

水提紫甘薯色素废渣花色苷纯化工艺研究

吴丽莎, 王瑞欣, 吴志霜, 周建于, 李桑柔, 殷建忠
(昆明医科大学营养与食品研究所, 云南 昆明 650500)

[摘要] **目的** 在前期对水提紫甘薯色素废渣花色苷提取研究基础上, 进一步深入研究花色苷纯化工艺, 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花色苷粗提液进行纯化. **结果** AB-8 大孔树脂对紫甘薯废渣花色苷具有较强的吸附能力, 吸附率达 81.47%; 溶液 pH 为 1.5 时, 对花色苷的吸附效果最好; 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 65.69%; 解吸流速以 1 mL/min 效果最好. 纯化后的花色苷解吸液, 经旋转蒸发浓缩, 浓缩液在 -80°C 超低温冰箱冷冻后进行冷冻干燥得到冻干粉. 经 AB-8 大孔吸附树脂二次纯化后, 水提紫甘薯色素废渣花色苷纯度达 91.37%. **结论** 采用 AB-8 大孔吸附树脂纯化水提紫甘薯色素废渣花色苷所得工艺具有较好纯化效果, 方法简便可行, 经二次纯化后的水提紫甘薯色素废渣花色苷纯品可应用于后期的生物活性研究及实际生产.

[关键词] 水提紫甘薯色素废渣; 花色苷; 纯化

[中图分类号] R151.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 01-0048-04

Purification Process of Anthocyanins from *Ipamoea batatas* Residue after Water Extraction for Pigment

WU Li-sha, WANG Rui-xin, WU Zhi-shuang, ZHOU Jian-yu, KI Song-rou, YIN Jian-zhong
(Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** The study was aimed to further investigate the purification process of anthocyanins from *Ipamoea batatas* residue after water extraction for pigment, in order to provide the theoretical basis and reference for the comprehensive development and utilization of *I. batatas* residue. **Methods** The depurated performance of AB-8 macroporous adsorption resin was investigated through static adsorption and desorption, dynamic adsorption and desorption experiments. Then the crude extraction of anthocyanins from *I. batatas* residue was purified. **Results** The AB-8 macroporous adsorption resin had strong adsorption capacity for anthocyanins from crude extraction of *I. batatas* residue, with the adsorption rate of 81.47%. The solution with pH 1.5 had the best adsorption effect on anthocyanin. The best desorption rate of anthocyanins was 65.69% when 2BV of 80% ethanol was used as eluent with flow rate of 1 mL/min. After evaporation and concentration, the concentrated solution of anthocyanins was froze and dried in ultra low temperature freezer of -80°C to obtain powder. The purity of anthocyanins from *I. batatas* residue was 91.37% after purification two times on AB-8 macroporous adsorption resin. **Conclusion** The purification process of anthocyanins from *I. batatas* residue after water extraction for pigment with AB-8 macroporous adsorption resin has a good purification effect. The method is simple and feasible. The pure anthocyanin products from residue could be applied in biological activity research and practical production.

[Key words] *Ipamoea batatas* residue after water extraction for pigment; Anthocyanins; Purification

[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)

[作者简介] 吴丽莎 (1991~), 女, 安徽安庆市人, 在读硕士研究生, 主要从事营养与食品卫生学研究工作. 王瑞欣和吴丽莎对本文有同等贡献.

[通讯作者] 殷建忠. E-mail: yinjianzhong2005@sina.com

紫甘薯 (*Ipamoea batatas* L.) 主要用途是提取色素. 以紫甘薯生产的天然食用色素安全无毒、色彩鲜艳、营养附加值高, 在食品、饮料、化妆品、医药等方面有着较大的应用潜力. 但是, 水法提取紫甘薯色素后剩余废渣大多只能以饲料低价出售. 因此, 合理开发紫甘薯提取色素后废渣, 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营养成分、食用安全性毒理学评价、减肥、通便保健功能评价等基础研究及产品研发和花色苷的提取工艺^[1-8]. 目前常用于紫甘薯花色苷 (purple sweet potato anthocyanins, PSPA) 纯化的方法主要包括吸附层析法、膜分离超滤法、醋酸铅沉淀法、分级醇沉法等^[9-11]. 本实验采用树脂吸附法 (AB-8 大孔吸附树脂) 对花色苷和黄酮进行纯化, 从静态和动态两方面详细研究了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.

1 材料与方法

1.1 材料制备

水提紫甘薯色素废渣花色苷粗提液的制备: 将水提紫甘薯色素废渣粉在最佳提取工艺下进行花色苷的提取, 提取液经抽滤, 在 40℃ 条件下减压蒸发浓缩, 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.

