

# 天麻中总多酚的大孔树脂纯化工艺优化<sup>Δ</sup>

蔺蓓蓓<sup>1\*</sup>, 郑红星<sup>1</sup>, 刘祥<sup>1</sup>, 周天华<sup>1</sup>, 胡红忠<sup>2</sup>, 陈琛<sup>1#</sup> (1. 陕西理工大学中德天然产物研究所/陕西省天麻山茱萸工程技术研究中心/陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000; 2. 陕西百圣生物工程有限公司, 陕西略阳 724300)

中图分类号 R284.2; R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)14-1965-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.14.19

**摘要** 目的: 建立天麻中总多酚的含量测定方法, 并对其大孔树脂的纯化工艺进行优化。方法: 采用福林酚比色法测定天麻中总多酚的含量。以吸附、解吸性能为考察指标, 采用静态吸附和解吸试验对4种大孔树脂进行筛选, 采用动态吸附和解吸试验对上样液流速、上样液质量浓度、洗脱溶剂体积分数、洗脱流速、洗脱液体积进行考察, 从而对其纯化工艺进行优化。结果: 没食子酸检测质量浓度的线性范围为4~32 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%; 加样回收率为95.51%~102.94% ( $RSD=2.54\%$ ,  $n=6$ )。D301型大孔树脂对天麻中总多酚的静态吸附和解吸能力相对较强; 最优纯化工艺为上样液流速2倍柱体积/h, 上样液质量浓度4 mg/mL, 洗脱溶剂(乙醇)体积分数70%, 洗脱流速3 BV/h, 洗脱溶剂体积5 BV。按最优纯化工艺优化后的天麻中总多酚含量为0.381 mg/g。结论: 所建含量测定方法灵敏度高、稳定性好; 优化的纯化工艺稳定、可行。

**关键词** 天麻; 总多酚; 大孔树脂; 福林酚比色法; 纯化工艺

## Optimization of Purification Technology of *Gastrodia elata* Total Polyphenols by Macroporous Resin

LIN Beibei<sup>1</sup>, ZHENG Hongxing<sup>1</sup>, LIU Xiang<sup>1</sup>, ZHOU Tianhua<sup>1</sup>, HU Hongzhong<sup>2</sup>, CHEN Chen<sup>1</sup> (1. Chinese-German Joint Institute for Natural Product Research, Shaanxi University of Technology/Shaanxi Provincial Engineering Research Center of *Gastrodia elata* and *Cornus officinalis*/College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 2. Shaanxi Baisheng Biological Engineering Co., Ltd, Shaanxi Lueyang 724300, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for content determination of total polyphenols from *Gastrodia elata*, and to optimize the purification technology of macroporous resin. METHODS: The content of total polyphenols from *G. elata* was determined by Folin-ciocailu colorimetry. Using the absorption and desorption performance as index, 4 kinds of macroporous

- [28] 王婷, 夏大胜, 何强, 等. 心绞痛患者血清内脂素水平变化与激活蛋白1、基质金属蛋白酶2的关系[J]. 山东医药, 2016, 56(5): 1-3.
- [29] SHIBUYA M. VEGF-VEGFR system as a target for suppressing inflammation and other diseases[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2015, 15(2): 135-144.
- [30] 蒋伏松, 成兴波, 李慧娟, 等. 血清视黄醇结合蛋白4与2型糖尿病颈动脉粥样硬化的关系[J]. 苏州大学学报(医学版), 2009, 29(3): 508-510, 517.
- [31] 王武祥, 贾永平, 郭贝贝, 等. 冠心病患者PCI术前后血清AFABP的变化及意义[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(8): 947-949.
- [32] 张可璇, 毛洪, 雅孟雪, 等. PI3K/AKT调节线粒体Cx43蛋白表达在H<sub>2</sub>S后处理离体大鼠心肌中的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 248-253.
- [33] KANG Y, HU M, ZHU Y, et al. Antioxidative effect of the herbal remedy Qin Huo Yi Hao and its active component tetramethylpyrazine on high glucosetreated endothelial cells[J]. *Life Sci*, 2009, 84(13/14): 428-436.
- [34] 戴国华, 宋宪波, 马培泽, 等. 微小RNA-223-3p通过调节Rps6kb1/HIF-α信号通路抑制缺血心肌微血管内皮细胞血管新生[J]. 中华心血管杂志, 2014, 42(12): 1039-1047.
- [35] 高洁, 陈运清. 缺氧诱导因子1和心血管疾病关系研究进展[J]. 现代医学卫生, 2016, 32(23): 3634-3637.
- [36] 陈松, 韩永丽, 吴松, 等. 针刺“内关”预处理对大鼠缺血再灌注心肌的保护作用及机制研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2017, 46(5): 526-530.
- [37] 张成哲, 蔡甜甜, 潘华峰, 等. 益气健脾方加减治疗巴马小型猪脾虚型冠心病的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(6): 2300-2304.

