

多穗柯中二氢查耳酮纯化的研究

于丽静¹, 战宇², 董华强^{1,3}, 宁正祥¹

(1.华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

(2.广州大学化学化工学院, 广东 广州 510006)(3.佛山大学食品科学系; 广东 佛山 5280003)

摘要: 以二氢查耳酮的含量为指标, 研究了多穗柯(*Lithocarpus polystachyus* Rehd)叶中二氢查耳酮的纯化方法。结果表明二氢查耳酮纯化的适宜条件为: 以聚合氯化铝为絮凝剂, 在 pH 7.5, 温度为 55 °C 时絮凝 40 min; 以 ADS-7 树脂为吸附剂, 以 100 mg/mL 为上样液浓度, 80% 为乙醇为洗脱液浓度。用高效液相色谱法检测, 二氢查耳酮的含量达 99.02%。

关键词: 多穗柯; 二氢查耳酮; 纯化

中图分类号: TS202.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)02-0023-03

Study on Purification Process of Dihydrocharcone from *Lithocarpus*

Polysachyus Pehd

YU Li-jing¹, ZHAN Yu², DONG Huang-qiang^{1,3}, NING Zheng-xiang¹

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

(2.College of chemistry, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

(3.College of food, Foshan University, Foshan 528000, China)

Abstract: Using Dihydrocharcone content as the key parameter, the purification of Dihydrocharcone was optimized. The results indicated that the best flocculate reagent and sorbent reagent were Polyaluminum Chloride and ADS-7macroporous resin, respectively. HPLC analysis showed that the purity of the dihydrocharcone was 99.02%.

Key words: *lithocarpus polystachyus* Rehd; dihydrocharcone(DHC); purify

本实验以多穗柯叶为原料, 以二氢查耳酮含量为指标, 研究了以聚合氯化铝为絮凝剂, 以 ADS-7 树脂为吸附剂的纯化方法。经高效液相色谱法检测, 用该方法纯化的二氢查耳酮含量达 99.02%, 为更深入地研究多穗柯的药理与保健作用提供了理论依据和检测手段。

1 材料与仪器

多穗柯: 江西省丁丁甜茶有限公司; 二氢查耳酮标准品: SIGMA 公司; ADS-7 树脂: 天津南开和成科技有限公司; 聚合氯化铝: 巩义市华明化工材料有限公司; 高效液相色谱仪: 美国戴安(DIONEX)公司。

2 方法与结果

2.1 纯化步骤

收稿日期: 2006-09-13

基金项目: 广州市科技局项目(2006J1-C0251); 广东省科技计划支持项目(2005A20303002)

作者简介: 于丽静, 在读硕士, 研究方向为食品化学

多穗柯叶 → 浸提 → 过滤 → 聚合氯化铝絮凝 → 过滤 → ADS-7 大孔树脂吸附 → 解吸 → 浓缩 → 乙酸乙酯萃取 → 干燥

2.2 二氢查耳酮含量的测定

2.2.1 紫外-可见吸收光谱的测定

取二氢查耳酮标准品 10.0 mg, 用蒸馏水定容至 10 mL。在 220~500 nm 波长范围内进行紫外-可见光谱扫描。

2.2.2 HPLC 方法检测

2.2.2.1 色谱条件

色谱柱: DiamonsilC₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: V(甲醇):V(水)=60:40; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 286 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

2.2.2.2 标准品溶液的制备

准确称取二氢查耳酮标准品 10.0 mg, 用 60% 甲醇溶液定容至 10 mL。

2.2.2.3 样品溶液的制备

准确称取干燥后样品 10.0 mg, 用 60% 甲醇溶液定容至 10 mL。

2.3 絮凝条件的研究

在多穗柯浸提液中,除糖苷外,还有其它杂质如色素、蛋白质、多糖、单宁、果胶、有机酸等溶于其中,会严重影响产品的纯度、外观及口感,常用絮凝法除去这些杂质。影响絮凝效果的主要因素是絮凝剂的种类及其用量、pH 值、絮凝温度等。

2.3.1 絮凝剂种类的选择

选择常用的絮凝剂三氯化铁、硫酸铜和聚合氯化铝,加入后通过对滤液外观及絮凝前后溶液透光率的变化来确定合适的絮凝剂,结果见表 1。

表 1 三种絮凝剂的絮凝效果

絮凝剂	溶液颜色	透光率/%	工业可行性
三氯化铁	棕	49.5	可行
硫酸铜	棕	62.3	可行
聚合氯化铝	浅黄	87.2	可行

从表 1 可见,用聚合氯化铝絮凝效果较好,故本实验选用聚合氯化铝作絮凝剂。

2.3.2 pH 值对絮凝效果的影响

实验中用 5% 的氢氧化钙溶液来调节 pH 值,从图 1 中可见,在其它条件相同情况下, pH 7.5 左右絮凝效果较好,故本实验选择 7.5 为絮凝 pH 值。

