

用大孔树脂纯化槟榔多酚的工艺条件优化

普义鑫¹, 周文化¹, 李 岚¹, 周文娟¹, 李 可²

(1. 中南林业科技大学 食品科学与工程学院, 湖南 长沙 410004;

2. 哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘 要: 采用 S-8、D-3520、ADS-8、DM-0301、AB-8 五种大孔树脂对槟榔多酚进行纯化, 筛选出 S-8 型号大孔树脂对槟榔多酚进行纯化, 其效果最好。通过动态吸附与解析实验, 得到 S-8 型大孔树脂的最佳吸附条件为: 上柱液 pH 为 2.0, 上柱液浓度为 2.05 mg/mL, 上柱液体积为 6 BV; 最佳解析条件为: 解析液 pH 为 4.0、乙醇浓度为 75%、解析液体积为 6 BV。

关键词: 槟榔; 多酚; 大孔树脂; 纯化; 工艺条件

中图分类号: S792.91

文献标志码: A

文章编号: 1673-923X(2012)02-0100-05

Purification of poly-phenols from *Areca catechu* L. nut by five kinds of macroporous resin

PU Yi-xin¹, ZHOU Wen-hua¹, LI Lan¹, ZHOU Wen-juan¹, LI Ke²

(1. School of Food Science & Engineering, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, Hunan, China;

2. Harbin University of Commerce, Harbin 150076, Heilongjiang, China)

Abstract: The poly-phenols of *Areca catechu* L Nut was purified by macroporous resin and the process conditions were optimized. The results show that AB-8 had a better purification rate of of *Areca catechu* Nut polyphenols among S-8, D-3520, ADS-8, DM-0301, AB-8 macroporous resin, and the best adsorption conditions were as follows: column liquid pH2.0, column liquid concentration 2.05 mg/mL, column liquid volume 6 BV. The best elution conditions were: elution pH4.0, elution concentration 75%, elution volume 6BV. The best adsorption conditions and the best elution conditions make up the optimal process to purify poly-phenols of *Areca catechu*.

Key words: *Areca catechu* L. nut; poly-phenols; macroporous resin; purification

槟榔果是棕榈科植物槟榔 (*Areca catechu* L.) 的成熟种子, 主要产于我国的海南、广东、广西、云南、福建、台湾以及印度和马来西亚等国, 位居我国“四大南药”之首^[1]。槟榔中含有生物碱, 多种矿物质、氨基酸、挥发油、木质素、甘露糖、半乳糖、 γ -儿茶素、 β -谷甾醇、无色花青素、槟榔红色素、儿茶精花白素及皂甙、胆碱等^[2]。此外, 槟榔果中尚含有大约 15% 的酚类物质 (包括缩合鞣质、水解类鞣质及非丹宁类黄烷醇等)^[3]。采用溶剂法提取的槟榔多酚为多酚含量较低的粗品, 其中含有多糖、

槟榔碱等杂质, 因此需对槟榔多酚进行纯化, 使其更好的发挥生理效用。多酚纯化的方法有很多种, 目前使用最多的是大孔树脂吸附法^[4-9]。

大孔树脂是一类以吸附为特点, 对有机物具有浓缩、分离作用的高分子聚合物, 它具有物理化学稳定性高, 吸附选择性独特, 不受无机物存在的影响、再生简单、解吸条件温和等特点, 广泛用于生物物质的分离和纯化^[10], 本研究采用大孔树脂吸附法纯化槟榔多酚, 研究了最佳吸附和解析条件。

收稿日期: 2011-10-1

基金项目: 国家科技支撑项目 (2007BAD76B03)

作者简介: 普义鑫 (1986-), 男, 黑龙江漠河人, 硕士研究生, 主要从事食品加工方面的研究

通讯作者: 周文化 (1969-), 男, 湖南省澧县人, 教授, 博士, 主要从事食品科学方面的研究

1 材料与方法

1.1 材料

以海南产鲜槟榔为原料,按文献[11]优化的工艺提取槟榔多酚作为本实验的原料;S-8、D-3520、ADS-8、DM-0301、AB-8型大孔树脂购于长沙裕丰化玻公司;所用药品均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 多酚含量的计算

