

# 笃斯越桔笃斯越桔花青素的分离纯化研究

李明瑾, 林松毅, 王二雷, 刘静波\*

(吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室, 吉林 长春

130062)

**摘要:** 本实验以长白山笃斯越桔果实中笃斯越桔花青素粗提液为实验材料, 以吸附和解吸效果为衡量指标, 对比分析了五种不同型号树脂分离纯化笃斯越桔花青素的实验效果, 筛选出 AB-8 树脂适合应用于笃斯越桔花青素的分离纯化。并通过实验研究确定最优吸附和洗脱条件为: 温度环境 30℃、pH 值 6、乙醇浓度为 60%。

**关键词:** 笃斯越桔花青素; 分离纯化; AB-8 树脂

Study on Isolation and Purification of Anthocyanidin from *Vaccinium uliginosum* L.

LI Ming-jin, LIN Song-yi, WANG Er-lei, LIU Jing-bo\*

(Laboratory of Nutrition and Functional Food, College of Quartermaster Technology, Jilin University, Changchun 130062, China)

**Abstract:** The separation and purification of anthocyanidin from the *Vaccinium uliginosum* L. with five different kinds of macroporous resin were studied. Through comparison of the adsorption and desorption of resin, the AB-8 macroporous resin was the best choice to separate and purify anthocyanidin from the *Vaccinium uliginosum* L. Based on a concrete experiment, the optimal conditions of adsorption elution were confirmed as follows: temperature 30℃, pH 6 and alcohol concentration 60%.

**Key words** *Vaccinium uliginosum* L.; separation and purification; AB-8 macro-porous resin

中图分类号: Q946.836

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)11-0139-03

笃斯越桔花青素(anthocyanosides)广泛存在于被子植物中, 据初步统计 27 个科 72 个属植物中都含笃斯越桔花青素。葡萄皮是目前市场已开发使用的花色苷类笃斯越桔花青素的主要原料<sup>[1]</sup>, 但是经研究发现笃斯越桔花青素在笃斯越桔中的含量最为丰富, 而长白山地区的野生笃斯越桔恰是集品质和地理因素的最佳选择, 其特点是产量大、营养价值高、药用价值强。野生笃斯越桔提取纯化的笃斯越桔花青素可以做成各种功能性食品用于增强免疫力、清血明目、养精提神, 起到美容、健体之功效。

笃斯越桔提取物是目前所有植物笃斯越桔花青素中功效最优良、应用范围最广、副作用最低, 也是价格最昂贵的品种。在国际市场上, 笃斯越桔花青素含量 25% 的笃斯越桔提取物其价格是葡萄子提取物(含量 95%)的 5~6 倍, 足以说明笃斯越桔提取物的优越功能<sup>[2]</sup>。由于至今国内市场上还没有笃斯越桔花青素纯品, 所以提取高纯度的笃斯越桔花青素对花色苷类笃斯越桔花青素的深入研究与开发提供必备的表征条件和理论依据, 并且有助于实现工业转化。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

笃斯越桔果实笃斯越桔花青素提取液由吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室制备。

高浓度乙醇(食品级)、甲醇、盐酸 北京化工厂; NKA-2、D3502、NKA9、HPD-500、AB-8 五种树脂 天津南开大学化工厂。

分光光度计、分析天平、恒温水浴锅、pH 计、过滤装置、摇床、抽滤装置等由吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 吸附树脂筛选

NKA-2、D3502、NKA9、HPD-500、AB-8 大孔树脂各 5g 于锥形瓶中, 另取 25ml 已浓缩的提取液定容至 250ml, 每取 45ml 为一份加入五个锥形瓶中进行静态吸附, 剩余液体用于测量提取液的初始吸光度。每 20min 测一次 546nm 吸光度。吸附趋于饱和时, 抽滤得到树脂, 再加入 80% 乙醇进行洗脱, 每隔一定时间取

收稿日期 2007-08-28

\*通讯作者

基金项目: 吉林省科技厅应用基础研究项目(20050567); 吉林大学农学部大学生科技创新基金资助项目(2007051849)

作者简介: 李明瑾(1986-), 女, 本科生, 研究方向为营养与功能食品。

0.4ml 定容至 10ml 放置 5min 后测定其 546nm 吸光度。将吸光度转化为吸附率和解析率作图比较。

吸附率和解吸率计算公式为:

吸附率( $\mu\text{g/g}$ )=(提取液中笃斯越桔花青素的初始量-提取液中笃斯越桔花青素的剩余量)/树脂质量;

解吸率(%)=提取液笃斯越桔花青素的解吸量/提取液中笃斯越桔花青素的吸附量 $\times 100$

### 1.2.2 温度对 AB-8 树脂吸附效果的影响

笃斯越桔花青素类笃斯越桔笃斯越桔花青素对温度很敏感,长时间加热可使其降解、褪色。故只选择 30、40、50℃三个温度进行实验,每 10min 取出溶液测一次 546nm 吸光度。剩余溶液用于原液吸光度的测量。

