

应用大孔吸附树脂纯化荷叶生物碱的研究

崔炳群

(广东省食品工业研究所, 广东广州 510308)

摘要: 本文研究了 AB-8、D101、HP-20 三种大孔吸附树脂对荷叶总生物碱的动态、静态吸附及解吸性能, 筛选出一种高吸附、高解吸性能树脂。在此基础上研究了吸附流速、上样液 pH 值、最大上样量、解吸流速、洗脱液浓度及 pH 值对提取、纯化荷叶碱的影响。结果表明: D101 树脂为提取、纯化荷叶总生物碱的最佳树脂, 其最佳纯化条件是: 吸附流速 2 BV/h, 上样液 pH 值 10, 最大上样量 6 BV; 解吸流速 2 BV/h, 洗脱液为 pH 值 3 的 70% 乙醇溶液。荷叶总生物碱纯化物中荷叶碱的含量为 2.26%。为荷叶总生物碱的开发利用打下了基础。

关键词: 荷叶; 生物碱; 荷叶碱; 大孔吸附树脂; 高效液相色谱法

文章编号: 1673-9078(2013)7-1664-1669

Purification of Alkaloids of Leaves of *Nelumbonucifera* Gaertn by Macroporous Adsorption Resin

CUI Bing-qun

(Guangdong Food Industry Institute, Guangzhou 510308, China)

Abstract: For purification total alkaloids of *Nelumbonucifera* leaves, capability of adsorption and desorption of three kinds of macroporous adsorption resin such as AB-8, D101 and HP-20 were explored. Then the effects of adsorption parameters, such as flow rate of adsorption, pH value, maximum loading amount of the extract solution; concentration, pH value of eluant and flow rate of desorption, on the nuciferine content were investigated by HPLC. The results showed that D101 was the most efficient Resin. The optimum condition were 2BV/h of loading rate, 10 of pH value, 6 BV of maximum loading amount of the extract solution, flow rate of desorption 2BV/h and pH 3 of the eluent (70% aqueous ethanol solution). Under such conditions, the ratio of nuciferine to the purified extract of *Nelumbonucifera* leaves was up to 2.26%. This research provided references for comprehensive development and utilization of the total Alkaloids of Leaves of *Nelumbonucifera* Gaertn.

Keywords: leaves of *Nelumbonucifera*; alkaloids; nuciferine; macroporous adsorption resin; HPLC

睡莲科植物莲(*Nelumbonucifera* Gaertn)在我国南北方均有栽培, 其叶片为荷叶。荷叶所含化学成分复杂, 除含多种生物碱外, 还含有普通植物所共有的碳水化合物、脂质等常规成分以及黄酮、挥发油、鞣质、有机酸等活性成分。荷叶有良好的利尿和收敛功能, 能用于治疗发热、出汗、尿急, 并能作为止血剂。现代研究发现荷叶生物碱有降脂减肥^[1], 抗动脉粥样化^[2], 抗 HIV 病毒^[3], 抑菌^[4-5]和抗氧化、保肝^[6]等活性, 因此越来越受到人们的重视。由于荷叶生物碱的含量较低, 最常用的酸水提取或乙醇提取并结合有机溶剂萃取法虽然可以除去大部分杂质, 但荷叶生物碱的分离、富集、纯化仍然存在一定的难度。已经有报道用大孔吸附树脂纯化荷叶生物碱^[7-9], 但对纯化条件进行

收稿日期: 2013-03-08

作者简介: 崔炳群 (1968-), 男, 高工, 研究方向: 食品工艺、天然大分子功能性配料的研发

系统的研究的文献并不多见。本文采用大孔吸附树脂富集纯化荷叶总生物碱, 根据吸附、解吸性能对 3 种大孔吸附树脂进行筛选。采用高效液相色谱法进行检测, 以荷叶碱峰面积为指标, 对吸附、解吸条件进行考察, 优选出最佳的吸附流速、上样液 pH 值、最大上样量、解吸流速、洗脱液浓度及洗脱液 pH 值; 并对纯化产品进行了检测分析, 为荷叶总生物碱的开发利用奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与试剂

荷叶于 2011 年 8 月采摘于湖北武汉, 品种为武植二号。60 °C 烘箱中烘 4 h, 粉碎过 60 目筛, 用聚氯乙烯和聚乙烯的复合膜袋包装, 室温贮藏于干燥器中备用。

