

徐 耀. 不同型号大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮的富集作用[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 262–265.

不同型号大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮的富集作用

徐 耀

(安顺学院化学与生物农学系, 贵州安顺 561000)

摘要:以草珊瑚黄酮含量为考察指标, 研究 5 种大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮的吸附分离能力, 筛选出最佳的大孔吸附树脂, 并研究其动态吸附特性。结果表明, X-5 型大孔吸附树脂纯化效果最好, 其最佳纯化工艺条件: 草珊瑚总黄酮上样液的质量浓度为 3 mg/mL, 上样速率 2 BV/h, pH 值为 4; 洗脱剂为 70% 乙醇, 洗脱速率为 2 mL/min, 洗脱剂用量为 2.5 BV。按该条件纯化后的草珊瑚总黄酮纯度为 70.40%, 为纯化前的 3.3 倍。该工艺简单易行, 纯化效果好, 适合工业化生产。

关键词: 草珊瑚; 黄酮; 大孔吸附树脂; 纯化; 富集作用

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0262-03

草珊瑚 [*Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakail] 系金粟兰科植物草珊瑚的全草, 别称肿节风、接骨金粟兰、九节茶、接骨木, 为多年生常绿草本或亚灌木, 药用以茎、叶为主, 长江以南各省均有分布, 可人工种植。草珊瑚分布广, 资源的蕴藏量较大, 有广阔的开发前景^[1]。

草珊瑚总黄酮具有抗菌消炎、清热解暑、抗肿瘤、促进骨折愈合等多种生物活性。毒理学研究表明, 草珊瑚及其提取物具有较好的安全性^[2]。因此, 近年来, 草珊瑚活性成分的高效提取一直是国内外研究的重要课题。但是关于草珊瑚黄酮的精制和纯化工艺技术的研究鲜见报道。大孔吸附树脂具有再生处理简单、选择性好、吸附速率快、吸附容量大等优点, 被广泛用于天然产物的分离和纯化。本研究的目的是寻找一种适合草珊瑚总黄酮纯化的大孔吸附树脂, 并研究最佳的纯化工艺条件, 为开发利用草珊瑚资源提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

草珊瑚全草(干品), 购于安顺花鸟市场; 大孔吸附树脂 D101、S-8、X-5、D4006、AB-8(南开大学化工厂); 75% 乙醇; 其余试剂均为分析纯、化学纯或生化试剂。

1.2 试验方法

1.2.1 草珊瑚黄酮粗提物的制备^[3-4] 精确称草珊瑚全草制粗粉 5 g, 用 75% 乙醇提取(提取温度为 80 ℃, 液料比为 25 mL:1 g, 提取时间为 3 h)后合并提取液, 减压回收乙醇至无醇味, 趁热过滤, 加蒸馏水稀释备用, 得总黄酮提取液。

1.2.2 总黄酮质量浓度的测定方法^[5-6] 利用硝酸铝显色法测定提取液中总黄酮的质量浓度。根据标准曲线方程 $y = 0.0128x + 0.008$, $r^2 = 0.9998$ (y 为吸光度; x 为芸香苷浓度, 单位 mg/mL) 计算结果。

1.3 大孔吸附树脂纯化草珊瑚黄酮的性能研究

1.3.1 大孔吸附树脂预处理 将 D101、S-8、X-5、D4006、

AB-8 型大孔吸附树脂用乙醇浸泡过夜, 用乙醇洗至洗出液加适量水无白色浑浊, 再用蒸馏水洗至无醇味, 用 5% HCl 溶液浸泡 12 h, 再用蒸馏水洗至中性, 接着用 5% NaOH 溶液浸泡 12 h, 再用蒸馏水洗至中性, 备用。