(收稿日期: 2019-02-28 修回日期: 2019-05-25)

(编辑: 段思怡)

Δ 基金项目: 国家高端外国专家项目(No. GDT20186100426); 国家教科文卫重点引智项目(No. W20166100045); 陕西省重点研发计划项目(No. 2017NY-070); 陕西理工大学教育厅专项项目(No. 18JK0156); 陕西省创新能力支撑计划项目(No. 2019XY-04)

\* 硕士研究生。研究方向: 天然产物化学。E-mail: 18142340208@163.com

# 通信作者: 副教授, 硕士生导师, 博士研究生。研究方向: 天然产物化学。电话: 0916-2641661。E-mail: cchen@snut.edu.cn

adsorption resins were selected by static adsorption and desorption tests. The flow rate and mass concentration of the sampling solution, volume fraction of eluent, eluent flow rate and eluent volume were investigated by dynamic adsorption and desorption tests. The purification technology of macroporous resin was optimized. RESULTS: The linear range of gallic acid was 4-32  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 9$ ). RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 2%. The recovery rate of the sample was 95.51%-102.94% (RSD=2.54%,  $n=6$ ). D301 macroporous resin had strong static adsorption and desorption ability from *G. elata* polyphenols. The optimal purification technology included that the sample solution flow rate 2 BV/h; the sample solution mass concentration 4 mg/mL; the elution solvent 70% ethanol; the elution flow rate was 3 BV/h, and the eluent volume 5 BV. The content of total polyphenols from *G. elata* optimized by the optimal purification technology was 0.381 mg/g. CONCLUSIONS: Established method is sensitive and stable. The optimized purification technology is stable and feasible.

**KEYWORDS** *Gastrodia elata*; Total polyphenols; Macroporous resin; Folin-ciocailu colorimetry; Purification technology

天麻(*Gastrodia elata* Bl.)又名赤箭、合离草、独摇芝等,为兰科天麻属多年生草本植物,属国家三级保护物种,主产于云南、四川、贵州等地,生长于林下阴湿、腐殖质较厚的土壤处<sup>[1]</sup>。天麻是一种名贵的中药材,其药用部位为块茎<sup>[2]</sup>,可用于治疗眩晕眼黑、头风头痛、肢体麻木、半身不遂、儿惊痫动风等病症<sup>[3]</sup>。天麻既为药用原料,又为食品原料,主要含有天麻素、对羟基苯甲醇以及多酚类等多种活性成分<sup>[4-5]</sup>。其中多酚类成分是植物在生长发育过程中的次生代谢产物<sup>[6]</sup>,具有抗氧化<sup>[7]</sup>、抗菌<sup>[8]</sup>、降血压<sup>[9]</sup>、抗衰老<sup>[10]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[6]</sup>等多种药理活性。目前研究报道的多酚类成分的提取方法很多,如超声波法<sup>[11]</sup>、微波萃取法<sup>[6]</sup>、溶剂法<sup>[12]</sup>和水浴浸提法<sup>[13]</sup>等,但由于该类成分通常含有较多杂质,因此需要进一步分离纯化。

大孔树脂具有吸附能力强、稳定性好、使用周期长、选择性好、成本低等优点,已广泛应用于多酚类等天然产物的分离纯化<sup>[14-17]</sup>。鉴于此,本研究以天麻中总多酚粗提物为原料,以没食子酸为对照,采用福林酚比色法测定了天麻中总多酚的含量;通过比较4种不同极性大孔树脂对天麻中总多酚的静态吸附力和解吸力,对大孔树脂种类进行筛选;通过动态吸附-解吸试验,对天麻中总多酚的分离纯化工艺进行优化,以期为进一步开发利用天麻中总多酚、提高其药用价值提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