荷叶碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 编号

111566-200402); 乙腈为色谱纯, 盐酸、氢氧化钠、乙醇、甲醇、三乙胺、氯仿等试剂均为分析纯。

D101, AB-8 型大孔吸附树脂均购于南开大学化工厂。HP-20 三菱化学大孔吸附树脂购于上海摩速科学器材有限公司。

1.2 实验仪器

分析天平; 旋转蒸发仪; 数显恒温水浴锅; pH 计; 多功能食品粉碎机; 超声波清洗器; 瓦里安高效液相色谱。

1.3 实验方法

1.3.1 树脂的预处理与树脂柱的净化^[10]

D101 及 HP-20 型大孔吸附树脂用 95% 乙醇浸泡, AB-8 型大孔吸附树脂用丙酮浸泡, 24 h 后装柱, 然后均用 95% 乙醇洗至流出液无异味, 且与水混合时不产生混浊; 同时, 取 95% 乙醇流出液适量在 200~400 nm 范围内扫描, 确定在 250 nm 左右无明显紫外吸收后再改用大量水洗至无醇味后备用。

1.3.2 上样液的制备

称取 450 g 荷叶粉末, 以料液比 1:15 加入 90% 乙醇溶液, 在 84 °C 下冷凝回流提取 2 h, 过滤, 滤渣用相同量的 90% 乙醇溶液再提一次^[11]。提取结束后, 在旋转蒸发仪上将提取液浓缩, 提取液用 0.5% 的 HCl 调节 pH 值至 2~3, 抽滤。滤液用 0.5% NaOH 调节 pH 值至 6~7, 静置、抽滤后再用 0.5% NaOH 调 pH 值至 10 左右, 定容到 1 L, 即荷叶总生物碱提取液^[10]。取适量荷叶总生物碱提取液 4 份, 分别调节 pH 值至 2.5、5、7.5、10, 保存于 4 °C 冰箱中备用。

1.3.3 荷叶碱的含量测定

1.3.3.1 色谱条件^[12]

色谱柱: Dismonsli-C18 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-三乙胺 (56:44:0.2, V/V/V); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 °C。

1.3.3.2 荷叶碱标准曲线制备

取荷叶碱标准品适量, 加甲醇溶解, 制成每 1 mL 含 0.64 mg 的溶液。

吸取荷叶碱标准品溶液 (0.64 mg/mL) 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 分别吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积。以标准品溶液的浓度 (μg/mL) 为横坐标, 峰面积 (mAU*sec) 为纵坐标绘制标准曲线, 并计算回归方程。

1.3.3.3 样品溶液的制备

将待测样品用 0.5% NaOH 调整至 pH 值 10 左右, 在旋转蒸发仪上蒸干, 加入适量甲醇, 超声溶解, 并定容至 10 mL。过 0.45 μm 微孔滤膜后, 取 20 μL 注

入液相色谱仪。

1.3.4 大孔吸附树脂筛选

1.3.4.1 静态吸附解吸性能考察

分别称取预处理过的三种大孔吸附树脂 4 g, 置于 100 mL 锥形瓶中, 各加入 10 mL pH 值为 10 的上样液; 封口后置于 30 °C 摇床中, 120 r/min 振摇 24 h。将上述吸附饱和的树脂过滤出来, 滤液按上述 1.3.3 项测定荷叶碱含量。用滤纸将树脂表面的液体吸干, 再将其分别放入 100 mL 锥形瓶中, 各加入 40 mL 70% 乙醇溶液。封口后置于 30 °C 摇床中, 120 r/min 振摇 24 h, 将解吸后的树脂过滤出来, 滤液按上述 1.3.3 项测定荷叶碱含量, 并计算静态吸附率和静态解吸率。

1.3.4.2 动态吸附解吸性能考察

分别称取预处理过的三种大孔吸附树脂 4 g, 装入直径为 2 cm 的层析柱中。吸取 pH 值为 10 的上样液 10 mL, 上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱, 收集流出液, 将流出液按上述 1.3.3 项测定荷叶碱含量。然后用 10 BV 的蒸馏水洗吸附饱和的树脂, 再用 70% 乙醇溶液以 2 BV/h 的流速进行洗脱, 直至洗脱液不再含生物碱 (检测终点: 加碘化铋钾无桔红色沉淀, 加硅钨酸无灰白色沉淀)。测量洗脱液用量后将解吸液按上述 1.3.3 项测定荷叶碱含量, 并计算动态吸附率和动态解吸率。

1.3.4.3 统计分析

实验数据用平均值±标准偏差 (n=3) 表示。实验数据用 SPSS13.0 统计软件进行一元方差分析 (one-way ANOVA), 显著水平设为 P<0.05。当有显著差异时, 再进行 Duncan's 多重比较。

