

答立峰,李丹花,殷春燕,等. 大孔吸附树脂分离纯化紫甘薯色素的动力学分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(10):199-202.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.051

# 大孔吸附树脂分离纯化紫甘薯色素的动力学分析

答立峰<sup>1,2</sup>, 李丹花<sup>1,2</sup>, 殷春燕<sup>1,2</sup>, 叶嘉<sup>1,2</sup>, 王帅<sup>1</sup>

(1. 邯郸学院生命科学与工程学院,河北邯郸 056005; 2. 河北省高校冀南太行山区野生资源植物应用研发中心,河北邯郸 056005)

**摘要:**采用静态法考察了6种国产大孔吸附树脂(DM-21、AB-8、HPD-600、LX-60、LX-69、LX-3020)对紫甘薯色素的吸附动力学曲线、吸附等温曲线以及吸附解吸特性。结果发现,DM-21树脂为分离纯化紫甘薯色素的最佳树脂,动力学分析得出随着温度的升高,吸附速率有下降趋势,35℃时树脂的吸附量最高,吸附液最佳pH值为4.0,解吸液为70%乙醇溶液,在此条件下紫甘薯色素的分离效果最佳,粉末产品色价达到146.31,矢车菊-3-葡萄糖苷含量为0.77 mg/g。

**关键词:**紫甘薯;花青素;大孔吸附树脂;动力学;等温曲线;解吸特性;吸附速率;吸附量;分离效果;色价

**中图分类号:** TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)10-0199-04

紫甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam]属于旋花科的草本植物,肉质为深紫红色,含有大量的花青素类色素,主要成分为矢车菊素和芍药素等色苷<sup>[1]</sup>。国家卫生部2012年第6号公告批准紫甘薯色素为食品添加剂新品种,该色素具有良好的抗氧化、抗突变、抗肿瘤、降血糖、预防心血管疾病等功效,在食品、药品、化妆品等领域有着广阔的应用前景<sup>[2]</sup>。

大孔吸附树脂已广泛用于工业化生产天然色素。紫甘薯色素经过大孔吸附树脂的纯化处理后,可以有效地除去粗提

液中大多数的淀粉、还原糖、蛋白质、黏液质等杂质,使色素的有效成分高度富集从而提高色素的品质<sup>[3]</sup>。因此,筛选廉价高效的大孔吸附树脂并研究其吸附及解吸状况,对开发及生产紫甘薯色素以及其他自然色素是非常有必要的。为此本研究主要探讨了紫甘薯色素在大孔吸附树脂上吸附分离特性以及动力学方程,旨在为该法工业化推广应用提供一定的基础数据和参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

新鲜紫甘薯由河北省邯郸市禾下土种业有限公司提供,低温放置备用。

大孔吸附树脂DM-21购于山东鲁抗医药股份有限公司;AB-8、HPD-600购于河北沧州宝恩吸附材料科技有限

粮食与饲料工业,1998(2):18-20.

[22] 吴宝明,高永生,李胜盛,等. 对高大平房仓结构及储藏工艺建设的几点建议[J]. 粮油仓储科技通讯,2017,33(1):45-48.

[23] 苏启卓,张海清,肖层林. 湖南省2010—2015年审定水稻品种的主要性状与趋势分析[J]. 作物研究,2016,30(5):497-502.

[24] Sung J H, Kim H, Choi H D, et al. Fat acidity and flavor pattern analysis of brown rice and milled rice according to storage period [J]. Journal of the Korean Society of Food Science & Nutrition, 2011,40(4):225-250.

[25] 周德安,焦爱琴. 人工陈化稻谷的真菌区系演替和品质变化的关系[J]. 郑州粮食学院学报,1982(4):21-27.

[26] Fennema O R. 食品化学[M]. 王璋,译. 3版. 北京:中国轻工业出版社,2003.

