

大孔树脂法纯化覆盆子中黄酮化合物

曹艳¹, 金佳秀¹, 巩卫琪², 孙彩霞³, 阿妮亚¹, 夏其乐^{1*}

(1. 浙江省农业科学院食品科学研究所, 农业农村部果品产后处理重点实验室, 浙江省果蔬保鲜与加工技术研究重点实验室, 杭州 310021; 2. 浙江铁枫堂食品饮料有限公司, 温州 325600; 3. 浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 杭州 310021)

摘要: **目的** 研究不同大孔树脂及纯化条件对覆盆子提取物中黄酮纯化率的影响, 确定最佳的覆盆子黄酮纯化条件。**方法** 以覆盆子总黄酮的吸附率和解吸率为指标, 筛选出最佳的大孔树脂及分离纯化参数; 利用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)分析纯化后样品中的黄酮种类和含量。**结果** 从 D 101、NAK-9、AB-8、HPD 500、HZ 806、S-8 筛选出最适的分离纯化树脂 AB-8, 最佳分离纯化条件为: 液体样品与树脂量比为 0.6:1 (*V:m*), 吸附时间为 4 h, 最适解吸溶剂为 70%乙醇(*V:V*), 洗脱液体积为上样量的 4 倍, 静态解吸时间为 4 h。经大孔树脂纯化后, 覆盆子黄酮纯度较纯化前提高了 3.3 倍。通过 HPLC 分析, 纯化后的干燥样品(purified dry sample, PDS)中黄酮以山奈酚-3-O-芸香糖苷和槲树苷为主, 含量分别为 5.91 mg/g 和 4.60 mg/g。**结论** 本研究所得纯化方法可大幅度提高覆盆子黄酮提取物的纯度, 为覆盆子提取物在营养健康食品中的应用提供参考和借鉴。

关键词: 覆盆子; 黄酮; 山奈酚-3-O-芸香糖苷; 大孔树脂; 纯化

Purification of flavonoids from *Rubus chingii* Hu extraction by macroporous resin

CAO Yan¹, JIN Jia-Xiu¹, GONG Wei-Qi², SUN Cai-Xia³, A Ni-Ya¹, XIA Qi-Le^{1*}

(1. Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Post-Harvest Handling of Fruits of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Fruits and Vegetables Postharvest and Processing Technology Research of Zhejiang Province, Hangzhou 310021, China; 2. Tie Feng Tang Food and Beverage Co., Ltd., Wenzhou 325600, China; 3. Institute of Agricultural Products Quality and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different macroporous resins and purification parameters on purification rate of flavonoids in *Rubus chingii* Hu extract, and determine the optimal purification condition. **Methods** Based on the adsorption rate and desorption rate of total flavonoids in *Rubus chingii* Hu, the optimal macroporous resin and separation and purification parameters were screened out; high performance liquid chromatography (HPLC) was used to analyze the flavonoid species and content. **Results** The optimal separation

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LQ18C200005)、国家自然科学基金青年基金项目(31901708)、国家重点研发计划项目(2018YFF0213505)、地方科技合作项目(CA2018002)

Fund: Supported by the Natural Science Youth Foundation of Zhejiang Province (LQ18C200005), the National Natural Science Foundation of China (31901708), the National Key Research and Development Program (2018YFF0213505), and the Local Science and Technology Cooperation Projects (CA2018002)

***通信作者:** 夏其乐, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为食药同源植物活性成分研究。E-mail: cookxql@163.com

***Corresponding author:** XIA Qi-Le, Master, Associate Professor, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, No.198, Shiqiao Road, Shangcheng District, Hangzhou 310021, China. E-mail: cookxql@163.com

and purification resin AB-8 was selected from D 101, NAK-9, AB-8, HPD 500, HZ 806 and S-8. The optimal separation and purification conditions were: The ratio of liquid sample to resin was 0.6:1 ($V:m$), the adsorption time was 4 h, the optimal desorption solvent was 70% ethanol ($V:V$), and the eluent volume was the sample volume 4 times, the static desorption time was 4 h. After purification by macroporous resin, the purity of *Rubus chingii* Hu flavonoids was 3.3 times higher than that before purification. Kaempferol-3-O-rutin glycoside and tiliroside were the main flavonoids in the purified dry sample (PDS) analyzed by HPLC. The content of them was 5.91 and 4.60 mg/g, respectively. **Conclusion** The purification method obtained in this study can greatly improve the purity of *Rubus chingii* Hu flavonoid extract, and provide a reference for the application of *Rubus chingii* Hu extract in nutritious and healthy food.

