

文章编号:1671-6833(2013)06-0028-04

大孔树脂纯化枣皮红色素的初步工艺

赵文恩, 李 勇

(郑州大学 化工与能源学院, 河南 郑州 450001)

摘 要:采用静态吸附-解吸法研究大孔树脂 AB-8 对枣皮红色素纯化效力,结果表明:大孔树脂 AB-8 有较高的吸附率与解吸率. 确定树脂 AB-8 吸附色素的最佳工艺条件:吸附体积浓度 0.8 mg/mL, 静态吸附时间 3.5 h, 料液比 90:40, 吸附率 65.6%. 大孔树脂 AB-8 的洗脱工艺:依次用体积分数为 10%, 20%, ..., 90% 的乙醇水溶液梯度洗脱, 洗脱率 98.2%. 得到的工艺条件操作简单、无污染、洗脱试剂消耗较少, 提取的色素无毒无味, 适用于枣皮红色素初步分离.

关键词:大枣枣皮; 红色素; 静态吸附-解吸法; 单因素法

中图分类号: O629.9 **文献标志码:** A doi:10.3969/j.issn.1671-6833.2013.06.007

0 引言

作为天然色素, 大枣枣皮红色素的开发利用已为国内研究热点. 目前的研究报道多侧重于大枣红色素提取、稳定性、抗氧化和物理化学性质方面^[1-4], 尤以提取工艺研究较多, 如刘蒲等^[5]提出碱液适用于提取枣皮红色素; 孙灵霞等^[6]认为枣皮红皮红色素最佳提取工艺为 0.3 mol/L NaOH 在 85 °C 下浸提; 韩立宏等^[7]提出超声波辅助纤维素酶-碱液提取大枣皮红色素的最佳工艺条件:酶用量为底物的 1.26%, 酶解温度 51.90 °C, pH 5.19, 酶解时间 60 min, 体积分数 1.0% 碱液 80 °C 提取; 吴绍武等^[8]运用响应面分析法得到滩枣枣皮色素最佳提取工艺条件为 0.37 mol/L NaOH 在 85 °C 浸提; 李茜倩等^[4]认为大枣枣皮红色素的最佳提取工艺条件为 0.2 mol/L NaOH 在 80 °C 浸提. 从已经发表的文献来看, 对枣皮红色素组成和结构的研究报道很少, 且很不一致. 常世敏等^[9]认为冬枣果皮中含有花色苷和黄酮两类别色素化合物; 夏敦岭等^[10]用高效液相色谱法检测冬枣果皮黄酮提取样含有四种黄酮; 张琼等^[11]用液质联用技术在 4 种枣果皮中均检测到 8 种黄酮醇类物质、4~5 种黄酮醇类物质, 未检测到花色苷类物质; 念红丽等^[12]用高效液相色谱法在冬枣皮中检测到儿茶素、表儿茶素和香豆酸三种多酚,

这些作者从包括冬枣在内的枣果皮中检测到的是黄酮类物质. 吴绍武等^[8]通过液质联用技术推测山西滩枣枣皮红色素中有 3 个化合物的分子量分别是 342.2, 363.3 和 328.1. 另一方面, 樊君等^[13]提出大枣红色素为羟基蒽醌类衍生物; 李晓等^[14]从枣皮红色素的碳酸钠萃取组分中得到蒽醌类化合物. 由之可知, 大枣枣皮红色素组成、化学属性及结构至今不明, 这严重妨碍到对其的开发利用, 为此需要对枣皮红色素进行分离纯化以确定其结构.

大孔树脂吸附能力强, 解吸容易, 操作简单, 洗脱试剂消耗少, 因此, 选用大孔树脂对枣皮红色素做初步分离. 笔者考察大孔树脂 AB-8 对枣皮红色素的吸附解吸性能, 选出性能较优的大孔树脂, 并研究确定该树脂对于枣皮红色素的纯化工艺条件, 为枣皮红色素初步分离提供依据.

1 实验材料与方法

1.1 材料与仪器

大枣为新疆干红枣. 选择饱满完整的红枣, 沸水中煮 5 min 后立即放入冷水中, 剥下枣皮, 除净粘附的果肉, 将枣皮在 50 °C 烘干至恒重, 即为实验用大枣皮.

大孔树脂 AB-8, 购自天津南开大学化工厂; 氢氧化钠、甲醇、乙醇、乙酸乙酯均为国产分析纯.

收稿日期:2013-05-12; 修订日期:2013-07-14

基金项目:河南省重点科技攻关计划项目(102102110046)

作者简介:赵文恩(1950-), 男, 山西临猗人, 郑州大学教授, 博士, 博士生导师, 主要从事天然产物化学与生物化学研究, E-mail:zhaowenen@zzu.edu.cn.

RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;501 型超级恒温水浴,上海浦东荣丰科技仪器有限公司;SHZ-D 循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;PHS3-3C 型精密酸度计,上海大普仪器有限公司;BT423S 型电子分析天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;HZS-H 水浴振荡器,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;UV-2450 紫外-可见分光光度计,岛津公司;DZF 型真空干燥箱,北京中兴伟业仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

按照提取枣皮红色素的最佳工艺^[4]来提取:NaOH 溶液浓度 0.2 mol/L,提取温度 80 ℃,提取时间 2.5 h,料液比 1:25(料液比单位:g/mL,下同),提取级数为 2 级。提取的枣皮红色素过滤后,用盐酸调至 pH 至 5,旋蒸浓缩,然后放入真空烘箱中干燥,得到枣皮红色素粗提物。

1.2.2 枣皮红色素标准曲线的绘制

精确称取 0.4000 g 枣皮红色素粗提物,充分溶于 500 mL 蒸馏水中,静置 2 h 后取上清液,以蒸馏水做空白对照,用紫外-可见分光光度计扫描在 200~600 nm 波长范围内的上清液吸光度,得到枣皮红色素在紫外-可见区间的波谱图,确定最大吸收波长 $\lambda_{\max} = 289$ nm。在 $\lambda_{\max} = 289$ nm 波长下,该上清液吸光度 $A = 1.5670$,静置 24 h 后,吸光度保持不变,表明该上清液性质非常稳定,可作为枣皮红色素标准溶液。

精确量取枣皮红色素标准溶液置于 7 个 50 mL 容量瓶中,以蒸馏水定容、摇匀,以蒸馏水为空白对照,在 $\lambda_{\max} = 289$ nm 波长下测定吸光度。以枣皮红色素浓度 C (mg/mL) 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标绘制标准曲线图(如图 1),用最小二乘法作线性回归,得回归方程:

$$A = 0.012\ 68 + 2.050\ 18C, R^2 = 0.999\ 65, SD = 0.016\ 12.$$

回归方程表明,枣皮红色素吸光度与浓度在 0.053 4~0.800 0 mg/mL 范围内线性关系良好。

下面研究所分析的“抽滤液”通过紫外-可见分光光度计扫描的波谱图与标准物的波谱图一致,最大吸收波长都是在 $\lambda_{\max} = 289$ nm,这表明与标准物的成分基本一致的,相对误差在 1%~3%,相对于初步分离条件,误差是允许的,因此下面实验可用该标准曲线。

1.2.3 大孔树脂吸附率和解吸率测定

吸附率测定:精确称取预处理好的树脂,分别

加入稀释的枣皮红色素溶液 40 mL,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min,温度 25 ℃),吸附 12 h 后取出过滤,测量滤液体积 V_1 ,并测定滤液在 $\lambda_{\max} = 289$ nm 波长下吸光度 A_1 ,过滤后含色素的树脂留下备用。

解吸率测定:将过滤后的树脂放入锥形瓶中,加入 20 mL 体积分数为 50% 的乙醇水溶液,放入恒温水浴振荡器(振速与温度同上),解吸 12 h 后取出过滤,测定滤液体积 V_2 ,并测定滤液在 $\lambda_{\max} = 289$ nm 波长下吸光度 A_2 。

根据上述标准曲线回归方程求出相对应的浓度 C ,计算各树脂的吸附率和解吸率,由此筛选出枣皮红色素吸附与解吸最适的大孔树脂。

吸附率和解吸率的计算公式如下:

$$\text{吸附率} = (V_0 C_0 - V_1 C_1) / V_0 C_0 \times 100\%;$$

$$\text{解吸率} = V_2 C_2 / (V_0 C_0 - V_1 C_1) \times 100\%.$$

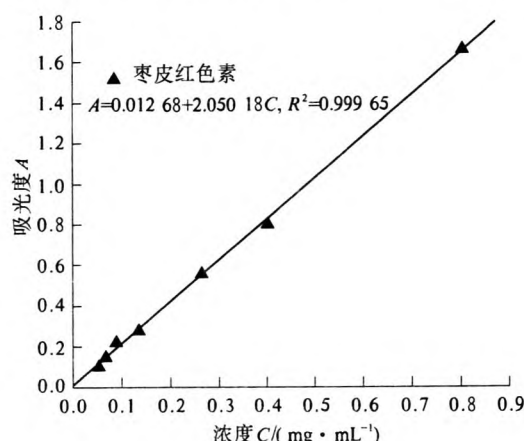


图1 吸光度与浓度的标准曲线

Fig.1 The standard curve of the absorbance and the concentration

2 结果与讨论

2.1 单因素法确定影响吸附的因素

2.1.1 吸附体积浓度的确定

精确称取 3 g 预处理好的树脂,分别加入 0.1,0.2,0.4,0.6,0.7,0.8,0.9,1.2 mg/mL 枣皮红色素溶液 40 mL,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min),在 25 ℃ 恒温吸附 5 h 后过滤,测定滤液的吸光度,计算静态吸附率,考察溶液质量浓度对树脂 AB-8 吸附的影响。静态吸附率分别为 12.1%、15.2%、17.1%、18.1%、18.7%、19.2%、18.8%、17.7%。结果表明:随着溶液浓度的增加,静态吸附率增加,当体积浓度为 0.8 mg/mL 时,静态吸附率最大(19.2%),若质量浓度继续增加,静态吸附率开始下降,因此,选择体积浓度为

0.8 mg/mL.

2.1.2 料液比的确定

精确称取预处理好的树脂,分别按 3:40、6:40、10:40、20:40、30:40、50:40、70:40、90:40、150:40(料液比单位:g/mL,下同)的比例加入体积浓度为0.8 mg/mL 枣皮红色素溶液,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min),在 25 ℃恒温吸附 5 h 后过滤,测定滤液的吸光度,计算静态吸附率,考察料液比对树脂 AB-8 吸附的影响.静态吸附率分别为 13.8%、27.6%、32.3%、41.4%、53.9%、62.0%、65.1%、65.6%、65.8%.结果表明:随着料液比的增加,静态吸附率增加,当料液比达到 90:40 时,静态吸附率增长趋向稳定,因此选择料液比为 90:40.

2.1.3 静态吸附平衡时间的确定

精确称取预处理好的 AB-8 树脂于锥形瓶中,按料液比 90:40 加入体积浓度为 0.8 mg/mL 的枣皮红色素溶液 40 mL,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min,温度 25 ℃)吸附,每隔 30 min 从上清液中取样测定吸光度,观察吸附率的变化,以吸附率为纵坐标,时间为横坐标做树脂 AB-8 静态吸附曲线,确定静态吸附平衡时间.

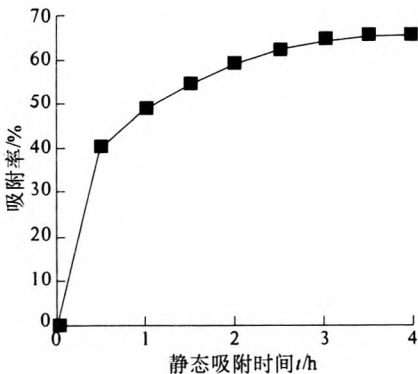


图2 大孔树脂 AB-8 的吸附平衡曲线
Fig.2 The adsorption equilibrium curve of macroporous resin AB-8

由图 2 可以看出,在开始的一段时间内,AB-8 树脂对枣皮红色素的吸附率在逐渐增大.随着时间的延长,吸附率增加趋缓,在 3.5 h 时吸附率不再增加,表明树脂对色素的吸附达到饱和,即达到吸附平衡.看来,用 AB-8 树脂柱对枣皮红色素纯化时,上样后吸附静置的时间应不低于 3.5 h,以使枣皮红色素被充分吸附,再用溶剂进行洗脱.

2.1.4 验证试验

按上述单因素优选出的纯化工艺:吸附体积

浓度为 0.8 mg/mL,料液比为 90:40,静态吸附时间为 3.5 h 进行了 3 次试验,吸附率分别为 65.8%、65.3%、65.6%,说明具有良好的重复性.在此条件下,大孔树脂 AB-8 对枣皮红色素的吸收率为 65.6%.

2.2 洗脱剂的确定

精确称取已吸附色素饱和的 AB-8 树脂 30 g,分别用 20 mL 蒸馏水、体积分数为 50% 甲醇水溶液、体积分数为 50% 乙醇水溶液、体积分数为 50% 乙醇+体积分数为 50% 乙酸乙酯混合液洗脱色素,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min,温度 25 ℃)洗脱 5 h 后过滤,测滤液吸光度值,计算解吸率,考察洗脱剂对解吸率的影响.解吸率分别为 20.6%、74.2%、81.1%、51.7%,结果表明 50% 乙醇水溶液的解吸效果最佳,解吸率达到 81.1%,乙醇水溶液无毒,价格较便宜,可以回收,因此,选择乙醇水溶液对 AB-8 树脂进行洗脱.

2.3 洗脱剂浓度的确定

精确称取已吸附色素饱和的 AB-8 树脂 30 g,分别用 20 mL 体积分数为 10%、30%、50%、70%、90% 的乙醇水溶液洗脱,并与依次用 10 mL 体积分数为 10%、20%、…、90% 的乙醇水溶液梯度洗脱作对比,放入恒温水浴振荡器(振速为 66 r/min,温度 25 ℃)洗脱 5 h 后过滤,测滤液吸光度值,计算解吸率,依解吸率大小确定洗脱剂的浓度.如表 1 所示.