[27] 张剑明,黄晴. 近46年来湖南省气温变化的若干特点[J]. 干旱气象,2012,30(3):387-392,403.

[28] 秦鹏程,万素琴,邓环,等. 湖北省水稻种植布局精细化气候区划[J]. 湖北农业科学,2016(16):4150-4153.

[29] 金建德,任动,应玲红,等. 不同温度储藏条件稻谷脂肪酸值变化规律初探[J]. 粮食科技与经济,2010,35(1):38-40.

[30] 郭钦,蔡静平,刘爱兰,等. 粮堆不同部位微生物活动的差异性研究[J]. 粮油加工,2006(7):65-68.

收稿日期:2016-12-03

基金项目:邯郸学院校内项目(编号:14101);河北省高校冀南太行山区野生资源植物应用研发中心项目。

作者简介:答立峰(1980—),男,内蒙古乌兰察布人,博士,副教授,主要从事天然产物开发利用研究。E-mail:tengfei007zlf@126.com。

[13] Reddy K N, Reddy C S, Muralidharan K. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*, infecting rice grains[J]. Food Control, 2009,20(2):173-178.

[14] Sempere Ferre F, Santamarina M P. Efficacy of *Trichoderma harzianum* in suppression of *Fusarium culmorum* [J]. Annals of Microbiology, 2010,60(2):335-340.

[15] Laca A, Mousia Z, Diaz M, et al. Distribution of microbial contamination within cereal grains[J]. Journal of Food Engineering, 2006,72(4):332-338.

[16] 林镇清,郭谊,郑志锐,等. 稻谷储藏期间水分和脂肪酸值变化的研究[J]. 粮食储藏,2009,38(3):49-51,54.

[17] Szafranska A. Fat acidity as a factor of deterioration changes during cereal products storage [C]. International Scientific Conference healthy Grain for A Healthy Diet, 2015.

[18] 李新华,李利霞,杨权. 不同储存条件下稻谷水分和脂肪酸值变化及霉变规律[J]. 粮食储藏,2016,45(2):49-51.

[19] 苏蕊雨. 影响稻谷脂肪酸值测定的因素[J]. 粮油仓储科技通讯,2009,25(6):49-50.

[20] 周建新,张瑞,王璐,等. 储藏温度对稻谷微生物和脂肪酸值的影响研究[J]. 中国粮油学报,2011,26(1):92-95.

[21] 文友先,张家年. 水分活度仪测定稻谷吸附与解吸等温线[J].

公司;LX-60、LX-69、LX-3020 购于陕西西安蓝晓科技新材料股份有限公司。

淀粉酶购于山东济南德美生物技术有限公司。

## 1.2 仪器与设备

TS-NS-100 热回流提取浓缩机组(上海顺仪科技有限公司);TU-1800 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 旋转蒸发仪(山东济南普纳仪器设备有限公司)。

## 1.3 试验方法

1.3.1 树脂的预处理 大孔吸附树脂用 95% 乙醇溶液浸泡 24 h 后用纯水冲洗至无醇味,然后分别用 2%~5% 盐酸和氢氧化钠溶液浸泡 3~4 h,再用纯水清洗至中性后备用。

1.3.2 色素液的制备 挑选新鲜紫甘薯切成厚度为 2~3 mm 的薄片,按料液比 1 g:5 mL 迅速放入 0.5% 柠檬酸-磷酸水溶液中(pH 值为 3~4),45 ℃ 提取 2 次,每次提取 2.0 h,合并提取液。提取液经过 300 目板框、孔径为 0.5 μm 陶瓷膜过滤后,参考文献[4]采用 0.30% α-淀粉酶和 0.05% 酸性果胶酶在 50 ℃、pH 值为 4.0 条件下酶解 2 h,得到紫甘薯色素液备用。