KEY WORDS: *Rubus chingii* Hu; flavonoids; kaempferol-3-O-rutin glycoside; macroporous resin; purification

0 引言

掌叶覆盆子(*Rubus chingii* Hu)是蔷薇科悬钩子属的植物,主要分布于我国江西、浙江、江苏、安徽等地,未成熟果实(青果)干燥后是临床治疗中补肝益肾、固精缩尿、明目的常用中药材,目前已被列入药食同源目录^[1-2]。研究表明,覆盆子青果富含黄酮、多酚等生物活性成分,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和降血糖血脂等功效^[3-6]。覆盆子中黄酮种类众多,山奈酚-3-O-芸香糖苷是药典中规定的评价覆盆子质量的主要指标之一^[7]。

植物源活性成分的提取方法有水提法、有机溶剂法、酶解辅助法、物理场辅助提取法等^[8-12]。随着技术不断进步,虽然提取率大幅升高,但提取物中成分复杂,目标物质纯度仍然很低。本研究前期通过超声辅助法所得的覆盆子黄酮提取物中,有效成分山奈酚-3-O-芸香糖苷含量很低,直接作为配料使用价值不高,还需要进一步纯化,而目前关于覆盆子黄酮提取物纯化方面的研究较少。大孔树脂是一种天然聚合物吸附剂,比表面积大,对溶液中溶质吸附能力强,具有交换速度快、条件温和、选择性好、操作简单周期短、生产废料少、热稳定性好、无残留等特点^[13-14]。不同种类的大孔树脂因极性、比表面积、粒径等性质不同,可以选择性地吸附和解吸不同物质,是一种常用的分离纯化介质^[13-15]。信传鑫等^[16]利用 HPD-500 纯化吸附桦褐孔菌多糖,纯度由 20.4%提升至 56.52%。范铭等^[17]利用 AB-8 大孔树脂纯化桑椹渣提取物中具有抑制 α -淀粉酶活性功效的黄酮,纯化后 α -淀粉酶抑制活性提高了 3.2 倍。WANG 等^[18]利用 XDA-8 大孔树脂纯化虾青素,纯度提高了 3.7 倍。

本研究以前期覆盆子黄酮粗提取液为原料,通过考察不同大孔树脂对提取液中黄酮的吸附率和解吸率的差异,筛选出合适的大孔树脂,进一步研究了大孔树脂对覆盆子黄酮的吸附动力学和解吸动力学,确定了大孔树脂纯化的最适条件,为覆盆子活性成分纯化、精准功效研究及实际应用提供理论和技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂和仪器

覆盆子青果产自淳安县红红家庭农场; AB-8、HPD 500、NKA-9、HZ 806、S-8、D101 大孔树脂购自天津允开树脂科技有限公司。

芦丁、鞣花酸、异槲皮苷、金丝桃苷、槲树苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷(纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司);无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、盐酸(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司)。

KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); RE-52 系列旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); UV-1800 紫外分光光度计(日本岛津公司); LC-2030C 高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 覆盆子总黄酮提取

按照前期预实验确定的覆盆子总黄酮提取最优条件,即料液比 1:13 ($m:l$)、提取溶剂 40%乙醇($V:V$)、65 °C 超声辅助提取 50 min,提取 2 次,离心后合并上清液,用于纯化。

1.2.2 总黄酮含量测定

总黄酮含量参照 LIU 等^[19]采用比色法测定。

1.2.3 大孔树脂纯化覆盆子黄酮

(1)最佳树脂的筛选

以表 1 中的 6 种大孔树脂为纯化介质,不同大孔树脂预处理方法如下:

①AB-8: 用去离子水洗涤,直到清洗液透明无色,存于去离子水中备用。②HPD 500、D101、HZ 806、S-8、NKA-9: 先用 2 倍体积 95%乙醇洗至洗出液无白色浑浊,再用去离子水洗尽乙醇,然后加入 3 倍体积的 5% NaOH 溶液和 3 倍体积的 4% HCl 溶液分别浸泡 24 h,每次浸泡结束用去离子水洗至 pH 为中性,存于去离子水中备用^[11,17]。

吸附实验: 取处理后的树脂 5 g,加入 4 mL 样品稀释液(总黄酮质量浓度约为 0.07 mg/mL),30 °C、150 r/min 恒温振荡 6 h。吸附平衡后,取上清液测定总黄酮含量(mg/mL),树脂用于解吸实验。

表 1 常见的几种不同大孔树脂性质
Table 1 Properties of some common macroporous resin

树脂种类	极性	平均孔径/nm	比表面积/(m ² /g)
AB-8	弱极性	130~140	480~520
HPD 500	极性	60~80	570~600
NKA-9	极性	155~165	250~290
HZ 806	极性	50	784
S-8	极性	280~300	100~120
D 101	非极性	90~100	500~550

