

文章编号: 1004-7271(2007)01-0060-04

利用大孔树脂吸附提取桑黄总黄酮

宋 铂^{1,2}, 周培根¹, 王 艳¹, 杨 焱²

(1. 上海水产大学食品学院, 上海 200090; 2. 上海市农业科学研究院食用菌研究所, 上海 201106)

摘 要: 利用几种大孔树脂对桑黄黄酮的吸附与解吸性能进行了比较筛选实验。结果表明, 样品浓度、吸附时间和解吸时间等因素都会对提取效果有影响。通过比较发现树脂 DM301 比较适合于吸附提取桑黄总黄酮。应用 DM301 型大孔树脂, 样品液的体积与树脂量比为 (2~3): 1 (mL: g), 黄酮浓度为 2 mg/mL, 吸附时间为 14 h, 用 3 倍于样品液体积的 60% 乙醇解吸 5 h 可以得到比较理想的提取结果, 平均回收率为 95.2%。

关键词: 桑黄; 黄酮; 大孔树脂; 吸附

中图分类号: TS 201.2 文献标识码: A

Extraction of flavonoids from *Phellinus igniarius* by adsorption of macroreticular resins

SONG Bo^{1,2}, ZHOU Pei-gen¹, WANG Yan¹, YANG Yan²

(1. College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Edible Fungi Institute, Shanghai Academy of Agricultural Science, Shanghai 201106, China)

Abstract: The adsorption and desorption of flavonoids from *Phellinus igniarius* by 5 kinds of macroreticular resins were compared. It was found that DM301 resin was more suitable for the adsorptive extraction of flavonoid compounds. When the DM301 was applied to its isolation, the flavonoid product from *Phellinus igniarius* with a recovery of 95.2% was obtained. The extraction conditions are as follows: the ratio of the volume (mL) of sample to the mass (g) of resins is (2-3): 1; the concentration of flavonoids was 2 mg/mL; the adsorption time was 14 h, and the desorption solvent and the desorption time were 60% ethanol with three times the sample volume and 5 h, respectively.

Key words: *Phellinus igniarius*; flavonoids; macroreticular resins; adsorption

桑黄(*Phellinus igniarius*)属担子菌纲、多孔菌目、多孔菌科、针层孔属的真菌^[1]。由于桑黄资源稀少,限制了其在临床上的应用^[2]。在桑黄中含有黄酮类化合物,属于生物类黄酮,是植物次生代谢产物,在针层孔属真菌中是首次发现^[3]。对于桑黄的研究是近年来国内外广泛关注的热点,主要因为桑黄黄酮是活性成分之一^[4],在食品、药品等领域内具有很高利用价值^[5]。研究大规模分离纯化桑黄黄酮技术是工业化生产的迫切需要,本文利用大孔树脂对桑黄总黄酮的吸附性能进行提取研究,对工业化生产有一定的参考价值。

收稿日期: 2005-12-10

基金项目: 上海市重点学科建设项目资助(T1102)

作者简介: 宋 铂(1974-),男,陕西韩城人,硕士研究生,专业方向为食品储藏与加工。E-mail: songbo3@sina.com.cn

通讯作者: 杨 焱, E-mail: yangyan9200@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料和设备

桑黄:购于黑龙江省尚志市;大孔树脂:DM301、D100、D140、D101、DS100 购于上海市化学试剂门市部;仪器:Pharmacia Ultrospec2 100pro。

1.2 实验方法

1.2.1 黄酮含量测定

参照文献[6]的方法,以芦丁作为黄酮参照物制作标准曲线。准确称取芦丁标品 26.0 mg,用 20% 乙醇液溶解定容至 100 mL,得 0.26 mg/mL 芦丁标准溶液。分别吸取芦丁标液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 于 25 mL 的容量瓶中,并分别加去离子水 5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0 mL,放置 6 min 后分别加入 1.0 mL 5% NaOH,放置 10 min 后,再分别加入 1.0 mL 1% 的硝酸铝溶液,放置 10 min 后,再分别加入 1.0 mL 5% NaOH,再分别加入去离子水至刻度,摇匀放置 15 min,以去离子水为参比在波长 510 nm 处测各标样吸光值并制作标准曲线。样品中的黄酮测定按上述步骤进行,对照标准曲线可查得黄酮含量。

