

高俊,王舒雅,冯迟,等.大孔树脂分离富集葛根中葛根素及大豆苷元[J].江苏农业科学,2015,43(9):292-296.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.097

大孔树脂分离富集葛根中葛根素及大豆苷元

高俊^{1,2},王舒雅^{1,2},冯迟^{1,2},雍晓雨^{1,2},周俊^{1,2},刘晓宁^{1,2},张亚兵^{1,2},谢欣欣^{1,2},陈怡露¹,郑涛^{1,2}

(1.南京工业大学生物与制药工程学院,江苏南京 211816; 2.南京工业大学生物能源研究所,江苏南京 211816)

摘要:研究 8 种不同极性大孔吸附树脂对葛根素、大豆苷元的吸附、解吸性能,筛选出分离富集葛根素、大豆苷元的最佳树脂 HP20。利用 HP20 大孔吸附树脂吸附富集葛根中 2 种异黄酮的过程为:上样液用盐酸调节 pH 值为 6,然后采用 HP20 大孔吸附树脂在 5 ℃ 的条件下进行吸附。结果表明,HP20 大孔吸附树脂对葛根素、大豆苷元的饱和吸附量分别为(71.78 ± 0.75)、(21.77 ± 0.01) mg/g;吸附饱和后用去离子水洗涤树脂以除去杂质,在 25 ℃ 条件下用 70% 乙醇解吸,得葛根素、大豆苷元,解吸率分别为 63.39%、80.68%,葛根素纯度由 8.62% 提高到 35.26%,大豆苷元纯度由 0.27% 提高到 10.17%。

关键词:葛根素;大豆苷元;大孔树脂;吸附;解吸;分离;富集;工艺条件

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0292-05

葛根是豆科类植物野葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 的根,是一种常用中药材。我国有着丰富的葛根资源,主要分为粉葛、野葛两大类,尤以野葛的分布最为广泛,且野葛中异黄酮类化合物含量高,常作药用。葛根享有“山人参”的美称,据《神农本草经》记载,葛根具有清热解毒、改善微循环、降血压、调节血脂等作用^[1-2]。葛根素、大豆苷元是葛根中主要的药物活性成分,临床研究表明,葛根素对心脑血管疾病的治愈率达 97.6%,且副作用低,深受患者欢迎;大豆苷元具有防止骨质疏松作用,还能减轻妇女更年期综合症、降低冠心病的发病率、促进神经元的保护和再生^[3-5]。随着物质生活日益丰富,心血管疾病患者不断增多,以葛根异黄酮类化合物为原料的药品是治疗该类疾病的特效药之一,因此,如何分离富

集葛根提取液中的葛根素、大豆苷元成为当下研究的热点。

大孔树脂是一类具有大孔网状结构的高分子有机聚合吸附剂,由于其具有理化性质稳定、吸附选择性独特、吸附和解吸条件温和、重复利用率高、安全无毒等优点,近年来广泛应用于皂苷、黄酮、生物碱等天然产物的分离纯化^[6-9]。目前葛根中异黄酮类化合物的分离富集方法多以葛根素为主,忽略了大豆苷元的市场应用价值,造成一定程度上的资源浪费^[10-11]。本研究选用不同极性的大孔树脂同时分离富集葛根提取液中的葛根素、大豆苷元,考察大孔树脂对葛根素、大豆苷元的吸附洗脱作用和过程动力学,并对优选出的树脂分离富集葛根素、大豆苷元的工艺条件进行研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

葛根 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 购自江苏镇江药材市场,阴干、粉碎后保存备用。对照品为葛根素、大豆苷元, Sigma 公司产品;含量测定用色谱纯甲醇、乙酸为 J&K Chemical Ltd 产品;去离子水为自制;大孔吸附树脂 HPD750、HPD600 购自南开大学化工厂,HP20、D100、SP70、HPD722、HPD450A、HPD500 购自郑州勤实科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

收稿日期:2014-09-16

基金项目:国家“973”计划(编号:2013CB733502);江苏省自然科学基金青年项目(编号:BK20130931、BK20130932)。

作者简介:高俊(1989—),男,江苏泰州人,硕士研究生,主要从事植物活性成分分离及天然药物提取研究。E-mail: gj1981118@njtech.edu.cn。

通信作者:郑涛,博士,教授,主要从事生物燃气、植物药研究与开发、微生物燃料电池研究。E-mail: zhengtiao@njtech.edu.cn。

[5] 王雷,李光友,毛远兴. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J]. 海洋与湖沼,1995,26(2):179-185.

