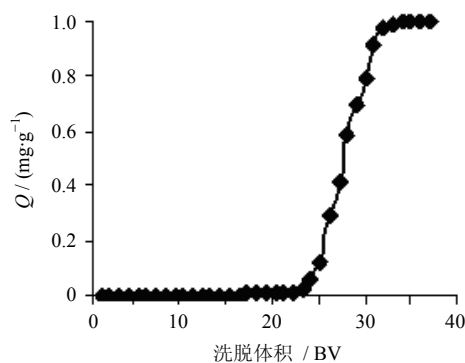


图 3 动态吸附曲线

Fig. 3 Dynamic adsorption curve

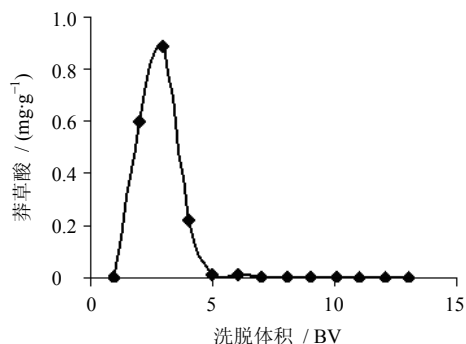


图4 洗脱曲线

Fig. 4 Elution curve

按1:20配比回流3次,回流时间为2 h。合并提取液滤过,旋转蒸发得浸膏。石油醚除杂,甲醇溶解后加活性炭脱色,回收溶剂得八角茴香提取物浸膏。

取一定量上述八角茴香提取物浸膏,用蒸馏水配制质量浓度为1 mg/mL样品溶液,HPLC法检测莽草酸的量。色谱条件:色谱柱 Sino Chrom ODS-BP (200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%乙酸(97:3),检测波长213 nm,体积流量为0.8 mL/min,柱温30℃,进样量为10 μL。各化合物的量及其总富集率均是采用单标比较法计算。

准确称取10 g固定化离子液体填充在色谱柱(200 mm×20 mm)内,将上述样品溶液以1.5 mL/min的体积流量通过该色谱柱,然后用洗脱剂以1.5 mL/min的体积流量洗脱被吸附的化合物,采用HPLC法测定其中莽草酸的量。通过计算洗脱液中莽草酸的质量分数(质量分数=洗脱液中莽草酸的质量/洗脱组分的总质量)及总富集率(总富集率=洗脱液中莽草酸的质量/起始样品溶液中莽草酸的质量),进而确定其最佳富集分离条件。

称取10 g $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 填充在色谱柱内,将500 mL质量浓度为1 mg/mL的八角茴香提取物浸膏样品溶液以1.5 mL/min的体积流量通过该色谱柱,然后用100 mL甲醇以同样的体积流量洗脱被吸附的化合物,采用HPLC法测定莽草酸的量。通过比较吸附前后样液中莽草酸的峰面积可知, $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对八角茴香中的活性成分具有很好的吸附富集能力。用甲醇做洗脱剂对饱和吸附的 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 进行洗脱,所得洗脱组分中莽草酸的质量分数为90.12%,实验测得莽草酸的富集率为80.34%。

3 讨论

本实验采用 $\text{SiO}_2\cdot\text{Im}^+\cdot\text{Cl}^-$ 对八角茴香中莽草酸进行富集分离,吸附方式属于多分子层放热吸附,

与大孔吸附树脂和硅胶柱色谱相比,吸附速率和吸附量均有所提高,为天然产物活性成分分离富集提供了一种新方法。

参考文献

- [1] 向莉,李盾.达菲的主要合成中间体莽草酸获得的新进展[J].中国医药导报,2006,3(6):51-52.
- [2] 王琴,蒋林,温其标.八角茴香研究进展[J].粮食与油脂,2005,(5):19-22.
- [3] 中国药典[S].一部.2010.
- [4] 马怡,孙建宁,徐秋萍,等.莽草酸对血小板聚集和凝血的抑制作用[J].药学报,2000,35(1):1-3.
- [5] 王祖磊,朱祥瑞.八角茴香及其提取物莽草酸的应用进展[J].科技通报,2010,26(4):531-535.
- [6] 李伟,杨旭.八角茴香及其提取物莽草酸的研究进展[J].中国调味品,2008(1):24-28.
- [7] 江洋洋,刘会洲,郭晨,等.固定化离子液体在催化与分离方面的应用进展[J].过程工程学报,2007,7(1):194-201.
- [8] Du N, Cao S W, Yu Y Y. Research on the adsorption property of supported ionic liquids for ferulic acid, caffeic acid and salicylic acid[J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879(19):1697-1703.
- [9] 庞艳玲.功能化离子液体及其在食品工业中的应用[J].化工进展,2008,27(9):1363-1369.
- [10] Jin M J, Taher A, Kang H J, et al. Palladium acetate immobilized in a hierarchical MFI zeolite-supported ionic liquid: a highly active and recyclable catalyst for Suzuki reaction in water[J]. *Green Chem*, 2009, 11(3):309-313.
- [11] Aprile C, Giacalone F, Gruttadauria M, et al. New ionic liquid-modified silica gels as recyclable materials for L-proline- or H-Pro-Pro-Asp-NH₂-catalyzed aldol reaction[J]. *Green Chem*, 2007, 9(12):1328-1334.
- [12] Li M, Pham P J, Wang T, et al. Selective extraction and enrichment of polyunsaturated fatty acid methyl esters from fish oil by novel π -complexing sorbents[J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 66(1):1-8.
- [13] 刘恩荔,李青山.大孔吸附树脂分离纯化金银花中总有机酸的研究[J].中草药,2006,37(12):1792-1796.
- [14] 贾振宝,陈文伟,关荣发,等.大孔吸附树脂纯化红茶中茶黄素的研究[J].中草药,2010,41(7):1106-1109.
- [15] 付玉杰,刘晓娜,侯春莲,等.大孔吸附树脂分离纯化异甘草素的研究[J].离子交换与吸附,2006,22(4):318-321.
- [16] Ohira H, Torii N, Aida T M. Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction[J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 69(1):102-108.