1.3.2 大孔吸附树脂静态吸附量及解吸率的测定 综合考虑 5 种大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮类化合物的静态吸附量和解吸率, 筛选出最佳的大孔吸附树脂。在带塞的磨口锥形瓶中加入 1 g 预处理好的大孔吸附树脂和样品溶液 20 mL, 于振荡培养箱恒温(25 ℃)过夜, 测量大孔吸附树脂吸附前后样品中黄酮的质量浓度, 按照公式(1)计算树脂的静态吸附量。将上述吸附饱和后的大孔吸附树脂用 30 mL 75% 乙醇洗脱, 并置于摇床振荡过夜, 取滤液测定黄酮质量浓度, 按公式(2)计算树脂的解吸率。

$$\text{饱和吸附量} = \frac{(C_1 - C_2) \times V}{m} \quad (1)$$

$$\text{解吸率} = \frac{C_3 \times V_3}{(C_1 - C_2) \times V} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_1 为吸附前溶液中总黄酮的质量浓度(mg/mL); C_2 为吸附后溶液中总黄酮的质量浓度(mg/mL); C_3 为解吸液中总黄酮的质量浓度(mg/mL); V 为吸附液体积(mL); V_3 为解吸液体积(mL); m 为树脂质量(mg)。

1.3.3 大孔吸附树脂的静态吸附及解吸动力学特性测定 取预处理好的且吸附量较大、解吸率较好的大孔吸附树脂 1 g, 置于锥形瓶中, 加入 20 mL 样品溶液, 在 25 ℃ 恒温振荡器中振荡吸附 24 h, 每小时取 1 mL 样品液测其吸光度; 静态吸附饱和后, 过滤, 用蒸馏水洗净后, 树脂置于锥形瓶中, 加入 30 mL 75% 乙醇, 25 ℃ 恒温振荡器振荡解吸 24 h, 并每小时取 1 mL 解吸液测吸光度, 绘制静态吸附和解吸动力学曲线。

1.3.4 大孔吸附树脂的动态吸附和解吸试验 在室温条件下, 将预处理好的大孔吸附树脂装入玻璃层析柱(2.2 cm × 40 cm)中, 柱高为 5 cm, 1 BV(柱床体积) = 40 mL, 以一定流速将样品液通过装有树脂的层析柱, 测量流出液中黄酮的质量浓度。考察上样液质量浓度、上样速率和 pH 值等因素对大孔吸附树脂吸附性能的影响, 确定最佳的吸附工艺条件。使用不同浓度的乙醇对已饱和吸附样品的树脂进行动态解吸

收稿日期: 2012-10-18

作者简介: 徐 耀(1980—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事生物活性成分的分离与纯化。E-mail: xu_yao2000@163.com。

试验,考察乙醇浓度、洗脱速率和洗脱剂用量对树脂解吸性能的影响,测量相应变量条件下解吸液中的黄酮质量浓度,通过计算解吸率确定最佳的解吸工艺条件。

1.3.5 草珊瑚总黄酮纯度的测定 按照上述试验得出的草珊瑚黄酮最佳纯化条件对草珊瑚黄酮粗提物进行纯化,采用湿法装柱,按公式(3)计算出草珊瑚黄酮的纯度。

$$\text{黄酮的纯度} = \frac{(C \times V) \times n}{m} \times 100\%$$

(3)

式中: C 为洗脱液中黄酮的质量浓度(mg/mL); V 为洗脱液体积(mL); n 为稀释倍数; m 为洗脱液浓缩烘干后的质量(mg)。

2 结果与分析

2.1 大孔吸附树脂静态吸附量及解吸率的测定

在相同试验条件下,对选择的5种大孔吸附树脂进行静态吸附试验和解吸试验,测得5种大孔吸附树脂的静态饱和吸附量和解吸率如表1所示。

表1 5种类型大孔吸附树脂的饱和吸附量和解吸率

大孔吸附树脂型号	饱和吸附量 (mg/g)	解吸率 (%)
D101	58.12	74.80
S-8	78.73	21.23
X-5	63.24	80.44
D4006	57.26	46.35
AB-8	60.52	73.76

从表1可以看出,S-8对草珊瑚黄酮的饱和吸附量最大,其余几种型号大孔吸附树脂对草珊瑚总黄酮的吸附效果相当。但从解吸率来看,X-5、D101和AB-8这3种树脂的解吸率较高,其中X-5型树脂的解吸率最大,而S-8型大孔吸附树脂解吸率最低。综合考虑吸附量和解吸率这2个指标,本试验选择X-5、D101、AB-8型树脂绘制静态吸附动力学曲线和解吸动力学曲线,以筛选最佳型号的大孔吸附树脂。

