

大孔树脂对葛根黄酮的吸附分离特性研究

潘 见 陈 强 谢慧明 张 鉴 王国霞

(合肥工业大学)

摘 要 选择 10 种大孔吸附树脂, 比较其对葛根黄酮的吸附率与解吸率, 筛选较优的葛根黄酮吸附剂。研究表明, AB-8 树脂较宜于葛根黄酮的提纯, 经 AB-8 树脂吸附分离后, 提取物中黄酮含量提高近一倍。

关键词 葛根黄酮 大孔吸附树脂 吸附 解吸

葛根浸取粗提物中含多种成份, 如入药, 必须对粗提物进行选择分离, 提高葛根黄酮的纯度。选择性分离的一种有效方法是利用大孔树脂吸附。大孔吸附树脂是近十年来发展起来的一类有机高分子聚合物吸附剂, 它具有物理化学稳定性高、吸附选择性独特, 不受无机物存在的影响, 再生简便、解吸条件温和、使用周期长、宜于构成闭路循环、节省费用等诸多优点, 广泛用于生物物质的分离纯化, 本文选择 10 种树脂, 比较其对葛根黄酮的吸附特性, 以选择较为合适的工业化生产用树脂。

1 试验仪器、材料与试剂

UV-VIS 7550 分光光度计(上海分析仪器三厂)、pHS-2C 精密酸度计(上海雷磁仪器三厂)、吸附柱(自制)。

X-5, H107, S-8, AB-8, NKA-9, D3520, D4006 树脂, 天津南开大学化工厂; SIP1300, SIP1400 树脂, 上海医药工业研究院; ZTC(黄酮专用)树脂, 天津正天成澄清技术有限公司。各种树脂物理性能列于表 1。葛根素对照品, 中国药品生物制品检定所提供。试剂均为分析纯。

表 1 吸附树脂的物理性能

Tab 1 Ten kinds of macroreticular resin's physical property

树 脂	极 性	粒径范围 /mm	比表面积 /m ² · g ⁻¹	平均孔径 /nm	孔隙率 /%	孔容 mL/g
S-8	极 性	0.3~1.25	100~120	28.0~30.0	0.78~0.82	
ZTC(黄酮专用)	极 性	0.3~1.25	250~300	45~50	1.50~1.65	
AB-8	弱极性	0.3~1.25	480~520	13.0~14.0	42~46	0.73~0.77
NKA-9	极 性	0.3~1.25	250~290	15.5~16.5	46~50	
X-5	非极性	0.3~1.25	500~600	29.0~30.0	50~60	1.20~1.40
SIP1300	非极性		550~580	6.0		0.85~0.92
SIP1400	非极性		600~650	7.0		1.0~1.1
D3520	非极性	0.3~1.0	480~520	8.5~9.0	65~70	2.10~2.15
H107	非极性	0.3~0.6	1000~1300		62~66	1.25~1.29
D4006	非极性	0.3~1.0	400~440	6.5~7.5	43~48	0.73~0.77

2 试验方法

2.1 树脂的预处理

除 H107 外各树脂经筛选后, 先用乙醇浸泡充分溶胀, 然后用乙醇洗至洗出液加适量水无白色浑浊现象, 再用去离子水洗尽醇, 最后转入酸碱处理(用 4BV 的 5 % HCl 溶液, 以 5BV/h 的流速通过树脂层, 并浸泡 3 h, 而后用去离子水以同样流速洗至出水 pH 值为中性; 用 4BV 的 5 % NaOH 溶液, 以 5BV/h 的流速通过树脂层, 并浸泡 3 h, 而后用去离子水以同样流速洗至出水 pH 值中性)。H107 树脂先用 10 % 的盐酸处理, 然后用去离子水洗除盐酸, 再重复上述操作。

2.2 葛根黄酮检测方法

葛根总黄酮含量测定采用以葛根素为对照品的分光光度法。

1) 标准曲线的绘制 精密称取干燥至恒重的葛根素 5 mg, 于 25 mL 容量瓶中, 以 95 % 乙醇(AR) 溶解, 并稀释至刻度, 精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 取 95 % 乙醇加至 1.0 mL, 再精密加水至 10 mL, 摇匀。同时另取 1.0 mL 乙醇加水至 10 mL 作空白对照, 在 250 nm 波长处测定吸收度。处理数据, 回归方程为: $A = 82.25C + 0.0121$; $r = 0.9995$ 。

