

# 刺葡萄皮色素动态吸附解吸纯化工艺研究

邓洁红, 谭兴和\*, 王锋, 潘小红, 赵洁  
(湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 对HP-20大孔树脂纯化刺葡萄皮色素的特性进行了研究, 得到刺葡萄皮色素动态吸附及解吸适宜的工艺参数。结果表明, 上样液pH3, 流速4.5BV/h, 色素液浓度1.5891~3.1377mg/ml可获得较好的吸附效果; 80%乙醇(含0.05%盐酸)是刺葡萄皮色素适宜的洗脱剂, 洗脱速度控制为3BV/h, 洗脱剂用量8BV可获得最佳解吸效果。在以上优化动态吸附解吸工艺条件下, HP-20树脂对刺葡萄皮色素动态饱和和吸附量达到39.0mg/ml湿树脂, 解吸率达到92%以上, 色素液经纯化后, 其色价为原来的5.93倍, 取得理想的纯化效果。

**关键词:** 刺葡萄皮色素; 大孔树脂; 动态吸附解吸; 纯化

## Study on Purification Technique of *Vitis davidii* Forx. Skin Pigment under Dynamic Adsorption and Desorption Conditions

DENG Jie-hong, TAN Xing-he\*, WANG Feng, PAN XIAO-hong, ZHAO Jie  
(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** The purification characteristics of macroporous resin HP-20 to *Vitis davidii* Foex. skin pigment (VSP) were determined in this study, and the technical parameters of the dynamic adsorption and desorption were optimized. The results showed that the optimal dynamic adsorption conditions are as follows: pH of crude VSP sample 3, its flow rate 4.5 BV/h, and its concentration 1.5891 to 3.1377 mg/ml. 80% Ethanol (containing 0.05% HCl) is the optimum eluent for desorpting VSP, and its optimal folw rate and amount for elution are 3 BV/h and 8 BV, respectively. Under the optimized technical conditions of dynamic adsorption and desorption mentioned above, the resin HP-20 has the saturation adsorption amount of 39.06 mg/ml (wet resin), and its desorption rate is more than 92%. The colour value of purified VSP slution is 5.93 times as much as that of unpurified one.

**Key words:** *Vitis davidii* Foex. skin pigment (VSP); macroporous resins; dynamic adsorption and desorption; purification  
中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2008)12-0206-04

刺葡萄皮色素是从刺葡萄(*Vitis davidii* Foex.)果皮中提取的天然植物色素, 属花色苷类, 同其他植物花色苷一样, 可作为着色剂和抗氧化剂, 在食品、药品、化妆品各领域具有广阔的应用前景<sup>[1-2]</sup>。刺葡萄原产我国, 近年在湘西北、湘南山区种植量不断增加<sup>[3]</sup>, 该品种果皮厚实, 色素含量丰富, 是优良的自然色素资源。据本实验前期研究, 其果皮率达到30%, 花色苷含量为欧美葡萄的5倍以上。目前, 刺葡萄皮色素的研究刚刚起步, 其纯化工艺参数尚未建立。

笔者在前期研究中已筛选出适合刺葡萄皮色素纯化的吸附剂HP-20大孔树脂, 确立了HP-20树脂用于刺葡萄皮色素静态吸附解吸的工艺参数<sup>[4]</sup>。本实验在此基础上,

从动态方面探讨优选树脂分离纯化刺葡萄皮色素的方法和条件, 着力于刺葡萄皮色素动态吸附及解吸性质的研究, 旨在为该色素的工业化生产工艺的建立和优化提供理论和应用基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

刺葡萄(*Vitis davidii* Foex.) 购于湖南省芷江县, 洗净、晾干明水, 手工剥皮, 50℃烘干, 粉碎, 过60目筛, 棕色瓶保存。

甲醇、乙醇、冰醋酸、HCl、NaOH、柠檬酸、磷酸氢二钠等均为国产分析纯; 大孔吸附树脂HP-20 日本

收稿日期: 2007-10-08

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(08JJ6005)

作者简介: 邓洁红(1967-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为园艺产品深加工。E-mail: hongjiedeng@163.com

\*通讯作者: 谭兴和(1960-), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail: xinghetan@163.com