722G型紫外-可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司);420R型冷冻离心机(北京四环科学仪器有限公司);AL204型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];RV10型旋转蒸发器(德国IKA公司);FW135/177型中草药粉碎机(上海台杏贸易有限公司);YB-IA型真空恒温干燥箱(天津市拓普仪器有限公司);HHS-4S型电子恒温不锈钢水浴锅(上海宜昌仪器纱筛厂);MAS-I型微波提取仪(杭州宝赛生物科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

没食子酸对照品(北京索莱宝科技有限公司,批号:G8720,纯度: $\geq 98\%$ );D101型大孔树脂(安徽三星树脂

科技有限公司,批号:MB2539);AB-8型大孔树脂(批号:B0692)、ADS-7型大孔树脂(批号:KS34087)、D301型大孔树脂(批号:JD-63428)均购自天津波鸿树脂科技有限公司;福林酚试剂(合肥博美生物科技有限责任公司,批号:BBM0548);其他试剂均为分析纯,水为蒸馏水。4种型号大孔树脂物理参数详见表1。

表1 4种型号大孔树脂物理参数

Tab 1 Physical parameters of 4 macroporous resins

型号	外观特征	极性	比表面积, $\text{m}^2/\text{g}$	含水量,%	粒径范围,mm
AB-8型	乳白色半透明球颗粒	弱极性	$\geq 480$	50~66	0.3~1.25
ADS-7型	乳白色半透明球颗粒	强极性	$\geq 450$	70~75	0.3~1.25
D101型	白色半透明球颗粒	非极性	$\geq 550$	50~66	0.3~1.25
D301型	浅黄色半透明球颗粒	中极性	$\geq 550$	48~58	0.3~1.25

## 1.3 药材

天麻药材采集于陕西省略阳县,经陕西理工大学生物科学与工程学院王勇教授鉴定为兰科天麻属植物天麻(*Gastrodia elata* Bl.)的根茎。天麻药材经蒸煮后于45  $^{\circ}\text{C}$ 烘干,粉碎后过60目筛,备用。

## 2 方法与结果

### 2.1 天麻中总多酚含量的测定

采用福林酚比色法测定天麻中总多酚的含量<sup>[18]</sup>。

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品25 mg,置于250 mL量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,制成质量浓度为0.1 mg/mL的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取药材样品粉末200 g,加80%乙醇3 000 mL,置于微波提取仪(温度:60  $^{\circ}\text{C}$ ,频率:600 Hz)提取10 min,浓缩并干燥,得浸膏。取浸膏20 mg,置于10 mL量瓶中,加水溶解并定容,即得。

2.1.3 线性关系考察 取“2.1.1”项下对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL,分别置于25 mL量瓶中,加水5 mL、福林酚试剂1.5 mL、10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液3 mL,再加水稀释至刻度,于30  $^{\circ}\text{C}$ 水浴放置30 min后,取出,摇匀,于760 nm波长处测定吸光度,以水作为空白对照。以没食子酸质量浓度( $x, \mu\text{g/mL}$ )为横坐标、吸光度( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得没食子酸回归方程为 $y=0.047\ 4x-0.079\ 8$ ( $r=0.999\ 9$ ),表明没食子酸检测质量浓度的线性范围为4~32  $\mu\text{g/mL}$ 。

2.1.4 精密度试验 取“2.1.1”项下对照品溶液适量,于760 nm波长处连续测定6次。结果,吸光度的RSD为0.98% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0、30、60、90、120、150 min时于760 nm波长处测定吸光度。结果,吸光度的RSD为0.98% ( $n=6$ ),表明供试品溶液于室温下放置150 min内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 取样品适量,共6份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,于760 nm波长处测定吸光度并按标准曲线法计算天麻中总多酚的含量。结果,天麻中总多酚的平均含量为0.257 mg/g, RSD为1.21% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 取已知含量的样品粉末,共6份,分别加入0.1 mg/mL对照品溶液10  $\mu$ L,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,于760 nm波长处测定吸光度并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果 ( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests ( $n=6$ )

样品已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.255	0.010	0.264 811	98.11	98.30	2.54
0.262	0.010	0.272 294	102.94		
0.256	0.010	0.265 699	96.99		
0.253	0.010	0.262 886	98.86		
0.260	0.010	0.269 741	97.41		
0.257	0.010	0.266 551	95.51		

2.1.8 样品含量测定 取样品粉末,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下方法显色后于760 nm波长处测定吸光度,按标准曲线法计算天麻中总多酚的含量,平行操作3次。结果,天麻中总多酚的含量为0.250~0.258 mg/g。

