

以 X-5 型大孔树脂吸附分离苦参生物碱的实验研究

秦学功*, 陈景超

(黑龙江八一农垦大学, 黑龙江 大庆 163319)

[摘要] 目的: 研究一种环保、高效的苦参生物碱分离技术。方法: 以苦参总碱吸附量和解吸率为指标, 从大范围筛选树脂, 并以选出的树脂进一步优化其吸附与解吸的条件。结果: 所选出的树脂为 X-5 型非极性大孔树脂; 优化的吸附条件为上柱液 pH 10、盐离子浓度 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 吸附流速 $6\text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 总生物碱的吸附量可达 $9.74\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 优化的洗脱条件为 60% 乙醇 (pH 1) 洗脱, 解吸率可达 95.5%。结论: X-5 型树脂能直接从苦参渗漉液中快速吸附分离生物碱, 吸附量大、解吸容易, 并对环境、产品无污染, 极具开发成绿色工艺潜力。

[关键词] 苦参生物碱; 大孔树脂; 吸附分离

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0029-03

Study on Adsorption and Separation of Alkaloids in *Sophora flavescens* ait. with X-5 Macroporous Resin

QIN Xue-gong*, CHEN Jing-chao

(Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

[Abstract] **Objective:** To study a environmental and effective separation of alkaloids in *sophora flavescens* ait. Technology. **Method:** With the adsorption and desorption of total alkaloids in *S. flavescens* ait. as parameters, screening a resin from the large-scale, and optimizing condition of absorption and desorption of alkaloids in *S. flavescens* ait. **Result:** The nonpolarity macroporous resin X-5 were selected out; The optimized condition of adsorption is that sample solution pH 10, saltion concentration is $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, adsorption flow rate is $6\text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$. The adsorption is $9.74\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; The optimized condition of desorption is that the alkaloids are desorpted by 60% ethanol (pH 1), the desorption is 95.5%. **Conclusions:** Macroporous resin X-5 can directly and fast adsorpte alkaloids from *S. flavescens* ait. percolation fluid, and desorption of alkaloids is easy, does not pollute products and environment, it has great potential for development of green technology.

[Key words] alkaloids in *Sophora flavescens* ait.; macroporous resin; adsorption and separation

传统中药苦参在我国南北各地均有分布, 生物资源较为丰富。现代研究表明它的主要活性成分为生物碱, 且其药理活性十分广泛而显著, 特别是其中的苦参碱, 其确切的抗乙肝病毒与独特抗肿瘤作用已为医药界所瞩目。目前, 临床上已将苦参碱用于慢性乙型肝炎的治疗, 而需求量日益增大。

苦参生物碱的分离方法, 已见报道的多为碱化水或酸水提取液后, 或以非极性有机溶剂萃取, 或以

离子交换树脂提取。前者大量使用有机溶剂不仅成本高、易燃易爆, 而且污染产品与环境。而后者的生物碱解吸既非常困难又不完全, 其解吸液中生物碱浓度低, 浓缩困难。

大孔树脂用于中药有效成分或部位的分离, 其独到的选择性较高、解吸容易、可再生利用、操作简单、易于放大、有利于清洁生产等优势, 已为业内所共识。

- 1 材料
- 1.1 苦参饮片购自大庆市大同医药公司; X-5 大孔吸附树脂为南开大学化工厂所生产。
- 1.2 对照品 苦参碱(批号 110805-200306), 氧化苦参碱(批号 110780-200306), 槐定碱(批号 110784-

[收稿日期] 20100209(004)

[通讯作者] 秦学功, 教授, 硕士研究生导师, 药物有效成分分离与活性研究, Tel: (0459) 6819299, 13836962693, E-mail: qinxuegong@ yahoo. com. cn

200303) 购自中国药品生物制品检定所, 槐果碱(批号 070112) 购自上海融禾医药科技有限公司。

2 树脂筛选

2.1 上柱液制备 采用文献[1] 的单因素最佳条件来获得苦参渗漉液。之后对其进行还原处理(因氧化型生物碱的水溶性强, 不易被吸附, 故将其还原成相应的游离态生物碱)。再调 pH 为 10, 离心, 取上清液备用。