1.3.3 色素色价及矢车菊-3-葡萄糖苷含量的测定

1.3.3.1 色价测定 准确称取紫甘薯色素样品 0.1~0.2 g,用 pH 值 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液稀释至 100 mL,用 1 cm 比色皿以缓冲液作为空白,在(530±5) nm 处测定吸光度。

$$E_{1\text{ cm},(530\pm 5)\text{ nm}}^{1\%} = D/m。$$

式中: $D$  为吸光度; $m$  为样品质量,g; $E_{1\text{ cm},(530\pm 5)\text{ nm}}^{1\%}$  为色价,即在被测样品浓度为 1%、1 cm 比色皿、在(530±5) nm 处的最大吸收峰的吸光度。

1.3.3.2 矢车菊-3-葡萄糖苷含量的测定 测定分别经过 pH 值 1.0 的缓冲溶液(0.025 mol/L 氯化钾)和 pH 值 4.5 的缓冲溶液(0.4 mol/L 乙酸钠)稀释的样品在 520、700 nm 波长下的吸光度,以水作空白。样品制备完毕后要求在 20~50 min 的时间内测定吸光度。

$$\text{矢车菊-3-葡萄糖苷含量} = \frac{D \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times l} \times \frac{V \times 10^{-3}}{m} \times 100\%。$$

式中: $D$  为  $(D_{520\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (D_{520\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$ ;  $MW$ (分子量)为矢车菊-3-葡萄糖苷的分子量 449.2 g/mol; $DF$  为样品储备液的稀释倍数; $l$  为光路长,cm; $\varepsilon$  为矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数,269 000 L/(mol·cm);1 000 为由 g 换算成 mg 的转换系数; $V$  为储备液的体积(50 mL),mL; $m$  为样品的质量,mg。

1.3.4 大孔吸附树脂静态吸附和解吸性能考察 分别取 6 种大孔吸附树脂 2.00 g 置于 250 mL 具塞磨口锥形瓶中,每个锥形瓶加入 150 mL 吸光度为  $D_0$  的色素液,在 25 ℃、100 r/min 恒温振荡吸附 4 h,测定色素溶液上清液的吸光度  $D_1$ ,吸附量 =  $D_0 - D_1$ ,吸附率 =  $(D_0 - D_1)/D_0 \times 100\%$ 。 $D_0$  和  $D_1$  分别为吸附液初始吸光度和吸附平衡吸光度。

将吸附平衡后对各种吸附饱和的大孔树脂进行抽滤放入 250 mL 锥形瓶中,加入 150 mL 浓度为 70% 的乙醇溶剂,置于 25 ℃、100 r/min 的振荡箱中振荡解吸 7 h,测定解吸液吸光度  $D_2$ ,解吸量 =  $D_2$ ,解吸率 =  $D_2/(D_0 - D_1) \times 100\%$ 。

1.3.5 大孔吸附树脂吸附动力学研究 准确称取大孔吸附树脂 2.00 g,置于 250 mL 锥形瓶中,每个瓶中加入 150 mL 的色素溶液,置于 25 ℃ 气浴摇床 100 r/min 振荡吸附,每隔 30 min 测定 1 次吸光度,连续测定 4 h,计算树脂对色素的吸附量与时间的关系。吸附量为  $= D_0 - D_t$ ,吸附率 =  $(D_0 - D_t)/D_0 \times 100\%$ , $D_t$  为  $t$  时刻的吸光度。以吸附时间为横坐标、吸附率为纵坐标,制作树脂对色素的静态吸附曲线,根据 Langmuir 平衡方程  $Q/Q_m = KC/(1 + KC)$  对数据进行分析并计算出吸附速率平衡常数  $K$ ,其中  $Q$  为吸附量; $C$  为溶液浓度; $Q_m$  和  $K$  为常数。