1.2 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, 天津市飞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.

1.3 纯化工艺

1.3.1 水提紫甘薯色素废渣花色苷在 AB-8 大孔树脂上的静态吸附与解吸试验 根据朗伯-比尔定律 $A = \varepsilon bc$, 即 $A = Kc$, 可用实验测定的最大吸收波长 529 nm 下的吸光度 A_{529} 来代表花色苷提取液的浓度. (1) AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷的静态吸附试验: 准确称 AB-8 大孔吸附树脂 2.0 g (使用前用滤纸吸干树脂表面的水分), 置于锥形瓶中, 加入稀释一定倍数的花色苷溶液 (初始吸光度 $A_0 = 0.816$) 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. 分别在吸附时间为 20、40、60、80、100、120、140、160 min 时取样, 测定溶液中花色苷的吸光度值, 按 (公式 1) 计算吸附率并绘制 AB-8 大孔树脂对紫甘薯花色苷的静态吸附曲线, 确定大孔树脂最佳静态吸附时间.

$$\text{吸附率 (\%)} = \frac{A_0 - A_{\text{终}}}{A_0} \times 100\% \quad (\text{公式 1})$$

公式中: A_0 : 吸附前的吸光度; $A_{\text{终}}$: 吸附完全后的吸光度. (2) 花色苷溶液 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 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 的花色苷溶液 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. 测定溶液中花色苷的吸光度值, 计算吸附率. (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%、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.

$$\text{解吸率 (\%)} = \frac{A_2}{A_0 - A_1} \times 100\% \quad (\text{公式 2})$$

公式中: A_0 : 吸附前的吸光度 (初始吸光度); A_1 : 吸附达到平衡时的吸光度; A_2 : 解吸液吸光度.

1.3.2 水提紫甘薯色素废渣花色苷在 AB-8 大孔树脂上的动态吸附与解吸试验 (1) 花色苷在 AB-8 大孔树脂上的流出曲线: 称取一定量的 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, 将稀释后的花色苷粗提液加入树脂柱. 用收集器收集流出液, 当流出液的吸光度与上柱前溶液的吸光度基本相同时, 视为吸附饱和. 测定紫甘薯花色苷流出液在不

同体积时的吸光度 A ，以吸光度 A 为纵坐标，流出体积为横坐标，绘制花色苷溶液的流出曲线。(2) 紫甘薯花色苷解吸流速的确定：称取一定量的 AB-8 大孔树脂，以湿法缓慢装入 $3\text{ cm} \times 40\text{ cm}$ 的吸附柱中，将稀释后的水提紫甘薯色素废渣花色苷粗提液控制流速为 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 mL/min 、 1.0 mL/min 、 1.5 mL/min 、 2.0 mL/min 、 2.5 mL/min ，收集解吸液测定吸光度，计算解吸率。

2 结果

2.1 水提紫甘薯色素废渣花色苷在 AB-8 大孔树脂上的静态吸附与解吸试验

2.1.1 AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷的静态吸附能力 AB-8 大孔树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷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 大孔吸附树脂对花色苷的吸附量增幅较大，在 120 min 后，AB-8 大孔吸附树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷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 81.47%。

2.1.2 花色苷溶液 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花色苷的 pH 值为 1.5 时，AB-8 大孔树脂的吸附率最高为 80.06%。之后随着 pH 值增大，AB-8 大孔树脂对紫甘薯花色苷的吸附率有所下降，这是因为花色苷的结构会随着介质 pH 值的变化而发生显著的变化，从而减弱大孔树脂与花色苷之间的氢键吸附能力。本实验用于提取花色苷的柠檬酸溶液 pH 值为 1.5，所以在花色苷吸附时可不必调节粗提液的 pH 值，直接进行实验即可。

2.1.3 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 65.69% 的花色苷解吸下来，故用 80% 的乙醇解吸效果最好。

2.2 水提紫甘薯色素废渣花色苷在 AB-8 大孔树脂上的动态吸附与解吸

2.2.1 花色苷在 AB-8 大孔树脂上的流出曲线 由图 4 可知，流出液的吸光度随着流出液体积的增加而逐渐增大，当流出液体积达到 7 L 时，流出液的吸光度达到最高值 (与上柱前溶液吸光度值基本一致， $A = 0.802$)，即达到吸附饱和。

2.2.2 紫甘薯花色苷解吸流速 由图 5 可以看出，当解吸流速为 1 mL/min 时，水提紫甘薯色素废渣花色苷的解吸率最高，故本实验以 1 mL/min 的解吸流速对花色苷进行解吸。