[6] 李天道,于佳,俞开康. 中国对虾血清中酚氧化酶活力研究[J]. 海洋湖沼通报,1998(1):51-56.

[7] 孟凡伦,张玉臻,孔健,等. 甲壳动物中的酚氧化酶原激活系统研究评价[J]. 海洋与湖沼,1999,30(1):110-116.

[8] 李桂英,宋晓玲,孙艳,等. 几株肠道益生菌对凡纳滨对虾非特异免疫力和抗病力的影响[J]. 中国水产科学,2011,18(6):1358-1367.

[9] 胡毅,谭北平,麦康森,等. 饲料中益生菌对凡纳滨对虾生长、肠道菌群及部分免疫指标的影响[J]. 中国水产科学,2008,15

(2):244-251.

[10] 王科,王晓雄,石炳毅. 实时荧光定量 PCR 在细胞因子 mRNA 检测研究中的应用[J]. 北京生物医学工程,2006,25(2):217-221.

[11] Zokaeifar H, Balcázar J L, Saad C R, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(4):683-689.

[12] Palmer C V, Bythell J C, Willis B L. A comparative study of phenoloxidase activity in diseased and bleached colonies of the coral *Acropora millepora* [J]. Development & Comparative Immunology, 2011, 35(10):1098-1101.

1.2 试验仪器

Agilent 1260LC 高效液相色谱仪配 G1311 - B 四元泵、G1311 - B 自动进样器、G1316 - A 柱温箱、G1314 - F 紫外检测器,美国 Agilent 公司; Milli - Q 纯水仪,美国 Millipore 公司;DK - S28 型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;RE - 52A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 大孔树脂的预处理

在室温条件下将树脂用体积分数为 95% 的乙醇浸泡 24 h,每隔一段时间搅拌 1 次,每 8 h 更换 1 次乙醇溶液,之后用去离子水将树脂洗至无乙醇味;用 5% 的 HCl 溶液将树脂浸泡 4 h 后,用去离子水清洗树脂直至清洗液 pH 值为 7;用 5% NaOH 溶液将树脂浸泡 4 h 后,用去离子水清洗树脂直至清洗液 pH 值为 7;最后用蒸馏水浸泡 24 h。试验中所用大孔树脂的性质见表 1。

1.4 葛根提取液的制备

取自然阴干的葛根,粉碎过筛备用。以葛根粉末(60 ~ 80 目)为原料,用体积分数为 70% 的乙醇为提取剂,按料液比 1 g : 8 mL 在 90 ℃ 条件下水浴回流提取 2 h,重复提取 3 次,过滤并合并滤液。将滤液减压蒸馏至无乙醇味,用去离子水分别配置成葛根素、大豆苷元含量为 1.527、0.140 mg/mL 的溶液备用。

表 1 大孔树脂的物理结构参数

树脂	表面积 (m ² /g)	孔径 (nm)	粒径 (mm)	极性	含水率 (%)
HP20	600	260	0.30 ~ 1.25	非极性	69.28
D100	500 ~ 600	100 ~ 150	0.30 ~ 1.25	非极性	63.26
SP70	700	65	0.30 ~ 1.25	弱极性	52.71
HPD722	485 ~ 530	130 ~ 140	0.30 ~ 1.25	弱极性	61.12
HPD450A	500 ~ 550	90 ~ 100	0.30 ~ 1.25	中极性	63.18
HPD750	650 ~ 700	85 ~ 90	0.30 ~ 1.25	中极性	52.78
HPD500	500 ~ 550	55 ~ 75	0.30 ~ 1.25	极性	50.97
HPD600	550 ~ 600	80	0.30 ~ 1.25	极性	70.35

