

# 大孔吸附树脂分离纯化紫甘薯色素的研究

管立峰,葛水莲,李丹花,叶 嘉,王 浩

(邯郸学院 生命科学与工程学院,河北 邯郸 056005)

**摘要:**为了筛选出一种高吸附、高解吸性能大孔吸附树脂,比较了 14 种大孔吸附树脂对紫甘薯色素的静态吸附和解吸性能。在此基础上研究了吸附液 pH、解吸流速、洗脱液浓度及 pH 对色素纯化的影响。结果表明:DM21 树脂为分离纯化紫甘薯色素的最佳树脂,其最佳纯化条件是吸附液和解吸液 pH2.0~4.0,解吸液乙醇浓度为 70%,解吸液解析流速为  $3 \text{ Bv} \cdot \text{h}^{-1}$  时,对紫甘薯色素的纯化效果以及效率最好,色价达到  $54.26 \pm 0.87$ 。

**关键词:**紫甘薯;花青素;大孔吸附树脂;纯化

**中图分类号:**TS202.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)12-0116-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.12.0116

紫甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] 隶属于旋花科,一年生草本植物,最早由日本培育的一种优良的甘薯品种,肉质为紫红色,其所含的花青素类色素,主要成分为矢车菊素和芍药素等色苷,其中芍药素是矢车菊素的甲基化衍生物<sup>[1]</sup>。花青素在紫甘薯细胞中以与糖缩合成糖苷的形式存在于液泡中,主要呈色成分为花青素类的氰甾酰基葡萄糖苷及甲基花青素酰基葡萄糖苷<sup>[2]</sup>。正是由于甘薯中花色苷含有糖基和酰基结构,提高了提取甘薯色素的稳定性,增强了紫甘薯的生理保健机能<sup>[3]</sup>。紫甘薯色素在 2012 年由国家发布的《紫甘薯色素应用技术标准》中批准为良好的天然着色剂,具有抗氧化、抗突变、缓解肝功能障碍、抗肿瘤、抗高血糖、预防心血管疾病等功效,在食品行业、药品行业、化妆品行业等领域有着广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。

在紫甘薯色素提取过程中,粗提液中含有淀粉、还原糖、蛋白质等杂质,这些杂质会降低色素的稳定性以及品质。用大孔吸附树脂精制花青素类色素是比较有效的一种方法。色素经大孔树脂处理后,可有效地去除粗提液中大量的糖类、蛋白质、粘液质等成分,使色素成分高度富集而提高色素品质。采用大孔树脂吸附层析法纯化紫甘薯色素具有工艺简单、再生方便、成本低廉等优点。因此,筛选廉价高效大孔吸附树脂对紫甘薯色素的吸附情况对开发生产紫甘薯色素以及其它花青素

类色素都是十分必要的。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新鲜紫甘薯由河北玉皇山庄农牧业有限公司提供,低温放置备用;14 种大孔吸附树脂,即 DM-21、DM-8 和 DM-130,分别由山东鲁抗立科药物化学有限公司提供;D-101 和 AB-8 由安徽三星树脂科技有限公司提供;HPD-600 和 HPD-722 由沧州宝恩吸附材料科技有限公司提供;LSA-21、LSD-001、LX-1、LX-11、LX-17、LX-28、LX-60 由西安蓝晓科技新材料股份有限公司提供。大孔树脂用 95%乙醇浸泡 4 h,赶出大孔树脂微孔中的气泡后,用弱酸 ( $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶液) 以及弱碱 ( $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠) 溶液分别浸泡 24 h,用蒸馏水清洗至中性后备用。仪器与设备有 TS-NS 系列提取浓缩热回流机组(上海顺仪科技有限公司);陶瓷膜过滤设备(江苏久吾高科技股份有限公司);T6 新世纪-紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);N-1100 旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 紫甘薯色素提取液制备** 将紫甘薯切成厚度为 2~3 mm 的薄片后,迅速放入 0.5%柠檬酸-磷酸缓冲液中(pH2.0~3.0),45℃提取 3 次,每次提取 2 h,合并提取液。提取液经过 300 目滤布过滤后,然后采用陶瓷膜过滤装置再次对提取液进行精滤,得到提取液备用。精滤后提取液稀释 10 倍后在 530 nm 处测定吸光度值 ( $A_{530} = 0.761$ ),此样品用于静态吸附试验。

