

# 大孔吸附树脂对高良姜素吸附纯化特性的研究

黄云<sup>1</sup>, 陈玲<sup>1</sup>, 候红瑞<sup>1</sup>, 冯毅凡<sup>2</sup>, 张喜梅<sup>1</sup>, 李晓玺<sup>1</sup>, 李琳<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640) (2. 广东药学院药物研究所, 广东 广州 510224)

**摘要:** 目的: 研究大孔吸附树脂分离纯化高良姜中高良姜素的工艺条件及参数。方法: 以高良姜素的吸附率和解吸率为考察指标, 从中筛选树脂, 并研究大孔吸附树脂分离纯化高良姜素的吸附性能和洗脱参数。结果: HPD-600 树脂对高良姜素有较好的吸附分离性能, 适合于从高良姜中提纯高良姜素, 经该树脂吸附解吸, 饱和和吸附率为 91.8%, 解吸率 85.36%。结论: 大孔吸附树脂分离纯化高良姜素的纯度可达 92.4%, 而上柱前初提物中高良姜素纯度为 59.4%, 说明采用本方法分离纯化高良姜素是可行的。

**关键词:** 高良姜; 高良姜素; 大孔吸附树脂; 分离纯化

中图分类号: R284.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)01-0001-04

## Separation and Purification of Galangin from *Alpinia officinarum* Hance by Macroporous Adsorption Resin

HUANG Yun<sup>1</sup>, CHEN Ling<sup>1</sup>, HOU Hong-rui<sup>1</sup>, FENG Yi-fan<sup>2</sup>, ZHANG Xi-mei<sup>1</sup>, LI Xiao-xi<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Institute of Drug Research, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224, China)

**Abstract: Objective:** To study the purification process of galangin in *Alpinia officinarum* Hance with macroporous adsorptive resin. **Methods:** The static adsorption ratio and elution ratio were used to evaluate the adsorption performance of the tested resins for the separation and purification of galangin. **Results:** Resin HPD-600 showed good separation performance and was selected to purify galangin in *Alpinia officinarum* Hance. With this resin, the static adsorption ratio of galangin was 91.8% and the desorption ratio of galangin was 85.36%. **Conclusion:** The purity of the product was up to 92.4%, while it was just 59.4% before purification. This adoption of macroporous adsorption resin to adsorb and purify galangin in *Alpinia officinarum* Hance was feasible.

**Key words:** *Alpinia officinarum* Hance; Galangin; Macroporous adsorption resin; Separation and purification

高良姜(*Alpinia officinarum* Hance)是姜科(Zingiberaceae)植物, 因产于高良郡(今广东省湛江地区的茂名市一带)而得名, 别名良姜、小良姜等<sup>[1]</sup>。高良姜提取物主要由黄酮类物质及内酯两大类活性物质组成。黄酮类物质主要为 $\beta$ -谷黄酮类高良姜素、山奈素、山奈酚、槲皮素、异鼠李素和高良姜酚等<sup>[2]</sup>。高良姜素具有镇痛、止呕、抑制离体肠运动的作用, 是反映高良姜主要功效的有效成分, 且对高良姜的鉴别具有专属性<sup>[3]</sup>。因此, 关于高良姜素的提取纯化及应用的研究近年来引起了人们极大的关注<sup>[1]</sup>。目前, 从高良姜初提物中分离纯化高良姜黄酮主要是采用聚酰胺柱层析法和溶剂萃取法。这些方法处理高良姜黄酮初提物量少, 得率不高, 工艺复杂, 不容易操作。而

收稿日期: 2006-08-18

基金项目: 广东省科技攻关项目(2003C104025); 广东省关键领域重大突破项目(2003A30908); 广州市科技成果转化计划(2004C13G0231)

作者简介: 黄云, 硕士研究生。通讯作者: 陈玲, 副研究员, 硕士生导师

且, 溶剂萃取对高良姜素的选择性不高, 产品纯度低, 同时溶剂本身常带有一些甲苯和铅化物等毒性物质, 从而影响产品质量; 若采用混合溶剂萃取, 则溶剂回收较困难, 且费用高<sup>[4,5]</sup>。本文建立高良姜素提取分离技术路线, 采用大孔吸附树脂代替传统工艺, 取得了令人满意的效果。

