

大孔吸附树脂脱色桑叶多糖的研究

夏 玮¹, 吕 庆¹, 张文清¹, 罗国安^{1,2}, 花 蕾¹

1(华东理工大学化学与分子工程学院, 上海, 200237) 2(清华大学化学系, 北京, 100084)

摘 要 文中考察了5种不同型号大孔吸附树脂对桑叶粗多糖溶液的脱色作用, 较为系统地研究了吸附工艺条件对树脂脱色能力的影响。结果表明: AB-8树脂具有较好的脱色效果, 以4.6 BV/h (1 BV=8 mL) 的流速对3%粗多糖溶液进行吸附脱色时, 处理量5 BV (树脂床体积), 脱色率可达82%, 多糖回收率达到83%; 并对树脂的再生性能进行了评价。脱色前后桑叶粗多糖的高效凝胶过滤色谱表明 AB-8树脂可能对不同分子量范围的多糖都有一定的吸附作用。

关键词 桑叶多糖, 脱色, 大孔吸附树脂

桑叶为桑科桑属家桑的叶, 是国家卫生部公布的药食两用的中药。历代中医药书籍均有桑叶治疗消渴症的记载。现代药理试验证明, 其多糖部分对四氧嘧啶糖尿病小鼠有显著的降血糖作用^[1,2]。采用水提醇沉法获得的桑叶粗多糖, 色泽较深, 这不但影响多糖作为功能性食品或药品的外观, 而且给多糖的进一步分离、纯化和结构鉴定带来困难^[3]。目前, 主要采用活性炭吸附法、弱碱树脂脱色、双氧水氧化脱色三种方法^[4~8]除去粗多糖中的色素, 然而这3种方法均有一定的局限性。鉴于此, 文中提出了大孔吸附树脂脱色粗多糖溶液的新工艺。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

桑叶, 采自上海崇明绿色桑果基地; AB-8、NKA、NKA-9 大孔吸附树脂, 由南开大学化工厂提供, H801、H816 大孔吸附树脂, 由上海华震科技贸易公司提供; 树脂用前按常规方法预处理; 苯酚、浓 H₂SO₄ 等, 均为分析纯试剂。

SBS-100 数控计滴自动部分收集器, 上海市青浦沪西仪器厂; BT-100 恒流泵, 上海市沪西分析仪器厂; 752 型紫外可见分光光度计, 上海市分析仪器厂; 玻璃层析柱, 上海亚荣生化仪器厂; Agilent1100 高效液相色谱仪, 安捷伦有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 桑叶粗多糖的制备

桑叶风干后用乙醇回流脱脂, 脱脂后的残渣采用沸水提取, 提取条件为: 固液比(g:mL) 为 1:25, 每次 1 h, 提取 3 次。提取液过滤后合并, 浓缩至一定体

积后, 缓慢加入 4 倍体积的无水乙醇, 置于 4℃ 环境中 12 h, 离心收集沉淀, 沉淀经无水乙醇洗涤后于 60℃ 下真空干燥, 得桑叶粗多糖。

1.2.2 脱色率的测定^[8]

配制浓度为 1% 的桑叶粗多糖溶液, 对其进行可见-紫外全波长扫描, 结果表明, 该溶液无最大吸收波长。根据互补色原理可知, 溶液呈现的颜色是它吸收光的互补色, 由于多糖溶液脱色前后稀释后均为橙黄色, 所以溶液主要吸收蓝色波段可见光。因此选择处于该波段中心的 450 nm 波长为检测波长, 测定溶液的吸光度。并按下式计算脱色率。

$$\text{脱色率}/\% = \frac{(\text{脱色前吸光度} - \text{脱色后吸光度})}{\text{脱色前吸光度}} \times 100$$

1.2.3 多糖含量测定^[9]

采用苯酚-硫酸法进行测定。

1.2.4 脱色前后桑叶多糖的高效凝胶过滤色谱分析^[10]

采用 TSKG4000PWXL 凝胶过滤色谱柱 (300 mm×7.5 mm) 在 Agilent1100 HPLC 仪上进行分析, 检测器为示差折光检测器, 用不同分子量的葡聚糖作标准样品: T-1 (M_w=1 270), T-2 (M_w=5 220), T-3 (M_w=11 600), T-4 (M_w=48 600), T-5 (M_w=500 000) 作标准曲线, 数据处理为 Agilent1100 化学工作站和 GPC 分析软件。色谱条件: 流动相 0.1 mol/L NaNO₃ 溶液; 流速 0.5 mL/min; 柱温 30℃; 进样体积, 20 μL。

1.2.5 桑叶粗多糖溶液吸附脱色试验

(1) 吸附过程。以动态法测定各种树脂对桑叶粗多糖溶液的脱色能力。使用内径 10 mm、高 150 mm 玻璃层析柱, 装入树脂 8 mL (湿体积)。桑叶粗多糖溶液以一定流速通过层析柱, 自动部分收集器定体积

