

大孔吸附树脂纯化绿茄叶黄酮的工艺研究

莫天录¹, 薛林贵^{1*}, 高 慧², 李彩霞³, 李旭东¹, 李文伟¹, 李国强¹, 杨蕊琪¹

¹兰州交通大学化学与生物工程学院, 兰州 730070;

²兰州大学 生命科学学院, 兰州 730020; ³河西学院农业与生物技术学院, 张掖 734000

摘要: 研究大孔吸附树脂纯化绿茄叶黄酮粗提取物的最佳工艺。通过比较 10 种大孔吸附树脂纯化黄酮粗提取物的吸附及解吸性能, 筛选出纯化树脂 XDA-1, 并考察 XDA-1 树脂对黄酮粗提取物的静态、动态吸附与解吸的性能。结果表明, XDA-1 树脂对黄酮粗提取物纯化的最佳工艺参数: 吸附平衡时间 8 h, 吸附浓度 2.00 mg/mL, pH 值 3.0, 温度 25 °C, 上样流速 2 BV/h; 解吸平衡时间 2 h, 解吸剂为 pH 值为 3.0 的体积分数 80% 的乙醇溶液, 解吸流速 3 BV/h, 纯化倍数 2.37。该研究证实大孔吸附树脂纯化绿茄叶黄酮的方法简单可行, 为绿茄叶黄酮的分离纯化提供了实验依据。

关键词: 大孔吸附树脂; 绿茄叶; 黄酮; 纯化

中图分类号: Q283.6

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.03.033

Purification of Flavonoids from Green Eggplant Leaves Using Macroporous Resin

MO Tian-lu¹, XUE Lin-gui^{1*}, GAO Hui², LI Cai-xia³, LI Xu-dong¹, LI Wen-wei¹, LI Guo-qiang¹, YANG Rui-qi¹

¹*School of Chemical and Biological Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou, 730070, China;*

²*School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China;*

³*School of Agriculture and Biotechnology, Hexi University, Zhangye 734000, China*

Abstract: The optimal conditions for purifying flavonoids from green eggplant leaves using macroporous resin were studied. The absorption and desorption properties of 10 different macroporous resins for purifying flavonoids from green eggplant leaves were compared. The results showed that XDA-1 had the best adsorption and desorption performance. Furthermore, the static and dynamic absorption and desorption properties of XDA-1 on flavonoids were investigated. The optimal conditions for the separation and purification of flavonoids from green eggplant leaves were listed as follows: equilibrium adsorption time, 8 hrs; concentration, 2.00 mg/mL; pH, 3; temperature, 25 °C; velocity of sample solution, 3 BV/h; equilibrium desorption time, 2 hrs; elution velocity, 3 BV/h; and mobile phase solvent, using 80% aqueous ethanol (pH = 3). The flavonoid content in the purified product was 2.37 times higher than that in the raw material. In conclusion, our study provided a simple and feasible purification method for purifying flavonoids from the leaves of green eggplant.

Key words: macroporous resin; green eggplant leaves; flavonoids; purification

茄子 (*Solanum melongena* L.) 别名落苏、昆仑紫瓜、矮瓜、草鳖甲、吊菜子等, 是以浆果为产品的一年生草本植物, 广泛种植于地中海、亚洲、中欧和东南欧地区^[1]。而茄叶是茄子生产的下脚料, 资源丰富, 且茄子采收后, 其茎、叶、根腐烂在田埂上或者被农户作为烧柴, 使得资源附加值变低。因此, 从茄叶中分离并纯化黄酮具有一定的开发价值。

黄酮类化合物是植物重要的次级代谢产物, 广

泛存在于植物的各个器官。研究发现黄酮类化合物具有抗氧化、抗感染、抗癌、抗炎^[2]、保肝^[3]以及防止心血管疾病^[4]等多种生理功能, 因而黄酮被称为“第七类营养素”。目前, 黄酮类化合物大多来源于药用植物, 也有来源于生物质和果实的报道^[5,6]。由于黄酮具有很好的医药保健等功能, 因此从生物质资源中提取并纯化黄酮, 可以变废为宝, 解决黄酮提取材料不足等问题。

大孔吸附树脂具有容量大、选择性好、吸附率高、重复性好、解吸容易、理化性质稳定等优点。近年来, 大孔吸附树脂分离技术已成为天然活性成分

收稿日期: 2014-07-24

接受日期: 2015-01-06

基金项目: 国家自然科学基金 (31260135); 国家中医药管理局 2012 年中医药行业科研专项 (201207002)

* 通讯作者 Tel: 86-931-4938619; E-mail: xuelg@mail.lzjtu.cn

分离纯化的有效方法之一。目前,大孔树脂已应用在樱桃叶、香椿叶、桑叶、竹叶、侧柏叶等的黄酮类粗提物的纯化,但有关纯化绿茄叶黄酮的工艺研究还未见报道,本文研究了大孔吸附树脂对绿茄叶黄酮粗提物的吸附与解吸附情况,并确立了其纯化工艺参数,为茄叶活性成分的开发利用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料

