

大孔树脂纯化南瓜果皮色素

努尔比亚·亚力坤,阿不都拉·阿巴斯*

(新疆大学 生命科学与技术学院,新疆 乌鲁木齐,830046)

摘 要 用大孔树脂对南瓜果皮色素进行纯化研究。利用有机溶剂回流提取法粗提南瓜果皮色素,研究了不同树脂对南瓜果皮色素的吸附和解吸,并对其纯化的静态以及动态吸附工艺进行探讨。纯化最佳工艺条件为:D101型大孔树脂作为吸附剂的条件下,静态吸附时间为3 h、南瓜皮粉提取液与树脂的质量比为1:7、原液pH值为4、在此工艺条件下,吸附率最大,达到75.3%;静态解吸达到平衡时间为90 min、洗脱剂浓度为60%、上样流速为5 mL/min、洗脱流速为1 mL/min;此时解吸效果最佳。

关键词 南瓜果皮色素;大孔树脂;纯化

南瓜是葫芦科属类的草本植物。根据种植属类的不同分为:印度南瓜(*C. maxima* Duch)、中国南瓜(*C. moschata* Duch)、和美洲南瓜(*C. pepo* L.)^[1]。南瓜是广泛种植和众多人们喜欢膳食的食用植物。

目前南瓜在我国各地普遍栽培,学者已对南瓜多糖、果胶、南瓜籽蛋白等有效成分,进行了研究。如采用大孔树脂吸附法^[2]对南瓜果胶提取液进行脱色纯化,使得果胶提取率明显提高、纯度也较高、各项指标达到了质量要求标准。

近年来关于南瓜的研究主要在南瓜果肉、南瓜籽、叶等部分里面的活性成分和有关加工南瓜产品方面^[3]。南瓜作为极具开发潜力的资源,其加工废弃物——南瓜果皮也是具有应用价值的,充分利用南瓜资源并研究南瓜果皮色素具有很大现实意义。

从植物组织中直接提取得到的色素因其纯度低、成分比较复杂,可能含有胶质、蛋白质等成分,这些杂质的存在影响色素的品质,使得色素产品的色价较低,稳定性较差,不能满足食品、医药和保健品行业的要求。为了得到纯度更高的产品,需要进一步纯化,去除杂质^[4]。

天然色素的纯化方法很多,目前使用较为普遍的是大孔树脂吸附法。大孔吸附树脂^[5-6]是由聚合单体和交联剂、致孔剂、分散剂等添加剂经聚合反应制备而成的一类有机高聚物吸附剂。因其具有吸附速度快、选择性好、吸附容量大、再生处理简单等优点,在天然物质的分离纯化中已被广泛

使用^[7]。

本研究以大孔树脂为吸附剂,纯化南瓜果皮色素,从静态和动态2方面研究了D101型大孔树脂对南瓜果皮色素的吸附特性。

1 实验材料、试剂及仪器

1.1 实验材料

南瓜果皮粉,南瓜购买于乌鲁木齐天山区菜市场,时间为2013年11月,去皮烘干,粉碎过筛备用。

1.2 实验试剂及仪器

实验试剂:无水乙醇、AB-8、X-5、S-8、D101、NKA-9型大孔树脂、HCl、NaOH、超纯水等。

仪器设备见表1。

表1 实验主要仪器设备

Table 1 The main apparatus and equipment

仪器名称	型号	厂家
分光光度计	721型	上海青华科技仪器有限公司
分析天秤	JJ124BC	巩义市英峪予华仪器厂
恒温水浴锅	HH-4	金坛市双捷实验仪器厂

2 实验方法

2.1 南瓜果皮色素粗提液的制备

将南瓜果皮色素在最佳提取工艺下进行提取,抽滤,色素提取液备用^[8]。

2.2 各种树脂的物理性能参数^[9](表2)

第一作者:硕士研究生(阿不都拉·阿巴斯教授为通讯作者)。

收稿日期:2015-04-23,改回日期:2015-10-26

表2 大孔树脂物理性能参数

Table 2 The parameters of physical properties of macroporous resin

树脂名称	比表面积/($\text{m} \cdot \text{g}^{-1}$)	外观	极性	范围粒度/mm	平均孔径/mm
AB-8	480 ~ 520	乳白色 不透明球状颗粒	弱极性	0.3 ~ 1.25	130 ~ 140
X-5	500 ~ 600	乳白色 不透明球状颗粒	非极性	0.3 ~ 1.25	290 ~ 300
S-8	100 ~ 120	米黄色 不透明球状颗粒	极性	0.32 ~ 1.25	280 ~ 300
NKA-9	250 ~ 290	乳白色 不透明球状颗粒	极性	0.3 ~ 1.25	155 ~ 165
D101	400 ~ 550	乳白色 不透明球状颗粒	非极性	0.3 ~ 1.25	100 ~ 110

