

大孔树脂分离纯化横山老黑豆酚类物质

朱怡霖, 张海生*, 赵鑫帅, 薛焕焕, 薛菁, 孙钰涵

(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 比较 8 种大孔树脂对横山老黑豆酚类化合物的静态吸附和解吸特性, 筛选出分离最佳的大孔树脂, 分析静态吸附动力学曲线和最佳的乙醇解吸体积分数, 优化不同的样品质量浓度和不同上样流速动态吸附工艺参数。HPLC 方法确定 8 种酚酸含量以及 5 种异黄酮含量。结果表明, NKA-9 大孔树脂的静态吸附和解吸对横山老黑豆酚类化合物的效果最好, 静态吸附 4 h 可达到平衡, 乙醇解吸体积分数为 70%。动态吸附和解吸参数: 样品上样质量浓度为 1.96 mg/mL, 上样流速为 2.14 BV/h。HPLC 分析和鉴定 NKA-9 大孔树脂分离纯化前后的横山老黑豆酚类物质种类没有变化, 含量降低很少。横山老黑豆酚类物质中原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、大豆苷和染料木苷含量较高。

关键词: 横山老黑豆; 酚类化合物; 大孔树脂; 分离纯化

中图分类号: TS 255.1 文章编号: 1673-1689(2019)09-0103-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.09.015

Separation and Purification of Polyphenol in Hengshan Black Soybean by Macroporous Resin

ZHU Yilin, ZHANG Haisheng*, ZHAO Xinshuai, XUE Huanhuan, XUE Jing, SUN Yuhan

(School of Food Engineering and Nutrition Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: The optimum separating macroporous resin were selected through comparing static adsorption and desorption characteristics of eight macroporous resins for the total phenols of Hengshan black soybean. Analysing absorption kinetic curve and ethanol desorption concentration, different samples concentration and flow rate were optimized. HPLC was used to determine the contents of phenol acids and isoflavones in Hengshan black soybean. The results showed that NKA-9 macroporous resin possess the best capability of adsorption and desorption. The macroporous resin was in equilibrium within 4h. The optimum separation conditions were as follows: eluent 70% ethanol, sample concentration 1.96 mg/mL, flow rate 2.14 BV/h. HPLC method indicated that the categories of polyphenols in Hengshan black soybean were not changed after adsorption and desorption experiments by NKA-9 macroporous resin, the content decreased a little. The contents of protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, daidzin and genistin were higher.

Keywords: Hengshan black soybean, phenolic compound, macroporous resin, separating and purifying

收稿日期: 2017-01-10

基金项目: 陕西师范大学中央高校基本科研业务费资助项目——创新团队项目(GK201601007); 榆林市科技计划项目(2012cxy3-11)。

* 通信作者: 张海生(1965—), 男, 博士, 副教授, 主要从事主要农产品加工及功能食品研究。E-mail: hshzh1965@snnu.edu.cn

引用本文: 朱怡霖, 张海生, 赵鑫帅, 等. 大孔树脂分离纯化横山老黑豆酚类物质[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(09): 103-110.

黑豆是植物中营养丰富的保健佳品,具有延缓衰老等生物活性,酚类物质是重要的生理活性物质^[1-6]。横山老黑豆是榆林地区重点培育的黑豆品种之一,分析横山老黑豆中的多酚及其组成成分,并用大孔树脂分离纯化横山老黑豆生物活性物质^[3]。黑豆中含有较高的酚类化合物^[7-8],主要分布于种皮中,黑豆中的酚类化合物远高于黄豆,鉴定出黑豆中含有没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸、香豆酸、绿原酸等酚酸类物质和大豆苷、大豆苷元、黄豆黄苷、染料木苷和染料木素等 12 种异黄酮^[7,9-10]。已有研究表明黑豆多酚具有较高的抗氧化、抗肿瘤和抑制前列腺增生等生物活性,但黑豆多酚的分离纯化和鉴定方面的研究鲜见报道^[11-14]。大孔吸附树脂具有物理化学稳定性高、吸附容量大、选择性好、再生处理方便、节省费用等优点,是一种常用有效的分离纯化多酚物质的方法^[14-16]。不同物质的多酚物质种类及含量差异较大,不同种类的大孔树脂对酚类物质的分离纯化效果也存在较大的差异^[17-18]。作者以横山老黑豆为原料,通过比较 8 种大孔树脂对横山老黑豆酚类化合物的吸附和解吸特性,筛选出对横山老黑豆酚类化合物具有较好的吸附和解吸性能的树脂,建立横山老黑豆多酚物质分离纯化工艺。

1 材料与方法

1.1 试验材料与主要仪器

横山老黑豆:横山种子公司提供。

大孔树脂:AB-8、D101、NKA-9 和 NKA-II,西安蓝晓科技有限公司产品;大孔树脂:X-5、LSA-21、XDA-1、HPD-700:陕西蓝深特种树脂有限公司产品。