第一作者: 博士研究生, 讲师 (张文清教授为通讯作者)。

收稿日期: 2006-11-21, 改回日期: 2007-02-01

收集,测定流出液达到某一体积时的即时吸光度及整个流出液的混合吸光度,按上式计算脱色率。

(2)树脂再生^[11]。吸附树脂达到饱和后,加入一定量质量分数4%NaOH溶液,以一定流速通过层析柱,进行洗脱直至流出液无色,最后用去离子水冲洗至中性,即可反复使用。

2 结果与讨论

2.1 不同树脂的脱色性能

用AB-8、NKA、NKA-9、H801、H806五种型号的树脂在室温下,以4.6BV/h(1BV=8 mL)的流速,进行吸附脱色试验,结果如图1所示。

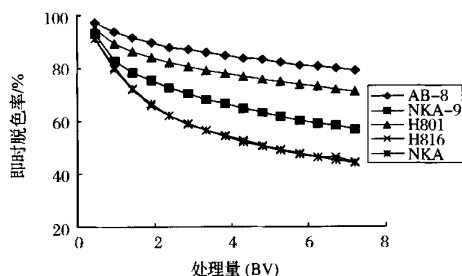


图1 不同树脂脱色性能曲线

由图1看出,实验条件下,大孔吸附树脂都有一定的脱色效果,其中又以弱极性树脂AB-8脱色效果最好,非极性大孔树脂H801和极性树脂NKA-9脱色性能依次递减,而非极性树脂脱色效果H806和NKA较差。树脂的极性对脱色率有较大的影响,表明桑叶粗多糖中的色素可能以弱极性色素为主。

2.2 AB-8树脂脱色性能

由于在相同条件下,AB-8树脂具有最佳的脱色效果,以下分别对AB-8树脂在不同流速、多糖浓度条件下,对桑叶粗多糖溶液的脱色作用进行系统考察。

2.2.1 吸附流速影响

在室温下,分别以2.5、4.6、7.4、10.5BV/h的流速进行吸附脱色试验,结果见图2。由图2看出,树脂的脱色能力与粗多糖溶液通过柱子流速有很大关系,流速越快,树脂与多糖溶液接触时间越短,不能充分吸附其中色素,因而脱色效果较差;低流速时,树脂与多糖溶液充分接触,吸附反应完全,脱色效果明显提高。为了获得较好的脱色效果,同时考虑时间因素,以下试验均在4.6BV/h的吸附流速下进行。

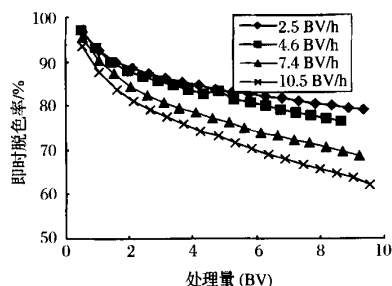


图2 流速对AB-8树脂脱色性能影响

2.2.2 多糖浓度对脱色性能的影响

在4.6BV/h的吸附流速下,以不同浓度的多糖溶液(1%、2%、3%、5%)进行脱色实验,结果如图3所示。当处理体积一定时,随着粗多糖浓度的降低,即时脱色率逐渐增加。但从多糖处理总量来考虑,浓度对脱色性能并无太大影响,而且当多糖总量一定时,高浓度溶液由于体积小反而可以缩短脱色时间。多糖溶液脱色前,即使浓度为1%的溶液,也不澄清,但是通过大孔树脂后,澄清度得到了很大的改善,说明AB-8树脂在脱色的同时,还对溶液中的细小微粒有较好的吸附作用。但在实验过程中发现,5%多糖溶液脱色后仍较浑浊,不如低浓度溶液澄清,所以综合脱色效果、时间等多方面因素考虑,以3%多糖溶液进行吸附脱色较为合适。

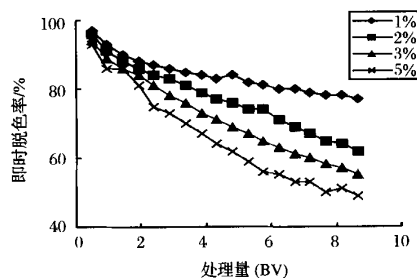


图3 桑叶多糖浓度对AB-8树脂脱色性能影响

2.2.3 最佳条件下脱色率

在最佳条件4.6BV/h的流速下,对3%粗多糖溶液进行吸附脱色试验,定体积收集,测定流出液达到某一体积时整个流出液的混合吸光度,计算混合脱色率,结果见图4。由图4可知,AB-8树脂具有较强的脱色能力,处理量5BV时,脱色率可达82%。随着处理量的增加,脱色率虽有所降低,但当处理量达10BV时,脱色率仍可达到70%,说明树脂有足够大的处理量。

