

## 龙葵果生物碱提取纯化工艺研究

高小棠, 王萍\*

(东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘 要:** 以龙葵果生物碱提取得率为考察指标, 分别用水、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%的乙醇和 60%、70%、90%、95%、100%的甲醇作为溶剂提取龙葵果生物碱, 得出 80%乙醇为较好的提取溶剂。以 80%乙醇为提取溶剂, 设提取温度(20、40、60、80、100 °C)、提取时间(2、3、4、5、6、7、8 h)、提取料液比(1 5、1 10、1 20、1 40、1 60、1 80、1 100) g/mL 3 个单因素试验, 再运用全因子试验设计、最陡爬坡试验和中心组合试验进行响应面分析, 探索龙葵果生物碱最优提取纯化工艺。结果表明: 最优龙葵果生物碱的提取工艺条件为提取温度 57.5 °C, 料液比(1 20.5) g/mL, 提取时间 4 h, 龙葵果生物碱提取得率为(0.824±0.001) mg/g; 通过静态吸附和解吸筛选出龙葵果生物碱的最佳纯化树脂为 AB-8, 最佳纯化条件为上样浓度 0.03 mg/mL, 上样 pH 9, 径长比 1 10, 用 3.0 BV、pH 3 的 70%乙醇以 2.0 BV/h 的流速洗脱, 可使生物碱纯度提高 9.44 倍。

**关 键 词:** 龙葵果; 生物碱; 提取纯化工艺; 响应面法

中图分类号: S567.21<sup>+</sup>9

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2015)05-0521-06

## Study on the extraction and purification conditions of alkaloids from the fruit of black nightshade (*Solanum nigrum* L.)

Gao Xiaotang, Wang Ping\*

(College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** Water, ethanol of 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% and 100% and methanol of 60%, 70%, 90%, 95% and 100% were used as solvent to test extracting rate of alkaloids from the fruit of black nightshade (*Solanum nigrum* L.). The result showed the ethanol of 80% had the highest extracting rate of alkaloids. Then, 80% ethanol was used as extraction solvent, different extraction temperature (20, 40, 60, 80, 100 °C), extraction time (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h) and ratio of material to solvent (1 5, 1 10, 1 20, 1 40, 1 60, 1 80, 1 100) g/mL were designed to study the optimum extraction conditions of alkaloids. The results showed that: the best extraction solvent was 80% ethanol; optimum extraction conditions were 57.5 °C of extraction temperature, (1 20.5) g/mL of material to solvent, 4 h of extraction time. On these conditions, the alkaloids extraction rate was (0.824±0.001) mg/g. By static adsorption and desorption testing of resins, the best resin was AB-8, the best purification conditions were 0.03 mg/mL of solution concentration, pH 9 of solution, 1 10 of diameter to length, 3.0 BV, pH 3 and 70% ethanol with the elution flow rate of 2.0 BV / h, the alkaloid purity could increase 9.44 times.

**Keywords:** *Solanum nigrum* L. fruits; alkaloids; extraction and purification process; response surface methodology

龙葵(*Solanum nigrum* L.)别名龙眼草、黑天天等, 是茄科草本植物, 主要分布于中国的黑龙江、吉林、辽宁等省。龙葵全草含甾体类生物碱、龙葵多糖、色素、皂苷等, 其主要药用成分为生物碱和

甾体多糖<sup>[1]</sup>。有研究<sup>[2-3]</sup>表明, 龙葵甾体类生物碱主要是由以澳洲茄胺为苷元的生物碱组成, 而目前澳洲茄胺的主要提取来源就是龙葵。澳洲茄胺苷元存在于龙葵果和龙葵茎叶中, 在龙葵果中含量最高。

收稿日期: 2015-04-29

修回日期: 2015-09-02

基金项目: 卓越农林人才教育培养计划改革试点项目(41110211)

作者简介: 高小棠(1991—), 女, 辽宁沈阳人, 硕士研究生, 主要从事功能食品研究, tangxiaotusweet@163.com; \*通信作者, 王萍, 教授, 主要从事天然产物分离研究, 949508700@qq.com