没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸和肉桂酸:购自 Sigma 公司;大豆苷、大豆苷元、黄豆黄苷、染料木苷和染料木素购于上海源叶生物科技有限公司。

U-3000 高效液相色谱仪-Thermo:美国热电公司产品;KQ3200DE 型数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;Multiskan Go 全波长酶标仪:美国热电公司产品;SHZ-B 水浴恒温振荡器:上海跃进医疗器械有限公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 取一定量横山老黑豆粉碎过 60 目筛,准确称取 90 g,加入 900 mL 石油醚振荡脱脂

24 h,挥干溶剂,用体积分数 80%的甲醇以料液体积比 1 g:15 mL 于超声提取仪 40 ℃提取 30 min 后,3 000 r/min 离心 15 min 后收集上清液,残渣以同样方法重复提取 2 次,合并 3 次提取液,40 ℃下真空浓缩得横山老黑豆多酚粗提液。置于-20 ℃保存,备用。

1.2.2 多酚的测定方法 采用 Folin-Ciocalteu 法测定多酚含量^[19],准确移取提取液 0.1 mL,分别加入 0.5 mL 蒸馏水和 0.1 mL Folin-Ciocalteu 试剂,3 min 后加入 7.5 g/dL 碳酸钠溶液 0.3 mL,于漩涡混合器中混合,置于 25 ℃水浴避光反应 2 h,以 0.1 mL 蒸馏水代替样品做空白,在 760 nm 波长处用酶标仪测定吸光度 A。以没食子酸作标准品代替样品作标准曲线,得到回归方程 $y=0.0051x+0.003$, $R^2=0.9993$ 。多酚质量分数以没食子酸的质量分数 (GAE)表示,单位为 mg/g。

1.2.3 大孔树脂的预处理 将各树脂用无水乙醇室温下密封浸泡 24 h,用蒸馏水洗至无醇味,用质量分数 5%盐酸溶液浸泡 8 h,蒸馏水洗至中性,再用质量分数 5% 氢氧化钠溶液浸泡 8 h,蒸馏水洗至中性,备用。

1.2.4 大孔树脂的筛选 准确称取各处理好的湿树脂 AB-8、D101、NKA-9、NKA-II、X-5、LSA-21、XDA-1 和 HPD-700 各 1 g,置于 50 mL 锥形瓶中,各加入 0.11 mg/mL 横山老黑豆样品提取物 10 mL,置于 25 ℃恒温摇床中振荡吸附 24 h,抽滤,取滤液测定树脂对总酚的吸附量。取上述吸附饱和树脂,再分别置于 50 mL 锥形瓶中,加入 10 mL 体积分数 70%乙醇,置于 25 ℃恒温摇床振荡解吸 24 h,使树脂被充分洗脱后,取洗脱液测定吸光度并计算解吸率,选取吸附量、吸附率及解吸率(洗脱率)较高的树脂。树脂吸附量、吸附率与洗脱率按如下公式计算^[20]:

$$Q=[(C_0-C_1)\times V_1]/W$$

$$A=[(C_0-C_1)/C_0]\times 100\%$$

$$D=C_2V_2/[(C_0-C_1)\times V_1]\times 100\%$$

式中:Q 吸附量 (mg/g); C_0 吸附前酚类质量浓度; C_1 吸附后平衡液中酚类质量浓度; V_1 吸附溶液体积;W 树脂质量 (g);A 吸附率 (%);D 洗脱率 (%); C_2 洗脱液中酚类浓度; V_2 洗脱液体积。

1.2.5 大孔树脂静态吸附、解吸试验 乙醇体积分数对静态解吸率的影响:准确称取筛选出来的经处

理的湿树脂 5 份各 1 g, 分别置于 50 mL 锥形瓶中, 均加入 10 mL 横山老黑豆多酚粗提液, 放于 25 ℃ 恒温摇床中振荡 24 h, 然后将吸附平衡的树脂取出, 过滤, 再分别置于 50 mL 锥形瓶中, 加入不同体积分数 (25%、40%、60%、70% 和 80%) 的乙醇溶液 10 mL, 置于 25 ℃ 恒温摇床振荡解吸 24 h, 取洗脱液测定吸光度并计算解吸率。

静态吸附动力学曲线: 准确称取经处理的湿树脂 1 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入 10 mL 横山老黑豆多酚粗提液, 放于 25 ℃ 恒温摇床中静置, 每隔 30 min 振荡 2 min 并取 100 μ L 上清液, 按照 1.2.2 的方法测定多酚含量, 绘制吸附动力学曲线。