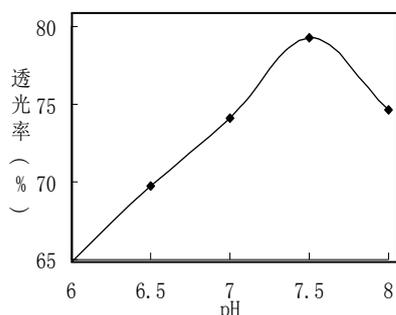


图 1 pH 值对絮凝效果的影响

2.3.3 温度对絮凝效果的影响

溶液温度升高,化学反应速度快,絮凝效果好,但温度过高导致糖甙水解,图 2 表明,55 °C 絮凝效果最好。

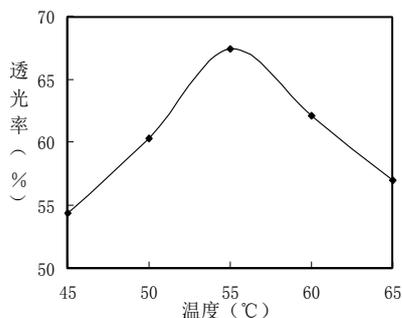


图 2 温度对絮凝效果的影响

2.3.4 时间对絮凝效果的影响

随着时间的延长,提取液的透光率逐渐变大,当时间超过 40 min 后,提取液的透光率几乎不再变化,如图 3,故实验中选择 40 min 为絮凝时间。

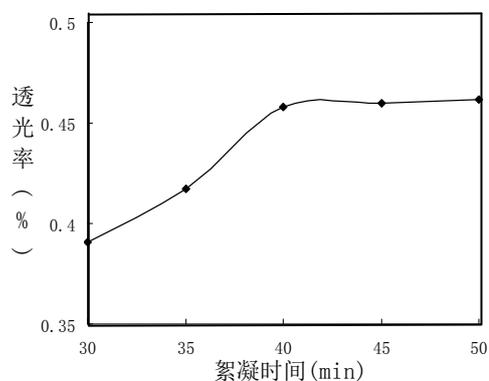


图 3 时间对絮凝效果的影响

2.4 ADS-7 树脂吸附条件的研究

2.4.1 ADS-7 树脂的预处理

新购树脂用无水乙醇反复浸洗,洗至上清液乙醇不混浊,然后再用蒸馏水洗,洗至无乙醇味,倾去清水,即可使用。

2.4.2 静态吸附量的测定

将 20 mL 样品液加到 10 g ADS-7 树脂中静态吸附 12 h 后,测定吸附后浓度,按下式计算树脂饱和吸附量:饱和吸附量(mg/g 树脂)=[(初始浓度-吸附后浓度)×吸附液体积]/树脂量,结果为 20.17 mg/g 树脂。

2.4.3 静态解吸附性能的测定

用 20 mL 80% 乙醇对静态吸附后树脂解吸 12 h,计算解吸率,结果为 91.23%。

2.4.4 动态吸附量的测定

将 50 mL 样品液上样于 ADS-7 树脂柱中进行动态吸附,测定泄漏液中二氢查耳酮的含量,按下式计算动态饱和吸附量,动态饱和吸附量(mg/g 树脂)=[上样液中总二氢查耳酮的量-泄漏液中二氢查耳酮的量]/树脂量,结果为 19.28 mg/g 树脂。

2.4.5 上样液浓度的测定

取 3 份二氢查耳酮样品各 2.5 g,分别定容至 10 mL、25 mL、50 mL 配成 1 号、2 号及 3 号样品,完全上样,分别测定泄漏液中二氢查耳酮的含量,同上式计算饱和吸附量,结果见表 2。