1.5 分析方法

采用高效液相色谱法检测样品液中葛根素、大豆苷元含量^[12-15]。色谱条件: Agilent ODS - C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm); 检测波长 250 nm; 柱温 25 ℃; 流速 1 mL/min; 进样量 5 μL; 流动相: A 相为含 0.1% 乙酸的乙腈溶液, B 相为含 0.1% 乙酸的水溶液, 流动相比配见表 2。

表 2 液相洗脱梯度

时间 (min)	A (%)	B (%)
0 ~ 12	12	88
12 ~ 13	12 ~ 30	88 ~ 70
13 ~ 25	30	70
25 ~ 26	30 ~ 12	70 ~ 88
26 ~ 30	12	88

1.6 葛根素、大豆苷元标准曲线的建立

精确称取 5.00 mg 葛根素标准品、3.00 mg 大豆苷元标准品,用甲醇溶解并于 10 mL 容量瓶中定容,作为标准品贮备液(500 μg/mL 葛根素,300 μg/mL 大豆苷元)。精确量取标准品储备液,用甲醇稀释配制以下浓度的标准品溶液:

250.000、125.000、62.500、31.250、15.625 μg/mL 葛根素; 150.000、75.000、37.500、18.750、9.375 μg/mL 大豆苷元,分别用 0.22 μm 滤膜过滤后按“1.4”节中的色谱条件进行检测,每个浓度重复进样 3 次。

分别以葛根素、大豆苷元浓度为横坐标,以峰面积积分值为纵坐标绘制标准曲线,得葛根素、大豆苷元回归方程: $y = 28\,118.05x + 20.67$ ($r^2 = 0.999\,8$)、 $y = 20\,638.31x + 84.16$ ($r^2 = 0.999\,7$)。浓度分别在 10 ~ 300、5 ~ 250 μg/mL 范围内时葛根素、大豆苷元的浓度与峰面积积分值线性关系良好。

1.7 大孔树脂分离富集葛根素、大豆苷元

1.7.1 树脂的筛选 准确称取预处理过的绝干质量为 0.25 g 的不同型号的湿树脂于 100 mL 锥形瓶中,加入 30 mL 葛根提取液,放入恒温水浴振荡器中。吸附条件: 温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,吸附 24 h 达到吸附平衡后过滤,取 1 mL 滤液,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。按式(1)计算各树脂的吸附量:

$$Q_e = (C_0 - C_e) \times \frac{V_i}{(1 - M)m} \quad (1)$$

式中: Q_e 为吸附质在吸附剂中的平衡吸附量,mg/g; C_e 为平衡时吸附质的浓度,mg/mL; C_0 为葛根提取液初始浓度,mg/mL; V_i 为葛根提取液体积,mL; m 为树脂质量,g; M 为树脂的含水率,%。

将吸附饱和的大孔树脂置于 100 mL 锥形瓶中,加入 10 mL 去离子水冲洗树脂后,过滤弃去去离子水,加入 10 mL 体积分数为 70% 的乙醇溶液,放入水浴振荡器中。解吸条件: 温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,解吸 24 h 后分别取 1 mL 上清液,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。按式(2)计算各树脂解吸率:

$$D = C_d \times \frac{V_d}{(C_0 - C_e)V_i} \times 100\% \quad (2)$$

式中: D 为树脂的解吸率,%; C_d 为解吸液中吸附质的浓度,mg/mL; V_d 为解吸液的体积,mL; C_e 为平衡时吸附质的浓度,mg/mL; C_0 为葛根提取液初始浓度,mg/mL; V_i 为葛根提取液体积,mL。

1.7.2 pH 值对树脂吸附性能的影响 准确称取预处理过的绝干质量为 0.25 g 的不同型号的湿树脂于 100 mL 锥形瓶中,加入 30 mL 不同 pH 值的葛根提取液(pH 值分别为 5、6、7、8、9,溶液的 pH 值用 HCl、NaOH 调节),放入恒温水浴振荡器中。吸附条件: 温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,吸附 24 h 后分别取样 1 mL,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。