## 2.2 大孔树脂纯化工艺的优化

2.2.1 大孔树脂的预处理 取4种型号大孔树脂各50 g,以水浸洗,然后用无水乙醇浸泡过夜。再以水浸泡清洗至无醇味(大约5倍树脂),然后用5%盐酸溶液浸泡(2倍大孔树脂体积)2 h,接着以水浸泡清洗至中性。最后用5%氢氧化钠溶液浸泡(2倍大孔树脂体积)2 h,然后以水浸泡清洗至中性<sup>[19]</sup>,于4  $^{\circ}$ C保存,备用。

2.2.2 静态吸附率和静态解吸率的测定 ①分别称取“2.2.1”项下经预处理的4种型号大孔树脂各2 g,各3份分别置于具塞锥形瓶中,加“2.1.2”项下供试品溶液100 mL,于28  $^{\circ}$ C下以100 r/min振荡24 h,使树脂充分吸附后滤过;滤液按“2.1.3”项下方法显色后于760 nm波长处测定吸光度并计算4种型号大孔树脂的静态吸附量、静态吸附率。②用滤纸吸干充分吸附后的大孔树脂的表面滤液,置于干燥的具塞锥形瓶中,加80%乙醇50 mL,于28  $^{\circ}$ C下以100 r/min振荡12 h使其充分解吸,解吸液滤过,滤液按“2.1.3”项下方法显色后于760 nm波长处测定吸光度并计算4种型号大孔树脂的静态解吸量、静态

解吸率。静态吸附量=(吸附前天麻中总多酚质量浓度-吸附后天麻中总多酚质量浓度) $\times$ 上样液体积/干树脂质量。静态吸附率=[(吸附前天麻中总多酚质量浓度-吸附后天麻中总多酚质量浓度)/吸附前天麻中总多酚质量浓度] $\times$ 100%。静态解吸量=洗脱液中样品质量浓度 $\times$ 洗脱液体积/干树脂质量。静态解吸率=[洗脱液中样品质量浓度 $\times$ 洗脱液体积/(吸附前天麻中总多酚质量浓度-吸附后天麻中总多酚质量浓度)] $\times$ 上样液体积 $\times$ 100%。4种型号大孔树脂的静态吸附及静态解吸结果见表3、图1。

表3 4种型号大孔树脂的静态吸附及静态解吸结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 3 Results of static adsorption-desorption of four macroporous resins ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

型号	静态吸附量,mg/g	静态吸附率,%	静态解吸量,mg/g	静态解吸率,%
AB-8型	0.036 $\pm$ 0.001	36.00 $\pm$ 1.32	0.017 $\pm$ 0.006	86.07 $\pm$ 0.80
ADS-7型	0.055 $\pm$ 0.001	56.50 $\pm$ 0.87	0.030 $\pm$ 0.002	45.97 $\pm$ 1.11
D101型	0.034 $\pm$ 0.002	33.50 $\pm$ 1.50	0.011 $\pm$ 0.001	75.10 $\pm$ 1.18
D301型	0.057 $\pm$ 0.002	54.70 $\pm$ 1.66	0.035 $\pm$ 0.002	69.97 $\pm$ 1.80

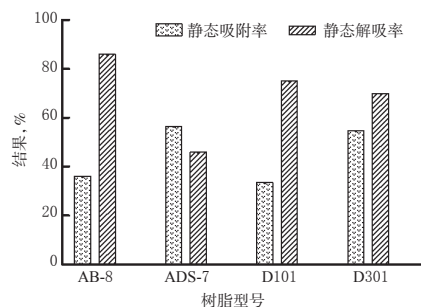


图1 4种型号大孔树脂的静态吸附及静态解吸结果柱状图

Fig 1 Static adsorption and desorption column diagram of four macroporous resins

由表3、图1可知,ADS-7型大孔树脂的静态吸附率较高,而静态解吸率最低;AB-8、D101型大孔树脂的静态解吸率较高,而静态吸附率较低;D301型大孔树脂的静态吸附率和解吸率均较高。综合考虑,选择D301型大孔树脂进行进一步考察。

2.2.3 动态吸附性能考察 ①上样液流速考察:取“2.2.1”项下经预处理的D301型大孔树脂15 g湿法装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3倍柱体积(BV)(质量浓度4 mg/mL,以天麻中总多酚质量计,下同),各3份,以流速2、3、4 BV/h进行吸附试验,收集流出液;静置2 h后以100 r/min振摇10 h,充分吸附后,按“2.1.3”项下方法显色并于760 nm波长处测定吸光度,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表4。

