

树脂法分离纯化山楂黄酮

孙协军,李秀霞,励建荣*,刘雪飞,李颖畅,吕艳芳

(渤海大学化学化工与食品安全学院,辽宁省食品安全重点实验室,辽宁省高校重大科技平台
“食品贮藏加工及质量安全控制工程技术研究中心”,辽宁锦州 121013)

摘 要:为确定大孔树脂对山楂黄酮的分离效果,比较了10种大孔吸附树脂对山楂黄酮的静态吸附效果,在确定了适合的大孔树脂后,通过进一步的动态吸附过程分析,确定D101树脂适合于山楂黄酮的吸附,其静态吸附率为88.1%,解吸率为92.9%。并对其动态吸附特性进行了研究,确定的最佳工艺参数为:进样黄酮浓度18.75mg/mL、pH3~4、上样流速1BV/h、洗脱液乙醇体积分数75%、洗脱液流速1BV/h;上样量达到6BV时,树脂达到吸附平衡,当洗脱液用量为3BV,达到洗脱终点。经D101树脂在最佳工艺条件下纯化后,所获得纯化产物中芦丁、金丝桃苷和槲皮素的总含量达到65.47%,回收率为86.22%。

关键词:山楂,芦丁,金丝桃苷,槲皮素,大孔树脂,纯化

Separation and purification of flavonoids extracted from hawthorn by macroporous resins

SUN Xie-jun, LI Xiu-xia, LI Jian-rong*, LIU Xue-fei, LI Ying-chang, LV Yan-fang

(College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University; Food Safety Key Lab of Liaoning Province; Engineering and Technology Research Center of Food Preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province Jinzhou, Jinzhou 121013, China)

Abstract:In order to investigate the separation efficiency of macroporous resin on hawthorn flavonoids, ten types of macroporous resins was used to study the static adsorption properties on hawthorn flavonoids, after the optimum macroporous resins were deserved, D101 was seen as the optimal resin by the analysis of dynamic adsorption process of hawthorn flavonoids, the results indicate that static adsorption ratio of hawthorn flavonoids was 88.1%, desorption ratio was 92.9%. The optimized dynamic adsorption condition was hawthorn flavonoid concentration 18.75mg/mL, pH3~4, loading rate 1BV/h, volume fraction of ethanol 75%, adsorption ratio 1BV/h. The resin adsorption equilibrium was deserved when the sample volume was 6BV, and elution could be finished when the amount of eluent achieved 3BV. Under this condition, the purity of total concentration of rutin, hyperin and quercetin of hawthorn extract was 65.47%, and the recovery ratio was 86.22%.

Key words: hawthorn; rutin; hyperin; quercetin; macroporous resins; purification

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)16-0201-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.16.037

北山楂是蔷薇科(Rosaceae)山楂属(*Crataegus* L.)植物山里红(*Crataegus pinnatifida* Bunge var. Major N. E.)的果实^[1]。北山楂果树在我国北方地区广泛栽培,黄酮类化合物是北山楂中主要的生物活性成分,芦丁、金丝桃苷和槲皮素等是北山楂中重要的槲皮素类黄酮化合物^[2],黄酮类化合物具有降血脂^[3]、降血糖^[4]、预防肝损伤^[5]、抗氧化^[6]及提高机体免疫力^[7]等生理活性,是山楂果实及叶片中主要的生物活性成分。目前提取黄酮的方法主要是以不同体积分数乙醇为溶剂的浸提法^[8],所得粗提物含有其他醇溶性杂质,

山楂作为一种药食两用的中药材,随着中药材市场不断国际化,山楂中主要黄酮类化合物的分离和应用会显得尤为重要。大孔吸附树脂是一种具有多孔立体结构和选择性吸附功能的高分子材料,目前已广泛应用于天然黄酮类化合物的分离和纯化中,已报道在山楂黄酮纯化中效果较好的大孔树脂型号有HZ-818^[9]、D101^[10-12]、DM301^[13]、AB-8^[13]、SP825^[13]、X-5^[14]、D301^[15]、FL-3^[16]、ADS-8^[17]和FL-2^[18]等,为进一步从北山楂中纯化出较高含量的芦丁、金丝桃苷和槲皮素3种黄酮类化合物,本文考察了以上报道中使用过的10种大孔树脂的纯化效果,为山楂中芦丁、槲皮素和金丝桃苷的进一步开发利用提供树脂纯化技术方面的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

山楂 市售,产地辽西地区;芦丁和槲皮素标准

收稿日期:2013-11-20 * 通讯联系人

作者简介:孙协军(1969-),男,大学本科,实验师,主要从事食品资源开发利用方面的研究。

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD29B06);辽宁省食品安全重点实验室开放课题(LNSAKF2011015)。

