

# 耐盐紫甘薯花色苷的纯化工艺研究

孙梦茹, 朱大伟, 王明丽(常州市第一人民医院, 江苏 常州 213003)

**摘要:** 目的 建立有效的紫甘薯花色苷提取物分离纯化方法, 为其产业化发展提供理论依据。方法 通过静态吸附解吸试验筛选适合耐盐紫甘薯 Z103 花色苷纯化的大孔树脂, 并进行动态吸附解吸工艺条件优化。结果 在供试树脂中, HPD-300 大孔树脂纯化效果最好。其静态吸附达平衡的时间为 6~8 h, 解吸附平衡时间为 1~2 h, 最大吸附量为  $33.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。动态吸附解吸最适工艺条件为: 上样流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 上样浓度为  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 体积为 145 mL 时, HPD-300 树脂动态最大吸附量为  $13.82 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (树脂), 采用 80% 乙醇溶液作为洗脱剂, 洗脱流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 用 3 倍柱体积洗脱花色苷, 收率可达 92.01%。纯化后的紫甘薯花色苷含量为  $181.58 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 比纯化前提高 13.18 倍; 色价  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (528 nm) 为 142.63, 比纯化前提高 11.01 倍。结论 该工艺具有较好的实用性与参考价值。

**关键词:** 紫甘薯; 花色苷; 纯化; 大孔树脂

中图分类号: TQ460.6

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2013)12-1323-08

## Study on the Purification Craft of Anthocyanins from Salt-tolerant Purple Sweet Potato

SUN Mengru, ZHU Dawei, WANG Mingli(*The First People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213003, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an efficient method for isolating and purifying anthocyanins from purple sweet potato, provide a theoretical basis for its industrial development. **METHODS** The static adsorption and desorption tests had been done to screen for the optimum macroporous resin and condition for purifying anthocyanins extracted from salt-tolerant purple sweet potato Z103, the dynamic adsorption and desorption properties of the resins were studied additionally. **RESULTS** The macroporous resin HPD-300 was the most favorable adsorbent. The time of absorption and desorption equilibrium was 6~8 h and 1~2 h, respectively. The absorption capacity of HPD-300 was  $33.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . The optimized parameters of dynamic adsorption resolve were  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  current velocity, initial concentration  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , with a flow rate of  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , and sample volume of 145 mL, the adsorption content was  $13.82 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (resin), while 80% ethanol with pH 1.0 as eluent, 3 BV, flow rate at  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , the desorption rate was 92.01%. The content of purified anthocyanins was  $181.58 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , with an increase of 13.18 times compared with before purification, the color value of purified anthocyanins was 142.63, with an increase of 11.01 times. **CONCLUSION** The optimized process has practical and reference value.

**KEY WORDS:** purple sweet potato; anthocyanins; purification; macroporous resin

花色苷(anthocyanins)是目前人们所熟知的一类天然水溶性色素, 是以黄酮核为基础的一类糖苷, 是花青素(配体)与糖相结合形成的配糖体<sup>[1]</sup>, 广泛存在于植物的根、茎、叶、花、果实等器官的细胞液中。耐盐紫甘薯(salt-tolerant purple sweet potato, *Ipomoes batatas* L.)是适合在沿海滩涂生长的旋花科一年生草本植物, 其所含花色苷是一类优质的酰基化天然色素, 具有着色能力强、水溶性和稳定性好的特点, 对人类的肿瘤<sup>[2]</sup>、衰老<sup>[3]</sup>、心血管病<sup>[4-7]</sup>等疾病的预防与治疗有重要的意义。耐盐紫甘薯品种抗逆性强、可适应含盐碱的边际土壤环境, 是一种重要的环保先锋植物, 且原料易得、价格低廉, 能够适应工业化生产的需要。

紫甘薯块根中含有多糖、蛋白质、淀粉等物

质, 溶剂提取得到的粗提物中花色苷的含量较低, 而且含有多糖等成分的粗提物干燥后得到的干浸膏黏度较大, 极易吸潮不利于保存, 不能直接用于食品或药物中。因此, 为了获得花色苷含量高、品质更好的色素产品, 研究有效的纯化方法, 去除其他杂质显的尤为重要。

目前对天然产物分离纯化的方法包括: 沉淀分离、分子蒸馏技术、膜分离技术<sup>[8]</sup>、界面力分离技术和色谱分离技术<sup>[9]</sup>等, 大孔树脂吸附精制法以效率高、稳定性好、容易再生、成本低且操作简单易行等特点而成为当前分离纯化天然产物的主流。

在分析各种分离方法的基础上, 本实验选择国产大孔吸附树脂吸附, 对比 10 种大孔树脂的吸附分离效果、从中筛选出较为适合紫甘薯花色苷

作者简介: 孙梦茹, 女, 硕士, 研究实习员

Tel: (0519)68870870

E-mail: sunmengru72@163.com

分离纯化的树脂类型, 并对树脂的静态和动态吸附特性进行研究, 采用乙醇水溶液洗脱的方法来分离纯化紫甘薯提取液中的花色苷, 为紫甘薯花色苷的产业化提供了理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