由表4可见,随着上样液流速的加快,动态吸附量、动态吸附率均逐渐下降;当上样液流速为2 BV/h时,动态吸附量、动态吸附率均为最高。可能与上样液流速过快导致上样液在层析柱中停留的时间较短,不能与树脂

充分接触,导致树脂吸附效果不明显<sup>[20-21]</sup>有关。为减少实际生产成本,本研究选择上样液流速为2 BV/h。

表4 不同上样液流速比较( $n=3$ )

Fig 4 Comparison of different flow rate of sampling solution ( $n=3$ )

上样液流速, BV/h	动态吸附量( $\bar{x} \pm s$ ), mg/g	动态吸附率, %
2	0.095 ± 0.002	48.25
3	0.075 ± 0.004	38.30
4	0.067 ± 0.006	34.20

②上样液质量浓度考察:取“2.2.1”项下经预处理的D301型大孔树脂15 g湿法装柱,另取按“2.1.2”项下方法制备的质量浓度分别为1、2、3、4、5 mg/mL的供试品溶液,各3份,以上样液流速2 BV/h、上样量3 BV进行吸附试验,收集流出液;静置2 h后以100 r/min振摇10 h,充分吸附后,按“2.1.3”项下方法显色并于760 nm波长处测定吸光度,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表5。

表5 不同上样液质量浓度比较( $n=3$ )

Fig 5 Comparison of different mass concentration of sampling solution ( $n=3$ )

上样液质量浓度, mg/mL	动态吸附量( $\bar{x} \pm s$ ), mg/g	动态吸附率, %
1	0.039 ± 0.003	35.23
2	0.048 ± 0.002	36.89
3	0.075 ± 0.003	44.98
4	0.107 ± 0.004	51.21
5	0.101 ± 0.008	47.11

由表5可见,随着上样液质量浓度的增加,动态吸附量、动态吸附率均呈先增加后降低的趋势;当上样液质量浓度为4 mg/mL时,动态吸附量、动态吸附率均最高。其原因可能为上样液质量浓度过大,纯化时间较长,树脂不能将天麻中总多酚完全吸收,从而导致吸附能力降低。故本研究选择上样液质量浓度为4 mg/mL。

2.2.4 动态解吸性能考察 ①洗脱溶剂体积分数考察:取“2.2.1”项下经预处理的D301型大孔树脂15 g湿法装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV,各4份,以上样液流速2 BV/h,上样液质量浓度4 mg/mL进行吸附试验,收集流出液。静置2 h后,分别用50%、60%、70%、80%、90%乙醇以5 BV进行洗脱,流速为3 BV/h,收集流出液,按“2.1.3”项下方法显色后,于760 nm波长处测定吸光度并参照“2.2.2”项下公式计算动态解吸量和动态解吸率,结果见表6。

表6 不同洗脱溶剂体积分数比较( $n=3$ )

Tab 6 Comparison of different volume fraction of eluent ( $n=3$ )

洗脱溶剂体积分数, %	动态解吸量( $\bar{x} \pm s$ ), mg/g	动态解吸率, %
50	0.071 ± 0.001	70.02
60	0.078 ± 0.002	82.00
70	0.081 ± 0.002	84.88
80	0.079 ± 0.000	83.06
90	0.076 ± 0.001	80.00

由表6可见,随着乙醇体积分数的增加,动态解吸量、动态解吸率均呈先增加后降低的趋势;当乙醇体积分数为70%时,动态解吸量、动态解吸率均最高。其原因可能为70%乙醇更有利于天麻中总多酚的溶解,增加乙醇体积分数可能会影响天麻中总多酚和大孔树脂之间的相互作用<sup>[22]</sup>。故本研究选择洗脱溶剂为70%乙醇。

②洗脱流速考察:取“2.2.1”项下经预处理的D301型大孔树脂15 g湿法装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV,以上样液流速2 BV/h,上样液质量浓度4 mg/mL进行吸附试验,收集流出液。静置2 h后,用70%乙醇以5 BV进行洗脱,洗脱流速分别为2、2.5、3、3.5、4、4.5 BV/h,收集流出液,按“2.1.3”项下方法显色后,于760 nm波长处测定吸光度并参照“2.2.2”项下公式计算动态解吸量和动态解吸率,结果见表7。

