

大孔吸附树脂吸附法结合氯仿溶解法 分离混合二元酸^①

于晓敏 王贤亲 胡淑平 何文斐 袁梅 贾娟^a 叶发青^②

(温州医学院药学院 浙江省温州市高教园区中心北路 3 号 325035)

^a(杭州师范大学生物医药与健康中心 杭州市文一路 222 号 310007)

摘 要 建立利用大孔吸附树脂吸附法结合氯仿溶解法分离混合二元酸中丁二酸、戊二酸和己二酸的方法并使其分别达到一定的纯度和收率。首先利用 LC-ESI-MS 方法测定了混合二元酸中丁二酸、戊二酸和己二酸含量,然后通过对 3 种大孔吸附树脂 AB-8、NKA-II 和 D-380 吸附性能的综合比较,筛选出 AB-8 大孔吸附树脂作为吸附剂,以水、10%、30% 和 95% 乙醇水溶液作为洗脱剂对混合二元酸进行初步的分离,得到 A、B、C 和 D 4 个分离部位,再利用氯仿对二元酸溶解度的不同,将该 4 个分离部位在 55℃ 水浴恒温分别用氯仿进行溶解、过滤,通过 LC-ESI-MS 方法测定确定相应部位的组成情况进行适当合并,最终达到将混合二元酸分离的目的。丁二酸纯度: 70.3%, 收率: 92.7%; 戊二酸纯度: 94.1%, 收率 89.2%; 己二酸纯度: 90.7%, 收率: 88.7%。

关键词 大孔吸附树脂; 分离; 混合二元酸; 溶解法; 丁二酸; 戊二酸; 己二酸

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2010)04-4244-06

1 引言

混合二元酸是环己烷氧化制己二酸生产过程中的副产品,其中主要含有丁二酸、戊二酸、己二酸等组分,其组成复杂^[1],而这 3 种二元酸都是重要的有机化工原料,对混合二元酸进行适当地分离纯化,重新利用,即可防止污染,又具有很重要的社会意义和经济价值。据文献报道检测混合二元酸组成的方法较多,有反相高效液相色谱^[2]、气相色谱法^[3]等,本文采用液质联用法检测混合二元酸中丁二酸、戊二酸、己二酸的含量。对混合二元酸的分离,尤其是能投入大工业生产和应用,目前国内外还没有特别简易而又行之有效的途径,毛志博^[4]根据丁二酸、戊二酸和己二酸在氯仿溶解度的差异,利用氯仿结晶法分离了戊二酸。本研究首次利用大孔吸附树脂吸附法对混合二元酸进行初步的分离,使其各分离部位的组成得到简化,进而结合氯仿溶解、过滤的方法有效的分离了混合二元酸。大孔吸附树脂属于功能高分子材料,是近代发展起来的一类有机高聚物吸附剂,树脂主要由苯乙烯、 α -甲基苯乙烯等为原料形成的高聚物,表面积较大、交换速度较快、机械强度高,抗污染能力强、理化性质稳定,不溶于酸、碱及有机溶媒,对有机物选择性较好,不受无机盐类及强离子低分子化合物存在的影响,可以通过物理吸附从水溶液中有选择地吸附有机物质,在水溶液和非水溶液中都能使用^[5-8]。具有良好的吸附性能,现已广泛用于物质的分离纯化,国外最早将大孔树脂用于工业废水处理、化学工业、医药工业、分析化学、临床检验等领域^[9-11],我国主要用于医药工业的药

① 温州市科技局科研基金资助项目(G20060098)

② 联系人,手机: (0) 13777784340; E-mail: yfq@wzmc.net

作者简介: 于晓敏(1974—),女,黑龙江省齐齐哈尔市人,讲师,硕士,主要从事天然药物的分离分析工作。

收稿日期: 2010-03-05; 接受日期: 2010-04-20

物及生物活性物质的提纯和中草药化学成分的提取分离^[12-15], 该工艺操作简便, 成本较低, 树脂可反复使用, 适合工业生产。从结构上与二元羧酸差异较大, 因此可有效避免吸附剂与样品之间的死吸附, 提高收率, 有效的分离了混合二元酸中的主要成分丁二酸、戊二酸和己二酸。