耐盐紫甘薯品种 Z103(盐城市绿苑海蓬子开发有限公司); AB-8, HPD-400, HPD-100A, HPD-300, HPD-700 大孔树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司); D3520, X-5, S-8, NKA-9, NKA-II(天津南开和成科技有限公司); 无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司)、盐酸(南京化学试剂厂)等均为分析纯。

### 1.2 仪器

LAMBDA-25 型紫外分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司); AKTA 蛋白质层析仪 FPLC(Amersham Pharmacia); C1/10 玻璃层析柱(Amersham Pharmacia); SHZ-88A 型往复式恒温水浴振荡器(培英); PHS-3B 型精密 pH 计(上海精密科学有限公司); KH400DB 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); HH-2 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂); R-200 型旋转蒸发器(瑞士步琪有限公司); FD-3 型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); Agilent G6410 液质联用仪, Agilent 1200 液相色谱仪(包括梯度泵, 自动进样器等)(Agilent)。

## 2 方法

### 2.1 紫甘薯花色苷提取物的制备

选用新鲜、无病虫害、无腐烂的紫甘薯, 自来水洗净、晾干后切成 3~5 cm 厚度的薄片, 于冷冻干燥机中干制、粉碎, 过 100 目筛, 装于棕色瓶中 4 °C 下贮藏。取一定量的干制过筛后的紫甘薯粉, pH 1.0 的 20%乙醇溶液为提取液、按料液比 1:30、浸提温度 50 °C、水浴振荡浸提时间 120 min、超声功率为 90 W, 减压浓缩(50 °C 旋转蒸发)除去乙醇, 用 pH 1.0 蒸馏水稀释, 用于树脂的筛选。

### 2.2 紫甘薯花色苷总含量<sup>[10]</sup>和色价<sup>[11]</sup>的测定

**2.2.1 花色苷总含量的计算** 采用 pH 示差法吸收光谱测定花色苷总含量, 计算方法如式①:

$$X = \frac{\Delta A \times M_w \times DF \times V \times 1\ 000}{\varepsilon \times L \times W} \quad (1)$$

式中,  $X$ —紫甘薯花色苷总含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );

$\Delta A = (A_{528} - A_{700})_{\text{pH 1.0}} - (A_{528} - A_{700})_{\text{pH 4.5}}$ ;  $M_w$ —矢车菊素-3-葡萄糖苷摩尔质量,  $449.2 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $DF$ —稀释因子(合适稀释因子的确定, 要求样品在  $\lambda_{\text{vis-max}}$  下的吸光度在分光光度计的线性范围内: 0.2~1.2, 要根据实际情况调整稀释倍数, 并不固定在一个值);  $V$ —稀释体积(L);  $\varepsilon$ —矢车菊素-3-葡萄糖苷摩尔吸光系数,  $26\ 900 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $L$ —比色皿光路长(cm);  $W$ —样品质量(g)。

**2.2.3 紫甘薯花色苷色价的测定** 精确称取干燥后的花色苷样品 1 g, 用 pH 为 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液定容至 100 mL, 取 1 mL 溶液进一步稀释至适宜倍数, 使其吸光值控制在 0.2~0.7, 用 1 mL 比色皿, 以缓冲溶液作空白, 在 528 nm 下测其吸光值, 根据公式②计算色价。

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{A_{528} \times DF}{W} \quad (2)$$

式中:  $A_{528}$ —528 nm 处吸光值;  $DF$ —稀释倍数;  $W$ —样品质量(g)。

### 2.3 大孔吸附树脂对紫甘薯花色苷的静态吸附特性

**2.3.1 大孔树脂的筛选——树脂静态吸附量及解吸率的测定** 准确称取经过预处理的 10 种大孔树脂各 0.5 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 分别加入浓度为  $C_0 = 0.358 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的紫甘薯粗提液 25 mL, 置恒温振荡器上于 30 °C、120  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  振荡 24 h, 充分吸附后, 过滤, 测滤液吸附平衡后溶液浓度  $C_e$ 。将滤出的树脂加入 25 mL pH 1.0 的 80%乙醇溶液, 在相同条件下进行振荡解吸。按照③~⑤式子分别计算树脂的静态吸附率、吸附量和解吸率。

$$E = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$D = \frac{C_a \times V_2}{(C_0 - C_e) \times V_1} \times 100\% \quad (4)$$

$$Q = \frac{(C_0 - C_e) \times V_1}{W} \quad (5)$$

式中,  $E$ —吸附率(%);  $D$ —解析率(%);  $Q$ —静态吸附量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );  $C_0$ —吸附前溶液浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $C_e$ —吸附平衡后溶液浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $C_a$ —解析液浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $V_1$ —加入紫甘薯花色苷提取液体积(mL);  $V_2$ —解析液体积(mL);  $W$ —树脂干重(g)。

### 2.3.2 树脂静态吸附动力学特性的研究——吸附

和解吸附曲线的测定 准确称取经过预处理并干燥的筛选出的大孔树脂各 1.0 g, 置于 100 mL 具塞锥形瓶, 加入初始浓度  $C_0=0.307 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  紫甘薯的粗提液 50 mL, 置恒温振荡器上于  $30\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $120 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡, 每隔一定时间取样 0.5 mL 测定。连续测定 12 h, 计算树脂对花色苷吸附量与时间的关系。