品 纯度>97, 购于中国药品生物制品检定所; 金丝桃苷标准品 纯度>98.5%, 购于宝鸡市辰光生物科技有限公司; 高效液相色谱检测所用试剂 均为色谱纯; 水 为超纯水; 其他试剂 为分析纯; HZ-818大孔树脂 上海华震科技有限公司; D101、FL-2、X-5和AB-8大孔树脂 天津南开树脂厂; D301和DM301大孔树脂 天津农药股份有限公司树脂分公司; SP825大孔树脂 日本三菱化学公司; FL-3大孔树脂 天津欧瑞生物科技有限公司; ADS-8大孔树脂 天津南开和成科技有限公司。

P680型高效液相色谱仪 美国戴安公司; FA2004型电子天平、RE-2000型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; SHZ-D(Ⅲ)型循环水真空泵 上海申光仪器有限公司; KQ-400KDE型超声波清洗器 昆山超声仪器有限公司; HL-2恒流泵、BSZ-100型自动部分收集器 上海青浦沪西仪器厂; TGL-16型高速离心机 金坛恒丰仪器制造有限公司; PS02-AD-DI型超纯水机 上海讯辉环保科技有限公司; GT2-M真空冷冻干燥机 德国SRK系统技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱检测条件及标准曲线制备^[2]

DevelosilC₃₀色谱柱; 流动相: A相为乙腈, B相为0.4%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 80%B~60.5%B(0~26min), 80%B平衡4min后进入下一个样品; 流速1mL/min; 柱温40℃; 进样20μL; 检测波长: 360nm。

各取芦丁、金丝桃苷和槲皮素标准品48、15、4.5mg, 甲醇溶解并分别定容至10mL, 得到浓度分别为4.8、1.5、0.45mg/mL的3种标准品贮备液, 分别吸取同体积各标准贮备液, 稀释为6个浓度梯度的标准使用溶液, 浓度分别为(以芦丁为例): 0.005、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16mg/mL。

1.2.2 山楂黄酮水溶液的制备 选择整齐度良好的新鲜山楂用自来水清洗后去除果核, 带皮果肉部分在50℃热风烘干后粉碎成细果粉, 全部过40目分样筛后真空封装, 冷藏备用。称取适量山楂果粉于回流装置的烧瓶中, 加入适量体积分数80%乙醇, 70℃回流提取2h后减压浓缩除去大部分乙醇, 12000r/min离心5min, 取上清液备用, 0.45μm膜过滤后, HPLC测定芦丁、金丝桃苷和槲皮素3种黄酮总浓度。

1.2.3 大孔树脂预处理 各取未经处理的HZ-818、D101、FL-2、X-5、AB-8、D301、DM30、SP825、FL-3和ADS-8这10种大孔树脂干树脂各10g, 参照董恒颖^[7]的前处理方法并稍作修改, 将树脂在体积分数95%乙醇溶液中浸泡24h, 充分膨胀之后清洗至无白色浑浊, 用去离子水洗去乙醇, 将大孔树脂依次用2倍柱体积(BV)5% NaOH溶液、2BV去离子水、2BV 10%的盐酸洗涤, 最后用去离子水洗至中性备用。

1.2.4 静态吸附方法 分别加入1.2.2中制备的山楂水溶液30mL于100mL锥形瓶中, 以150r/min速度于振荡器内振摇2h, 静置过夜。然后, 分别取各树脂吸附后的溶液1mL, 12000r/min离心5min, 取上清液0.45μm滤膜过滤后HPLC检测3种黄酮总含量, 计算各种树

脂对山楂总黄酮的吸附率。

吸附量和吸附率按以下公式计算。

吸附量 (mg/g) = (吸附液初始浓度 - 吸附液平衡后浓度) × 吸附液体积 / 大孔树脂质量

吸附率 (%) = (树脂吸附量 × 树脂质量) / (吸附液初始浓度 × 吸附液体积) × 100

1.2.5 静态解吸方法 将静态吸附的树脂过滤抽干, 加入30mL体积分数为75%乙醇解吸, 以150r/min速度于振荡器内振摇2h, 静置过夜。分别取各解吸液1mL, 12000r/min离心5min, 取上清液0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算各种树脂对3种黄酮的解吸率。

解吸率 (%) = (洗脱液浓度 × 洗脱液体积) / (吸附液初始浓度 - 吸附液平衡浓度) × 吸附液体积 × 100

1.2.6 动态吸附方法 取静态吸附优选出的2种干树脂各40g, 处理方法同静态吸附干树脂处理法。装于2cm×20cm的层析柱内, 加入1.2.2中处理得到的山楂黄酮提取液样品于柱顶, 以2BV/h的流速进行动态吸附, 按树脂床体积收集流出液, 0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算总黄酮质量浓度, 绘制各树脂的泄漏曲线。