1.2.6 大孔树脂动态吸附和解吸试验 将筛选出来的树脂湿法装柱 (柱长 50 cm, D 3 cm)。用蒸馏水平衡后, 将不同质量浓度 (0.49、0.98、1.96 mg/mL) 和不同流量 (1.50、2.14、3.00 BV/h) 的多酚样品进行上样, 收集流出液并测定不同体积流出液的多酚质量浓度, 每 20 mL 流出液为一管收集并采用 Folin-Ciocalteu 法测定多酚质量浓度。当流出液中多酚浓度达到上样液质量浓度的 10% 时即为泄漏点。吸附平衡后用大量的蒸馏水冲洗, 去除水溶性蛋白、还原糖和多糖等杂质, 再用体积分数 70% 乙醇溶液以一定流速洗脱, 按照 1.2.2 的方法测定多酚质量分数。

1.2.7 横山老黑豆酚酸及异黄酮的 HPLC 分析 采用 HPLC 法测定经筛选的大孔吸附树脂分离纯化后的横山老黑豆酚酸及异黄酮的组成和含量变化^[21-22]。取上述处理过的样品 1 mL, 0.45 μ m 滤膜过滤。采用 Thermo U-3000 HPLC 系统, Diamonsil C 18 (2) 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)。酚酸的 HPLC 条件: 流动相乙腈 (A) 和体积分数 1% 冰乙酸 (B) 溶液, 检测波长 280 nm, 柱温 30 ℃, 流量 1.0 mL/min, 进样量 20 μ L, HPLC 的总运行时间为 50 min。梯度洗脱条件: 0~5 min, 5%~15% A; 5~35 min, 15%~35% A; 35~40 min, 35%~45% A; 40~50 min, 45%~5% A。异黄酮的 HPLC 条件: 流动相乙腈 (A) 和体积分数 0.1% 冰乙酸 (B) 溶液, 检测波长 260 nm, 柱温 20 ℃, 流量 1.0 mL/min, 进样量 20 μ L, HPLC 的总运行时间为 50 min。梯度洗脱条件: 0~5 min, 5%~15% A; 5~35 min, 15%~35% A; 35~40 min, 35%~45% A; 40~50 min, 45%~5% A。样品的定性与定量通过与标品的出峰时间和峰面积来确定。

1.2.8 数据统计分析 采用 SPSS 17.0 软件 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 进行统计分析, 数据结果以平均数 $\pm$ 标准差 ($n=3$) 表示, 采用 Duncan 多元回归方法分析 0.05 水平上均值的显著性差异。

2 结果

2.1 不同的大孔树脂对横山老黑豆多酚吸附和解吸结果

由图 1 表明, 8 种所选树脂对横山老黑豆多酚的吸附量存在显著性差异, NKA-II 的吸附量最高为 0.73 mg/g, 其次为 NKA-9 和 HPD-700 (吸附量分别为 0.67 mg/g 和 0.65 mg/g), 其余 5 种树脂的吸附量较低并与以上 3 种树脂存在显著性差异。图 2 表明, NKA-9 和 LSA-21 多酚解吸率均较大 (解析率分别为 83.52% 和 85.03%), 两者之间无显著性差异, NKA-II 的多酚解吸率最低 (58.46%)。综合考虑大孔树脂对横山老黑豆多酚的吸附量和解吸率, NKA-9 型大孔树脂不仅具有较强的吸附性, 而且也具有较强解吸能力, 因此选用 NKA-9 型大孔树脂进行横山老黑豆多酚的分离纯化研究。

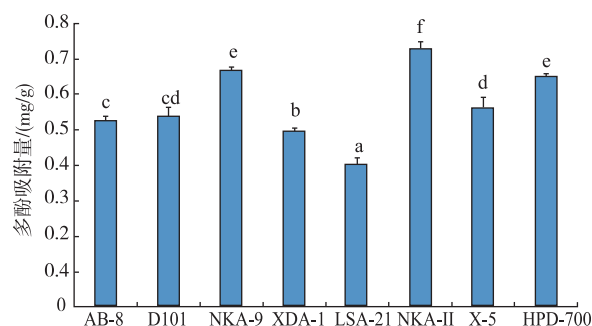


图 1 不同的大孔树脂对横山老黑豆多酚的静态吸附量比较
Fig. 1 Comparison of static adsorption capacity of different macroporous resins to polyphenols in Hengshan black soybean

2.2 静态吸附、解吸结果

乙醇体积分数对 NKA-9 树脂静态解吸率的影响如图 3 所示, 随着乙醇体积分数的增加, 横山老黑豆多酚的解析率在 70% 之前逐渐增加, 70% 以后下降, 乙醇体积分数为 70% 时, 多酚解析率最大, 因此, 选用 70% 乙醇溶液作为多酚的解吸剂。