静态解吸实验: 配制 0、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% ($V:V$)乙醇溶液作为洗脱液。向吸附结束的树脂中分别加入 4 倍体积上样量(记作 4 BV)的不同洗脱液, 于 30 ℃、150 r/min 恒温振荡 12 h, 解吸完成后取上清液, 测定总黄酮含量(mg/mL)。

对每种树脂进行吸附量、吸附率、解吸比、回收率计算, 选择用于纯化的最佳树脂。吸附量[式(1)]、吸附率[式(2)]、解吸比[式(3)]、回收率[式(4)]计算公式如下:

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V_0}{m} \quad (1)$$

$$E/\% = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: Q_e 为吸附量, mg/g; C_e 为总黄酮平衡浓度, mg/mL; C_0 为总黄酮初始浓度, mg/mL; V_0 为样品初始体积, mL; m 为树脂质量, g; E 为吸附率, %。

$$D/\% = \frac{(C_d V_d)}{(C_0 - C_e)V_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$R/\% = \frac{C_d V_d}{C_0 V_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中: D 为解吸比; V_d 为解吸体积, mL; C_d 为解吸液中总黄酮的浓度, mg/mL; R 为回收率, %; C_e 为总黄酮平衡浓度, mg/mL; C_0 为总黄酮初始浓度, mg/mL; V_0 为样品初始体积, mL。

(2)最佳洗脱剂浓度的确定

以最佳树脂为纯化介质, 按照 1.2.3 (1)中吸附和洗脱步骤, 测定不同洗脱液中总黄酮含量(mg/mL), 确定最适洗脱剂用量。

(3)吸附和解吸动力学特性

取最佳纯化树脂 15 g 与 12 mL 液体样品混合, 于 30 ℃、150 r/min 恒温振荡 6 h。分别在 1、2、3、4、5、6 h 时取样品液测定总黄酮含量, 绘制吸附动力曲线。向吸附结束的树脂中加入 1.2.3 (2)中确定的最佳洗脱液 48 mL, 于 30 ℃、150 r/min 恒温振荡解吸 12 h, 分别于 0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12 h 取样测定总黄酮含量, 绘制解吸动力曲线。

(4)上样量和解吸液体积优化

按照上述确定的最适树脂、最佳吸附和解吸条件, 对样品的上样量进行优化。按照样品稀释液体积(V)和大孔树脂质量(m)比例为 0.4:1、0.6:1、0.8:1、1.0:1、1.2:1、1.6:1 混合后, 于 30 ℃、150 r/min 恒温振荡 6 h。吸附平衡后, 测定上清液中总黄酮含量(mg/mL), 确定最佳上样量。在此基础上, 向吸附平衡后的树脂中分别加入 2、3、4、5、6 倍体积上样量(2、3、4、5、6 BV)洗脱液, 于 30 ℃、150 r/min 恒温振荡 4 h, 解吸完成后测定上清液中总黄酮含量, 得出最佳洗脱液体积。

1.2.4 HPLC 测定覆盆子中 3-O-苜蓿糖苷等黄酮含量

将覆盆子黄酮提取液纯化、冷冻干燥后用甲醇复溶, 0.22 μm 有机膜过滤, 用于 HPLC 检测。色谱柱: SunFire C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.2%乙酸水溶液(B); 检测波长: 360 nm; 柱温: 40 ℃; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL^[20]。

1.3 数据处理

实验数据采用 Excel 2010、SPSS 17.0 进行数据分析, 所有实验重复 3 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 不同大孔树脂对覆盆子总黄酮纯化效果的影响

吸附率和解吸率是衡量树脂纯化效果的主要因素, 不同树脂的吸附能力和解吸能力除了和样液浓度、洗脱液浓度、吸附温度、吸附时间等有关外, 还跟树脂自身的特性有关。不同树脂对覆盆子提取液中黄酮物质的吸附能力和解吸效果如表 2 所示。按照吸附率从大到小排列依次为 HZ 806>S-8>D 101>HPD 500>NKA-9>AB-8, 而解吸效果基本与吸附率是相反的, 即 NKA-9>AB-8>HPD 500>D101>HZ 806>S-8。HZ 806 和 S-8 对覆盆子黄酮的吸附率较高, 分别为 89.99%、88.07%, 但是解吸率只有 53.60%和 31.14%。虽然 NKA-9 和 AB-8 对黄酮的吸附率略低, 分别为 71.25%和 62.01%, 但是 NKA-9 和 AB-8 的解吸率较高, 分别为 87.25%和 85.64%。树脂的极性会影响树脂的吸附能力, 根据相似相溶原理, 黄酮化合物的非极性苯基被非极性树脂吸附, 极性羟基被极性树脂吸附^[21]。此外, 树脂的表面积和孔径也对树脂吸附能力有影响, 一般来说, 树脂孔径越小, 表面积越大, 树脂吸附能力越强^[22]。树脂和溶质之间主要靠范德华力、氢键作用力结合, 结合能力相对离子键弱, 利于洗脱^[23]。综合考虑 6 种树脂的性质、吸附率、解吸率和回收率, NKA-9 和 AB-8 纯化效果最好。根据文献报道 AB-8 大孔树脂为纯化黄酮类物质的常用介质^[17], 且预处理简便, 原料成本较低, 因此, 选择 AB-8 大孔树脂作为纯化介质。