表7 不同洗脱流速比较( $n=3$ )

Tab 7 Comparison of different flow rates of eluent ( $n=3$ )

洗脱流速, BV/h	动态解吸量( $\bar{x} \pm s$ ), mg/g	动态解吸率, %
2	0.082 ± 0.002	85.00
2.5	0.083 ± 0.001	86.88
3	0.086 ± 0.001	89.50
3.5	0.082 ± 0.001	84.23
4	0.075 ± 0.001	78.55
4.5	0.067 ± 0.002	70.56

由表7可见,随着洗脱流速的增加,动态解吸量、动态解吸率均呈先增加后降低的趋势;当洗脱流速为3 BV/h时,动态解吸量、动态解吸率均为最高。其原因可能为解吸液通过层析柱速度过快,使解吸液不能与树脂充分接触,从而影响解吸液对天麻中总多酚的溶解。故本研究选择洗脱流速为3 BV/h。

③洗脱溶剂体积考察:取“2.2.1”项下经预处理的D301型大孔树脂15 g湿法装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV,以上样液流速2 BV/h,上样液质量浓度4 mg/mL进行吸附试验,收集流出液。静置2 h后,用70%乙醇以洗脱流速3 BV/h进行洗脱试验,洗脱溶剂分别为3、4、5、6、7、8 BV,收集流出液,按“2.1.3”项下方法显色后,于760 nm波长处测定吸光度并参照“2.2.2”项下公式计算动态解吸量和动态解吸率,结果见表8。

表8 不同洗脱溶剂体积比较( $n=3$ )

Tab 8 Comparison of different volume of eluent ( $n=3$ )

洗脱溶剂体积, BV	动态解吸量( $\bar{x} \pm s$ ), mg/g	动态解吸率, %
3	0.069 ± 0.001	72.01
4	0.103 ± 0.002	81.80
5	0.147 ± 0.003	92.33
6	0.127 ± 0.001	90.21
7	0.109 ± 0.004	85.26
8	0.098 ± 0.003	80.28

由表8可见,随着洗脱溶剂体积的增加,动态解吸量、动态解吸率均呈先增加后降低的趋势;当洗脱溶剂体积为5 BV时,动态解吸量、动态解吸率均最高。其原因

因可能为随着洗脱溶剂体积的增加,天麻中总多酚被充分洗脱,此时再增加洗脱溶剂体积,解吸能力下降,在实际生产中可能会增加生产成本<sup>[23]</sup>。故本研究选择洗脱液体积为5 BV。

综合上述试验结果,最优纯化工艺为上样液流速2 BV/h、上样液质量浓度4 mg/mL、洗脱溶剂(乙醇)体积分数70%、洗脱流速3 BV/h、洗脱溶剂体积5 BV。经验证,此时天麻中总多酚平均含量为0.381 mg/g( $n=3$ )。

### 3 讨论

大孔树脂是一类不含交换基团且带有孔状结构的高分子吸附树脂,是具有浓缩、分离作用的高分子聚合物,已广泛应用于多酚、多糖和生物碱等天然产物的分离、纯化,目前采用大孔树脂纯化的有龙岗总多酚<sup>[24]</sup>、生姜多酚<sup>[15]</sup>、刺山柑总酚酸<sup>[25]</sup>、山葡萄籽多酚<sup>[26]</sup>等,这都提示了大孔树脂精制植食性植物多酚类有效成分的可行性。

本研究采用福林酚比色法测定了天麻中总多酚的含量,该方法灵敏度高、稳定性好。天麻中总多酚在D301型中极性大孔树脂中的吸附和解吸能力相对较好,最优纯化工艺为上样液流速2 BV/h、上样液质量浓度4 mg/mL、洗脱溶剂(乙醇)体积分数70%、洗脱流速3 BV/h、洗脱溶剂体积5 BV。纯化后天麻中总多酚的解吸率为69.97%,天麻中总多酚含量为0.381 mg/g。

综上所述,本研究所建含量测定方法灵敏度高、稳定性好;优化的纯化工艺稳定、可行。

### 参考文献

[1] 于雪,胡文忠,姜爱丽,等.天麻的活性成分及功能性研究进展[J].食品工业科技,2016,37(8):392-395,399.

[2] CHEN PJ, SHEEN LY. Gastrodia Rhizoma(tiān má): a review of biological activity and antidepressant mechanisms[J]. *J Tradit Complement Med*, 2011, 1(1): 31-40.

