

文章编号: 1000-5862(2013) 01-0074-05

# HPD-300 大孔树脂吸附纯化荔枝核黄酮特性研究

丁立稳, 汤建萍\*, 杨书武, 何娟, 雷煜, 陈文帆

(江西师范大学化学化工学院, 江西 南昌 330022)

**摘要:** 对 6 种不同类型大孔树脂吸附荔枝核黄酮的性能进行了比较, 筛选出效果较好的 HPD-300 大孔树脂用于纯化荔枝核黄酮, 考察了 HPD-300 大孔树脂的吸附纯化特性和吸附动力学。实验结果显示 HPD-300 大孔树脂是理想的吸附树脂, 采用该树脂, 产品中黄酮的纯度可提高到 74%。动力学研究表明吸附过程符合 Langmuir 吸附模型和 Freundlich 吸附模型。

**关键词:** 大孔吸附树脂; 荔枝核; 黄酮; 吸附; 吸附动力学

**中图分类号:** O 647.3

**文献标志码:** A

## 0 引言

荔枝是南方常见的水果。现代临床医学研究发现我国荔枝核含有黄酮、皂甙、氨基酸等活性成分, 具有抗氧化、降血糖、降血脂和抑制乙肝病毒等药效<sup>[1-2]</sup>。黄酮是一类天然抗氧化物质<sup>[3]</sup>, 徐庆等<sup>[4]</sup>发现荔枝核黄酮具有抑制乙肝病毒的作用, 研究开发荔枝核黄酮具有很好的价值和意义。大孔吸附树脂是近年发展迅速的新型有机高分子材料, 具有稳定性高、吸附解吸条件较温和; 吸附过程稳定, 受无机物等杂质影响小; 树脂可再生利用、使用周期长; 易于构成闭路循环、易于实现工业化; 绿色环保等优点。近年来在天然产物和中草药活性成分的分离纯化方面备受关注<sup>[5-7]</sup>。目前, 有关荔枝核黄酮纯化研究的文献很少, 本文从 6 种树脂中筛选出 HPD-300 大孔树脂纯化荔枝核黄酮, 考察了 HPD-300 大孔树脂的吸附行为和吸附动力学, 拟合了树脂吸附过程的吸附速率方程。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

荔枝核: 购自江西省医药材有限公司, 产地广西; 芦丁标准品: 中国药品生物制品检定所; HPD-300 大孔树脂: 河北沧州宝恩化工有限公司; AB-8、S-8 大孔树脂: 天津南开树脂厂; DM-301、DA-201、NKA 大孔树脂: 天津海光化工有限公司。其他试剂

均为国产分析纯。

ISO-9001 型全自动电子天平: 北京赛多利斯仪器有限公司; HHS-12 型恒温电热水浴锅: 上海东兴建材实验设备有限公司; SHA-C 水浴恒温振荡器: 常州澳华仪器有限公司; RE-52A 型旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器有限公司; PHS-3C 精密 pH 计: 上海雷磁仪器厂; HY-4 调速多用振荡器: 金坛市鑫实验仪器有限公司; Lambda 35 型紫外-可见分光光度计: 美国 Perkin Elmer 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 树脂的预处理 树脂先用乙醇浸泡 24 h, 使其充分溶胀, 然后用无水乙醇于索氏提取器内提取 8 h 以除去树脂中所含有的低聚物、填充剂等杂质。再依次用体积分数为 95% 的乙醇、去离子水、质量分数为 5% 的 HCl、去离子水、质量分数为 2% 的 NaOH、去离子水处理。最后将处理好的树脂用去离子水浸泡, 备用。

1.2.2 样品的配制与测定 (1) 样品的配制: 将荔枝核打碎成粉过 40 目筛, 称取一定量的荔枝核粉, 用体积分数为 50% 的乙醇于 70 °C 恒温下提取 2 次, 固液比为 1 g: 12 mL, 每次浸提时间为 1.5 h。提取完成后将提取液过滤, 浓缩后加 2 倍体积量的无水乙醇静置 24 h, 充分沉淀后过滤除去蛋白质等大分子杂质, 减压回收乙醇, 并将提取物浓缩成浸膏。取一定量的荔枝核浸膏, 加去离子水溶解, 配制成用于树脂吸附的荔枝核样品溶液。(2) 黄酮的测定: 采用以芦丁为对照品的分光光度法分析, 按照文献[8], 用 NaNO<sub>2</sub>-AlCl<sub>3</sub>-NaOH 显色后在 510 nm 测定吸光度 A, 建立标