1.3.6 大孔吸附树脂等温线测定 取 15 份经过预处理的树脂 1.00 g 放于 250 mL 锥形瓶中,并将 15 个锥形瓶随机分为 3 组,标号为  $A_{1-5}$ 、 $B_{1-5}$ 、 $C_{1-5}$ ,分别向 3 组中加入 150 mL 5 种不同浓度的色素液,并分别放入 25 ℃(A 组)、35 ℃(B 组)、45 ℃(C 组)的振荡培养箱中在转速为 100 r/min 吸附 4 h。分别吸取上清液测定相应的吸光度,以吸附液浓度为横坐标、吸附率为纵坐标绘制吸附等温曲线,并通过 Freundlich 吸附经验公式  $Q = KC_e^n$  分析数据,其中  $Q$  为吸附量; $C_e$  为平衡浓度, $K$  和  $n$  为常数。

1.3.7 大孔吸附树脂动态吸附条件测定 根据“1.3.4”节试验树脂筛选结果,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 值、解吸液乙醇浓度对大孔树脂动态吸附色素条件的影响,试验中 pH 值采用柠檬酸进行调节。当色素吸附饱和后,用蒸馏水冲洗干净后再用一定浓度的乙醇解吸,解吸液测定色价和含量。

1.3.8 统计分析 试验数据用“平均值±标准差”(n=3)表示,再用 SPSS 20.0 进行一元方差分析(one-way ANOVA),显著水平设为  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 大孔吸附树脂的筛选

通过静态吸附率和解吸率来评价 6 种大孔吸附树脂对色素的吸附性能,结果如表 1 所示,DM-21、LX-60、LX-69、LX-3020 这 4 种树脂的吸附率较高,分别为(96.20±1.42)%、(96.51±0.33)%、(96.26±0.39)%、(95.07±0.20)% ,但解吸率差距明显,4 种树脂的解吸率分别为(81.95±0.58)%、(77.60±1.08)%、(71.69±0.88)%、(80.38±0.94)% ,综合考虑大孔吸附树脂的吸附率和解吸率,DM-21 和 LX-3020 大孔吸附树脂对紫甘薯色素的分离纯化最为合适,DM-21 树脂的吸附和解吸率略高于 LX-3020,因此以下试验均选择 DM-21 作为吸附材料。

表 1 不同大孔树脂对色素的吸附量和解吸量以及对应的吸附率和解吸率

树脂型号	吸附量	解吸量	吸附率 (%)	解吸率 (%)
LX-3020	6.08±0.62	4.89±0.52	95.07±0.20	80.38±0.94
LX-60	5.70±1.09	4.41±0.79	96.51±0.33	77.60±1.08
DM-21	6.15±0.55	5.03±0.42	96.20±1.42	81.95±0.58
AB-8	5.99±0.68	3.96±0.39	93.46±0.81	66.31±1.01
LX-69	6.16±0.62	4.41±0.39	96.26±0.39	71.69±0.88
HPD-600	6.01±0.67	4.24±0.36	93.82±0.70	70.77±1.83

2.2 大孔树脂吸附动力学曲线

大孔吸附树脂对紫甘薯色素的吸附速率是衡量其选择性的指标之一。本试验采用在低浓度吸附平衡研究中应用较多的 Langmuir 方程来定量比较 6 种树脂对紫甘薯色素的吸附速率。由图 1 可以看出,吸附初期各树脂吸附速率较大,在 2.5 h 后增长均变缓,4 h 后吸附过程基本趋于平衡,DM21、LX69、LX60 以及 LX3020 这 4 种树脂达到平衡状态的速率快且吸附量大。根据 Langmuir 平衡方程得出各树脂的吸附速率平衡常数,如表 2 所示,DM-21 树脂吸附略有优势,LX-3020、LX-60、AB-8 差异不明显,HPD-600 相对较差。