1.3.5 吸附条件的确定

1.3.5.1 吸附流速的选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101 5 份, 装入直径为 2 cm 的层析柱中。吸取 pH 值为 10 的上样液 10 mL, 上样, 分别以 1、2、3、4、5 BV/h 的流速通过层析柱, 收集流出液, 按上述 1.3.3 项测定流出液中荷叶碱含量。以吸附流速 (1、2、3、4、5 BV/h) 为横坐标, 流出液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

1.3.5.2 上样液 pH 值的选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101 4 份, 装入直径为 2 cm 的层析柱中, 分别吸取 pH 值为 2.5、5.0、7.5、10.0 的上样液 10 mL, 上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱。经 10 BV 蒸馏水洗后用 70% 乙醇溶液洗脱, 流速为 2 BV/h。按上述 1.3.3 项测定洗脱液中荷叶碱含量。以上样液 pH 值 (2.5、5.0、7.5、10.0) 为横坐标, 洗脱液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

1.3.5.3 最大上样量选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101, 装入直径为 2 cm 的层析柱中, 将 pH 值为 10 的上样液上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱, 分步收集流出液, 按上述 1.3.3 项测定流出液荷叶碱含量。以流出液体积 (2 BV、4 BV、6 BV、8 BV、10 BV、12 BV) 为横坐标, 流出液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

1.3.6 解吸条件的确定

1.3.6.1 解吸流速的选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101 5 份, 装入直径为 2 cm 的层析柱中。吸取 pH 值为 10 的上样液 10 mL, 上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱, 然后用 10 BV 的蒸馏水洗树脂, 再用 70% 乙醇溶液洗脱分别以 1、2、3、4、5 BV/h 的流速通过层析柱, 直至洗脱液不再含生物碱。按上述 1.3.3 项测定洗脱液中荷叶碱含量。以解吸流速 (1、2、3、4、5 BV/h) 为横坐标, 洗脱液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

1.3.6.2 洗脱液浓度的选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101 5 份, 装入直径为 2 cm 的层析柱中。吸取 pH 值为 10 的上样液 10 mL, 上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱, 经 10 BV 蒸馏水洗后分别用 10%、30%、50%、70%、90% 乙醇溶液洗脱, 流速为 2 BV/h。按上述 1.3.3 项测定洗脱液中荷叶碱含量。以洗脱液浓度 (10%、30%、50%、70%、90%) 为横坐标, 洗脱液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

1.3.6.3 洗脱液 pH 值的选择

称取 4 g 预处理过的大孔吸附树脂 D101 4 份, 装入直径为 2 cm 的层析柱中。吸取 pH 值为 10 的上样液 10 mL, 上样, 以 2 BV/h 的流速通过层析柱。经 10 BV 蒸馏水洗后分别用 pH 3、5、7、9 的 70% 乙醇溶液洗脱, 流速为 2 BV/h。按上述 1.3.3 项测定洗脱液中荷叶碱含量。以洗脱液 pH 值 (3、5、7、9) 为横坐标, 洗脱液中荷叶碱峰面积为纵坐标作图。

2 结果与分析

2.1 荷叶碱标准曲线及回归方程

图 1 为荷叶碱标准曲线, 得到回归方程 $y=77.746x+28.238$ ($r=0.999$)。荷叶碱在 0~32.00 $\mu\text{g/mL}$ 范围内具有良好的线性关系。

2.2 大孔吸附树脂筛选

从表 1 可以看出三种树脂的静态吸附率差异显著 ($P<0.05$), 但静态吸附率在 D101 与 HP-20 之间的差异不显著 ($P>0.05$)。D101 和 HP-20 能吸附 10 mL pH=10 的上样液中约 94% 的荷叶碱, 约为 AB-8 的 1.35 倍。AB-8 的静态解吸率最低, 只有 11.18%, 约为 D101

和 HP-20 的 0.69 倍。三种树脂的静态解吸率差异显著 ($P<0.05$), 但静态解吸率在 D101 与 HP-20 之间的差异不显著 ($P>0.05$)。AB-8 的静态解吸率最低, 只有 11.18%, 约为 D101 和 HP-20 的 0.69 倍。本实验中三种树脂的静态解吸率都很低有可能是因为 70% 的乙醇溶液对荷叶碱的解吸能力不够。