表1 洗脱剂浓度对 AB-8 树脂解吸枣皮红色素的影响
Tab.1 The effect of eluent concentration on AB-8 desorption of jujube skin haematochrome

洗脱剂浓度	解吸率/%
10%	58.0
30%	77.5
50%	81.1
70%	86.3
90%	80.1
10% ,20% ,… ,90% 梯度	98.2

由表 1 可以发现,梯度洗脱比单个浓度洗脱效果有明显优势,梯度洗脱解吸率为 98.2%,树脂上的色素几乎完全洗脱,因此选择依次用体积分数为 10%、20%、…、90% 的乙醇水溶液梯度洗脱.

3 结论

AB-8 型大孔吸附树脂是苯乙烯型非极性

共聚体,具有较大的比表面积,适于天然产物的初步纯化.大孔树脂 AB-8 对于枣皮红色素吸附的最佳工艺:吸附体积浓度 0.8 mg/mL、静态吸附时间 3.5 h、料液比 90:40,在该工艺条件下,静态吸附率最大,为 65.6%;大孔树脂 AB-8 的洗脱工艺:依次用体积分数为 10%,20%,...,90% 乙醇水溶液梯度洗脱,洗脱率 98.2%.大孔树脂 AB-8 对于枣皮红色素有较优的吸附率与解吸率,选择大孔树脂 AB-8 用于枣皮红色素的初步分离.

参考文献:

- [1] LI Jin-wei, DING Shao-dong, DING Xiao-lin. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube[J]. Process Biochemistry, 2005,40:3607-3613.
- [2] 赵文恩,李茜倩. FRAP 法测定大枣枣皮红色素的总抗氧化能力[J]. 郑州大学学报:工学版,2011,32(6):28-30.
- [3] GAO Qing-han, WU Pu-te, Liu Jia-Ren. Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (Ziziphus jujuba Mill.) cultivars grown in loess plateau of China[J]. Scientia Horticulturae, 2011,130:67-72.
- [4] 李茜倩. 大枣枣皮红色素的提取分离及其生物活性的研究[D]. 郑州:郑州大学化工与能源学院,2011.
- [5] 刘蒲,徐民. 食用枣红色素的提取工艺及稳定性研究[J]. 化学世界,1995(7):359-362.
- [6] 孙灵霞,陈锦屏,刘凤. 红枣红色素提取工艺的研究[J]. 食品添加剂,2005,6(1):153-155.
- [7] 韩立宏,马涛. 超声波辅助纤维素酶-碱液提取大枣皮红色素工艺的响应面优化研究[J]. 食品科学,2008,29(7):221-225.
- [8] 吴绍武. 枣皮红色素的制备、结构、及稳定性研究[D]. 武汉:武汉工业学院化学系,2010.
- [9] 常世敏,生吉萍,申琳. 冬枣果皮色素提取及其性质的分析研究[J]. 保鲜与加工,2004(5):18-20.
- [10] 夏敦岭. 冬枣果皮色素稳定性研究及其黄酮类成分定性定量分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学园艺学院,2006.
- [11] 张琼,沈广宁. 枣果皮色素物质的初步研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(19):10034-10036.
- [12] 念红丽,李赫. 高效液相色谱测定不同成熟期枣皮酚类物质[J]. 北京林业大学学报,2011,33(1):139-143.
- [13] 樊君,吕磊,李宏燕,等. 大枣红色素的提取及其稳定性[J]. 食品科学,2005,26(6):52-54.
- [14] 李晓,赵文恩,田武韬,等. 枣皮红色素的成分分离分析研究[J]. 天津化工,2009,23(3):37-39.

Preliminary Process of Jujube Skin Haematochrome Purification with Macroporous Resin

ZHAO Wen-en, LI Yong

(School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The isolation of red pigment from Zizyphus jujube peel was investigated through static adsorption-desorption method using AB-8 type macroporous resin. The results indicated that AB-8 type macroporous resin showed higher adsorption rate and desorption rate. The optimum process conditions for adsorption are as follows: adsorption mass concentration 0.8 mg/mL、static adsorption time 3.5 h、material liquid ratio 90:40、adsorption rate 65.6%. The process conditions for elution are as follows: gradient elution in turn with 10%, 20%, ..., 90% ethanol water、elution rate 98.2%. This method is easy to operate without any toxicity, smell and pollution and spend less eluent compared with other methods. It is applicable for the preliminary separation of the red pigment from Zizyphus jujube peel.

Key words: Zizyphus jujube peel; red pigment; static adsorption-desorption method; single factor way