**1.2.2 紫甘薯色素色价测定** 精确称取紫甘薯色素样品 0.1g,用 pH3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠

收稿日期:2015-08-04

基金项目:邯郸学院校内资助项目(14101);河北省高校冀南太行山区资源植物应用研发中心资助项目;河北省科技计划资助项目(13222907)

第一作者简介:管立峰(1980-),男,内蒙古自治区乌兰察布市人,博士,讲师,从事天然产物研究。E-mail: tengfei007zlf@126.com。

缓冲溶液稀释至 100 mL(吸光度控制在 0.3~0.7),用 1 cm 比色皿以缓冲液作为空白对照,在 530 nm 处测定吸光度值。

$$E_{1\text{ cm}}^{1\%}530\text{ nm}=A/m$$

式中:A 为吸光度值;M 为样品质量,g; $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  为色价,即在被测样品浓度为 1%、1 cm 比色皿、530 nm 的最大吸收峰的吸光度。

1.2.3 静态吸附和解吸测定 分别取 14 种大孔吸附树脂 5 g 置于 250 mL 锥形瓶中,每个锥形瓶加入 200 mL 提取液,将锥形瓶在 30℃,110 r·min<sup>-1</sup> 的振荡培养箱振荡吸附 2 h。静态吸附后,吸取上清液在 530 nm 处测定上清液的吸光度值 A<sub>1</sub>,吸附率(%)为吸光度(A<sub>0</sub>-A<sub>1</sub>)/A<sub>0</sub>×100。

吸附完成后对各种吸附饱和的大孔树脂进行抽滤,抽滤时用蒸馏水对大孔树脂进行清洗直至抽滤液无颜色变化。抽滤后的大孔树脂放入 250 mL 锥形瓶中,在锥形瓶中加入 100 mL 浓度为 70% 的乙醇。将锥形瓶置于 30℃,110 r·min<sup>-1</sup> 的振荡箱中振荡解吸 2 h。解吸完成后取解吸液上清液在 A=530 nm 下测定吸光度值 A<sub>2</sub>,解吸率(%)为(A<sub>2</sub>×稀释倍数×体积)/(A<sub>0</sub>-A<sub>1</sub>)×

2 000×100。

1.2.4 大孔树脂动态吸附条件优化 根据 1.2.3 试验树脂筛选结果,以吸附率和解吸率较好的大孔吸附树脂为对象,选取吸附液 pH,解吸液 pH,解吸液乙醇浓度,解吸流速以及动态解吸曲线对大孔树脂动态吸附紫甘薯色素条件进行优化,试验中 pH 采用磷酸进行调节。试验数据用平均值±标准偏差(n=3)表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 大孔吸附树脂筛选结果

对色素的吸附率和解吸率是衡量大孔吸附树脂是否适合作为动态吸附的重要指标。由图 1 可以看出,大孔吸附树脂 DM21、AB-8、LX-60 三种树脂的吸附率较高,分别为 94.09±0.13%、73.59±0.66%、73.72±0.17%,解吸率分别为 97.42±0.07%、84.02±0.27%、36.63±0.34%,其它树脂吸附率较低。由此可以看出,DM-21 大孔吸附树脂对紫甘薯色素的吸附率以及解吸率最高,其次为 AB-8 树脂,而 LX-60 树脂吸附率虽然较高,但解吸率非常低。根据静态吸附和解吸性能的对比,可以确定 DM-21 树脂分离紫甘薯色素更为合适。