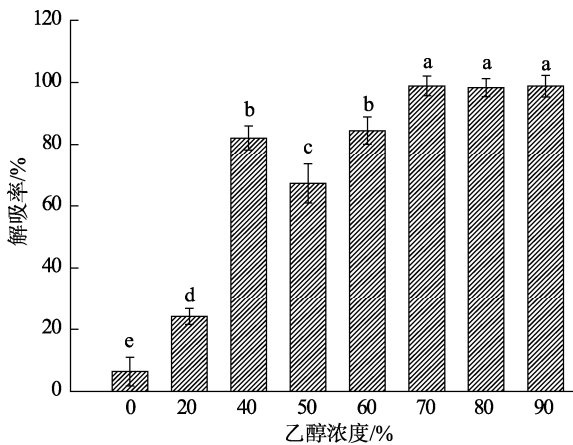
表 2 不同大孔树脂对覆盆子黄酮静态吸附和解吸结果
Table 2 Adsorption and desorption ratio of flavonoids from *Rubus chingii* Hu with different macroporous resin

树脂种类	吸附量/(mg/g)	吸附率/%	解吸率/%	回收率/%
AB-8	0.036±0.001	62.01±0.005 ^d	85.64±0.071 ^a	61.10±0.044 ^a
HPD 500	0.042±0.001	72.98±0.009 ^c	70.66±0.037 ^b	51.55±0.024 ^b
NKA-9	0.042±0.002	71.25±0.032 ^c	87.25±0.050 ^a	62.09±0.020 ^a
HZ 806	0.052±0.001	89.99±0.008 ^a	53.60±0.027 ^c	49.25±0.022 ^c
S-8	0.051±0.001	88.07±0.006 ^a	31.14±0.023 ^d	27.43±0.020 ^d
D 101	0.045±0.00	77.48±0.009 ^b	69.58±0.072 ^b	53.87±0.050 ^b

注：同一列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同浓度乙醇对总黄酮洗脱效果的影响

以 AB-8 为纯化介质，分别用蒸馏水、20%、40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇(V/V)对吸附平衡的大孔树脂进行洗脱，解吸率如图 1 所示。AB-8 树脂为弱极性树脂，增大乙醇浓度，洗脱剂的极性逐渐减弱，覆盆子中极性较小的黄酮被洗脱下来。随着乙醇浓度的增加，解吸率增大，因为大孔树脂对黄酮类化合物的吸附主要依靠氢键等作用力，乙醇浓度增加，破坏氢键能力越强^[24]。当以 70%乙醇洗脱时，解吸率为 98.94%，与 80%、90%乙醇解吸率无显著差异，且乙醇浓度较大时，黄酮与洗脱剂结合能力下降，同时一些杂质也会被解吸出来^[25]，因此选择 70%乙醇作为洗脱剂。



注：不同字母表示有显著性差异($P<0.05$)，下同。

图 1 不同浓度洗脱剂对覆盆子黄酮静态吸附率和解吸率的影响
($n=3$)

Fig.1 Effects of different concentrations of eluents on static adsorption ratio and desorption ratio of flavonoids from *Rubus chingii* Hu with AB-8 macroporous resin ($n=3$)

2.3 AB-8 树脂对覆盆子黄酮静态吸附动力学和解吸动力学

覆盆子黄酮提取液经 AB-8 大孔树脂吸附不同时间后吸附率变化如图 2 所示。在 0~1 h 时，AB-8 大孔树脂吸附速率

最快，吸附量最大，1 h 时吸附率达到 53.38%；在 1~4 h 时，AB-8 大孔树脂的吸附速率逐渐降低，吸附率达到 60%左右；4~5 h 时，吸附速率逐渐稳定；5 h 之后，吸附率开始降低。由此表明，在 4 h 后，AB-8 大孔树脂对样品中黄酮吸附达到平衡，最佳吸附时间为 4 h，吸附率为 60.82%。综上所述，AB-8 大孔树脂对覆盆子提取液中黄酮的吸附过程可分为快速吸附、慢速吸附和吸附平衡 3 个阶段，第 1 h 内样品中的黄酮在树脂多孔结构中快速扩散，随着覆盆子黄酮浓度的降低以及树脂与覆盆子黄酮结合接近饱和，吸附速率逐渐降低^[26]。

