

银杏叶黄酮在D201阴离子树脂上的静态吸附动力学研究

李万忠^{1,2*}, 张晓平², 崔清华², 丁嘉信², 田景振^{2#} (1. 潍坊医学院药学与生物科学学院, 山东潍坊 261053; 2. 山东中医药大学药学院, 济南 250355)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-0990-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.11

摘要 目的:研究D201阴离子树脂对银杏叶黄酮静态吸附过程的动力学特征。方法:采用高效液相色谱法测定D201阴离子树脂在不同温度下的吸附等温线与不同起始浓度下的吸附动力学曲线。结果:D201阴离子树脂对银杏叶黄酮的吸附较符合Freundlich方程和Langmuir方程;吸附动力学规律可用准二级动力学方程表示;液膜扩散是其吸附的主要速控步骤,吸附活化能为-10.328 5 kJ/mol。结论:所得结果可为进一步纯化分离银杏叶黄酮提供参考。

关键词 银杏叶黄酮;D201阴离子树脂;吸附动力学

Static Adsorption Kinetics of Ginkgo Leaves Flavone in D201 Resin Anion

LI Wan-zhong^{1,2}, ZHANG Xiao-ping², CUI Qing-hua², DING Jia-xin², TIAN Jing-zhen² (1. School of Pharmacy and Biological Science, Weifang Medical College, Shandong Weifang 261053, China; 2. College of Pharmacy, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study kinetic characteristics of static adsorption of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone. METHODS: The adsorption isotherms of D201 resin anion under different temperatures were determined by HPLC, and adsorption kinetic curves of initial concentration were also determined. RESULTS: The adsorption of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone was in line with Freundlich equation and Langmuir equation; adsorption kinetic regularity can be described with secondary velocity equation; main speed control step of adsorption was liquid membrane diffusion, and activation energy of adsorption was -10.328 5 kJ/mol. CONCLUSION: The conclusion can provide reference for further purification and separation of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone.

KEY WORDS Ginkgo leaves flavone; D201 resin anion; Adsorption kinetics

银杏叶黄酮具有独特的生理作用、临床治疗作用和保健价值^[1],被广泛用于制药、食品及化妆品行业。目前,银杏叶黄酮纯化过程中主要存在以下问题:得率不高、纯度不理想、有机溶剂有残留、生产成本较高等。基于此,探讨银杏叶黄酮纯化工艺,对于提高产品质量、降低生产成本、绿色节能增效具有重要意义。

虽然有关银杏叶黄酮分离纯化的报道较多,但应用阴离子树脂对其进行精制研究的报道却相对较少。随着高分子材料工业的不断发展,高吸附量、强选择性及价格低廉的离子树脂相继问世,为纯化、精制银杏叶黄酮提供了研究手段。笔者发现,D201阴离子树脂对银杏叶黄酮的吸附效果较好,故对银杏叶黄酮在D201阴离子树脂上的吸附进行动力学研究,以为进一步对其纯化分离提供理论支持。

1 材料

1.1 仪器

L-2000高效液相色谱(HPLC)仪(日本日立公司);HS260震荡摇床(深圳市凯拓杰仪器设备有限公司);RE52-99旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);BS110电子天平(北京赛多利仪器系统有限公司)。

* 副教授,博士研究生。研究方向:中药新药。电话:0536-8462490。E-mail:lwzwfmc@163.com

通信作者:教授,博士研究生导师。研究方向:中药新药。电话:0531-89628080。E-mail:tianjingzhen@163.com

1.2 试剂

D201阴离子树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司);银杏叶标准提取物(长沙惠瑞生物科技有限公司,批号:20110812);槲皮素、山奈酚、异鼠李素对照品(上海融禾医药科技发展有限公司,批号分别为100413、101125、101206,纯度均不低于98%);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 黄酮含量测定方法^[2]

2.1.1 色谱条件 采用HPLC法测定。色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50, V/V);柱温:30℃;检测波长:360 nm;进样量:20 μl。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取槲皮素、山奈素、异鼠李素对照品9.05、8.96、6.13 mg,置100 ml量瓶中,甲醇溶解,即得。取上述对照品溶液各30 ml,混匀后置冰箱内低温避光贮藏,备用。

2.1.3 样品溶液的制备 称取银杏叶标准提取物适量(或量取待测溶液适量),先减压旋干,再加入甲醇-25%盐酸(4:1, V/V)的混合溶液25 ml,水浴回流30 min,冷却至室温,转至25 ml量瓶中定容,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 标准曲线的制备 分别量取4、8、12、16、20、24 μl混合对照品溶液,注入液相色谱仪。以峰面积积分值(y)为纵坐标,进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得槲皮素、山奈素、异鼠李素的回归方程分别为 $y=6\times 10^{-7}x+1.8\times 10^{-3}$ ($r=0.9998$)、