1.2.2 桑黄黄酮粗样品制备

取 1 000 g 粉碎后的桑黄,用三倍体积的 60% 乙醇进行回流萃取,所得萃取液经旋转蒸发浓缩后冷冻干燥并称量,得到 9.87 g 淡黄色粉末样品,并测得其黄酮含量为 41%^[7]。

1.2.3 大孔树脂对桑黄黄酮的吸附与解吸

采用静态吸附、解吸对 D100、D140、D101、DM301、DS100 型大孔树脂进行筛选。将上述大孔树脂分别用 95% 乙醇活化 24 h,然后用去离子水反复洗脱直至大孔树脂中无乙醇,用滤纸吸除树脂内多余水分。精准称取经处理的各种类型树脂 100 g 放入预先配制好的 200 mL 桑黄黄酮样品溶液中,黄酮浓度 0.927 mg/mL。每间隔 2 h 测其溶液的 A_{510} 值,持续测定 24 h,并计算出单位树脂对黄酮的吸附量。然后,将达到吸附平衡后的各树脂进行过滤并用滤纸吸干其表面样品溶液,分别放入干燥的烧杯中,加入 600 mL 60% 乙醇溶液,在低温闭光条件下每 30 min 测其 A_{510} 值,持续测定 270 min。计算出各树脂在单位时间内的解吸量。对最适树脂 DM301 做应用实验。分别称取经预先处理过的 DM301 型号树脂 30.0 g,置于 100 mL 不同浓度梯度的桑黄总黄酮样品溶液中,在低温闭光条件下浸泡 14 h,测定单位树脂吸附量 (mg/g)。用 300 mL 60% 乙醇解吸 4.5 h 测定单位树脂解吸量 (mg/g)、单位树脂解吸率 (%)、单位树脂残留率 (%)。将解吸后得到各组分经旋转蒸发与冷冻干燥后测其回收率 (%)。

2 结果与讨论

2.1 不同树脂对桑黄黄酮吸附能力的比较

5 种不同大孔树脂对桑黄黄酮吸附量的比较如表 1 所示。

从表 1 中可以看出,各树脂达到吸附平衡的时间和单位树脂的吸附量是不同的。D100 型树脂达到吸附平衡的时间为 16 h,单位树脂的最大吸附量为 111.3 mg/100 g;D101 型树脂达到吸附平衡的时间为 18 h,单位树脂的最大吸附量为 139.2 mg/100 g;D140 型树脂达到吸附平衡的时间为 16 h,单位树脂的最大吸附量为 124.2 mg/100 g;DM301 型树脂达到吸附平衡的时间为 14 h,单位树脂的最大吸附量为 162.3 mg/100 g;DS100 型树脂达到吸附平衡的时间为 20 h,单位树脂的最大吸附量为 127.7 mg/100 g。从以上结果可以看出,DM301 型大孔树脂对桑黄黄酮具有最大的单位树脂吸附量,而且达到吸附平衡的时间也最短。

表1 不同树脂对桑黄的黄酮吸附量的比较

Tab.1 Comparison of adsorptive capacity of flavonoids with different macroreticular resins

吸附时间 (h)	不同树脂的吸附量(mg/100g)				
	D100	D140	D101	DM301	DS100
2	36.7	67.8	58.3	76.7	40.5
4	44.3	80.5	63.4	99.7	54.5
8	56.7	85.3	79.8	128.4	65.7
10	79.9	93.5	86.6	136.3	69.5
12	84.7	105.3	108.7	147.5	74.1
14	104.8	114.7	117.4	162.3	89.3
16	111.3	120.8	127.8	162.2	107.6
18	111.2	124.1	139.0	162.2	113.7
20	111.3	124.0	139.1	162.1	127.5
22	111.3	124.1	139.2	162.3	127.7
24	111.3	124.2	139.1	162.2	127.7

