

水-乙醇-硫酸铵体系及在分离提取天然产物中的应用

李安林 杜慧 张换平 (安阳工学院化工系, 河南安阳455000)

摘要 水-乙醇-硫酸铵构成的双水相体系, 具有不使用有毒有机溶剂、萃取条件温和的特点。使用测定上下相电导和折光的方法, 测定了分相前乙醇含量为30%和40%的溶液分相后上下相的组成; 上下相的组成和硫酸铵的加入量有关。分相前乙醇含量为40%的溶液, 分相后上相的乙醇含量可达55%, 同时上相中仍含约0.03 g/ml的硫酸铵; 下相乙醇含量在10%左右, 硫酸铵的含量约为0.45 g/ml。

关键词 双水相; 分离; 提取; 天然产物

中图分类号 O652.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)12-03563-02

(NH₄)₂SO₄-C₂H₅OH-H₂O System and the Extraction of Natural Product

Li Anlin et al (Department of Chemical Engineering, Anyang Institute of Engineering, Anyang, Henan 455000)

Abstract The (NH₄)₂SO₄-C₂H₅OH-H₂O aqueous two-phase system has no harmful organic solvents and its separation condition is mild. The composition could be determined with the electric conductance and refractive index method after demixed in the solutions including 30% ethanol or 40% ethanol into two phases. The up-phase contained approximately 55% ethanol and 0.03 g/ml ammonium sulfate was still remained, while the down-phase contained approximately 10% ethanol and 0.45 g/ml ammonium sulfate.

Key words Aqueous two-phase system; Isolation; Extraction; Natural product

乙醇或丙醇等有机溶剂和水的混合溶液, 加入硫酸铵、氯化钠等离子化合物后, 由于盐析作用, 在水、乙醇和硫酸铵三者比例合适的条件下, 会产生分相现象, 这种现象可用于提取分离。这是和水-PEG-无机盐体系^[1]相仿但又有区别的双水相体系。水-乙醇-硫酸铵体系用于分析性分离的报道较多, 如李全民等用此体系分离钼^[2], 王志华等用此体系分离测定了铜、铬^[3-4]; 笔者也曾用此体系从 Mn()、Fe() 等离子中分离了铋^[5]。对于此体系的分离基础, 王志华等研究了乙醇、异丙醇和丙酮在硫酸铵、氯化钠等多种无机盐作用下分相的情况^[6]; 董军芳等用浊度法初步研究了这类体系的相平衡问题^[7]; 翟全国等在水-乙醇-硫酸铵体系中观察到了5个相区^[8]。分相前乙醇含量在35%~50%, 加入硫酸铵后分相, 是常用的典型分离条件。分相的条件和分相后上下相中水-乙醇-硫酸铵各组分的含量, 是该体系的重要基础数据, 测定它对于分离的应用具有指导意义。为了将水-乙醇-硫酸铵体系用于天然产物的制备性分离, 笔者测定了含有不同比例乙醇的溶液分相时硫酸铵的用量, 并根据不分相时已知组成的水-乙醇-硫酸铵的电导和折光数据, 求出了分相后上下相中水-乙醇-硫酸铵各组分的含量。在此基础上, 尝试将该体系应用于番茄红素、迎春花黄色素和桔皮黄色素等天然产物的分离过程, 取得了较好的效果(图1)。