取吸附花色苷饱和的大孔树脂各 1.0 g, 加入 pH 1.0 的 95%乙醇溶液 70 mL, 置恒温振荡器上  $30\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $120 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡, 每隔一定时间, 取 0.5 mL 花色苷解吸液测定, 连续测定 8 h, 计算解吸液对花色苷解吸量与时间的关系。

**2.3.3 树脂静态吸附热力学特性的研究** 准确称取预处理过的最终选定的大孔树脂 0.1 g, 置于砂芯试管中, 加入不同浓度的花色苷溶液各 5 mL, 分别在 25, 35, 45  $^\circ\text{C}$  进行静态吸附至平衡。由公式⑥计算平衡吸附量。以平衡吸附量  $q$  为纵坐标, 平衡浓度  $C_e$  为横坐标, 做吸附等温曲线。

$$q = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{W} \quad \text{⑥}$$

式中,  $q$ —吸附平衡量( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ );  $C_0$ —吸附前花色苷溶液浓度( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ );  $C_e$ —吸附平衡后花色苷溶液浓度( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ );  $V$ —花色苷溶液体积( $\text{mL}$ );  $W$ —树脂干重( $\text{g}$ )。

**2.4 大孔吸附树脂对紫甘薯花色苷的动态吸附特性**

**2.4.1 上样流速对吸附能力的影响** 采用湿法装柱, 上柱液的初始浓度  $C_0=0.319 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , pH 1.0, 设定不同的上样流速(1.0, 2.0, 3.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 间隔 10 mL 收集 1 次洗脱液, 同时测定洗脱液的花色苷浓度, 以流出体积对溶液的相对浓度( $C/C_0$ )作图, 得到紫甘薯花色苷在大孔吸附树脂上的吸附漏出曲线。流出液浓度为原始浓度的 10%时, 即称为泄露, 表明达到树脂的最佳吸附能力。

**2.4.2 上样浓度对吸附能力的影响** 固定上样流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 花色苷溶液 pH 1.0, 设定不同初始浓度  $C_0$ (0.1, 0.2, 0.3  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 间隔 10 mL 收集 1 次洗脱液, 同时测定洗脱液的花色苷浓度, 绘制吸附漏出曲线, 确定最佳上样浓度。

**2.4.3 动态吸附曲线的测定** 花色苷初始浓度  $C_0=0.319 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , pH 1.0, 上样流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 间隔 10 mL 收集 1 次洗脱液, 同时测定洗脱液的花色苷浓度, 绘制吸附漏出曲线, 并计算吸附通量。

吸附通量( $\text{mg}$ ) = 上样液浓度( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) × 流出液体积( $\text{mL}$ )

**2.4.4 洗脱剂浓度对解吸附能力的影响** 上柱液的初始浓度  $C_0=0.487 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 体积 5 mL, 4 倍柱床体积(BV)的水洗柱子后, 用不同浓度(30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%)pH 1.0 的酸性乙醇水溶液进行动态洗脱, 洗脱速度  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 分别收集洗脱液, 测定其中花色苷浓度, 以洗脱液体积(BV)为横坐标、洗脱液中花色苷浓度( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )为纵坐标, 绘制解吸曲线并计算不同浓度乙醇洗脱的解吸附率, 确定最佳洗脱剂浓度。

**2.4.5 洗脱流速对解吸附能力的影响** 树脂吸附饱和后, 4 BV 的水洗柱子后, 80%浓度 pH 1.0 的酸性乙醇水溶液, 不同流速(1.0, 2.0, 3.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 3 BV 乙醇进行洗脱, 每 3.0 mL 收集 1 次洗脱液, 测定花色苷浓度, 绘制洗脱曲线, 并选择出最佳洗脱流速。

**2.4.6 动态解吸附曲线的测定** 树脂吸附饱和后, 4 BV 的水洗柱子, 除去极性较强、水可以洗脱的物质后, 用 pH 1.0 的 80%酸性乙醇水溶液, 流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  下进行动态洗脱, 3 BV 乙醇洗脱, 每 3.0 mL 收集 1 次洗脱液, 测定花色苷浓度, 绘制洗脱曲线。

### 3 结果

**3.1 大孔吸附树脂对紫甘薯花色苷的静态吸附特性**

**3.1.1 不同树脂对紫甘薯花色苷的静态吸附和解吸附性能的比较** 选择 10 种国产大孔吸附树脂, 研究其对紫甘薯花色苷的静态吸附及解吸附性能, 以从中初步筛选对紫甘薯吸附量大而且回收率高的树脂。各树脂对紫甘薯花色苷提取物水溶液的静态吸附及解吸附性能结果见表 1。

紫甘薯花色苷相对分子量为 200~1 200, 具有合适的孔径和较大的比表面积, 极性和非极性树脂均有可能用于花色苷的吸附分离。由表 1 可以看出, HPD-300、HPD-700、AB-8 及 HPD-400 树脂均对花色苷具有相对较强的吸附能力, 平衡吸附量均在  $15.50 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  以上, HPD-100A、X-5、及 S-8 吸附量中等, 在  $15.00\sim 15.50 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  之间。从吸附选择性及解吸效果来看, NKA-9、NKA-II、D3520 树脂对花色苷的吸收选择性较差而且解吸的回收率很低, 很难再洗脱下来, 不适用于花色苷的分离。而 HPD-300、HPD-700、AB-8、X-5、HPD-400 及 S-8 树脂对花色苷的选择性较强而且