笔者以龙葵果为试验原料,以龙葵果中生物碱含量作为定量检测指标,采用响应面法优化龙葵果生物碱提取工艺,利用大孔树脂的吸附作用,对龙葵果生物碱进行纯化,并考察最佳纯化条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试龙葵果采自哈尔滨郊区。

主要供试试剂:澳洲茄胺标品(索莱宝公司);二氯甲烷(天津市恒兴化学试剂制造有限公司);无水氯化钙(天津市风船化学试剂科技有限公司);溴麝香草酚蓝(天津市科密欧化学试剂有限公司)。

主要供试仪器:HR2004 榨汁机(飞利浦电子香港有限公司);RE-53A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHB-III S 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);722 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);PHS-26 数显 pH 计(上海精密仪器有限公司);HHS 型电热恒温水浴锅(北京博讯实业有限公司医疗设备厂);TDL-40B-W 台式低速大容量离心机(上海星科科学仪器有限公司);(1×50) cm 玻璃层析柱(上海精科实业有限公司);AB-8、D101、X-5(天津市汇达化工有限公司);HP2MGL、NKA-II、IR120Na(浙江嘉兴玛雅试剂);XAD-7(阿法埃沙(天津)化学有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 龙葵果生物碱的提取

1) 标准曲线的绘制。在紫外分光光度计上,将澳洲茄胺标准品和龙葵果生物碱提取液在 190~900 nm 波段扫描,二者均在 416 nm 波长下有最大吸收峰,确定生物碱的最大吸收波长为 416 nm。

分别移取质量浓度为 0.400 mg/mL 的澳洲茄胺标准品溶液 20、40、80、120、160  $\mu$ L 至 25 mL 锥形瓶中,蒸干溶剂,加入 pH 7.6 的溴麝香草酚蓝指示液 6 mL,参照周琴音、Markus Ganzera 等<sup>[4-5]</sup>方法,再加入二氯甲烷 5 mL,充分振荡,转移入分液漏斗,静置 2 h,待有机层与水层完全分离后,取有机层,加无水氯化钙,干燥有机层。然后采用分光光度法在 416 nm 波长下测定吸光值,以不含生物碱的二氯甲烷萃取液作为空白对照。以澳洲茄胺浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线<sup>[6]</sup>。

2) 溶剂的筛选。采用溶剂萃取法提取龙葵果生物碱。参照文献[7-11]的方法,分别取 10.0 g 新鲜龙葵果按料液比(1 20) g/mL 加入水、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%的乙醇,60%、70%、90%、95%、100%的甲醇,用榨汁机打匀,40  $^{\circ}$ C 恒温水浴浸提 4 h,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液,定容至一定体积,采用分光光度法在 416 nm 波长下测定吸光值,根据标准曲线计算龙葵果生物碱含量。

3) 单因素试验设计。通过溶剂的筛选,比较得出较好的提取溶剂;采用较好提取溶剂,设提取时间(2、3、4、5、6、7、8 h)、提取温度(20、40、60、80、100  $^{\circ}$ C)和料液比(1 5、1 10、1 20、1 40、1 60、1 80、1 100) g/mL 的单因素试验,比较龙葵果中生物碱的提取得率。

#### 1.2.2 响应面优化龙葵果生物碱提取工艺

在单因素试验的基础上,对提取温度、提取时间和料液比 3 个因素做全因子试验设计<sup>[12]</sup>。通过全因子试验,找出显著因子并确定其影响效应。根据显著因子的影响效应确定爬坡方向和变化步长,设计出最陡爬坡路径<sup>[13]</sup>。以最陡爬坡试验确定的水平作为中心组合试验设计的中心点,采用中心旋转组合试验设计法进行响应面分析。

#### 1.2.3 龙葵果生物碱的纯化

1) 树脂的预处理。用 95%乙醇浸泡各树脂 24 h,使树脂充分润胀<sup>[14]</sup>,蒸馏水水洗至无醇味,用 5% HCl 浸泡 12 h,蒸馏水水洗至中性,再用 5% NaOH 浸泡 12 h,蒸馏水水洗至中性。