NKA-9 型大孔树脂吸附横山老黑豆多酚的动力学曲线如图 4 所示, NKA-9 对横山老黑豆多酚的吸附量在 2 h 内快速上升, 在 4 h 其吸附多酚的量

达到平衡。

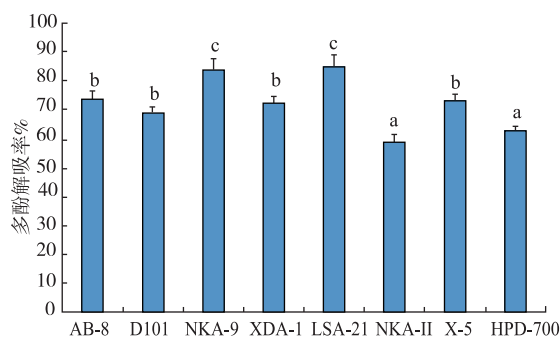


图2 不同的大孔树脂对横山老黑豆多酚的静态解吸率比较
Fig. 2 Comparison of static desorption capacity of different macroporous resins to polyphenols in Hengshan black soybean

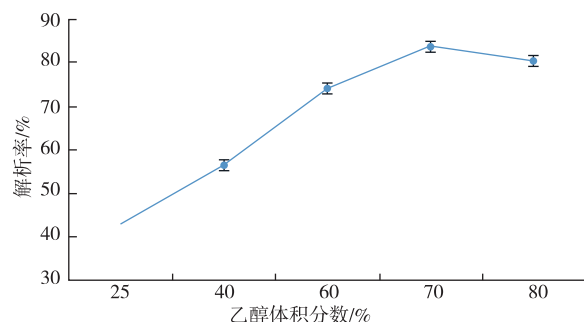


图3 乙醇体积分数对静态解吸率的影响

Fig. 3 Influence of ethanol volume fraction on static desorption percentage

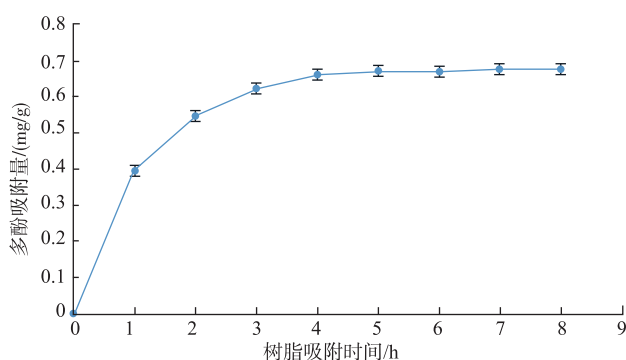


图4 NKA-9树脂的静态吸附动力学曲线

Fig. 4 Adsorption kinetics of NKA-9 macroporous resin

2.3 样品质量浓度对NKA-9大孔树脂吸附性能的影响

上样流量为2.14 BV/h时,样品质量浓度对NKA-9吸附性能的影响如图5所示,上样质量浓度越大泄漏点出现的越早。上样浓度为0.49 mg/mL时,在12BV体积出现泄漏点,上样时间过长,工作

效率低。上样质量浓度为0.98 mg/mL和1.96 mg/mL时,泄漏点分别在10 BV和7 BV出现,树脂吸附量分别为2 744.0 mg和3 841.6 mg。在泄漏点处,上样质量浓度为1.96 mg/mL时,NKA-9大孔树脂对横山老黑豆多酚提取物的吸附量最大,上样时间短。提取物上样质量浓度达到2.55 mg/mL时样品黏度较大容易堵塞层析柱。因此,选取1.96 mg/mL为上样质量浓度。

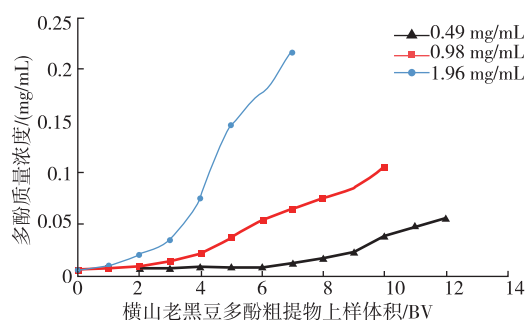


图5 样品质量浓度对NKA-9树脂吸附性能的影响

Fig. 5 Impact of sample concentration on the adsorption properties of NKA-9 resin

2.4 上样流量对大孔树脂吸附性能的影响

上样流量对NKA-9吸附性能的影响如图6所示,上样流量越大泄漏点出现越早,上样流量为3.00、2.14、1.50 BV/h时,泄漏点分别在4、7、11 BV附近出现,树脂对横山老黑豆多酚的吸附量分别为1 097.6、1 920.8和2 744.0 mg。可以得出,上样流量为1.50 BV/h时,泄漏点出现最迟,树脂吸附量最高,但上样时间太长,不利于实际应用。上样流量为3.00 BV/h时,泄漏点出现较早,但树脂吸附量较低。上样流量为2.14 BV/h时,泄漏点出现相对较早,吸附量相对较高。因此,选取2.14 BV/h为最佳的上样速度。

