

# 四种大孔吸附树脂对大豆异黄酮吸附量和脱附率的比较研究

雷燕妮, 彭晓邦, 张小斌

(商洛学院 生物医药与食品工程学院、中国中医科学院商洛中药材 GAP 科研工程中心, 陕西 商洛 726000)

**摘要:**目的:研究富集与纯化大豆异黄酮的最佳大孔吸附树脂。方法:以大豆异黄酮含量为考察指标,用高效液相色谱法测定其含量,通过豆粕样液的制备、四种大孔吸附树脂对大豆异黄酮的吸附量和脱附率的影响进行对比研究。结果:四种大孔吸附树脂对大豆异黄酮的吸附能力依次为:DM21 树脂、DM20 树脂、XDA-6 树脂、LSA-10 树脂,选用 70%乙醇作为洗脱剂效果最好。结论:DM21 树脂纯化大豆异黄酮效果最好,其纯度可达 90%左右。

**关键词:**大豆异黄酮;大孔树脂;静态饱和吸附量;脱附率

大豆异黄酮是从大豆油渣中提取分离出来的浅黄色粉末,有苦味和淡淡的涩味<sup>[1]</sup>,其生理活性十分广泛,是一种纯天然的营养因子,也是天然的雌性激素,具有多种生理活性物质,容易被人体迅速吸收,可以及时补充营养成分<sup>[2]</sup>。大豆异黄酮不仅在癌症、妇科疾病、骨质疏松的预防和治疗等方面获得广泛应用,同时,随着对大豆异黄酮各方面研究的不断深入,人们也在不停地将它的应用领域扩大,如治疗动脉硬化、酒精依赖性、妇女老年痴呆、神经性障碍、男性糖尿病患者性功能方面的障碍,并且能够促进脂肪降解等。除此之外,大豆异黄酮对与激素有关的肿瘤比如乳腺癌和前列腺癌具有更加显著的效果,在治疗和预防心脑血管疾病方面也有着明显的作用<sup>[3]</sup>。较高纯度的大豆异黄酮已作为重要原料应用于医药产品的开发,被称为 21 世纪的“维生素”<sup>[4]</sup>。

提取分离大豆异黄酮并充分利用其有效成分开发保健食品,不仅可以提高豆粕产品附加值、促进对豆粕的可循环利用,而且还可以有效提高产品的经济效益。目前,随着生物科技的迅速发展、分析手段的不断完善,对大豆中生物活性物质的提取也有了更高的效率。但笔者查阅了大量文献,大孔吸附树脂对大豆异黄酮的提取研究报道较少,大孔树脂具有物理化学稳定性高、选择性好、比表面积大、吸附容量大、吸附速度快、解吸条件温和、再生处理方便、宜于构成闭路循环、使用周期长、节省费用等诸多优点,在天然产物的提取分离工作中得到广泛的应用<sup>[5]</sup>。本实验选用四种大孔树脂对大豆异黄酮进行吸附分离,以期获得

吸附分离大豆异黄酮的最佳大孔树脂。

## 1 材料与仪器

### 1.1 实验材料

供试材料为豆粕,将豆粕自然干燥、用植物粉碎机粉碎。选用四种不同类型的大孔树脂:DM20、DM21、XDA-6、LSA-10,均由西安蓝晓科技开发有限公司提供。柠檬酸、乙醇、氢氧化钠、盐酸等均为国产分析纯;蒸馏水、超纯水实验室自制。

### 1.2 实验仪器

上海伍丰实验设备有限公司 LC-10B 型高效液相色谱系统;天津市泰斯特仪器有限公司 FZ102 植物粉碎机;天津市泰斯特仪器有限公司 TED 型电热恒温水浴锅;日本岛津 SHIMADZU 型电子分析天平;上海之信仪器有限公司 DL-720E 超声清洗器;上海予华仪器设备有限公司 RE-301 旋转蒸发器;上海予华仪器设备有限公司 SHZ-95A 循环水式多用真空泵;上海生银医疗器械仪表有限公司 YAZD 蒸馏水器;美国 Bedford 公司 Milli-Q 超纯水制备仪;标准药筛 1~9 号(上虞市大亨桥化验仪器厂)。