1.2.7 动态解吸方法 按照静态吸附干树脂处理法处理好D101和FL-2树脂, 各取40g, 分别装柱于2cm×20cm的柱内, 将180mL山楂溶液以2BV/h的流速进行吸附至饱和, 先用5BV去离子水以2BV/h的流速洗脱, 再以75%乙醇以2BV/h的流速洗脱, 按树脂床体积收集, 0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算乙醇洗脱液中总黄酮的质量浓度。

1.2.8 动态解吸单因素实验 各称取干重为30g的D101树脂, 按照1.2.3前处理方法处理后, 湿法装柱(2cm×20cm), 树脂床体积约为15mL, 固定洗脱液流速为2BV/h, 先以5BV去离子水洗脱, 再用75%乙醇洗脱, 收集洗脱液至50mL, 分别考察山楂黄酮提取液稀释倍数、上样液pH、吸附速率、上样量、乙醇体积分数、洗脱液流速对吸附解吸效果的影响, 具体操作如下:

1.2.8.1 山楂黄酮提取液稀释倍数对解吸率的影响

取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL, 分别加水稀释0、5、10、15和20倍上树脂柱, 以2BV/h的流速进行吸附后, 先以5BV水洗脱, 再用75%乙醇洗脱, 收集洗脱液至50mL, 0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算解吸率。

1.2.8.2 上样液pH对解吸率的影响 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL, 用1mol/L的HCl或1mol/L的NaOH调pH1~2、3~4、5~6、7~8和9~10, 上树脂柱, 以2BV/h的流速进行吸附后, 先以5BV水洗脱, 再用体积分数75%乙醇洗脱, 收集洗脱液至50mL, 0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算解吸率。

1.2.8.3 上样流速对解吸率的影响 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL, 上树脂柱, 分别以1、2、3、4、5BV/h的流速进行吸附, 以5BV水洗脱后, 再用体积分数75%乙醇以2BV/h的速度洗脱, 收集洗脱液至50mL, 0.45μm滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含

量, 计算解吸率。

1.2.8.4 乙醇体积分数对解吸率的影响 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL, 以1BV/h的流速进行吸附, 再以5BV的水洗脱后, 分别用体积分数为10%、30%、50%、75%和90%乙醇洗脱, 收集洗脱液至50mL, 0.45 μ m滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 然后计算总黄酮含量。

1.2.8.5 解吸流速对解吸率的影响 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL, 以1BV/h的流速吸附, 再以5BV水洗脱, 75%乙醇洗脱, 洗脱液流速分别为1、2、3、4、5BV/h收集洗脱液至50mL, 0.45 μ m滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 计算解吸率。

1.2.8.6 上样量对解吸率的影响 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液上树脂柱, 以1BV/h的流速进行吸附, 按树脂床体积数收集流出液, 0.45 μ m滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量。

1.2.8.7 洗脱终点的确定 将吸附饱和的树脂用体积分数75%乙醇, 以5BV/h的速度洗脱, 按树脂床体积收集洗脱液10mL, 0.45 μ m滤膜过滤, HPLC检测3种黄酮总含量, 确定洗脱终点。

1.2.9 纯化产物中山楂黄酮含量分析 取1.2.2制备的山楂黄酮水溶液5mL上树脂柱, 按照1.2.8中优化出的条件进行树脂纯化, 收集洗脱液, 减压除醇, -78℃速冻后于-50℃真空冻干成粉末, 准确称取一定量冻干粉末, 精确到0.0001g, 定容于25mL容量瓶中, HPLC检测黄酮含量, 平行测定3次, 计算3种黄酮总含量。

总黄酮纯度(%)=(HPLC检测到的3种黄酮总含量 $\times$ 定容体积)/(冻干粉末质量 $\times$ 1000) $\times$ 100

回收率(%)=(冻干粉末总质量 $\times$ 粉末总黄酮纯度 $\times$ 1000)/(山楂黄酮水溶液上样体积 $\times$ 上样液总黄酮浓度) $\times$ 100

2 结果与分析

2.1 HPLC分离结果和标准曲线的建立^[2]

所配制的标准溶液经0.45 μ m膜过滤后分别进样, 每个浓度进样3次, 黄酮混合标准溶液及山楂提取液的液相色谱图见图1(A)和图1(B), 以峰面积(mAU)为横坐标, 3种黄酮浓度平均值(mg/mL)为纵坐标, 得到3条标准曲线, 标准曲线的回归方程为: 芦丁, $Y=538.31X-0.3226$ ($r^2=0.9999$); 金丝桃苷, $Y=828.86X$ ($r^2=0.9996$); 槲皮素, $Y=550.85X+0.044$ ($r^2=0.9997$)。测得芦丁、金丝桃苷和槲皮素3种黄酮总浓度为18.75mg/mL。

