

大孔吸附树脂吸附分离有效成分的影响因素

朱英(浙江中医学院药理学系,浙江 杭州 310053)

摘要:目的 介绍大孔吸附树脂吸附分离有效成分影响因素的研究进展,为大孔吸附树脂的进一步研究和应用提供参考。方法 根据现有文献进行分析总结,就被分离成分、大孔吸附树脂、原液、洗脱剂、吸附条件和温度等因素对吸附分离有效成分的影响作一综述。结果与结论 大孔吸附树脂吸附分离有效成分受诸多因素的影响,需综合考虑,并有待进一步完善和规范化。

关键词:大孔吸附树脂;吸附分离;影响因素

大孔吸附树脂是 20 世纪 60 年代发展起来的一类新型吸附剂,具有良好的吸附性能。自问世以来,它已在环保、食品、医药等领域中得到了广泛的应用,尤其是近十余年来逐渐被应用于中药化学成分等的提取分离,但由于该技术的应用时间相对较短,相关基础研究较为薄弱等原因,致使实际应用中还存在一些问题。为了更好地利用和规范这一新技术,本实验就近年来有关的研究文献,对影响大孔吸附树脂吸附分离有效成分的因素进行分析和总结。

1 被分离成分的影响

被分离成分的结构不同,就有可能使化合物极性不同或分子大小不同,大孔树脂对不同成分的吸附性能就不同。例如,丹参素属于芳香酸类化合物,芍药苷属于萜的苷结构,通过七种大孔吸附树脂对乐脉胶囊的精制研究分析,发现 WLD、AB-8 和 X-5 对丹参素保留率都很低,而对芍药苷的吸附较好^[1]。

2 树脂的影响

2.1 树脂种类

夏超等^[2]用复方脑脉康中总苷类为指标,考察了七种树脂对复方脑脉康的精制效果,结果表明,不同种大孔吸附树脂的吸附性不同,非极性大孔树脂吸附总苷时好于极性大孔吸附树脂,七种树脂中以 100 型吸附容量最大。侯世祥等^[3]以小檗碱为指标成分,经实验发现黄连水提液在不同树脂上具有不同的吸附洗脱效果,其中在 LD605 和 X-Y 型树脂上比上柱量较大,比洗脱量也较大,相反在 NKA-II 型树脂上性能较差。谢朝晖等^[4]以芥子碱为指标成分,比较了白芥子水提液在不同树脂上的吸附洗脱效果,结果是在 AB-8 型树脂上最好,其次是 D-101 型、NKA-9 型。刘俊红等^[5]在延胡索生物碱的提取分离中发现 D-101 和 WLD-III 型树脂对延胡索生物碱的吸附容量较大,洗脱效果较好,而 DA-201 型树脂吸附容量小,洗脱较差。另有文献报道,在 D4020、X-5 和 AB-8 三种树脂中,X-5 树脂对番茄红素和 β -胡萝卜素的吸附量最大,而且解吸率也最高^[6]。在 D101、D101-A、D101-C、AB-8 和 ZTC-8 树脂中,AB-8 树脂对红花黄色素的吸附较好,达 85.2%^[7]。在 X-5、D-101、NKA-9、DM-130 和 AB-8 树脂中,DM-130 树脂对甘草酸的吸附量和解吸率都最高^[8]。在 D101、D201 和 AB-8 型树脂中,AB-8 型树脂对葛根总黄酮有较大的静态吸附量,也容易解吸附,其动态吸附-脱附性能也较好^[9]。但也有文献^[9]报道,通过正交试验表明,D101、

AB-8 和 XAD-7 型三种树脂的不同对川草乌中总生物碱的洗脱效果无显著影响。

2.2 树脂孔径

陈骏等^[11]在红霉素提取研究中确认市售进口树脂 Amberlite XAD-16 对红霉素吸附效果最好,进而合成了 P_{T4} 等树脂进行实验,发现 P_{T4} 对红霉素的吸附量最大,达 XAD-16 吸附量的 90% 以上。陈骏等又对 P_{T4} 和 XAD-16 两种树脂的孔结构参数进行了比较,认为两者在平均孔径和孔容方面有一定的差距,而 P_{T4} 对红霉素的吸附量接近于 XAD-16,主要原因是吸附红霉素起主要作用的孔径分布范围是 5~15nm,而 P_{T4} 的孔则多分布在孔径 5~15nm 范围内,XAD-16 的孔径比较大,在 15~30nm 范围内的孔较多,因此 P_{T4} 虽在平均孔径和孔容两方面比 XAD-16 小,但仍能较好地吸附红霉素。