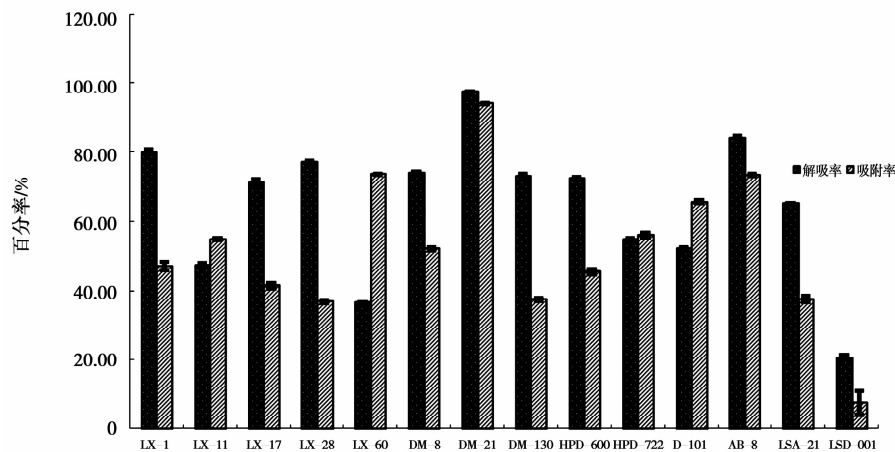


图 1 大孔树脂吸附率以及解吸率

Fig. 1 The adsorption and desorption ratio of pigments on different resins

DM-21 大孔吸附树脂具有较大的比表面积和类似于天然吸附剂的内细孔结构,范德华引力是它和被吸附分子的主要作用力,它主要依靠其较大的比表面进行物理吸附。DM-21 大孔吸附树脂主要用于花青素的分离提取,如维生素 B<sub>12</sub>、红花黄色素、甜菊糖提取精制等植物有效成分的吸附纯化,果汁脱色脱苦味等。

### 2.2 吸附液 pH 对动态吸附的影响

紫甘薯色素属于花色苷类物质,在酸性条件下稳定,本试验将紫甘薯色素溶液的 pH 用稀磷酸分别调制为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0。其它吸附条件相同,吸附同体积的紫甘薯色素提取液达到饱和后收集被吸取后的废液混匀后抽滤,滤液在 530 nm 处测定吸光度值。从图 2 看出,pH 越低,

大孔吸附树脂对紫甘薯色素提取液的吸附效果越好,即在酸性条件下同体积的提取液被大孔树脂吸附的吸附量比较大。 $\text{pH}$ 在2.0~4.0时,吸附量变化不明显,因此吸附液保持在2.0~4.0时,均能达到良好的吸附效果。

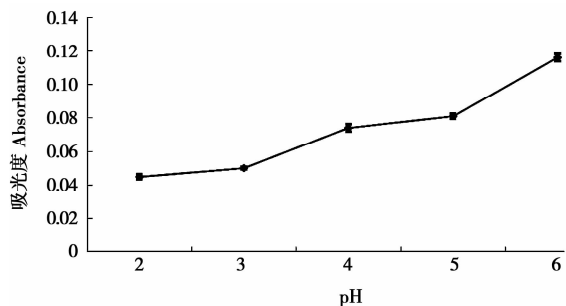


图2 不同吸附液 pH 对色素动态吸附后废液吸光度值的影响

Fig. 2 Effect of different pH of sample solution on the adsorption-desorption capacities of pigments

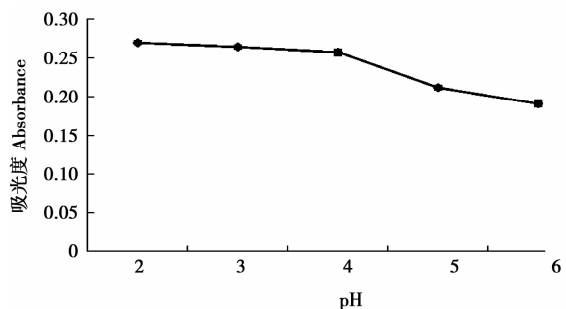


图3 不同解吸液 pH 对色素解吸量的影响

Fig. 3 Effect of different pH of ethanol solution on the capacities of pigments waste solution

### 2.3 解吸液 pH 对动态吸附的影响

配制浓度为70%的乙醇溶液作为解吸液,在解吸液中加入磷酸调节 pH 分别为2.0、3.0、4.0、5.0、6.0。在吸附柱中吸附同体积的紫甘薯提取液后,分别用不同 pH 的同体积解吸液进行解吸。解析完成后用70%乙醇溶液稀释相同倍数后,在530 nm处测定解吸液吸光度值,从图3看出, pH 为2.0~4.0时,解吸液的吸光度值变化较小, pH 为5.0以上时,解吸液吸光值略有降低。

### 2.4 乙醇浓度对解吸的影响

配制浓度为40%、50%、60%、70%、80%的乙醇溶液作为解吸液备用。准备吸附柱对同体积的紫甘薯色素提取液进行吸附,吸附完成后用不同浓度的同体积乙醇溶液进行解吸,解吸液解吸完成后,稀释相同倍数,以同浓度乙醇溶液作为空