1.7.3 解吸液乙醇浓度对树脂解吸性能的影响 准确称取预处理过的绝干质量为 0.25 g 的不同型号的湿树脂于 100 mL 锥形瓶中,加入 30 mL 葛根提取液,放入恒温水浴振荡器中。设定温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,当达到吸附平衡以后,过滤,用 10 mL 去离子水冲洗树脂,之后加入 10 mL 不同体积分数的乙醇溶液(60%、70%、80%、90%、100%),放入水浴振荡器中,设定温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,解吸 24 h 分别取样 1 mL,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。

1.7.4 树脂的吸附动力学曲线 分别称取 3 份预处理过的、绝干质量为 2.5 g 的大孔吸附树脂,置于 1 000 mL 具塞锥形

瓶中,分别将 300 mL 葛根提取液加入到装有树脂的锥形瓶中,并将锥形瓶放入水浴振荡器中,设置温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,分别于 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、4.00、6.00 h 时取样 1 mL,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。

1.7.5 树脂的解吸动力学曲线 分别称取 3 份预处理过的绝干质量为 2.5 g 的大孔吸附树脂,置于 1 000 mL 具塞锥形瓶中,分别将 300 mL 葛根提取液加入到装有树脂的锥形瓶中,并将锥形瓶放入水浴振荡器中,设定温度为 25 ℃、转速为 120 r/min;当达到吸附平衡以后,过滤,用去离子水冲洗树脂,之后加入 20 mL 体积分数为 70% 的乙醇溶液,放入水浴振荡器中,设定温度为 25 ℃、转速为 120 r/min,分别于 5、10、20、30、40、50、60 min 取样 1 mL,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。

1.7.6 树脂的吸附等温曲线 称取若干份预处理好的 HP20 树脂,每份绝干质量 0.25 g,分别加入 30 mL 不同浓度的葛根提取液,在 5、25、45 ℃ 的条件下分别吸附 2 h 后取样 1 mL,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测。绘制出在不同温度条件下的吸附等温线,并利用 Langmuir 方程进行参数拟合。

1.7.7 葛根素、大豆苷元纯度的计算 将 HP20 树脂解吸液减压浓缩至干,得葛根异黄酮粗品。称取 25 mg 葛根异黄酮粗品,定容至 25 mL 的容量瓶中,取样 1 mL 用 0.22 μm 滤膜过滤后,用 HPLC 检测葛根素、大豆苷元的含量,并按式(3)计算其纯度:

$$F = \frac{C_f V_f}{m} \times 100\% \quad (3)$$

式中: F 为纯度,%; C_f 为溶液中吸附质的浓度,mg/mL; V_f 为溶液的体积,mL; m 为葛根异黄酮粗品的质量,mg。

2 结果与分析

2.1 大孔吸附树脂的吸附量、解吸率

不同大孔树脂对葛根素、大豆苷元的吸附和解吸性能有很大差异。如图 1-a 所示,多数非极性、弱极性、中级性树脂的吸附能力明显优于极性树脂,这是因为树脂对葛根素、大豆苷元的吸附特性主要表现为通过范德华力进行吸附,从而有利于非极性、弱极性、中级性树脂的吸附^[16];HP20、HPD722、HPD450A 型树脂表现出了较好的吸附性能,对葛根素、大豆苷元的吸附量都很高,其中 HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附量分别达(61.78 ± 0.36)、(12.77 ± 0.02) mg/g。

如图 1-b 所示,在解吸试验中,不同极性的树脂对葛根素、大豆苷元的解吸能力有所不同。大孔树脂对于葛根素的解吸能力大致随着极性的升高而增强;而对于大豆苷元,大孔树脂的解吸能力大致随着极性的升高而降低,这可能是由于吸附作用力强,解吸起来就会困难。综合考虑树脂的吸附量和解吸率,HP20 型树脂对于葛根素、大豆苷元的吸附和解吸能力与其他树脂相比高,因此选用 HP20 型树脂进行上样液 pH 值对树脂吸附性能影响的试验。

2.2 上样液 pH 值对树脂吸附性能的影响

吸附溶液的 pH 值是影响树脂吸附性能的关键参数,这主要在于 pH 值影响溶质的电离程度,从而影响溶质与溶液之间的亲和力。如图 2 所示,当 pH 值在 5~6 时,葛根素、大豆苷元的吸附量随着 pH 值的升高而增加;当 pH 值大于 6