2.3 树脂投量

刘荣华等^[12]以胆红素的提取率为考察指标,对 CAD-40 大孔树脂提取猪胆汁中胆红素的工艺进行了正交试验,结果是树脂投量对胆红素的提取率有高度的影响($P < 0.01$),以树脂投量 4g/100mL 胆汁优于 2g 或 6g/100mL 胆汁。

2.4 树脂重复使用

应用 AB-8 树脂制备蒲黄总黄酮,该树脂重复使用 3 次后,对总黄酮吸附量明显下降,需再生后才可继续使用^[13]。应用 AB-8 树脂分离纯化葛根总黄酮时,使用 9 个周期后,其纯度低于 85%,所以应对树脂进行再生^[9]。而 AB-8 吸附分离红花黄色素时非常稳定,循环使用 17 次后,树脂吸附率仅降低 2.32%^[7]。另有文献^[14]也报道 D140 树脂提取纯化银杏黄酮时,经过 12 个周期的反复吸附与洗脱,该树脂的吸附/洗脱性能也较为稳定。

3 原液的影响

3.1 原液浓度

原液浓度是影响树脂吸附性能的重要因素之一。例如 LD605 树脂柱纯化黄连提取液时,随着原液浓度的增加,小檗碱在树脂上的比吸附量也相应增加,且比吸附量与小檗碱浓度之间满足 Freundlich 和 Langmuir 公式,说明该中药成分与大孔吸附树脂间发生了以吸附为主的作用^[3]。又例如,X-5 树脂吸附分离番茄红素和 β -胡萝卜素时,随着粗提物浓度的增加,总吸附量增加,但当达到最大吸附量后又下降^[6]。傅冬和等^[8]考察了原液浓度对 DM-130 树脂对甘草酸吸附性能的影响,发现在浓度较低时,随着原液浓度的提高,吸附

量和解吸量都增加,但浓度过高,会提早泄漏。高红宁等^[15]也认为 AB-8 树脂精制苦参总黄酮时在低浓度下进行比较有利。

3.2 原液 pH

一般而言,树脂吸附量与原液 pH 有很大关系,尤其是酸碱性物质。例如红霉素是碱性物质,随着 pH 增大,离解度降低,红霉素量分子态的比率增加,有利于吸附,故在碱性条件下吸附为宜,但 pH 过高对红霉素稳定性不利,所以可选择 pH7.0~10.0 吸附^[11]。又例如苦参总黄酮呈弱酸性,在酸性条件下吸附为好,经实验证实以 pH 值 4 时为宜^[15]。酸性成分还有甘草酸^[8]和银杏黄酮^[14]也是在酸性条件下吸附为好,最佳 pH 分别为 5.4 和 4。但有人通过正交试验认为原液 pH 对 D101 等树脂吸附分离川草乌总生物碱时无显著差异^[10]。

3.3 原液上柱量

由于大孔吸附树脂吸附有效成分时,不能超过树脂的吸附容量,所以利用该技术时要考虑原液的最佳上柱量,如 AB-8 树脂分离白芥子生物碱时的最佳上柱药液量是 1.5:1 (生药量:树脂量)^[4]。另有 HPD100 树脂富集山茱萸总苷的实验研究结果也说明了原液上柱量的影响^[16]。

3.4 原液中其他成分

侯世祥等^[3]在考察大孔吸附树脂纯化黄连提取液因素时,发现原液上柱液中加入盐会对树脂的吸附能力产生一定影响,且因盐的种类和用量不同而不同。当 KCl 的浓度为 5%~15% 时,小檗碱的比上柱量降低,当加入高浓度 KCl 和 NaCl 时,其比上柱量增加,而且 NaCl 浓度的变化与滤液中小檗碱浓度变化满足一定的数学规律。

原液中其他成分对树脂吸附性能的改变还体现在杂质的影响,例如 D140 纯化银杏黄酮时,若银杏提取液经水提醇沉所得最终产物纯度高,而醇提后再萃取则洗脱率较好,但提取液如果不处理因杂质多可导致洗脱率不理想^[11]。

