

水提紫甘薯色素废渣总黄酮纯化工艺研究

李桑柔, 王瑞欣, 吴志霜, 周建于, 徐芳, 王琦, 吴少雄, 吴丽莎, 殷建忠*

(昆明医科大学营养与食品研究所, 昆明 650500)

摘要: **目的** 在前期对水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取研究基础上, 本研究进一步深入研究其总黄酮的纯化工艺, 旨在为水提紫甘薯色素废渣的综合开发利用提供理论基础和参考依据。**方法** 通过静态吸附、解吸和动态吸附、解吸等试验来考察 AB-8 大孔树脂的纯化性能, 对水提紫甘薯色素废渣总黄酮粗提液进行纯化。**结果** AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮有较好的吸附和解吸性能, 吸附率达 86.43%; 最佳上样 pH 值为 3.0; 解吸液以 2BV 浓度为 80% 的乙醇水溶液解吸效果最好, 解吸率达 89.79%; 解吸流速以 1 mL/min 效果最好。**结论** 采用 AB-8 大孔吸附树脂纯化水提紫甘薯色素废渣总黄酮所得工艺具有较好的纯化效果, 且方法简便可行。

关键词: 水提紫甘薯色素废渣; 黄酮; 纯化; 工艺

Study on purification of total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipomoea batatas* L.

LI Sang-Rou, WANG Rui-Xin, WU Zhi-Shuang, ZHOU Jian-Yu, XU Fang, WANG Qi,
WU Shao-Xiong, WU Li-Sha, YIN Jian-Zhong*

(Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective The study on purification of the total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipomoea batatas* L. aimed to provide the theoretical basis and reference for its comprehensive development and utilization. **Methods** The depurated performance of AB-8 macroporous adsorption resin was investigated through static adsorption and desorption, dynamic adsorption and desorption experiment. Then the crude extraction of total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipomoea batatas* L. was purified. **Results** The AB-8 macroporous resin pigment purple sweet potato waste water extraction of total flavonoids have better absorption and desorption properties. The adsorption rate of total flavonoids was 86.43%, respectively. The pH of solution was 3.0 for total flavonoids. The optimum desorption process was desorpted at 1 mL/min with 2BV of 80% ethanol, and the desorption rate of total flavonoids was 89.79%, respectively. **Conclusion** The technology that adopts the AB-8 macroporous adsorption resin which purifies the total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipomoea batatas* L. has a good purification effect, which is also simple and feasible.

KEY WORDS: residue of water-extracting pigment of *Ipomoea batatas* L.; flavonoids; purification; process

基金项目: 云南省科技计划项目(2008ZC107M)、云南公共卫生与疾病防控协同创新中心项目(2014YNPHXT07)

Fund: Supported by the Science and Technology Planning Project of Yunnan Province(2008ZC107M) and the Project for the Collaborative Innovation Center of Public Health and Disease Prevention and Control of Yunnan Province (2014YNPHXT07)

*通讯作者: 殷建忠, 教授, 主要研究方向为营养与食品安全。E-mail: yinjianzhong2005@sina.com

*Corresponding author: YIN Jian-Zhong, Professor, Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China. E-mail: yinjianzhong2005@sina.com

1 引言

紫甘薯(*Ipamoea batatas* L.)是指薯肉颜色为紫色的甘薯,其花色素具有原料资源丰富、色素产量高、提取成本低、易于着色等优势,在食品工业、医药工业等方面有着较大的应用价值。然而,企业面临的难题是如何将水法提取紫甘薯色素后剩余废渣变废为宝。因此,提高紫甘薯提取色素后废渣附加值具有重要的现实意义和理论意义。本课题组前期对水提紫甘薯色素废渣进行了系列基础研究及产品研发和总黄酮的提取工艺^[1-8]。目前常用于紫甘薯黄酮纯化的方法主要包括树脂吸附法、膜分离超滤法、醋酸铅沉淀法、分级醇沉法等^[9-15]。膜分离超滤法对设备要求高,成本大;醋酸铅沉淀法使用了大量的醋酸铅,有毒,不适合用于纯化食品和药品级花色苷;分级醇沉法过程繁琐,乙醇消耗量大,伴有吸附和包夹;吸附树脂是一类有机高分子聚合物吸附剂,它具有稳定性高、吸附选择性独特、不受无机物存在的影响、解吸条件温和、再生简便、使用周期长、节约费用等诸多优点。朱洪梅等^[16]的研究结果表明:AB-8大孔吸附树脂对紫甘薯色素具有较好的吸附能力。本实验采用树脂吸附法(AB-8大孔吸附树脂)对总黄酮进行纯化,从静态和动态两方面详细研究了其对紫甘薯花色苷及黄酮的吸附特性,得出最佳分离纯化条件。