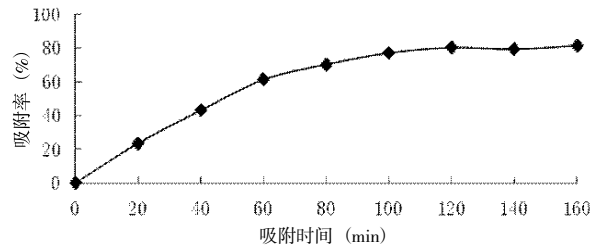


图 1 AB-8 大孔树脂对花色苷的静态吸附曲线

Fig. 1 Static absorption curve of AB-8 macroporous resin for anthocyanins

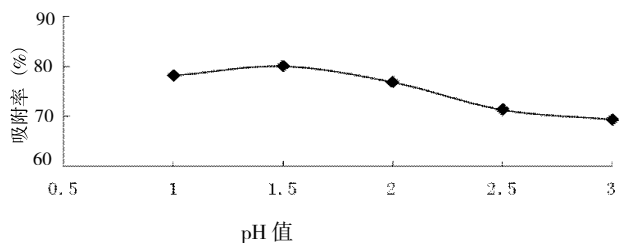


图 2 紫甘薯花色苷在不同 pH 值时吸附率

Fig. 2 The adsorption ratio of purple sweet potato anthocyanins in different pH values

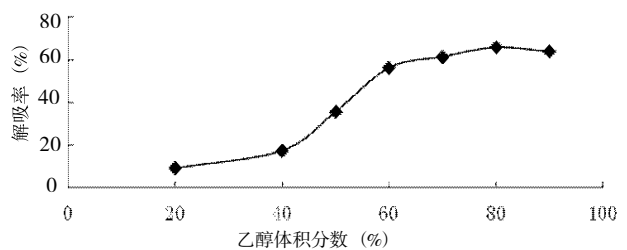


图 3 乙醇体积分数对花色苷解吸率的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on desorption ratio

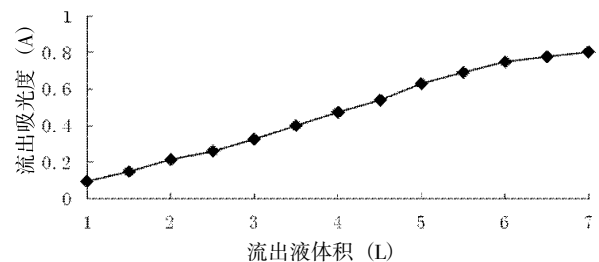


图 4 紫甘薯花色苷溶液通过 AB-8 树脂柱的流出曲线

Fig. 4 Elution curve of anthocyanins through AB-8 macroporous resin column

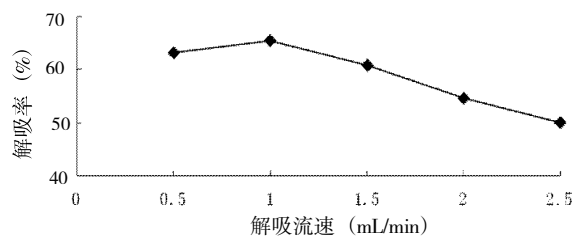


图5 解吸流速对花色苷解吸率的影响

Fig. 5 Effect of desorption velocity on anthocyanin desorption rate

3 讨论

AB-8 大孔吸附树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷具有较强的吸附能力, 吸附率达 81.47%; 溶液 pH 为 1.5 时, AB-8 大孔吸附树脂对水提紫甘薯色素废渣花色苷的吸附效果最好; 解吸流速以 1 mL/min 效果最好; 以 2BV 浓度为 80% 的乙醇水溶液解吸效果最好, 可把大孔树脂上 65.69% 的花色苷解吸下来. 经 AB-8 大孔吸附树脂二次纯化后, 水提紫甘薯色素废渣花色苷纯度达 91.37%. 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花色苷所得工艺具有较好纯化效果, 方法简便可行, 经二次纯化后的水提紫甘薯色素废渣花色苷纯品可应用于后期的生物活性研究及实际生产.

[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.
- [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.
- [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.
- [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.
- [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.
- [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酒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, 32(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.
- [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.
- [9] 杨朝霞. 紫甘薯花色苷色素提取纯化工艺研究及组分分析[D]. 青岛:青岛大学, 2004.
- [10] 姚钰蓉. 紫甘薯花青素的提取纯化、稳定性及抗氧化活性研究[D]. 保定:河北农业大学, 2009.
- [11] 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.

(2014-11-13 收稿)