2.2 大孔吸附树脂静态吸附动力学曲线

最佳的大孔吸附树脂除具有吸附量大、解吸率高的特点之外,还要具有较快吸附速率,因此不能单独用树脂的静态吸附量和解吸率来评价树脂的性能。由图1可知,3种树脂在3 h内吸附速率快,吸附量变化大;其中X-5在3 h后吸附量变化不大,基本达到了吸附平衡,而D101和AB-8在4 h内基本达到吸附平衡。由此可见,X-5的吸附速率高于D101和AB-8。

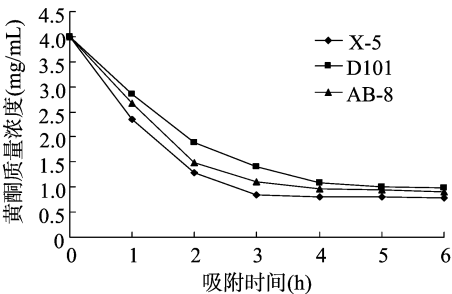


图1 3种树脂的静态吸附动力学曲线

2.3 大孔吸附树脂静态解吸动力学曲线

解吸动力学曲线反映洗脱剂对已饱和吸附树脂解吸快慢变化的趋势。如图2所示,75%乙醇溶液对3种型号的树脂洗脱效果较好,解吸能力较强。在3 h内,X-5达到了解吸平衡,黄酮的质量浓度增加明显,3 h后解吸量变化不大;D101和AB-8在4 h内黄酮的质量浓度变化较大,4 h后黄酮质量浓度变化趋于平缓。由此可见,X-5的解吸速率比D101和AB-8快。

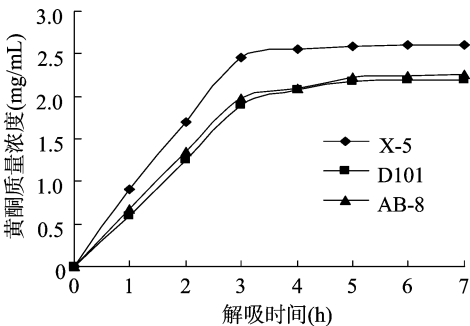


图2 3种树脂的静态解吸动力学曲线

通过以上分析可知,X-5树脂具有良好的静态吸附和解吸动力学特性,较适合用于分离纯化草珊瑚黄酮。

2.4 X-5型大孔吸附树脂对草珊瑚黄酮的动态吸附结果

2.4.1 上样浓度对大孔吸附树脂吸附效果的影响 在室温条件下,配制pH值为5的质量浓度不同的样品液40 mL,按照1 BV/h的流速上样,通过测定相应的流出液中黄酮的质量浓度,计算出大孔吸附树脂的吸附量,研究不同上样浓度对树脂吸附效果的影响。如图3所示,上柱样品质量浓度较低时,树脂的吸附能力与样液中黄酮的质量浓度存在量效关系,即树脂的吸附量随着样液中黄酮质量浓度的升高而增大;样液浓度超过3 mg/mL时,大孔吸附树脂的吸附量反而随着样品液中黄酮质量浓度的升高而减少,故取3 mg/mL为最优上样液浓度。

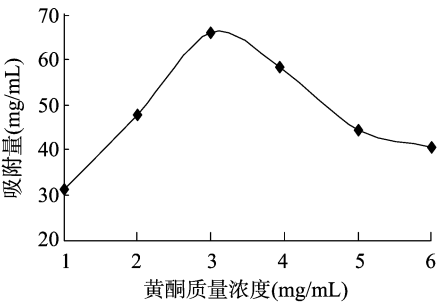


图3 上样浓度对吸附量的影响

2.4.2 上样速率对大孔吸附树脂吸附效果的影响 在室温条件下,将40 mL浓度为3 mg/mL的样品溶液(pH值为5)以上样速率1、2、3 BV/h经过大孔吸附树脂进行吸附,分步收集(10 mL/管)流出液并测定其中黄酮的质量浓度,以泄漏点出现最迟的吸附流速为最佳(泄漏点是指该处泄漏液吸光度为上柱前样液吸光度的1/10),研究不同上样速率对树脂吸附效果的影响。如图4所示,黄酮的泄漏点出现时间随着上样液的流速加快而缩短,流速为3 BV/h时泄漏点出现较早,显然该流速不适合。流速1 BV/h和2 BV/h的泄漏点出现得较为相近,如果样品按照1 BV/h速率上样,流速相对较慢,不利

