

韩凤波,王艳玲. LSA-10 型、LX-20B 型大孔吸附树脂纯化玉竹多糖工艺研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):209-211.

# LSA-10 型、LX-20B 型大孔吸附树脂 纯化玉竹多糖工艺研究

韩凤波, 王艳玲

(吉林农业科技学院, 吉林吉林 132109)

**摘要:**以玉竹多糖含量为指标,研究 LSA-10 型和 LX-20B 型大孔吸附树脂纯化玉竹多糖的工艺,考察了上样浓度、洗脱液浓度、洗脱速度及洗脱液体积对玉竹多糖纯化的影响。结果表明,LSA-10 型大孔吸附树脂法的最佳工艺为上样浓度 1.5 mg/mL,洗脱液 50% 乙醇,流速 1.5 mL/min,洗脱液体积为上样量的 20 倍;LX-20B 型大孔吸附树脂法的最佳工艺为上样浓度 5 mg/mL,洗脱液 75% 乙醇,流速 2.0 mL/min,洗脱液体积为上样量的 5 倍。LSA-10 型和 LX-20B 型大孔树脂制得的玉竹多糖纯度分别为 79.7%、72.6%,表明 2 种大孔吸附树脂均可简化玉竹多糖的分离纯化工艺,提高多糖纯度,但 LSA-10 型优于 LX-20B 型。

**关键词:**LSA-10 型大孔树脂;LX-20B 型大孔树脂;纯化;玉竹多糖

**中图分类号:**R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)05-0209-03

玉竹为百合科植物玉竹 [*Polygonatum odoratum* (Mill) Druce] 的干燥根茎,是我国常用的药食两用中药材之一,性平、味甘,具有养阴润燥、生津止渴的功效。现代药理试验研究证明,它具有增强耐缺氧、抗衰老、抗氧化、降血糖、抗肿瘤和提高免疫力等作用<sup>[1]</sup>。从玉竹中已经分离鉴定了甾体皂苷、黄酮、生物碱、多糖、甾醇、鞣质、黏液质和强心苷等多类成分。其中,多糖是玉竹的主要有效成分,传统的多糖纯化工艺中的除蛋白和脱色素方法主要有 Sevage 法,该法除蛋白过程烦琐、时间长、试剂损耗量大<sup>[2]</sup>;三氯乙酸法虽然效率高,但其酸性环境容易对多糖结构产生破坏;活性炭脱色法的多糖解析率差,损失量大;双氧水氧化法脱色会因双氧水的氧化性而对多糖结构产生破坏,使多糖的生物活性受到影响<sup>[3]</sup>。此外在工艺处理过程中,上述除蛋白和脱色方法均要分步进行,耗时长,工作效率低。

大孔吸附树脂是一种不溶于酸、碱及各种有机溶剂的有机高分子聚合物,应用大孔吸附树脂进行分离的技术是 20 世纪 60 年代末发展起来的继离子交换树脂后的分离新技术之一。大孔吸附树脂吸附容量大、吸附速度快、易解吸、易再生;物理与化学稳定性高,不溶于酸、碱及有机溶剂;对有机物选择性好,不受无机盐类及其他强离子、低分子存在的影响,有利于吸附;品种多,不同品种可吸附多种有机化合物;流体阻力较小;脱色能力高<sup>[4]</sup>。本研究从应用的角度出发,采用大

孔吸附树脂分离纯化玉竹多糖,并确定其优化工艺。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

玉竹根茎采自吉林农业科技学院药植园;LX-20B 型、LSA-10 型大孔吸附树脂为西安蓝晓科技新材料股份有限公司生产。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 粗多糖的提取** 准确称取 450 g 玉竹粗粉加蒸馏水 2 700 mL 于 80 ℃ 浸提 1 h,重复 3 次,合并滤液,减压浓缩至 300 mL,加 3% 醋酸钠,用浓缩液 6 倍体积的 95% 乙醇沉淀 12 h,过滤;将沉淀于 60 ℃ 烘干至恒重,得粗多糖干粉 40.905 4 g,备用。