2) 最佳树脂的筛选。准确称取 2.0 g 已活化的树脂于 100 mL 的具塞锥形瓶中,加入 20 mL 龙葵果生物碱提取液,20  $^{\circ}$ C,110 r/min 恒温水浴振摇 24 h,达到吸附平衡,测定吸光值,计算上清液中生物碱含量。移除残余溶剂,用蒸馏水清洗树脂 3 次,用 20 mL,60%乙醇在 20  $^{\circ}$ C,110 r/min 恒温水浴振摇 24 h 进行解吸,充分解吸后测定上清液中生物碱含量,计算吸附量和解吸率<sup>[15]</sup>。

吸 附 量  $Q_e = \frac{(C_0 - C_e) \times V_0}{w}$ ; 解 吸 率  $D = \frac{C_d - V_d}{(C_0 - C_e) \times V_0} \times 100\%$ 。式中:  $C_0$  为粗提液初始浓度( $\mu$ g/mL);  $C_e$  为达到吸附平衡时上清液浓度

( $\mu\text{g/mL}$ ) ;  $C_d$  为达到解吸平衡时上清液浓度( $\mu\text{g/mL}$ ) ;  $V_0$  为粗提液体积( $\text{mL}$ ) ;  $V_d$  为解吸溶剂体积( $\text{mL}$ ) ;  $w$  为干树脂质量( $\text{g}$ )。

3) 龙葵果生物碱吸附平衡和解吸平衡时间的测定。准确称取筛选出的最佳树脂 2.0 g 于 100 mL 的具塞锥形瓶中,加入 20 mL 龙葵果生物碱提取液, 20  $^{\circ}\text{C}$ , 110 r/min 恒温水浴振荡吸附, 每 1 h 测定上清液生物碱含量。以吸附时间为横坐标, 吸附量为纵坐标, 绘制静态吸附曲线。将上述吸附平衡后的树脂过滤除去溶剂, 用蒸馏水洗涤树脂 3 次, 并用滤纸吸干树脂表面的水分, 加入 20 mL 60% 乙醇溶液, 置于恒温振荡器中 20  $^{\circ}\text{C}$ , 110 r/min 恒温水浴振荡解吸。每 1 h 测定上清液生物碱含量。以吸附时间为横坐标, 解吸率为纵坐标, 绘制解吸曲线。

4) 泄漏曲线的确定。将筛选出的最佳树脂装柱, 控制上样液流速 2.0 BV/h, 4 mL /管, 测定生物碱含量, 当生物碱浓度为上样浓度 1/10 时视为开始泄漏, 泄漏前一点为最大上样量<sup>[16]</sup>。

5) 龙葵果生物碱纯化工艺优选。分别考察上样液浓度(0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/mL)、洗脱剂浓度(50%、60%、70%、80%、90%)、上样液 pH(3、5、7、9、11), 洗脱剂 pH(3、5、7、9、11), 洗脱流速(0.5、1.0、2.0、4.0 BV/h)和径长比(1 5、1 10、1 15)对树脂吸附的影响, 测定洗脱液中生物碱含量, 计算回收率<sup>[17]</sup>。

回收率 $= (m_1/m_0) \times 100\%$ 。式中,  $m_0$  为上样液中生物碱质量( $\text{g}$ ) ;  $m_1$  为洗脱液中生物碱质量( $\text{g}$ )。

6) 洗脱剂体积的确定。将到达吸附平衡的树脂用 2.0 BV 的蒸馏水洗至无糖类可溶性成分, 加入 pH 3.0 的 70% 乙醇洗脱, 控制洗脱流速 2.0 BV/h, 4 mL/管, 测定生物碱含量, 当洗脱液中检测不出生物碱时为洗脱完全, 此时的体积为洗脱剂体积。

#### 1.2.4 数据处理与分析

采用 Excel 软件进行数据分析及制图; 采用 Minitab 软件进行全因子试验设计及分析; Design-Expert 8.0 软件进行中心组合试验设计及响应面分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同溶剂提取物中的生物碱得率