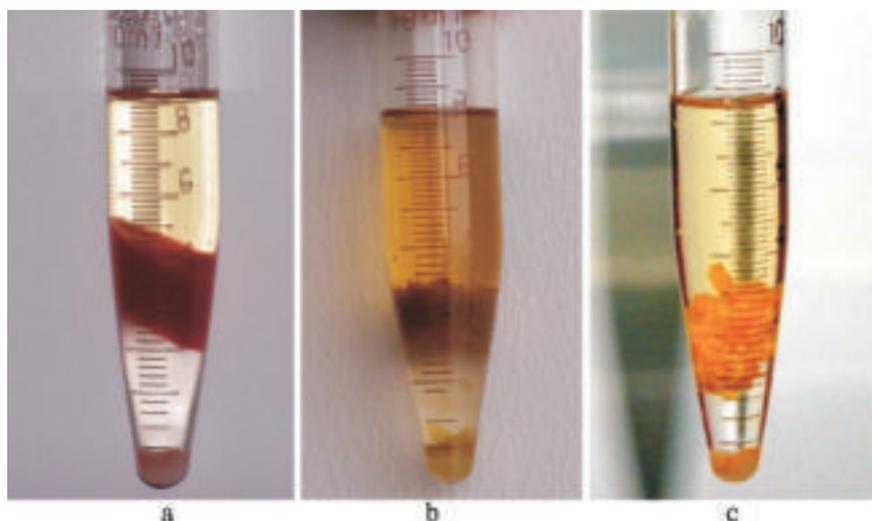


图1 番茄红素(a)、迎春花黄色素(b)和桔皮黄色素(c)的分离

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂 DDS-11A 电导率仪、ZWA-阿贝折光仪、SYG-15 恒温槽(控温精度0.1℃); DS-1 型高速组织捣碎机; 硫酸铵、乙醇(分析纯, 北京化工厂); 番茄(安阳地产); 迎春花(安阳工学院德馨园内); 桔皮(湖南蜜桔); 二次蒸馏水(电导率 5 μS/cm)。

1.2 方法 移取不同比例(V/V)的水-乙醇溶液于刻度试管中, 定量加入硫酸铵, 加塞, 振摇5 min, 在恒温槽中于25℃下恒温15 min; 记录分相后的各相体积数据; 分别移取上下相溶液, 在恒温下分别测定上下相的折光; 稀释100倍后测定电导率。根据不分相时已知组成的水-乙醇-硫酸铵的电导和折光数据, 用回归插值计算程序, 求出上下相的组成。

2 结果与分析

2.1 分相情况 乙醇/水(V/V)在15%以下和55%以上时, 不会分相。在18%~50%时, 硫酸铵加入到一定量时, 会使溶液分成两相。根据乙醇的含量, 把乙醇含量从0~100%分成3个区域, 18%~50%为分相区, 两端为不分相区。

2.2 分相区电导率与硫酸铵浓度的关系 所测电导率与硫酸铵的含量相关, 与乙醇含量无关。根据图2, 可由电导率确定硫酸铵的含量。在低浓度时, 曲线略有弯曲, 使用图2确定溶液中硫酸铵含量时, 采用了分段拟合的办法, 以改善结果。

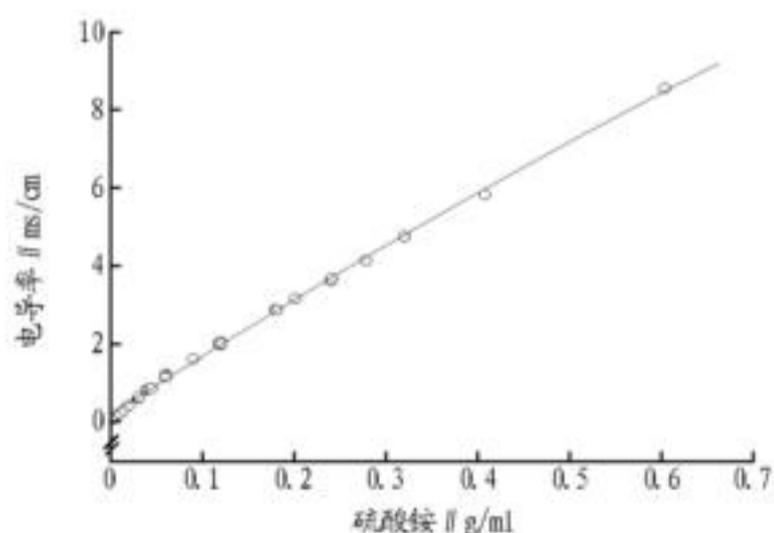


图2 电导率与硫酸铵浓度的关系

2.3 分相区乙醇含量与硫酸铵浓度、折光的关系 在不使乙醇-水溶液分相的硫酸铵浓度下, 测定了乙醇含量(V/V)等于18%、25%、37.5%、50%时溶液的折光率(图3)。