2.3 树脂的预处理

通常情况下新买的大孔树脂有残留、交联剂、分散剂等化学物质和杂质,使用前应该进行预处理。装柱之前各种大孔树脂用体积分数 95% 的乙醇溶液中浸泡 24 h,并把树脂中的杂质除去,然后将其装柱。装柱后,用蒸馏水以冲洗至中性,直到无乙醇残留,然后用体积分数 5% 的 HCl 溶液中浸泡 12 h 后再以蒸馏水洗至中性;然后再将质量分数 2% 的 NaOH 水溶液浸泡 12 h 后再以蒸馏水冲洗至中性,滤去水分备用^[10]。

2.4 大孔树脂静态吸附研究

2.4.1 各种大孔树脂静态吸附率的测定

准确称取适量预处理过的大孔树脂分别置于 100 mL 的锥形瓶中,加入色素粗提液,放在振荡器上振荡,室温下静态吸附 24 h 使树脂达到吸附平衡,根据吸附前后在南瓜皮色素最大吸收波长处测定溶液的吸光度^[11],并按公式(1)计算吸附率。

$$\text{吸附率}/\% = \frac{\text{初始吸光值} - \text{吸附后吸光值}}{\text{初始吸光值}} \times 100 \quad (1)$$

2.4.2 各种大孔树脂静态解析率的测定

在滤除溶液后的树脂中加入适当解析剂(体积分数 20% 的乙醇),振荡器上振荡,静态解析 12 h,解析达到平衡,测定解析后溶液的吸光值,并按公式(2)计算各种树脂的解析率^[12]。

$$\text{解析率}/\% = \frac{\text{解吸后吸光值}}{\text{初始吸光值} - \text{吸附后吸光值}} \times 100 \quad (2)$$

2.5 最佳大孔树脂的吸附性能考察

2.5.1 静态吸附动力学曲线

取适量南瓜果皮提取液,向其中加入经过预处理的大孔树脂 2 g,静态吸附,每隔 30 min 测定 1 次吸光度。

2.5.2 静态吸附等温线

分别称取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 g 处理好的 D101 树脂,各加入 10 mL(0.5 g 南瓜果皮粉的提取液)南瓜果皮色素提取液,静置吸附一段时间后,测定各吸附液的吸光度。

2.5.3 pH 值对吸附效果的影响

取 7 份 20 mL 南瓜果皮色素粗提液,分别加入 1 g 处理好的 D101 树脂,pH 值分别调为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11(用 HCl 或 NaOH 来调节),静置吸附 12 h,在 450 nm 处测定各吸附液的吸光度值并计算出吸附率。

2.5.4 南瓜果皮色素最佳纯化工艺条件的确定

根据上述单因素实验结果,选取最佳条件上下梯度,分别考察静态吸附时间、树脂量、pH 等 3 因素,每个因素选 3 个水平,以 $L_9(3^4)$ 做正交试验,筛选最佳吸附工艺条件。因素水平见表 3。

表3 正交实验因素水平表

Table 3 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素		
	A(静态吸附时间)/h	B(树脂量)/g	C(pH 值)
1	2	3	3
2	2.5	3.5	4
3	3	4	5

2.6 D101 型大孔树脂动态吸附与解析参数

2.6.1 解析动力学曲线

过滤达到饱和吸附的树脂,向树脂中加入适量的解析液,静置解析,每隔 10 min 测定一次吸光度。

2.6.2 上样液浓度对吸附效果的影响

取适量已处理好的 D101 树脂,湿法装柱,分别以 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g 南瓜果皮粉的提取液为上样液,以 2 BV 水洗脱除杂,15 BV 乙醇溶液洗脱目标物质,洗脱流速为 1 mL/min,测定个洗脱物的吸光度并计算出吸附率。

2.6.3 洗脱剂含量对解吸效果的影响

取吸附后的树脂,分别加入体积分数 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 和 95% 的乙醇溶液,静置解析 24 h 后,将树脂滤除,测定解吸液的吸光度并计算出洗脱率。

2.6.4 上样流速对吸附效果的影响

取适量已处理好的 D101 树脂,湿法装柱,以南瓜果皮的提取液为上样液,上样流速分别控制在 1、2、3、4、5 mL/min,待样品液全部通过树脂后,测定出流出液的吸光度并计算出吸附率。