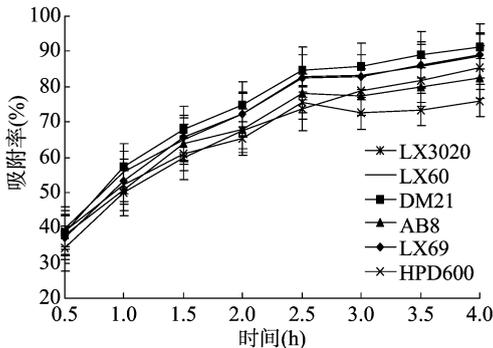


图1 大孔吸附树脂对色素的吸附动力学曲线

表 2 不同大孔树脂吸附平衡速率常数

树脂类型	吸附平衡速率常数 $K$	$r^2$
LX-3020	2.788 6	0.952 0
LX-60	2.754 2	0.967 0
DM-21	2.575 9	0.977 4
AB-8	2.787 7	0.986 1
LX-69	2.668 7	0.970 9
HPD-600	3.405 5	0.922 6

2.3 大孔树脂吸附等温曲线

采用 Freundlich 和 Langmuir 吸附方程对吸附等温线数据(表 3)进行处理,并作等温曲线图(图 2),根据 Freundlich 吸附经验公式  $Q = KC_e^n$ ,即  $\ln Q = n \ln C_e + \ln K$ (其中  $Q$  为吸附量,  $C_e$  为平衡浓度,  $K$  和  $n$  为常数),以  $\ln Q$  对  $\ln C_e$  作图(图 3),回归得到常数  $K$  和  $n$ ,  $K$  可以评价吸附量的大小,  $n$  可以表示等温线的变化趋势,结果如表 4 所示,随着吸附温度的升高,  $K$  值有下降的趋势,说明在一定的温度范围内升高温度不利于

吸附,而  $n$  值介于 0.5 ~ 1.0 之间,说明色素在该树脂上的吸附相对容易,但随着温度升高有降低趋势;Langmuir 方程为  $Q/Q_{max} = KC/(1 + KC)$ (其中  $Q$  为吸附量,  $C$  为溶液浓度,  $Q_{max}$  和  $K$  为常数),以  $1/Q$  对  $1/C$  作图(图 4),得到常数  $K$  值和  $Q_{max}$ ,由表 4 可知,随着温度的升高,  $K$  值降低,而  $Q_{max}$  值先升高后降低,说明虽然在 35 °C 时吸附树脂的吸附量较大,但吸附速率则有降低趋势,综合以上分析,选择树脂吸附温度不超过 35 °C 为宜。

表 3 DM-21 大孔吸附树脂等温线数据

浓度 ( $D_{(530 \pm 5) \text{ nm}}$ )	吸附率 (%)		
	25 °C	35 °C	45 °C
6.41	73.94 ± 1.03	82.00 ± 0.83	78.10 ± 0.92
3.21	89.30 ± 0.85	91.64 ± 0.66	81.85 ± 1.83
2.14	93.59 ± 0.94	93.73 ± 1.21	73.37 ± 0.77
1.60	95.20 ± 1.43	96.26 ± 0.74	81.22 ± 1.25
1.28	96.33 ± 0.97	96.10 ± 0.58	83.15 ± 0.53