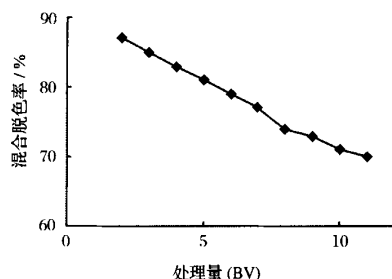


图4 AB-8树脂在最佳条件下的脱色率

2.3 树脂再生性能评价

用AB-8树脂处理5BV的3%多糖溶液,用质量分数4%NaOH溶液洗脱再生后,重复使用6次,以每一次脱色率对使用次数作图。如图5所示,树脂使用再生后,它的吸附容量有所下降,表现在树脂再生后处理相同量多糖,脱色率有所降低,但趋势较缓。这说明再生后树脂仍旧有较好的脱色性能。

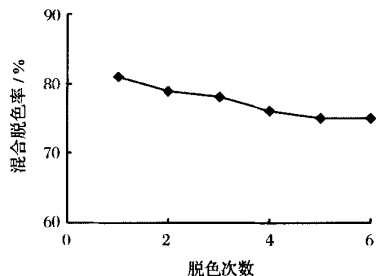


图5 树脂再生性能评价

2.4 AB-8树脂脱色对多糖回收率的影响

在最佳条件4.6BV/h的流速下,对5BV的3%粗多糖溶液进行吸附脱色试验,上样结束后,用2BV的去离子水顶洗,收集流出液和顶洗液,混合测定其多糖含量。并与上样液多糖含量进行比较,计算多糖回收率,结果多糖回收率可达到83%。作者曾采用活性炭对桑叶粗多糖溶液进行脱色,不仅脱色效果不理想,而且多糖损失严重,回收率仅达到50%。虽然采用大孔树脂脱色多糖仍有一定程度的损失,但是与活性炭吸附法相比,仍是一种非常有价值的方法。

2.5 脱色前后桑叶多糖的高效凝胶过滤色谱图比较

脱色前后桑叶粗多糖的高效凝胶过滤色谱图如图6所示。从图6中可以看出,脱色前后相同浓度的多糖溶液色谱图形状大致相同,均分为4个部分,根据不同分子质量葡聚糖标样制作的标准曲线可知:I部分分子质量>70万u,已出色谱柱的排阻极限;II部分分子质量在8万u左右;III部分分子质量范围在1万u左右;IV部分分子质量范围在2000u左右。

脱色前后色谱图形状大致相同,只是不同部分峰高均有了一定程度的降低,这说明AB-8树脂可能对不同分子量范围的多糖都有一定的吸附作用。

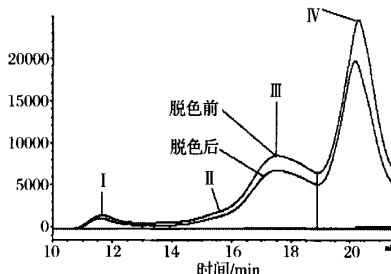


图6 脱色前后桑叶粗多糖的高效凝胶过滤色谱图

3 结论

(1)通过筛选,弱极性大孔吸附树脂AB-8具有较好的脱色效果,以4.6BV/h的流速对3%粗多糖溶液进行吸附时,处理量5BV,脱色率可达82%,处理量达10BV时,其脱色率仍可达到70%。

(2)采用质量分数4%NaOH溶液作为树脂再生洗脱剂,重复使用6次,树脂脱色能力仍较稳定。

(3)采用AB-8大孔树脂脱色,多糖的回收率可以达到83%。通过高效凝胶过滤色谱法对脱色前后多糖进行比较,表明AB-8树脂可能对不同分子量范围的多糖都有一定的吸附作用。

参考文献

- 吴胜芳,王树英,汤坚. 桑叶的生物功能特性及其应用[J]. 食品科技,2003(10):95~97
- 孙莲,孟磊等. 桑叶的降血糖活性成分和药理作用[J]. 中草药,2002,33(5):471~473
- 段金友. 柿叶多糖的分离纯化、结构鉴定、生物活性与构效关系及碳水化合物方法学研究[D]. 上海:中国科学院上海生命科学院上海药物研究所,2000. 104
- Ronald D R. Decolorizing by adsorption with a non-functional resin[J]. International Sugar Journal, 1994, 96(1144):145~152
- 李瑞华,周小华. 蚕蛹甲壳素的脱色方法与机理探讨[J]. 应用化学,2004,21(3):309
- 车今智,傅德贤,欧阳藩. 芙蓉菊寡糖的分离纯化及其生物活性的研究[J]. 天然产物开发与研究,2004,16(5):458~460
- 朱越雄,孙海一,曹广力. 野生糙皮侧耳子实体多糖的脱色素效果比较[J]. 光谱实验室,2005,22(5):1070~1073
- 杨云,刘福勤. 碱法提取大枣渣多糖及活性炭脱色的工艺研究[J]. 食品与发酵工业,2004,30(7):30~32