多酚浓度的计算采用福林酚比色法^[11]。

1.2.2 大孔树脂的预处理

将S-8、D-3520、ADS-8、DM-0301、AB-8型大孔树脂用无水乙醇浸泡24 h,用蒸馏水洗净,然后用5%的HCl浸泡8 h,用蒸馏水洗至中性,再用5%的NaOH浸泡8 h后,再用蒸馏水洗净待用^[12]。

1.2.3 大孔树脂的静态吸附与解析特性研究^[13]

准确称取预处理后的5种树脂各5.0 g,先用滤纸吸干水分,分别置于250 mL的具塞磨口三角瓶中,加入50 mL槟榔多酚粗提液,置于25℃水浴摇床震荡10 h,每隔2 h测定溶液吸光度。

$$\text{吸附量 (mg/g)} = \frac{(C_0 - C_1)V_0}{m}, \quad (1)$$

$$\text{吸附率 (\%)} = 100(C_0 - C_1)/C_0. \quad (2)$$

式(1)、(2)中: C_0 为吸附前的多酚溶液浓度, mg/mL; C_1 为吸附后多酚溶液浓度, mg/mL; V_0 为多酚粗体体积 mL。

树脂静态吸附后,过滤,加入无水乙醇50 mL,置于25℃水浴摇床振荡10 h,每隔2 h取样,测定样品的吸光度。

$$\text{解析率 (\%)} = C_2V_2 / [(C_0 - C_1)V_1]. \quad (3)$$

$$\text{解析量 (mg/g)} = C_2V_2 / m. \quad (4)$$

式(3)式(4)中: C_2 为解析后槟榔多酚溶液浓度, mg/mL; C_0 为吸附前的多酚溶液浓度, mg/mL; C_1 为吸附后多酚溶液浓度, mg/mL; V_1 为吸附多酚溶液体积, mL; V_2 为解析后多酚溶液体积, mL。

1.2.4 大孔树脂的动态吸附与解析

筛选出的树脂采用湿法装柱,装入 $\varnothing 3.0 \text{ cm} \times 40.0 \text{ cm}$ 的玻璃柱中,装柱高度约25 cm,准确量取一定树脂床体积的槟榔多酚粗提液,调节pH后上柱,收集流出液,测定穿透液中多酚浓度,

吸附完成后,用无水乙醇解吸树脂上吸附的槟榔多酚,收集洗脱液,测定穿透液中多酚浓度^[14]。

2 结果与分析

2.1 大孔树脂静态吸附特性研究

五种大孔树脂对槟榔多酚的吸附量随时间的变化柱形图见图1。由图1可知,D-3520型大孔树脂在4 h时达到最大吸附量5.90 mg/g,超过4 h吸附量显著下降($P < 0.05$)并且吸附量随着时间的延长变化不明显,因此该种树脂的最佳吸附时间为4 h;AB-8型树脂在8 h时达到最大吸附量7.71 mg/g,但与4 h、6 h及10 h相比差异均不显著($P < 0.05$)因此,从实际操作角度考虑,可将该树脂的最佳吸附时间确定为4 h;S-8型大孔树脂在8 h时达到最大吸附量15.11 mg/g,与其他时间相比差异显著($P < 0.05$)因此确定该种型号的树脂最佳吸附时间为8 h;ADS-8型大孔树脂在2 h时达最大吸附量6.27 mg/g,明显高于4 h($P < 0.05$),与6 h、8 h及10 h相比差异不显著,因此确定该树脂的最佳吸附时间为2 h;DM-0301型树脂随着时间的延长吸附量逐渐增加,在10 h时达最大吸附量11.27 mg/g,与8 h相比差异不显著($P < 0.05$)但与其他时间相比差异显著($P < 0.05$)因此,该树脂的最佳吸附时间为8 h。