2 材料与方法

2.1 材料制备

水提紫甘薯色素废渣总黄酮粗提液的制备:将水提紫甘薯色素废渣粉在乙醇体积分数70%,提取时间4 min,微波功率708 W,料液比1:40,提取2次的提取工艺下进行总黄酮的提取,提取液经抽滤,在40℃条件下减压蒸发浓缩至基本无酒精挥发为止,得到的粗提液于4℃冰箱冷藏保存备用。

AB-8大孔树脂预处理:用95%乙醇浸泡24 h,然后用双蒸水洗至无醇味,35℃烘箱中烘干备用。

2.2 仪器与试剂

722S可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);HZS-H水浴恒温振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);DELTA 320 pH计(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);循环水式真空泵SHZ-DIII(巩义

市英峪予华仪器厂);旋转蒸发器RE-52A(上海亚荣生化仪器);ZL-1型真空冷冻干燥机(上海泵真空设备有限公司);层析柱3 cm×40 cm(上海亚荣生化仪器厂)。

AB-8(净品级,南开大学化工厂);95%乙醇(天津市致远化学试剂有限公司);NaOH(分析纯,重庆化学试剂总厂);NaNO₂(分析纯,重庆北碚化学试剂厂);Al(NO₃)₃(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);氯化钾(分析纯,汕头市化学试剂厂);无水乙酸钠(天津市致远化学试剂有限公司);盐酸(分析纯,重庆川东化工集团有限公司化学试剂厂)。

2.3 水提紫甘薯色素废渣总黄酮纯化工艺

2.3.1 水提紫甘薯色素废渣总黄酮在AB-8大孔树脂上的静态吸附与解吸试验

(1) AB-8大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮的静态吸附试验

称取AB-8大孔吸附树脂2.0 g置于锥形瓶中,加入稀释后的总黄酮溶液200 mL,置于恒温水浴振荡器中,120 r/min,室温条件下振荡至吸附饱和。分别在吸附时间为20、40、60、80、100、120、140、160 min时取样,测定溶液中总黄酮的吸光度值并计算浓度,按公式^[15]计算吸附率并绘制AB-8大孔树脂对紫甘薯总黄酮的静态吸附曲线,确定大孔树脂最佳静态吸附时间。

$$\text{吸附率(\%)} = \frac{C_0 - C_{\text{终}}}{C_0} \times 100\% \quad (\text{公式1})$$

式中: C_0 —吸附前的浓度; $C_{\text{终}}$ —吸附完全后的浓度。

(2) 总黄酮溶液pH值对AB-8大孔树脂吸附率的影响

准确称AB-8大孔吸附树脂2.0 g于锥形瓶中,分别加入pH值为2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5的总黄酮溶液(以HCl、NaOH调节pH值)200 mL,置于水浴恒温振荡器中,120 r/min,室温条件下振荡至吸附饱和。测定溶液中总黄酮的吸光度值,计算浓度及吸附率。

(3) 乙醇体积分数对AB-8大孔树脂解吸特性的影响

称取吸附饱和的AB-8树脂2.0 g,分别加入20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的乙醇溶液200 mL,置于水浴恒温振荡器中,120 r/min,解吸30 min。将解吸液稀释至乙醇浓度为20%,测得吸光度A,并折合成相同体积的吸光度,计算浓度及解吸

率。由于吸附液体积与解吸液体积相等, 解吸率公式可简化为公式 2^[15]。

$$\text{解吸率}(\%) = \frac{C_2}{C_0 - C_1} \times 100\% \quad (\text{公式 2})$$

式中: C_0 —吸附前水提紫甘薯色素废渣总黄酮溶液的浓度(初始浓度); C_1 —吸附达到平衡时的浓度; C_2 —解吸液浓度。

2.3.2 水提紫甘薯色素废渣总黄酮在 AB-8 大孔树脂上的动态吸附与解吸试验

(1) 总黄酮在 AB-8 大孔树脂上的流出曲线

称取处理好的 AB-8 大孔树脂, 以湿法缓慢装入 3 cm × 40 cm 的吸附柱中。

室温下控制流速为 1 mL/min, 将稀释后的水提紫甘薯色素废渣总黄酮粗提液加入树脂柱。用收集器收集流出液, 当流出液的浓度与上柱前溶液的浓度基本相同时, 视为吸附饱和。测定紫甘薯总黄酮流出液在不同体积时的浓度, 绘制总黄酮溶液的流出曲线。