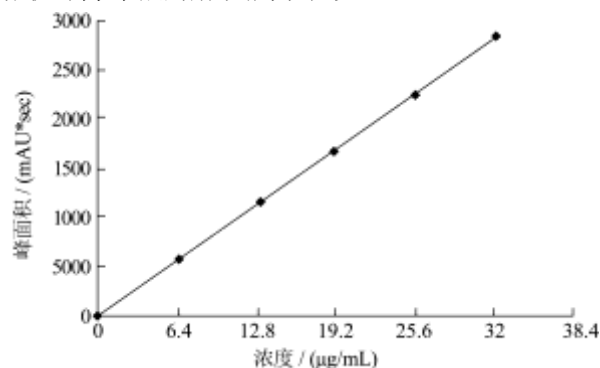


图 1 荷叶碱标准品标准曲线

Fig.1 Standard curve of the reference standards of nuciferine

表 1 三种大孔吸附树脂静态吸附及解吸性能

Table 1 Capability of static, dynamic adsorption and desorption of three kinds of macroporous adsorption resin

树脂类型	静态吸附率/%	静态解吸率/%	动态吸附率/%	动态解吸率/%
AB-8	69.31±0.52 ^a	11.18±0.15 ^a	72.36±0.24 ^a	11.31±0.20 ^a
D101	94.38±0.21 ^b	16.11±0.09 ^b	98.25±0.26 ^b	16.35±0.17 ^b
HP-20	94.51±0.14 ^b	16.28±0.30 ^b	98.29±0.25 ^b	16.35±0.27 ^b

注: * 同一列中平均数的不同上标表示显著差异 (one-way ANOVA; $P<0.05$)

从表 1 可以看出三种树脂的动态吸附率差异显著 ($P<0.05$), 但动态吸附率在 D101 与 HP-20 之间的差异不显著 ($P>0.05$)。D101 和 HP-20 的动态吸附能力几乎一样, D101 和 HP-20 的动态吸附率约 98%, 约为 AB-8 的 1.36 倍。三种树脂的动态解吸率差异显著 ($P<0.05$), 但动态解吸率在 D101 与 HP-20 之间的差异不显著 ($P>0.05$)。AB-8 的动态解吸率最低, 只有 11.31%, 约为 D101 和 HP-20 的 0.69 倍。本实验中三种树脂的动态解吸率都很低, 有可能是因为荷叶碱是呈碱性的, 以游离状态被吸附, 而洗脱液 70% 乙醇溶液的 pH 值为自然状态下的, 约为 6.5, 对荷叶碱的解吸能力不够。

根据静态、动态吸附及解吸性能的对比, 可以确定 D101 和 HP-20 相对于 AB-8 更适合。考虑到动态解吸时, HP-20 的洗脱液的用量约为 D101 洗脱液的用量的 1.5 倍。为了节约乙醇资源及实验时间, 实验中选择 D101 作为最好的材料。该结果与郗冰冰 (2007) [13] 和肖桂青 (2007) [9] 的研究结果一致。

2.3 吸附流速的确定

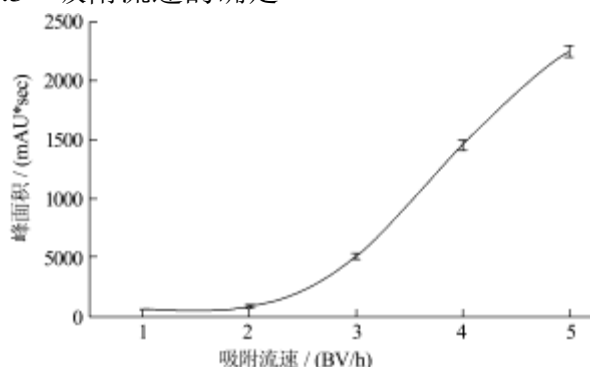


图2 吸附流速对荷叶碱峰面积的影响

Fig.2 Influence of flow rate of adsorption on peak area of nuciferine

由图2可以发现,吸附流速为1 BV/h时,流出液中荷叶碱峰面积最小,此时D101树脂对荷叶碱的吸附率为98.68%。吸附流速为2 BV/h时流出液的荷叶碱峰面积只略有增加,说明吸附流速为1 BV/h和2 BV/h时,D101对荷叶碱的吸附能力是很接近的。但吸附流速大于2 BV/h时,流出液中的荷叶碱峰面积剧烈增加,可能由于流速太快,荷叶碱来不及被吸附就已经流出。考虑到实验中实验时间的合理性,选择2 BV/h为最好的吸附流速。