### 1.2.3 pH 值对 AB-8 树脂树脂吸附效果的影响

笃斯越桔花青素类笃斯越桔笃斯越桔花青素,在中性和碱性条件下不稳定,故选择在酸性条件下测定树脂的吸附能力<sup>[3]</sup>。称取五份质量相等的 AB-8 树脂于五个锥形瓶中,为了使加入的供吸附的笃斯越桔花青素浓缩液等体积,故选用已调好的五种 pH 值的水溶液加入果实冻干粉的方法配置笃斯越桔花青素浓缩液。静置吸附,每隔 1h 过滤后测其 546nm 吸光度。

### 1.2.4 温度对有机溶剂洗脱效果的影响

取等量吸附笃斯越桔花青素饱和的 AB-8 树脂三份,各加入 45ml 80% 的乙醇溶液,分别置于 30、40、50℃水浴中,进行静态洗脱,每 10min 测定上清液的 546nm 吸光度。

### 1.2.5 洗脱剂浓度对洗脱效果的影响

取等量已吸附笃斯越桔花青素饱和的 AB-8 树脂三份加入锥形瓶中,依次用 50ml 40%、60%、80% 的乙醇溶液进行洗脱,每 10min 取其上清液测定其 546nm 吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 五种不同树脂吸附作用分析结果

KA-2、D3502、NKA9、HPD-500、AB-8 五种树脂对笃斯越桔果实笃斯越桔花青素提取液吸附作用情况如图 1 所示。由图 1 可见,在连续测定时间 120min 内,树脂对笃斯越桔花青素的吸附率随吸附时间的延长逐渐增加。

其中,AB-8 大孔吸附树脂对笃斯越桔笃斯越桔花青素的吸附能力比其他四种树脂的吸附能力强,且吸附率随时间变化不明显,较稳定,利于实验的进行和工业化应用。可以初步确定选择 AB-8 大孔树脂作为笃斯越桔笃斯越桔花青素吸附洗脱树脂。

### 2.2 五种不同树脂解吸作用分析结果

KA-2、D3502、NKA9、HPD-500、AB-8 五种树脂对笃斯越桔果实笃斯越桔花青素提取液解吸作用情况

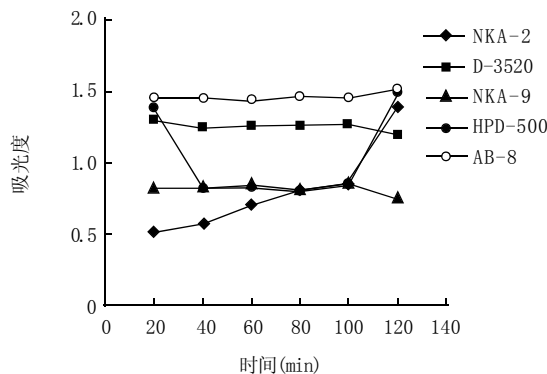


图 1 五种树脂对笃斯越桔花青素提取液吸附作用情况

Fig.1 Comparison of adsorption between five different kinds of resin in fruit solution of *Vaccinium uliginosum* L.

如图 2 所示。由图 2 可知,在测定时间 24 h 内,树脂对笃斯越桔笃斯越桔花青素的解析率随洗脱时间的延长逐渐增加。

其中,AB-8 大孔吸附树脂对笃斯越桔笃斯越桔花青素的解析能力比其他四种树脂大,优势明显,故可以更加肯定选择 AB-8 大孔树脂作为笃斯越桔笃斯越桔花青素吸附洗脱树脂。

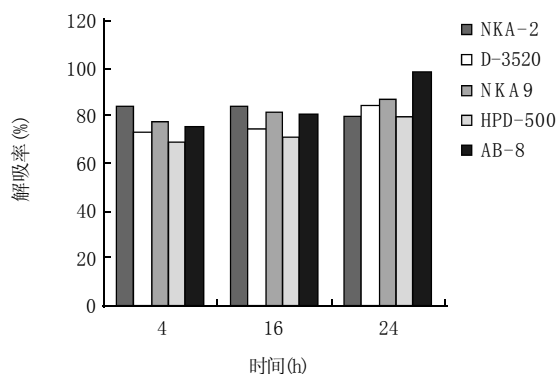


图 2 五种树脂对笃斯越桔花青素提取液解吸作用情况

Fig.2 Comparison of desorption between five different kinds of resin in fruit solution of *Vaccinium uliginosum* L.