2 实验部分

2.1 材料与试剂

Esquire HCT 质谱仪(德国 Bruker 公司); 配 ESI(电喷雾离子源); 1200 HPLC, MWD 检测器(美国 Agilent 公司); JY5002 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); B-290-旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); KQ5200 超声清洗器(北京华威兴业科技有限公司); 玻璃柱(3cm×45cm)等。

混合二元酸原料(淡黄白色), AB-8、NKA-II 和 D-380 大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂), 乙腈(德国 Merck 公司), 甲酸(优级纯, 美国 Tedie 公司), 氯仿, 95%乙醇, 丁二酸、戊二酸、己二酸(均为国产分析纯)。分离用水为蒸馏水, 液质检测用水为重蒸水(法国 Millipore 公司)。

2.2 分离和检测条件

分离条件: 吸附剂: AB-8 大孔吸附树脂; 洗脱剂: 梯度乙醇水溶液; 溶解分离用溶剂: 氯仿; 溶解温度: 55℃。

质谱条件: ESI(电喷雾离子源), 负离子检测, 雾化气压力设为 2.07×10^5 Pa; 干燥气(N_2)流速设为 7L/min, 干燥气温度设为 350℃。选择离子监测(Selected ion monitoring, SIM)方式定量, 丁二酸 $[M-H]^-$ m/Z 117, 戊二酸 $[M-H]^-$ m/Z 131, 己二酸 $[M-H]^-$ m/Z 145。

色谱条件: 柱温 25℃, 流速: 0.4mL/min, 色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈(2.1mm×150mm, 5μm), 流动相: 甲醇: 0.1% 甲酸= 10:90(V/V), 进样量 10μL。

3 结果与讨论

3.1 混合二元酸原料组成的测定

按 2.2 中检测条件利用 LC-ESI-MS 方法测定了混合二元酸中丁二酸、戊二酸和己二酸含量, 3 种化合物分离效果较好, 结果显示丁二酸、戊二酸和己二酸的保留时间分别为 1.7min、2.7min 和 6.3min, 如图 1。

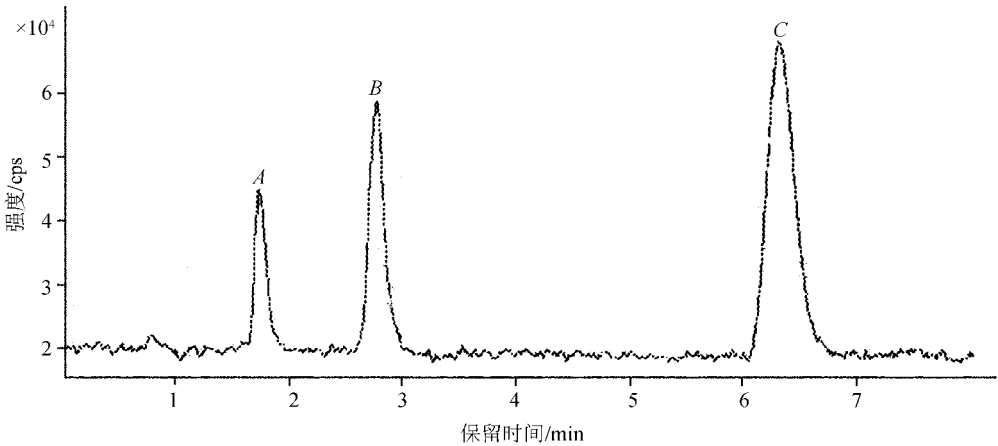


图 1 LC-ESI-MS 总离子流图

A——丁二酸; B——戊二酸; C——己二酸。

检测结果显示: 混合二元酸样品中丁二酸、戊二酸和己二酸的含量分别为 37.28%、33.40% 和

14.15%, 三者合计 84.83%。

3.2 大孔吸附树脂的筛选

研究选择了极性的 NKA-II、弱极性的 AB-8 和弱碱性的 D-380 3 种大孔吸附树脂, 进行了吸附容量、解吸率和动态吸附规律的测定, 进行树脂型号的选择。