表 1 10 种树脂对紫甘薯花色苷的静态吸附与解析性能

Tab 1 Static adsorption and desorption performance of 10 kinds of resins for anthocyanin from purple sweet potato

树脂类型	极性	吸附浓度/mg·mL <sup>-1</sup>	吸附量/mg·g <sup>-1</sup>	解析浓度/mg·mL <sup>-1</sup>	吸附率/%	解吸率/%
D3520	非极性	0.215 8	10.790 8	0.151 6	60.2	70.3
HPD-100A	非极性	0.308 8	15.441 4	0.246 8	86.2	79.9
HPD-300	非极性	0.352 0	17.599 4	0.290 1	98.2	82.4
HPD-700	非极性	0.323 8	16.189 6	0.274 9	90.4	84.9
X-5	非极性	0.309 7	15.486 6	0.264 1	86.4	85.3
AB-8	弱极性	0.316 7	15.837 2	0.283 8	88.4	89.6
HPD-400	中极性	0.341 8	17.088 0	0.283 6	95.4	83.0
S-8	极性	0.307 9	15.396 4	0.253 4	85.9	82.5
NKA-9	极性	0.213 3	10.667 3	0.168 3	59.5	78.9
NKA-II	极性	0.258 0	12.901 6	0.195 6	72.0	75.8

较容易解吸下来，解吸率均在 80%以上，因此选择这几种树脂进一步研究。

**3.1.2 树脂静态吸附动力学曲线及吸附速率常数**  
在长时间充分吸附的情况下，树脂的饱和吸附量与实际应用过程中的吸附量是有差别的，合适的树脂不仅具有较大的吸附量、较高的解吸率及选择性，还应该同时具有较快的吸附速度。继续研究了各种树脂吸附量与吸附时间的关系，在 30 °C 时各树脂对紫甘薯的静态吸附动力学曲线，结果见图 1。

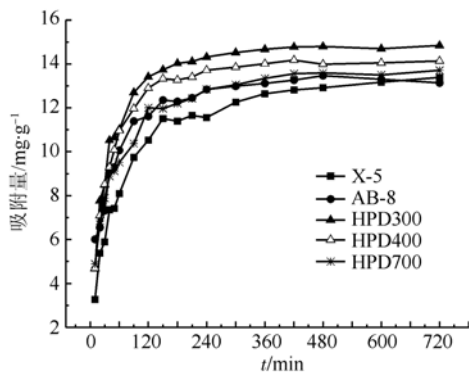


图 1 树脂对紫甘薯花色苷静态吸附动力学曲线

Fig 1 Kinetic curve of static adsorption of resins on anthocyanin from purple sweet potato

由静态吸附动力学曲线可以看出，所研究的几种树脂的吸附初期，对紫甘薯花色苷溶液的吸附量是不断增大的。随着时间的延长，吸附率变化很小，可认为树脂对花色苷的吸附达到饱和，在 6~8 h 内即可以达到平衡。

吸附速率是衡量树脂对紫甘薯花色苷选择性的一个重要指标。由于稀溶液相对更接近理想状

态，因此在稀溶液吸附平衡的研究中应用较多的是 Langmuir 平衡方程，采用该方程来定量比几种树脂对紫甘薯色素的吸附速率。Langmuir 平衡方程是基于均一表面单层吸附这一假设的，其一般形式为：

$$\ln Q_e / (Q_e - Q_t) = kt \text{ 即 } -\ln(1 - Q_t / Q_e) = kt \quad (7)$$

式中  $Q_t$ — $t$  时刻树脂吸附量； $Q_e$ —吸附平衡时树脂吸附量； $k$ —吸附速率常数。

以  $-\ln(1 - Q_t / Q_e)$  对时间  $t$  作图得一直线，由斜率可求得各树脂对花色苷吸附的平衡速率常数 (30 °C)，结果见表 2。速率常数基本上可以反映各树脂静态吸附动力学曲线的特征，可以看出，HPD-300 树脂不仅具有很高的平衡吸附量，而且其吸附的速率常数较大，较短时间能达到平衡，是较理想的吸附树脂。

表 2 各吸附树脂平衡速率常数

Tab 2 Adsorption rate constant of resins

树脂类型	吸附平衡速率常数 $k/\text{min}^{-1}$	相关系数 $R^2$
HPD-300	0.010 9	0.984 0
HPD-700	0.008 7	0.985 4
X-5	0.006 1	0.966 7
AB-8	0.008 6	0.961 4
HPD-400	0.009 1	0.908 4

**3.1.3 树脂静态解吸附动力学曲线**  
5 种树脂吸附花色苷的静态解吸动力学曲线可以看出，五种树脂对花色苷的解吸附速率相差不大，1~2 h 基本达到平衡，考虑到吸附速率和吸附量，最终选择 HPD-300 树脂用于紫甘薯花色苷的纯化，结果见图 2。