2) 提取物中总黄酮含量的测定 精密称取干浸膏粉末 25 mg 放入 50 mL 容量瓶中, 加入 25 mL 95 % 乙醇, 置超声波发生器中振荡使其溶解, 冷却后加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 吸取 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀, 取 1.0 mL 乙醇同样稀释作空白对照, 在 250 nm 波长测定吸收度。最后, 从标准曲线上换算出总黄酮。并根据出膏率和浸膏中总黄酮含量换算出得率。

2.3 树脂对葛根黄酮的吸附率测定

树脂单位质量的吸附黄酮量是设备设计的重要参数并影响到生产成本。选择 10 种树脂进行吸附率的比较测定。测定方法为: 准确称取经预处理的树脂装入塞磨口三角瓶中, 精密加入葛根黄酮水溶液并置电动振荡机上振荡 24 h, 充分吸附后, 滤过, 测定滤液中剩余黄酮浓度, 按下式计算各树脂室温下的吸附量 (mg/mL)

$$Q = (C_0 - C_r) \cdot V / W$$

式中 Q —— 吸附率, mg/g; C_0 —— 初始浓度, mg/mL; C_r —— 剩余浓度, mg/mL;
 V —— 溶液体积, mL, W —— 树脂质量, g。

2.4 树脂的解吸率测定

吸附树脂在分离植物有效成份时的应用是利用吸附的可逆性(即解吸)。由于树脂极性不同, 对葛根黄酮吸附作用力强弱不同, 解吸难易也会不一样。因此, 生产上希望树脂不仅吸附量大, 还要求解吸率高, 以保证有效成份最大限度回收。解吸率测定是树脂试验的重要环节。

取按照 2.3 的方法吸附饱和的树脂, 精密加入 95 % 的乙醇, 浸泡振摇 24 h, 滤过, 测定滤液黄酮浓度, 根据黄酮解吸量计算解吸率(%)。

2.5 树脂的吸附动力学特性测定

树脂的吸附动力学特性与吸附操作的生产率密切相关。根据吸附率和解吸率的测定比较, 选择 2 种较理想的树脂测定吸附速率。

3 实验结果及分析

用 10 种树脂对葛根黄酮粗提液进行处理, 在初始浓度均为 4.96 mg/mL 的条件下, 测其

吸附后平衡浓度(即树脂充分吸附后, 吸附液的剩余浓度), 可得不同树脂对葛根黄酮的吸附率和经吸附分离处理后浸膏中黄酮的含量, 表 2 的结果说明树脂 S-8、AB-8、ZTC(黄酮专用), 具有较大的吸附率。

表 2 树脂对葛根黄酮的吸附率及吸附分离处理后浸膏中黄酮含量

Tab 2 Macroreticular resin's absorption rate to Pueraria isoflavones and content in extractive

树脂种类	S-8	ZTC 型	AB-8	NKA-9	X-5	SIP1300	SIP1400	D3520	H107	D4006
平衡浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.54	2.47	2.08	3.30	2.68	3.91	2.65	3.56	3.61	4.38
吸附率/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	256.5	186.75	216	124.5	171	78.75	173.25	105	101.25	43.5
浸膏黄酮含量/%	86.6	85.2	83.5	85.9	76.7	49.4	64.8	50.7	52.0	44.6

表 2 同时表明用 S-8、ZTC(黄酮专用)、NKA-9、AB-8 树脂吸附处理后, 浸膏黄酮含量较高, 均在 80% 以上, 约为浸提后直接干燥所得浸膏黄酮含量的 2 倍, 树脂吸附分离对提高浸膏黄酮含量具有显著效果。

再利用 95% 的乙醇, 在 $V = 50 \text{ mL}$, $T = 20$ 的条件下进行解吸, 各牌号树脂的解吸率实验数据见表 3。

表 3 95% 乙醇对葛根黄酮的解吸率

Tab 3 95% EtOH Desorption rate to Pueraria isoflavones

树脂种类	S-8	ZTC(黄酮)	AB-8	NKA-9	X-5	SIP1300	SIP1400	D3520	H107	D4006
解吸前吸附黄酮量/ mg	612	472	533	332	438	219	443	285	276	125
解吸液浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.861	0.924	1.048	0.649	0.870	0.363	0.718	0.538	0.458	0.235
解吸率/%	70.30	97.88	98.33	97.71	99.29	82.88	81.04	94.35	83.03	93.92

