

# 大孔吸附树脂法分离纯化白藜芦醇的研究

刘树兴<sup>1</sup>, 程丽英<sup>1</sup>, 高连周<sup>2</sup>, 耿伟<sup>3</sup>

(1.陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 咸阳 712081; 2.河南省交通职业技术学院, 河南 郑州 450005 3.陕西咸阳市产品质量监督检验所, 陕西 咸阳 712000)

**摘 要:** 利用大孔吸附树脂分离纯化虎杖中的白藜芦醇。实验结果表明, NKA-9 型大孔吸附树脂对白藜芦醇的吸附、解吸性能较好。在料液浓度 3~4mg/ml, 上柱速率 1ml/min, 上样量 0.5BV, pH 值为 4 的条件下吸附; 解吸采用 75% 酒精, 解吸流速 1ml/min, pH 值为 8 时可以将白藜芦醇较好的纯化。

**关键词:** 白藜芦醇; 大孔吸附树脂; 虎杖; 纯化

## Study on the Purification of Resveratrol by Macroporous Adsorption Resin

LIU Shu-xing<sup>1</sup>, CHENG Li-ying<sup>1</sup>, GAO Lian-zhou<sup>2</sup>, GENG Wei<sup>3</sup>

(1.College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xianyang 712081, China 2.Henan Communications Vocational and Technical College, Zhengzhou 450005, China 3.Xianyang Institute of Supervision and Testing on Product Quality, Xianyang 712000, China)

**Abstract:** Resveratrol is purified by macroporous adsorption resin from polygonum cuspidatum. The experiment results show that a resin type of NKA-9 is better in adsorption and desorption to resveratrol. Resveratrol can be purified well under the condition of material concentration 3~4mg/ml, sample flow velocity 1ml/min, sample quantity 0.5BV, pH=4 for adsorption; 75% ethanol as desorption solvent, desorption velocity of flow 1.0ml/min, pH=8 for desorption.

**Key words:** resveratrol; macroporous adsorption resin; polygonum cuspidatum; purification

中图分类号: 0625.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)09-0265-05

虎杖是我国的传统中药, 其中含有较多的白藜芦醇。白藜芦醇具有多种生物学活性及药理作用。人们已经发现它具有抗癌、抗菌、抗氧化、预防心脏病、降血脂和抗诱变等作用。特别是具有很强的抗肿瘤活性及对心血管系统的作用, 已经成为食品及医药行业研究的热点。葡萄中白藜芦醇含量也较高, 这也正是习惯饮用葡萄酒的法国人在“三高”食品的饮食习惯下, 心血管疾病的发病率远远低于其他欧美国家的秘密。人们现在也开始将白藜芦醇添加到保健食品中。如何将白藜芦醇等成分高效、快速的提取出来, 并纯化得到一定程度的纯品, 将具有很高的经济价值与现实意义。

## 1 实验材料和仪器

### 1.1 实验材料和试剂

X-5、AB-8、NKA-II、NKA-9 树脂: 天津南开大学化工厂; D-101 树脂: 天津农药总厂;

无水乙醇、氯仿、甲醇、甲苯、浓盐酸、乙醚、薄层层析硅胶 G 等皆为分析纯。

### 1.2 主要仪器和设备

752 型紫外-可见分光光度计 上海精密仪器有限公司; 旋转蒸发器 RE-52A 上海亚荣生化仪器厂; PHS-3C 型精密 pH 计 上海雷磁仪器厂; 高效液相色谱仪 美国 Waters 公司。

### 1.3 工艺流程

虎杖→粉碎→提取→过滤→浓缩→预处理除杂(乙醚沉淀)→浓缩→分离出大黄素→滤液上大孔吸附树脂吸附→解吸→浓缩→干燥→白藜芦醇成品

### 1.4 白藜芦醇的标准曲线及曲线方程

经测定不同浓度白藜芦醇对照品在 306nm 下的吸光度值, 以吸光度值为横坐标, 浓度为纵坐标作标准曲线图(图略)。

经回归计算, 白藜芦醇标准曲线方程为:  $y = 7.6582x + 0.0003$  ( $y$ —浓度  $\mu\text{g/ml}$ ;  $x$ —吸光度), 相关