2.4 上样液 pH 值的确定

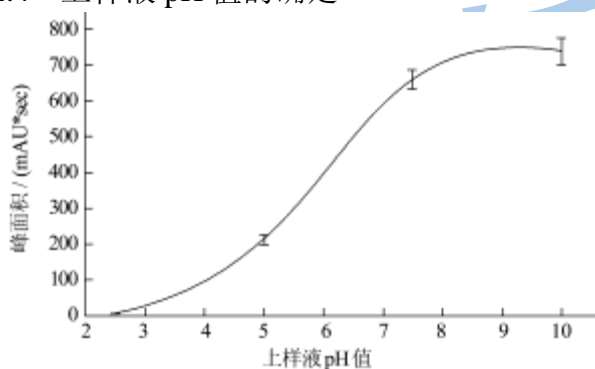


图3 上样液 pH 对荷叶碱峰面积的影响

Fig.3 Influence of pH value of the extract on peak area of nuciferine

从图3可以看出,随着上样液pH值的提高,洗脱液中荷叶碱峰面积一直增加。很可能是由于上样液呈酸性时荷叶碱呈盐状态,水洗树脂时荷叶碱盐被水洗脱下来,从而导致洗脱液中荷叶碱含量降低。在pH值为2.5时,荷叶碱在水中的溶解性最好^[4],荷叶碱盐几乎都被水洗脱下来,因此洗脱液中几乎没有荷叶碱。上样液呈碱性时,荷叶碱呈游离状态被树脂吸附,不易被水洗下来,最终荷叶碱被洗脱液洗脱下来使得洗脱液中荷叶碱含量增加。上样液pH值由8提高到10时,纯化液中荷叶碱峰面积只是略有增加,考虑到

上样液碱性过强会对树脂造成损害,上样液pH值为10是最佳的。该结果与肖桂青(2007)^[9]研究结果一致。

2.5 最大上样量的确定

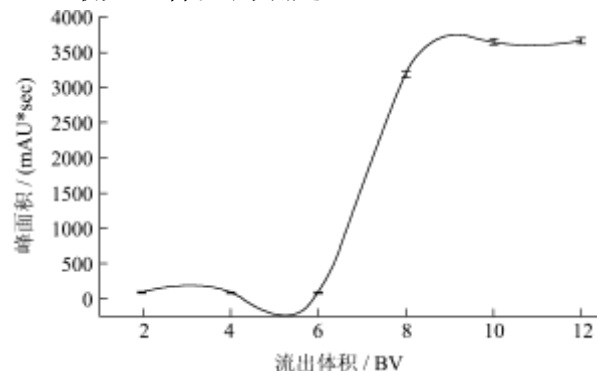


图4 流出体积对荷叶碱峰面积的影响

Fig.4 Influence of volume of outflow on peak area of nuciferine

从图4可以看出,流出液体积从2 BV增加6 BV时,流出液中荷叶碱峰面积一直很低,几乎是保持不变的,这表明流出液体积为6 BV时,仍然没有荷叶碱泄漏;流出液体积从6 BV增加8 BV时,流出液中荷叶碱峰面积急剧增加,表明流出液体积超过6 BV后开始出现荷叶碱泄漏现象。因此,最大上样量为6 BV。

2.6 解吸流速的确定

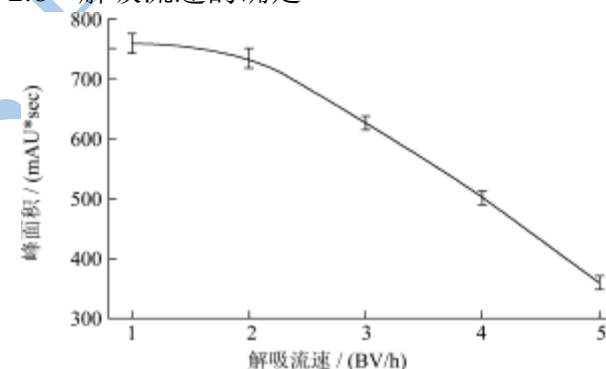


图5 解吸流速对荷叶碱峰面积的影响

Fig.5 Influence of flow rate of desorption on peak area of nuciferine

从图5可以看出,随着解吸流速的增加,洗脱液中荷叶碱峰面积逐渐减小。可能是解吸流速过大,使得吸附在树脂上的荷叶碱没有得到充分解离,从而未被洗脱下来。与解吸流速为1 BV/h时荷叶碱峰面积相比,解吸流速2 BV/h时洗脱液中荷叶碱峰面积只是略有下降,考虑到实验中乙醇资源的节约和实验时间的节省,选择2 BV/h为最佳的解吸流速。