(2) 水提紫甘薯色素废渣总黄酮解吸流速的确定

称取处理好的 AB-8 大孔树脂, 以湿法缓慢装入 3 cm × 40 cm 的吸附柱中, 将稀释后的水提紫甘薯色素废渣总黄酮粗提液控制流速为 1 mL/min, 加入树脂柱。吸附饱和后, 用 2BV 的双蒸水洗脱, 洗去水溶性糖类、有机酸等杂质, 然后用 2BV 的 80% 的乙醇解吸, 流速分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min, 收集解吸液测定吸光度, 计算总黄酮浓度及解吸率。

3 结果与讨论

3.1 水提紫甘薯色素废渣总黄酮在 AB-8 大孔树脂上的静态吸附与解吸试验

3.1.1 AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮的静态吸附能力

AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮的静态吸附试验结果(图 1)显示, 在吸附过程的前 120 min 内, AB-8 大孔吸附树脂对总黄酮的吸附量增幅较大, 在 120 min 后, AB-8 大孔吸附树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮的静态吸附量基本达到饱和, 随着吸附时间的延长, 吸附量基本不变。最终的吸附率为 86.43%。

3.1.2 总黄酮溶液 pH 值对 AB-8 大孔树脂吸附率的影响

由图 2 可以看出, 当水提紫甘薯色素废渣总黄酮的 pH 值为 3.0 时, AB-8 大孔树脂的吸附率最高为 84.39%。所以在总黄酮吸附实验前需将粗提液的 pH

值调节为 3.0。

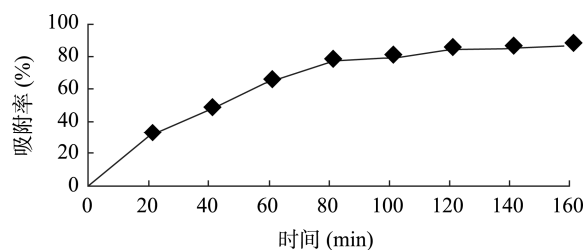


图 1 AB-8 大孔树脂对总黄酮的静态吸附曲线

Fig.1 Static absorption curve of AB-8 macroporous resin of total flavonoids

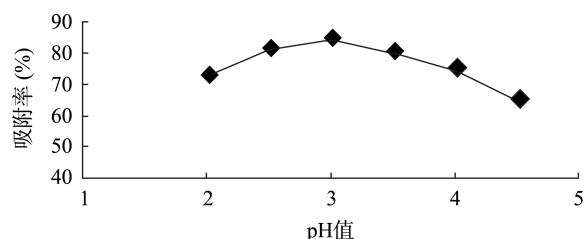


图 2 紫甘薯总黄酮在不同 pH 值时吸附率

Fig. 2 The adsorption ratio of purple sweet potato total flavonoids in different pH

3.1.3 乙醇体积分数对 AB-8 大孔树脂解吸特性的影响

由图 3 可知, 随着乙醇体积分数的增大, 解吸率呈上升趋势。乙醇浓度为 80% 时解吸率最大, 可把大孔树脂上 89.79% 的总黄酮解吸下来, 故用 80% 的乙醇解吸效果最好。

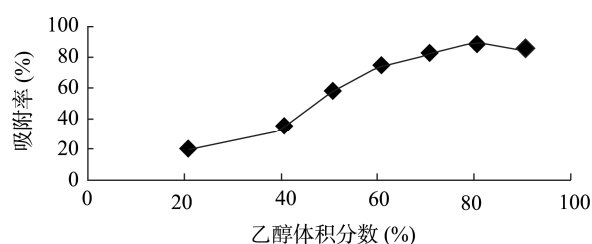


图 3 乙醇体积分数对总黄酮解吸率的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on desorption ratio of total flavonoids