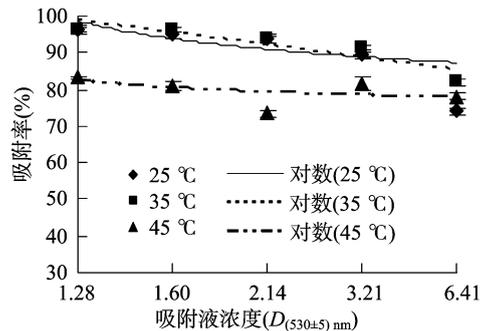


图2 色素吸附等温曲线

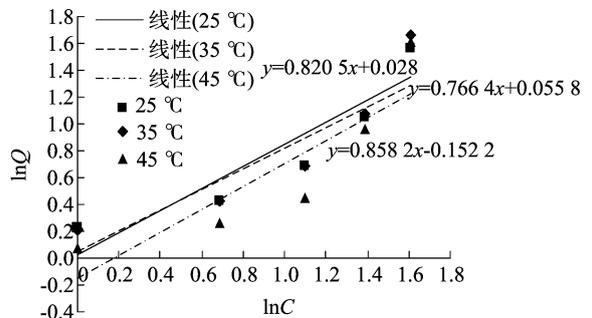


图3  $\ln Q$  与  $\ln C$  的关系

表 4 不同温度下 DM-21 大孔吸附树脂对色素的吸附方程

方程类型	温度 (°C)	吸附方程	参数	
			$K$	$Q_{max}$ 或 $n$
Langmuir	25	$Q/4.952\ 947 = 0.303\ 7C/(1 + 0.303\ 7C)$	0.303 7	4.952 9
	35	$Q/5.373\ 455 = 0.272\ 156C/(1 + 0.272\ 156C)$	0.272 2	5.373 5
	45	$Q/4.472\ 272 = 0.282\ 216C/(1 + 0.282\ 216C)$	0.282 2	4.472 3
Freundlich	25	$Q = 1.047\ 493C_e^{0.773\ 5}$	1.047 5	0.773 5
	35	$Q = 1.028\ 293C_e^{0.821\ 9}$	1.028 3	0.821 9
	45	$Q = 0.854\ 704C_e^{0.864\ 4}$	0.854 7	0.864 4

2.4 吸附液 pH 值对吸附的影响

紫甘薯色素属于花色苷类物质,在酸性条件下稳定,将色素溶液的 pH 值分别调制为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0,其他吸附条件相同,吸附同体积的色素液在 (530 ± 5) nm 处测定吸光

度  $D$ ,并计算吸附率,结果如图 5 所示。在 pH 值为 2.0 ~ 4.0 范围时,随着 pH 值升高,色素吸附率逐渐增加,当 pH 值为 4.0 时,达到顶峰,吸附率为 (90.88 ± 0.60) %;而 pH 值为 5.0 时吸附率略有下降,为 (89.60 ± 0.46) %, pH 值为 6.0 时,

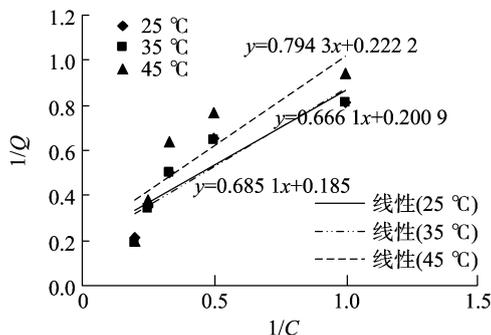
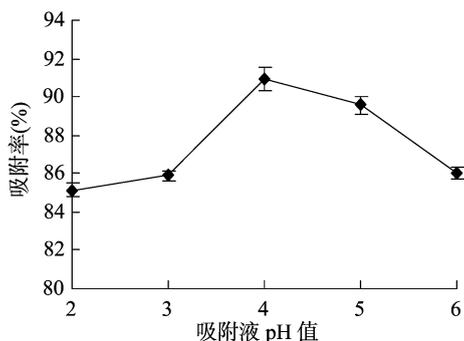
图4  $1/Q$  与  $1/C$  的关系

图5 吸附液 pH 值对色素吸附的影响

吸附率下降明显,为(85.85 ± 0.28)%,因此吸附液 pH 值 4.0 时吸附效果最佳。

### 2.5 乙醇浓度对解吸的影响

准备吸附柱对同体积的紫甘薯色素提取液进行吸附,吸

附完成后分别用浓度为 40%、50%、60%、70%、80% 的同体积乙醇溶液进行解吸,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 ± 5) nm 处测定吸光度  $D$ ,结果如图 6 所示。乙醇浓度为 50% ~ 60% 时,解吸率变化不明显,而在 70% 乙醇解吸时达到最高,为(98.38 ± 0.63)%,而后随着乙醇浓度升高,解吸率有所降低,所以选择 70% 乙醇溶液作为解吸液。