收稿日期: 2012-11-20

基金项目: 江西省教育厅课题(JXJC-10-2-45) 和校开放实验基金资助项目。

作者简介: 汤建萍(1975-), 男, 江西丰城人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物的研究与开发、生物高分子材料的研究。

准曲线,用最小二乘法得到线性回归方程为  $C(\mu\text{g/mL}) = 2.541\ 61 + 83.286\ 26A$   $r = 0.999\ 8$ .

将荔枝核样品溶液用去离子水稀释到一定倍数,吸取稀释液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,按上述方法显色测定吸光度,根据线性回归方程计算出黄酮的浓度和质量.

1.2.3 树脂的筛选 往带塞磨口锥形瓶中加入 0.600 g 预处理的大孔树脂和黄酮浓度为 1 232 mg/L 的荔枝核样品溶液 60 mL,恒温(25 ℃)振荡吸附 24 h,测定吸附前后黄酮浓度的变化.吸附完成后加入一定量的体积分数为 70% 的乙醇进行解析,按下式计算各树脂的静态吸附量、吸附率和解吸率:

$$\text{吸附率}/\% = (C_0 - C) / C_0 \times 100,$$

$$\text{吸附量}/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (C_0 - C) \times V/m,$$

$$\text{解吸率}/\% = V_1 C_1 / (C_0 - C) V \times 100,$$

其中  $C_0$ 、 $C$  为吸附前后溶液中黄酮类化合物的浓度;  $V$  为溶液体积,  $m$  为大孔树脂的质量(g),  $C_1$  为解吸液中黄酮类化合物的浓度,  $V_1$  为解吸液体积.

1.2.4 静态吸附与解吸行为 移取预处理后的 HPD-300 大孔树脂 0.600 g 于具塞磨口三角瓶中,加入 60 mL 荔枝核样品溶液,置于摇床上振荡吸附至吸附平衡,定时取样,测定吸附前后黄酮浓度的变化,计算吸附率和吸附量.考察样品溶液的 pH 值、吸附温度、黄酮起始浓度、吸附时间对树脂静态吸附的影响.

表 1 大孔树脂对荔枝核黄酮的吸附与解吸性能

树脂型号	比表面积/ ( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	平均孔径/nm	极性	吸附量/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	吸附率/%	解吸率/%
DI01-I	650 ~ 850	8.0 ~ 10.0	非极性	91.0	74.4	85.4
DM-301	300 ~ 400	14.0 ~ 15.5	弱极性	88.2	71.6	82.5
DA-201	450 ~ 500	9.0 ~ 10.0	弱极性	87.6	71.9	90.8
NKA	570 ~ 590	20.0 ~ 22.0	非极性	86.0	69.8	76.8
AB-8	480 ~ 520	13.0 ~ 14.0	弱极性	76.0	61.7	89.3
S-8	100 ~ 120	28.0 ~ 30.0	极性	37.4	30.4	51.7
HPD-300	800 ~ 870	5.0 ~ 5.5	非极性	100.3	81.4	95.6

2.2 HPD-300 树脂的静态吸附与解吸行为

2.2.1 pH 值对静态吸附的影响 图 1 是不同 pH

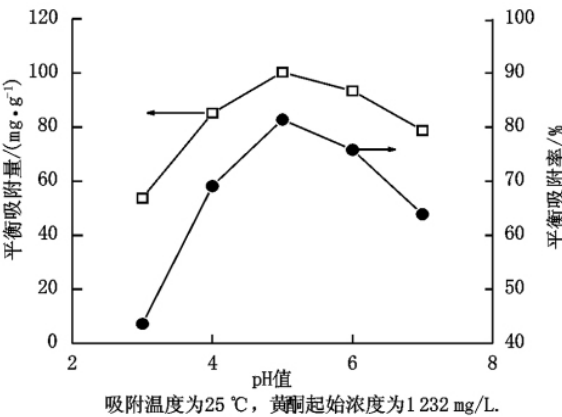


图 1 pH 值对静态吸附的影响

选择乙醇-水体系作为解析液. 在相同条件下用不同浓度的乙醇溶液 60 mL 对已吸附黄酮的 HPD-300 树脂进行静态解吸,测定解吸液中黄酮的含量,计算解吸率.