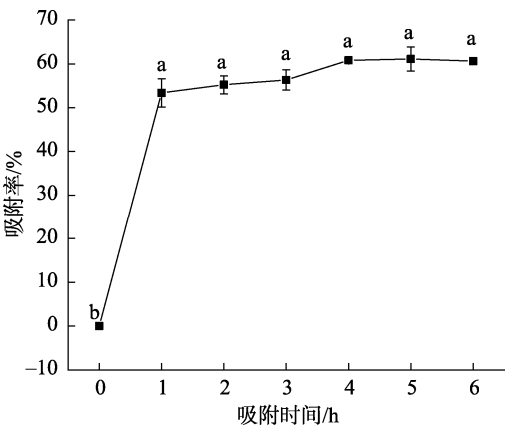
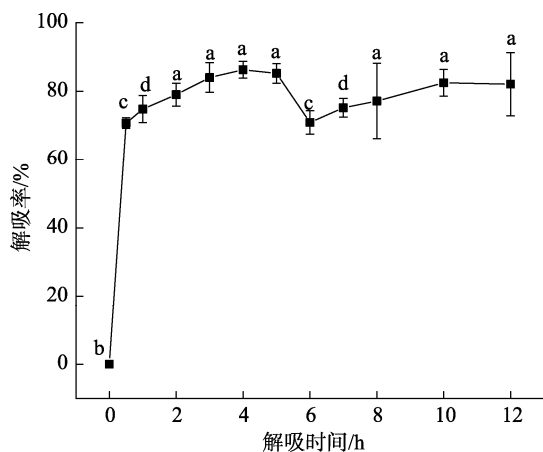


图 2 AB-8 大孔树脂静态吸附动力曲线($n=3$)

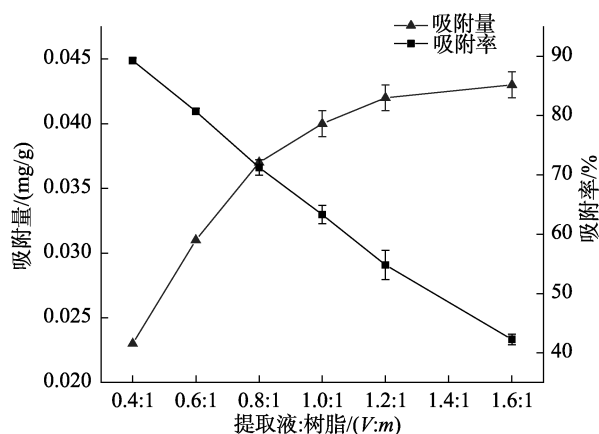
Fig.2 Dynamic of static adsorption of flavonoids from *Rubus chingii* Hu with AB-8 macroporous resin ($n=3$)

解吸率随时间变化趋势如图 3 所示。0~0.5 h 时，AB-8 大孔树脂解吸速率最快，解吸量也大，0.5 h 时解吸率已达到 70.75%；0.5~4 h 时，解吸速率逐渐降低，解吸率缓慢增加；4~6 h 时，解吸率开始下降；而在 6 h 之后，解吸率重新开始增加，并且逐渐稳定，但低于第 4 h 时的解吸率。乙醇与黄酮类化合物之间的亲和力要大于 AB-8 树脂与黄酮类化合物之间的吸附力，所以能够实现黄酮的可逆吸附^[27]。因此，AB-8 大孔树脂对提取液中黄酮的最佳解吸时间为 4 h，解吸率为 86.30%。

图 3 AB-8 大孔树脂静态解吸动力曲线($n=3$)Fig.3 Dynamic curve of static desorption of flavonoids from *Rubus chingii* Hu with AB-8 macroporous resin ($n=3$)