作者简介 李安林(1955-), 男, 河南林州人, 副教授, 从事应用化学的教学工作。

收稿日期 2007-01-11

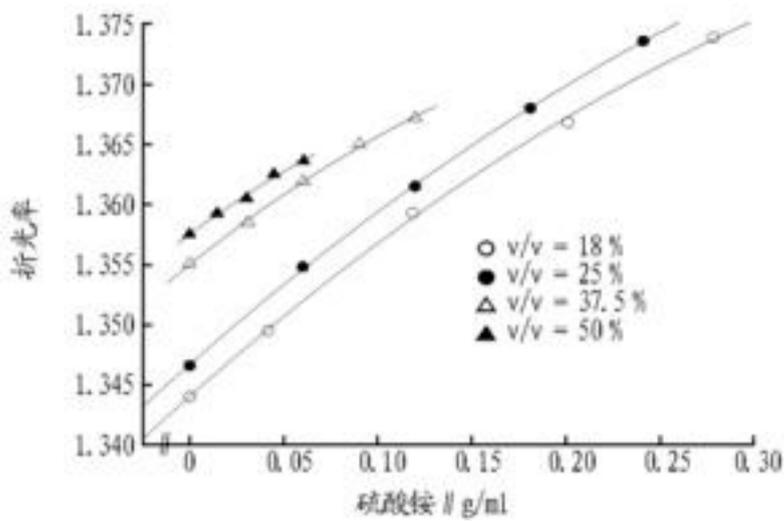


图3 乙醇含量固定时硫酸铵浓度与折光率的关系

2.4 不分相区乙醇含量与电导率和折光率的关系 在硫酸铵饱和条件下,测定乙醇含量与电导、折光的关系(图4、5)。

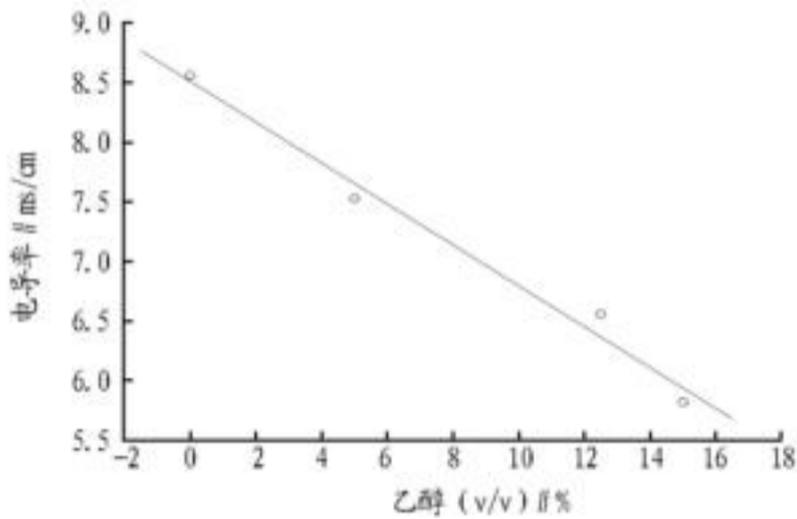


图4 乙醇含量和电导率的关系(乙醇含量<15%)