### 1 仪器与试剂

高良姜素初提物(59.4%)、高良姜素对照品(广东省药学院药物研究所提供); 大孔吸附树脂 HPD-450、HPD-600、HPD-700(河北沧州宝恩化工有限公司产品); 大孔吸附树脂 S-8、AB-8、NKA-9、NKA(南开大学化工厂产品)。UV-2102 紫外可见分光光度计(龙尼柯仪器有限公司生产); HL-5 恒流泵(上海沪西分析仪器厂)。

### 2 实验方法

## 2.1 大孔吸附树脂的预处理<sup>[6]</sup>

将树脂用蒸馏水充分淋洗,用95%的乙醇浸泡24 h,再对树脂进行真空脱气,将200 mL体积的大孔树脂装入树脂柱中,用2BV(2倍树脂体积)的0.1 mol/L盐酸溶液以4~6BV/h的速度冲洗并浸泡4 h后,用蒸馏水以同样的流速冲洗至中性;再用2BV的0.1 mol/L氢氧化钠溶液以4~6BV/h的速度冲洗后浸泡4 h,然后用蒸馏水冲洗至中性。

## 2.2 高良姜素含量测定方法

精确称量高良姜素标准品10.0 mg(纯度99%以上),用95%乙醇定容至10 mL,吸取2 mL定容至20 mL,再分别吸取1 mL、1.5 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL于10 mL容量瓶中,定容至刻度,获得不同浓度的高良姜素标准溶液。

### (1)标准曲线的绘制

将第一个样品在190~1000 nm范围内扫描,确定高良姜素溶液得测量波长为360 nm。以95%乙醇为空白,在360 nm处测定各标准溶液的吸光度,得到标准曲线为:

$$A=54.1581C, R^2=0.9997$$

其中,A—吸光度,C—高良姜素溶液浓度(mg/mL)

### (2)提取物中高良姜素含量的测定及纯度的计算<sup>[7]</sup>

取高良姜素溶液1 mL,按标准溶液的方法定容,在360 nm测得吸光度,根据标准曲线计算高良姜素浓度,进而计算产品纯度。

$$\text{纯度} = \frac{\text{最终产品中高良姜素含量}}{\text{最终产物的总质量}} \times 100\%$$

## 2.3 大孔吸附树脂树脂对高良姜素的吸附率测定<sup>[8]</sup>

准确称取经预处理的大孔吸附树脂6.0 g,装入具塞磨口三角瓶中,加入澄清的高良姜素溶液(50%乙醇溶液配释)200 mL,置恒温振荡器上振荡12 h,过滤,测定滤液中剩余黄酮浓度,按下式计算各树脂室温下的吸附量及吸附率:

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

$$E = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\%$$

式中Q—吸附量,mg/g;C<sub>0</sub>—初始浓度,mg/mL;C<sub>v</sub>—滤液浓度,mg/mL;V—溶液体积,mL;W—树脂质量,g。E—吸附率,%;C<sub>e</sub>—吸附后高良姜素溶液浓度,mg/mL;

## 2.4 树脂的解吸率测定

取2.3节的方法吸附后的树脂,加入不同浓度的乙醇溶液200 mL,恒温振荡器中进行解吸8 h,在360 nm处测定解吸液的吸光值,计算相应的解吸率。

$$E_0 = \frac{C_a \times V_1}{(C_0 - C_b) \times V} \times 100\%$$

式中,C<sub>a</sub>—解吸液中高良姜素浓度,mg/mL;V<sub>1</sub>—解吸液的体积,mL;V—溶液体积,mL;C<sub>b</sub>—吸附液中高良姜素浓度,mg/mL;E<sub>0</sub>—解吸率,%。