2.4 上样量对 AB-8 树脂吸附率的影响

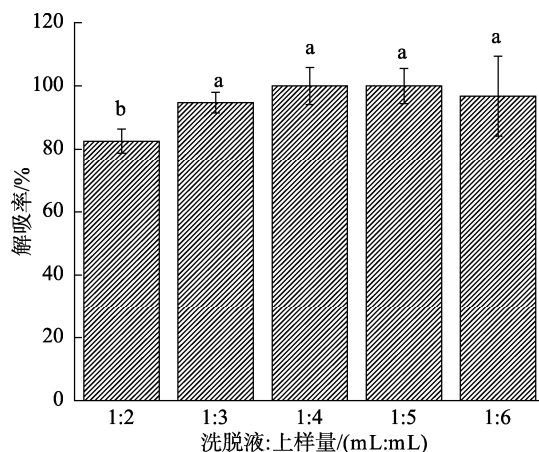
当样品体积和树脂质量比例从 0.4:1 增长到 1.6:1 时, 大孔树脂的吸附量逐渐增大, 但是吸附率逐渐降低, 如图 4 所示。当样品体积和树脂质量比例为 0.4:1 时, 吸附率最大, 为 89.29%, 但吸附量仅为 0.023 mg/g, 树脂的吸附能力没有饱和; 当比例为 1.6:1 时, 吸附量增加到 0.043 mg/g, 但吸附率仅为 42.26%。上样量较少时, 树脂中能够与黄酮化合物结合的位点没有满载, 吸附量不高, 但吸附率较高; 上样量增加, 吸附量随之增加, 黄酮对树脂上的结合位点竞争变得激烈, 树脂孔道内黄酮分子的扩散运动逐渐受到抑制, 且其他化合物可能与黄酮类物质存在吸附竞争, 甚至有可能生成沉淀造成孔道堵塞, 导致样品中大量黄酮损耗浪费^[18, 28-29]。因此, 综合考虑黄酮的吸附率和吸附量, 选择 0.6:1 ($V:m$)作为最适上样比例, 此时吸附率为 80.71%, 吸附量为 0.031 mg/g。

图 4 上样量对 AB-8 大孔树脂静态吸附率的影响($n=3$)Fig.4 Effects of the sample volume on absorption ratio of flavonoids with AB-8 macroporous resin ($n=3$)

2.5 洗脱液体积对解吸率的影响

按照上述确定的最适纯化条件, 不同体积洗脱液(2、

3、4、5、6 BV)对覆盆子黄酮解吸率的影响如图 5 所示。随着洗脱液体积的增大, 黄酮解吸率也随之增加, 当洗脱液体积为 4 BV 时, 解吸率达到最大, 为 93.93%。当洗脱液体积继续增大时, 解吸率略有下降。表明当洗脱液体积为 4 BV 时, 覆盆子黄酮的吸附解吸处于平衡状态, 此时继续增加洗脱液体积, 可能还会解吸出一些杂质导致解吸率下降^[30], 且洗脱液体积过大将会增加后期浓缩负担。因此, 最适洗脱液体积为 4 倍体积上样量。

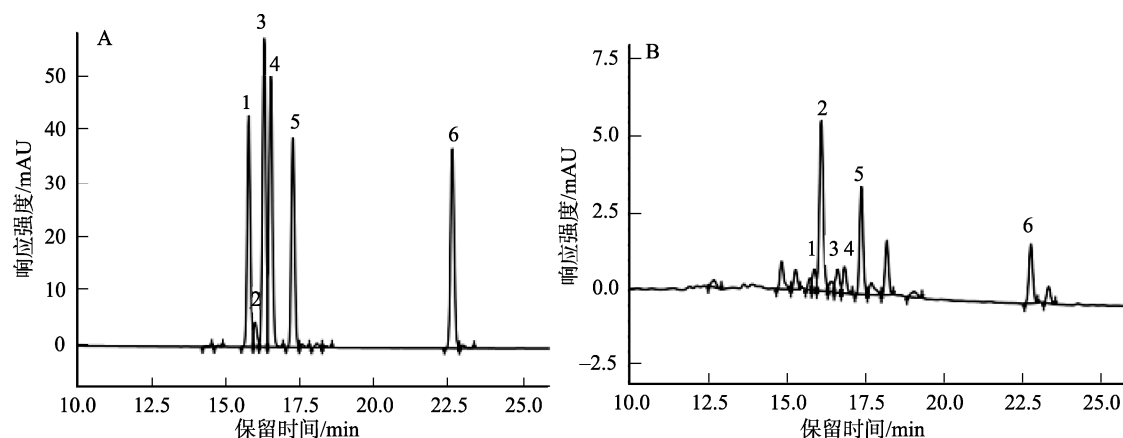
图 5 洗脱液体积对 AB-8 大孔树脂静态解吸率的影响($n=3$)Fig.5 Effects of the eluent volume on desorption ratio of flavonoids with AB-8 macroporous resin ($n=3$)

2.6 覆盆子提取液中山奈酚-3-O-芸香糖苷等黄酮含量测定

利用 HPLC 对 AB-8 大孔树脂纯化后的干燥样品(purified dry sample, PDS)进行分析(图 6), 样品中鞣花酸含量最高(10.8 mg/g), 占 45.5%, 黄酮以山奈酚-3-O-芸香糖苷(5.91 mg/g)和槲树苷(4.60 mg/g)为主, 分别占 24.8%和 19.3%, 还有少量异槲皮苷(1.04 mg/g)、金丝桃苷(0.93 mg/g)、芦丁(0.53 mg/g)。覆盆子粗提物中黄酮含量为 1.7%, AB-8 大孔树脂纯化后样品中的黄酮含量为 7.3%, 纯度提高了 3.3 倍。此外, 山奈酚-3-O-芸香糖苷占覆盆子原料的 0.032%, 达到药典中规定的要求, 表明大部分山奈酚-3-O-芸香糖苷被分离纯化出^[7]。