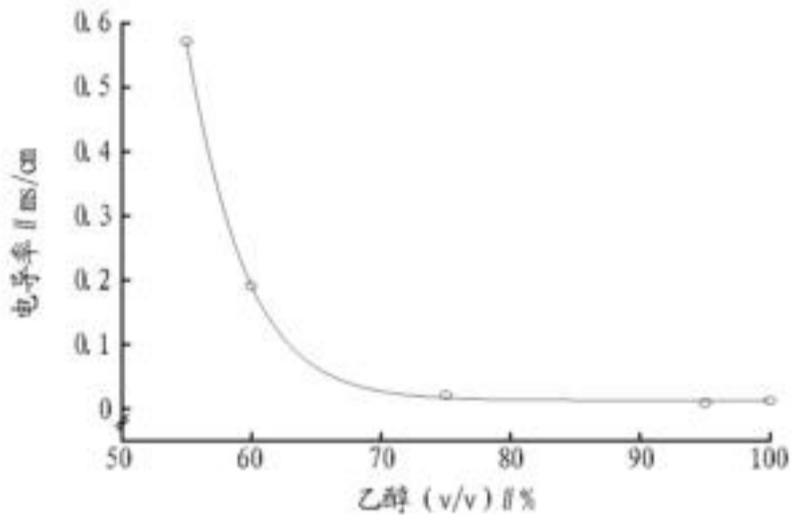
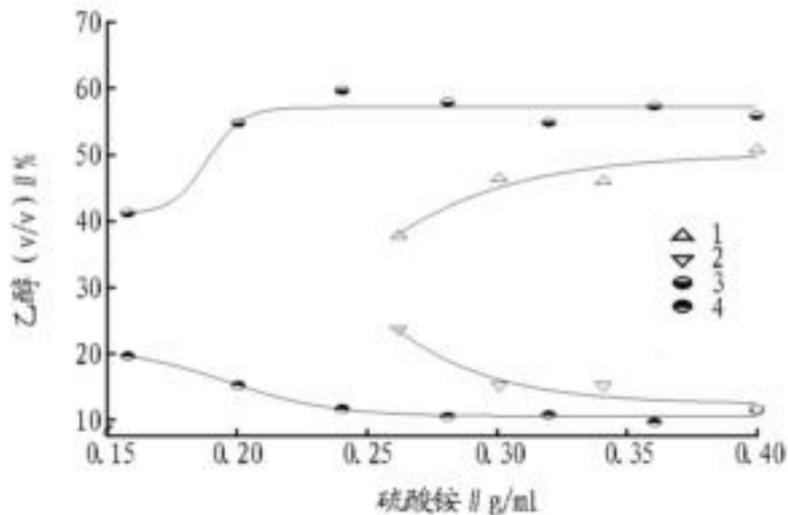


图5 乙醇含量和电导率的关系(乙醇含量>55%)



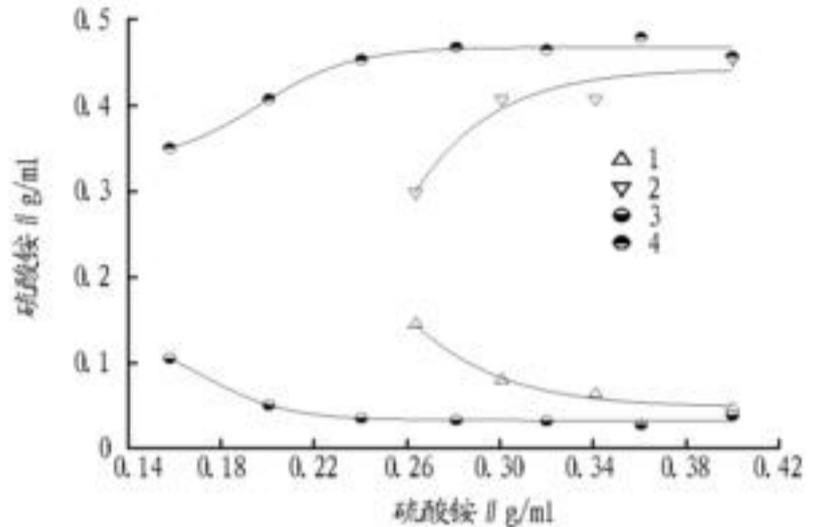
注:1,2 为分相前乙醇含量为30%时,分相后上下相的乙醇含量;3,4 为分相前乙醇含量为40%时,分相后上下相的乙醇含量。