收稿日期: 2005-07-01

作者简介: 刘树兴(1962-), 男, 教授, 研究方向为食品加工及食品添加剂开发应用。

系数  $R^2=0.9979$ 。

### 1.5 大孔吸附树脂法所得产品鉴定

对由大孔吸附树脂法分离得到的白藜芦醇利用薄层展开及紫外图谱扫描进行定性鉴定。

### 1.6 高效液相色谱定量测定

将利用大孔吸附树脂法分离纯化所得产品上高效液相色谱柱, 根据面积外标法得出白藜芦醇的含量, 并计算求得产品纯度及得率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 虎杖提取液的预处理除杂

本实验采取四种方案分析比较了虎杖中提取白藜芦醇后的除杂问题, 结果见表 1。

表 1 白藜芦醇除杂方法  
Table 1 Eliminating impurity ways from resveratrol

方法	具体方案	除杂效果	芦醇损失率(%)
醇提水沉	向含白藜芦醇的乙醇溶液中加入蒸馏水至醇浓度为 30%	9.5% 固形物出现沉淀	12.4
	向含白藜芦醇的乙醇溶液中加入蒸馏水至醇浓度为 20%	9.5% 固形物出现沉淀	32.2
	用酸、碱调提取液 pH 值(1~14)	颜色改变, 无沉淀出现	0
离心沉淀	将白藜芦醇提取液在 3000r/min 转速下离心 15min	基本没有沉淀出现	0
乙醚沉淀	向含白藜芦醇的醇溶液中加入乙醚	24.9% 固形物出现沉淀	6.8

由表 1 可以看出, 乙醚沉淀法效果较好, 除去了大量杂质(24.9%)。据分析, 鞣质类化合物及黄酮类(主要为槲皮素及其苷类)、小分子苷类等, 难溶于乙醚, 因此被沉淀下来。

### 2.2 大孔吸附树脂法吸附纯化

#### 2.2.1 树脂的静态吸附试验

以吸附时间为横坐标, 吸附量为纵坐标做出树脂的静态吸附曲线图, 见图 1。可以发现, NKA-II 树脂对白藜芦醇的吸附量及解吸量均为最大, 达 3.542mg/ml 湿树脂; 其次为 NKA-9 树脂, 吸附量为 3.078mg/ml 湿树脂; AB-8、X-5 树脂及 D-101 树脂相对吸附量较低。

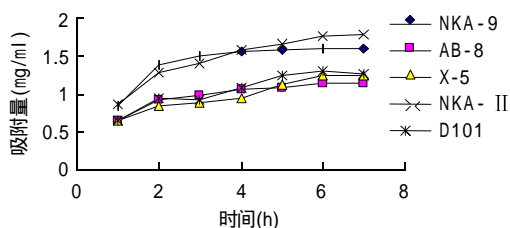


图 1 静态吸附曲线  
Fig. 1 Static adsorption curve

#### 2.2.2 树脂的静态解吸试验

以吸附时间为横坐标, 吸附量为纵坐标做出树脂的静态解吸曲线图, 结果见图 2。可以看出, NKA-II、NKA-9 两种树脂对白藜芦醇的解吸量较大, 尤以 NKA-II 最为突出, 达 1.622mg/ml 湿树脂, NKA-9 为 1.579mg/ml 湿树脂, 且解吸速度较快。其他树脂吸附效果相对较差。

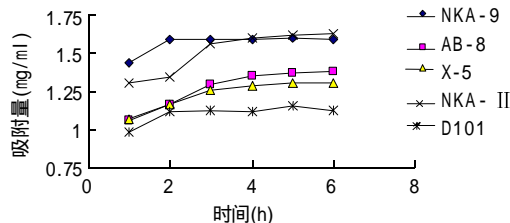


图 2 静态解吸曲线  
Fig.2 Static elution curve

#### 2.2.3 树脂的动态吸附试验

经过静态试验观察比较, 针对白藜芦醇吸附解吸特性, NKA-II、NKA-9 两种树脂效果较好, 前者的吸附量及解吸量均大于后者, 但后者的解析率明显高于前者, 各有优劣。下面再针对这两种树脂进行动态考察。