从表 3 可以看出, 树脂 ZTC(黄酮专用)、AB-8、NKA-9、X-5 的解吸率较高, 均在 97% 以上, 可以粗略认为葛根黄酮已从树脂上基本全部解吸。

树脂的极性(功能基)和空间结构(孔径、比表面、孔容)是影响吸附性能的重要因素。实验所用树脂为聚苯乙烯型, 有极性、非极性、弱极性 3 种类型。从表 2 可见, 极性或弱极性的树脂对葛根黄酮吸附量较大, 如树脂 S-8、AB-8、ZTC(黄酮专用)等。这是由于葛根黄酮具有酚羟基和糖苷链, 有一定的极性和亲水性, 生成氢键的能力较强, 有利于弱极性和极性树脂的吸附。相对来说非极性树脂对葛根黄酮的吸附量偏小。另外, 在某些情况下, 吸附作用力强, 解吸起来就会困难, 如 S-8 树脂吸附量大但解吸率较低(表 3), 不适用于分离。

树脂仅具有适当的功能基还不够, 具有较高的比表面积对吸附将更为有利。大孔树脂吸附原理主要为物理吸附, 所以比表面积增加, 表面张力随之增大, 吸附量提高, 对吸附有利。如树脂 AB-8 孔径虽然与 NKA-9 相近, 但由于比表面明显大于 NKA-9, 其黄酮吸附量也显著大于 NKA-9。SIP1300、SIP1400 树脂由于比表面较大, 虽为非极性树脂, 但仍有一定的吸附量(表 2)。比重较大的吸附树脂可提高单位体积湿树脂总表面积, 从而使树脂吸附量明显增加。

被吸附物通过树脂的孔径扩散到树脂孔内表面而被吸附, 只有当孔径足够大时, 比表面积才能充分发挥作用。因此树脂吸附能力大小与葛根黄酮的分子量和构型有关, 孔径大小直接影响不同大小分子的自由出入, 从而使树脂吸附具有一定的选择性。葛根黄酮各组分的分子量较大(大豆甾元分子量为 254.2, 葛根素为 416.4, 7-木糖-葛根素、大豆甾元-4, 7-二葡萄糖甾等的分子量更高), 使用孔径较大的树脂有利于吸附, 若平均孔径较小, 会造成吸附速度较慢, 解吸不够集中, 杂质分离效果差。从表 1 可见吸附量大的树脂 AB-8、S-8 都具有较大的孔径, 而孔径小于 100Å 的树脂吸附量都不够大。

根据吸附量、比表面积和孔径三者的关系,并非在比表面积高的前提下孔径越大越好,这是因为:第一,孔径太大使失去了选择性;第二,孔径大,比表面积又高,势必使孔体积增大,到一定程度树脂强度便下降;第三,孔体积增大还会引起体积比表面积(即每 1 mL 湿树脂所具有的比表面积 m^2/mL)下降,反而会使吸附量下降。在实际应用中,对吸附量真正起作用的是体积比表面积。孔容的大小直接影响树脂的体积比表面积,孔体积增大引起体积比表面积下降,反而使吸附量下降。对 D 3520 来讲,孔容大是其吸附量较小的原因之一。而 S-8、AB-8 树脂孔容都小,体积比表面积大,因而吸附量都较大。

通过以上实验和分析,选择较为合适的 AB-8 和 ZTC (黄酮专用) 两种树脂进行吸附动力学实验。图 1 为两种树脂的静态吸附动力学曲线,图 2 给出葛根黄酮吸附率与时间的关系。

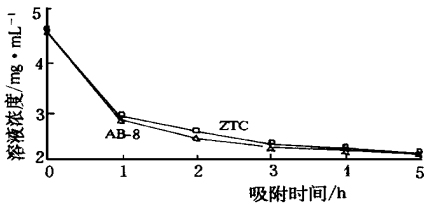


图 1 AB-8、ZTC 树脂对葛根黄酮的静态吸附动力学曲线
树脂 吸附液= 400 30

Fig 1 The static-absorption dynamic curve of AB-8 and ZTC absorb Pueraria isoflavones