**1.2.2 标准曲线的制备** 按文献[5]的方法绘制标准曲线。

**1.2.3 样品溶液的制备** 精确称取多糖粗粉 100.3 mg,置于 100 mL 容量瓶,加水定容至刻度,摇匀即得母液。精确量取 2 mL 母液,置于 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,制得粗多糖样品液。

**1.2.4 样品中多糖含量的测定** 分别吸取 2.0 mL 样品液于 5 支试管,加 4% 苯酚溶液 1 mL,混匀,迅速加入硫酸 7.0 mL,按照文献[5]的方法测定吸光度,据标准曲线计算玉竹总多糖的含量。

**1.2.5 大孔吸附树脂的预处理** 将 2 种大孔吸附树脂分别用蒸馏水充分淋洗,然后再用 95% 乙醇浸泡 24 h,使之充分溶胀,用 3~4 倍体积的 95% 乙醇洗脱,洗至洗脱液透明,以按 5:1 体积比加入水后无浑浊为宜;再依次用 2.5 倍体积 5% HCl 浸泡 2~4 h,并用蒸馏水洗至中性;最后用 2.5 倍体

收稿日期:2013-08-08

基金项目:吉林省科技项目(编号:20130303093)。

作者简介:韩凤波(1972—),男,吉林吉林人,硕士,讲师,主要从事中药成分提取分析方面的研究。E-mail:zyxyxgs@126.com。

[19]张玲,王宪泽,岳永生. 用 TOM 评价中国面条品质的新方法 & 研究小麦品质对它的影响[J]. 中国粮油学报,1998,3(1): 51-55.

[20]雷激,张艳,王德森,等. 中国干白面条品质评价方法研究

[J]. 中国农业科学,2004,37(12):2000-2005.

[21]LS/T 3212—1992 挂面[S].

[22]史一一,张国权,张文会,等. 小麦品种(品系)淀粉性状与面条品质关系的研究[J]. 西藏科技,2009(2):26-29.

积的 2% NaOH 浸泡 2~4 h, 用蒸馏水洗脱至中性, 备用。

**1.2.6 静态吸附试验** 准确称取经预处理后的 2 种树脂各 1.0 g, 装入具塞磨口三角瓶中, 分别加入 1.0 mg/mL 玉竹多糖溶液 50 mL 于电动振荡器中, 在室温下以 100 r/min 的频率振荡 24 h 后过滤, 按测定玉竹多糖溶液吸光度的方法, 计算滤液中玉竹多糖浓度, 试验重复 3 次, 再按式(1)、(2)计算 2 种树脂室温下的静态吸附量和吸附率。

$$Q = (C_0 - C_e) V_1 / m \quad (1)$$

$$E = (C_0 - C_e) / C_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中:  $Q$  为吸附量 (mg/g);  $E$  为吸附率 (%);  $C_0$  为吸附前溶液中玉竹多糖浓度 (mg/mL);  $C_e$  为吸附后滤液中玉竹多糖浓度 (mg/mL);  $V_1$  为玉竹多糖溶液体积 (mL);  $m$  为树脂质量 (g)。

**1.2.7 静态解吸试验** 滤出滤液后, 向已吸附饱和的 2 种树脂中分别加入 95% 乙醇溶液 50 mL, 在“1.2.6”节条件下振荡, 解吸 6 h 后过滤得滤液, 按“1.2.4”节方法测定玉竹多糖溶液吸光度, 计算滤液中玉竹多糖浓度, 试验重复 3 次, 再根据式(3)计算解吸率。

$$D = CV_2 / [(C_0 - C_e) V_1] \times 100\% \quad (3)$$

$$Z = CV_2 \quad (4)$$

式中:  $D$  为解吸率 (%);  $Z$  为解吸量 (mg);  $C$  为解吸后滤液中玉竹多糖浓度 (mg/mL);  $V_2$  为解吸液体积 (mL)。