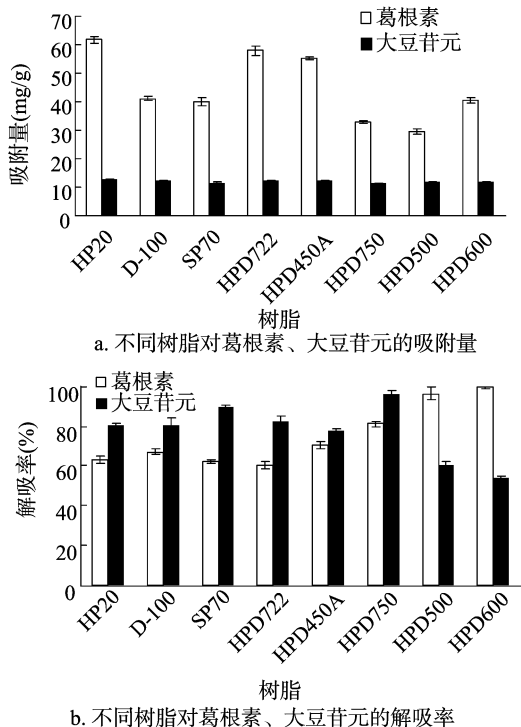


图1 不同树脂对葛根素和大豆苷元的吸附量和解吸率

后,葛根素、大豆苷元的吸附量随着 pH 值的增加而减少。这是由于葛根素、大豆苷元具有多酚结构,在碱性条件下,以离子形式存在,容易转化为盐溶于水中,而大孔树脂只吸附分子形态的物质,离子形态的物质不易被其吸附;在弱酸性环境中葛根素、大豆苷元以分子状态存在,易与大孔树脂之间形成氢键而产生吸附作用^[8,16]。因此,之后的试验选择在 pH 值为 6 的条件下进行。

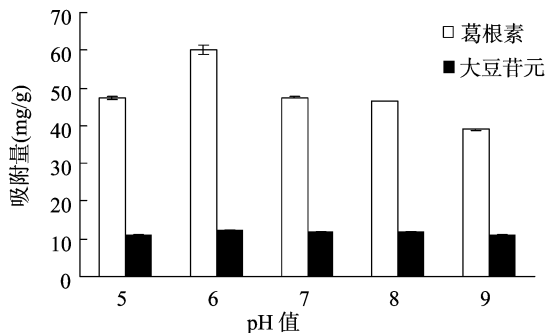


图2 不同溶液 pH 值对 HP20 树脂的葛根素、大豆苷元吸附性能的影响

2.3 解吸剂浓度对树脂解吸性能的影响

由图 3 可以看出,在解吸过程中,随着乙醇浓度的提高,葛根素的解吸率呈上升趋势;但当解吸液中乙醇浓度高于 70% 时,解吸率略有下降。大豆苷元的解吸率随着乙醇浓度的增加而升高,当乙醇浓度高于 80% 时,解吸率基本保持不变。这些结果主要是因为对于非极性大孔吸附树脂 HP20 来说,洗脱剂极性越小,洗脱能力越强;同时,解吸剂的解吸能力也与目标物质在解吸剂中的溶解度有关。综合考虑葛根素、大豆苷元的经济价值,最终选择 70% 的乙醇作为解吸剂。

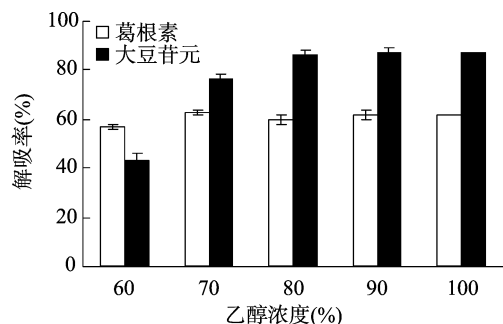


图3 乙醇浓度对 HP20 树脂解吸性能的影响

2.4 HP20 树脂的吸附动力学曲线

通过试验得到了在 25 ℃ 时 HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附动力学曲线。如图 4 所示,葛根素、大豆苷元的吸附动力学曲线具有相似的趋势:在吸附 1 h 内,HP20 树脂对于葛根素、大豆苷元的吸附量随着时间的延长而增加;在 1 h 之后吸附量趋于平稳,因此 HP20 树脂在吸附 1 h 时达到吸附平衡状态。可以看出,HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附属于快速吸附平衡,较短的平衡时间为树脂的工业应用提供了理论基础。