## 3 结果

### 3.1 大孔吸附树脂的筛选

#### 3.1.1 大孔吸附树脂吸附实验

按照2.3节的测定方法对国内部分大孔吸附树脂对高良姜素吸附能力进行初步筛选,结果见表1。

表1 不同型号的大孔树脂对高良姜素的吸附率

树脂型号	S-8	HPD-600	NKA-9	HPD-450
吸附率	98.4%	91.8%	59.0%	37.4%

树脂型号	HPD-700	NKA	AB-8
吸附率	28.5%	26.6%	25.6%

通过表1可知,由于树脂的极性不同,对高良姜素的吸附能力不同,其中S-8对高良姜素吸附具有最高的吸附率,HPD-600次之。

#### 3.1.2 大孔吸附树脂解吸实验

按照2.4节的方法对吸附的S-8及HPD-600大孔吸附树脂进行解吸率测定。结果见图1。

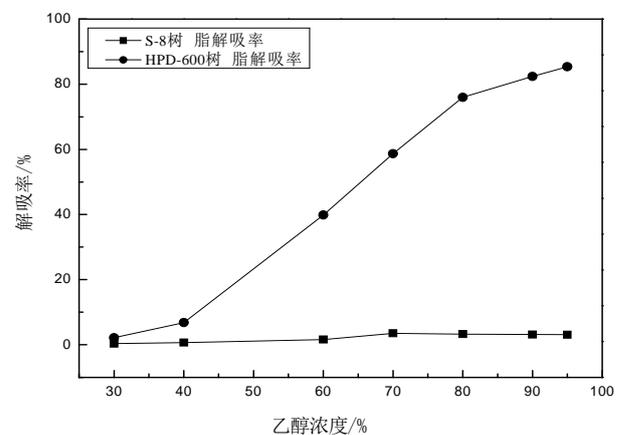


图1 乙醇浓度对解吸率的影响

### Fig 1 Effect of the elutive ratio by different enthanol consistence

树脂极性不同,对高良姜素黄酮吸附作用力强弱不同,解吸难易也会不一样。因此,生产上希望树脂不仅吸附量大,还要求解吸率高,以保证有效成分最大限度回收。由此可见,解吸率测定是树脂实验的重要环节。由图1可以看到,HPD-600树脂的解吸率随乙醇浓度的增加而快速增大,当乙醇浓度为95%时,解吸率为85.36%,表明所吸附的高良姜素能被较好地洗脱。S-8树脂的解吸率始终低于5%,用乙醇基本无

法将所吸附的高良姜素洗脱下来。

通过对大孔吸附树脂对高良姜素吸附和解吸性能的综合比较,选择 HPD-600 型大孔吸附树脂来纯化高良姜素。

### 3.2 大孔吸附树脂纯化高良姜素工艺研究

#### 3.2.1 初提物溶液浓度对吸附性能的影响

用 50% 的乙醇配置不同浓度的高良姜素初提物溶液,研究结果如图 2、图 3。从图可知 HPD-600 大孔吸附树脂对高良姜素的吸附率随初提物溶液浓度的增加而明显下降,但对高良姜素的吸附量却不断增加。为使大孔吸附树脂具有最大的吸附量,充分利用树脂,选择在初提物溶液浓度为 0.82mg/mL,此时达到饱和。