**1.2.8 动态吸附、解吸试验**

**1.2.8.1 LSA-10 大孔吸附树脂上样浓度的确定** 以多糖浓度为考察因素, 设计 6 个水平、3 个平行的单因素试验。设定上样体积 5 mL (浓度分别为 1.5、2.5、5.0、10.0 mg/mL), 上柱流速 2 mL/min (柱高 10 cm, 直径 1.5 cm, 树脂质量 5 g); 收集过柱液, 精确量取 1 mL 过柱液, 置于 100 mL 量瓶, 加水定容至刻度, 摇匀得稀释液; 精确量取 2 mL 稀释液, 依文献[5]方法测定吸光度。

**1.2.8.2 LSA-10 大孔吸附树脂法洗脱液浓度的确定** 以解吸量为考察因素, 设计 4 个水平、3 个平行的单因素试验。设定上样体积为 5 mL, 流速 2 mL/min, 上样浓度 1.5 mg/mL, 到达泄露点 (以流出液多糖浓度为吸附前原液多糖浓度的 10% 时为泄露点) 后分别用 25%、50%、75%、95% 300 mL 乙醇洗脱, 洗脱速度 2 mL/min, 收集洗脱液, 测定吸光度, 计算洗脱液中玉竹多糖含量, 绘制洗脱曲线。

**1.2.8.3 LSA-10 大孔吸附树脂最佳流速的选择** 用“1.2.8.1”节得到的最佳上样浓度上柱 10 mL, 以“1.2.8.2”节确定洗脱液 50 mL, 流速 0.5、1、1.5、2、2.5、3 mL/min 洗脱, 测吸光度, 计算多糖含量, 确定最佳流速。

**1.2.8.4 LSA-10 大孔吸附树脂法洗脱终点的确定** 设定上样体积 5 mL, 流速 2 mL/min, 上样浓度为“1.2.8.1”节所得上样浓度, 洗脱液浓度为“1.2.8.2”节所得洗脱液浓度, 洗脱速度为“1.2.8.3”节所得洗脱速度; 加一定体积的洗脱液, 每隔 10 min 收集 1 mL 流出液, 用  $\alpha$ -萘酚检验多糖解吸情况, 确定洗脱终点。

**1.2.8.5 LX-20B 大孔吸附树脂最佳条件确定** 精确称取多糖粗粉 500.2 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀得样品液; 精确量取 5 mL 样品液上柱 (柱高 10 cm, 直径 1.5 cm, 树脂质量 5 g), 按照“1.2.8.1”节至“1.2.8.4”

节方法确定最佳条件。

**1.2.9 验证试验** 根据确定的工艺条件进行放大重复试验, 计算多糖纯度, 考察结果的重现性。

$$\text{多糖纯度} = \frac{\text{溶液中多糖的含量} \times \text{溶液体积}}{\text{多糖粉末质量}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄糖标准曲线

按照文献[5]的方法求得回归方程为  $y = 0.0093x + 0.1795$ ,  $r^2 = 0.9951$  (图 1), 表明在 2.4~7.2 mg/mL 范围内葡萄糖浓度 ( $x$ ) 与吸光度 ( $y$ ) 线性关系良好。