1.2.5 吸附等温线 称取数份处理好的 HPD-300 大孔树脂 1.000 g 于锥形瓶中,加入不同黄酮浓度的荔枝核样品溶液,密闭置于恒温摇床振荡,吸附平衡后取出,滤去溶液中的树脂,分析吸附后溶液中黄酮的浓度,绘制吸附温度为 10、20、30、40 ℃ 时的吸附等温线.

2 结果与讨论

2.1 大孔树脂的筛选

表 1 列出了各种树脂的理化性质和吸附结果. 树脂的极性(功能基)和空间结构(比表面积、孔径、孔容)是影响吸附性能的主要因素<sup>[9]</sup>. 当树脂的极性与被吸附分子的极性相同或相近时,树脂对被吸附分子的吸附效果更好;树脂比表面积越大越有利于吸附,当树脂孔径是被吸附分子大小的 5 ~ 6 倍时,吸附性能最好. 多数黄酮化合物极性不高,分子直径较小,所以 6 种树脂中以非极性的、比表面积最大、孔径较小的 HPD-300 大孔树脂的吸附效果最好.

值下静态吸附的平衡吸附量和平衡吸附率. 从图 1 可以看到, pH 值对树脂对荔枝核黄酮的平衡吸附量和平衡吸附率的影响较为明显. 当 pH 值为 5.0 时,平衡吸附量和平衡吸附率更大,这可能是由于黄酮是弱酸性物质;当 pH 值为 5.0 时,游离的黄酮分子数目增加,增强了吸附力,有利于树脂的吸附.

2.2.2 吸附温度对吸附行为的影响 图 2 是不同吸附温度下静态吸附的平衡吸附量和平衡吸附率. 从图 2 可以看到,在实验温度范围内,树脂的平衡吸附量和平衡吸附率随着吸附温度的升高有所降低,这可能是因为该吸附过程是放热过程,低温有利于吸附. 但实验观察到吸附温度为 10 ℃ 时在吸附过程中有部分树脂发生破裂,树脂寿命降低,因此宜选择

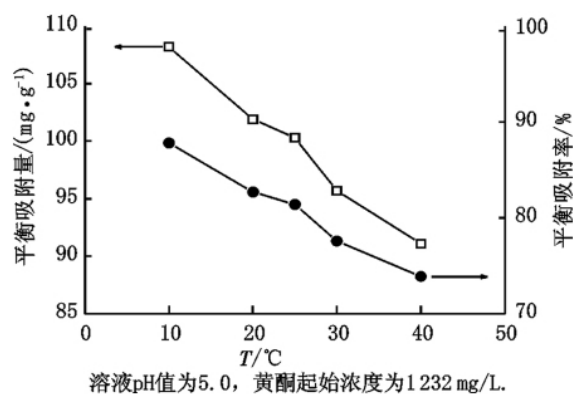


图2 温度对静态吸附的影响

适中的温度(20℃)进行静态吸附操作。

2.2.3 黄酮浓度对吸附行为的影响 图3是不同黄酮浓度条件下静态吸附的平衡吸附量和平衡吸附率。从图3可以看到,平衡吸附量随着溶液浓度的增大而增加,但吸附率则相应下降。根据实验结果,选择黄酮浓度约为1 400 mg/L较为理想。

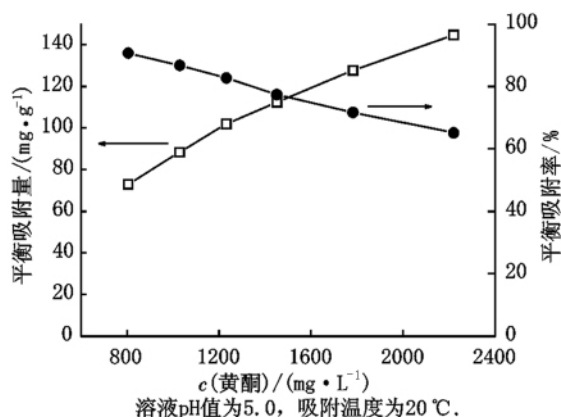


图3 黄酮浓度对静态吸附的影响

2.2.4 吸附时间对吸附行为的影响 图4是在溶液pH值为5.0、黄酮浓度为1 400 mg/L、吸附温度为20℃条件下HPD-300树脂对荔枝核黄酮的静态吸附动力学。从图4可以看到,当吸附时间达到360 min后吸附率增长缓慢,因此选择合适的吸附时间为360 min。