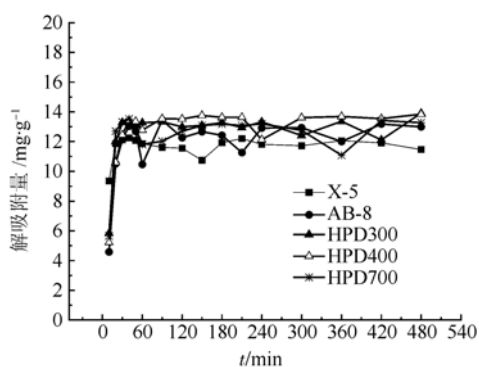


图 2 树脂对紫甘薯花色苷静态解吸动力学曲线  
Fig 2 Kinetic curve of static desorption of resins on anthocyanin from purple sweet potato

3.1.4 HPD-300 树脂静态吸附热力学特性的研究  
吸附热力学主要研究吸附过程能达到的程度问题,通过对吸附剂即大孔吸附树脂上吸附质在各种条件下吸附量的研究,得到各种热力学数据。对确定的吸附体系,平衡吸附量  $q=f(p, t)$ ,当固定温度或压力时,平衡吸附量是压力或温度的单值函数,从而得到吸附等温函数(线)或吸附等压函数(线)。根据 Giles 等的等温线分类,HPD-300 大孔树脂的吸附等温线为“L”型,表明溶液中的花色苷比溶剂分子更加容易被吸附,即溶剂没有强烈的竞争吸附能力,而且吸附等温线是优惠型吸附等温线,即等温线的斜率随浓度的增加而减小,吸附质分子树脂之间的亲和力随着吸附液浓度的增加而降低。25 °C 时大孔吸附树脂的吸附量高于 35, 45 °C 时树脂的吸附量。花色苷组分在大孔吸附树脂上的吸附行为为放热过程,低温有利于吸附容量的提高。此外,从吸附等温线可以看出,一定范围内树脂对花色苷的吸附量随着溶液中花色苷浓度的增加而增加,说明在实际应用过程中,适当增加上样浓度可能会提高树脂对花色苷的吸附量。结果见图 3。

利用 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线模型对图 3 实验数据进行拟合,Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线模型可分别简化为如下所列:

Langmuir 吸附等温线:

$$Q_e = a \times Q_m \times C_e / (1 + a \times C_e) \rightarrow C_e / Q_e = C_e / Q_m + 1 / (Q_m K_L) \quad (8)$$

式中,  $Q_m$ —树脂最大吸附量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );  $Q_e$ —一定浓度花色苷吸附平衡的吸附量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );  $C_e$ —吸附平衡后花色苷溶液浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $a, K_L$ —常数。

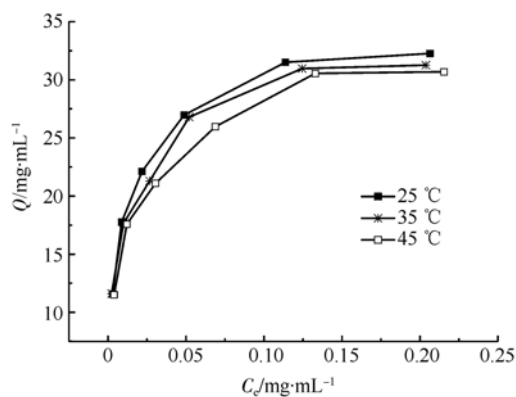


图 3 树脂对紫甘薯花色苷的吸附等温线  
Fig 3 Adsorption isothermal curve of resins on anthocyanin from purple sweet potato

Freundlich 吸附等温线:

$$Q_e = k C_e^{1/n} \rightarrow \ln Q_e = \frac{1}{n} \ln C_e + \ln K_F \quad (9)$$

式中,  $n$ —与温度有关的常数,一般  $\geq 1$ ;  $K_F$ —与吸附剂种类、特性、温度及所采用单位有关的常数。

Langmuir 方程及 Freundlich 方程拟合结果见表 3 和表 4,两方程对各树脂的吸附等温线均有较好的拟合效果,其中 Freundlich 等温方程为半经验方程,而 Langmuir 等温方程为单层分子吸附方程,通过比较发现 Langmuir 模型拟合的相关系数稍大,据此可以认为,在所研究的浓度范围内,各树脂对花色苷的吸附为单层吸附。随着浓度增大,树脂的吸附量趋于稳定。

表 3 树脂上吸附的 Langmuir 等温方程拟合参数

Tab 3 Correlated parameters of Langmuir isotherm for the adsorption

T/K	函数方程	$Q_m / \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$K_L / \text{mL} \cdot \text{mg}^{-1}$	$R^2$
298	$C_e / Q_e = 0.0297 \times C_e + 0.000 3$	33.670 0	99.0	0.998 9
308	$C_e / Q_e = 0.0306 \times C_e + 0.000 4$	32.679 7	76.5	0.998 1
318	$C_e / Q_e = 0.0309 \times C_e + 0.000 5$	32.362 5	61.8	0.997 5

表 4 树脂上吸附的 Freundlich 等温方程拟合参数

Tab 4 Correlated parameters of Freundlich isotherm for the adsorption

T/K	函数方程	$n$	$K_L / \text{mL} \cdot \text{mg}^{-1}$	$R^2$
298	$\ln Q_e = 0.242 5 \times \ln C_e + 3.9566$	4.123 7	52.279 3	0.959 1
308	$\ln Q_e = 0.229 9 \times \ln C_e + 3.8914$	4.349 7	48.979 4	0.976 5
318	$\ln Q_e = 0.247 3 \times \ln C_e + 3.8867$	4.043 6	48.735 1	0.971 1