## 2 实验方法

### 2.1 树脂的处理

将树脂放入 95%乙醇中,浸泡 24 h 并不断搅拌,浸泡完成后用蒸馏水洗至树脂白色浑浊且无醇味。用  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 溶液浸泡 4 h,蒸馏水洗至中性,再用  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 溶

收稿日期:2014-11-30 修回日期:2014-12-20

第一作者简介:雷燕妮(1982-),女,陕西商洛市商州区人,商洛学院生物医药与食品工程学院、中国中医科学院商洛中药材 GAP 科研工程中心讲师,目前主要从事天然药物化学成分分析研究。

液浸泡 3 h, 用蒸馏水洗至中性, 待用。

## 2.2 豆粕样液的制备

准确称取粉碎后的豆粕粉末 100 g, 加入 600 mL 70% 酒精, 于 60℃ 下热回流提取 120 min, 将提取液用真空泵抽滤, 给残渣中加入 500 mL 70% 酒精, 于 60℃ 进行第二次热回流提取, 提取 90 min。将回流液再次进行真空泵抽滤, 抽滤得到的残渣中加入 500 mL 70% 的酒精再次于 60℃ 进行热回流提取, 提取 90 min, 抽滤得粗滤液, 合并三次粗滤液, 抽滤, 即得豆粕提取液。

将提取液经过旋转蒸发仪浓缩, 体积浓缩至原来的 1/5, 加入与浓缩液体积相同的蒸馏水, 继续蒸馏, 根据乙醇浓度计测其中流出液的乙醇浓度, 直至流出液中乙醇含量为 10% 时停止蒸馏, 用高速离心机离心 15 min, 倒出上清液, 调 pH 值至中性, 即可得到大豆异黄酮溶液。

## 2.3 四种树脂对大豆异黄酮溶液的饱和吸附量

用电子分析天平称取经预处理的树脂, 真空泵抽滤掉其表面水分, 取此树脂 1.00 g 置于 100 ml 三角瓶中, 然后加入  $6.6 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  的大豆异黄酮溶液 20 ml, 在  $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、25℃ 的条件下进行振荡吸附, 吸附时间为 18~24 h。吸附完成以后测定吸附后溶液中大豆异黄酮的含量, 并按照下列公式计算树脂的饱和吸附量(做三组重复组, 取平均值)。

饱和吸附量 = (加入的大豆异黄酮含量 - 未吸附的大豆异黄酮含量) / 树脂的量

## 2.4 四种树脂对大豆异黄酮溶液的解吸率

将 2.3 中所得大豆异黄酮吸附的树脂分离出来, 吸干表面水分, 加入 25 ml 75% 的乙醇(加入 2% 柠檬酸), 在 25℃、 $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的条件下, 用摇床振荡脱附 24 h, 过滤, 树脂用蒸馏水冲洗 3 遍, 一并合入滤液中, 用蒸馏水定容至 50 ml。测定脱附后溶液中大豆异黄酮的量(三组重复组, 取平均值)。

脱附率(%) = 洗脱出的大豆异黄酮 / (加入的大豆异黄酮 - 未吸附的大豆异黄酮) × 100%

## 2.5 pH 对树脂吸附效果的影响

用电子分析天平称取经过预处理的大孔树脂 DM21, 真空泵抽滤掉其表面水份, 取样 7 份, 每份 1.0 g, 装入 100 ml 的带塞锥形瓶中, 再分别加入用来调节 PH 值的溶液 20 ml ( $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐酸和  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠), 在摇床上振荡 18~24 h, 测定吸附后溶液中总黄酮的量, 作图比较, 得出理想 pH 值。(每个 pH 值下做三组重复组, 取平均值)

## 2.6 洗脱剂浓度对解吸率的影响

取饱和吸附的树脂 5 份, 分别加入 10%、30%、50%、70% 和 90% 的乙醇溶液各 20 ml 进行解吸, 计算不同浓度的乙醇溶液对大豆异黄酮的解吸率(每个浓度下做三组重复组, 取平均值)