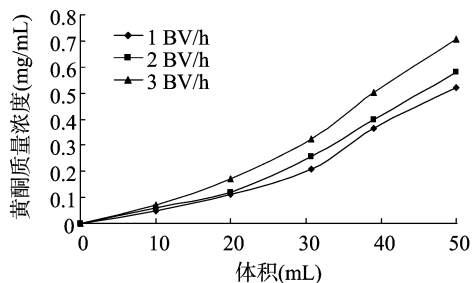


图4 上样速率对树脂吸附效果的影响

于生产,故综合考虑选择流速 2 BV/h 为宜。

2.4.3 pH 值对大孔吸附树脂吸附效果的影响 在室温条件下,配置 40 mL 浓度为 3 mg/mL 的不同 pH 值的样品溶液,按照 2 BV/h 的流速上样,通过测定相应的流出液中黄酮的质量浓度,计算出大孔吸附树脂的吸附量,以此考察 pH 值对大孔吸附树脂吸附效果的影响。

大孔吸附树脂对化合物的最佳吸附效果可以通过根据化合物的结构特点改变溶液中 pH 值而达到。因此,酸性化合物最佳吸附的条件是在适当的酸性溶液中,碱性化合物最佳吸附的条件是在适当的碱性溶液中,中性化合物最佳吸附的条件是在近中性的溶液中^[10]。由图 5 可知,pH 值在 4 左右时有较高的吸附量。黄酮类化合物为多羟基酚类,是酸性化合物,故在酸性或弱酸性环境下易被吸附,而过酸的环境中黄酮分子易形成“盐”,碱性环境中黄酮类化合物形成离子型结构,都不易于被吸附。

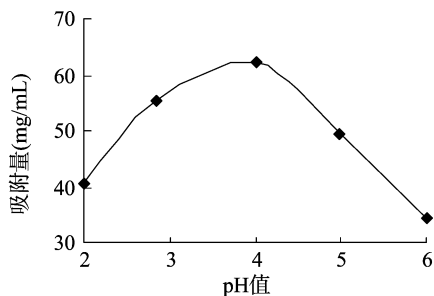


图5 pH值对吸附量的影响

2.4.4 乙醇浓度对洗脱效果的影响 按照上述最佳吸附条件进行上柱,吸附平衡后用蒸馏水洗脱除去水溶性杂质。配置不同浓度的乙醇洗脱液 120 mL,按照 1 mL/min 的流速对已饱和吸附的大孔吸附树脂进行洗脱。收集洗脱液并测定草珊瑚黄酮含量,计算解吸率,以此考察不同浓度乙醇溶液对树脂的洗脱效果。如图 6 所示,解吸率随着乙醇浓度的升高而增大,当乙醇浓度为 50%~70% 时,解吸率变化不大,当乙醇浓度超 70% 时,解吸率明显下降。但用低浓度乙醇洗脱时,杂质较多,黄酮的纯度不高。综合考虑,70% 为最佳的乙醇洗脱浓度。

2.4.5 洗脱速率对洗脱效果的影响 按照上述最佳吸附条件进行上柱,吸附平衡后用蒸馏水洗脱除去水溶性杂质。用 70% 乙醇 120 mL 分别以 1、2、3、4 mL/min 的流速通过树脂,收集洗脱液(10 mL/管),测定洗脱液中黄酮的含量,计算解吸率,据此考察不同流速的洗脱液对洗脱效果的影响。如图 7 所示,黄酮解吸率随着洗脱速率的增大而减小。洗脱剂以