白对照在530 nm处测定吸光度值,从图4看出,随着解吸液浓度升高,解吸率逐步提高,在解吸液浓度达到70%后,解吸液浓度对大孔树脂的解吸效果变化不明显,所以选择70%浓度的乙醇溶液作为解吸液。

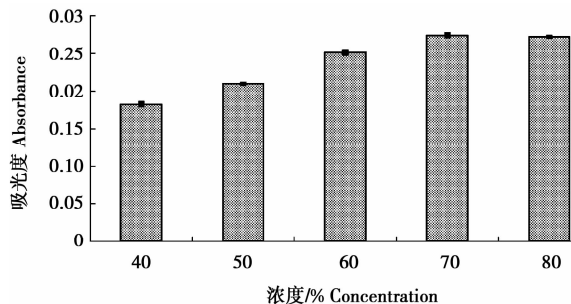


图4 不同浓度解吸液吸光度值

Fig. 4 Effect of different concentrations of ethanol solution on desorption ratios

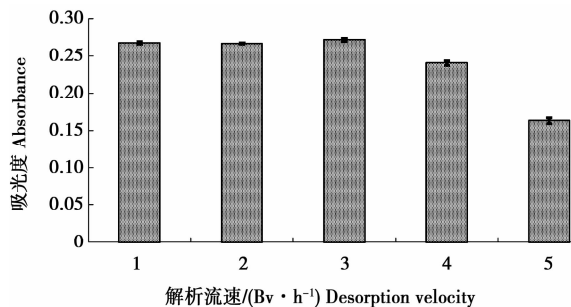


图5 不同解吸流速解吸液吸光度值

Fig. 5 Effect of different desorption velocities on desorption ratios

### 2.5 解吸流速对动态吸附的影响

解吸液流经吸附柱体的速度( $\text{Bv} \cdot \text{h}^{-1}$ )是指柱内单位时间(h)流经单位体积树脂平均液量。解吸流速是最直接影响解吸效果的因素,解吸液与大孔树脂接触的时间决定了被吸附的色素解吸下来的程度。吸附柱吸附相同质量的紫甘薯色素提取液以后开始用 pH3.0、浓度70%的解吸液进行解吸,解吸时分别控制解吸流速为1、2、3、4、5  $\text{Bv} \cdot \text{h}^{-1}$ ,每个吸附柱保证解吸液体积相同。解吸完成后将解吸液稀释相同倍数,以70%乙醇溶液做空白对在530 nm处测定吸光度值。图5显示,解析流速越慢即解吸液与大孔树脂接触时间越长解吸效果越好。在解吸流速为3  $\text{Bv} \cdot \text{h}^{-1}$ 时,吸光度值与流速1  $\text{Bv} \cdot \text{h}^{-1}$ 的解吸液吸光度大致相同,说明设定流速为3  $\text{Bv} \cdot \text{h}^{-1}$ 已经可以将紫甘薯色素将大孔树脂上解吸下来,即达到了解吸的极限,解吸率高达97.42%。

2.6 动态解吸曲线

解吸液解吸大孔树脂吸附色素的过程是动态解吸曲线,动态解吸曲线可以直观的观察解吸液解吸色素的过程即开始时间,解吸程度,是否“拖尾”等。将吸附柱吸附饱和后开始解吸,解吸液为70%乙醇溶液,pH为3.0,解析流速为3 Bv·h<sup>-1</sup>。解吸前先用蒸馏水清洗已吸附完全的吸附柱,解吸液流入吸附柱时开始计时,每隔10 min测定一次留下的解吸液的吸光度值。由图6可以看出,开始解吸时因解吸液需要时间流经吸附柱所以没有色素被解吸下来,随着时间推移色素开始解吸,20 min时解吸程度达到最大值,20~40 min解吸量开始下降说明被吸附的色素已经大部分已经被解吸下。40 min以后吸光度变化不大并逐渐趋于刚开始解吸时的吸光度值。60 min解吸完后无“拖尾”现象。