4 洗脱剂的影响

4.1 洗脱剂种类

在实际应用时,可根据树脂种类和吸附力强弱选用不同的洗脱剂。如 X-5 树脂所吸附的番茄红素和 β -胡萝卜素可用石油醚解吸^[6]。彭永芳等^[7]在用 AB-8 树脂吸附分离红花黄色素时,从甲醇、丙酮、乙酸乙酯和不同浓度的乙醇液中选择 80% 乙醇作为洗脱剂。

4.2 洗脱剂浓度

根据吸附力强弱可选用不同的洗脱剂外,还可选用不同浓度的洗脱剂,以达到满意的效果。例如,用 50% 乙醇可洗脱吸附在 D101 树脂上的三七总皂苷^[17],用 30% 和 70% 乙醇可洗脱吸附在 D3520 大孔树脂上的黄褐毛忍冬总皂苷^[18],用 50% 乙醇可洗脱吸附在 D101 树脂上的人参总皂苷^[19],用 50% 乙醇可洗脱吸附在 D101 树脂上的毛冬青总皂苷^[20],用 95% 乙醇可洗脱吸附在 D101 树脂上的地锦草总黄酮^[21],用 50% 乙醇可洗脱吸附在 AB-8 树脂上的苦参总黄酮^[15]。

4.3 洗脱剂 pH

洗脱剂 pH 对其洗脱能力有显著影响,例如黄连生物碱被树脂吸附后,如果用 50%、70%、100% 甲醇洗脱,则小檗碱的回收率低,但若采用含 0.5% H_2SO_4 的 50% 甲醇洗脱,小檗碱的回收率达 100.03%^[22],这是因为减小洗脱剂的 pH,可使碱性吸附物形成离子化合物,从而容易被洗脱。

4.4 洗脱剂流速

洗脱剂流速一般控制在 0.5~5 mL/min 为宜,例如用含 0.5% H_2SO_4 的 50% 甲醇洗脱小檗碱时,流速为 1 mL/min^[22]。用 50% 乙醇洗脱川草乌总生物碱时,流速为 3 mL/min^[10]。

4.5 洗脱剂用量

被大孔树脂吸附的有效成分是否能被完全洗脱和洗脱剂用量关系密切。如 D101 树脂富集保和丸中橙皮苷时,需用 50% 乙醇 100 mL 洗脱,才能基本洗净^[23]。

5 吸附条件的影响

5.1 样品液吸附时间

张纪兴等^[21]采用正交试验研究 D101 树脂富集地锦草总黄酮工艺条件的结果表明,样品静置吸附时间对有效成分的富集有显著影响,以 30 min 较为理想。又如 D101 树脂富集保和丸中橙皮苷时,其样品最佳吸附时间亦为 30 min^[23]。刘荣华等^[12]对 CDA-40 树脂提取胆红素的工艺研究中发现,搅拌吸附时间对胆红素的提取率有显著的影响($P < 0.05$),以 4 h 为宜。

5.2 样品液吸附流速

对于同一浓度的上样溶液,一方面吸附流速过大,会使树脂的工作吸附量下降,提早泄漏;另一方面,流速过小,吸附时间增加。在实际应用时,应综合考虑确定最佳吸附流速。例如,AB-8 树脂对苦参总黄酮的吸附流速为 3 BV/h^[15],D140 树脂对银杏黄酮的吸附流速为 2 BV/h^[14],DM-130 树脂对甘草酸的吸附流速为 2 BV/h^[8]。

6 温度的影响

6.1 上柱药液温度

周萍等^[24]在大孔树脂富集枸杞叶中总皂苷的实验过程中发现样品液上样前低温处理较好,且树脂吸附量也大一些,这可能是因为中药成分在树脂上的吸附是一放热过程,低温有利于提高中药成分的比上柱量,但室温(20~40℃)范围内温度对吸附量影响较小。

6.2 吸附温度

用 LD605 树脂吸附纯化黄连提取液的实验也证实了吸附温度升高,树脂比上柱量下降,这同样也说明中药成分在树脂上的吸附为一放热过程^[3]。

6.3 解吸温度

有文献^[7]报道,解吸温度会影响红花黄色素在 AB-8 树脂上的解吸平衡,温度越高,解吸越快,但当温度高于 80℃ 时,红花黄色素不稳定,故选用 70℃ 的洗脱液进行洗脱。