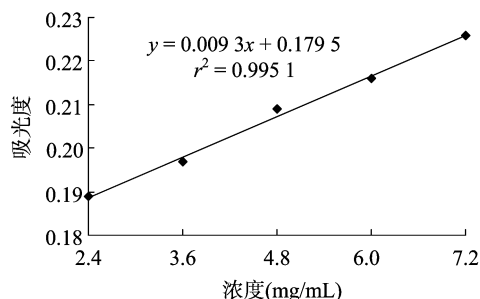


图1 葡萄糖标准曲线

### 2.2 多糖含量

按照“1.2.4”节的方法对提取制得的粗多糖进行含量测定, 得样品中多糖含量为 60.575 mg, 粗多糖纯度为 60.6%。

### 2.3 静态吸附、解吸试验结果

对 2 种大孔吸附树脂吸附、解吸能力进行测算, 考察吸附量、吸附率和解吸率 (图 2、图 3)。

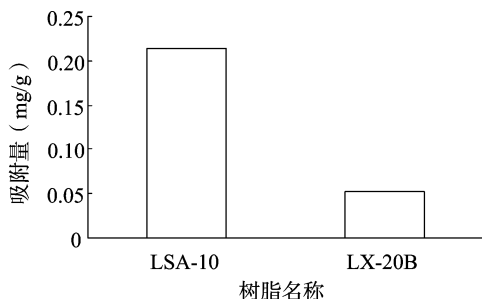


图2 2种树脂的静态吸附量比较

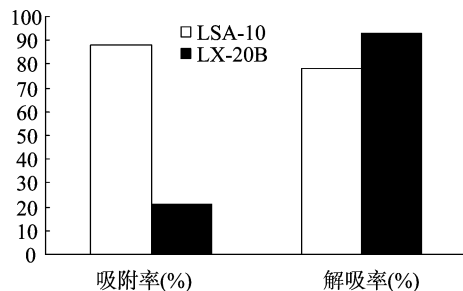


图3 2种树脂的吸附率、解吸率比较

由图 2、图 3 可知, LSA-10 对玉竹多糖的吸附和解吸性能良好, LX-20B 对玉竹多糖的吸附性能差, 但解吸性能好。

### 2.4 动态吸附、解吸试验

**2.4.1 上样浓度对 LSA-10 大孔吸附树脂动态吸附性能的**

影响 由图 4 可知,上样浓度高于 1.5 mg/mL 时解吸量变化较大,因此选定 1.5 mg/mL 为最佳上样浓度。

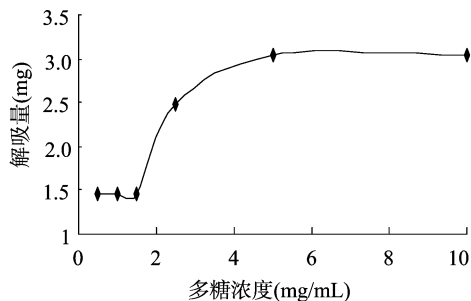


图4 上样浓度对LSA-10大孔吸附树脂动态吸附性能的影响

2.4.2 洗脱液浓度对 LSA-10 大孔吸附树脂解吸性能的影响 由图 5 可知,当乙醇浓度为 75% 以上时解吸量不再发生变化,但与浓度 50% 时差异不大,从减少成本的角度来看,可选择浓度为 50% 的乙醇作为洗脱液。

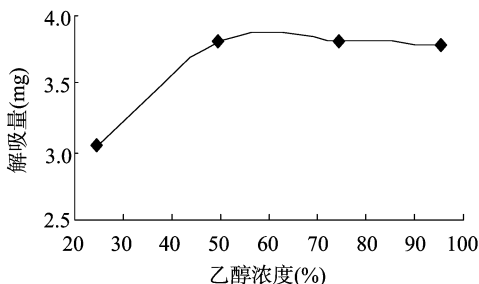


图5 洗脱液(乙醇)浓度对LSA-10大孔吸附树脂解吸能力的影响

2.4.3 洗脱流速对 LSA-10 大孔吸附树脂解吸性能的影响 由图 6 可知,随着洗脱流速不断增加,洗脱液中多糖含量逐渐降低,洗脱效果逐渐下降,当流速在 1.0 ~ 1.5 mL/min 时多糖含量差距很小,为提高试验效率,选择最佳流速为 1.5 mL/min。

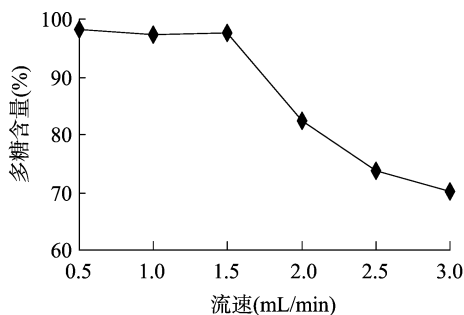


图6 不同流速对洗脱效果的影响

2.4.4 LSA-10 大孔吸附树脂洗脱终点的确定 用  $\alpha$ -萘酚检验多糖洗脱终点,50 min 时测得溶液不变色,即不含糖,则最佳洗脱体积为上样量的 20 倍。

2.4.5 LX-20B 大孔吸附树脂纯化玉竹多糖条件的确定 按 LSA-10 大孔吸附树脂工艺条件确定方法确定 LX-20B 大孔吸附树脂纯化玉竹多糖工艺上样浓度为 5 mg/mL,乙醇洗脱液浓度为 75%,最佳流速为 2.0 mL/min,洗脱液体积为上样量的 5 倍。