2.2 静态吸附与解吸实验结果

不同大孔树脂对山楂黄酮提取液吸附和解吸的效果见图2所示, 由图2可以看出, 几种大孔树脂中, D101和FL-2树脂对山楂黄酮的吸附率和解吸率都大于85%, 吸附率高低顺序为: D101>FL-2>FL-3>D301>AB-8>X-5>SP825>DM301>ADS-8>HZ-818, 解吸率高低顺序为: D101>FL-2>FL-3>X-5>AB-8>SP825>D301>ADS-8>HZ-818>DM301, 因此, 选择其中对山楂黄酮吸附和解吸能力较强的D101和FL-2树脂进行进一步的动态吸附和解吸实验。

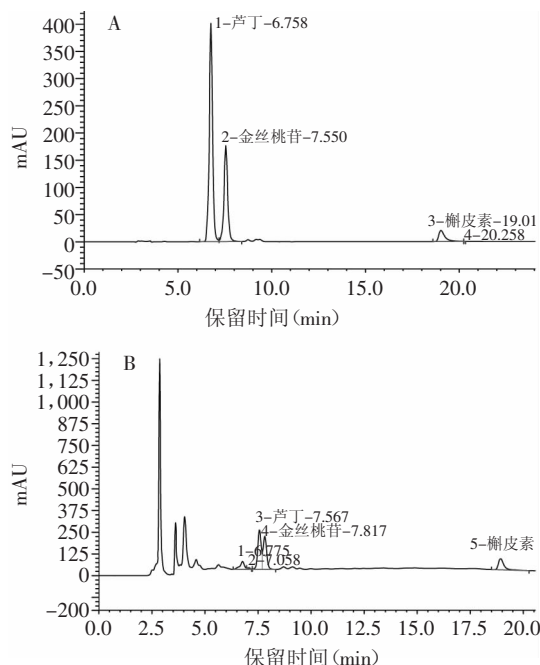


图1 黄酮混合标准溶液(A)和山楂黄酮提取液(B)色谱图
Fig.1 Chromatogram of flavonoid mixed standard solution (A) and hawthorn flavones extract (B)

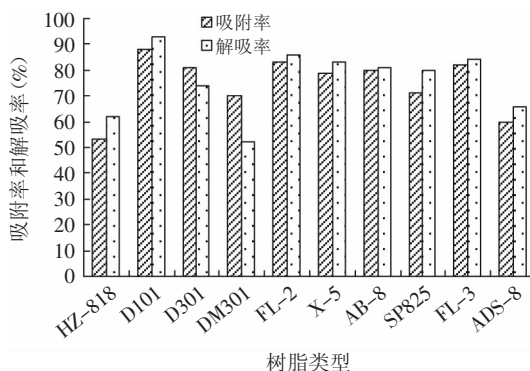


图2 不同大孔树脂对山楂黄酮的吸附率和解吸率
Fig.2 Adsorption and desorption ratio of different macroporous resin for hawthorn flavones

2.3 D101和FL-2动态吸附和解吸实验结果

D101型大孔树脂和FL-2型大孔树脂对山楂黄酮的动态吸附和解吸曲线见图3和图4所示, 从图4可以看出, 达到吸附饱和时, D101树脂吸附的山楂黄酮浓度高于FL-2树脂, 而2种树脂的解吸曲线没有多大