三菱公司;天然葡萄皮色素标准品 Sigma公司。

### 1.2 仪器与设备

电子天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司; PH-3C型精密酸度计 上海雷磁仪器厂; 722型分光光度计 上海校光技术有限公司; PC-1000数显式电热恒温水浴锅 上海跃进医疗器械厂; RE-52型旋转蒸发器 上海实验仪器厂有限公司; SHB-III型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; TDL-5离心机 上海安亭科学仪器厂; BS-100A型自动部分收集器、HL-1、HL-2B恒流泵 上海青浦沪西仪器厂; 单道移液器 日本立洋公司; 玻璃层析柱(Φ1.6×30cm)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 刺葡萄色素提取方法

葡萄皮粉→提取剂提取(70%乙醇+0.03%盐酸)→过滤→真空浓缩,得色素浓缩液,用pH3的缓冲液(柠檬酸-磷酸氢二钠)稀释,用于动态吸附及解吸特性研究。

#### 1.3.2 吸附及解吸指标

$$Q_m=(A_0-A_i)/A_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$Q_a=\frac{(C_0-C_i) \times V_a}{W} \quad (2)$$

$$Q_d=C_d \times V_d/W \quad (3)$$

$$Q_{rd}=(Q_d/Q_a) \times 100\% \quad (4)$$

式中,  $A_0$ 为吸附前色素液吸光度;  $A_i$ 为吸附后色素液吸光度;  $Q_m$ 为吸附率(%);  $Q_a$ 为吸附量(mg/g);  $C_0$ 为溶液初始浓度(mg/ml);  $C_i$ 为吸附平衡后的溶液浓度(mg/ml);  $V_a$ 为色素溶液体积(ml);  $W$ 为树脂质量(g);  $Q_d$ 为解吸量(mg/g);  $C_d$ 为解吸液浓度(mg/ml);  $V_d$ 为解吸液体积(ml);  $Q_{rd}$ 为解吸率(%)。

#### 1.3.3 天然葡萄皮色素标准曲线制作

精确称取葡萄皮色素(grape skin pigments, GSP)标准品0.0513g,用pH3的缓冲液(柠檬酸-磷酸氢二钠)定容至25ml,得到浓度为2.052mg/ml的色素液,逐步稀释成一定浓度梯度的色素液,以蒸馏水为空白于525nm处测定吸光度,绘制标准曲线如图1,计算回归方程如下:  $y=0.7471x+0.0268$ ,  $R^2=0.9997$ ,式中,  $y$ 为色素液吸光度,  $x$ 为色素液浓度(mg/ml)。

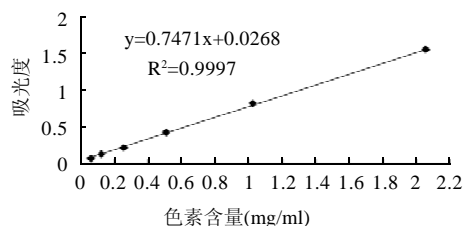


图1 葡萄皮色素标准曲线

Fig.1 Standard curve of VSP

#### 1.3.4 HP-20树脂动态吸附解吸条件研究

##### 1.3.4.1 流速对动态吸附性能的影响

称取一定量的预处理后HP-20树脂湿法上柱(Φ1.6×30cm),量取柱高为10.0cm。室温条件下采用恒流泵控制不同流速,使色素液上柱吸附(浓度0.8342mg/ml),用部分收集器收集流出液,至流出液吸光度为色素原液的10%时,即认为达到泄漏点<sup>[5-6]</sup>。绘制不同流速下的泄漏曲线。

##### 1.3.4.2 色素液浓度对动态吸附性能的影响

以不同浓度料液上柱,流速统一为4.5BV/h,每6ml一管分部收集,以流出液吸光度为原液的10%时测泄露点,计算吸附量及处理时间。

##### 1.3.4.3 乙醇浓度对解吸率的影响

预处理后HP-20树脂湿法上柱,待床体平衡后,加入浓度为3.1765mg/ml的色素液,上柱流速为4.5BV/h,共处理料液300ml,收集流出液,计算色素吸附量 $Q$ (mg)。之后,分别用5BV的蒸馏水、20%、40%、60%、80%、100%乙醇依次洗脱,洗脱速度控制为4.5BV/h,分别收集各阶段解吸液,真空浓缩至干,25ml pH3缓冲液溶解,稳定1h测吸光度,以葡萄皮色素标准曲线计算解吸液中色素含量,并按公式5~9计算各洗脱液的绝对和相对解吸率。重复吸附过程,以添加0.05%盐酸的各洗脱剂对比其解吸率。