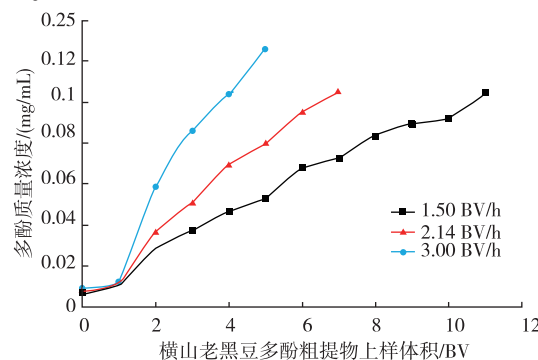


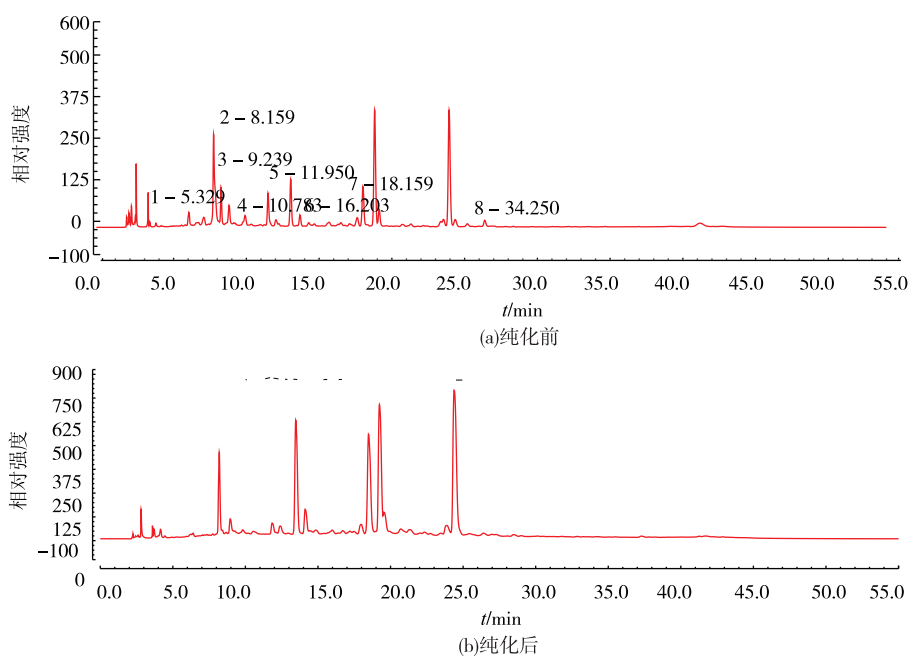
图6 样品质量浓度对NKA-9树脂吸附性能的影响

Fig. 6 Impact of sample rate on the adsorption properties of NKA-9 resin

2.5 横山老黑豆酚酸、异黄酮及单体组成

NKA-9 大孔树脂纯化横山老黑豆酚酸的前后 HPLC 色谱图如图 7 所示,横山老黑豆酚酸纯化前保留时间 5min 前的杂峰经 NKA-9 树脂纯化后杂峰被有效去除,纯化前保留时间大于 5 min 的峰变化不大,所测的 8 种酚酸(没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸和肉桂酸)均被保留,表明 NKA-9 大孔树脂适于分离纯化横山老黑豆酚酸。横山老黑豆中所检测的 8 种单体酚酸种类及纯化前后的质量分数见表 1,其中质量分数最高的是原儿茶酸,占 8 种酚酸的 65.82%,其次是绿原酸和咖啡酸,两者酚酸的质量分数占 8 种酚酸的 26.60%,以上 3 种酚酸的质量分数占所测 8 种酚酸的 92.43%。

NKA-9 大孔树脂纯化横山老黑豆异黄酮的前后 HPLC 色谱图如图 8 所示,横山老黑豆异黄酮纯化前保留时间 2~10 min 之间存在许多杂峰,经 NKA-9 纯化后杂峰被去除,且所检测的 5 种异黄酮(大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元和染料木素)均得到很好的保留,表明 NKA-9 大孔树脂适于分离纯化所检测的 5 种横山老黑豆异黄酮,但色谱峰中有两种相对较高的峰在分离纯化前后有较大的变化,还有待进一步研究。5 种异黄酮种类及纯化前后的含量见表 2,大豆苷和染料木苷的质量分数较高,占所测 5 种异黄酮总质量分数的 88.87%,保留率也较高均在 90%以上。其次是黄豆黄苷,占 5 种异黄酮的 10.55%,保留率为 85.26%。