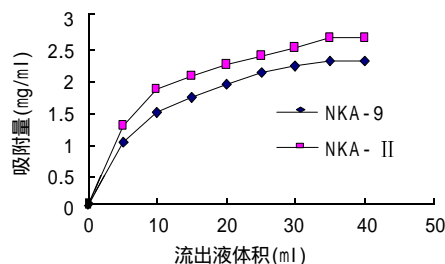


图 3 动态吸附曲线  
Fig.3 Dynamic adsorption curve

经计算, 比较对白藜芦醇的吸附率, NKA-II 树脂比 NKA-9 树脂高出了 4.1%。

#### 2.2.4 树脂的动态解吸试验

以医用酒精为解吸剂, 1mg/ml 的速率进行洗脱, 得到的洗脱液以体积为横坐标, 解吸量为纵坐标作图, 结果见图 4。

由图 4 可以看到, 就解吸量来说, 树脂 NKA-II 优于 NKA-9, 但相比较解析率, NKA-9 为 83%, 而 NKA-II 只有 69%, 延长解吸时间或增大解吸试剂用量可能会提高解吸率, 但这样势必降低效率。考虑到树脂的重复使用性, 需要彻底清洁树脂, 且 NKA-9 对白藜芦醇的吸附解吸量与 NKA-II 树脂相差不是很大, 另外, 树脂颜色浅, 生产过程易于观察控制, 所以采用 NKA-9 树脂是合适的。

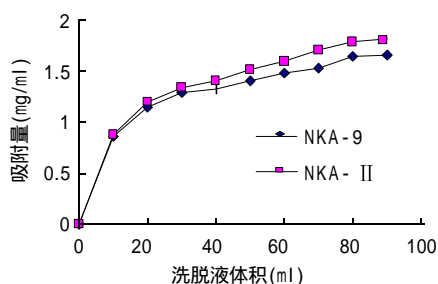


图4 动态解吸曲线

Fig.4 Dynamic elution curve

## 2.2.5 吸附条件对树脂吸附效果的影响

### 2.2.5.1 上柱速率对吸附率的影响

分次取 18 ml 树脂湿法装柱, 用蠕动泵控制不同的流速进行上柱吸附, 通过上柱前后溶液有效成分的浓度差, 计算吸附率, 比较得到表 2 的结果。

表2 上柱速率对吸附率的影响

Table 2 Influence of sample flow velocity on adsorption rate

上柱速率 (ml/min)	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.5
吸附率(%)	72.8	72.4	72	70.6	68.5	65.7

由表 2 可以看到, 上样速率越小, 则树脂对吸附质的吸附容量就越大。但上样速率小耗用的时间就多, 当速率超过 1.0 ml/min 后, 吸附率下降较快。综合考虑吸附率及效率可选择 1.0 ml/min 的流速。

### 2.2.5.2 料液浓度对吸附效果的影响

取一定量的虎杖提取物平均分成 6 份, 每份均超树脂的饱和吸附量, 将提取物进行不同程度的稀释, 得到以下几个浓度见表 3 进行吸附测定。

表3 料液浓度对吸附率的影响

Table 3 Influence of material concentration on adsorption rate

上柱浓度 (mg/ml)	1	2	3	4	5	6
吸附率(%)	63.3	68.4	72.5	73.7	62.6	56.8

由表 3 结果可见, 在白藜芦醇总量相同的情况下, 吸附率与上柱浓度呈抛物线关系, 即当上柱浓度增大时, 吸附率也增大, 3~4 mg/ml 浓度时吸附率达最高, 吸附量最大, 随着浓度的再次增长, 吸附率便开始下降。因此, 选择上柱浓度在 3~4 mg/ml 之间即可。