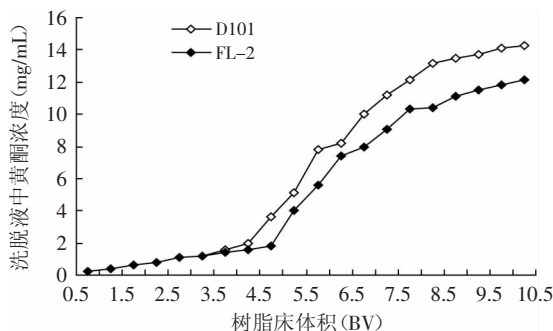


图3 D101和FL-2树脂的吸附泄漏曲线
Fig.3 Leakage adsorption curve of D101 and FL-2 resin

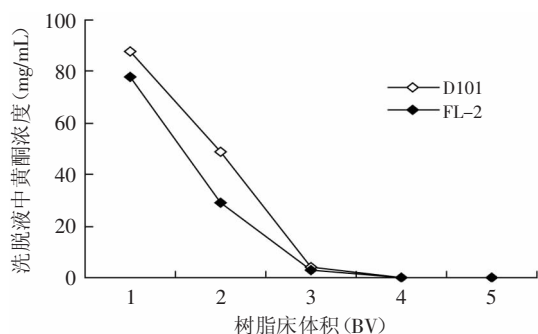


图4 D101和FL-2树脂的动态解吸曲线

Fig.4 Dynamic desorption curve of D101 and FL-2 resin

区别,在用4倍柱床体积的洗脱液洗脱后,基本解吸完全。

2.4 山楂黄酮提取液稀释倍数的影响

山楂黄酮提取液对解吸率影响的测定结果见图5,在山楂黄酮稀释倍数在10倍(黄酮浓度1.875mg/mL)以下时,随着稀释倍数的增加,黄酮吸附量和解吸率有提高的趋势,但提高的幅度较小,而黄酮稀释倍数超过10倍以后,吸附效率降低。黄酮稀释的增加提高了后继处理的难度,因此,山楂黄酮溶液可以不必进行稀释。

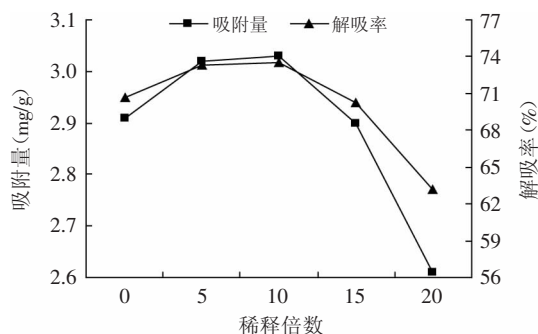


图5 山楂黄酮提取液稀释倍数对D101树脂吸附效果的影响

Fig.5 Effect of Hawthorn flavone extract dilution ratio on the absorption effect of the adsorption efficiency of D101 resin

2.5 pH对山楂黄酮吸附和解吸效果的影响

上样液pH对解吸率影响的测定结果见图6,当山楂黄酮溶液的pH为1~4时,山楂黄酮吸附量相对较

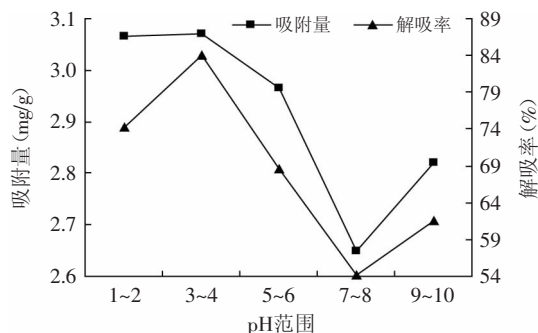


图6 料液pH对D101树脂吸附效果的影响

Fig.6 Effect of material liquid pH on adsorption efficiency of D101 resin

高,这可能是由于黄酮类化合物中含有酚羟基,在酸性条件下与树脂间的作用力增强的缘故^[19],而pH3~4的料液条件比pH1~2的条件温和,因此,选择pH3~4进行树脂纯化实验。

2.6 上样流速对山楂黄酮吸附和解吸效果的影响

上样流速对山楂黄酮吸附和解吸效果的影响见图7所示,由图7可知,由于实验中所选择的的上样流速比较低,在所选择的0.5~5BV/h范围内,相对低的上样流速有助于黄酮的吸附和解吸,可能是较慢的流速增加了黄酮和树脂接触的时间,提高了树脂的吸附效率,但过慢的流速增加了吸附时间,因此,综合考虑以上因素,选择上样流速为1BV/h进行树脂纯化实验。

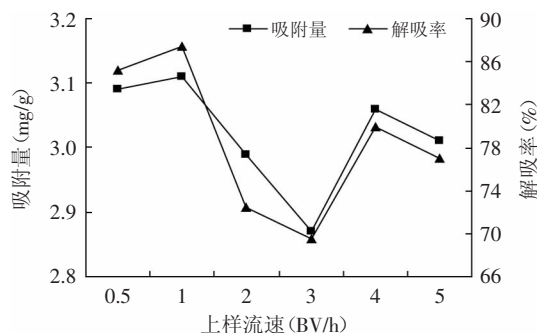


图7 上样流速对D101树脂吸附效果的影响

Fig.7 Effect of sample flow rate on adsorption efficiency of D101 resin

2.7 乙醇体积分数对吸附和解吸效果的影响

乙醇体积分数对黄酮解吸效果的影响见图8,当乙醇体积分数超过50%后,解吸率均达到70%以上,这与山楂黄酮的组成有关,本实验所用山楂果实主要含有芦丁和金丝桃苷2种黄酮类物质^[2],这类黄酮在70%~80%乙醇溶液中溶解性较好^[8],在本实验中,当乙醇体积分数从50%升高到90%时,山楂黄酮的吸附量和解吸率的增加幅度不大,考虑到山楂中芦丁和金丝桃苷的溶解度原因,选用75%的乙醇进行洗脱。