### 2.3 操作温度对 AB-8 树脂吸附效果分析

操作温度在 30、40、50℃时 AB-8 树脂对笃斯越桔花青素的吸附效果如图 3 所示。由图 3 可以看出均呈上升趋势,但是 40℃上升趋势稳定且吸附率偏高,所以本实验选用 40℃为 AB-8 树脂的最佳吸附温度。

### 2.4 pH 值对 AB-8 树脂吸附效果分析

pH 值对 AB-8 树脂吸附效果分析结果如图 4 表所示:在强酸性条件下,AB-8 树脂对笃斯越桔花青素的吸附效果较好,但是随 pH 值的升高吸附效果逐渐减弱,在 pH 值为 5 和 6 的时候开始回升,且 pH 值为 6 时达到最佳效果,此 pH 值接近中性,在工业化生产中比强酸性溶液更容易制备,故本实验选择 pH 值为 6 时是笃斯越

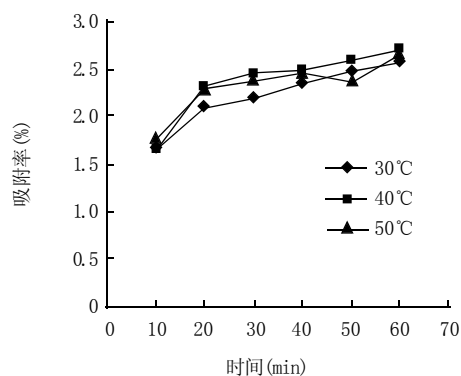


图3 温度对笃斯越桔花青素吸附效果的影响  
Fig.3 Effects of temperature on adsorption process

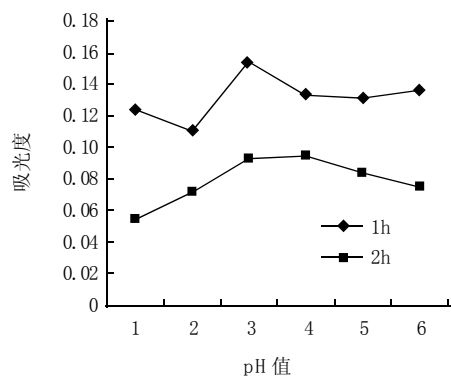


图4 不同时间条件下吸光度与pH值的关系  
Fig.4 Effects of pH on absorbance with different time

桔花青素的最佳吸附pH值。

## 2.5 操作温度对AB-8树脂洗脱效果的影响情况

操作温度对AB-8树脂洗脱效果的影响情况如图5所示。在60min以前, 50℃为最佳解析温度, 但是三种温度条件下变化不明显。在60min以后, 解析率随温度

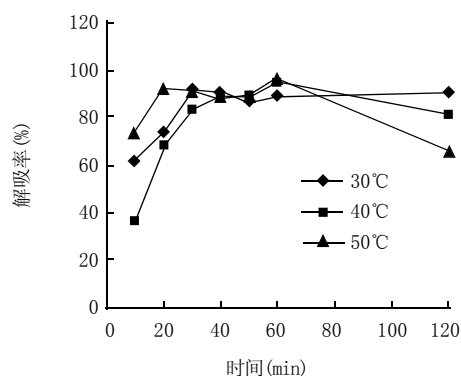


图5 温度对笃斯越桔花青素洗脱效果的影响  
Fig.5 Effects of temperature on elution

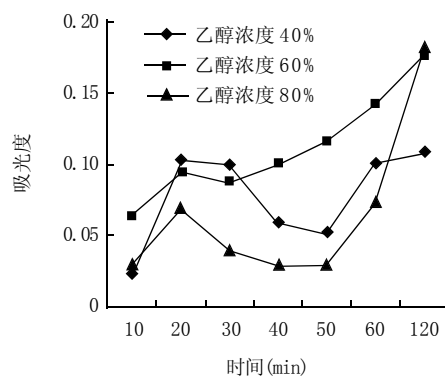


图6 洗脱过程中不同浓度乙醇对AB-8树脂的解析率与时间的关系  
Fig.6 Effects of alcohol concentration on elution with different time about AB-8

升高而降低。30℃解析过程随时间变化平稳, 且符合工业化生产的要求, 在室温条件下即可进行, 因此本实验选定30℃为最佳解析温度。

## 2.6 洗脱剂浓度对洗脱效果的影响情况

洗脱剂浓度对洗脱效果的影响情况如图6所示。笃斯越桔花青素主要在60%乙醇洗脱液中解析率随时间稳步上升, 而40%、水和80%的乙醇都在20min时出现一个峰值, 后随时间的延长析出率逐渐下降, 虽然在60min后又有上升趋势, 但是不符合工业化生产省时的要求, 故要舍去。因此, 选用洗脱效果最好的60%的乙醇溶液为洗脱溶剂。

## 3 结论

3.1 AB-8型树脂对笃斯越桔花青素有较好的吸附和解吸性能。

3.2 温度对AB-8树脂对笃斯越桔花青素的吸附率和解吸率影响不显著, 但30℃既是吸附和解吸效果最好的温度也符合工业化生产的要求。

3.3 pH值在近中性条件下AB-8树脂对笃斯越桔花青素的吸附效果理想。

3.4 乙醇浓度为60%时, 对吸附饱和的AB-8树脂洗脱效果最佳。

## 参考文献:

- [1] 笃斯越桔-含笃斯越桔花青素最高的水果[EB/OL]. <http://www.blueberry.net.cn>
- [2] 黄红霞, 戚向阳, 肖俊松, 等. 大孔吸附树脂对苹果原花青素吸附分离的特性[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(7): 132-134.
- [3] 胡迎芬. AD-50大孔吸附树脂对紫叶小檗叶色素提取性能的研究[J]. 中国食品添加剂, 2002(3): 31-33, 38.