在 416 nm 下测定吸光值, 绘制成标准曲线,

获得标准曲线方程  $y=46.256x+0.0019$ ,  $R^2=0.9999$ , 表明澳洲茄胺浓度在 0.001 6 ~ 0.012 8 mg/mL 内, 浓度与吸光值线性关系良好。

由标准曲线计算不同提取溶剂龙葵果生物碱得率, 结果以 60%、70%、80%、85%、90%、95%、100% 的乙醇为提取溶剂时的龙葵果生物碱得率分别为 (0.27 $\pm$ 0.04)、(0.33 $\pm$ 0.03)、(0.64 $\pm$ 0.01)、(0.59 $\pm$ 0.01)、(0.48 $\pm$ 0.02)、(0.35 $\pm$ 0.01)、(0.24 $\pm$ 0.04) mg/g; 以 70%、90%、95%、100% 的甲醇为提取溶剂时龙葵果生物碱得率分别为 (0.18 $\pm$ 0.03)、(0.30 $\pm$ 0.02)、(0.66 $\pm$ 0.02)、(0.65 $\pm$ 0.04)、(0.37 $\pm$ 0.01) mg/g; 以蒸馏水作为提取溶剂时龙葵果生物碱得率为 (0.22 $\pm$ 0.01) mg/g。从上述结果可知, 当乙醇和甲醇的浓度分别为 80% 和 90% 时, 生物碱的提取率达到最高, 差异没有统计学意义, 考虑到溶剂毒性问题和实际生产的经济效益, 选择 80% 乙醇作为提取溶剂。

### 2.2 生物碱提取单因素试验结果

以 80% 乙醇为溶剂提取龙葵果生物碱, 当提取时间分别为 2、3、4、5、6、7、8 h 时, 提取得率相应为 (0.40 $\pm$ 0.01)、(0.53 $\pm$ 0.01)、(0.64 $\pm$ 0.01)、(0.63 $\pm$ 0.02)、(0.65 $\pm$ 0.04)、(0.65 $\pm$ 0.02)、(0.65 $\pm$ 0.02) mg/g, 可见, 龙葵果生物碱在提取 4 h 时已基本提取完全; 当提取温度为 20、40、60、80、100  $^{\circ}\text{C}$  时, 提取得率分别为 (0.54 $\pm$ 0.01)、(0.65 $\pm$ 0.01)、(0.64 $\pm$ 0.01)、(0.52 $\pm$ 0.02)、(0.14 $\pm$ 0.01) mg/g, 可见提取温度 40  $^{\circ}\text{C}$  时龙葵果生物碱得率最大; 当料液比为 (1 5)、(1 10)、(1 20)、(1 40)、(1 60)、(1 80)、(1 100) g/mL 时, 提取得率分别为 (0.31 $\pm$ 0.01)、(0.60 $\pm$ 0.04)、(0.64 $\pm$ 0.01)、(0.46 $\pm$ 0.03)、(0.40 $\pm$ 0.02)、(0.27 $\pm$ 0.01)、(0.26 $\pm$ 0.01) mg/g, 可见料液比为 (1 20) g/mL 时, 龙葵果生物碱得率最大。

### 2.3 响应面优化龙葵果生物碱提取工艺

#### 2.3.1 全因子试验结果

将试验数据拟合, 得到方程:

$$Y=0.5305+0.0650A-0.0028B-0.1198C+0.0096AB-0.0515AC+0.0123BC \quad (1)$$

式中  $A$  为提取温度,  $B$  为提取时间,  $C$  为料液比。从 (1) 中可见, 该模型  $P < 0.001$ , 说明该模型极显著, 决定系数  $R^2=99.79\%$ , 说明该模型拟合程度