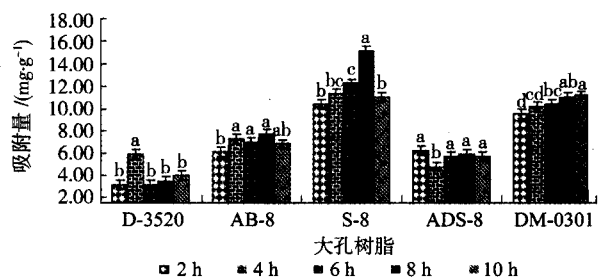


图1 大孔树脂静态吸附特性柱形图
Fig.1 Adsorption time of macroporous resin

† 图中相同字母表示差异不显著 $P > 0.05$; 不同字母表示差异显著 $P < 0.05$ 。

2.2 大孔树脂静态解析特性研究

五种大孔树脂吸附多酚后对其进行解析,解析率随时间的变化情况见图2,由图2可知,D-3520型树脂在6 h时达到最大解析率90.28%,明显高于2 h、4 h和8 h, ($P < 0.05$),与10 h相比差异不显著($P < 0.05$)因此该种型号的树脂最佳解析时间为6 h;AB-8型大孔树脂在10 h时

达最大解析率 89.46%, 与 2 h 的 87.70% 相比, 差异不显著 ($P < 0.05$), 与其它时间相比差异显著 ($P < 0.05$) 因此, 确定该树脂的最佳解析时间为 2 h; S-8 型大孔树脂在 10 h 时达最大解析率 88.77%, 与 2 h 的 87.18% 相比差异不显著, 但明显高于 4 h、6 h 及 8 h ($P < 0.05$), 因此该树脂的最佳解析时间选择 2 h; ADS-8 型大孔树脂在 4 h 时达最大解析率 94.14%, 明显高于其它时间的解析率 ($P < 0.05$); DM-0301 型大孔树脂的解析率随时间的延长而有所下降, 并在 2 h 时达最大解析率 92.18%, 与其它时间相比差异显著, 因此, 该型号树脂的最佳解析时间为 2 h。

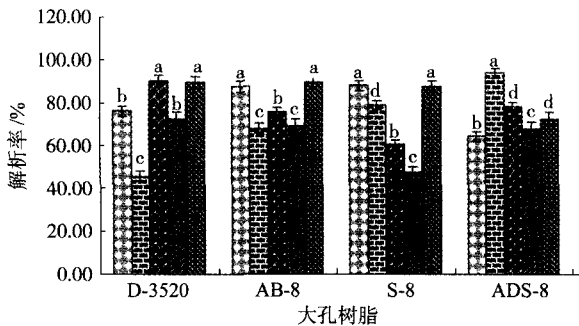


图 2 大孔树脂静态解析
Fig. 2 The elution of macroporous resin

从图 1 和图 2 中可以看出, 五种大孔树脂中, S-8 型树脂的吸附量和解析量均最大, 树脂筛选的目的为筛选出同时具有高吸附量和解析量的树脂, 因此本实验选择 S-8 型树脂为最佳树脂, 对槟榔多酚进行纯化。

2.3 大孔树脂动态吸附实验

2.3.1 上柱液 pH 对大孔树脂吸附率的影响

将处理好的 S-8 大孔树脂, 采用湿法装柱, 用水洗平衡后上柱, 上柱液浓度为 1.92 mg/mL, 上柱液体积 100 mL, 设定上柱液 pH 分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0, 分别测定流出液的多酚含量, 考察不同上柱液 pH 对吸附率的影响, 结果见图 3。

由图 3 可知, 随着 pH 的增加, S-8 型大孔树脂对槟榔多酚的吸附率逐渐下降, 在 pH 为 2.0 时达最大吸附率 81.64%, 这可能是由于槟榔多酚中含有一定的酚酸类物质, 如绿原酸, 果酸、没食子酸、鞣酸等, 使粗提液呈现弱酸性, 酸性物质在酸液中吸附, 在碱液中解析, 碱性物质在碱液