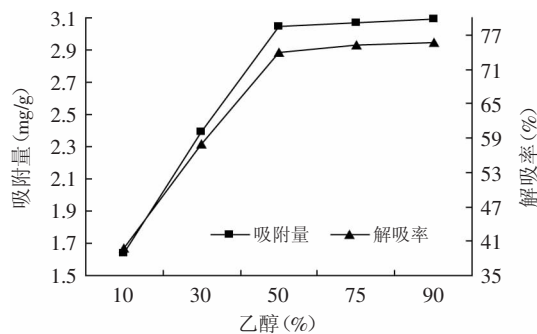


图8 乙醇体积分数对D101树脂解吸率的影响

Fig.8 Effect of ethanol volume fraction on desorption ratio of D101 resin

2.8 解吸流速对解吸效果的影响

解吸流速对解吸效果的影响如图9所示,在解吸

流速高于2BV/h后,黄酮解吸率随着洗脱液流速增加而增加,超过3BV/h时,解吸率增加趋势变缓,所以选择解吸流速为3BV/h为宜。

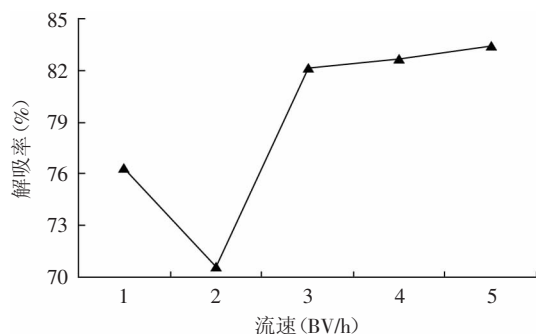


图9 解吸流速对解吸效果的影响

Fig.9 Effect of desorption rate on desorption efficiency

2.9 上样量对山楂黄酮吸附和解吸效果的影响

上样量对山楂黄酮吸附和解吸效果的影响如图10所示,当上样量超过3BV时,洗脱液中黄酮浓度开始增加,而当上样量超过4BV后,洗脱液中黄酮的浓度显著增加,说明此时大孔树脂对山楂黄酮的吸附趋近于饱和,之后随着上样量的增加,洗脱液中黄酮浓度缓慢增加,在6BV时达到吸附饱和。

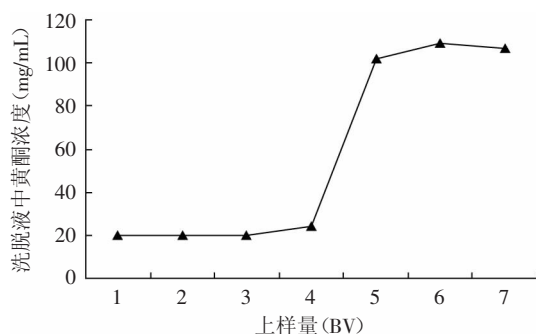


图10 上样量对D101树脂吸附效果的影响

Fig.10 Effect of sample volume on absorption efficiency of D101 resin

2.10 洗脱终点的确定

洗脱剂用量对山楂黄酮洗脱结果的影响见图11,随着洗脱剂用量的增加,洗脱液中黄酮浓度逐渐增加,在洗脱剂为1.5BV时达到最高点,当洗脱液用量为3BV时,山楂总黄酮基本洗脱完全。

2.11 纯化产物中总黄酮浓度分析

山楂黄酮提取液在优化条件(上样液浓度18.75mg/mL、pH3~4、上样流速1BV/h、洗脱液乙醇体积分数75%、洗脱液流速1BV/h)下进行纯化,结果见表1,纯化产物中总黄酮纯度为65.47%,回收率为