1-没食子酸;2-原儿茶酸;3-绿原酸;4-对羟基苯甲酸;5-咖啡酸;6-对香豆酸;7-阿魏酸;8-肉桂酸

图 7 NKA-9 大孔树脂纯化前和后的横山老黑豆酚酸 HPLC 谱

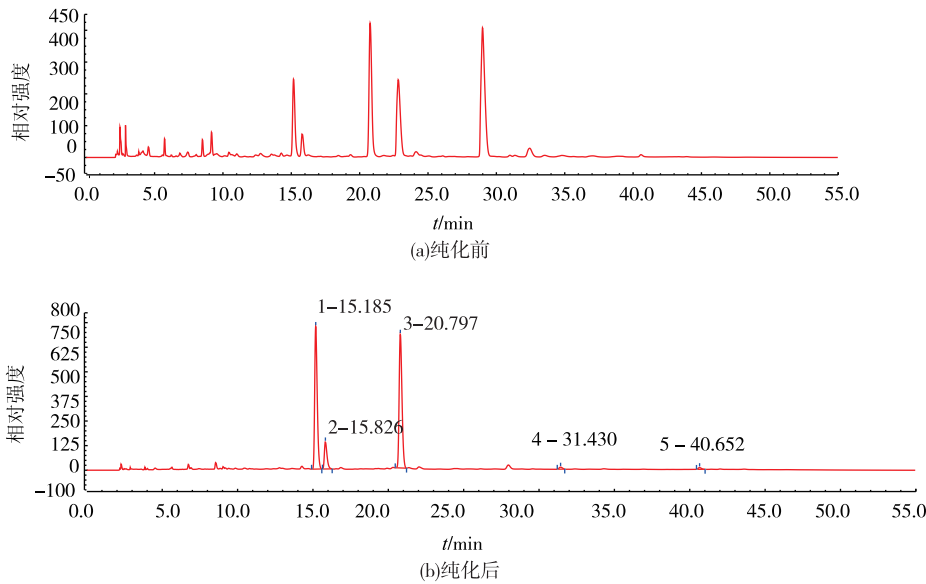
Fig. 7 Chromatograms of phenolic acids of Hengshan black soybean before and after NKA-9 macroporous resin purification

3 讨论

3.1 不同的大孔树脂对酚类物质吸附性能的影响

大孔吸附树脂的吸附性能是由于范德华引力或生成氢键的结果。同时由于大孔吸附树脂的多孔结构使其对分子大小不同的物质具有筛选作用。大孔树脂对横山老黑豆多酚类物质的吸附存在一定

的选择性。作者考察了 8 种不同极性和特性的大孔树脂,以筛选出吸附量和解析率均较好的大孔树脂用于分离横山老黑豆酚类物质。8 种树脂的筛选结果表明,极性的 NKA-9 和非极性的 NKA-II 都具有较高的吸附性能。由此可见,横山老黑豆多酚类物质中既具有极性较大的酚类物质也存在非极性的酚类物质。解析率结果表明,非极性的 NKA-II 树脂



1-大豆苷;2-黄豆黄苷;3-染料木苷;4-大豆苷元;5-染料木素
图 8 NKA-9 大孔树脂纯化前和后的横山老黑豆异黄酮 HPLC 谱

Fig. 8 Chromatograms of isoflavone of Hengshan black soybean before and after NKA-9 macroporous resin purification

的解析性能较低，而极性的 NKA-9 树脂却具有较好的解吸性能,这表明横山老黑豆酚类物质可能与树脂的比表面积及平均孔径关系较大。陶莎等^[23]研究了 5 种不同型号的大孔树脂 (S-8、HPD600、D4020、AB-8 和 NKA-9)对红小豆多酚的吸附分离效果,结果表明,极性的 HPD 600 树脂效果较好。甘芝霖等^[17]比较了 4 种大孔树脂 (ADS-17、AB-8、NKA-9 和 D101)对玫瑰果多酚的吸附分离效果,筛选出弱极性的 AB-8 为最佳的吸附树脂类型。由此表明,不同物质所含的酚类物质不同,用于酚类物质分离纯化的最佳的大孔树脂的类型差异也较大。

表 1 NKA-9 树脂分离纯化前后横山老黑豆酚酸种类及质量分数比较

Table 1 Composition and content of phenolic acids of Hengshan black soybean before and after NKA-9 macroporous resin purification