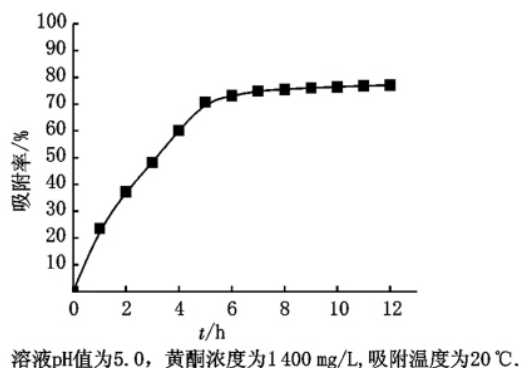


图4 HPD-300树脂的静态吸附动力学曲线

2.2.5 静态解吸 采用不同浓度的乙醇对吸附后的HPD-300大孔树脂进行解吸,结果见表2。实验显示,当乙醇体积浓度为70%和90%时,黄酮的解吸率达到90%以上,检测洗脱液中黄酮的含量,发现体积分数为90%的乙醇洗脱液中的黄酮纯度低于体积分数为70%的乙醇洗脱液中的黄酮纯度。因此实验确定适合的洗脱液为体积分数为70%的乙醇。

图5是体积分数为70%的乙醇洗脱过程中洗脱时间与解吸率的关系,实验显示洗脱时间到2.5 h时解吸率达到90%以上,继续洗脱,解吸率提高不多,因此确定洗脱时间为2.5 h。

表2 乙醇浓度与解吸率的关系

乙醇体积浓度/%	10	30	50	70	90
解吸率/%	13.1	38.7	86.6	95.6	94.3

\* 解吸时间24 h.

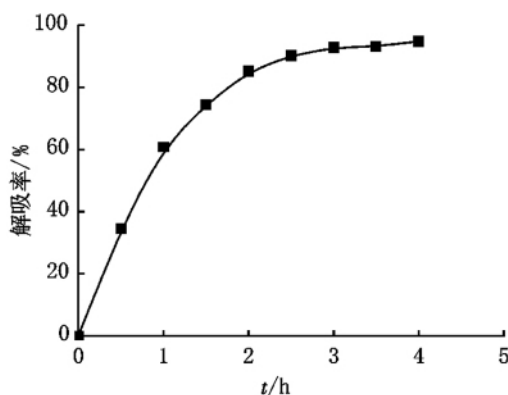


图5 解吸率与洗脱时间的关系

通过静态吸附和解吸实验研究,确定了HPD-300树脂对荔枝核静态吸附的适宜条件为荔枝核样品溶液pH值为5.0、黄酮初始浓度为1 400 mg/L、吸附温度为20℃、吸附时间为6 h;洗脱液为体积分数为70%的乙醇、洗脱时间2.5 h。洗脱液减压浓缩,真空干燥制得纯化产品,分析显示经HPD-300大孔树脂纯化后产品黄酮的质量分数由31%提高到74%。

## 2.3 HPD-300树脂的吸附动力学

2.3.1 吸附等温线 图6是溶液pH值为5时,用HPD-300树脂吸附不同黄酮浓度的荔枝核样品溶液的等温吸附线。从图6可以看到,不同温度下的吸附等温线均上凸,表明吸附过程是“优惠吸附”过程,即等温线的斜率随黄酮的浓度的增加而减少,吸附质黄酮分子和树脂之间的亲和力则降低<sup>[10]</sup>。在实验温度范围(10~40℃)内,HPD-300大孔吸附树脂的吸附量随着吸附温度的升高有所降低,可见低温有利于HPD-300树脂吸附荔枝核黄酮,但研究发现温

度太低会对树脂造成破坏. 综合考虑, 选择吸附温度 20 ℃ 较适宜.