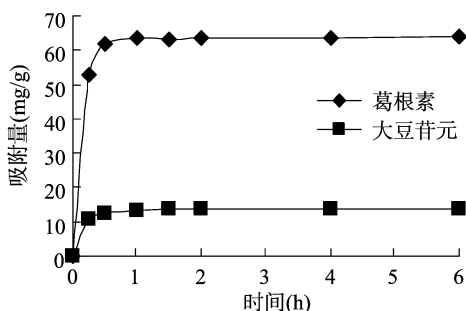


图4 HP20树脂对葛根素、大豆苷元的吸附动力学曲线

2.5 树脂的解吸动力学曲线

如图 5 所示,0 ~ 20 min 内随着解吸剂和树脂接触时间的延长,解吸率迅速增大并在 20 min 后趋于平稳,因此 HP20 树脂在刚开始的 20 min 是解吸的关键阶段,当接触时间为 20 min 时已达到解吸平衡。由此可见,试验中所选的解吸剂所需时间较短,20 min 就可以使葛根素、大豆苷元从树脂上解吸下来。

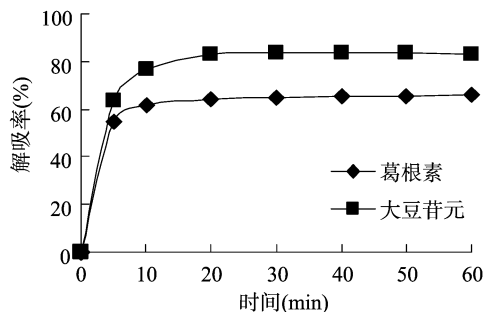
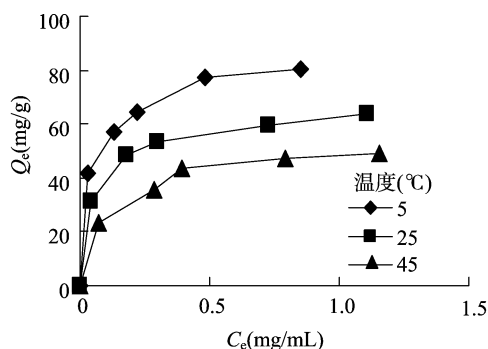


图5 HP20树脂对葛根素、大豆苷元的解吸动力学曲线

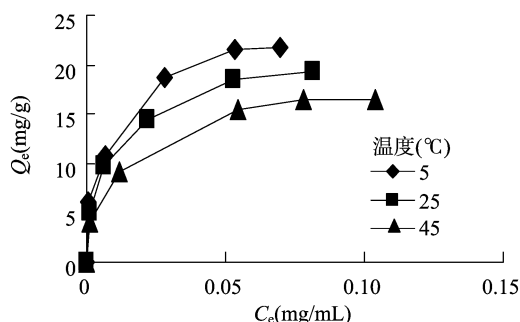
2.6 树脂的吸附等温曲线

分别在 5、25、45 ℃ 的温度条件下进行吸附等温线试验,葛根素的初始浓度分别为 1.562 7、1.188 1、0.756 1、0.579 3、0.326 4 mg/mL,大豆苷元的初始浓度分别为