### 2.2.5.3 上样量的确定

分别吸取浓度为 2 mg/ml 的粗提液样品 7、8、9、10、11 和 12 ml 上样于已装填大孔吸附树脂 NKA-9 的色谱柱中, 静置 15 min, 用蒸馏水淋洗至流出液无色, 再用体积百分数 75% 的乙醇洗脱, 流速 1.0 ml/min, 收集洗脱液。结果如表 4 所示。

表4 上柱量对吸附率的影响

Table 4 Influence of sample quantity on adsorption rate

上样量(ml)	7	8	9	10	11	12
吸附率(%)	74.9	75.2	70.4	65.2	62.1	50.8

由表 4 可以看出, 当上样量为 8 ml, 即在 0.5 BV 时吸附效果最好。上样量再增大, 则超过了树脂的饱和吸附量, 吸附率反而下降。

### 2.2.5.4 pH 值对吸附效果的影响

表5 pH 对吸附率的影响

Table 5 Influence of pH on adsorption rate

pH 值	3	4	5	6	7
吸附率(%)	75.5	78.2	76.8	72.3	72.2

由于白藜芦醇具有酚性结构, 本身偏酸性, 所以在酸性条件下有利于吸附。由表 5 发现, 在 pH < 4 时, 吸附率随 pH 值的增大而增大, 在 pH=4 时, 吸附率达到峰值, 随后随着 pH 值的增大吸附率递减, 这是因为当上柱液的 pH 值为 4 时, 白藜芦醇保持分子状态, 以氢键的方式被吸附, 因此确定上柱液的 pH 值为 4 用于操作。

### 2.2.6 解吸条件的确定

#### 2.2.6.1 解吸剂浓度的确定

根据试剂的洗脱特性并考虑到安全性因素, 本研究选用不同浓度的乙醇液作为解吸剂进行考察。结果见表 6。

表6 解吸剂浓度对解吸率的影响

Table 6 Influence of desorption solvent concentration on desorption rate

乙醇浓度(%)	20	35	50	75	100
白藜芦醇解吸率(%)	41.2	75.7	89.3	95.4	98.1

由表 6 可以看出, 不同浓度的乙醇液对白藜芦醇的解吸情况有所不同, 利用 35% 乙醇液可以将 75.7% 的白藜芦醇解吸出来, 当浓度上升到 75% 时, 解吸率为 95.4%, 再增大乙醇浓度, 解吸率增加不明显, 同时考虑到节省生产费用, 选用 75% 的乙醇液即医用酒精进行解吸操作。

#### 2.2.6.2 流速对解吸效果的影响

一般解吸流速为吸附流速的 1/2~1/3, 不过, 该解吸过程时间较长, 洗脱剂用量较多, 综合比较, 可适量增大流速。结果见表 7。

表7 解吸流速对解吸率的影响

Table 7 Influence of desorption velocity of flow on desorption rate

流速(ml/min)	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2
白藜芦醇解吸率(%)	92.1	92	90.2	86.5	82.3

由表 7 可以看出, 解吸率随流速增大而减小, 因

为流速越大,对于一定量的乙醇,溶剂与树脂的作用时间就会越短,很容易造成一种平衡,使有效成分不能充分解吸。另一方面,随着流速的增大,生产效率会提高。综合考虑选择 1.0 ml/min 流速较为合适。

### 2.2.6.3 洗脱剂的 pH 值对解吸效果的影响

因为白藜芦醇为偏酸性物质,同吸附过程相反,偏碱性条件有利于白藜芦醇的解吸。结果见表 8。

表 8 pH 值对解吸率的影响  
Table 8 Influence of pH on desorption rate

pH 值	7	8	9	10	11
白藜芦醇解吸率(%)	85.4	86.5	84.9	83.6	80.1

由表 8 可以看出,解吸液在 pH 8 处效果最好。如果 pH 值再增大,解吸效果变差,因为白藜芦醇在碱性溶液中不稳定,适宜于低浓度的碱液。不过, pH 值因素对洗脱效果的整体影响并不大。因此,自然状态下解吸即可,不必再调整 pH 值。