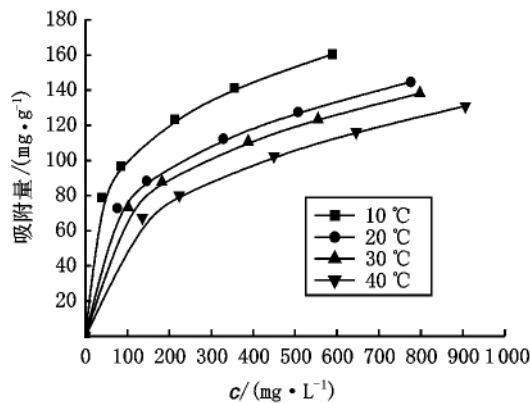


图 6 不同温度下 HPD-300 树脂的吸附等温线

2.3.2 Langmuir 吸附模型拟合效果 采用 Langmuir 吸附模型对 HPD-300 大孔树脂的吸附等温线进行拟合, 以  $C_e \sim C_e/q$  作图并进行线性回归(见图 7), 回归方程和吸附相关参数见表 3.

Langmuir 模型拟合的方程回归直线的相关系数大于 0.990, 表明吸附过程可用 Langmuir 吸附模型描述, HPD-300 大孔吸附树脂吸附过程主要是单分子物理吸附, 吸附过程是放热过程, 吸附行为在低温条件下更好.

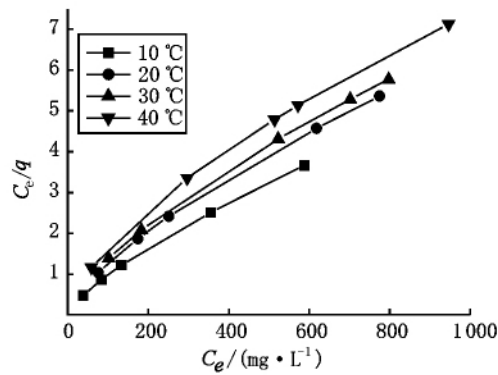


图 7 Langmuir 吸附等温线

表 3 Langmuir 回归方程和吸附参数

$T/^\circ\text{C}$	Langmuir equation	$R$	$q_\infty / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$k_l / \times 10^{-3}$
10	$Y = 0.005\ 72X + 0.377\ 53$	0.993\ 4	174.8	15.15
20	$Y = 0.006\ 07X + 0.753\ 05$	0.995\ 6	164.7	8.06
30	$Y = 0.006\ 28X + 0.868\ 01$	0.992\ 1	159.2	7.23
40	$Y = 0.006\ 63X + 1.148\ 43$	0.990\ 4	150.8	5.77

2.3.3 Freundlich 吸附模型拟合效果 采用 Freundlich 吸附模型对 HPD-300 大孔树脂的吸附等温线进行拟合, 以  $\log C_e \sim \log q$  作图并进行线性回归(见图 8), 回归方程和吸附相关参数见表 4. 回归直线的相关系数大于 0.990, 表明吸附过程符合 Freundlich 吸附等温方程; 方程计算出的 Freundlich 吸附常数在低温条件下更高, 在实验温度范围(10 ~ 40 ℃)内  $1/n$  值均在 0.1 ~ 0.5 之间, 表示吸附过程是快速吸附过程, 容易进行, 而且温度越低,  $1/n$  越小, 吸附越容易<sup>[11]</sup>. 相比 1 较 Freundlich 吸附等温方程拟合更好一些, 这是因为 Freundlich 吸附等温方程是实验数据的总结, 是经验公式.

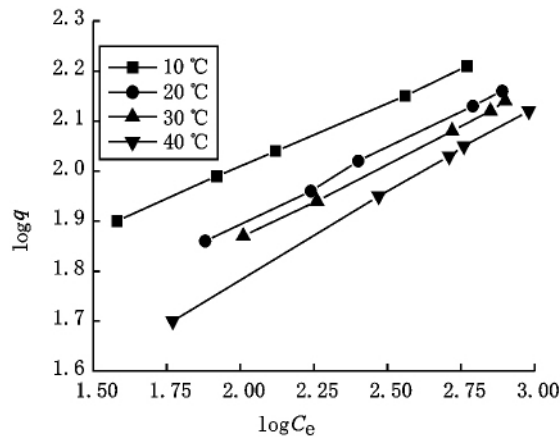


图 8 Freundlich 吸附等温线

表 4 Freundlich 回归方程和吸附参数

$T/^\circ\text{C}$	Freundlich equation	$R$	$n$	$k_f / (\times 10^{-3})$
10	$Y = 0.258\ 16X + 1.490\ 24$	0.997\ 1	3.87	30.92
20	$Y = 0.294\ 45X + 1.30\ 94$	0.999\ 4	3.40	20.39
30	$Y = 0.307\ 55X + 1.248\ 03$	0.998\ 2	3.25	17.70
40	$Y = 0.350\ 06X + 1.081\ 59$	0.996\ 9	2.86	12.07