2.2 树脂预处理 选择 9 种国内已规模化生产的非极性或弱极性国产树脂, 将其充分溶胀, 各量取 15 mL, 分别装柱, 径高比约为 1 :19, 按照常规预处理方法进行树脂处理。

2.3 吸附 吸附流速一般为 2 ~8 BV · h⁻¹, 在此取平均值 5 BV · h⁻¹。9 根树脂柱分别通过同样的上柱液, 收集流出液, 跟踪检测, 直到有生物碱显色反应为止。对上柱液和 9 根树脂柱流出液分别取样, 备测。

2.4 解吸 以 70% 乙醇为洗脱液, 流速 2.5 BV · h⁻¹, 解吸 9 根吸附量已确定的树脂柱。对解吸液分别取样, 备测。

2.5 浓度测定 采用文献[2] 检测各样品。其基本测定条件: 以 G 型薄层硅胶板为固定相, 乙酸乙酯 : 无水乙醇 : 氨水(5 :1 :0.5) 为展开剂, 改良碘化铋钾为显色剂。采用随行标准品、外标两点法定量, 双波长(λ_s 505 nm, λ_r 600 nm) 锯齿形扫描测定。

2.6 筛选结果 还原后的苦参渗漉液中苦参碱、槐果碱和槐定碱三者之和在 90% 以上, 故以三者含量之和作为工艺参数的检验指标, 即苦参总碱。依次按下面公式分别计算各树脂的吸附量与解吸率:

吸附量 = (上柱液浓度 - 流出液浓度) ×流出液体积 /树脂体积

解吸率 = (解吸液中总生物碱含量 /吸附量) ×100%
结果见表 1。

从表中可见, X-5 树脂解吸率略虽低于 D4026 和 DR02 树脂, 但吸附量最高。故选用 X-5 树脂。

3 吸附条件优化

影响吸附效率的主要因素有: 上柱液浓度、pH、盐离子浓度和流速。在实际生产过程中, 因上柱液浓度受上游工序控制, 调节其浓度费时费力, 无实用性。故仅就上柱液的 pH、盐离子浓度和流速对吸附量的影响进行考察。

3.1 上柱液 pH 对吸附的影响 生物碱在酸性条件下成离子状态, 显极性不易被吸附, 故 pH 的考察

表 1 9 种大孔吸附树脂对苦参生物碱的吸附量与解吸率

树脂型号	吸附率 / mg · mL ⁻¹	解吸率 / %
NKA-9	2. 71	92. 7
D2026	1. 31	88. 2
D8016	2. 03	89. 1
DA301	6. 52	90. 9
X-5	7. 81	91. 9
D4026	4. 85	92. 5
DR02	4. 38	92. 4
DA101	7. 17	92. 6
DA201	2. 53	92. 8

范围定为 9.00 ~13.00。树脂的使用与 2.2 相同。

取上柱液 5 等份, 分别调 pH 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 13.0, 以 5 BV · h⁻¹ 流速通液。收集流出液, 跟踪检测, 直到有生物碱显色反应停止通液。检测各柱流出液体积与浓度, 计算吸附量。

各柱的吸附量依次为 6.13, 7.89, 8.17, 8.23, 8.35 mg · mL⁻¹。

可见, 吸附量随着 pH 的增大而增大。但 pH 大于 10 以上, 增大 pH 值, 树脂对苦参碱的吸附量增加不明显, 且 pH 过大对后期处理会带来不便, 因此上柱液的 pH 定为 10。

3.2 盐离子浓度对吸附的影响 取 pH 10 的上柱液 5 等份, 分别调 NaCl 浓度为 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mol · L⁻¹, 离心, 上柱, 其他条件与 3.1 相同。

不同盐离子浓度的吸附量依次为 8.30, 9.74, 9.91, 10.03, 10.12 mg · mL⁻¹。

显然, 随着 NaCl 浓度的增大吸附量也随着增大。然而 NaCl 浓度大于 1.0 mol · L⁻¹ 以后, 增加 NaCl 浓度, 树脂对生物碱吸附量的增量明显下降, 并且浓度越大将来对生产设备的腐蚀越强, 因此上柱液的盐离子浓度定为 1.0 mol · L⁻¹。