酚酸	质量分数/(mg/g)		保留率/%
	纯化前	纯化后	
没食子酸	1.89±0.06	1.57±0.04	83.07
原儿茶酸	974.72±19.35	902.14±17.46	92.55
绿原酸	241.86±10.78	212.78±9.46	87.98
对羟基苯甲酸	14.97±2.32	11.45±2.04	76.49
咖啡酸	152.09±3.60	119.24±5.13	78.40
对香豆酸	13.16±2.02	11.53±1.96	87.61
阿魏酸	58.03±2.97	48.34±2.53	83.30
肉桂酸	1.10±0.08	0.82±0.04	74.55

表 2 NKA-9 树脂分离纯化前后横山老黑豆异黄酮质量分数的比较

Table 2 Composition and content of isoflavone of Hengshan black soybean before and after NKA-9 macroporous resin purification

异黄酮	质量分数/(mg/g)		保留率/%
	纯化前	纯化后	
大豆苷	421.40±13.53	392.32±11.63	93.10
黄豆黄苷	113.50±6.73	96.78±5.76	85.26
染料木苷	534.73±19.05	501.03±19.31	93.70
大豆苷元	3.46±0.20	2.98±0.18	86.13
染料木素	2.81±0.07	2.03±0.03	72.24

3.2 样品质量浓度和上样流量对大孔树脂的影响

样品浓度及上样流量也对树脂的吸附性能产生影响。苏东晓等^[16]研究了样品质量浓度(3.2、1.6、0.8 和 0.4 mg/mL)和上样流量(4.5、3.0、1.5 BV/h)对 HPD-826 吸附荔枝果肉多酚泄漏点和吸附量的影响,结果发现样品质量浓度和上样流量分别为 0.8 mg/mL 和 3.0 BV/h 时,吸附效率较高。李琼等^[24]考察了核桃青皮多酚质量浓度(1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 mg/mL)和上样流量(2、3、4 mL/min)对 AB-8 大孔树脂吸附泄漏曲线的影响,结果发现样品质量浓度和上样流量分别为 3、2 mL/min 时,AB-8 树脂具有较高的吸附性能。作者分析样品浓度和上样流量对 NKA-9 树脂分离横山老黑豆多酚发现,样品质量浓

度越大泄漏点出现越早,树脂吸附量越大,这种现象可能是样品中多酚质量分数越大与树脂的接触机率越高,树脂对多酚的吸附越多。样品质量浓度过低会导致上样时间过长不利于实际应用,质量浓度过大则有可能导致柱子阻塞。上样流量对 NKA-9 树脂分离纯化横山老黑豆多酚也具有很大影响,上样流量越大泄漏点出现越早,但树脂吸附量较少。上样流量过小泄漏点出现时间过长不利于操作,因此选取中等流量进行上样。

3.3 横山老黑豆酚类物质组成

利用 HPLC 方法对横山老黑豆中酚酸的组成进行了研究,检测出 8 种酚酸化合物,其中原儿茶酸是横山老黑豆的主要酚酸组成物质,占所检的 8 种酚类质量分数的 50%以上,其次绿原酸和咖啡酸在横山老黑豆中含量也相对较高。Bi-Ni Wang 等^[25]对红枣中的酚酸化合物组成进行了分析,但对黑豆中的酚酸化合物的组成的分析鲜见报道。经 NKA-9 大孔树脂纯化前后的酚酸的组成及质量分数通过 HPLC 色谱进行了比较,发现经过大孔树脂吸附横山老黑豆酚酸不会造成单体酚酸组成减少,各种酚酸的质量分数降低也较少。大豆苷和染料木苷是所

测的 5 种异黄酮中质量分数较高的两种成分。NKA-9 大孔树脂对所测的 5 种横山老黑豆异黄酮的分离纯化具有良好的效果,质量分数降低也较少。因此,NKA-9 树脂适于分离纯化横山老黑豆酚类物质。

4 结 语

1) 通过静态吸附和解吸试验筛选出适用于横山老黑豆酚类化合物分离纯化的大孔树脂 NKA-9。NKA-9 树脂对横山老黑豆酚类化合物具有良好的吸附和解吸性能。

2) 通过动态吸附试验确定了 NKA-9 大孔树脂分离纯化横山老黑豆酚类化合物的最佳条件:横山老黑豆酚类化合物的样品上样质量浓度为 1.96 mg/mL,上样流量为 2.14 BV/h,乙醇洗脱剂体积分数为 70%,洗脱流量为 2.14 BV/h。

3) 横山老黑豆中原儿茶酸质量分数较高,大豆苷和染料木苷质量分数也较高。NKA-9 大孔树脂分离纯化横山老黑豆酚酸和异黄酮不会导致单体组成的变化,而且质量分数降低很少。

参考文献:

- [1] GINJOM I R, D'ARCY B R, CAFFIN N A, et al. Phenolic contents and antioxidant activities of major Australian red wines throughout the winemaking process[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(18): 10133-10142.
- [2] TABART J, KEVERS C, PINCEMAIL J, et al. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests[J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(4): 1226-1233.
- [3] XU Jinrui, ZHANG Mingwei, LIU Xinghua, et al. Correlation between antioxidation, and content of total phenolics and anthocyanin in black soybean accessions[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(8): 1545-1552. (in Chinese)
- [4] OKARTER N, LIU R H. Health benefits of whole grain phytochemicals [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2010, 50(3): 193-208.
- [5] LIU Lan. Preliminary review on the nutritional value of soybean and its development of comprehensive utilization [J]. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities*, 2014, 29(2): 175-177. (in Chinese)
- [6] HAN Lide, GAI Junyi, ZHANG Wenming. Soybean nutrition research status[J]. *Seed*, 2003(5): 57-59. (in Chinese)
- [7] XU B J, CHANG S K. C. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(18): 8365-8373.
- [8] TAKAHASHI R, OHMORI R, KIYOSE C, et al. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(11): 4578-4582.
- [9] GAO Ronghai, ZHANG Chunhong, ZHAO Xiuhong, et al. Research progress on soybean isoflavone [J]. *Journal of Cereals &*

- Oils**, 2009(5):1-4. (in Chinese)
- [10] LIANG Xiaofang, WANG Bujun. Simultaneous preparation of six soybean isoflavones monomers by preparative HPLC [J]. **Journal of Instrumental Analysis**, 2014, 33(1):63-67. (in Chinese)
- [11] XU Chunhua, ZHANG Zhiguang, XIE Mingjie. Research on antioxygenic and antitumor activities of soybean isoflavones [J]. **Soybean Science**, 2010, 29(5):870-873. (in Chinese)
- [12] 任国峰. 大豆异黄酮抑制前列腺增生的作用及其机理研究[D]. 长沙:中南大学, 2013.
- [13] MARINA C N, RENATA C M, LETICIA S K, et al. Bioactive soy isoflavones: extraction and purification procedures, potential dermal use and nanotechnology-based delivery systems[J]. **Phytochem Rev**, 2015, 14(3):849-869.
- [14] GAO M, HUANG W, LIU C Z. Separation of scutellarin from crude extracts of *Erigeron breviscapus* (vant.) Hand. Mazz. by macroporous resins[J]. **Journal of Chromatography B**, 2007, 858(1):22-26.
- [15] MA C Y, TAO G J, JIAN T, et al. Preparative separation and purification of rosavin in *Rhodiola rosea* by macroporous adsorption resins[J]. **Separation and Purification Technology**, 2009, 69(1):22-28.
- [16] SU Dongxiao, ZHANG Ruifen, ZHANG Mingwei, et al. Separation and purification of polyphenol in litchi pulp by macroporous resin[J]. **Scientia Agricultura Sinica**, 2014, 47(14):2897-2906. (in Chinese)
- [17] GAN Zhilin, NI Yuanying, GUO Yue, et al. Separation and purification of rosehip polyphenols by macroporous resin and its antioxidant activity [J]. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, 2015, 31 (24):298-306. (in Chinese)
- [18] LI Yingchang, ZHENG Fenge, MENG Xianjun. Studies on purification of anthocyanins from blueberry fruits by macroporous resins[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(4):496-500. (in Chinese)
- [19] ZHANG Qian, FAN Xuehui, ZHANG Zhiqi, et al. Determination of polyphenols in different organic solvent extracts of semen *astragali complanati*[J]. **Food Science**, 2010, 31(14):178-181. (in Chinese)
- [20] 张清安. 沙苑子中酚类物质研究及其抗氧化成分的 HPLC 筛选[D]. 西安:陕西师范大学, 2010.
- [21] TI H H, LI Q, ZHANG R F, et al. Free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of milled fractions of different indica rice varieties cultivated in southern China[J]. **Food Chemistry**, 2014, 159:166-174.
- [22] VITO V, YLENIA R, ANTONIA G F, et al. Determination of free and bound phenolic compounds in soy isoflavone concentrate using a PFP fused core column[J]. **Food Chemistry**, 2015, 185:239-244.
- [23] TAO Sha, HUANG Ying, KANG Yufan, et al. Technology of separation and purification and its efficiency of adzuki bean polyphenols with macroporous adsorption resins [J]. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, 2013, 29(23):276-285. (in Chinese)
- [24] LI Qiong, CHEN Kai, CHEN Yanqin, et al. Purification of polyphenols from walnut peel by macroporous resin adsorption[J]. **Food & Machinery**, 2015, 31(1):175-180. (in Chinese)
- [25] WANG B N, LIU H F, CAO W, et al. Distribution of phenolic acids in different tissues of jujube and their antioxidant activity[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2011, 59(4):1288-1292.