### 3 结论

研究的 6 种大孔树脂中 HPD-300 大孔树脂均能够很好地分离纯化荔枝核黄酮, 实现荔枝核黄酮

的富集. 实验确定了 HPD-300 大孔树脂纯化荔枝核黄酮适宜的工艺条件是: 荔枝核样品溶液 pH 值为 5.0、黄酮初始浓度为 1 400 mg/L、吸附温度为 20 ℃、吸附时间为 6 h; 洗脱液为体积分数为 70% 的乙醇、洗脱时间为 2.5 h, 在此条件下产品中黄酮的

质量分数由 31% 提高到 74%。吸附动力学研究显示 HPD-300 树脂对荔枝核黄酮的吸附过程能够用 Langmuir 吸附模型和 Freundlich 吸附模型模拟,表明吸附过程主要是单分子吸附过程,吸附常数随温度的降低而提高。

#### 4 参考文献

- [1] 潘竞铨,郭洁文,韩超,等.荔枝核的药理实验研究[J].中国新药杂志,2000,9(1):14-16.
- [2] 潘竞铨,刘惠纯,刘立南,等.荔枝核降血糖、调血脂和抗氧化的实验研究[J].广东药学,1999,9(1):47-50.
- [3] Kelly E H,Anthony R T,Dennis J B. Flavonoid antioxidants: chemistry,metabolism and structure-activity relationships [J]. Nutritional Biochemistry,2002,13:572-584.
- [4] 徐庆,宋芸娟,陈全斌,等.荔枝核黄酮类化合物对 HepG2.2.15 细胞系 HBsAg 与 HBeAg 表达及 HV-DNA 含量的影响 [J]. 第四军医大学学报,2004,25(20):1862-1866.
- [5] 李伯庭.大孔吸附树脂在天然产物分离中的应用 [J].中草药,1990,21(8):42-44.
- [6] 米靖宇,宋纯清.大孔吸附树脂在中草药研究中的应用进展 [J].中成药,2001,23(12):914-917.
- [7] 雷明.桂花果类黄酮分离纯化工艺及其抗氧化研究 [J].西南大学学报:自然科学版,2011,33(4):77-82.
- [8] 汤建萍,丁立稳,周春山.紫外分光光度法测定荔枝核抗乙肝成分的含量 [J].时珍国医国药,2006,17(11):2218-2219.
- [9] 潘见,陈强,谢慧明,等.大孔树脂对葛根黄酮的吸附分离特性研究 [J].农业工程学报,1999(1):236-240.
- [10] 钱庭宝,刘维林,李金和.吸附树脂及其应用 [M].北京:化学工业出版社,1990:506-532.
- [11] 北川浩,铃木廉一郎著.吸附的基础与设计 [M].鹿政理,译.北京:化学工业出版社,1983:33-52.

### The Study on Purification and Adsorption of Flavonoids from Litchi Seed by HPD-300 Macroporous Resin

DING Li-wen,TANG Jian-ping\*,YANG Shu-wu,HE Juan,LEI Yu,CHEN Wen-fan

(College of Chemistry and Chemical Engineering,Jiangxi Normal University,Nanchang Jiangxi 330022,China)

**Abstract:** Macrophorous resin HPD-300 was selected by comparing the properties of adsorption and desorption of 6 types of macroporous resins for flavonoids from Litchi seed. The adsorption character and absorption kinetics of macrophorous resin HPD-300 for flavonoids from Litchi seed were investigated. The result showed that macrophorous resin HPD-300 was a kind of preferable macroporous resin for flavonoids from Litchi seed, and the purity of flavonoids in product was up to 74%. The absorption kinetics indicated the adsorption date fitted well into the Langmuir and Freundlich adsorption isotherm mode process.

**Key words:** macroporous adsorption resin; litchi seed; flavonoids; adsorption purification; adsorption kinetics

(责任编辑:刘显亮)