[3] MATIAS M, SILVESTRE S, FALCÃO A, et al. Gastrodia elata and epilepsy: rationale and therapeutic potential[J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(12): 1511-1526.

[4] YANG XD, ZHU J, YANG R, et al. Phenolic constituents from the rhizomes of *Gastrodia elata*[J]. *Nat Pro Res*, 2007, 21(2): 180-186.

[5] 陈琛,蔺蓓蓓,徐尤美,等.天麻水提物活性成分分析及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2019,40(5):17-22.

[6] 袁莹,李乐,陈静霞,等.多酚类化合物的提取及功效研究进展[J].粮食与油脂,2018,31(7):15-17.

[7] DEHKORDI NV, KACHOUIE MA, PIRBALOUTI AG, et al. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of the extract of *ephedra procera fisch. et meyer* [J]. *Acta Pol Pharm*, 2015, 72(2): 341-345.

[8] XIE Y, CHEN J, XIAO A, et al. Antibacterial activity of polyphenols: structure-activity relationship and influence of hyperglycemic condition[J]. *Molecules*, 2017. DOI: 10.3390/molecules22111913.

[9] HÜGEL HM, JACKSON N, MAY B, et al. Polyphenol protection and treatment of hypertension[J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(2): 220-231.

[10] TUNDIS R, LOIZZO MR, BONESI M, et al. Potential role of natural compounds against skin aging[J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(12): 1515-1538.

[11] 孙海燕.天麻多酚的超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品与机械,2016,32(10):158-163.

[12] KAMMERER J, KAMMERER DR, CARLE R. Impact of saccharides and amino acids on the interaction of apple polyphenols with ion exchange and adsorbent resins[J]. *J Food Eng*, 2010, 98(2): 230-239.

[13] 朱素英.基于响应曲面法优化天麻多酚的提取工艺[J].食品工业科技,2015,36(1):268-271.

[14] 张迪,廖剑华,王宏雨.大孔树脂柱吸附纯化双孢蘑菇多糖的工艺[J].福建农业学报,2017,32(2):175.

[15] 刘军伟,李啸晨,侯婴惠,等.大孔树脂纯化生姜多酚的研究[J].食品研究与开发,2017,38(17):35-38.

[16] 顾曼琦,郑奎玲,卫钢,等.利用大孔树脂吸附纯化头花蓼总多酚工艺的研究[J].食品与机械,2016,31(11):163-166.

[17] 甘芝霖,倪元颖,郭悦,等.大孔树脂分离纯化玫瑰果多酚及其抗氧化性[J].农业工程学报,2015,31(24):298-304.

[18] 熊汝琴,王锐,袁晓春,等. Folin-Ciocalteu 比色法测定昭通四种天麻变型总酚含量[J].广东化工,2014,41(7): 204-205.

[19] 王静,雷宏杰,岳珍珍,等.大孔树脂对红枣汁中棒曲霉素的吸附动力学[J].农业工程学报,2015,31(23):285.

[20] JIA DD, LI SF, GU ZP. Preparative isolation of flavonoids from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by macroporous resin adsorption[J]. *J Food Process Eng*, 2011, 34(4): 1319-1337.

[21] 李斌,高凝轩,刘辉,等.大孔树脂纯化黑果腺肋花楸多酚的工艺优化[J].食品科学,2016,37(16):69.

[22] 陈琛,李鑫鑫,魏唯,等.大孔树脂纯化天麻多糖的工艺研究[J].四川大学学报(自然科学版),2018,55(5): 1109-1115.

[23] 姜晓晶,李波,陆婷婷,等.大孔树脂纯化铁皮石斛叶中总黄酮的研究[J].中国现代应用药学,2019,36(11): 1338-1342.

[24] 丁扬洲,冯少斌,崔倩,等.大孔树脂纯化过岗龙总多酚的工艺研究[J].时珍国医国药,2017,28(9):2103-2105.

[25] 甘永祥,陈文,张华,等. D-301大孔树脂富集刺山柑总酚酸工艺研究[J].石河子大学学报(自然科学版),2009,27(5):630-632.

[26] 季红,贾荣,郭鑫.大孔树脂对山葡萄籽多酚提取物的纯化工艺优选[J].吉林大学学报(医学版),2017,43(6): 1272-1276.

(收稿日期:2019-01-17 修回日期:2019-05-16)

(编辑:陈宏)