表 2 上样液浓度实验结果

上样液浓度/(mg/mL)	DHC 饱和吸附量/(mg/g 树脂)	
1	250	19.88
2	100	19.79
3	50	19.31

由表 2 知,上样液浓度越大,吸附效果越好,但

是 1 号样和 2 号样液的吸附能力差别很小,且在实验中发现配制 1 号样时很难全部溶解,故本实验选择 2 号样的上样液浓度为适宜浓度(100 mg/mL)。

2.4.6 乙醇洗脱液浓度的测定

取 7 份 100 mg/mL 二氢查耳酮溶液各 10 mL,分别上样于 ADS-7 树脂柱中,充分吸附后先用 20 mL 蒸馏水洗,再分别用 100 mL 的 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的乙醇洗脱,洗脱液浓缩后真空干燥。分别测定其中二氢查耳酮的含量,并计算其得率,结果见表 3。

表 3 不同浓度乙醇洗脱液实验结果 单位:%

乙醇洗脱液浓度	纯化后 DHC 含量	DHC 收率
10	73.1	77.54
20	78.27	79.38
30	79.35	80.93
40	83.27	83.11
50	88.53	83.74
60	91.34	86.27
70	94.51	88.91
80	99.97	93.05
90	92.34	93.14

由表 3 知,随着乙醇浓度的逐渐增大,二氢查耳酮的含量也逐渐增大,但当乙醇浓度超过 80%后,二

氢查耳酮的含量随着乙醇浓度的增大反而减小,故本实验选择 80%乙醇为适宜的洗脱浓度。

3 结论

二氢查耳酮的适宜纯化条件为:以聚合氯化铝为絮凝剂,在 pH 7.5,温度为 55 °C 时絮凝 40min;以 ADS-7 树脂为吸附剂,以 100 mg/mL 为上样液浓度,80%为乙醇为洗脱液浓度。经高效液相色谱法检测,用该方法纯化的二氢查耳酮含量达 99.02%,为更深入地研究多穗柯的药理与保健作用提供了理论依据和检测手段。

参考文献

- [1] 廖代富,等多穗柯的综合利用[J].中国野生植物,1992:10
- [2] Danda H. Asymmetric hydrocyanation of benzaldehydes catalyzed by (5R)-5-(5-imidazolylmethyl)-2,4-imidazolidinedione[J].Bull.Chem.Soc.Jpn.,1991,64:3743-3744
- [3] 陈幸苗,杨中林.葛根总黄酮和葛根素的纯化工艺研究[J].海峡药学,2006:18(2):24
- [4] 郭丽冰,王蕾.常用大孔吸附树脂的主要参数和应用情况[J].中国现代中药,2006,8(4):26
- [5] 廖晓峰,等.从多穗柯中提取二氢查耳酮(DHC)类甜味剂的研究[J].广州食品工业科技,1998,(1):35

(上接第 27 页)

三酯含量有显著性差异,低剂量组明显地与对照组,其它两组与对照组之间相比,没有显著性差异,但是有下降的趋势;高剂量组与对照组相比,血清中高密度脂蛋白胆固醇含量有显著性差异,HDL-C 的浓度明显比对照组高,由此可以证明减肥咖啡对动物 HDL-C 有一定的升高作用;本试验中所使用的 L-肉碱和丙酮酸钙这两种原料在试验用量范围内对总胆固醇没有明显的影响。

3 结论

(1) 咖啡饮料最佳配方为(以 200 ml 计):丙酮酸钙为 2.5 g、肉碱为 0.5 g、增溶剂为 0.54 g、黄原胶为 0.08 g、酪蛋白为 0.5 g、消泡剂为 0.10 g、甜味剂为 10%、香精为 0.003 mL。

(2) 动物实验结束后,统计显示各组间体重无明显差异,高剂量组与低剂量组的体重有下降的趋势,由于时间太短,所以效果不是很明显。

(3) 通过对 TC、TG、HDL-C 的讨论,可以得出,减肥咖啡饮料对甘油三酯(TG)浓度有明显的降低作用,对高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)浓度有明显的升高作用。由此可知,减肥咖啡对大鼠的血脂有一定的降低作用。

参考文献

- [1] 管正学.保健食品开发生产技术问答[M].北京:中国轻工业出版社,2000.126-131.
- [2] 郑建仙.功能性食品(第二卷)[M].北京:中国轻工业出版社,1999.455-462.
- [3] Mark S. Juhn Popular Sports Supplements and Ergogenic Aids[J]. Sports Med, 2003, 33 (12): 921-939.
- [4] Orinna B, Klaus E. Effect of L-Carnitine on Weight Loss and Body Composition of Rats Fed a Hypocaloric Diet [J]. Annals of Nutrition & Metabolism, 2002, 46(5):205-10.
- [5] 卫生部.保健食品评价程序与评价检验程序[M].北京:人民卫生出版社,2003.108-111