良好。显著性影响大小的因素依次为料液比(C)、提取温度(A)、提取温度与料液比互作(AC)。

2.3.2 最陡爬坡试验结果

根据(1)中的系数确定提取温度和料液比的变化步长进行最陡爬坡试验。通过试验结果找出生物碱得率最高的方案为提取温度 50 ℃,料液比(1:20) g/mL。

2.3.3 中心组合试验结果

以最陡爬坡试验找出的最佳点作为中心点,进行中心组合试验。将中心组合试验数据进行拟合,得到模拟方程:

$$Y=0.82+0.038A-1.129\times10^{-3}C+0.014AC-0.025A^2-0.09C^2$$
 (2)

该模型  $P<0.0001$ ,说明该模型极显著;失拟误差  $P>0.05$ ,说明没有产生失拟现象; $R^2=97.21\%$ ,说明拟合度良好,方程的显著性及可靠性极高<sup>[18]</sup>。根据以上方程绘制响应面图形,得到图 1。运用 Design-Expert 8.0 软件进行分析,得到模型的最佳点,即当提取温度为 57.52 ℃,料液比为(1:20.54) g/mL,生物碱提取率最高,理论上可以达到 0.833 mg/g。

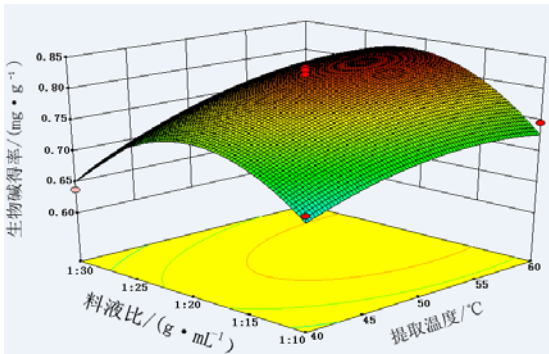


图 1 提取温度和料液比交互作用下龙葵果生物碱得率的影响

Fig.1 Effects of temperature and liquid-solid ratio on alkaloids yield

2.3.4 模型的验证结果

通过响应面得到的最佳提取条件,提取温度为 57.5 ℃,料液比为(1:20.5) g/mL,考虑到实际生产中要节约时间,选择提取时间为 4 h,在此条件下提取龙葵果生物碱得率为(0.824±0.001) mg/g,与模型预测误差值仅为 1.1%,说明预测较可靠,通过试验得出的试验参数与实际拟合较好。

2.4 最佳树脂筛选结果

从表 1 可以看出,AB-8 树脂有较好的吸附和解吸效果,是纯化龙葵果生物碱较理想的树脂。

表 1 树脂静态吸附及解吸结果

| Table 1 Absorption and desorption capabilities of the different macroporous resins to <i>S. nigrum</i> anthoyanins |      |           |   |                           |               |
|--|------|-----------|---|---------------------------|---------------|
| 树脂型号   | 树脂极性 | 平均孔径/nm   | 比表面积/(m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ) | 吸附率/(μg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/%         |
| NKA-II   | 极性   | 145~155   | 160~200                                 | (128.09±0.82)e            | (67.67±0.07)d |
| XAD-7  | 中极性  | 40~50     | 450                                     | (86.59±0.46)f             | (92.95±0.21)b |
| HP2MGL   | 中极性  | 90        | 1 200                                   | (232.71±0.55)b            | (48.36±0.09)g |
| X-5  | 非极性  | 290~300   | 500~600                                 | (56.01±0.35)g             | (94.97±0.11)a |
| AB-8   | 弱极性  | 130~140   | 480~520                                 | (247.41±0.15)a            | (71.03±0.34)c |
| D101   | 非极性  | 300~1 250 | 550                                     | (208.50±0.07)c            | (60.40±0.11)f |
| IR120Na  | 极性   |           |   | (160.08±0.69)d            | (65.43±0.16)e |

同列不同字母表示差异显著。

2.5 龙葵果生物碱吸附平衡和解吸平衡时间的测定

根据试验结果绘制吸附曲线(图 2)和解吸曲线(图 3)。从图 2 和图 3 可以看出,AB-8 树脂在 4 h 基本达到吸附平衡和解吸平衡,因此,在纯化龙葵果生物碱的工艺中可将吸附和解吸时间确定为 4 h。