3 结论与讨论

本研究以提高覆盆子黄酮的纯度为目的, 以 AB-8 大孔树脂对黄酮粗提液进行纯化, 最佳条件为: 上样量与树脂量比为 0.6:1 ($V:m$), 吸附 4 h; 洗脱液为 70%乙醇, 洗脱液体积为 4 BV, 静态洗脱 4 h。纯化后覆盆子黄酮纯度提高了 3.3 倍, 纯化样品中黄酮主要有山奈酚-3-O-芸香糖苷、槲树苷、异槲皮苷、金丝桃苷和芦丁, 且山奈酚-3-O-芸香糖苷含量达到了药典中规定的覆盆子原料的标准。因此, 该方法纯化覆盆子黄酮高效、简便, 可为覆盆子功效成分深入研究和更广领域的应用提供技术支撑。



注: 1. 芦丁; 2. 鞣花酸; 3. 金丝桃苷; 4. 异斛皮苷; 5. 山奈酚-3-O-芸香糖苷; 6. 槲皮苷。

图6 混合标准品(A)和大孔树脂纯化后样品(B)的HPLC图

Fig.6 HPLC chromatograms of mixture of flavonoids standards (A) and purification of flavonoids (B)

参考文献

- [1] SHENG JY, WANG SQ, LIU KH, *et al.* *Rubus chingii* Hu: An overview of botany, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(6): 400–416.
- [2] ZHEN C, JIANG JY, LI XB, *et al.* Bioactive compounds and fruit quality of Chinese raspberry, *Rubus chingii* Hu varied with genotype and phenological phase [J]. *Sci Hortic*, 2021, 281: 109951.
- [3] YANG J, CUI JY, CHEN JX, *et al.* Evaluation of physicochemical properties in three raspberries (*Rubus idaeus*) at five ripening stages in northern China [J]. *Sci Hortic*, 2020, 263: 109146.
- [4] HUO Y, ZHAO X, ZHAO J, *et al.* Hypoglycemic effects of Fu-Pen-Zi (*Rubus chingii* Hu) fruit extracts in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice [J]. *J Funct Foods*, 2021, 87: 104837.
- [5] WAN J, WANG XJ, GUO N, *et al.* Highly oxygenated triterpenoids and diterpenoids from *Fructus rubi* (*Rubus chingii* Hu) and their NF-kappa B inhibitory effects [J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 1911.
- [6] KE HH, BAO T, CHEN W. Polysaccharide from *Rubus chingii* Hu affords protection against palmitic acid-induced lipotoxicity in human hepatocytes [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 133: 1063–1071.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume I) [M]. Beijing: Medical and Technology Press of China, 2015.
- [8] SUN Y, YUAN H, HAO L, *et al.* Enrichment and antioxidant properties of flavone C-glycosides from trollflowers using macroporous resin [J]. *Food Chem*, 2013, 141(1): 533–541.
- [9] CHEN Y, XU LL, WANG YJ, *et al.* Study on the active polyphenol constituents in differently colored *Rubus Chingii* Hu and the structure-activity relationship of the main ellagitannins and ellagic acid [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 121: 108967.
- [10] DING HY. Extracts and constituents of *Rubus chingii* with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 3941–3949.
- [11] CHEN Y, WANG YJ, XU LL, *et al.* Ultrasound-assisted modified pectin from unripe fruit pomace of raspberry (*Rubus chingii* Hu): Structural characterization and antioxidant activities [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 134: 110007.
- [12] LIU ZZ, CHEN ZY, HAN F, *et al.* Microwave-assisted method for simultaneous hydrolysis and extraction in obtaining ellagic acid, gallic acid and essential oil from *Eucalyptus globulus* leaves using Brönsted acidic ionic liquid [HO₃S(CH₂)₄ mim] HSO₄ [J]. *Ind Crop Prod*, 2016, 81: 152–161.
- [13] 刘江波. 大孔吸附树脂分离纯化黄酮类化合物的规律性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
LIU JB. Studies on the separation and purification of flavonoids with macroporous adsorption resins [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [14] JIANG H, LI J, CHEN L, *et al.* Adsorption and desorption of chlorogenic acid by macroporous adsorbent resins during extraction of *Eucommia ulmoides* leaves [J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 149: 112336.
- [15] 孙敬敬, 杨瑞金, 杨进洁, 等. 核桃种皮多酚的大孔树脂法分离与液质联用法鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.027310
SUN JJ, YANG RJ, YANG JJ, *et al.* Walnut pellicle polyphenols: separation with macroporous resin and identification with UPLC-TOF-MS/MS [J]. *Food Ferment Ind*, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.027310
- [16] 信传鑫, 杨金涛, 戴晓婧, 等. 大孔树脂吸附桦褐孔菌多糖色素的机理及工艺优化[J]. 食品工业科技, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030304
XIN CX, YANG JT, DAI XJ, *et al.* Adsorption mechanism and process optimization of *Inonotus obliquus* polysaccharide pigment by macroporous resin [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030304
- [17] 范铭, 向露, 徐文慧, 等. 大孔树脂纯化桑葚渣中α-淀粉酶抑制剂的工艺优化及其活性成分研究[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(7): 1154–1160.
FAN M, XIANG L, XU WH, *et al.* Purification of α-amylase inhibitor from mulberry pomace by macroporous resin and analysis into its active components [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2019, 31(7): 1154–1160.
- [18] WANG LT, HU JX, LV WJ, *et al.* Optimized extraction of astaxanthin from shrimp shells treated by biological enzyme and its separation and