0.242 1、0.215 8、0.142 2、0.087 5、0.043 4 mg/mL。从图 6 可以看出,根据 Giles 等划分的 4 种等温线类型(L 形、S 形、H 形、C 形)^[17],HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附属于 L 形吸附,类似 Brunauer 等划分的气体吸附等温线第 I 型吸附,表现出单分子层吸附的特征:在压力一定的条件下温度越高,吸附量越低;随着温度的升高,吸附能力降低;吸附过程是一个放热过程。这与试验结果相符,在初始浓度相同的条件下树脂的吸附能力随着温度的上升而降低^[18],如图 6 所示,HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的平衡吸附量随着初始浓度增大而增加;当葛根素、大豆苷元的初始浓度分别达到 1.188 1、0.215 8 mg/mL 后,HP20 树脂的平衡吸附量基本保持不变,所以选择 1.188 1、0.215 8 mg/mL 为葛根素、大豆苷元的上样浓度。



a. HP20 树脂对葛根素的吸附等温线



b. HP20 树脂对大豆苷元的吸附等温线

图中 5 个点的初始浓度与“2.6”节一致

图6 HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附等温线

对大孔树脂吸附葛根素、大豆苷元的等温线加以研究,可进一步了解其吸附分离过程。Langmuir 方程是常用的吸附等温线研究模型:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{q_0} + \frac{1}{Kq_0} \quad (4)$$

式中: q_0 为经验系数; K 为吸附平衡常数; Q_e 为吸附质在吸附剂中的平衡吸附量,mg/g; C_e 为平衡时吸附质的浓度,mg/mL。

根据静态吸附等温线试验的数据,用 Langmuir 等温方程进行拟合,方程的参数见表 3。可以看出,Langmuir 方程的相关系数都很高,说明 HP20 树脂吸附葛根素、大豆苷元的过程是单分子层吸附^[19-21]。HP20 树脂吸附葛根素、大豆苷元的 Langmuir 方程的 r^2 值在吸附温度为 5 ℃ 时最高,分别为 0.999、0.995,这表示在 5 ℃ 的条件下 HP20 树脂对葛根素、大豆苷元的吸附能力最强,饱和吸附量分别为 $(71.78 \pm$

0.75)、(21.77 ± 0.01) mg/g,解吸率分别为 63.39%、80.68%。将解吸液减压浓缩至干,得葛根异黄酮粗品。用 HPLC 检测葛根素、大豆苷元的含量,并计算其纯度,发现葛根素纯度由 8.62% 提高到 35.26%,大豆苷元纯度由 0.27% 提高到 10.17%。

表 3 HP20 树脂在不同温度下吸附葛根素和大豆苷元
元的 Langmuir 方程参数

温度 (℃)	葛根素		大豆苷元	
	Langmuir 方程	r ² 值	Langmuir 方程	r ² 值
5	$Q_e = \frac{84.96C_e}{0.0518 + C_e}$	0.999	$Q_e = \frac{23.26C_e}{0.0052 + C_e}$	0.995
25	$Q_e = \frac{65.83C_e}{0.0652 + C_e}$	0.993	$Q_e = \frac{20.83C_e}{0.0059 + C_e}$	0.993
45	$Q_e = \frac{53.59C_e}{0.1093 + C_e}$	0.991	$Q_e = \frac{17.86C_e}{0.0093 + C_e}$	0.987

3 结论

通过对 8 种国产大孔树脂对葛根素、大豆苷元的静态吸附容量和解吸率等指标的考察,筛选出 HP20 大孔吸附树脂作为分离富集葛根素、大豆苷元的载体。

HP20 型大孔吸附树脂分离富集葛根素、大豆苷元的最佳工艺条件为:上样液 pH 值为 6;上样液浓度:葛根素 1.188 1 mg/mL、大豆苷元 0.215 8 mg/mL;吸附时间:1 h;吸附温度:5℃;解吸剂:70% 乙醇;解吸时间:20 min。在优选的吸附与解析工艺条件下葛根素、大豆苷元的饱和吸附量分别为 (71.78 ± 0.75)、(21.77 ± 0.01) mg/g,解吸率分别为 63.39%、80.68%。将解吸液减压浓缩至干,得葛根异黄酮粗品。用 HPLC 检测葛根素、大豆苷元的含量,并计算其纯度,发现葛根素纯度由 8.62% 提高到 35.26%,大豆苷元纯度由 0.27% 提高到 10.17%。