2.6.5 解析流速对吸附效果的影响

以南瓜果皮粗提液为上样液,上样流速控制在最佳条件,以 2 BV 水洗脱除杂,15 BV 乙醇溶液洗脱目标物质,洗脱流速分别控制在 1、3、5 mL/min、测定各解吸液的吸光度。

3 结果与分析

3.1 各种大孔树脂静态吸附率和解析率的测定结果

表 4 各种大孔树脂的吸附及解析率的测定结果

Table 4 Different types of macroporous resin adsorption and desorption rate

大孔树脂型号	AB-8	X-5	S-8	NKA-9	D101
吸附率/%	78.2	74.3	82.8	75.2	88.3
解析率/%	80.2	70.1	87.4	76.7	86.3

由表 4 可以看出,供试验用的 5 种大孔树脂中 D101 树脂的吸附率优于其他几种树脂,其吸附率最大为 88.3%。S-8 树脂的解吸率最高为 87.4%,其次是 D101,选择树脂要同时考虑树脂的吸附率和解吸率 2 个因素,而且,D101 树脂是工业生产中常用的大孔树脂,因此综合考虑,选择 D101 树脂来纯化南瓜果皮色素。

3.2 最佳大孔树脂的吸附性能考察结果

3.2.1 静态吸附时间的确定

由图 1 可知,随着时间的延长吸光度降低且静态吸附 2 h 以后溶液吸光度的变化趋于平稳,溶液吸光度的变化已经很小,由此确定 D101 大孔树脂静态吸附南瓜果皮色素达到饱和吸附的时间大约在 3 h 左右即可。

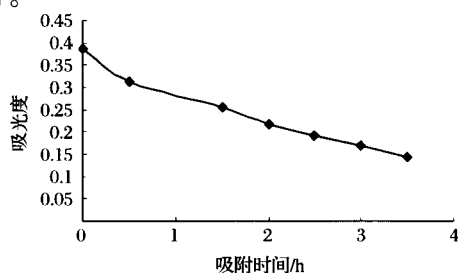


图 1 静态吸附动力学曲线

Fig. 1 Curves of static adsorption kinetics

3.2.2 静态吸附等温线

由图 2 可知,树脂量为 2.5 g 与 3.5 g 时的溶液的吸光度差异较小,树脂量增加到 4 g 时与 3.5 g 的溶液的吸光度差异已经很小,说明 D101 大孔树脂静态吸附南瓜果皮色素时 0.5 g 的南瓜果皮粉提取液大概需要用 3.5 g 的树脂来进行吸附,南瓜果皮粉提取液与树脂的质量比约在 1:7 左右即可。

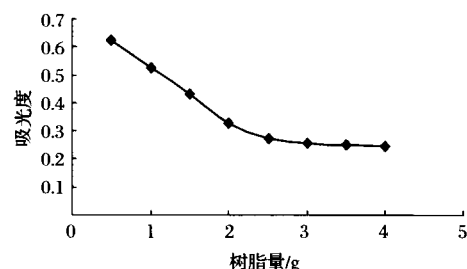


图 2 静态吸附等温线

Fig. 2 Static adsorption isotherms

3.2.3 pH 值对吸附效果的影响结果

由图 3 可以看出,色素原液的酸碱度对树脂吸附效果有较大的影响,D101 树脂在酸性条件下对南瓜果皮色素的吸附效果优于碱性环境,pH = 4 的时候吸附效果最好,这表明南瓜果皮色素成分里含有一定量的羧基,呈现一定的酸性,因此在酸性条件下被树脂吸附。因此,选择最佳原液 pH 值为 4.0。

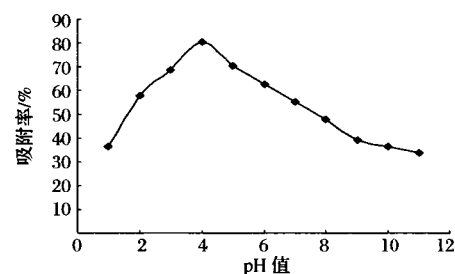


图 3 pH 值对吸附的影响

Fig. 3 The effect of pH on the adsorption

3.2.4 南瓜果皮色素最佳吸附工艺条件正交实验结果

表 5 正交实验结果表明,影响 D101 型大孔树脂吸附效果的各个因素主次顺序为:静态吸附原液的 pH 值 > 树脂量 > 静态吸附时间;其中 pH 对 D101 型大孔树脂吸附效果的影响最显著;静态吸附的最佳吸附工艺条件为:静态吸附时间为 3 h,树脂加入量为 4 g,原液 pH 值调节到 4 即可,在此工艺条件下,吸附率最大为 75.3%。