$$\text{蒸馏水绝对解吸率}(\%)=(Q_w/Q) \times 100 \quad (5)$$

$$\text{20\%乙醇绝对解吸率}(\%)=(Q_{20}/Q) \times 100 \quad (6)$$

$$\text{20\%乙醇相对解吸率}(\%)=\frac{Q_{20}}{Q-Q_w} \times 100 \quad (7)$$

$$\text{40\%乙醇绝对解吸率}(\%)=(Q_{40}/Q) \times 100 \quad (8)$$

$$\text{40\%乙醇相对解吸率}(\%)=\frac{Q_{40}}{Q-Q_w-Q_{20}} \times 100 \quad (9)$$

##### 1.3.4.4 洗脱速度对解吸率的影响

树脂湿法上柱(Φ1.6×30cm),以一定流速加入定量色素液使吸附饱和,用2BV蒸馏水冲柱,计算吸附量,以10BV洗脱剂(80%乙醇+0.05%盐酸)控制流速进行洗脱,流速分别设置为2、3、4.5、6、7.5BV/h。计算不同洗脱速度下的解吸率。

##### 1.3.4.5 洗脱剂用量对解吸的影响

装柱及吸附方法同1.3.4.2,以80%乙醇(0.05%盐酸)为洗脱剂,洗脱速度控制为3BV/h,洗脱剂用量设置为4~14BV,计算不同洗脱剂用量时的解吸率。

#### 1.3.5 HP-20树脂动态吸附解吸效果

预处理后HP-20树脂湿法上柱,量取树脂装柱体积(ml);刺葡萄色素浓缩液以蒸馏水稀释(调酸pH3.0),测得

浓度为2.3191mg/ml, 以4.5BV/h的流速加入树脂层, 部分收集器收集泄漏液, 当流出液的吸光度与上样液相同时, 树脂吸附达到饱和<sup>[7-8]</sup>, 停止进样。2BV蒸馏水冲柱, 以8BV洗脱剂(80%乙醇+0.05%盐酸)冲柱, 流速为3BV/h, 收集流出液, 减压浓缩。计算饱和吸附量, 测定色价。

$$\text{饱和和吸附量(mg/ml湿树脂)} = (Q_{\text{上}} - Q_{\text{泄漏}} - Q_{\text{水洗}}) / V \quad (10)$$

式中,  $Q_{\text{上}}$ 、 $Q_{\text{泄漏}}$ 、 $Q_{\text{水洗}}$ 分别为上样液、流出液、水洗液的色素量(mg);  $V$ 为湿树脂体积(ml)。

色价测定: 以 $E_{1\text{cm}}^{1\%}(525\text{nm})$ 测定产品色价<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 流速对动态吸附性能的影响

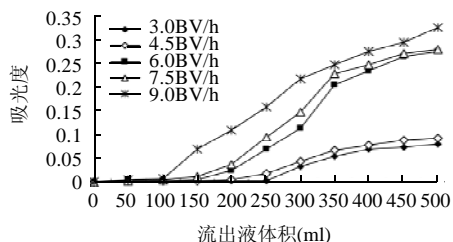


图2 流速对吸附的影响

Fig.2 Effects of flow rate of crude VSP solution on adsorption

如图2所示, 随着上样液流速的增大, 从柱中泄漏出的色素液的吸光度上升也加快, 说明流速越快, 树脂对色素的吸附量减小, 提前出现泄露点。这是因为流速过快时, 色素分子来不及与树脂充分接触, 不能充分扩散到树脂内表面, 就随着上样液的流动一起泄漏出去。在实验条件下, 3BV/h与4.5BV/h的流速吸附量较大, 其泄漏点区别不大, 而9BV/h流速下吸附量最小, 泄漏点提前最多。在实际操作中, 考虑到节约时间, 选用流速为4.5BV/h。

### 2.2 色素液浓度对动态吸附性能的影响

表1 上样液浓度对HP-20树脂动态吸附的影响

Table 1 Effects of concentration of crude VSP sample on dynamic adsorption (HP-20)

上样液浓度(mg/ml)	0.4821	0.8516	1.5891	2.1218	3.1377
泄露点(ml)	474	348	234	186	108
吸附量(mg)	228.52	296.36	371.85	394.65	338.87
处理时间(h)	5.27	3.93	2.60	2.22	1.20

上样液浓度是影响树脂吸附性能的重要因素之一, 表1所示为不同的上样液浓度对HP-20树脂动态吸附参数的影响。浓度过高时, 泄露点提前, 吸附量减少; 浓度过低时, 延长处理时间, 使生产效率降低, 且浓度过低