静态吸附容量的测定: 在 250mL 具塞锥形瓶中, 加入一定量的大孔吸附树脂和一定量已知浓度的混合二元酸溶液, 25℃ 超声振荡 12h, 充分吸附后, 离心过滤, 测定上清液中 3 种二元酸的含量, 按式 (1) 和式 (2) 计算各树脂的吸附量 Q_e 和吸附率 E 。

$$Q_e = [C_0 - C_e V_1] / V \quad (1)$$

$$E = [C_0 - C_e / C_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: Q_e ——吸附量; E ——吸附率; C_0 ——起始浓度; C_e ——平衡浓度; V_1 ——加入样品液体积; V ——树脂体积。

吸附动力学曲线的测定: 取 5mL 树脂加入 40mL 已知浓度的混合二元酸溶液, 在不同时刻取少量溶液分别测定 3 种二元酸的浓度, 计算吸附率, 并绘制出吸附动力学曲线, 找到吸附平衡时间。

动态吸附容量的测定: 将 3 种树脂装入吸附柱中, 相同条件将混合二元酸上柱吸附, 定时定量移取流出液, 测定 3 种二元酸含量, 按式 (1) 和式 (2) 计算树脂的动态吸附量和吸附率。

解吸率的测定: 将吸附处理好的 AB-8 大孔树脂置于锥形瓶中, 分别加入 100mL 95% 乙醇, 25℃ 超声振荡 12h, 离心后过滤, 测定 3 种二元酸的含量, 按式 (3) 计算树脂的解吸率。

$$E' = [C V_2 / (C_0 - C_e V_1)] \times 100\% \quad (3)$$

式中: E' ——解吸率; C ——解吸液中长春花生物碱的浓度; C_0 ——起始浓度; C_e ——平衡浓度; V_1 ——加入样品液体积; V_2 ——洗脱液体积。

3.3 AB-8 大孔吸附树脂法分离

装柱: 取 800mL 经预处理 AB-8 大孔吸附树脂, 装柱后, 用蒸馏水冲洗至树脂柱表面不再下降;

上样: 取 20.016g 混合二元酸, 于 1000mL 蒸馏水中搅拌使其全部溶解后装柱;

洗脱: 依次用蒸馏水和 10%、30%、95% 的乙醇水溶液洗脱, 各部分体积均为 2000mL, 流速为 5mL/min 得各部洗脱液。

各部洗脱液分别以旋转蒸发仪回收溶剂至干, 得各洗脱物, 依次标识为 A、B、C、D, 经干燥后称量分别为 3.392g、9.215g、4.130g、2.772g, 各加水配制成 5000mL 溶液待测。

LC-ESI-MS 检测结果: A 部组成为丁二酸, 浓度 212.186 μ g/mL, 戊二酸 8.108 μ g/mL, 己二酸 0.546 μ g/mL; B 部组成为丁二酸 1147.726 μ g/mL, 戊二酸 568.884 μ g/mL, 己二酸 7.444 μ g/mL; C 部组成为丁二酸 106.418 μ g/mL, 戊二酸 706.672 μ g/mL, 己二酸 13.010 μ g/mL; D 部组成为丁二酸 8.810 μ g/mL, 戊二酸 43.240 μ g/mL, 己二酸 502.841 μ g/mL。D 洗脱物重 2.772g, 经检测计算己二酸纯度为 90.7%。

3.4 氯仿溶解法分离

取 A 部洗脱物干燥至无水后与 10mL 氯仿混合, 于 55℃ 水浴恒温加热 40min, 磁力搅拌, 趁热过滤, 收集不溶物干燥称重, 滤液回收溶剂得氯仿溶解物; 取 B 部洗脱物干燥至无水后与 30mL 氯仿混合, 于 55℃ 水浴恒温加热 40min, 磁力搅拌, 趁热过滤, 收集不溶物干燥称重, 滤液回收溶剂得氯仿溶解物; 取 C 部洗脱物干燥至无水后与 15mL 氯仿混合, 于 55℃ 水浴恒温加热 40min, 磁力搅拌, 趁热过滤, 收集不溶物干燥称重, 滤液回收溶剂得氯仿溶解物。