### 3.2 HPD-300 大孔吸附树脂对紫甘薯花色苷的动态吸附特性的研究

**3.2.1 上样流速对吸附能力的影响** 大孔吸附树脂的柱层析是一种动态吸附过程, 溶液上样流速的变化直接影响色素向树脂内表面的扩散, 从而影响吸附效率。从不同上样流速的花色苷在 HPD-300 树脂上的吸附透过曲线可以看出, 以  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  流速通过树脂柱, 泄漏点( $C/C_0=0.1$ ) 最迟出现, 吸附效果最好, 结果见图 4。HPD-300 树脂对不同上样流速的花色苷溶液的吸附率结果见图 5。由图 5 可知,  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  流速上样吸附率最高。流速过快, 花色苷溶液与树脂接触时间短, 没有来得及与树脂的内表面充分接触就流出吸附柱, 吸附效率大大降低。所以选择上样流速为  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

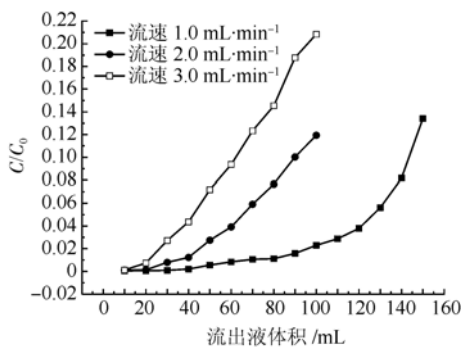


图 4 不同上样流速的花色苷在 HPD-300 树脂上的吸附透过曲线

Fig 4 Permeation curve of anthocyanin with different flow rate on HPD-300 resin

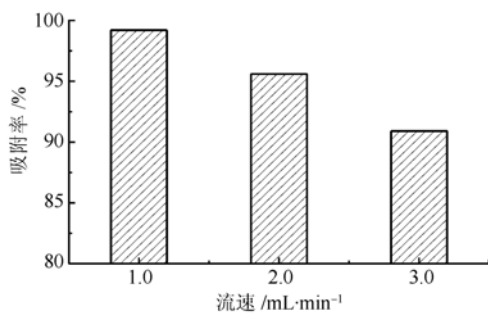


图 5 HPD-300 树脂对不同上样流速的花色苷溶液的吸附率

Fig 5 Adsorption rate of anthocyanin with different flow rate on HPD-300 resin

**3.2.2 上样浓度对吸附能力的影响** 浓度分别为  $0.1, 0.2, 0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的花色苷水溶液通过 HPD-300 树脂吸附时, 吸附通量分别为  $310, 190, 155 \text{ mL}$ , 即 HPD-300 树脂对花色苷吸附量分别为  $3.1, 3.8, 4.65 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  湿态树脂, 干树脂的吸附

量图, 表明一定范围内花色苷的进样浓度越高, 树脂的吸附量越大, 结果见图 6。随着样品浓度的增加吸附达到饱和的时间越短, 树脂越易达到饱和, 结果见图 7。由此确定花色苷的上样浓度为  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

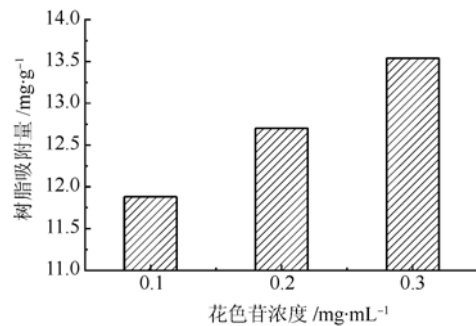


图 6 HPD-300 树脂对不同上样浓度的花色苷溶液的吸附量

Fig 6 Adsorption of anthocyanins with different concentrations on HPD-300 resin

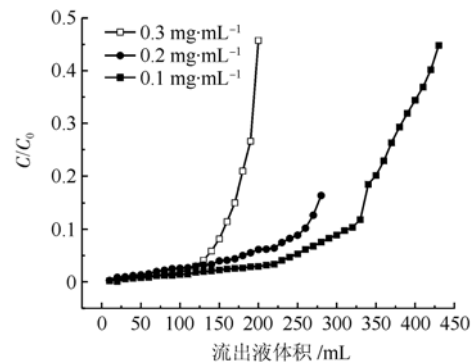


图 7 不同浓度花色苷在 HDP-300 树脂上的吸附透过曲线

Fig 7 Permeation curve of anthocyanins with different concentrations on HPD-300 resin

**3.2.3 动态吸附曲线的测定** 根据  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  流速时树脂对花色苷的吸附透过曲线, 上柱液的初始浓度  $C_0=0.319 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 流出液体积为  $145 \text{ mL}$ , 流出液浓度为原始浓度的 10% 时, 即称为泄露, 表明达到树脂的最佳吸附能力。此时吸附通量为  $46.24 \text{ mg}$ , 湿态 HPD-300 树脂对花色苷的工作吸附量(泄露前吸附量)可达  $4.6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 树脂干重  $3.345 \text{ g}$ , HPD-300 树脂动态吸附量为:  $13.82 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (树脂), 结果见图 8。