表 5 正交实验设计表及结果

Table 5 Results of orthogonal experimental design

处理号	A	B	C	吸附率/%
1	1	1	1	68.3
2	1	2	2	73.6
3	1	3	3	72.4
4	2	1	2	73.2
5	2	3	3	70.1
6	2	3	1	71.3
7	3	1	3	69.2
8	3	2	1	72.1
9	3	3	2	75.3
K_1	214.3	210.7	211.7	
K_2	214.6	215.8	222.1	
K_3	216.6	219	211.7	
K_1	71.4	70.2	70.6	
K_2	71.5	71.9	74.3	
K_3	72.2	73	70.6	
极差(R)	0.8	2.8	3.7	
主次顺序			$C > B > A$	
最佳水平	A_3	B_3	C_2	
最佳组合		$A_3 B_3 C_2$		

3.3 D101 型大孔树脂动态吸附与解析参数分析结果

3.3.1 解析曲线的绘制

由图 4 可知,解析时间延长其吸光度逐渐增加,80~110 min 这段时间解吸液的吸光度变化很小,说明静态解吸达到平衡,南瓜果皮色素静态解吸时间在 90 min。

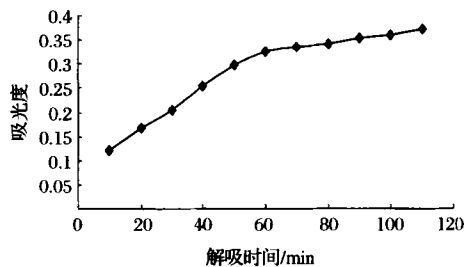


图 4 静态解析曲线

Fig. 4 Static desorption curve

3.3.2 上样液浓度对吸附效果的影响结果

由图 5 可知,对于定量的吸附质而言,吸附剂用量增大,意味着吸附比表面增大,吸附质在吸附剂上的分布较松散,从而吸附剂对吸附质的物理作用和化学作用加强,吸附量增加。但由于树脂孔容的限制,树脂吸附存在一个极限。当 2 g 南瓜果皮粉的提取液作为吸附质时树脂具有最大的吸附率,之后色素液浓度增加,树脂吸附率反而下降,因此,选用适量浓度,更有利于树脂的吸附。

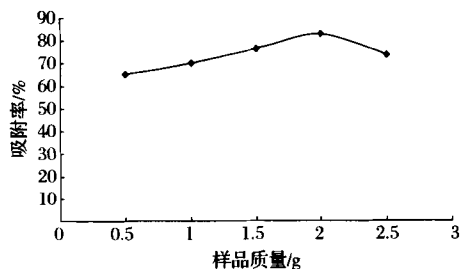


图 5 上样液浓度对吸附效果的影响

Fig. 5 The effect of sample concentration on the adsorption rate

3.3.3 洗脱剂含量对解析效果的影响结果

由图 6 可以看出,考察不同浓度的乙醇作为洗脱剂对 D101 型大孔树脂解吸率的影响,如图所示;随着乙醇浓度的升高,解吸率有先上升后下降的趋势,乙醇浓度对南瓜果皮色素的洗脱效果具有选择性,乙醇浓度为 60% 时,解吸率最大;超过此含量,解吸率逐渐降低,因此,选择 60% 的乙醇作为洗脱剂即可。