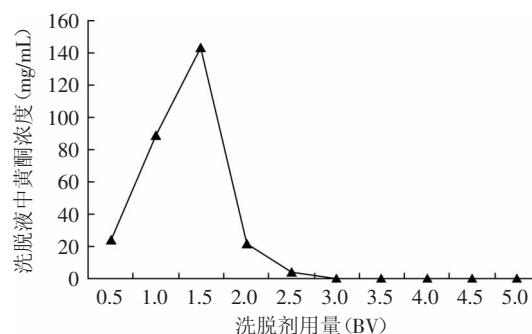


图11 山楂黄酮的解吸曲线

Fig.11 Desorption curve of hawthorn flavonoids

86.82%,且具有良好的重复性。

3 结论

3.1 比较了10种大孔吸附树脂对山楂黄酮的静态吸附和解吸效果,从中选出吸附效果较好树脂,并进一步通过动态吸附过程分析确定D101是最适合于山楂黄酮的吸附。

3.2 D101树脂吸附山楂黄酮的最佳工艺参数为:上样液浓度18.75mg/mL、pH3~4、上样流速1BV/h、洗脱液乙醇体积分数75%、洗脱液流速1BV/h;上样量达到6BV时,树脂达到吸附平衡,当洗脱液用量为3BV时,达到洗脱终点。

3.3 经D101树脂在最佳工艺条件下纯化后,山楂中芦丁、金丝桃苷和槲皮素的总纯度达到65.47%,回收率为86.22%。

参考文献

- [1] 冯凤莲,张卉朱. 山楂的研究进展[J]. 河北医科大学学报, 1997, 18(6): 383-385.
- [2] 王珍,李秀霞,李娇,等. 高效液相色谱法测定山楂中芦丁、金丝桃苷和槲皮素的含量[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 302-305.
- [3] 苏曼曼,于晓风,曲绍春,等. 分蘖葱头总黄酮对实验性高脂血症大鼠血脂代谢的影响[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(12): 1594-1597.
- [4] 叶希韵,张隆,沈菊,等. 山楂叶总黄酮对糖尿病小鼠糖脂代谢的影响[J]. 中草药, 2005, 36(11): 1683-1687.
- [5] 郭菁菁,杨秀芬. 黄酮类化合物对动物实验性肝损伤保护作用的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(1): 5-10.
- [6] 唐瑛,罗祖友,严奉伟,等. 藤茶总黄酮对小鼠的体内外抗氧化作用研究[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(12): 1449-1452.
- [7] 阎莉,郑作文,卫智权. 广西藤茶总黄酮对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药物应用与监测, 2008, 5(4): 5-7.
- [8] 韩秋菊. 山楂中黄酮类化合物提取工艺条件优化[J]. 化学与生物工程, 2012, 29(6): 85-87.

表1 纯化产物中山楂黄酮浓度

Table 1 Hawthorn flavone concentration of purified product

指标	冻干粉末取样量(g)	总黄酮浓度(mg/mL)	总黄酮纯度(%)	黄酮回收率(%)
纯度(%)	0.0165±0.0007	0.4321±0.0160	65.47±0.88	86.82±1.22

(下转第211页)

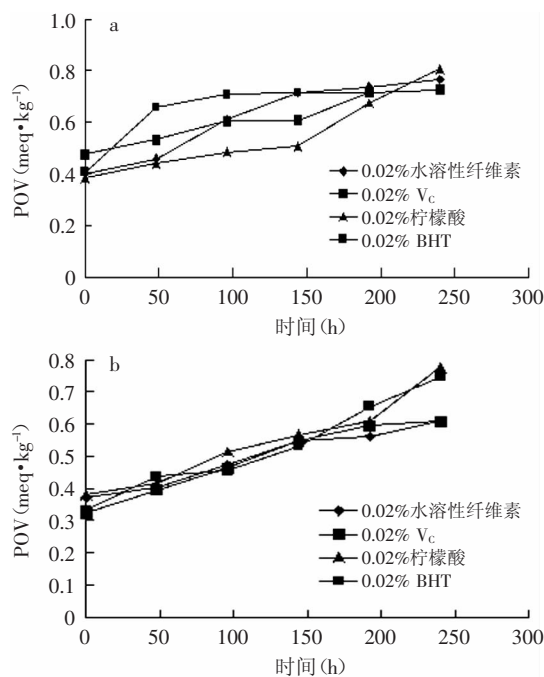


图7 不同抗氧化剂对油脂POV的影响

Fig.7 Effect of different antioxidants on lipid POV

注:a:不同抗氧化剂对猪油POV的影响;b:不同抗氧化剂对植物油POV的影响。

3 结论

通过单因素实验最终确定了影响水溶性膳食纤维提取率的主要的四个因素为加酶量、pH、酶解温度和酶解时间。在单因素的基础上通过二次正交旋转组合设计优化提取条件,其最佳提取条件为:料液比1:20g/mL、加酶量1.1%、酶解pH5.8、酶解温度55℃、酶解时间1.5h,坛紫菜膳食纤维提取率为9.80%±0.12%;坛紫菜中可溶性膳食纤维的持水率为276%,膨胀力为1.97mL/g。实验表明,坛紫菜水溶性膳食纤维对油脂具有抗氧化能力,有待进一步开发成天然抗氧化剂,为人类造福。

参考文献

[1] 陈必链,林跃鑫,黄健. 坛紫菜的营养评价[J]. 中国海洋药物,2001(2):51-53.
[2] 谢程亮,黄健,孙彬,等. 坛紫菜(红藻门,红毛菜纲)化学成分

分分析[J]. 中国海洋药物杂志,2009,28(1):29-35.