2.7 洗脱液浓度的确定

实验中选择的洗脱液分别为10%、30%、50%、70%、90%乙醇溶液。从图6可以看出,洗脱液(乙

醇溶液)浓度为70%时,荷叶碱峰面积远高于洗脱液浓度为10%、30%、50%、90%的荷叶碱峰面积,很明显,70%乙醇溶液洗脱能力最强。该结果与郗冰冰(2007)的结果一致。但是肖桂青(2007)研究表明50%乙醇溶液对荷叶总生物碱的洗脱效果最好^[9]。封聚强(2008)研究发现用50~70%乙醇溶液梯度洗脱荷叶总生物碱才能将吸附在D101树脂上的荷叶总生物碱洗脱完全^[8]。用最佳的洗脱液(乙醇溶液)浓度为70%。但是70%乙醇溶液对荷叶碱的洗脱率只有16.35%。很可能是因为荷叶碱呈游离状态被树脂吸附,自然pH值的70%乙醇溶液不足以将荷叶碱完全洗脱下来。因此,考虑洗脱液的pH值对洗脱效果的影响时必须的。

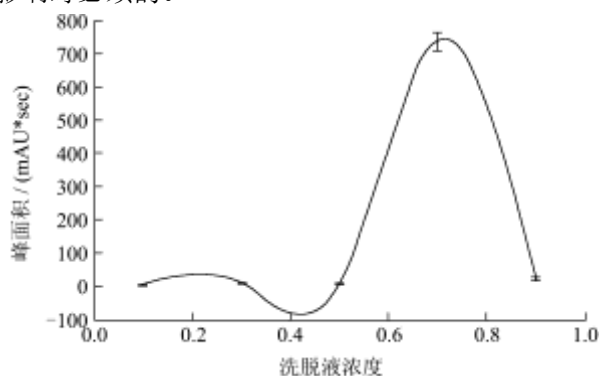


图6 洗脱液浓度对荷叶碱峰面积的影响

Fig.6 Influence of concentration of eluant on peak area of nuciferine

2.8 洗脱液 pH 值的确定

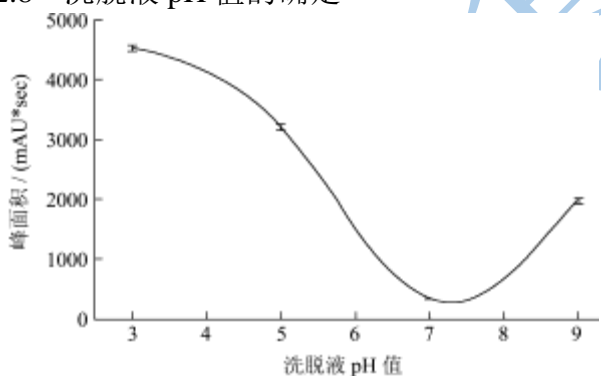


图7 洗脱液 pH 值对荷叶碱峰面积的影响

Fig.7 Influence of pH value of eluant on peak area of nuciferine

从图7中可以看出,随着70%乙醇溶液的pH值的增加,洗脱液中荷叶碱峰面积先下降,在pH值为7时达到最低点,再上升。很明显,洗脱液pH值为3时,得到的洗脱液中荷叶碱峰面积达到最大值。很可能是因为pH值为3的70%乙醇溶液能够使得碱性的荷叶碱与树脂充分解离,因而几乎全部被洗脱下来。它的解吸率为98.21%。根据相似相溶原理,洗脱液pH值为9的70%乙醇溶液能够较好的洗脱碱性的荷

叶碱,但此时的荷叶碱峰面积仍低于洗脱液pH为5时的荷叶碱峰面积。考虑到洗脱液酸度过强或碱性过强都会损害树脂的使用寿命,选择pH值3为最佳的洗脱液pH。肖桂青(2007)研究表明pH值3的50%乙醇溶液对荷叶总生物碱的洗脱效果最好^[9],本文研究结果与该结果存在细微差别。

2.9 荷叶纯化物中荷叶碱含量测定

2.9.1 荷叶碱光谱图

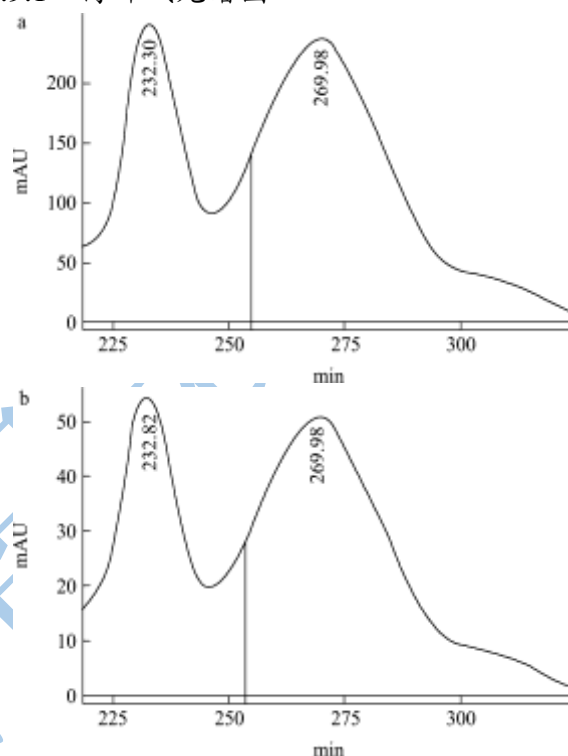


图8 荷叶碱标准品(a)和荷叶纯化物中荷叶碱(b)的光谱图

Fig.8 Spectrogram of reference standards of nuciferine (a) and nuciferine in the purified extract of Nelumbonucifera leaves (b)