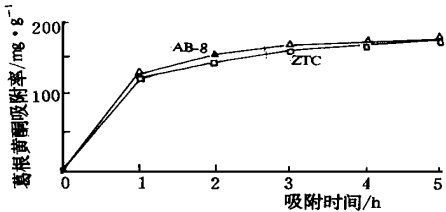


图 2 AB-8、ZTC 树脂对葛根黄酮吸附率与时间的关系
树脂 吸附液= 400 30
溶液初始浓度为 4.52 mg/mL

Fig 2 The relation between Pueraria isoflavones' absorption rate and time (AB-8 and ZTC)

表 4 为 AB-8 和 ZTC 树脂吸附葛根黄酮时 5 h 内各时刻的溶液浓度及吸附量,可以看到两种树脂起始阶段吸附量都较大,在 1 h 内吸附量分别为 131.25、125.25 mg/g 。结合表 2 所测得的吸附平衡浓度,分析两种树脂在相同时间内所达平衡的程度,可以看出,AB-8 在 5 h 处吸附量为平衡吸附量的 82.63%,经曲线拟合得在 5 h 内 AB-8 树脂黄酮吸附量 Q_t 与时间 t 的关系为

$$Q_t = 29.687 \ln t + 132.82, r = 0.9932$$

而 ZTC 树脂在 5 h 处吸附量达平衡吸附量的 95.18%,为快速吸附类型的吸附树脂。经曲线拟合的在 5 h 内 ZTC (黄酮专用) 树脂黄酮吸附量 Q_t 与时间 t 的关系为

$$Q_t = 32.308 \ln t + 124.92, r = 0.9978$$

从以上各吸附条件综合分析可知 AB-8 树脂对葛根黄酮具有良好的吸附动力学特性,较其他种类树脂适宜于工业化生产。

表 4 5 小时内各时刻的溶液浓度及黄酮吸附量

Tab. 5 Concentration and absorption of Pueraria isoflavones in five hours

吸附时间/h		0	1	2	3	4	5
溶液浓度 / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	AB-8	4.52	2.77	2.46	2.27	2.21	2.14
	ZTC (黄酮)	4.52	2.85	2.57	2.36	2.28	2.15
黄酮吸附量 / mg	AB-8	0	131.25	154.5	168.75	173.25	178.5
	ZTC (黄酮)	0	125.25	146.25	162	168	177.75

注:树脂 吸附液= 400 30, $T = 20$ 。

4 结 论

通过测定分析 10 种吸附树脂对葛根黄酮的吸附特性, 综合考虑多方面因素, AB-8 树脂具有适当孔径、较高比表面积、较大比重, 葛根黄酮吸附量大, 解吸容易, 吸附后浸膏黄酮含量高, 是一种性能良好的葛根黄酮吸附剂。若配合适当的工艺条件, 有可能取得最佳生产效果。

参 考 文 献

- 1 潘 见, 陈 强, 谢慧明等 葛根黄酮浸取工艺优化研究 农业工程学报, 1998, 14(4): 230~ 233
- 2 麻秀萍, 蒋朝晖, 杨玉琴等 大孔树脂对银杏叶黄酮的吸附研究, 中国中药杂志 1997, 22(9): 539~ 542
- 3 章燕豪编著 吸附作用 上海: 上海科学技术文献出版社, 1989 189
- 4 刘永宁, 范云鸽, 史作清等 CD-8 吸附树脂提取分离甜叶菊废叶中叶绿素的研究 离子交换与吸附 1993, 9(4): 326~ 329

Performance of Absorption and Separation of the Macroreticular Resin for Pueraria Isoflavones

Pan Jian Chen Qiang Xie Huiming Zhang Jian Wang Guoxia

(Hefei University of Technology, Hefei)

Abstract Through the comparisons among ten kinds of macroreticular resin's absorption and desorption, AB-8 resin is selected as Pueraria isoflavones's absorbent. Experiment results showed that AB-8 resin possesses high absorption capacity. After absorption, the content of isoflavone is doubled.

Key words pueraria isoflavones, macroreticular resin, absorption, desorption