[3] 陆红佳,郑龙辉,刘雄. 超声波辅助酶结合碱法提取薯渣纤维素的工艺研究[J]. 食品工艺科技,2012,33(1):234-237.

[4] 侯伟伟,魏书信,王安建. 双酶改性制备玉米皮水溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(22):119-121.

[5] 牟建楼,王颖,孙剑锋. 响应面法优化纤维素酶提取苹果渣中水溶性膳食纤维[J]. 食品科学,2012,33(8):95-98.

[6] 雨丽娜,杨庆利,禹山林,等. 花生壳水溶性膳食纤维酶法提取及抗氧化研究[J]. 食品研究与开发,2010,31(10):158-163.

[7] 钱晓捷,陈舜胜,付杰. 坛紫菜中藻胆蛋白的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国海洋药物杂志,2008,27(2):42-45.

[8] SEIDNER D L, LASHNER B A, BRZEZINSKI A, *et al.* An oral supplement enriched with fish oil, soluble fiber, and antioxidants for corticosteroid sparing in ulcerative colitis: A randomized, controlled trial [J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2005, 3(4):358-369.

[9] 王勇杰,姚如永,张海平,等. 坛紫菜硫酸多糖对⁶⁰Co辐射引起的小鼠体内氧化应激的作用研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2004, 23(6):32-35.

[10] 韩俊娟,木泰华,张柏林. 膳食纤维生理功能的研究现状[J]. 食品科技,2008,33(6):243-245.

[11] ZHANG Zhongshan, ZHANG Quanbin, WANG Jing, *et al.* Chemical modification and influence of function groups on the *in vitro*-antioxidant activities of porphyrin from Porphyra haitanensis [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79:290-295.

[12] N Ozsoy, A Can, R Yanardag, *et al.* Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts[J]. Food Chemistry, 2008, 110: 571-583.

[13] LIM S N, CHEUNG P C K, OOI V E C, *et al.* Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquestrum* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50:3862-3866.

[14] 李颖畅,马春颖,孟宪军,等. 蓝莓花色苷提取物抗油脂氧化能力的研究[J]. 中国粮油学报,2010,25(2):92-95.

[15] 许晖,孙兰萍,张斌. 酶解法制备米糠膳食纤维[J]. 中国粮油学报,2007,22(4):117-120.

[16] 王钦德,杨坚. 食品实验设计与统计分析[M]. 北京:中国农业出版社,2010:297-348

[17] 朱世武. SAS编程技术教程[M]. 北京:清华大学出版社, 2007.

(上接第205页)

[9] 康毅华,王维龙,孟凡佳. 大孔吸附树脂富集山楂总黄酮的工艺研究[J]. 黑龙江医药,2010,23(3):383-386.

[10] 王晶. 大孔吸附树脂分离纯化中药牡丹皮总苷和山楂总黄酮的工艺研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2006.

[11] 吴华,奚玉石,张守勤. 大孔吸附树脂纯化山楂叶总黄酮[J]. 农机化研究,2008,11:139-142.

[12] 韩奇,蔡仲钦. 大孔吸附树脂分离纯化三七和山楂叶有效部位的工艺研究[J]. 中国中医药科技,2009,16(2):121-123.

[13] 邓亚杰,张长弓,李晓斌. 大孔吸附树脂分离纯化山楂总黄酮的研究[J]. 华中科技大学学报,2004,33(2):136-141.

[14] 赵艳菊,王艳辉. 大孔吸附树脂法纯化山楂黄酮的工艺研

究[J]. 化学与生物工程,2006,23(5):23-27.

[15] 张国梅. 大孔吸附树脂纯化山楂黄酮的研究[J]. 中药材, 2008,31(4):607-609.

[16] 赵立辉,武文洁,王君瑞. AB-8和FL-3对山楂叶中黄酮类物质的纯化研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(9):2377-2378.

[17] 董恒颖,王莹. ADS系列大孔吸附树脂纯化山楂叶总黄酮工艺研究[J]. 天津药学,2010,22(5):67-73.

[18] 张吉祥,白晓杰,周秋香. FL-2大孔树脂对山楂总黄酮的分离纯化研究[J]. 北京中医药大学学报,2009,32(1):62-64.

[19] 江敏,胡小军,林彩霞,等. 树脂法分离纯化荔枝核黄酮[J]. 食品与发酵工业,2013,39(3):206-209.