**3.2.4 洗脱剂浓度对解吸附的影响** 不同浓度乙醇对解吸附的影响结果显示, 50% 及其以上浓度乙醇的洗脱曲线均出现明显的峰值, 而且峰形比较集中, 说明 50% 及其以上浓度的乙醇对花色苷的洗脱具有选择性, 即一定浓度的乙醇能够选择性地洗脱具有相近性质的花色苷, 洗脱溶液中乙醇

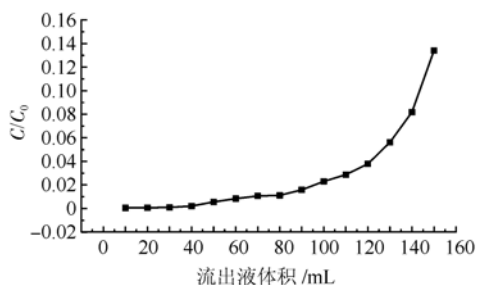


图 8 花色苷溶液在 HPD-300 树脂上的吸附透过曲线  
Fig 8 Permeation curve of anthocyanin on HPD-300 resin

含量较低时, 其对花色苷与树脂之间的吸附作用的影响不明显, 产生明显的拖尾现象, 解吸效率低, 洗脱溶液中乙醇含量从 50%增加到 90%时, 拖尾现象基本消除。结果见图 9。

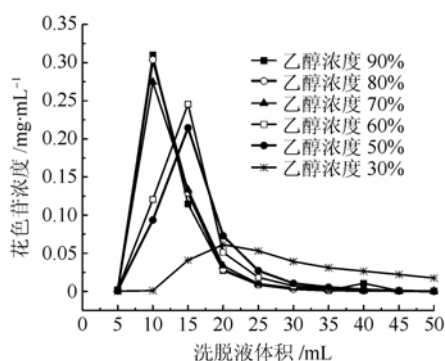


图 9 不同浓度乙醇的解吸曲线  
Fig 9 Desorption curve of different concentrations of ethanol

随着乙醇浓度的增加, 洗脱率不断增加, 并趋于平缓, 90%的乙醇与 80%乙醇洗脱率相差无几, 考虑到经济与后期浓缩因素, 因此, 选择 80%的乙醇水溶液作为洗脱剂, 结果见图 10。

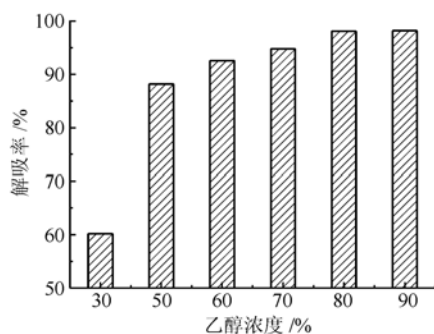


图 10 不同浓度乙醇解吸率  
Fig 10 Desorption rate of different concentrations of ethanol

**3.2.5 洗脱流速对解吸附的影响** 随着流速的逐渐增大, 流出曲线出现拖尾现象, 浓缩效果降低, 所需要的洗脱溶液的体积增大, 洗脱曲线见图 11。

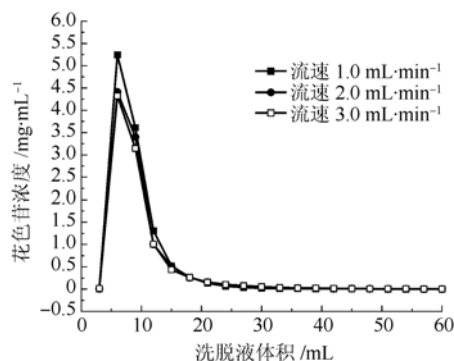


图 11 不同洗脱流速的解吸曲线  
Fig 11 Desorption curve of different elution flow rate

流速增加不利于树脂对花色苷的解吸, 可能是流速如果过快, 洗脱剂不能与被吸附的花色苷充分作用而将其从树脂上洗脱出来, 结果见图 12。考虑到缩短纯化周期, 本研究选用  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  的洗脱流速。

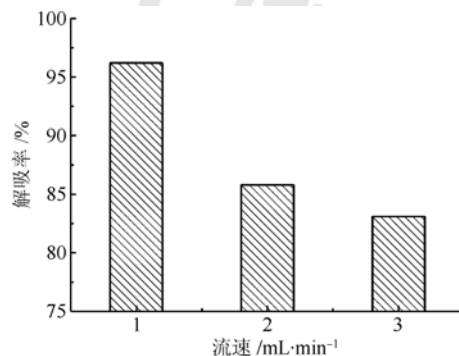


图 12 不同流速洗脱液解吸率  
Fig 12 Desorption rate of Eluate with different flow rate

**3.2.6 动态解吸附曲线的测定** 上柱液的初始浓度  $C_0=0.319 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 体积为 110 mL, 洗脱率为 92.92%, 从洗脱曲线可以看出, 出峰快, 无明显的拖尾现象。用 3 BV 乙醇洗脱花色苷, 收率可达 92.01%, 说明 3 BV 80%的乙醇基本上能把吸附的花色苷洗脱完全。结果见图 13。