洗脱剂的极性对植物有效成分有很大的影响。常见的洗脱剂有乙醇、甲醇、乙酸乙酯、丙酮等。在生产实际工作中, 使用最多的是乙醇, 一方面是因为它无毒、安全, 另一方面它可以根据吸附能力大小调配成不同浓度的洗脱剂。在洗脱剂选择的时候, 首先要求洗脱剂能够使大孔吸附树脂溶胀以减弱大孔树脂与被吸附物质之间的吸附力, 其次要有溶解被吸附物质的能力。

对于中极性与极性树脂宜用极性较大的洗脱剂, 对于非极性与弱极性树脂宜用极性较小的洗脱剂, 故选用乙醇作为本实验的洗脱剂。

## 2.7 动态吸附 吸附材料选取

DM21 树脂, 吸附柱选择 16 mm × 300 mm 玻璃层析柱, 称取经过预处理的树脂 20 g, 湿法装柱, 称取豆粕样液 ( $6.6 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 300 ml, 用  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐酸将黄酮供试液 pH 值调至 5, 进行上样, 每 50 ml 接一管, 测定流出液中大豆异黄酮浓度, 绘制动态吸附透过曲线。

## 2.8 动态脱附

称取经预处理的 DM21 树脂 20 g, 湿法装柱, 用  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐酸将大豆异黄酮供试液 pH 值调至 5, 上样, 上样量为 300 ml。上样结束后用 200 ml 的蒸馏水进行洗涤, 以除去水溶性杂质, 再用 70% 的乙醇洗脱, 每 20 ml 接一管, 测量流出液中大豆异黄酮的浓度, 绘制动态脱附解吸曲线。

## 2.9 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 进行数据分析处理。

# 3 结果与分析

## 3.1 吸附量和解吸率

表 1 大孔树脂静态吸附及解吸性能

型号	吸附量 / ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	解吸率 / %
DM20	77.0	45.0
DM21	82.3	60.5
XDA-6	73.0	47.3
LSA-10	68.0	46.6

从表 1 可以看出, 4 种树脂中对大豆异黄酮的吸附量大小依次为: 大孔树脂 DM21 > DM20 > XDA-6 > LSA-10; 解吸率大小依次为: 大孔

树脂 DM21 > XDA-6 > LSA-10 > DM20; 在实际生产应用中, 不仅要求大孔树脂吸附量大, 而且要求大孔树脂解吸率高, 以确保对有效成分最大程度的回收。由表 1 可知, DM21 树脂不仅具有较大的吸附量, 而且具有较高的解吸率, 由此可知, DM21 树脂是富集纯化大豆异黄酮较为理想的材料。

### 3.2 pH 对 DM21 树脂吸附量的影响

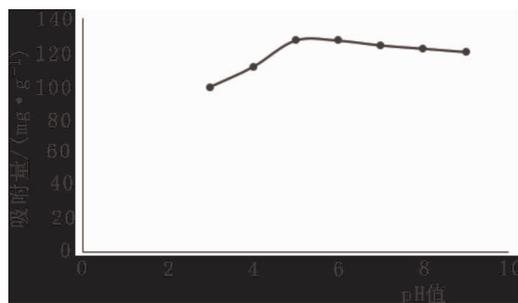


图 1 pH 对大孔树脂 DM21 吸附量的影响

由图 1 可知, 随着 pH 值的增加, 大孔树脂对大豆异黄酮的吸附量呈现先增加, 后降低的变化趋势, pH 值等于 3 时大孔树脂对大豆异黄酮的吸附量最小, pH 值等于 5 时吸附量达到最大值 127 mg·g<sup>-1</sup>, 随着 pH 的进一步增大, 大孔树脂对大豆异黄酮的吸附量呈减小趋势。

研究表明<sup>[6]</sup>, 酸性化合物在酸性溶液中易吸附, 豆粕黄酮类化合物分子中含有酚羟基、羧基, 呈弱酸性, 因此大豆异黄酮在 pH 值为 5 的时候容易被大孔树脂吸附。