将 A、B、C 部氯仿沉淀物混合称重并进行 LC-ESI-MS 检测; 将 A、B、C 中氯仿溶解物混合后称重, 并进行 LC-ESI-MS 检测。A、B、C 中氯仿沉淀物合计 9.843g, 经 LC-ESI-MS 检测, 70.3% 为丁二酸, 回收率为 92.7%; A、B、C 中氯仿溶解物混合后称重为 6.337g, 进行 LC-ESI-MS 检测, 94.1% 为戊二酸, 回收率 89.20%; D 部经检测计算己二酸纯度为 90.7%, 回收率 88.7%。

3.5 分离混合二元酸的大孔吸附树脂筛选结果

相同条件下, 3 种树脂吸附二元酸情况显示, NKA-II 和 D-380 两种树脂的吸附容量都较 AB-8 树脂的大, 适宜条件下的解吸率均达到近 100%。但经过混合二元酸的分离预试验, NKA-II 和 D-380 两种树脂做吸附剂, 无论怎样调整洗脱条件, 分离效果都不理想, 而 AB-8 大孔吸附树脂在经过洗脱条件的摸索和筛选之后, 分离效果较好。故选择 AB-8 大孔吸附树脂作为分离混合二元酸的吸附剂。

3.6 大孔吸附树脂吸附动力学曲线

选用的 AB-8 大孔吸附树脂对 3 种二元酸的吸附动力学曲线如图 2。

从 AB-8 大孔树脂吸附动力学曲线中可以看出, AB-8 大孔吸附树脂对丁、戊、己 3 种二元酸的吸附在 40min 内可达平衡。

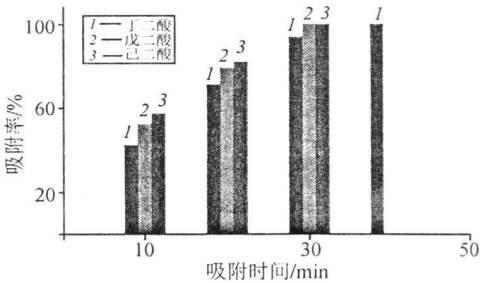


图 2 3 种二元酸吸附率与时间关系曲线

3.7 温度对吸附和解吸的影响

研究选择了 15、20、25、30℃ 和 35℃ 分别进行了 AB-8 大孔吸附树脂吸附和解吸最佳温度的摸索, 结果显示室温的 25℃ 和 30℃ 无显著性差异, 吸附量和解吸率都是最高的, 3 种二元酸的吸附量分别为 28.75、35.47、40.32mg/mL, 解吸率均近 100%; 故树脂分离混合二元酸的温度选择 25℃ 至 30℃ 均可, 即室温操作。

3.8 上样浓度对吸附率的影响

研究选择了 1、3、5、7、10mg/mL 的二元酸溶液, 在 AB-8 大孔树脂上进行了动态吸附规律的测定, 结果发现丁二酸和戊二酸在 7mg/mL 时吸附率较高, 而己二酸在 5mg/mL 浓度时吸附率较高。据混合二元酸原料的组成情况, 选择了混合二元酸的上样浓度为 20mg/mL。

3.9 洗脱速度对分离的影响

研究选择了 1、3、5、7、10mL/min 的流速, 测定 AB-8 大孔树脂对混合二元酸的动态吸附规律, 结果表明, 3mL/min 的流速最利于吸附。洗脱液的流速为 5mL/min 时, 洗脱分离效果最好。

3.10 本研究在分离方面的优势

本研究先利用 AB-8 大孔吸附树脂将混合物二元酸样品进行初步分离, 选择的洗脱剂为水、10%、30% 和 95% 乙醇溶液, 在这 4 个洗脱分离部位中, 洗脱物的组成发生了很大变化: 水部组成主要为杂质和丁二酸, 戊二酸较少, 己二酸可忽略不计; 10% 部组成主要为丁二酸, 次为戊二酸, 己二酸较少; 30% 部组成主要为戊二酸, 其次为丁二酸, 己二酸较少; 95% 部组成主要为己二酸, 丁二酸和戊二酸可忽略不计。此树脂分离结果, 为后续利用氯仿溶解分离戊二酸, 提供了条件, 且在氯仿溶解分离过程中, 由于混合物组成已简化, 故溶解后只需恒温过滤, 不必结晶, 简化了操作程序。