注:上述数据为三次平行实验的平均值

2.2 不同树脂对桑黄黄酮的解吸速率比较

5种不同树脂对桑黄黄酮的解吸量随时间的变化如表2所示。

从表2可以看出,这5种大孔树脂对桑黄黄酮的解吸能力是不同的。在270 min内DM301树脂对桑黄黄酮具有最强的解吸能力,解吸率为79.8%,明显高于其它4种大孔树脂。根据上述实验结果,可以认为该树脂比较适合本研究中桑黄黄酮的吸附提取。

表2 不同树脂对桑黄黄酮的解吸量的变化

Tab.2 The change in the desorption of flavonoids from *Phellinus igniarius* with time by different macroreticular resins

解吸时间 (min)	不同树脂的解吸量(mg/100g)				
	D100	D140	D101	DM301	DS100
30	12.32	17.58	14.83	20.14	10.66
60	21.72	30.46	26.52	38.56	16.58
90	36.83	39.27	40.58	53.27	24.56
120	40.35	47.58	47.25	69.37	35.72
150	49.83	56.79	53.89	86.78	49.25
180	57.25	62.21	60.58	92.65	61.78
210	69.38	70.25	72.96	114.75	72.35
240	75.23	76.17	81.11	119.60	80.45
270	78.88	81.72	85.96	129.43	83.9
解吸率	70.9%	65.8%	61.8%	79.8%	65.7%

注:上述数据为三次平行实验的平均值

2.3 DM301型树脂在桑黄总黄酮的吸附提取中的应用

DM301型树脂在桑黄总黄酮的吸附提取中的应用结果如表3所示。

从表3可看出,利用大孔树脂DM301分别对不同浓度的桑黄总黄酮进行12次吸附提取,平均回收率为95.2%,说明吸附提取效果是比较理想。而且,随着样品浓度的增加,DM301树脂单位吸附量与解吸量都随之增加,但单位解吸率有减少趋势,单位残留率有增大趋势。结果表明,DM301树脂吸附提取桑黄黄酮时样品浓度大约为2 mg/mL比较合理,样品浓度过高会造成回收率的降低。

表 3 样品黄酮浓度对 DM301 型树脂吸附和解吸桑黄总黄酮的影响
 Tab. 3 The effects of concentrations of flavonoids from *Phellinus igniarius* on adsorption and desorption by DM301 macroreticular resin

样品浓度(mg/mL)	单位吸附量(mg/g)	单位解吸量(mg/g)	单位解吸率(%)	单位残留率(%)	回收率(%)
0.51	0.4	0.3	86	14	96
1.02	0.8	0.7	89	11	97
1.53	1.2	1.0	84	16	96
2.04	1.6	1.4	89	11	96
2.55	2.0	1.7	85	15	95
3.06	2.0	1.7	86	14	96
3.61	2.1	1.8	85	15	94
4.12	2.2	1.7	85	15	96
4.63	2.2	1.9	84	16	95
5.14	2.5	1.9	75	25	94
5.69	2.6	2.0	76	24	94
6.2	2.6	2.1	80	20	93

注:上述数据为三次平行实验的平均值

3 结论

大孔树脂 DM301 比较适合于吸附提取桑黄总黄酮。应用 DM301 型号大孔树脂,样品液体积与树脂量比为(2~3):1(mL:g)浓度为 2 mg/mL,吸附时间为 14 h,用 3 倍于吸附液体积的 60% 乙醇解吸 5 h,可以得到比较理想的产品。

参考文献:

- [1] 莫顺燕,杨永春,石建功. 桑黄化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(4):339-341.
- [2] 温克,陈劲,李红. 桑黄等四种抗癌药物抗癌活性比较[J]. 吉林大学学报,2002,28(3):247-249.
- [3] Han S B, Lee C W, Jeon Y J, et al. The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis [J]. Immunopharmacology, 1999, 41(2): 157-164.
- [4] 刘金荣,江发寿,李艳. 药用真菌桑黄甾类成分的提取和鉴定[J]. 农垦医学,1998,20(3):141.
- [5] 张余,阚建全,陈宗道. 生物类黄酮抗癌作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2003,22(4):8-11.
- [6] 何照范,张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京:中国轻工出版社,1996:125-128.
- [7] 徐宝才. 苦荞黄酮、糖醇的研究及利用[J]. 无锡轻工业大学学报,2001,19(5):28-31.