从图8中可以发现,荷叶碱标准品的紫外吸收光谱主要由两个吸收峰组成,一个在232nm附近,另一个是在270nm附近,该吸收光谱特征与阿朴啡生物碱的特征吸收光谱是相符合的。荷叶纯化物中荷叶碱的紫外吸收光谱与荷叶碱标准品紫外吸收光谱一致。

2.9.2 荷叶碱标准品和荷叶纯化物的色谱图

从图9(a)可以看出荷叶碱标准品在12.50min出峰。图9(b)表明荷叶纯化物中有6种生物碱,各组分均达基线分离,峰型尖锐,无漂移无拖尾现象。证明该分离方法能够将荷叶纯化物中有6种生物碱进行有效分离。其中有一个峰在12.50min出峰,与荷叶碱标准品的保留时间一致,并且该峰的紫外吸收光谱与荷叶碱标准品的紫外吸收光谱一致,因此可以确定该峰物质是荷叶碱。荷叶碱峰面积百分比13.31%,荷叶总生物碱峰面积百分比为40.40%,荷叶总生物碱纯化物中荷叶碱的含量为2.26%。荷叶中荷叶碱的含量为

144.32 $\mu\text{g/g}$ 。肖桂青(2007)用 D101 树脂纯化得到的荷叶总生物碱经 HPLC 检测含有 8 种生物碱,其中荷叶碱含量为 1.37%,荷叶碱的峰面积百分比为 10.81%^[9]。封聚强(2008)用大孔吸附树脂 D101 吸附荷叶总生物碱,荷叶总生物碱经 50~70%乙醇溶液梯度洗脱后经 HPLC 检测其中的荷叶碱含量为 1.3%^[8]。本文得到的荷叶总生物碱中的荷叶碱含量高于前人研究的结果。

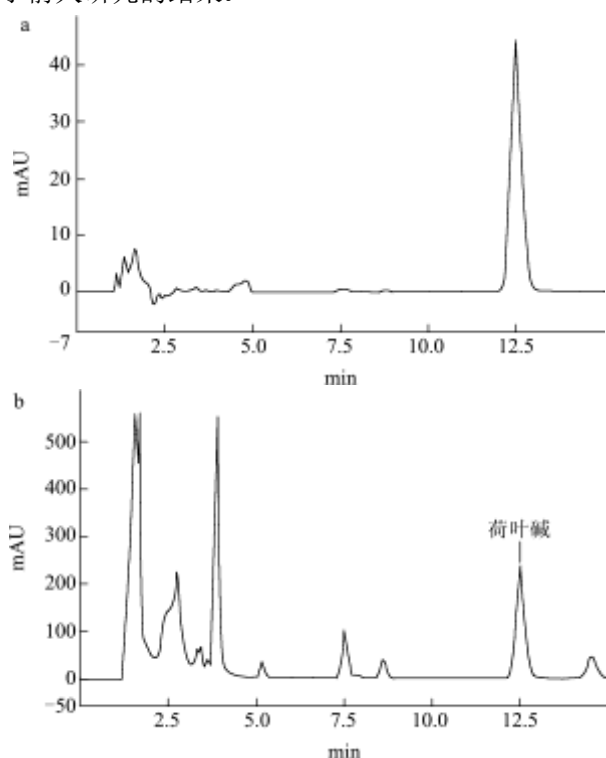


图9 荷叶碱标准品(a)和荷叶纯化物(b)色谱图

Fig.9 HPLC chromatograms of reference standards of nuciferine (a) and the purified extract of *Nelumbonucifera* leaves (b)

3 结论

3.1 通过对三种大孔吸附树脂的吸附、解吸性能等方面的考察,确定吸附率,解析率都高的 D101 为最佳的分离纯化荷叶总生物碱的树脂。

3.2 通过对大孔吸附树脂 D101 的吸附性能和解吸性能等方面的考察,确定其纯化工艺为:最佳吸附条件:吸附流速 2 BV/h,上样液 pH 值 10;最佳洗脱条件:解吸流速 2 BV/h,洗脱液 pH 值 3 的 70%乙醇溶液。