图6 上下相乙醇含量与硫酸铵加入量的关系

2.5 分相时上下相的组成 测定了乙醇含量为30%、40%时的上下相组成(图6、7),结果表明,当原溶液乙醇含量固定

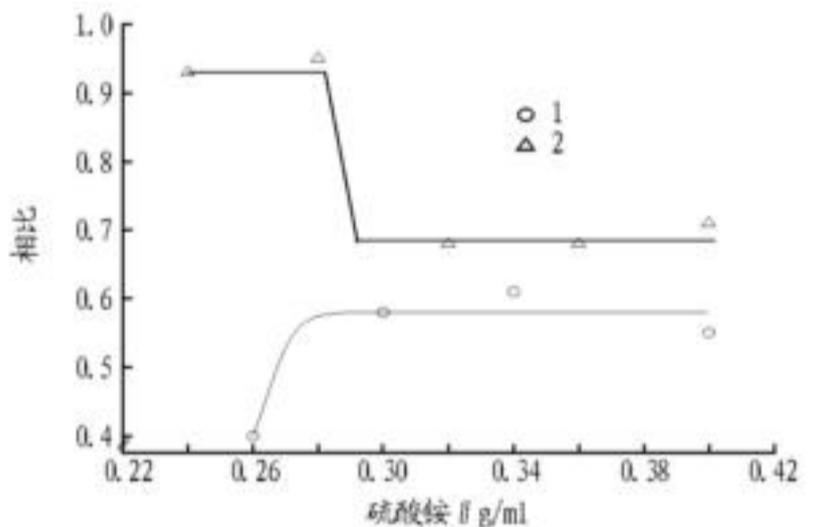
时,随着加入的硫酸铵含量的增加,分相后上相中乙醇的含量增加,下相中乙醇含量减少。原溶液乙醇含量较高时,加入较少的硫酸铵,上相中就能达到较高的乙醇含量。这一结果也说明,即使在原溶液中加入较多的硫酸铵,上相中仍然含有较多水和相当数量的硫酸铵。在进行萃取时,上相的性质不是纯有机相的性质。随着原溶液中硫酸铵含量的增加,上下相的相比也随之变化(图8)。

综合上述结果,可认为,分相前乙醇含量在40%左右,硫酸铵加入量1~3 g/10 ml,是一个比较合理的分离体系。



注:1,2 为分相前乙醇含量为30%时,分相后上下相的硫酸铵含量;3,4 为分相前乙醇含量为40%时,分相后上下相的硫酸铵含量。

图7 上下相硫酸铵含量与硫酸铵加入量的关系



注:1 为分相前乙醇含量30%;2 为分相前乙醇含量40%。

图8 相比和硫酸铵加入量的关系

3 水-乙醇-硫酸铵体系在天然产物分离提取中的应用

将水-乙醇-硫酸铵体系用于番茄红素、迎春花黄色素和桔皮黄色素的分离过程,得到了较好的结果(图1)。分离提取时,用高速组织粉碎机将原料粉碎,加入乙醇、水和硫酸铵,震荡10~15 min后离心。多次处理后,原料已接近白色,可知色素的提取已相当完全。该体系由于不使用氯仿、苯、丙酮等有机溶剂,不产生溶剂污染,实现清洁生产。由于番茄、迎春花和桔皮等原料含有不溶的生物物质,分离过程均形成三相。根据被分离对象性质的不同,被分离对象可能处于不同的相中。试验结果表明,使用该方法进行分离处理后,后续处理过程快速、简便,这可能是该体系对生物物质产生了脱水等作用,这一点有待进一步研究。

参考文献

[1] 吕斌,陈有容,陈舜胜.双水相萃取技术及其在生物、食品工业中的应用[J].食品与发酵工业,2001,27(6):70-74.

(上接第3619页)