造成吸附动力小, 在实验流速下, 吸附量反而降低; 上样液浓度为2.1218mg/ml时, 吸附量最大, 且处理时间较适宜。

### 2.3 乙醇浓度对解吸率的影响

表2 乙醇浓度对绝对解吸率的影响

Table 2 Effects of ethanol concentration on absolute desorption rate

乙醇浓度(%)	0	20	40	60	80	100	总解吸率
绝对解吸率(未加酸)(%)	1.05	15.17	46.28	21.74	8.84	2.46	95.54
绝对解吸率(加0.05%盐酸)(%)	1.93	17.25	47.57	21.72	8.31	2.05	98.83

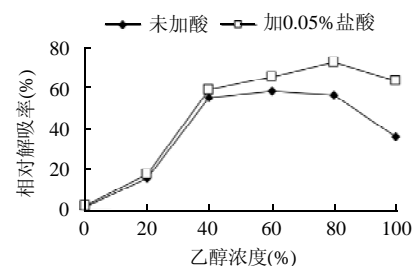


图3 乙醇浓度对相对解吸率的影响

Fig.3 Effects of ethanol concentration on relative desorption rate

洗脱剂乙醇浓度对刺葡萄皮色素绝对解吸率及相对解吸率的影响如表2和图3所示。在梯度洗脱条件下, 40%~80%乙醇获得较大的相对解吸率, 但60%乙醇获得的最大解吸率尚不到60%, 这可能是由于洗脱剂用量少或者洗脱剂未加酸所致。结合静态吸附解吸特性的研究结果, 洗脱剂pH2~3可获得较好的解吸效果, 在各洗脱剂中添加0.05%盐酸后, 其解吸效果对比结果表明(表2、图3), 加酸洗脱剂使总的绝对解吸率由95.54%提高到98.83%, 且明显提高了较高浓度乙醇的相对解吸率, 这是因为提高酸度增大了花色苷物质在乙醇中的溶解性, 加酸后, 80%乙醇获得最大相对解吸率。故选用80%乙醇(含0.05%盐酸, pH2.67)为洗脱液。

### 2.4 洗脱速度对解吸率的影响

由图4可知, 在洗脱剂用量一定的条件下, 随着洗脱速度的提高, 解吸率先缓慢后急剧下降, 因此控制较慢

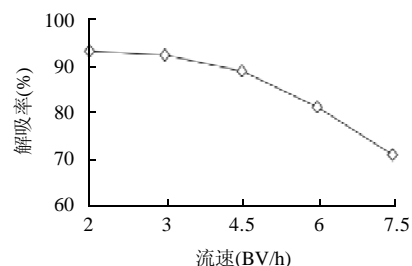


图4 洗脱速度对解吸率的影响

Fig.4 Effects of flow rate of 80% ethanol on desorption rate

的洗脱速度是提高解吸率的有效方法；2BV/h及3BV/h的洗脱速度下，其解吸率均达到92%以上，没有显著区别，从提高生产效率的角度出发，可采用3BV/h的洗脱速度。

### 2.5 洗脱剂用量对解吸率的影响

从图5可以看出，随着洗脱剂用量的增大，解吸率先迅速后缓慢提高，当洗脱剂用量达到10BV时，解吸率不再增加，8BV的用量能获得与10BV用量接近的解吸率。洗脱剂用量是树脂吸附解吸工艺中一个重要的参数，因为洗脱剂用量越多会造成洗脱成本提高及树脂再生难度增加，故选用8BV作为洗脱剂用量。

### 2.6 HP-20树脂动态吸附解吸效果

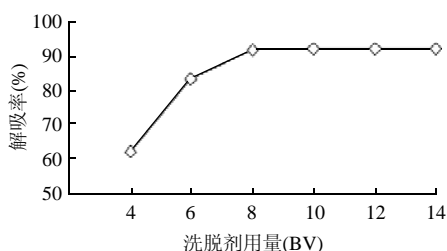


图5 洗脱剂用量对解吸率的影响

Fig.5 Effects of amount of 80% ethanol on desorption rate

上样液初始浓度2.3191mg/ml，上样量390ml，树脂对刺葡萄色素的动态饱和和吸附量达到39.00mg/ml湿树脂(表3)。

表3 树脂动态饱和和吸附量

Table3 Saturation capacity of dynamic adsorption of resin HP-20

Q <sub>上</sub> (mg)	Q <sub>树脂</sub> (mg)	Q <sub>水洗</sub> (mg)	吸附量 (mg)	树脂体积 (ml)	树脂动态饱和和吸附量 (mg/ml)
904.45	120.50	3.92	780.03	20	39.00