$y=5 \times 10^{-7}x+4.3 \times 10^{-3}$ ($r=0.9999$)、 $y=6 \times 10^{-7}x+6.2 \times 10^{-3}$ ($r=0.9999$)。结果表明,槲皮素、山奈素、异鼠李素的进样量分别在 120.7~724.1、83.5~500.9、81.7~490.3 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。按照黄酮含量=(槲皮素含量+山奈素含量+异鼠李素含量) $\times 2.51$ 计算银杏叶中黄酮含量。

2.2 上样液的制备

取银杏叶标准提取物适量,先加入 70% 乙醇,超声(功率: 250 W, 频率: 40 kHz)溶解,再减压回收至无醇味,最后加水调整所需浓度,即得上样液。

2.3 阴离子树脂预处理

首先,将 D201 阴离子树脂置于其 2 倍体积的饱和食盐水中浸泡 24 h,放尽盐水,水漂洗净;其次,用 5% HCl 浸泡 6 h,放尽酸液,水洗至中性;最后,用 4% NaOH 溶液浸泡 6 h,放尽碱液,水洗至中性待用。

2.4 静态吸附平衡试验

依次称取 1.0 g D201 阴离子树脂置于 250 ml 锥形瓶中,分别加入不同浓度上样液,控温摇床中振荡至平衡状态,按“2.1”项下方法测定银杏叶黄酮平衡质量浓度(c_e , mg/ml)。根据公式计算平衡吸附量(q_e , mg/g): $q_e = v(c_0 - c_e)/m$ [式中, c_0 (mg/ml) 为溶液中吸附质初始质量浓度; v (ml) 为溶液体积; m (g) 为湿树脂质量]。

2.5 吸附等温线的绘制

依次称取 1.0 g 湿的 D201 阴离子树脂,置于 250 ml 锥形瓶中,再分别移取 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/ml 上样液适量。每一浓度分别在 293、303、313、323、333 K (1 K = -272.15 $^{\circ}\text{C}$) 下振荡 24 h 达平衡,分别按“2.1”项下方法测定银杏叶黄酮 c_e , 根据“2.4”项下公式计算 q_e , 并绘制吸附等温线。

2.6 吸附动力学试验

准确称取 1.0 g D201 阴离子树脂若干份,分别置 250 ml 锥形瓶中,加入相同体积、浓度的上样液,分别在 293、303、313 K (1 K = -272.15 $^{\circ}\text{C}$) 下恒温振荡,于不同时间点取样,按“2.1”项下方法测定,直至吸附达平衡。根据公式计算即时吸附量(q_t , mg/g): $q_t = v(c_0 - c_t)/m$ [式中, c_t (mg/ml) 为 t 时刻溶液中吸附质的质量浓度],并绘制吸附动力学曲线。

3 结果

3.1 静态吸附等温线^[3]

同一温度下,吸附量随浓度增加而变大,并逐渐趋于平缓;不同温度下,吸附量随温度增加而降低,表明 D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮为一放热过程。为了探讨 D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮的规律,分别用 Freundlich 方程与 Langmuir 方程对上述等温线进行拟合。D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮的吸附等温线见图 1。

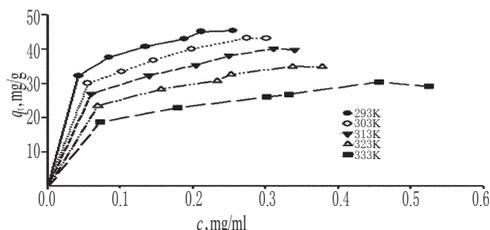


图1 D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮的吸附等温线

Fig 1 Equilibrium adsorption isotherms curves for flavonoids of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone

3.1.1 Freundlich 方程拟合 Freundlich 吸附等温方程形式为

$\ln q_e = \ln k + (1/n) \ln c_e$ (式中, k 和 n 是特征常数, 分别代表吸附容量和吸附强度)。根据吸附等温线, 得到不同温度下银杏叶黄酮在 D201 阴离子树脂上吸附的 Freundlich 等温吸附方程拟合结果(见表 1)。由表 1 可知, r 皆在 0.978 以上, 说明 D201 阴离子树脂吸附等温线均符合 Freundlich 方程; 在不同温度下, n 均 > 4 , 表明 D201 阴离子树脂对银杏叶黄酮吸附为“优惠吸附”。