3.11 本研究的创新与不足

在混合二元酸的分离研究中, 本研究为首次采用结合大孔吸附树脂进行分离的方法, 树脂分离

过程中,吸附剂 AB-8 大孔树脂廉价易得,可再生重复利用,洗脱剂为醇水系统,无毒廉价易操作,大大简化了分离程序且降低了成本,适合大工业生产应用。但本研究的分离结果,戊二酸和己二酸的纯度都达到 90% 以上,但丁二酸中还混杂着较多杂质,在后续研究中需进一步纯化。

4 结论

本研究在分离混合二元酸时选择的工艺如下:

树脂吸附法分离:吸附剂为 AB-8 大孔吸附树脂;洗脱剂为水、10%、30% 和 95% 乙醇水溶液;洗脱流速为 5mL/min 得 4 种洗脱物。

氯仿溶解法分离:将水、10% 和 30% 乙醇洗脱物进行氯仿溶解分离,溶剂氯仿用量:样品/溶剂约为 1:2.7(g/mL);恒温溶解温度:55℃;溶解时间:40min;恒温过滤得各部位滤液和沉淀后进行适当合并:水、10%、30% 乙醇洗脱物的氯仿溶解物合并为戊二酸,纯度可达 94.1%,回收率达 89.20%;水、10%、30% 乙醇洗脱物的氯仿沉淀物合并,为纯度较低丁二酸,纯度达 70.3%,回收率达 92.7%;95% 乙醇洗脱物不经氯仿溶解分离即己二酸,纯度可达 90.7%,回收率达 88.7%。

参考文献

- [1] 傅承壁. 混合二元酸制备多元磷酸缓蚀阻垢剂研究[J]. 工业水处理, 2002, 22(6): 44—46.
- [2] 公衍之, 郭灿城, 刘强. 反相高效液相色谱内标法测定环己烷空气氧化产物中二酸类物质[J]. 石油与天然气化工, 2005, 34(5): 413—415.
- [3] 刘敬兰, 陈连文, 周鸿娟. 气相色谱法测定新型多元复合液中二羧酸[J]. 色谱, 1999, 17(1): 95—96.
- [4] 毛治博. 混合二元酸中戊二酸的分离及酯化动力学研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2007.
- [5] 王世潇, 秦大伟. 大孔树脂分离技术在药物成分分析中的应用[J]. 北京联合大学学报(自然科学版), 2009, 23(3): 61—65.
- [6] 王跃生, 王洋. 大孔吸附树脂研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(12): 961—965.
- [7] 米靖宇, 宋纯清. 大孔吸附树脂在中草药研究中的应用进展[J]. 中成药, 2001, 23(12): 914—917.
- [8] 李尧, 寇晓康, 刘琼等. 大孔吸附树脂处理有机废水的研究进展[J]. 河南化工, 2008, 25(1): 11—14.
- [9] Han X, Zheng L L, Qiu Z W *et al.* Efficient Protocol for Large-Scale Purification of Naringin with High Recovery from Fructus Aurantii by Macroporous Resin Column Chromatography and HSCCC[J]. *Chromatographia*, 2008, 68(5/6): 319—326.
- [10] Liu Y F, Liang S H, Wang X G. Purification of Soybean Phosphatidylcholine Using D113-III Ion Exchange Macroporous Resin Packed Column Chromatography[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2009, 86(2): 183—188.
- [11] Yon J O, Lee J S, Kim B G *et al.* Immobilization of Streptomyces Phospholipase D on a Dowex Macroporous Resin[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2008, 13(1): 102—107.
- [12] 杨可立, 龙致贤, 王玉蓉. 大孔吸附树脂分离川楝子有效组分的研究[J]. 中成药, 2009, 31(5): 711—714.
- [13] 潘君, 余庆华, 桂双英等. 大孔吸附树脂分离纯化丹皮总苷工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 11(5): 21—24.
- [14] 姜喜成, 秦培勇, 谭天伟. 大孔树脂对丹参酮 II A 的静态吸附研究[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2009, 36(3): 79—82.
- [15] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯等. 大孔吸附树脂富集纯化布渣叶总黄酮的研究[J]. 中药材, 2009, 32(4): 601—604.