- purification using macroporous resin [J]. Food Chem, 2021, 363: 130369.
- [19] LIU Z, ZHANG JG, LU SM, *et al.* Effects of different drying methods on phenolic components and *in vitro* hypoglycemic activities of pulp extracts from two Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) cultivars [J]. Food Sci Hum Well, 2022, 11: 366–373
- [20] 张玲, 邱晓霞, 岳婧怡. HPLC 法同时测定覆盆子中鞣花酸和 5 种黄酮成分的含量[J]. 中药材, 2017, 40(11): 2625–2628.
- ZHANG L, QIU XX, YUE JY. Analysis of ellagic acid and five flavonoids in *Rubus chingii* Hu by HPLC [J]. J Chin Med Mater, 2017, 40(11): 2625–2628.
- [21] WAN PF, SHENG ZL, HAN Q, *et al.* Enrichment and purification of total flavonoids from *Flos populi* extracts with macroporous resins and evaluation of antioxidant activities *in vitro* [J]. J Chromatogr B, 2014, 945–946: 68–74.
- [22] 杨永涛. 罗布麻总黄酮的提取、分离纯化及其抗氧化性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- YANG YT. Study on extraction, purification and antioxidant activity of total flavonoids from *Apocynum venetum* [J]. Guangzhou: South China of Technology, 2018.
- [23] 李珊, 刘哲, 赵永珍, 等. 青藏高原狭果茶藨子黄酮纯化工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(1): 212–219.
- LI S, LIU Z, ZHAO YZ, *et al.* Study on purification process and antioxidant activity of flavonoids from *Ribes stenocarpum* maxin in Qinghai-tibet plateau [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(1): 212–219.
- [24] GUO LX, QIANG TT, MA YM, *et al.* Purification and characterization of hydrolysable tannins extracted from *Coriaria nepalensis* bark using macroporous resin and their application in gallic acid production [J]. Ind Crop Prod, 2021, 162: 113302
- [25] 孙美玲, 邱学志, 周婧, 等. 水晶冰菜总黄酮提取工艺优化、结构表征及组成成分分析[J]. 食品工业科技, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060123
- SUN ML, QIU XZ, ZHOU J, *et al.* Optimization of extraction process, structural characterization and component analysis of total flavonoids from *Mesembryanthemum crystallinum* [J]. Sci Technol Food Ind, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060123
- [26] WANG T, LU SM, XIA QL, *et al.* Separation and purification of amygdalin from thinned bayberry kernels by macroporous adsorption resins [J]. J Chromatogr B, 2015, 975: 52–58.
- [27] 宋站立. 爪瓣山柑黄酮的优化提取、纯化、鉴定与生物活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2019.
- SONG ZL. Optimization of extraction, purification, identification and biological activities of flavonoids from *Capparis himalayensis* [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2019.
- [28] 李沛霞, 甘南湘, 晋艳, 等. 大孔树脂分离川麦冬须根中总黄酮和总皂苷的工艺研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 221–227.
- LI PX, GAN NX, JIN Y, *et al.* Study on the separation of total flavonoids and total saponins from the fibrous root of *Ophiopogon japonicus* by macroporous resin [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(5): 221–227.
- [29] XI LS, MU TH, SUN HN. Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins [J]. Food Chem, 2015, 172: 166–174.
- [30] 康彤. 甘草黄酮的提取、纯化及活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2019.
- KANG T. Extraction, purification and activity of flavonoids from glycyrrhiza [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2019.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



曹 艳, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为食药同源植物加工和副产物综合利用。
E-mail: caoyan_115@163.com



夏其乐, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为食药同源植物活性成分研究。
E-mail: cookxql@163.com