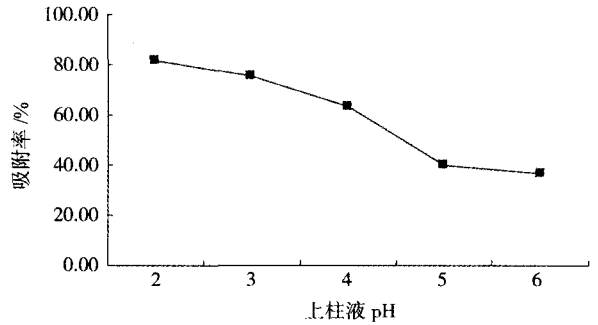


图 3 上柱液 pH 对吸附率的影响

Fig. 3 The effect of pH of polyphenols on the adsorption rate

中吸附, 在酸液中解析^[15], 因此选择 pH = 2.0 为最佳吸附 pH。

2.3.2 上柱液浓度对大孔树脂吸附率的影响

在 pH = 2.0 条件下, 上柱液体积 100 mL, 设定上柱液浓度分别为: 1.42、1.74、2.05、2.90、3.82 mg/mL, 采用 S-8 型大孔树脂对槟榔多酚粗提液进行吸附, 考察不同上柱液浓度对大孔树脂吸附槟榔多酚的影响, 结果见图 5。由图 5 可知, 在槟榔多酚粗提液浓度小于 2.05 mg/mL 时, 吸附率随着浓度的增加而增大, 在 2.05 mg/mL 时达最大值 66.73%, 当继续提高槟榔多酚粗提液浓度时, 槟榔多酚吸附率反而有所下降, 这可能是由于, 浓度低时增加槟榔多酚的浓度, 有利于增加与树脂接触的多酚分子的数量, 吸附率增大, 当达到 2.05 mg/mL 时, 树脂达到吸附饱和状态, 过量的多酚分子无法被吸附, 直接穿透大孔树脂, 导致穿透液多酚含量增加, 吸附率降低。

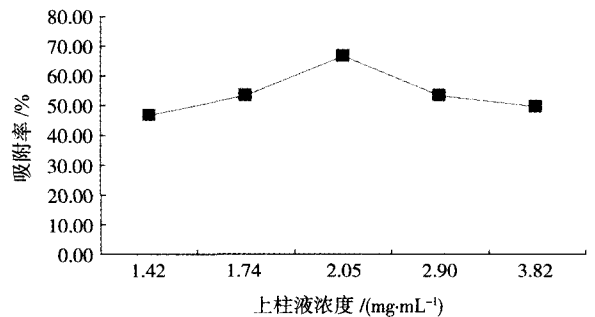


图 4 上柱液浓度对大孔树脂吸附槟榔多酚的影响

Fig. 4 The effect of concentration of polyphenols on the adsorption rate

2.3.3 上柱液体积对大孔树脂吸附率的影响

在 pH = 2.0, 上柱液浓度为 2.05 mg/mL 的条件下, 选择上样液体积为 50、100、150、200、250 mL 相当于 2、4、6、8、10 倍树脂床体积 (2 BV、4 BV、6 BV、8 BV、10 BV) 进行上柱, 考察不同

上样体积对多酚吸附率的影响, 结果见图 5。

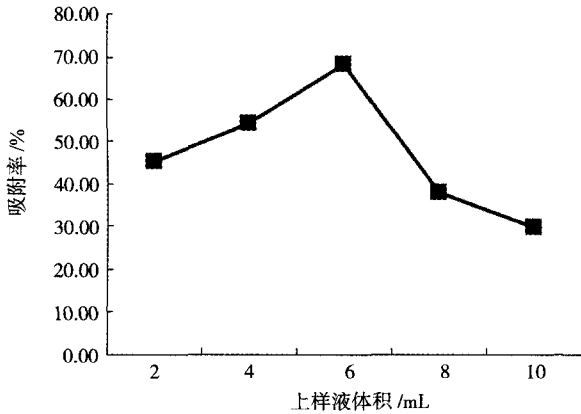


图 5 上柱液体积对大孔树脂吸附率的影响

Fig. 5 The effect of volume of polyphenols on the adsorption rate

由图 5 可知, 当上样液体积小于 6 BV 时, S-8 大孔树脂对槟榔多酚的吸附率随着上样液体积的增加而增大, 但当上样液体积超过 6 BV 时, 大孔树脂对槟榔多酚的吸附率反而明显下降, 而且, 漏出液多酚的质量浓度超过了上样液浓度的 10%, 这说明, 在槟榔多酚质量浓度为 2.05 mg/mL 时, 当上样液体积为 6 BV 时, 大孔树脂对槟榔多酚的吸附达到了饱和状态, 因此选择 6 BV 为最佳吸附体积。