Separation of Admixture of Biprotic Acid by Method of Macroporous Adsorptive Resins and Dissolving of Chloroform

YU Xiao-Min WANG Xian-Qin HU Shu-Ping HE Wen-Fei

DING You-Mei JIA Juan^a YE Fa-Qing

(School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325035, P. R. China)

^a(Center of Creature Medicine and Healthy, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang 310007, P. R. China)

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.c>

Abstract A method for separating admixture of biprotic acid by macroporous adsorptive resins and the dissolving of chloroform was established. First, the contents of butane diacid, pentane diacid and adipic acid in admixture of biprotic acid were determined by LC-ESI-MS. Then the adsorption performances of macroporous adsorptive resins AB-8, NKA-II and D-380 were compared, and AB-8 macroporous adsorptive resins was determined as the sorbent. And then water, 10%, 30% and 95% ethanol were used as the eluent to isolate admixture of biprotic acid preliminarily, four parts (A, B, C and D) were obtained. Because the solubilities of butane diacid, pentane diacid and adipic acid in CHCl_3 were different, the four free parts A, B, C and D were threw into quantitative CHCl_3 solution with constant temperature of 55°C respectively to obtain some parts, the parts were incorporated properly through analysis and comparison to complete the isolation of admixture of biprotic acid. The purity quotient of butane diacid is 70.3% and the recovery rate is 92.7%. The purity quotient of pentane diacid is 94.1% and the recovery rate is 89.2%. The purity quotient of adipic acid is 90.7% and the recovery rate is 88.7%.

Key words Macroporous Adsorptive Resins; Separation; Admixture of Biprotic Acid; Method of Dissolving; Butane Diacid; Pentane Diacid; Adipic Acid

欢迎您投稿 “高效、保质”的中文核心期刊 《光谱实验室》

这是您的发明、发现获得“优先权”的可靠保障!

发表周期多数(50% - 75%)为 5—9 个月,

少数(20% - 45%)为 1—5 个月,极少数(0 - 7%)为 15—30 天

及时发表科技论文,是尽早实现其社会效益的前提,也是作者创造性劳动得到尊重、为在世界上取得“优先权”的可靠保障,因为发明、发现的“优先权”通常是以出版时间为准的。因此,本刊把尽快发表作者的论文,视为自己的神圣职责。

确保论文质量是论文早日发表的条件。作者发表论文总是要反映自己在工作中有所发明、有所发现和有所创造的成绩,而不是去暴露自身的“缺欠”和“毛病”,换言之,作者发表论文总是要为自己“争光”,而不是让自己“蒙羞”。因此,作者投稿之前,除了自己要反复检查外,一定要多请您周围的同事、专家挑“毛病”,把“毛病”消灭在投稿之前,再投本刊才能发表得快。如果本刊挑出毛病,再请作者修改,反复“折腾”,不仅消耗双方精力,而且必然延长发表时间。保证质量的基本要求就是论文要做到“齐、清、定”。“齐”即全稿包括表、图和照片等齐全;“清”即文字图片打印(书写)清楚,不得有模糊不清的文字、图片和数字,段落要分明,便于排版和校对;“定”即做到稿件内容完整、简洁,在编辑过程中无须增删修改。

来稿请用 Word 排版,用电子邮件发到本部电子信箱(E-mail: gpsy@263.net)。

本刊收到作者来稿后,都会在 3 日(遇公休日顺延)内发出“收稿通知”。因此,作者发送稿件后 7 日以上都没有消息,一定要及时来电查询。

一篇论文出版,常常需要反复沟通“作者→编辑部→审者→编辑部→作者”之间的联系,其中与作者的联系是最重要的一环,一旦脱节,必然中断编辑过程。因此作者来稿时,务必将联系人的正确的姓名和详细地址、办公室电话、手机号码、传真号码和电子信箱等(通讯方式要尽可能全)告诉编辑部,以便能与您及时联系。否则,由此而产生的不良后果由作者自己负责。

本刊发表论文的宗旨是学术交流,而不是应付“评职称”、“拿文凭”等。

《光谱实验室》编辑部