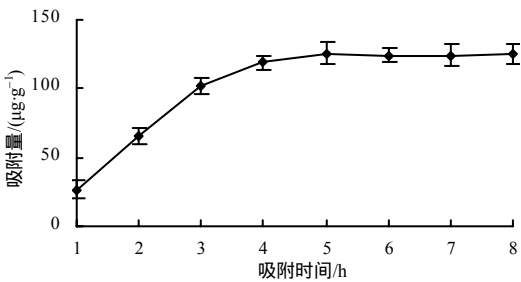


图 2 AB-8 树脂静态吸附曲线

Fig.2 Static adsorption curve of AB-8

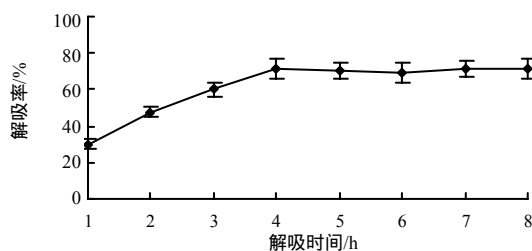


图 3 AB-8 树脂静态解吸曲线

Fig. 3 Static desorption curve of AB-8

## 2.6 泄漏曲线的确定

从图 4 可以看出，随上样液体积的增加，流出液中生物碱含量也在不断增加，说明树脂对生物碱的吸附效果在降低。当流出液中生物碱浓度达到上样液生物碱浓度的 1/10 时视为泄漏，即 0.60 BV 为最大上样量。

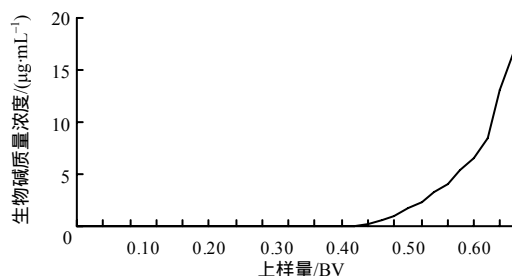


图 4 泄漏曲线

Fig. 4 Leaked curve

## 2.7 不同条件对龙葵果生物碱纯化工艺的影响

当上样质量浓度为 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/mL 时，龙葵果生物碱的回收率分别为 25.45%、33.56%、63.17%、43.18%、33.41%。由此可见，上样质量浓度为 0.03 mg/mL 时回收率最大，因此，选择 0.03 mg/mL 为最佳上样质量浓度。

当洗脱剂(乙醇)体积分数为 50%、60%、70%、80%、90% 时，龙葵果生物碱的回收率分别为 18.83%、77.45%、90.98%、53.40%、33.41%，由此结果可知，乙醇体积分数为 70% 时回收率最大，因此，选择 70% 乙醇作为最佳洗脱剂。

当上样液 pH 为 3、5、7、9、11 时，龙葵果生物碱回收率分别为 38.07%、51.53%、64.23%、73.85%、41.45%，上样液 pH 9 时回收率最大，因此，选择 pH 9 为最佳上样 pH 值。

当洗脱剂 pH 值为 3、5、7、9、11 时，龙葵果生物碱回收率分别为 93.69%、79.78%、76.18%、75.05%、34.62%，洗脱剂 pH 3 时回收率最大，因此，选择 pH 3 为最佳上样 pH 值。

当洗脱剂流速为 0.5、1.0、2.0、4.0 BV/h，龙

葵果生物碱回收率分别为 56.56%、54.23%、65.54%、52.95%，可见，洗脱剂流速为 2.0 BV/h 时回收率最大，因此，选择 2.0 BV/h 为最佳洗脱流速。

当径长比为 1 5、1 10、1 15 时，龙葵果生物碱回收率分别为 67.46%、76.03%、71.97%，可见径长比为 1 10 时回收率相对较高，因此，选择 1 10 作为最佳径长比。