### 2.2.6.4 解吸曲线

上柱液浓度 3 mg/ml, 上柱量 7 ml。充分吸附后,以上面实验得出的解吸单因素条件进行解吸操作,流出液每 8 ml 单独收集于刻度试管中,通过硅胶薄层定性分析,合并相同组分的解吸液,并测定每份解吸液的白藜芦醇浓度,以解吸液体积为横坐标,白藜芦醇浓度为纵坐标,绘制解吸曲线。结果见图 5。

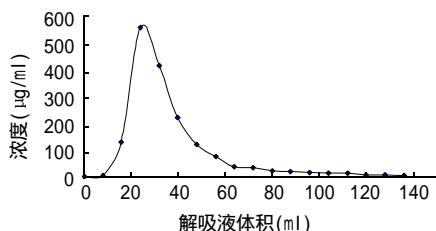


图 5 白藜芦醇解吸曲线  
Fig. 5 Desorption curve of resveratrol

由图 5 可以看到,解吸初始,白藜芦醇被吸附到树脂上没有立即随流动相下来,但很快,在 10~60 ml 的洗脱液中,就解吸了大部分的有效成分,随着乙醇的继续洗脱,剩余部分白藜芦醇也逐渐被解吸下来,共需解吸液约 140 ml。

### 2.2.7 树脂的解吸再生性能研究

以白藜芦醇为吸附质,采用实验所得出的最佳参数进行动态吸附,即在白藜芦醇提取液的浓度为 3 mg/ml,流速为 1 ml/min 的情况下上样,解吸溶剂是体积百分数为 75% 乙醇溶液,其结果如表 9 所示。

由表 9 可知, NKA-9 吸附树脂经过 20 次的吸附解吸再生过程后,其吸附率和解吸率仍基本保持不变,说明 NKA-9 大孔吸附树脂具有良好的重复使用性能。

表 9 吸附树脂再生性能影响

Table 9 Effect of regeneration of macroporous adsorption resin

树脂吸附次数	吸附率(%)	解吸率(%)
吸附 1 次	93.2	93.3
吸附 20 次	92.1	92.8

## 2.3 白藜芦醇的鉴定

### 2.3.1 薄层图谱

将利用大孔吸附树脂法分离纯化所得出的白藜芦醇用甲醇溶解,用薄层层析进行薄层展开,所得到的 TLC 图谱与标准品相比,  $R_f$  值相同,产品确切,只是含有少量杂质(图略)。

### 2.3.2 紫外图谱

将利用大孔吸附树脂法分离纯化所得出的白藜芦醇用甲醇溶解,在紫外光谱仪上进行扫描,得到的谱图与标准品相比,基本一致(图略)。

### 2.3.3 高效液相色谱测定

经高效液相色谱测定,利用大孔吸附树脂法分离纯化所得白藜芦醇得率为 0.31%,纯度为 51%。

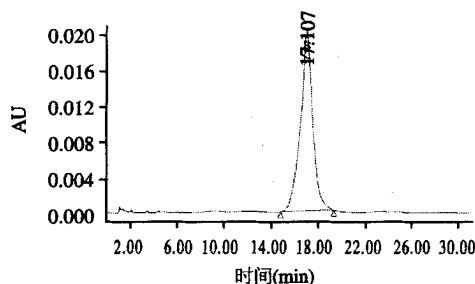


图 6 白藜芦醇样品高效液相色谱图  
Fig. 6 HPLC chromatogram of resveratrol sample

## 3 结 论

3.1 通过几种预处理除杂方法的比较,发现乙醚沉淀法除去较多的杂质,该法使用性较强。

3.2 本文以 NKA-II、NKA-9、AB-8、D101 和 X-5 五种大孔吸附树脂作为吸附剂。结果表明由 NKA-9 大孔吸附树脂填充的色谱柱为实验中的最佳吸附树脂,具有较好的选择吸附性,易于观察,解吸率高。其动态饱和和吸附量约为 2.31 mg/ml 湿树脂。最佳条件为:上样浓度 3~4 mg/ml,上样速率 1 ml/min,上样量 0.5 BV, pH 值为 4;解吸采用 75% 酒精,解吸流速 1 ml/min。所得白藜芦醇纯度为 51%。