大孔树脂吸附作为一种有效的分离手段,在天然产物分离中有着广泛的应用前景,并日益显示出其独特的作用,但

由于树脂吸附分离有效成分的影响因素很多且很复杂,为此在实际应用中,需综合考虑各种因素,才能确定树脂的型号及最佳吸附分离条件。同时,由于目前许多应用规律尚未完全清楚,该技术在工业化进程中也还存在着一些实际问题,所以大孔吸附树脂技术尚有许多不足,还有待进一步深入、完善和规范化。

参考文献

- [1] 陈延清.用七种不同大孔吸附树脂精制乐脉胶囊的研究.中成药,2001,23(8):553.
- [2] 夏超,韩英,张文,等.不同大孔吸附树脂对复方脑脉康提取物吸附容量初步比较.时珍国医国药,2000,11(12):1082.
- [3] 侯世祥,朱浩,孙毅毅,等.影响大孔吸附树脂吸附纯化黄连提取液因素的初步考察.中国中药杂志,2000,25(11):666.
- [4] 谢朝晖,张梅,蒋立东.大孔吸附树脂对白芥子生物碱提取分离的应用研究.湖南中医杂志,2002,18(3):69.
- [5] 刘俊红,魏峻峰,王洪志,等.大孔吸附树脂在延胡索生物碱提取分离中的应用.中草药,2002,33(1):37.
- [6] 张裕卿,张黎明,孟李,等.大孔吸附树脂对番茄红素和 β -胡萝卜素吸附分离的研究.中草药,2002,33(7):602.
- [7] 彭永芳,马银海,阎孝金,等. AB-8 树脂吸附和分离红花黄色素.食品科学,2001,22(5):39.
- [8] 傅冬和,刘爱玲,邓克尼,等. DM-130 树脂对甘草酸的吸附性能及提纯应用研究.天然产物研究与开发,2001,14(1):60.
- [9] 向大雄,李煥德,朱叶超,等.大孔吸附树脂分离纯化葛根总黄酮的研究.中国药学杂志,2003,38(1):35.
- [10] 杨桦,邓晓静,易红.大孔吸附树脂用于川草乌中总生物碱的分离提取.中成药,2000,22(8):535.
- [11] 陈骏,宁方红,张志丕,等.一种大孔吸附树脂的合成及在红霉素提取中的应用.中国抗生素杂志,2002,27(5):270.
- [12] 刘荣华,汪洋,陈兰英. CDA-40 大孔树脂提取胆红素工艺研究.中成药,2000,22(3):187.
- [13] 刘斌,石任兵,余超,等.应用大孔吸附树脂分离技术制备蒲黄总黄酮的研究.北京中医药大学学报,2002,25(4):25.
- [14] 何琦,及元乔,丁立生,等. D140 大孔吸附树脂银杏黄酮提取纯化性能研究.天然产物研究与开发,2000,13(1):56.
- [15] 高红宁,金万勤,郭立伟,等. AB-8 树脂对苦参总黄酮的吸附性能研究.中草药,2001,32(10):887.
- [16] 皮文霞,蔡宝昌,潘扬,等.大孔树脂与活性炭富集山茱萸总苷的实验研究.中国中药杂志,2002,27(8):583.
- [17] 刘中秋,蔡雄,赖小平,等.大孔吸附树脂富集纯化三七总皂苷工艺研究.中国实验方剂学杂志,2001,7(3):4.
- [18] 杜江,丁宁,贾宪生.大孔树脂吸附法在黄褐毛忍冬总皂苷提取中的应用研究.中国中药杂志,2001,26(10):685.
- [19] 蔡雄,刘中秋,王培训,等.大孔吸附树脂富集纯化人参总皂苷工艺.中成药,2001,23(9):631.
- [20] 刘中秋,蔡雄,赖小平,等.大孔吸附树脂富集纯化毛冬青总皂苷工艺研究.中药新药与临床药理,2001,12(1):51.
- [21] 张纪兴,李坚,程国华.大孔树脂吸附法富集地锦草总黄酮的工艺研究.中药材,2002,25(2):123.
- [22] 罗集鹏,马红文,许敏青,等.大孔吸附树脂用于小檗碱的富集与定量分析.中药材,2000,23(7):413.
- [23] 刘中秋,赖小平,吴燕红,等.大孔树脂吸附法富集保和丸中橙皮苷的工艺研究.中成药,2001,23(8):550.
- [24] 周萍,廖庆文,刘绍贵,等.大孔树脂富集枸骨叶中总皂苷的研究.湖南中医杂志,2002,18(1):51.

收稿日期:2003-05-30