树脂对葛根素、大豆苷元的吸附属于 L 形吸附,为单分子层吸附。上样液质量浓度对树脂的吸附效率存在较大影响,在一定质量浓度范围内,提高上样液质量浓度有利于改善树脂对葛根黄酮的吸附。当葛根素、大豆苷元的浓度分别为 1.188 1、0.215 8 mg/mL 时,HP20 树脂的平衡吸附量最高。

本研究提出的方法可以快速有效地分离富集葛根素、大豆苷元,并且具有成本低、吸附量大、吸附速度快、分离富集稳定性好等特点,这种分离富集方法适合用于葛根素、大豆苷元的产业化生产。

参考文献:

[1]张雁,张孝祺,吴伟琪,等. 葛根资源的开发利用[J]. 中国野生植物资源,2000,19(6):26-29.
[2]Wong K H,Li G Q,Li K M,et al. Kudzu root:traditional uses and potential medicinal benefits in diabetes and cardiovascular diseases[J]. Journal of Ethnopharmacology,2011,134(3):584-607.
[3]Wu S B,Su J J,Sun L H,et al. Triterpenoids and steroids from the

fruits of *Melia toosendan* and their cytotoxic effects on two human cancer cell lines[J]. Journal of Natural Products,2010,73(11):1898-1906.
[4]Mitich L W. Kudzu [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi][J]. Weed Technology,2000,14(1):231-235.
[5]Guerra M C,Speroni E,Broccoli M,et al. Comparison between Chinese medical herb *Pueraria lobata* crude extract and its main isoflavone puerarin antioxidant properties and effects on rat liver CYP-catalysed drug metabolism[J]. Life Sciences,2000,67(24):2997-3006.
[6]张琳,杨磊,牛卉颖,等. 大孔树脂吸附分离长春花中的文多灵、长春质碱和长春碱[J]. 化工学报,2008,59(3):607-614.
[7]李胜华,伍贤进,牛友芽,等. 大孔树脂纯化多穗柯总黄酮的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2009(5):266-268,290.
[8]Fu B,Liu J,Li H,et al. The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid[J]. Journal of Chromatography A,2005,1089(1/2):18-24.
[9]杨磊,隋小宇,马春慧,等. 大孔吸附树脂纯化迷迭香脂溶性总酚酸的研究[J]. 离子交换与吸附,2009,25(3):225-232.
[10]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.
[11]李治龙,刘新华,张越峰,等. 大孔树脂 XDA-8 对孜然总黄酮吸附性能的研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(8):264-267.
[12]Jia G,Lu X. Enrichment and purification of madecassoside and asiaticoside from *Centella asiatica* extracts with macroporous resins[J]. Journal of Chromatography A,2008,1193(1):136-141.
[13]Cherdshewasart W,Subtang S,Dahlan W. Major isoflavonoid contents of the phytoestrogen rich-herb *Pueraria mirifica* in comparison with *Pueraria lobata*[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2007,43(2):428-434.
[14]庄晓梅,韩淑琴,李志锐. 葛根总黄酮提取物成分的 HPLC 测定[J]. 安徽农业科学,2011,39(20):12156-12157.
[15]Wu S B,Wen Y,Li X W,et al. Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae)[J]. Biochemical Systematics and Ecology,2009,37(1):1-5.
[16]周剑,丁玉峰. 大孔吸附树脂分离中草药有效成分的应用[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(1):69-71.
[17]Giles C H,MacEwan T H,Nakhwa S N,et al. Studies in adsorption, part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids[J]. Journal of the Chemical Society,1960:3973-3993.
[18]Brunauer S,Emmett P H,Teller E. Adsorption of gases in multimolecular layers[J]. Journal of the American Chemical Society,1938,60:309-319.
[19]李文俐,周彩荣. D301 大孔吸附树脂吸附甘氨酸[J]. 化工学报,2014(8):3032-3038.
[20]陈一良,潘丙才,孟凡伟,等. 苯酚及对硝基酚在大孔树脂上吸附等温线的研究[J]. 离子交换与吸附,2004,20(3):205-213.
[21]宋应华,朱家文,陈葵,等. 大孔吸附树脂对红霉素的平衡吸附行为及其热力学性质[J]. 化工学报,2006,57(4):715-718.