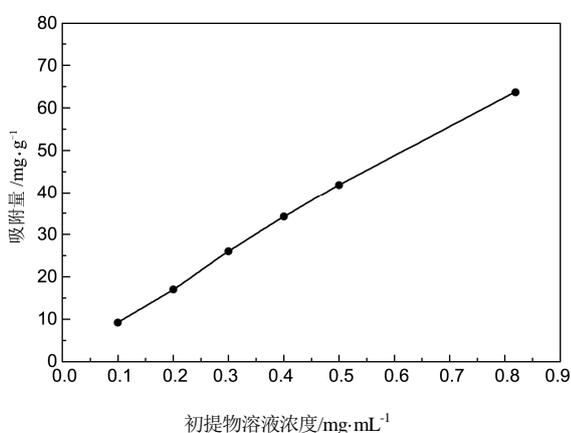


图 2 初提物溶液浓度对吸附率的影响

Fig 2 The static adsorption ratio of different coarse galangin concentration

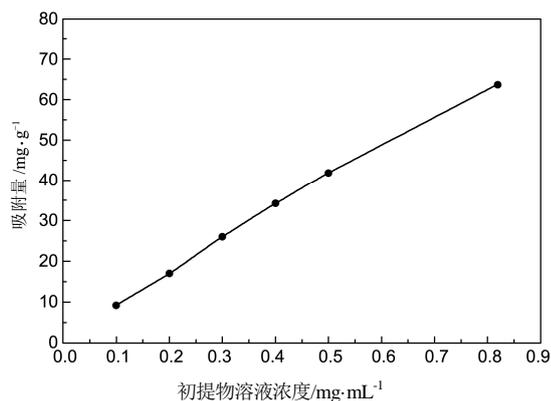


图 3 初提物溶液浓度对吸附量的影响

Fig 3 The static adsorption capacity of different coarse galangin concentration

#### 3.2.2 初提物溶液 pH 值对 HPD-600 树脂高良姜素吸附性能的影响

黄酮类化合物浸提液的 pH 值对化合物在吸附、分离过程中的影响显著。吸附过程中吸附质以分子状态被吸附剂吸附,因此要达到较好的效果必须使吸附

质保持分子状态。本文研究了 pH 为 3~8 范围内树脂对高良姜素吸附量的变化,所用高良姜素初提物溶液浓度为 0.82 mg/mL (50%乙醇配制),结果如图 4 所示。从图 4 可知, pH 小于 6 时,随 pH 的增加,树脂对高良姜素的吸附量增加,当 pH=6 时有最高吸附量,之后吸附量则随 pH 值的增加而减小。因此溶液 pH 在 5~7 范围内较佳。在此 pH 范围内,黄酮类化合物既保持了分子状态,同时又不会形成伴盐(伴盐的结构为 R-OH<sup>+</sup>),满足形成氢键的条件。本文选用高良姜素初提物饱和溶液自身 pH=6.48 作为实验 pH 值。

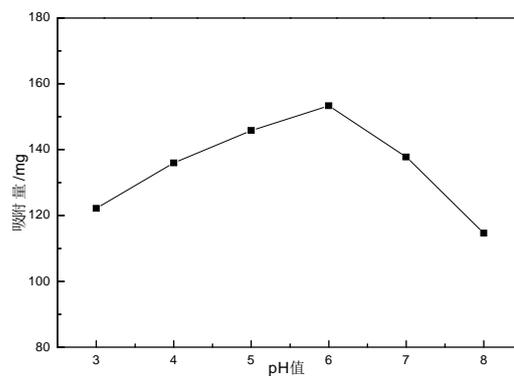


图 4 pH 对吸附量的影响

Fig 4 Investigation of pH in HPD-600 resin

#### 3.2.3 流速对吸附性能的影响

将浓度为 0.82 mg/mL 高良姜素初提物溶液按 1BV/h、1.5BV/h、2BV/h、2.5BV/h、3BV/h 不同流速通入装有 200mL HPD-600 树脂柱中,考察不同流速对树脂吸附量的影响,结果见图 5。图中显示流速超过 2BV/h 则吸附量急剧下降。预期较大流速条件下可以提高纯化效率,但流速过大会提早泄漏,且树脂层压头损失增加,能耗增多。因此采用 HPD-600 树脂吸附高良姜素初提液,选择流速为 2BV/h。

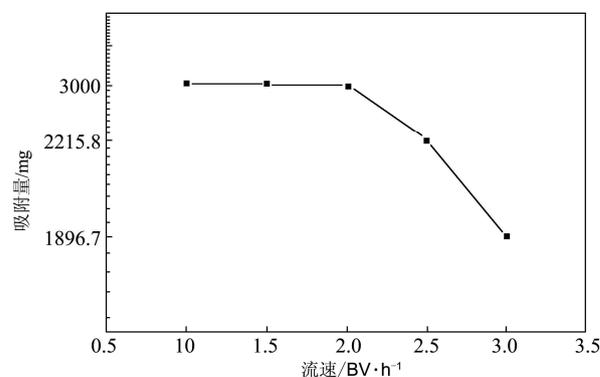


图 5 流速与吸附量关系曲线

Fig 5 The connection of static adsorption capacity and flow rate

### 3.3 HPD-600 型大孔树脂吸附容量

取 0.82 mg/mL(50%乙醇溶解)高良姜素初提物溶液 6600 mL(33 倍柱体积), pH 为 6.48, 以 2BV/h 的流速通过树脂柱进行吸附, 分段收集流出液, 每 200 mL 为一份, 按照 2.2 节的方法分别测定各份流出液的吸光度, 计算各份流出液浓度, 直至树脂吸附达到饱和, 绘制出树脂的动态吸附泄漏曲线。如图 6 所示, 当流出液体积达到 9 倍树脂体积(1800 mL)时, 高良姜素溶液开始出现明显的泄漏, 当达到 24 倍树脂体积时, 吸附达到平衡。故确定高良姜素初提物溶液在 HPD-600 树脂柱的最大上柱体积是 4800 mL。