2.4 大孔树脂动态解析实验

2.4.1 解析液 pH 对解析率的影响

采用 95% 的乙醇溶液对吸附的槟榔多酚进行洗脱, 固定洗脱体积为 4 BV, 用 1 mol/L 的 HCl 溶液分别调节 pH 值为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0, 考察不同洗脱液 pH 对大孔树脂解析率的影响, 实验结果见图 6。

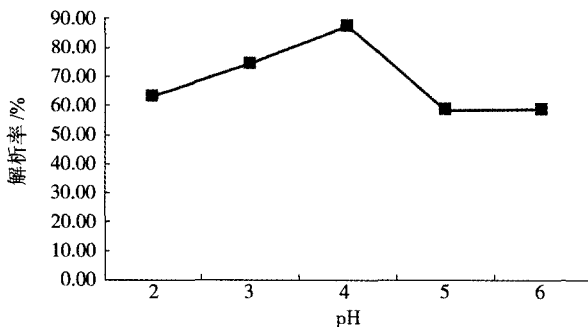


图 6 解析液 pH 对解析率的影响

Fig. 6 The effect of elution liquid pH on the elution rate

由图 6 可以看出, 在较低的 pH 范围内, 随着 pH 的增加, 解析率逐渐增加, 当 pH 值为 4.0 时,

解析率达最大值 87.50%, 继续升高 pH 值, 解析率反而有所下降, 并且维持在较低水平, 这可能是由于酸性物质在偏碱性条件下有较好的解析率, 但 pH 过高, 多酚类物质会发生氧化, 导致解析率降低, 因此选择 pH = 4.0 为最佳解析 pH。

2.4.2 乙醇浓度对解析率的影响

在 pH 为 4.0, 洗脱体积为 4BV 的条件下, 设定乙醇浓度分别为 55%、65%、75%、85%、95%, 分别测定流出液中多酚含量, 考察不同乙醇浓度对解析率的影响, 实验结果见图 7, 由图 8 可以看出, 随着乙醇浓度的增加, 从 55% 到 75%, 大孔树脂的解析率不断增加, 在 75% 时达最大解析率 87.30%, 继续增加乙醇浓度, 解析率反而有所下降, 这可能是由于在一定范围内, 乙醇浓度增加, 槟榔多酚的溶解性也不断增加, 因而解析率提高, 但由于槟榔中的多酚既含醇溶性成分, 同时又含有水溶性成分, 过高的浓度导致水溶性多酚溶解性降低, 同时, 高浓度的醇溶液会导致醇溶性杂质的流出, 因此解析率会有所下降。因而, 选择 75% 的乙醇为最佳洗脱浓度。

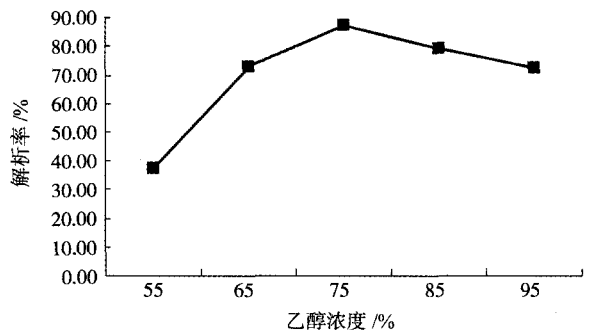


图 7 乙醇浓度对大孔树脂解析率的影响

Fig. 7 The effect of elution liquid concentration on the elution rate

2.4.3 解析液体积对解析率的影响

采用 75% 的乙醇, 在 pH 为 4.0 的条件下, 分别选择洗脱体积为 2 BV、4 BV、6 BV、8 BV、10 BV 进行洗脱, 分别测定洗脱液中多酚的含量, 考察不同洗脱体积对解析率的影响, 实验结果见图 8, 由图 8 可以看出, 70% 的乙醇溶液对大孔树脂的解析率随着洗脱体积的增加而不断增加, 当洗脱体积为 2 BV 时, 解析率只有 47.74%, 当洗脱体积增加到 6 BV 时, 解析率达到 75.71%, 之后随着洗脱体积的增加, 解析率增加不明显, 趋于稳定, 这可能是由于洗脱体积增大, 槟榔多酚与溶剂接