3.3 通过高效液相色谱检测,确定荷叶纯化物中主要有 6 种生物碱,各组分均达基线分离,峰型尖锐,无漂移无拖尾现象。荷叶碱峰面积百分比 13.31%,荷叶总生物碱峰面积百分比为 40.40%,荷叶纯化物中荷叶碱的含量为 2.26%。本文得到的荷叶总生物碱中的荷叶碱含量高于肖桂青(2007)、封聚强(2008)等前人

的研究结果。

参考文献

- [1] ONO Y, HATTORI E, FUKAYA Y, et al. Anti-obesity effect of *Nelumbonucifera* leaves extract in mice and rats [J]. *Ethnopharmacol*, 2006, 106(2): 238-244
- [2] HO H-H, HSU L-S, CHAN K-C, et al. Extract from the leaf of *nucifera* reduced the development of atherosclerosis via inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 159-168.
- [3] KASHIWADA Y, AOSHIMA A, IKESHIRO Y, et al. Anti-HIV benzyloquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbonucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids [J]. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2005, 13(2): 443-448
- [4] 纪丽莲. 荷叶中抑菌成分的提取及其抑菌活性研究[J]. *食品科学*, 1998, 8: 64-66
- [5] JI Li-Lian, Study on Antimicrobial Activities of Lotus Leaves extracts [J]. *Food Science*, 1998, 8: 64-66
- [6] 蒋益红. 荷叶抑菌活性成分研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007
- [7] JIANG Yi-Hong. Study on Antimicrobial Components in Lotus Leaves [D], HuangZhou, Zhejiang University, 2007
- [8] HUANG Bo, BANXiaoquan, HE Jingsheng, et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of edible lotus (*Nelumbonucifera*Gaertn.) leaves [J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(3): 873-878.
- [9] 肖文军, 胡祥文, 胡云铃, 等. 荷叶生物碱柱分离纯化技术研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(6): 120-123
- [10] XIAO Wen-Jun, HU Xiang-Wen, HU Yun-Ling, et al. Technology Study on Column Separation and Purification for Alkaloid in Lotus Leaves [J]. *Food Science*, 2007, 28(6): 120-123
- [11] 封聚强, 时书杰, 赵骏. 大孔吸附树脂分离纯化荷叶中的荷叶碱[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(4): 877-879
- [12] FENG Ju-qiang, SHI Shu-jie, ZHAO Jun. Separating and Purifying the Nuciferine of Lotus Leaf by Macroporous Adsorptive Resins [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2008, 26(4): 877-879
- [13] 肖桂青. 荷叶总生物碱提取、纯化及生物活性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007
- [14] XIAO Gui-Qing. Studies on Extraction, Purification and Biological Activities of Total Alkaloids from Lotus Leaves [D]. ChangSha: HuNan Agricultural University, 2007

- [10] 赵骏和李小年.利用大孔吸附树脂纯化荷叶生物碱[J].中药材,2003,26(9):669-670
ZHAO Jun, LI Xiao-Nian, Purifying the Nuciferine of Lotus Leaf by Macroporous Adsorptive Resins [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2003, 26(9): 669- 670
- [11] 肖娟,孙智达,谢笔钧,等.荷叶生物碱提取工艺响应曲面优化研究[J].食品科学,2009,30(22):157-161
XIAO Juan, SUNZhi-da, XIE Bi-jun. Optimization of Alkaloid Extraction from Lotus Leaves by Response Surface Method [J]. Food Science, 2009, 30(22): 157-161
- [12] 柴金玲,李伟,谷学新.高效液相色谱法测定荷叶中荷叶碱的含量[J].药物分析杂志,2005,25(8):932-934
CHAI Jin-ling, LI Wei ,GU Xue-xin. HPLC Determination of Nuciferine in Lotus Leaf [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2005, 25(8): 932-934
- [13] 郝冰冰,王璐,郭瑞锋,等.大孔吸附树脂分离纯化荷叶提取物[J].中国药业,2007,16(20):44-45
Qie Bing bing, Wang Lu, Guo Rui feng, et al. Purification of Nucifera Extract with Macroporous Adsorption Resin [J]. China Pharmaceuticals, 2007, 16(20): 44-45
- [14] 肖娟,孙智达,谢笔钧,等.荷叶生物碱的提取工艺优化及其清除羟基自由基能力的测定[J].食品工业科技,2009,30(7):195-196
XIAO Juan, SUNZhi-da, XIE Bi-jun, et al. Optimization of extraction technology of alkaloids in lotus leaf and determination of its scavenging activity of hydroxyl radical [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(7): 195-196