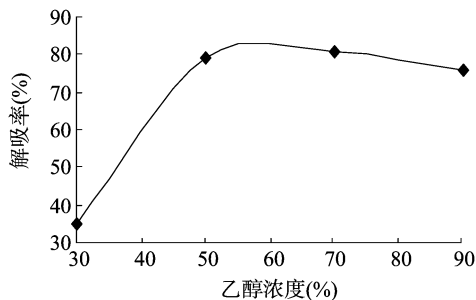


图6 乙醇浓度对解吸率的影响

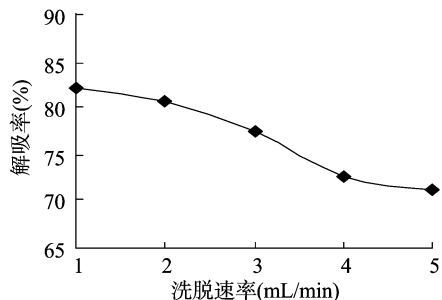


图7 洗脱速率对解吸率的影响

2 mL/min 速率洗脱时,虽然解吸率略有下降,但是可以极大地缩短洗脱时间,洗脱效率增加明显。因此,选取 2 mL/min 为最优洗脱速率。

2.4.6 洗脱剂用量对洗脱效果的影响 按照上述最佳吸附条件进行上柱,吸附平衡后用蒸馏水洗脱除去水溶性杂质。用 70% 乙醇 120 mL 以 2 mL/min 的流速经过大孔吸附树脂层析柱,收集洗脱液(10 mL/管)并测定洗脱液中黄酮的含量,以每管黄酮浓度为考察指标绘制曲线。如图 8 所示,1 号管和 9 号管中黄酮的质量浓度相差不大,10 号管中草珊瑚黄酮的质量浓度很低。说明 2.5 BV 的洗脱液可完全洗脱草珊瑚总黄酮。

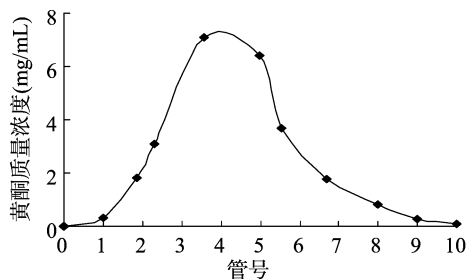


图8 X-5洗脱曲线

2.5 草珊瑚总黄酮纯度的测定

取预处理好的大孔吸附树脂按照“1.3.4”湿法装柱,采用上述最佳工艺条件对草珊瑚黄酮类化合物进行纯化,收集洗脱液浓缩烘干至恒重,称重。由表 2 可知,纯化前草珊瑚总黄酮粗提物中总黄酮纯度为 21.35%;在本试验条件下,经大孔吸附树脂吸附纯化后,草珊瑚总黄酮纯度可以提高至 70.40%。

表 2 纯化前后的总黄酮纯度 (n=3)

处理	干膏质量 (g)	总黄酮质量 (mg)	总黄酮纯度 (%)
纯化前	1.0401	222.1	21.35
纯化后	0.2274	160.1	70.40

张 锐, 王以忠, 崔艳华, 等. 基于灰色系统理论用表面颜色预测果蔬品质[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 265–268.

基于灰色系统理论用表面颜色预测果蔬品质

张 锐¹, 王以忠¹, 崔艳华¹, 张 平², 陈绍慧², George Q. Huang³

(1. 天津科技大学电子信息与自动化学院, 天津 300222; 2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津), 天津 300384;

3. 香港大学工业与制造系统工程系, 香港 999077)

摘要: 果蔬采摘后的品质会发生变化, 为提高果蔬的商品价值, 以灰色系统理论为基础, 对果蔬品质的预测进行了研究。果蔬采用香蕉为研究对象, 以表面颜色变化表征其品质特性, 采用其图像作为输入数据, 通过数字图像处理技术提取与颜色相关最为密切的 H 值作为特征参数。给出了品质预测系统和图像处理的流程, 建立了灰色系统 GM(1,1) 模型, 进而实现对香蕉品质预测的目的。试验结果表明, 在 2 种预测情况下, 用 GM(1,1) 模型对 H 值预测的最大残差百分比分别为 3.245 3%、3.954 5%, 残差较低, 表明 GM(1,1) 模型可在香蕉等品质与颜色变化相关的果蔬贮藏、运输和销售过程中预测其品质变化。

关键词: 果蔬; 表面颜色; 灰色系统; 品质预测

中图分类号: S379.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)05–0265–04

果蔬在采摘后仍然进行着生理生化反应, 在贮藏、运输、销售的时间段内, 会消耗其体内的贮藏物质。同时, 采摘后的果蔬还会受到很多客观因素的影响, 如环境温度、空气湿度及其气体成分、机械损伤及病虫害、激素等, 导致其品质发生变化^[1–3]。由于变质后的果蔬食用价值降低, 使其商品价值受到直接的影响, 因此如何对果蔬品质进行预测, 成为当前亟须解决的问题。