3.3 采用大孔吸附树脂分离纯化得到的白藜芦醇,经薄层层析法及紫外图谱法检测确实为该种物质。

3.4 经高效液相色谱测定,利用大孔吸附树脂法分离纯化所得白藜芦醇得率为 0.31%,纯度为 51%。

参考文献:

# 酸解条件对香蕉皮中果胶提取率的影响

夏 红, 杜泉红, 李红芹  
(苏州农业职业技术学院食品系, 江苏 苏州 215008)

**摘 要:** 以 0.2mol/L 的盐酸溶液萃取香蕉皮中的果胶, 以正交试验法观察萃取液用量、萃取温度和萃取时间对果胶提取率的影响。结果表明: 萃取液用量是原料的 2 倍、萃取时间为 1.5h、萃取温度为 85℃时, 果胶的提取率相对较高。这与果胶物质的水解变化直接相关。

**关键词:** 香蕉皮; 果胶; 酸解条件; 提取

## Effect of AcidHydrolysis on Extraction of Pectin in Banana Peel

XIA Hong, DU Quan-hong, LI Hong-qin  
(Suzhou Polytechnical Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China)

**Abstract:** Extraction of pectin in banana peel was studied using 0.2mol/L hydrochloric acid solution as an extractant. The operating conditions, including amount of the extractant, extraction temperature and time were optimized by orthogonal experimental investigation. It was found that the optimal concentration of extractant was twice as that of the raw material, and the time and the temperature were 1.5h and 85℃, respectively, which was correlated with hydrolysis of pectin substances.

**Key words** banana peel; pectin; acid hydrolysis; extraction

中图分类号 TS201

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)09-0269-03

香蕉为热带、亚热带水果, 富含营养、芳香味美, 有人间圣果之称。我国南方的香蕉资源十分丰富。由于香蕉跃变型果实, 长期保存和运输比较困难, 因此除鲜食外, 另据试验研究还可加工成香蕉粉、香蕉汁等<sup>[1]</sup>。

在香蕉果实中, 香蕉皮约占果重的 40%, 据报道, 香蕉皮除含水分外, 还含有一定量的糖类、蛋白质、灰分以及维生素、微量元素和果胶。因此是香蕉果肉加工中极有利用价值的资源。

果胶是一种天然高分子化合物, 广泛存在于植物的果实、根、茎、叶中, 是细胞壁的组成成分<sup>[2]</sup>, 伴随纤维素存在, 在植物组织细胞间起粘合作用。果胶也是人体第七大营养素膳食纤维的主要成分之一, 具有抗腹泻、抗癌、治疗糖尿病、减肥等功效, 其功能性质的开发利用日益受到重视。食品工业中果胶主要作为酸性条件下的胶凝剂和稳定剂。作为一种重要的食品添加剂, 果胶在全世界的年需求量大约在 16000 吨以上<sup>[3]</sup>。利用香蕉皮提取果胶, 不仅可以及时处理香蕉加工

收稿日期: 2005-07-01

作者简介: 夏红(1965-), 女, 副教授, 硕士, 主要从事化学及食品科学的教学与研究。

- [1] 潘明新, 王晓阳. 虎杖的化学成分及其药理作用[J]. 中药材, 2000, 23(1): 56-58.
- [2] 周俊清, 林亲录, 等. 白藜芦醇的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2003, (8): 20-22.
- [3] 刘娅, 王光慈. 白藜芦醇的生理活性研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2002, (6): 8-11.
- [4] 李萍. 大孔吸附树脂在中草药有效成分研究中的应用[J].

- 天津药学, 2002, 14(3): 9-11.
- [5] 徐世芳, 毛丽珍. 大孔吸附树脂及其在中药化学成分纯化中的应用[J]. 浙江省医学科学院学报, 2001, (6): 45-47.
- [6] Jouy-en-Josas Cedex. Minireview biological effects of resveratrol[J]. Life Sciences, 2000, 66(8): 663-673.
- [7] John F. Tomera. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption[J]. Trends in Food Science and Technology, 2001, 6 (10): 129-138.