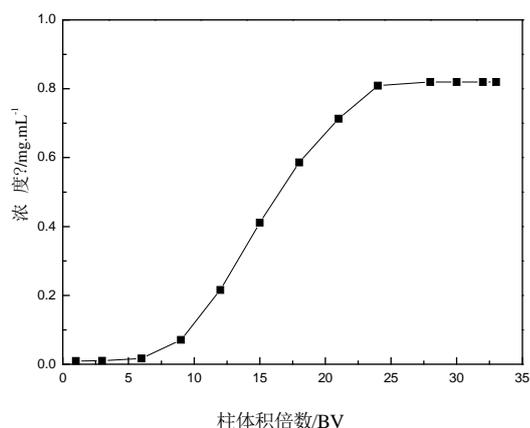


图 6 HPD-600 树脂对高良姜素吸附泄漏曲线

Fig 6 HPD-600 resin adsorption piceid

### 3.4 解吸曲线的分析

用 95%乙醇对试验 2.3 节中达到吸附饱和的树脂在室温下进行动态洗脱。解吸流速为 3 mL/min, 每 20 mL 收集一份, 根据 2.2 节测解吸液吸光度计算解吸液浓度, 绘制解吸曲线, 如图 7。

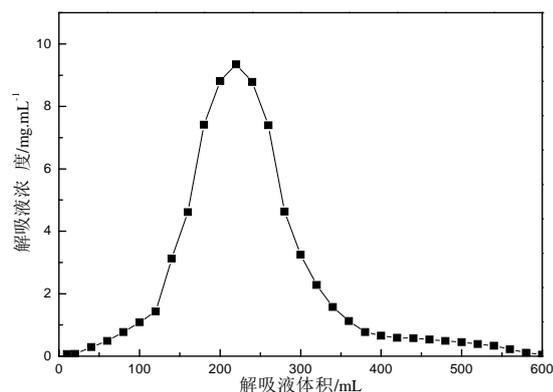


图 7 HPD-600 树脂的动态解吸曲线

Fig 7 Elution curve of HPD-600

从图 7 中知, 高良姜素的解吸峰出现在 120 mL~400 mL 范围。400 mL 以后的解吸液中高良姜素含量非常低, 表明大部分高良姜素已经被解吸下来。图 7 的结果显示 95%乙醇溶液对 HPD-600 树脂吸附的高良姜素有较好的解吸效果。收集解吸后高良姜素溶液旋转蒸发浓缩, 干燥后可获得产品。按 2.2 节的方法计算高良姜素含量为 92.4%。

## 4 讨论

4.1 S-8 和 HPD-600 型大孔树脂对高良姜素具有良好的吸附性能, 但 S-8 型的解吸效果差, 而 HPD-600 型树脂吸附的大部分高良姜素能被洗脱下来, 显然具有较好的解吸性能, 故最终筛选出 HPD-600 型大孔树脂作为高良姜素的吸附树脂。

4.2 采用 HPD-600 型大孔树脂纯化高良姜素是可行的。采用 50%乙醇溶解初提物, pH 值 6.48, 流速为 2BV/h、洗脱剂为 95%乙醇, 此工艺可将高良姜素初提物的高良姜素含量由原来的 59.4%提高到 92.4%。

## 参考文献

- [1] 何瑞,王涛.天然化学成分高良姜素研究进展[J].时珍国医国药,1999,10(10):788-789
- [2] 罗辉,蔡春.高良姜化学成分研究[J].中药材,1998,7(7)
- [3] 吴清和,荣向路.高良姜素药效学研究[J].中药材,2000,23(11):699-701
- [4] 林辉.中药高良姜总黄酮的含量测定[J].时珍国医国药,2001,(12):486-487
- [5] 宋爱清.HPLC 法测定蜂胶中黄酮类化合物的含量[J].中国养蜂,2001,52
- [6] 黎海彬等.大孔吸附树脂提取罗汉果皂甙的研究[J].食品工业科技,2003,24(2):19-21
- [7] 林辉.中药高良姜总黄酮的含量测定[J].时珍国医国药,2001,(12):486-487
- [8] HE Bing-Lin, HUANG Wen-Qiang. Ion Exchange and Adsorption Resin(离子交换与吸附树脂)[M].Shanghai: Shanghai Sciences and Education Press,1993