3.2 水提紫甘薯色素废渣总黄酮在 AB-8 大孔树脂上的动态吸附与解吸

3.2.1 总黄酮在 AB-8 大孔树脂上的流出曲线

紫甘薯总黄酮流出液的浓度随着流出液体积的增加而逐渐增大(图 4), 当流出液体积达到 7 L 时, 流

出液的浓度达到最高值(与上柱前溶液浓度基本一致, $C=0.071\text{ mg/mL}$), 即达到吸附饱和。但实验中发现当流出液体积为 6 L 时, 流出液浓度就达到了 0.067 mg/mL , 综合考虑成本、耗材及浓度, 流出液体积 6 L 时与流出液体积 7 L 时达到的流出液浓度相差不大, 因此本文认为选择流出液体积为 6 L 时的树脂较合适。

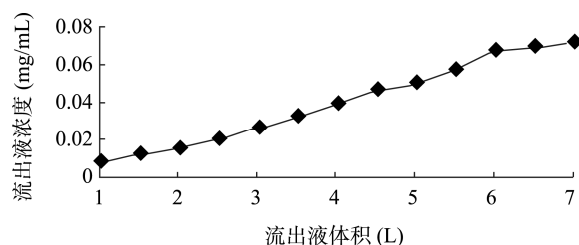


图4 紫甘薯总黄酮溶液通过 AB-8 树脂柱的流出曲线
Fig. 4 Effluent curve of AB-8 macroporous resin of purple sweet potato total flavonoids

3.2.2 水提紫甘薯色素废渣总黄酮解吸流速

由图 5 可以看出, 当解吸流速为 0.5 mL/min 时, 水提紫甘薯色素废渣总黄酮的解吸率最高, 但若以 0.5 mL/min 的流速来解吸紫甘薯总黄酮, 比较耗时, 且流速 0.5 mL/min 与流速 1.0 mL/min 的解吸率比较无显著性差异($P>0.05$)。故本实验以 1 mL/min 的解吸流速对总黄酮进行解吸。

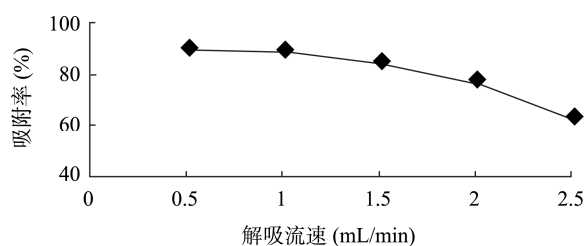


图5 解吸流速对总黄酮解吸率的影响
Fig. 5 Effect of desorption velocity on the desorption rate of total flavonoids

4 结 论

AB-8 大孔吸附树脂对水提紫甘薯色素废渣总黄酮有较好的吸附和解吸性能, 吸附率达 86.43% ; 最适溶液 pH 为 3.0; 以 1 mL/min , 2BV 浓度为 80% 的乙醇水溶液解吸效果最好, 能解吸大孔树脂上 89.79% 的总黄酮。研究表明, 采用 AB-8 大孔吸附树脂纯化

水提紫甘薯色素废渣总黄酮所得工艺具有较好纯化效果, 方法简便可行。

参考文献

- [1] 杨解顺. 水提紫甘薯色素废渣减肥、通便保健功能评价及产品开发研究[D]. 昆明: 昆明医学院, 2011.
Yang JS. Study on the effect of weight reducing and catharsis of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in lab rats or mice and its products development [D]. Kunming: Kunming Medical University, 2011.
- [2] 杨解顺, 王琦, 吴少雄, 等. 水提紫甘薯色素废渣营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 551-553.
Yang JS, Wang Q, Wu SX, et al. Analysis and evaluation on nutritional components of *Ipamoea batatas* L. residue after pigment extraction [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(5): 551-553
- [3] 张雪辉, 徐芳, 殷建忠, 等. 紫甘薯废渣的食用安全性评价[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 476-478.
Zhang XH, Xu F, Yin JZ, et al. Food safety evaluation of waste residue of *Ipamoea batatas* L. after pigment extraction [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(4): 476-478.
- [4] 起德丽, 王琦, 殷建忠, 等. 水提紫甘薯色素废渣对促进小鼠通便的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 59-62, 67.
Qi DL, Wang Q, Yin JZ, et al. Study on the effect of catharsis function of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in mice [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, 29(1): 59-62, 67
- [5] 杨解顺, 尚建华, 殷建忠, 等. 水提紫甘薯色素废渣对肥胖大鼠减肥功效的研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1648-1651.
Yang JS, Shang JH, Yin JZ, et al. Study on the effect of weight reducing of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in obese rats [J]. Mod Food Sci Technol, 2012, 28(12): 1648-1651
- [6] 殷建忠, 王琦, 吴少雄, 等. 正交试验法优化水提紫甘薯色素废渣发酵工艺及基于模糊综合评判模型评价感官质量[J]. 食品科学, 2011, 23(6): 131-134.
Yin JZ, Wang Q, Wu SX, et al. Orthogonal array optimization of wine fermentation from purple sweet potato residue after pigment extraction and sensory evaluation by fuzzy comprehensive evaluation model [J]. Food Sci, 2011, 23(6): 131-134.
- [7] 张丽娟, 殷建忠, 李燕, 等. 紫甘薯色素的营养保健作用及其研究进展[J]. 农产食品科技, 2008, 2(4): 59-62.
Zhang LJ, Yin JZ, Li Y, et al. Research advances of the pigment of purple sweet potatoes and its nutritionai and healthy function