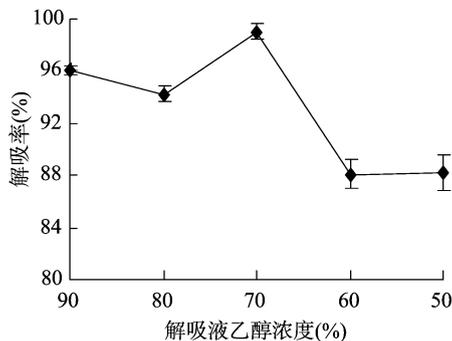


图6 不同浓度乙醇对色素解吸的影响

### 2.6 矢车菊-3-葡萄糖苷含量测定

根据以上试验条件进行吸附分离,并喷雾干燥得到紫甘薯色素粉末产品,测定数据如表 5 所示,并根据“1.3.3(2)”节公式计算矢车菊-3-葡萄糖苷含量为 0.77 mg/g。紫甘薯色素粉末产品色价为 146.31, pH 值为 2.5 ~ 3.0;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,质量规格优于《紫甘薯色素应用技术标准》规定。

表 5 色素含量测定

样品	不同 pH 值下的 $D_{520\text{ nm}}$		不同 pH 值下的 $D_{700\text{ nm}}$		MW	DF	V (mL)	m (mg)
	pH 值 1	pH 值 4.5	pH 值 1	pH 值 4.5				
矢车菊-3-葡萄糖苷	0.514	0.201	0.031	0.034	449.2	30	50	0.103 9

## 3 结论

大孔吸附树脂是一类具有多孔网格状结构的高分子聚合物,广泛应用于有机物的分离与纯化。陈勇等对紫甘薯色素的吸附和分离条件进行研究,发现 AB-8 树脂对紫甘薯色素具有较好的吸附能力,温度、酸度条件对吸附能力有影响。温度较高时,吸附较快,吸附能力在 pH 值 2.5 左右时比其他酸度条件下更强,乙醇浓度为 70% 时解吸效果最好<sup>[5]</sup>。程林润等以 0.2% 盐酸水溶液为提取溶剂,得到紫甘薯色素粗提物,过滤后用 PDA-100 大孔吸附树脂吸附,70% 乙醇解析,解析液浓缩干燥可得色价为 100 的高色价紫甘薯色素的粉状产品<sup>[6]</sup>。本试验紫甘薯色素液经过酶解后静态吸附和解吸性能测定,筛选得到 DM-21 大孔吸附树脂为紫甘薯色素最佳分离树脂,并通过动力学分析发现,在一定温度范围内,随着吸附温度的升高,吸附速率有下降的趋势,而吸附量在 35 °C 时达到最高,而 45 °C 时吸附量又降低,总体分析高温不利于色素在树脂上的吸附分离。采用以上优化条件对紫甘薯

色素进行纯化后,色素色价达到 146.31,矢车菊-3-葡萄糖苷含量为 0.77 mg/g,优于已有文献报道的工艺。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(工程技术版),2004,19(2):32-36.
- [2] 王洪云,张毅,钮福祥,等. 紫甘薯花青素研究进展[J]. 中国食物与营养,2015,21(5):24-27.
- [3] 高彦祥,许正虹. 紫甘薯色素研究进展[J]. 中国食品添加剂,2005(1):1-6.
- [4] 鲍诚,李玲,汤海滨,等. 紫甘薯花色苷酶法提取及纯化[J]. 食品科学,2012,33(16):59-62.
- [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.
- [6] 程林润,郭安安,朱璞,等. 紫甘薯色素的提取及纯化研究[J]. 浙江农业科学,2011,1(1):89-91.