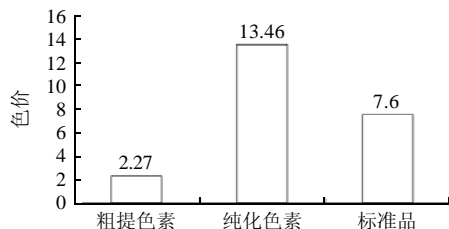


图6 HP-20树脂对刺葡萄皮色素的纯化效果

Fig.6 Purification effect of resin HP-20 on VSP

粗提浓缩液1ml(0.1593g)用pH3缓冲液定容至100ml，吸光度为0.362；洗脱液浓缩后，1ml浓缩液(0.067g)用pH3缓冲液定容至100ml，吸光度为0.902；标准品0.0513g定容至100ml，吸光度为0.390。折算三种葡萄皮色素的色价E<sup>1%</sup>(525nm)如图6所示。刺葡萄色素液经HP-20树脂纯化后，

色价为原来的5.93倍，且高于Sigma公司的葡萄皮色素标准品，初步说明试验范围内拟定的刺葡萄皮色素纯化工艺能取得很好的效果。

### 3 结论与讨论

3.1 被分离物质与树脂的极性是影响其吸附性能的主要因素，树脂极性的大小取决于分子中极性基团与非极性基团的数量和大小<sup>[10]</sup>。树脂的孔径、比表面、孔容等空间结构也影响吸附性能<sup>[11]</sup>。HP-20树脂比表面积大(600m<sup>2</sup>/g)，使表面张力增大，吸附量提高。各种大孔树脂由于物理化学性质的差异，对不同物质表现出选择吸附性。静态吸附解吸试验结果证实，非极性的HP-20大孔树脂易与刺葡萄皮花色苷色素形成牢固的氢键，对色素的选择吸附性优于弱极性的AB-8树脂及极性树脂S-8等。该树脂在国内花色苷色素纯化的研究中未见报道，国外有文献报道将其用于少量花色苷的纯化<sup>[12]</sup>。

3.2 HP-20树脂用于纯化刺葡萄色素，洗脱液为80%乙醇(含0.05%盐酸)可获得很好的洗脱效果。

3.3 HP-20树脂动态吸附、解吸工艺参数确定为上样流速4.5BV/h，上样液浓度1.5891~3.1377mg/ml，洗脱速度3 BV/h，洗脱剂用量8BV等，解吸率可达到92%以上。

3.4 HP-20树脂用于纯化刺葡萄皮色素，在优化工艺参数下，动态饱和和吸附量达到39.00mg/ml湿树脂，色素液纯化后色价达到原来的5.93倍。

### 参考文献:

- [1] 凌关庭. 可供开发食品添加剂(1):紫玉米色素及其生理功能[J].粮食与油脂, 2002(10): 46-49.
- [2] OSAWA T. Functional activity of polyphenols including anthocyanins [J].Foods and Food Ingredients J of Jap,2001,192:4-10.
- [3] 秦丹,熊兴耀,石雪晖,等.刺葡萄品质分析及加工性能研究[J].食品科技, 2006(6): 52-54.
- [4] 邓洁红,谭兴和,王锋,等. HP-20树脂对刺葡萄皮色素纯化特性研究[J].食品工业科技, 2008(2): 145-148
- [5] 上官新晨,沈勇根,徐明生,等.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] 刘树兴,杨兆艳,吴娟亭.树脂法提取桑椹红色素的研究[J].食品科学, 2004, 25(6): 129-133.
- [7] 徐建国,田星瑞.桑椹红色素纯化的动态洗脱条件研究[J].食品工业科技, 2005, 26(4): 155-157.
- [8] 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.
- [9] 曾宪杨.天然食用色素的色价[J].全国食品添加剂通讯, 1991(3): 55-57.
- [10] PAYNE G F, NINOMIYA Y. Selective adsorption of solutes based on hydrogen bonding[J].Separation Science and Technology, 1990, 25: 1117.
- [11] 郭永学,李楠,杨美燕.大孔吸附树脂在中草药研究中的应用进展[J].药品评价, 2004(5): 376-379.
- [12] HONDA T, TATSUZAWA F, KOBAYASHI N, et al. Acylated anthocyanins from the violet-blue flowers of *Orychophragorus violaceus*[J]. Phytochemistry, 2005, 66: 1844-1851.