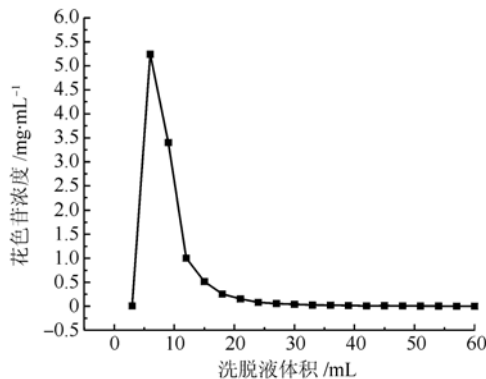


图 13 HPD-300 的解吸曲线  
Fig 13 Desorption curve of HPD-300 resin

### 3.3 纯化前后花色苷的含量及色价对比

纯化后的紫甘薯花色苷总含量和色价都大大提高,其中紫甘薯花色苷总含量比纯化前提高13.18倍,色价比纯化前提高11.01倍。结果见表5。

表5 纯化前后的花色苷色价

Tab 5 The color value of anthocyanins before and after purification

花色苷	干基含量/mg·g <sup>-1</sup>	色价
纯化前	13.78	12.96
纯化后	181.58	142.63

## 4 讨论

本实验通过对 HPD-300、HPD-700、AB-8、HPD-400、HPD-100A、X-5、NKA-9、S-8、D3520 以及 NKA-II 10 种国产大孔吸附树脂的筛选,确定一种理想的吸附树脂,并对其静态吸附动力学、静态吸附热力学及固定床连续吸附-洗脱工艺进行研究。

通过比较 10 种大孔树脂的吸附量和解吸附量,初步选定 5 种吸附量大、选择性强、易解吸的树脂:HPD-300、HPD-400、HPD-700、X-5、AB-8 进一步进行吸附动力学曲线及吸附速率方程和解吸附动力学曲线的研究,确定吸附速率常数(0.010 9 min<sup>-1</sup>)较大的 HPD-300 作为吸附剂吸附紫甘薯花色苷。其吸附达平衡的时间为 6~8 h,解吸附平衡时间为 1~2 h。

考察不同温度下的平衡吸附数据,绘制吸附等温线。研究表明,Langmuir 方程对紫甘薯花色苷在 HPD-300 树脂上的吸附情况拟合效果较好。在所研究的浓度范围内,该树脂对紫甘薯花色苷的吸附为单分子层吸附,最大吸附量为 33.67 mg·g<sup>-1</sup>。花色苷组分在大孔吸附树脂上的吸附行为为放热过程,低温有利于吸附容量的提高。

固定床连续吸附-洗脱工艺研究中,对 HPD-300 树脂吸附紫甘薯花色苷的条件优选:吸附时,宜采用 pH 值 1.0,初始浓度 C<sub>0</sub>=0.3 mg·mL<sup>-1</sup> 花色苷溶液,上样流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,体积为 145 mL 时,HPD-300 树脂动态吸附量为:13.82 mg·g<sup>-1</sup>(树

脂),达到最佳吸附能力。

对 HPD-300 树脂解吸附紫甘薯花色苷的条件优选:采用 80%乙醇溶液作为洗脱剂,洗脱流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,用 3 BV 洗脱花色苷,收率可达 92.01%。

纯化后的紫甘薯花色苷含量为 181.58 mg·g<sup>-1</sup>,比纯化前的提高 13.18 倍;色价 E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup>(528 nm)=142.63,比纯化前提高 11.01 倍。

## REFERENCES

- [1] CASTAÑEDA-OVANDO A, PACHECO-HERNÁNDEZ M D L, PÁEZ-HERNÁNDEZ M E, et al. Chemical studies of anthocyanins: A review [J]. Food Chem, 2009, 113(4), 859-871.
- [2] SHIH P H, YEH C T, YEN G C. Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells [J]. Food Chem Toxicol, 2005, 43(10), 1557-1566.
- [3] FANG ZX, NI Y Y. Research progress on physiological function of anthocyanins [J]. Guangzhou Food Sci Technol(广州食品工业科技), 2001, 17(3): 60-62.
- [4] MATSU T, EBUCHI S, KOBAYASHI M, et al. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from Ipomoea batatas L cultivar Ayamurasaki can be achieved through the alpha-glucosidase inhibitory action [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(25): 7244-7248.
- [5] FITZPATRICK D F, BING B, ROHDEWALD P, et al. Endothelium-dependent vascular effects of pycnogenol [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 1998, 32(4): 509-515.
- [6] KAY C D, HOLUB B J. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects [J]. Br J Nutr, 2002, 88(4): 389-398.
- [7] KIM S H, KANG K W, KIM K W, et al. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium dependent vasorelaxation in rat aorta [J]. Life Sci, 2000, 67(2): 121-131.
- [8] PATIL G, MADHUSUDHAN M C, RAVINDRA B B, et al. Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish [J]. Chem Eng Process: Process Intens, 2009, 48(1): 364-369.
- [9] DU Q, JERZ G, WINTERHALTER P. Isolation of two anthocyanin sambubiosides from bilberry (*Vaccinium myrtillus*) by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004(1/2), 1045: 59-63.
- [10] FULEKI T, FRANCIS F J. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanins in cranberries [J]. J Food Sci, 1968, 33(1): 72-77.
- [11] GB 25536-2010, Food Additive Radish Red(食品添加剂萝卜红) [S]. 2010: 1-3.

收稿日期: 2013-03-15