- 9 杨勇杰,姜瑞芝.苯酚—硫酸法测定杂多糖含量的研究.中成药,2005,27(6):706~708
- 10 钦传光,黄开勋,徐辉碧.凝胶过滤色谱法测定泥鳅多糖的组成及分子量.分析化学,2002,30(4):411~413
- 11 曾璐,戴静.吸附树脂再生效果的实验研究.时珍国医国药,2005,16(4):279~280

Study on the Decoloration of Polysaccharides from Mulberry Leaves by Macro-resin Adsorption

Xia Wei¹, Lv Qing¹, Zhang Wenqing¹, Luo Guoan^{1,2}, Hua Lei¹

1(School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

2(Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

ABSTRACT The effect of five types of macro-resin on the decoloration of mulberry leaves polysaccharides was studied. The results showed that resin AB-8 represented the best decoloration ability. The best conditions for decoloration were determined as follows: concentration of polysaccharide solution 3%; flow rate: 37ml/h. Under these conditions, the decoloration rate was 82% for 5BV treatment capacity and polysaccharide recovery rate was 83%. In the mean time, the regeneration of resin AB-8 was evaluated. The experiments indicated that AB-8 resin had a wide decoloration ability to the most of the polysaccharides.

Key words mulberry leaves polysaccharides, decoloration, resin adsorption

信息窗

新型功能性食品添加剂——金属硫蛋白

根据结构和来源的不同,金属硫蛋白可以被分为3类:第1类金属硫蛋白包括所有来源于脊椎动物的金属硫蛋白以及具有明显相似一级结构的来自其他门类动物的金属硫蛋白;第2类包括与哺乳动物金属硫蛋白无关或关系较远的金属硫蛋白,如海胆、玉米、酵母和一些藻类中的金属硫蛋白;第3类金属硫蛋白是具有典型的 γ -谷胱甘肽单位的多肽,是一种较短的非转录合成的金属硫肽。

金属硫蛋白在生物界中普遍存在,并且广泛分布于生物的各种组织中。在机体的发育过程中,金属硫蛋白的含量和定位随发育过程而变化;金属硫蛋白也是一种可诱导性蛋白,金属离子、某些毒性物质和外界逆境刺激都能诱导金属硫蛋白的合成。不同种属、不同组织来源的金属硫蛋白在结构上具有极强的保守性,暗示这种硫基金属簇的结构可能具有强大的进化基础。金属硫蛋白存在的广泛性、高度的可诱导性以及结构的高度保守性,都表明金属硫蛋白在生物体内具有重要的生理功能。尤其是在与金属相关的生物学过程中,金属硫蛋白的功能一直是人们研究的热点。

目前的研究表明,金属硫蛋白在以下几个方面发挥重要的作用:(1)重金属解毒。重金属解毒是金属硫蛋白最基本的生物功能。对这一功能的最直接和有利的证据就是当机体受到重金属胁迫时会通过合成金属硫蛋白来降低死亡率。(2)参与必需金属元素的储存、运输和代谢。Cu和Zn等金属离子都是维持正常生命活动必需的微量元素,由于金属硫蛋白对这些金属离子具有强的亲和力,它们在体内可以作为Cu和Zn等金属离子的贮存蛋白,以满足机体的需要。当机体需要Zn和Cu等金属离子时,金属硫蛋白能够释放金属离子以满足生理需要。

行业动态

“酶解法年产100t高纯度单核苷酸生产工艺技术”科技成果通过鉴定

由甘肃省科技厅组织,中国科学院兰州分院主持在山东淄博邀请有关专家,对中科院兰州化物所与山东凯盛生物化工有限公司联合研发的“酶解法年产100t高纯度单核苷酸生产工艺技术”科技成果进行了鉴定。

专家鉴定委员会对该科技成果审议后,认为:分离获得纯度较高的酶解法生产工艺中的杂质类物质,确定其化学结构及其在NMP粗品中的赋存形式。针对不同NMP产品,建立了不同的复合精制工艺;明确麦芽根的粉碎程度与粉碎方法在制酶过程中对PDE活性的影响;在生产实践中,通过添加PDE酶活稳定剂、酶活促进剂及杂酶活性抑制剂等,构建新型浸提液体系等研究属创新性工作。应用该工艺,水耗量降低35%,能耗降低5%,原材料麦芽根消耗降低25%,所得产品质量达到国际先进水平。专家鉴定委员会综合评价认为,该成果总体已达到同类成果国际先进水平。