表 1 Freundlich 等温吸附方程拟合结果

Tab 1 Adsorption equation of Freundlich isotherms

T, K	回归方程	k	n	r
293	$\ln q_e = 4.1031 + 0.1933 \ln c_e$	60.5276	5.1733	0.9902
303	$\ln q_e = 4.0547 + 0.2252 \ln c_e$	57.6679	4.4405	0.9914
313	$\ln q_e = 3.9601 + 0.2341 \ln c_e$	52.4626	4.2717	0.9911
323	$\ln q_e = 3.8102 + 0.2398 \ln c_e$	45.1595	4.1701	0.9884
333	$\ln q_e = 3.5691 + 0.2358 \ln c_e$	35.4846	4.1701	0.9785

3.1.2 Langmuir 方程拟合 Langmuir 吸附等温方程形式为 $c/q_e = c/q_m + 1/q_m k_L$ [式中, q_m (mg/ml) 为饱和吸附量; k_L (ml/mg) 为结合常数]。根据吸附等温线, 得到不同温度下银杏叶黄酮在 D201 阴离子树脂上吸附的 Langmuir 等温吸附方程拟合结果(见表 2)。由表 2 可知, r 皆在 0.99 以上, 说明 D201 阴离子树脂吸附等温线能够较好符合 Langmuir 方程, 随着体系温度增加, D201 阴离子树脂饱和吸附量逐步降低。

Freundlich 方程和 Langmuir 方程拟合度相对较高, 能够较好地反映 D201 阴离子树脂对银杏叶黄酮的吸附行为, 即两种方程均适用于银杏叶黄酮在 D201 阴离子树脂上的静态吸附。

表 2 Langmuir 等温吸附方程拟合结果

Tab 2 Adsorption equation of Langmuir isotherms

T, K	回归方程	q_m	k_L	r
293	$c/q_e = 0.0005 + 0.0198 c_e$	50.51	39.60	0.9982
303	$c/q_e = 0.0009 + 0.02 c_e$	50.00	22.22	0.9967
313	$c/q_e = 0.0011 + 0.0217 c_e$	46.08	19.73	0.9952
323	$c/q_e = 0.0014 + 0.0246 c_e$	40.65	17.57	0.9947
333	$c/q_e = 0.0021 + 0.0295 c_e$	33.90	14.05	0.9907

3.2 静态吸附动力学

吸附速率可体现固-液界面上吸附质的滞留时间, 能够控制影响静态吸附的外界因素, 保证 D201 阴离子树脂对银杏叶黄酮吸附的可重现性。将不同温度下吸附过程与动力学模型进行拟合, 可发现吸附剂吸附溶质的变化特征, 从而对后续吸附行为具有一定指导和预测作用。

3.2.1 动力学模型拟合^[4-5] 吸附初期, 吸附速率较大, 随着时间延长吸附速率逐渐减小, 8 h 后吸附过程基本趋于平衡(见图 2)。选用一级吸附速率方程、准二级动力学方程与二级动力学方程对吸附过程进行数学拟合。分别以 t 对 $\lg(q_e - q_t)$ 、 t/q_t 、 $1/(q_e - q_t)$ 作图, 得到一级吸附速率方程、准二级动力学方程与二级动力学方程, 结果见表 3。

由表 3 可知, 准二级动力学方程有着较好的线性相关性 ($r > 0.99$), 故用其模拟银杏叶黄酮在 D201 阴离子树脂上的吸附动力学规律, 所得理论值与试验值更为接近。由准二级动力学方程得到的吸附速率常数 (k_2), 随温度升高而减小, 说明该吸附过程放热, 同时为下一步继续研究 D201 阴离子树脂吸附量化规律提供一定理论依据。

3.2.2 表观吸附活化能 (E_a) 的测定^[6] E_a 可由 Arrhenius 方程 ($\ln k = \ln A - E_a/RT$)。式中, A 为指前因子; R 是气体常数; k 为准

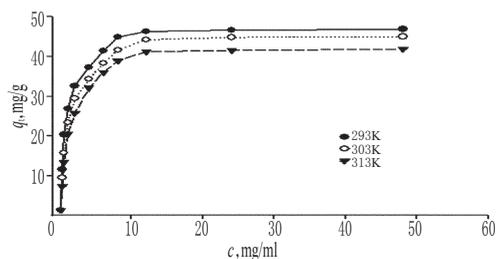


图2 银杏叶黄酮在D201阴离子树脂上的吸附动力学曲线
Fig 2 Adsorption kinetic curves of flavonoids of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone

表3 不同温度下动力学模型拟合结果

Tab 3 Kinetic model under different temperatures

模型名称	方程	T, K	动力学参数	
			k	r
一级动力学	$\lg(q_e - q_t) = \lg q_e - (k_t/2.303)t$	293	0.220 2	0.917 3
		303	0.225 2	0.953 6
		313	0.203 1	0.890 5
准二级动力学	$t/q_t = 1/k_2 q_e + t/q_e$	293	0.026 4	0.999 8
		303	0.021 1	0.999 7
		313	0.020 2	0.999 6
二级动力学	$1/(q_e - q_t) = 1/q_e + k_d t$	293	0.187 5	0.925 3
		303	0.210 4	0.882 3
		313	0.121 1	0.926 2

二级动力学吸附速率常数)求得。以 $\ln k_d$ 对 $1/T$ 作图得一直线,斜率为 1 242.3,结合 Arrhenius 方程求得 $E_a = -10.328 5$ kJ/mol。D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮时 $\lg k$ 与 $1/T$ 的关系见图3。

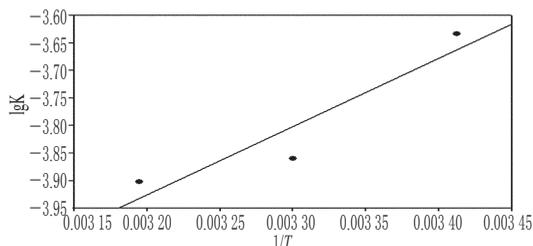


图3 D201 阴离子树脂吸附银杏叶黄酮时 $\lg k$ 与 $1/T$ 的关系
Fig 3 The relationship between $\lg k$ and $1/T$ of adsorption of D201 resin anion to ginkgo leaves flavone

3.2.3 吸附控制机制分析 离子交换过程中的吸附速率主要取决于液膜扩散、颗粒内扩散,其中扩散较慢者为吸附速率的控制步骤。采用液膜扩散公式 $(-\ln(1-F) = k_d t, F = q/q_e)$ 与颗粒内扩散公式 $(q_t = k_2 t^{1/2})$, 分别对吸附数据进行拟合(见表4)。由表4可知,液膜扩散拟合线性关系较好, r 均在 0.98 以上;颗粒内扩散的相关性相对较差,由此推测银杏叶黄酮在 D201 阴离子树脂上吸附的主控步骤为液膜扩散,同时受颗粒

内扩散影响。

表4 不同起始质量浓度下吸附控制机制分析结果

Tab 4 Results of adsorption control mechanism with initial concentrations

扩散模型	方程	起始质量浓度, mg/ml	动力学参数	
			k	r
液膜扩散	$[-\ln(1-F) = k_d t, F = q/q_e]$	0.6	0.414 7	0.987 8
		0.8	0.327 4	0.989 2
		1.0	0.264 2	0.983 4
颗粒内扩散	$q_t = k_2 t^{1/2}$	0.6	10.286 0	0.930 3
		0.8	10.964 0	0.902 0
		1.0	9.429 0	0.902 2

4 讨论

D201 阴离子树脂对银杏叶黄酮具有较好吸附作用,符合 Freundlich 方程与 Langmuir 方程,并表现为“优惠吸附”,低温下对吸附更为有利;吸附动力学符合表面过程控制的准二级吸附模型, E_a 为 $-10.328 5$ kJ/mol;液膜扩散是速率控制步骤之一,同时尚受颗粒内扩散影响。

离子树脂具有经济、安全、适合大生产等特点,所以具有较好的应用前景。银杏叶黄酮中成分种类较多,成分之间由于性质不同导致竞争结合位点,会给吸附带来一定负面影响。离子树脂用于纯化分离银杏叶黄酮,需要加强更多相关基础研究,为其在提高产品质量方面提供一定理论依据。

D201 阴离子树脂对银杏叶黄酮的静态吸附热力学、静态解吸条件以及动态吸附与解吸条件等研究,将择机另文发表。

参考文献

- [1] 肖海龙,高尔,胡晓丽.银杏叶总黄酮药理作用研究进展[J].中国药房,2005,16(12):947.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:392-393.
- [3] 李稳宏,唐璇,李新生,等.黄姜黄色素在大孔树脂上的吸附动力学研究[J].离子交换与吸附,2008,24(6):526.
- [4] 华英杰,王崇太,杨雪,等.D301R 树脂对 Keggin 型铁取代杂多阴离子的吸附性能研究[J].化学学报,2009,67(5):355.
- [5] 高峰,颜文斌,石美莲,等.D201 树脂吸附钒的静态性能及动力学研究[J].应用化工,2010,39(6):806.
- [6] 黄永龙,刘肃宁,王崇太,等.D301R 树脂对水溶液中罗丹明 B 的吸附动力学研究[J].海南师范大学学报:自然科学版,2010,23(3):283.

(收稿日期:2012-03-28 修回日期:2012-05-09)