触充分, 因而解析率增加, 当达到 6 BV 时, 槟榔多酚趋于完全解析, 因而解析率趋于恒定, 因而最佳解析体积为 6 BV。

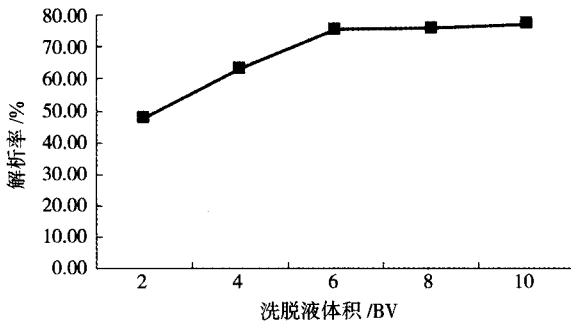


图 8 洗脱液体积对解析率的影响

Fig. 8 The effect of elution liquid volume on the elution rate

3 结论

采用大孔树脂吸附法对槟榔多酚进行纯化, 通过静态吸附实验, 得到 D-3520、AB-8、S-8、ADS-8、DM-0301 五种大孔树脂的最佳吸附时间分别为 4 h、4 h、8 h、2 h、10 h; 通过静态解析实验得到 D-3520、AB-8、S-8、ADS-8、DM-0301 五种大孔树脂的最佳解析时间分别为 6 h、2 h、2 h、4 h、2 h。试验得到 S-8 大孔树脂对槟榔多酚的吸附率和解析率最大。

通过动态吸附实验得到, pH 为 2.0, 上柱液浓度为 2.05 mg/mL、上柱液体积为 6 BV 时, 吸附效果最好; 通过动态解析实验得到, 解析液 pH 为 4.0、乙醇浓度为 75%、解析液体积为 6 BV 时解析效果最好。

参考文献:

[1] 黄永华. 槟榔有效化学成分分析测定 [J]. 食品与机械, 2002, (3):38-39.
 [2] 郑锦星. 槟榔提取物功能评价的研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学硕士学位论文, 2007.

[3] Chin-Kun Wang, Wen-Hsiu Lee. Contents of Phenolics and Alkaloids in *Areca catechu* Linn. during maturation [J]. *Agric. Food Chem.*, 1997, 45: 1185-1188.
 [4] James A, Kennedy, Y o j i Hayasaka, Stephane Vidal, *et al.* Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development [J]. *Agric. Food Chem.*, 2001, 49:5348-5355.
 [5] Sophie Remy, Helene Fulcrand, Benoit Labarbe *et al.* First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin-tannin reactions [J]. *Sci. Food Agric.*, 2000, 80: 745-751.
 [6] Rong Tsao, Raymond Yang, J. Christopher Young *et al.* Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC) [J]. *Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 6347-6353.
 [7] Erwan Le Roux, Thierry Doco, Pascale Sarni-Manchado *et al.* A-Type proanthocyanidins from pericarp of litchichinensis [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48: 1251-1258.
 [8] 谭仁详. 植物成分分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.
 [9] 邹节明, 陆浩, 何斌, 等. 苦玄参、黄芩与黄柏的大孔树脂提取研究 [J]. *中草药*, 2003, 34: 222-226.
 [10] 严奉伟, 吴谋成. 大孔树脂初步纯化菜籽多酚 [J]. *中国粮油学报*, 2005, 20(2): 57-61.
 [11] 普义鑫, 周文化, 蒋爱民, 等. 响应面法优化槟榔中多酚提取工艺条件的研究 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26(12): 334-338.
 [12] 侯晓丹, 袁其朋. 大孔吸附树脂法分离石榴籽中总多酚及其抗氧化活性研究 [J]. *食品科技*, 2010, 35(1): 194-199.
 [13] 王如, 王承明. 大孔树脂纯化黄连木粕多酚 [J]. *食品科技*, 2009, 34(11): 236-240.
 [14] 朱静, 陆晶晶, 袁其朋. 大孔吸附树脂对石榴皮多酚的分离纯化 [J]. *食品科技*, 2010, 35(1): 188-194.
 [15] 高晓明, 吕磊, 王瑞, 等. 苹果多酚的乙醇提取和大孔树脂纯化工艺研究 [J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(11): 21-26.
 [16] 张泽生, 徐英. 大孔吸附树脂对苹果渣中苹果多酚吸附性能的研究 [J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(9): 24-27.

[本文编校: 文凤鸣]