### 3.3 洗脱剂浓度对解吸率的影响

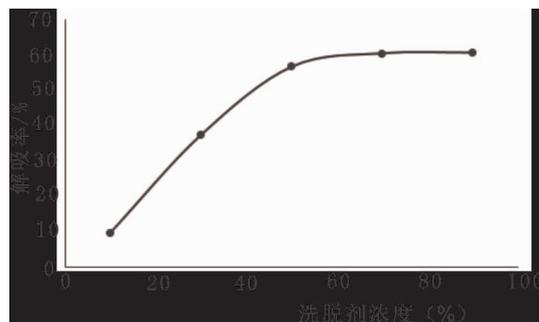


图 2 洗脱剂浓度对解吸率的影响

由图 2 可知, 洗脱剂的浓度和解析率的关系呈现对数函数的变化, 随着洗脱剂浓度的增加, 解析率逐步升高, 洗脱剂浓度为 10% 时, 解析率为 9.7%; 当洗脱剂浓度增加到 70% 的时候, 解析率最大, 为 60.5%; 随着洗脱剂浓度的进一步增加, 解吸率基本不变, 因此用 70% 的乙醇基本上可以将总黄酮完全从树脂上解吸下来, 从纯化和节约

试剂方面来看, 选用 70% 乙醇作为洗脱剂最为经济适用。

### 3.4 动态吸附透过曲线

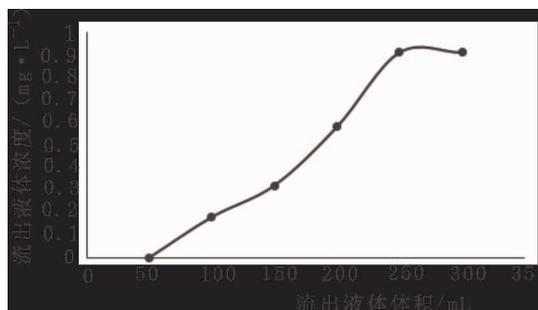


图 3 动态吸附透过曲线

由图 3 可知, 随着流出液体体积的增加, 流出液浓度逐步上升, 当流出液体积到达 100 ml 时, 流出液浓度达到 0.18, 也就是说, 当上样液体积逐渐上升到 100 ml 时, 原料液中大豆异黄酮开始透过树脂柱; 当体积达到 250 ml 时, 流出液浓度基本不变, 大孔树脂对大豆异黄酮达到饱和吸附。

### 3.5 动态脱附解吸曲线

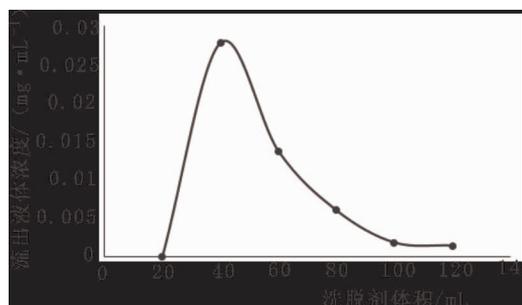


图 4 动态脱附解吸曲线

由图 4 可知, 洗脱剂体积与流出液浓度呈抛物线的变化趋势。当洗脱剂体积达到 40 ml 时, 流出液浓度达到 0.0287 mg·ml<sup>-1</sup>; 随着洗脱剂体积进一步增大, 流出液浓度逐渐降低; 当洗脱剂体积增至 100 ml 的时候, 洗脱剂浓度基本不再变化, 即用 100 ml 浓度为 70% 的乙醇洗脱, 可以将大豆异黄酮解吸, 洗脱峰对称集中, 无明显拖尾现象, 很好的富集和回收了大豆异黄酮。

## 4 结论

(1) 静态吸附特性实验研究表明, 大孔吸附树脂 DM21 是一种较为理想的大豆异黄酮吸附剂, DM21 树脂对大豆异黄酮不仅吸附量大, 而且解吸率高, 可作为分离富集大豆异黄酮最适合的大孔吸附树脂。

(下转第 36 页)