## 2.5 最佳工艺的确定

由上述结果可知,LSA-10 大孔吸附树脂法分离纯化玉竹多糖的最佳工艺是上样浓度 1.5 mg/mL,乙醇洗脱液浓度 50%,流速 1.5 mL/min,洗脱液体积为上样量 20 倍;LX-20B 大孔吸附树脂法分离纯化玉竹多糖的最佳工艺是上样浓度 5 mg/mL,乙醇洗脱液浓度 75%,流速 2.0 mL/min,洗脱液体积为上样量 5 倍。

## 2.6 工艺验证试验

2.6.1 LSA-10 大孔吸附树脂工艺验证试验 取 50 mL 样品溶液 3 份,按照上述最佳工艺条件进行试验,测定吸光度,据标准曲线计算分离纯化后玉竹多糖的含量。将流出液减压浓缩至原体积的 1/10,放入已烘干至恒重的小烧杯中,置烘箱中 60 °C 烘干至恒重,称重。由表 1 可知,LSA-10 型大孔吸附树脂分离纯化玉竹多糖的纯度高达 79.7%。

2.6.2 LX-20B 大孔吸附树脂工艺验证试验 取 50 mL 样品溶液 3 份,按照上述最佳工艺条件进行试验,测定吸光度,据标准曲线计算分离纯化后玉竹多糖的含量。将流出液减压浓缩至原体积的约 1/10,放入已烘干至恒重的小烧杯中,置于烘箱中 60 °C 烘干至恒重,称重。由表 1 可知,LX-20B 大孔吸附树脂分离纯化玉竹多糖的纯度达 72.6%。

表 1 大孔吸附树脂法分离纯化玉竹多糖的工艺验证试验

树脂类型	吸光度	多糖含量 (mg)	多糖粉末质量 (mg)	多糖纯度 (%)
LSA-10	0.261	58.2	73.01	79.7
LX-20B	0.254	53.7	74.03	72.6

## 3 结论

LSA-10 大孔吸附树脂法分离纯化玉竹多糖的最佳工艺是上样浓度 1.5 mg/mL,乙醇洗脱液浓度 50%,洗脱速度 1.5 mL/min,洗脱液体积为上样量 20 倍,分离纯化得到的玉竹多糖纯度为 79.7%。LX-20B 大孔吸附树脂法分离纯化玉竹多糖的最佳工艺是上样浓度 5 mg/mL,乙醇洗脱液浓度 75%,流速 2 mL/min,洗脱液体积为上样量 5 倍,分离纯化得到的玉竹多糖纯度为 72.6%。结果表明,LSA-10、LX-20B 大孔吸附树脂分离纯化玉竹多糖切实可行,LSA-10 大孔吸附树脂法纯化玉竹多糖可以获得纯度较高的玉竹多糖。

## 参考文献:

- [1]晏春耕,曹瑞芳. 玉竹的研究进展与开发利用[J]. 中国现代中药,2007,9(4):33-37.
- [2]和殿峰,李跟区,陈爱娜. 正交试验优选鱼腥草多糖活性炭脱色工艺[J]. 中国药房,2009,20(6):434-435.
- [3]张锦雀,黄丽英,苏聪枚. 中草药多糖提取分离纯化研究进展[J]. 中药材,2008,31(11):1760-1765.
- [4]李 萍. 大孔吸附树脂在中草药有效成分研究中的应用[J]. 天津药学,2002,14(3):9-11.
- [5]国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:57-58.