3.3 流速对吸附效果的影响 取 5 等份上柱液, 每份 200 mL, 分别以 4, 5, 6, 7, 8 BV · h⁻¹ 流速通过 X-5 树脂柱, 检测流出液中是否含有苦参生物碱。

当流速小于 6 BV · h⁻¹ 时, 苦参生物碱可被完全吸附, 大于 7 BV · h⁻¹ 时, 开始有少量苦参生物碱不能被吸附, 因此吸附流速定为 6 BV · h⁻¹。

4 解吸条件优化

4.1 不同乙醇浓度对解吸效果的影响 从大孔树脂上解吸生物碱常用的环保型解吸剂为乙醇溶液。用蒸馏水将 95% 乙醇分别调成乙醇浓度为 40%,

50%, 60%, 70%, 80%, 进行解吸效果的比较。

其解吸率对应为 61.4%, 75.2%, 89.1%, 90.3%, 93.3%。

可见, 醇浓度增加解吸率增加, 醇浓度大于 60%, 醇浓度的增大, 解吸率增加效果不显著, 故解吸苦参总碱的醇浓度定为 60%。

4.2 不同 pH 对解吸效果的影响 将 5 等份 60% 乙醇分别调 pH 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00。进行脱附效果比较实验。

其解吸率对应为 95.5%, 90.4%, 87.3%, 86.9%, 85.4%。

显然, pH 越小解吸率越高。pH 为 1.00 解吸率最好, 若再降低 pH 必然将对将来的生产设备腐蚀性加剧。故解吸液的 pH 定为 1.00。

5 实验验证

将树脂体积放大为 150 mL, 并重复验证 3 批。首先将处理过的苦参渗漉液1 000 mL 调 pH 为 10, 盐离子浓度调为 1 mol · L⁻¹, 离心, 上柱, 流速为 6 BV · h⁻¹。然后, 蒸馏水洗脱 5 BV, 流速为 2.5 BV · h⁻¹, 除去多糖等水溶性杂质。接着用 15% 乙醇水溶液(pH 12) 洗脱 5 BV, 流速为 2.5 BV · h⁻¹, 除去黄酮等杂质。再用 60% 乙醇水溶液(pH 1) 解吸苦参生物碱, 收集解吸液, 4 °C 冷沉 24 h, 离心, 60 °C 加热 30 min, 离心, 分别测定各生物碱含量。最后, 减压浓缩后, 干燥, 称重, 计算得浸膏率及浸膏中各生物碱质量分数。结果见表 2。

可见, 经过 X-5 树脂处理, 苦参总碱纯度提高 9 倍多, 除杂效果很显著。

表 2 苦参总碱提取物中试考察				%
No.	浸膏得率	总生物碱	苦参碱	槐果碱
1	1.67	39.80	32.54	4.23
2	1.71	40.79	33.32	4.34
3	1.69	39.34	32.15	4.19

注: 上柱前浸膏得率为 16.15%。

6 结论

本研究中用于调节上柱液、解吸剂酸碱性、盐离子浓度的 NaOH, HCl 和 NaCl 价廉易得, 所产生的废水既易于中和排放, 也可以作为有益生作用的牲畜饮用水而无需排放。因为其中的乙醇回收循环利用、所含苦参中的多种氨基酸、有机酸等物质及微量的生物碱有利于牲畜生长。

而从 9 种国产大孔吸附树脂中筛选出的 X-5 非极性树脂, 因对苦参生物碱高选择性吸附, 使得吸附速度快、吸附量大, 且解吸亦快又彻底。该树脂预处理简单、再生容易、使用寿命长、液体流动阻力低、规模放大效应小。故具有开发成绿色化生产工艺极大潜力, 以为该产业的快速、可持续发展奠定坚实基础。

[参考文献]

[1] 秦学功, 徐馨. 二次回归正交旋转组合设计优化苦参生物碱渗漉提取条件[J]. 中国中药杂志, 2008, 33 (22) : 2173.

[2] 秦学功, 元英进. 高效薄层色谱分离苦豆子生物碱的体系优化[J]. 中草药, 2002, 33(6) : 513.

[责任编辑 全燕]