## 2.8 洗脱剂体积的确定

根据试验结果绘制洗脱曲线(图 5)。从图 5 可以看出，随洗脱液体积增加，洗脱液中生物碱含量不断升高，在 2.0 BV 处达到洗脱高峰，此时洗脱出的生物碱占总量的 44.72%；洗脱剂用量 3.0 BV 时，可洗脱出占总量 84.33% 的生物碱；洗脱剂用量为 4.6 BV 时，在洗脱液中检测不到生物碱，因此，3.0 BV 洗脱液即可较完全洗脱生物碱。

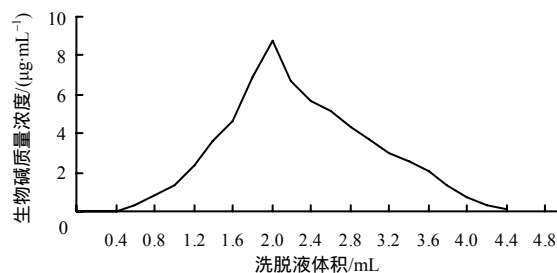


图 5 洗脱曲线

Fig. 5 Eluent volume

## 3 结论与讨论

龙葵果中生物碱的提取过程涉及到的各因素都会对提取得率产生影响。本试验中，龙葵果生物碱的提取得率随提取溶剂浓度的上升而增加，原因可能是甲醇和乙醇能够沉降龙葵果中的蛋白质、多糖、纤维素等高分子物质<sup>[12]</sup>，减少生物碱溶出的阻力，加大生物碱的溶出速率和溶出量。但当甲醇和乙醇的浓度继续升高(分别高达 90% 和 80%)时，生物碱的提取率反而下降，这是由于高浓度的甲醇和乙醇溶液会加速龙葵果中脂类物质的溶出。当脂类物质与生物碱共存时，在碱性条件下易发生乳化，使提取不完全。随着提取时间的延长，生物碱的提取率也增加。但当提取时间达到 4 h 后，提取时间继续增加，生物碱的提取率基本没有变化。说明在该提取条件下，龙葵果中的生物碱在 4 h 时已经基本被浸提出。随着提取温度的升高，龙葵果生物碱的提取率先逐渐增加，然后迅速降低。由于龙葵果中的生物碱热稳定性较好，因此，

在较高温度下提取率的下降可能是由于溶剂挥发而导致生物碱提取不完全造成的。随着料液比的增加,生物碱提取率不断增加,超过(1 20) g/mL 时提取率有所下降。料液比增加,即溶剂量增加,能够加大生物碱的溶出量,但料液比过大,会增加龙葵果中的脂类物质的溶出,脂类物质与生物碱在碱性条件下乳化,使得提取不完全,造成生物碱提取率降低。

龙葵果生物碱的纯化工艺受上样浓度、洗脱剂的浓度、上样 pH、洗脱剂 pH、洗脱剂流速、径长比等因素的影响。上样浓度低,不仅纯化效率低,而且吸附效果不明显;上样浓度过高,会降低生物碱在水溶液中的溶解性,影响树脂的洗脱效果。本研究结果表明,70%乙醇为洗脱剂、洗脱剂为酸性(pH3)以及上样液偏碱性(pH9)时,龙葵果生物碱回收率较高。因为,生物碱在碱性条件下稳定,能较好的吸附在树脂上,若在酸性条件下吸附,生物碱会质子化,形成相应的生物碱盐。不带功能基团的大孔树脂不易吸附盐类,而生物碱盐易溶于水,会随糖类等水溶性成分一起被洗脱而不易被大孔树脂吸附。在酸性条件下洗脱,被吸附在树脂上的游离态生物碱与  $H^+$  结合形成生物碱盐,生物碱盐不易与大孔树脂结合而易被洗脱下来。洗脱流速过快,洗脱剂未能与吸附在树脂上的生物碱充分作用,洗脱不完全;洗脱过慢耗时长,延长生产周期。径长比过低,杂质并不能被很好的去除,使生物碱纯度低;径长比过高,生物碱洗脱路径长,会造成生物碱洗脱不完全,使回收率下降。

综合整个试验结果,得出以下结论:

80%乙醇提取龙葵果生物碱的提取率最高;在提取温度 57.5 °C,提取 4 h,料液比(1 20.5) g/mL 下提取龙葵果生物碱,提取率为(0.824±0.001) mg/g;AB-8 树脂为纯化龙葵果生物碱的较佳树脂;龙葵果生物碱在 AB-8 树脂上的吸附平衡时间为 4 h,解吸平衡时间为 4 h,最大上样量为 0.60 BV,最佳上样浓度为 0.03 mg/mL,最佳上样 pH 9,最佳径长比 1 10,用 3.0 BV, pH 3 的 70%乙醇即可将龙葵果生物碱洗脱较完全,最佳洗脱流速为 2.0 BV/h。在此条件下可将龙葵果生物碱纯度提高 9.44 倍。

## 参考文献:

- [1] 季宇彬,王胜惠,高世勇,等.龙葵活性成分的研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科版,2004,20(6):637-641.
- [2] 蒋新宇,杨辉,赵宇.龙葵中甾体类生物总碱的含量测定[J].食品科学,2006,27(8):224-227.
- [3] 李明慧,丁岗,孟兆青,等.龙葵药材中澳洲茄碱、澳洲茄边碱的含量测定[J].中国天然药物,2007(5):360-362.
- [4] 周琴音.龙葵总生物碱提取方法的考察[J].当代医学:学术版,2007(10):136-138.
- [5] Markus Ganzera, Anja Krüger, Michael Wink. Determination of quinolizidine alkaloids in different *Lupinus* species by NACE using UV and MS detection[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 53(5): 1231-1235.
- [6] 刘覃.龙葵中活性成分的提取、纯化及测定研究[D].长沙:中南大学,2005.
- [7] 刘颖,张燕玲,王雁.从天然植物龙葵中提取生物碱的工艺研究[J].辽宁丝绸,2003(2):4-5,32.
- [8] Zhang Dong-Bo, Chen Jian-Jun, Zhang Li, et al. Bioactive alkaloids from *Palhinhaea cernua*[J]. Phytochemistry Letters, 2014(10): 76-79.
- [9] Sakornrat Thorroad, Prateep Worawittayanont, Nisachon Khunnawutmanotham, et al. Three new *Lycopodium* alkaloids from *Huperzia carinata* and *Huperzia squarrosa*[J]. Tetrahedron, 2014, 70(43): 8017-8022.
- [10] Hanane Khalki, Sylvia Navailles, Camille L Piron, et al. A tobacco extract containing alkaloids induces distinct effects compared to pure nicotine on dopamine release in the rat[J]. Neuroscience Letters, 2013, 544: 85-88.
- [11] Cheng Gui-Guang, Zhao Yun-Li, Zhang Yu, et al. Indole alkaloids from cultivated *Vinca major*[J]. Tetrahedron, 2014, 70(45): 8723-8729.
- [12] 腾飞,赵福杰,郑洪亮,等.龙葵果花色苷的提取工艺研究[J].食品工业科技,2014,35(7):240-245,267.
- [13] 罗丽,梁琪,张炎,等.响应面法优化超声波辅助提取沙枣果总黄酮工艺[J].食品工业科技,2013,34(5):269-274.
- [14] 杨静伟,杨晶凡,李二林.北豆根总生物碱纯化工艺研究[J].中国药物评价,2013(3):138-141.
- [15] Yang Jin, Zhang Li-Yan, Zhu Gui-Hua, et al. Separation and enrichment of major quinolizidine type alkaloids from *Sophora alopecuroides* using macroporous resins[J]. Journal of Chromatography B, 2014, 945/946: 17-22.
- [16] 孟宪军,李颖畅,宣景宏,等. AB-8 大孔树脂对蓝莓花色苷的动态吸附与解吸特性研究[J].食品工业科技,2007(12):94-96,99.
- [17] 苗雨.黑加仑果渣中花色苷的制备及其功能特性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2008.
- [18] 李茜,吕萍,薛波,等.响应面法优化超声波辅助提取石榴籽中原花青素工艺的研究[J].食品工业科技,2013,34(9):224-228,232.

责任编辑:尹小红

英文编辑:梁和