在对果蔬品质进行预测时, 需要确定预测的品质特性参

数。检测特性参数的方法主要包括有损和无损检测。无损检测又称为非破坏性检测, 即在不破坏样品的情况下对其进行品质评价的方法^[4], 主要的检测内容包括表面质量(表面光洁度、表面缺陷)、内部质量(糖度、酸度、维生素等)以及硬度、颜色、尺寸、面积等^[5–6]。其中检测果蔬表面颜色是无损检测技术中的一种重要方法, 该方法实用性强, 并具有无损、快速、准确和实时性等特点^[7–10]。

目前在果蔬品质预测的方法中, 在多个领域得到广泛应用的灰色系统^[11–13]是常用的预测方法。相关研究已经对苹果^[14]、胡萝卜^[15]等果蔬实现了预测。李小昱等研究了苹果理化特性和机械特性之间的关系^[14], 姜松等以咀嚼性对胡萝卜进行了质地特性参数的分析预测^[15]; 但灰色理论还未应用在用表面颜色预测果蔬品质的研究中。本研究针对目前的研究现状, 利用灰色系统理论, 建立了灰色系统 GM(1,1) 模型

收稿日期: 2013–01–31

基金项目: 国家星火计划(编号: 2011GA610008); 天津市科技支撑计划重点资助项目(编号: 08ZCKFNC00700); 天津市高等学校科技发展基金(编号: 20110706)。

作者简介: 张 锐(1979—), 男, 辽宁营口人, 硕士, 讲师, 主要从事测控技术和光谱技术方面的研究。E-mail: zhangrui@tust.edu.cn。

3 结论

通过对不同型号的大孔吸附树脂进行静态吸附和静态解吸试验, 从 5 种大孔吸附树脂中筛选出 3 种较佳树脂(DI01、AB–8、X–5)进行了动力学特性研究, 结果表明: X–5 型大孔吸附树脂能够很好地分离富集草珊瑚黄酮类化合物。

通过对 X–5 型大孔吸附树脂进行草珊瑚黄酮动态吸附与解吸研究, 得出 X–5 型大孔吸附树脂分离纯化草珊瑚黄酮的最佳条件为上样液浓度为 3 mg/mL、流速为 2 BV/h、pH 值为 4; 用 70% 乙醇作为洗脱液、洗脱速率为 2 mL/min、洗脱液用量为 2.5 BV。

经 X–5 型树脂纯化后的草珊瑚黄酮纯度为 70.40%, 是纯化前的 3.3 倍, 对综合开发利用黔产草珊瑚黄酮具有一定的应用价值。

参考文献:

[1] 李松林, 崔 熙, 乔传卓, 等. 中国草珊瑚属植物研究概况及探讨[J]. 药学情报通讯, 1992(3): 49–51.

[2] 孙建琴, 孙晓红, 王惠群, 等. 草珊瑚的毒性研究[J]. 贵阳医学院学报, 1998, 23(1): 43–44.

[3] 张 睿, 徐雅琴, 时 阳. 黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2003(1): 21–22.

[4] 郁建生, 李英伦. 草珊瑚总黄酮提取工艺比较研究[J]. 江苏农业科学, 2006(5): 136–138.

[5] 张 雪, 丁长河. 紫外分光光度法检测山楂总黄酮方法的建立[J]. 食品工业科技, 2007, 28(7): 200–202.

[6] 郁建生, 郁建平. 草珊瑚总黄酮提取工艺及其含量动态变化[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 307–309.

[7] 于智峰, 王 敏, 张家峰. 大孔吸附树脂精制苦荞总黄酮工艺条件的优化研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(4): 253–257.

[8] 洪雪娥, 高荫楠, 罗丽萍, 等. 大孔吸附树脂对薯蓣黄酮吸附分离特性研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 423–427.

[9] 徐国良, 肖兵华, 邹胡斌, 等. 大孔吸附树脂分离肿节风中总黄酮的研究[J]. 中草药, 2006, 37(7): 1014–1017.

[10] 张黎明, 李春莲. 大孔吸附树脂分离纯化山楂叶总黄酮的研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(1): 87–90.