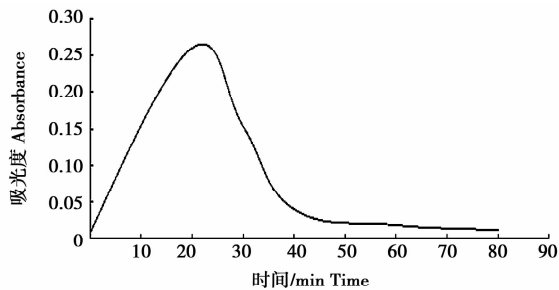


图6 动态解吸曲线

Fig. 6 Dynamic desorption curve of pigment on column packed with DM21 resin

2.7 色素质量规格测定

对紫甘薯色素成品的各项质量规格进行测定得到以下数据:外观为深紫红色,色价为54.26±0.87,pH为2.5~3.0,松密度为0.666 8±0.002 6 g·mL<sup>-1</sup>,紧密度为1.000 2±0.004 7 g·mL<sup>-1</sup>;溶解度良好,用去离子水溶解12 h,无沉淀析出;气味上有甘薯红特有的香味。质量规格符合《紫甘薯色素应用技术标准》(20120416 发布)规定。

## Preliminary Separation and Purification of Pigments from *Ipomoea batatas* (L.) Lam by Macroporous Resins

ZAN Li-feng, GE Shui-lian, LI Dan-hua, YE Jia, WANG Hao

(School of Life Science and Engineering, Handan College, Handan, Hebei 056005)

**Abstract:** The performances of pigments from *Ipomoea batatas* (L.) Lam extracts on fourteen macroporous resins were investigated in order to optimize the separation process, different pH values of sample solution, different desorption velocities, different concentrations and pH values of ethanol solution also had been investigated. The results of static tests indicated that DM21 resin was the most appropriate, and the best conditions were adsorption velocity of 3 Bv, pH2.0~4.0, desorption solvent of 70% ethanol. The pigments content of purple potato extract purified by DM21 resin were more than 54.26±0.87, in line with market requirements.

**Keywords:** *Ipomoea batatas*; anthocyanins; macroporous resins; purification

3 结论与讨论

大孔吸附树脂是高分子聚合物,吸附是其最大特点,可以将有机物进行分离纯化,广泛的应用在有机物的分离、制备与提纯。陈勇<sup>[5]</sup>等对紫甘薯色素的吸附和分离研究发现对紫甘薯色素具有较好的吸附能力的大孔吸附树脂是AB-8,而温度、酸度条件等对大孔树脂的吸附能力有明显影响。吸附速度与温度成正比,pH为2.5时AB-8大孔树脂对紫甘薯色素的吸附能力比其他酸性条件下好。洗脱程度受到酒精浓度的显著影响,70%酒精浓度对解吸附效果最好。本文经过静态吸附以及动态吸附条件优化得出DM-21为最佳的吸附分离色素树脂,吸附率为94.09±0.13%,解吸附率为97.42±0.07%,吸附和解吸效果优于AB-8。最佳动态吸附条件为吸附液以及解吸液pH为2.0~4.0;解吸液浓度为70%;解吸液流速为3 Bv·h<sup>-1</sup>。采用以上优化条件对紫甘薯色素进行纯化后,紫甘薯色素色价达到54.26±0.87,同时DM-21大孔吸附树脂具有良好的动态解吸曲线,没有明显的拖尾现象。因此,DM-21大孔吸附树脂可以作为紫甘薯色素纯化的最佳选择。

参考文献:

- [1] 杨朝霞,王亦军,高磊.紫甘薯花色苷色素研究进展[J].青岛大学学报,2004,19(2):32-36.
- [2] Corrales M, Toepfl S, Butz P, et al. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison[J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2008, 9: 85-91.
- [3] 刘学峰,石雷,郑文秀.紫番薯色素提取精制工艺的研究[J].中国食品添加剂,2009(6):121-125.
- [4] 翟彦青,李翠清,李建刚,等.紫甘薯色素提取工艺研究[J].北京石油化工学院学报,2012,20(3):1-4.
- [5] 吕跃东,王勇,张文革,等.响应面法优化紫甘薯花青素的提取工艺[J].食品研究与开发,2012,33(12):64-69.
- [5] 陈勇,张晴. AB-8大孔吸附树脂吸附和分离紫甘薯色素的研究[J].中国食品添加剂,2001(1):6-9.