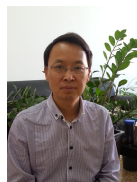
- [J]. *Acult Food Product Sci Technol*, 2008, 2(4): 59–62.
- [8] 王瑞欣, 张雪辉, 吴志霜, 等. 紫甘薯花色苷抗菌、抗氧化及肝损伤保护作用研究进展[J]. *农产食品科技*, 2013, 7(1): 50–53, 58.
- Wang RX, Zhang XH, Wu ZS, *et al.* Research development of antimicrobial, antioxidant and protective effect of injured liver of purple sweet potato anthocvanlins [J]. *Acult Food Product Sci Technol*, 2013, 7(1): 50–53, 58.
- [9] 程晓荣. 积雪草中总黄酮提取纯化及抗氧化活性的研究[D]. 沈阳: 辽宁医学院, 2011.
- Cheng XR. Research on extraction and purification of total flavonoids and antioxidant activity of *Centella asiatica* [D]. Shenyang: Liaoning Medical University, 2011.
- [10] 崔钥. 穿心莲活性成分提制分析及其与生物大分子作用机理研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2009.
- Cui Y. Research on common andrographis herb ctive ingredient extract to analysis with it and biological macromoleculesv interact mechanism [D]. Changsha: Hunan University, 2011.
- [11] 高莹. 紫甘薯叶多糖和黄酮的提取及抑菌作用研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2007.
- Gao Y. Research on purple sweet potato extract leaf polysaccharides and flavonoids and it inhibit the growth of bacteria [D]. Tianjin: Tianjin Commerce University, 2007.
- [12] 马国财. 叉枝鸦葱总黄酮的提取工艺及其抗氧化活性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2011.
- Ma GC. Study contains extraction technology of total flavonoids of *Scorzonera divaricata* and antioxidant activity [D]. Alaer: Tarim University, 2011.
- [13] 高丽威. 紫心甘薯黄酮类化合物的提取纯化及抗氧化活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- Gao LW. *Ipamoea batatas* L. flavonoids and antioxidant activity study of extraction and purification [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [14] 武惠斌. 抱茎苦蕒菜总黄酮的提取纯化及生物活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- Wu HB. Amplexicaul purification and biological activity of extraction of total flavonoids bitter vegetable pod [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [15] 黄志宏. 大孔吸附树脂法[富集纯化荆芥穗总黄酮的工艺研究[D]. 广州: 广东中医药大学, 2010.
- Huang ZH. Macroporous adsorption resin method enrichment and purification of total flavonoids herba schizonepetae spike technology was studied [D]. Guangzhou: Guangdong Institute of Chinese Medicine, 2010.
- [16] 朱洪梅, 韩永斌, 等. 大孔树脂对紫甘薯色素的吸附与解吸特性研究[J]. *农业工程学报*, 2006, 22(5):153–156.
- Zhu HM, Han YB, *et al.* Macroporous resin adsorption and desorption characteristics of purple sweet potato pigment research [J]. *J Agric Eng*, 2006, 22(5): 153–156.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



李桑柔, 在读硕士研究生, 主要研究方向为营养与慢性病。
E-mail: 772075998@qq.com



殷建忠, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为营养与食品安全。
E-mail: yinjianzhong2005@sina.com