4种处理的刺槐生长均表现出“慢—快—慢”、“S”形年周期生长规律,即4~6月生长缓慢,7月生长逐渐加快,在7月底8月初生长最快,8月底开始生长减慢以至后来停止生长。各处理的生长量大小为: $T_2 > T_1 > T_3 > CK$;在生长初期刺槐生长速率变化波动较大,各处理差异不明显,但是随着生长节律的加快,生长速率逐渐表现为 $T_1 > T_2 > T_3 > CK$ 的趋势。分析其原因,在生长初期生长速度主要由刺槐本身的生理特性决定,但是经过一段时间的生长后,刺槐生长主要由土壤含水量决定^[5]。因此,在刺槐生长初期,降水量少,无纺布没有发挥保水作用,但是在生长中后期,随着黄土高原降水量的增加,无纺布覆盖表现出了较强的保水性,从而间接地影响了刺槐的生长速率。在刺槐生长后期,新枝生长量和生长速率都是 $T_1 > T_2 > T_3 > CK$,即说明覆盖无纺布后刺槐生长较快,而且 $T_1 > T_2 > T_3$ 。由于植株新枝生长和土壤湿度呈正相关关系^[14],因此,进一步说明无纺布覆盖能明显提高土壤水分,且400、450 g/m²无纺布覆盖处理对促进刺槐生长的效果明显,有利于植物生长。

3 结论

无纺布覆盖与水平沟结合使用充分利用了坡面降雨,增大了集雨面。由于无纺布有细密孔眼,能充分利用自然降水,同时高温不高,蒸发损失少,能提高土壤水分,达到节水、保水的目的。400 g/m²无纺布覆盖处理和对照相比,土壤水分存在显著性差异,覆盖平均含水量可比对照相对提高18%;450和500 g/m²无纺布覆盖后土壤水分也有一定程度的提高,但与对照相比差异不显著,而且不同厚度的无纺布覆盖之间无显著性差异。

400和450 g/m²无纺布覆盖后刺槐叶片的生长明显优

于对照,400 g/m²无纺布覆盖处理叶片平均含水量比对照最大高出6.62%。无纺布覆盖后刺槐生长速率增大,尤其在生长中后期,随着降水的增多,无纺布表现出较强的保水作用,覆盖处理刺槐的生长速率均高于对照,其中400和450 g/m²无纺布覆盖处理对刺槐生长速率影响显著,进一步说明无纺布覆盖后土壤水分有较大的提高。400和450 g/m²无纺布覆盖表现出较强的保水作用,对黄土高原植树造林具有一定的生态意义。

参考文献

- [1] 曹胜军,刘广全.刺槐光合特性研究[J].西北农业学报,2005,14(3):118-122.
- [2] 杨建伟,梁宗锁,韩蕊连.不同土壤水分状况对刺槐的生长及水分利用特征的影响[J].林业科学,2004,40(5):93-98.
- [3] 杨建伟,梁宗锁,韩蕊连,等.不同土壤含水量对4个树种WUE的影响[J].西北林学院学报,2004,19(1):9-13.
- [4] 单长卷.黄土高原不同立地刺槐林水分关系研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2004.
- [5] 吴照柏,杨新民.黄土丘陵区刺槐生长及林地土壤水分动态规律研究[J].水土保持研究,2004,11(4):117-120.
- [6] 于洪波,何虎林,王继林.兰州北山土壤水分动态变化规律对造林的影响[J].甘肃林业科技,2003,28(3):1-5.
- [7] 贺康宁,田阳,史常青,等.黄土半干旱区集水造林条件下林木生长适宜的土壤水分环境[J].林业科学,2003,39(1):10-16.
- [8] ZHANG GUANG CAN, HE KANGNING, HU XIA. Fitting soil moisture environment of trees growth on loess plateau in semi arid region[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2001, 15(4): 1-5.
- [9] 甘肃省林业勘察设计院.兰州市城区南北两山造林绿化总体规划(1998~2015)[Z].
- [10] 王忠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,1999:336.
- [11] 李洪建,王孟本,柴宝峰.刺槐林地土壤水分的周年变化特征[J].土壤侵蚀与水土保持学报,1999,5(6):6-10.
- [12] 梁银丽.黄土区地面覆盖的主要类型及其保水效应[J].水土保持通报,1997,17(1):27-31.
- [13] 单长卷,郝文芳,梁宗锁,等.不同土壤干旱程度对刺槐幼苗水分生理和生长指标的影响[J].西北农业学报,2005,14(2):44-49.
- [14] 蒋桂香,陈玉福,田种存.浅析土壤湿度对苗木成活与生长的影响[J].青海农林科技,2004(3):6-8.