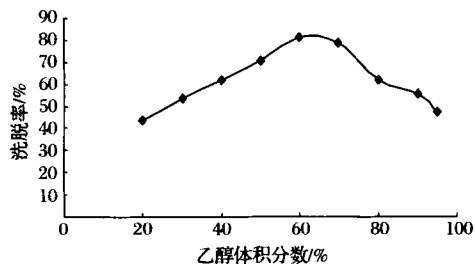


图 6 洗脱剂含量对解吸效果的影响

Fig. 6 The effect of eluant concentration on desorption rate

3.3.4 上样流速对吸附效果的影响

由图 7 可知,随着流速增加树脂对南瓜果皮色素的吸附率越高,从经济角度来看,流速越大,所需时间越短,工业生产率越高,因此上样流速选择 5 mL/min 为最佳。

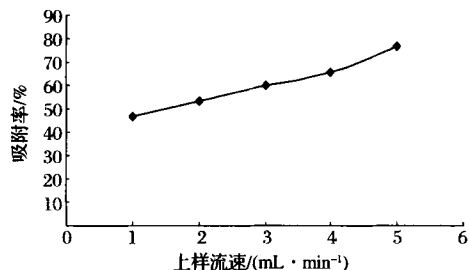


图 7 上样流速对吸附效果的影响

Fig. 7 The effect of sample flow rate on adsorption effect

3.3.5 洗脱流速对吸附效果的影响

由图 8 可知:以横坐标为上样液总体积,纵坐标为流出液的吸光度来作图标进行分析,随着解吸时间

的延长解吸效率均减低,洗脱流速增加解吸效果反而降低,当洗脱流速 1 mL/min 时解吸效果最好,因此洗脱流速为 1 mL/min。

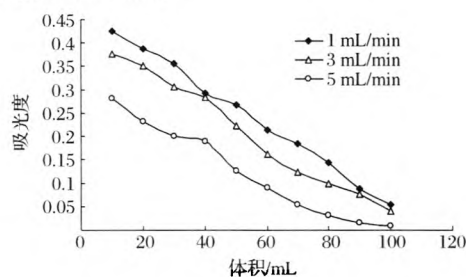


图 8 洗脱流速对吸附效果的影响

Fig. 8 Elution velocity effect on the adsorption effect

4 结语

考察了 AB-8、X-5、S-8、NKA-9、D101 等 5 种大孔树脂对南瓜果皮色素吸附效果的影响,静态吸附和解吸结果表明:5 种树脂中 D101 型大孔树脂的吸附和解吸率都优于其他树脂;D101 型大孔树脂的应用范围较广阔,适于富集天然物质的纯化;D101 型大孔树脂对南瓜果皮色素吸附效果的主要因素中 pH 对 D101 型大孔树脂吸附效果的影响最显著;静态吸附的最佳吸附工艺条件为,静态吸附时间为 3 h,树脂加入量为 4 g,原液 pH 值调节 4 即可,在此工艺条件下,吸附率最大为 75.3%;静态解析达到平衡时间为 90 min 左右即可,当 2 g 南瓜果皮粉的提取液作为吸附质时树脂具有最大的吸附率,之后色素液浓度增加,树脂吸附率反而下降,乙醇体积分数为 60% 时,解析率最大;上样流速为 5 mL/min,洗脱流速为 1 mL/min 时纯化效果更佳;选择 D101 型大孔树脂用于南瓜果皮色素的初步分离。

Studies on purification of pigments from pumpkin peel by macroporous resins

YALIKUN Nuerbiya, ABBAS Abdulla*

(College of Life Science Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

ABSTRACT Using macroporous resin to purify pumpkin peel pigment. The organic solvent refluxing extraction method was adopted for crude extraction of pumpkin peel pigment. The adsorption and desorption of different resin on pumpkin peel pigment was studied; the static and dynamic adsorption technique was discussed. The optimized purifying condition is: D101 macroporous resin is used as adsorbent agent, static adsorption time is 3 h, herbs-resin ratio is 1:7, pH is 4, under this condition the maximum adsorption rate reaching 75.3%, static equilibrium time was 90 mins, eluent agent is 60% ethanol, sample flow rate is 5 mL/min, elution flow rate is 1 mL/min.

Key words pumpkin peel pigment; macroporous resin; purification

参 考 文 献

- [1] 张拥军,沈晓春. 南瓜的药用价值及其开发利用前景[J]. 中国计量学院学报, 2003, 14(3): 204-206.
- [2] 徐雅琴. 南瓜果胶制备工艺的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [3] 邹宇晓,肖更生. 南瓜的功能性成分及保健食品开发与研究[J]. 中国果菜, 2004(4): 47-48.
- [4] BHYYAN R, SM KIA CN. Isolation of colour components from native dye-bearing plants in northeastern India[J]. Bioresource Technology, 2005, 96: 363-372.
- [5] 沈勇根,徐明生. 大孔树脂对紫红薯色素吸附和解吸的特性研究[J]. 食品科技, 2006(7): 117-120.
- [6] 李进,瞿伟菁. 大孔树脂吸附分离黑果枸杞色素的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 47-51.
- [7] ZHANG L. Macroporous resin adsorption for purification of flavonoids in houttuynia cordata thunb[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2007, 15(6): 872-876.
- [8] 努尔比亚·亚力坤,阿依努尔·热西提. 南瓜果皮色素提取及其稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(12): 223-229.
- [9] 张琳琳. 黑加仑色素分离,结构初步鉴定及稳定性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [10] 徐金瑞,张名位,刘兴华,等. 大孔树脂对黑大豆种皮花色苷的纯化研究[J]. 农业机械学报, 2006(37): 145-148.
- [11] 孙希云,张琦,孟宪军. 大孔吸附树脂分离纯化马齿苋中黄酮类化合物的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(2): 124-125.
- [12] 吕晓玲,陈泽芳,齐浩. 大孔树脂法纯化红米红色素的工艺研究[J]. 食品工业, 2012(1): 45-48.