绿茄叶采于河西学院农业与amp;生物技术学院试验园,叶子清洗后阴干,粉碎过筛(60目),避光备用。

1.1.2 试剂

芦丁(Rutin)购自Sigma公司,其余试剂均为国产分析纯;X-5、AB-8、NKA-9、NKA-II、D4020、D3520、D101大孔吸附树脂,天津南开大学化工厂产品;XDA-1、LX-38、ADS-17大孔吸附树脂,西安蓝晓科技有限公司。

1.1.3 仪器

SHZ-2000型双配套循环水式多用真空泵,河南省巩义市英峪予华仪器厂;DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱,上海恒科有限公司;Spectrumlab24分光光度计,上海棱光技术有限公司;HH-4数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;AE200电子分析天平,瑞士Mettler Toledo公司;层析柱Φ15×30mm上海亚荣生化仪器厂;RG-2000A旋转蒸发器,巩义市京华仪器有限责任公司;HZQ-X400恒温振荡培养箱,太仓市华美生化仪器厂;AP-9925无油真空泵,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;HD-97-1紫外检测仪,上海康华生化仪器厂。

1.2 黄酮的提取与amp;测定

1.2.1 黄酮粗提取物的提取流程

绿茄叶粉末→75%乙醇回流提取→减压浓缩(45℃,0.08Mpa)→真空干燥→黄酮粗提物→4℃低温保存

1.2.2 黄酮的测定

1.2.2.1 黄酮标准曲线绘制

标准曲线的制作方法参照文献^[7],准确称取芦丁标准品20.0mg,用70%乙醇溶解,转移至100mL容量瓶中,并定容至刻度,即芦丁标准品的质量浓度为0.20mg/mL,冷藏备用。精确吸取芦丁标准溶液1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00mL,分别置于10mL容量瓶中,加入5%亚硝酸钠溶液0.3mL,摇匀,

静置6min;然后加入10%硝酸铝溶液0.3mL,摇匀,静置6min;再加入4%氢氧化钠4.00mL,用30%乙醇定容至刻度,摇匀,静置15min,以试剂空白为参比,在波长510nm处测定吸光度。以吸光度(y)为纵坐标,芦丁的质量(x,mg)为横坐标,制作标准曲线。

1.2.2.2 粗提物总黄酮含量的测定

准确移取0.2mL待测提取液于10mL容量瓶中,根据1.2.2.1的方法测定波长510nm处的吸光度,根据公式(1)计算绿茄叶中总黄酮的含量 C_0 。

$$\text{黄酮含量}(\%) = \frac{C \times V \times N}{W \times v \times 1000} \times 100 \quad (1)$$

式中:C:提取液中黄酮含量(mg) V:总样品体积(mL) W:样品重量(g) v:测定的样品体积(mL) N:稀释倍数。

1.3 最佳树脂类型的筛选

1.3.1 树脂的预处理

大孔吸附树脂用无水乙醇浸泡24h,充分溶胀,用无水乙醇淋洗至析出液加适量水(1:5)无白色浑浊为宜,用去离子水洗至无醇,然后用5% HCl浸泡3h,用去离子水洗至中性,再用2% NaOH浸泡3h,再用去离子水洗至中性,沥干树脂中水分备用。

1.3.2 10种大孔吸附树脂吸附率和解吸率的测定

准确称取10种预处理树脂各3份,每份2.0g,置于100mL三角瓶中,分别加入15mL提取液,并测定波长510nm处吸光度 A_0 ,封口,置于25℃,150r/min的恒温振荡吸附24h,充分吸附后过滤,测滤液吸光值 A_1 ;再向滤出树脂中加入70%乙醇溶液,封口,继续振荡24h,充分解吸后过滤,测滤液的吸光值 A_2 ,得到黄酮含量 C_1 、 C_2 ,按公式(2)计算吸附率 α 、解吸率 β ^[8]。

$$\alpha(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\%$$

$$\beta(\%) = \frac{C_2}{C_0 - C_1} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.3 静态吸附-解吸试验

1.3.3.1 静态吸附试验

称取2.0g预处理树脂XDA-1,置于50mL三角瓶中,以吸附时间、pH、浓度、温度为单变量,加入15mL粗提液,各3份,封口,在25℃,150rpm恒温振荡箱中振荡吸附,按1.2.2.1方法测定黄酮含量,并计算吸附率。分别以吸附率对时间、pH、浓度、温度作图,绘制静态吸附曲线。

1.3.3.2 静态解吸试验

称取 2.0 g 吸附饱和树脂 XDA-1, 置于 50 mL 三角瓶中, 以解吸时间、解吸剂体积分数、pH 值为单变量, 加入 15 mL 乙醇洗脱液, 同上条件解吸, 按 1.2.2.1 方法测定黄酮含量, 并计算解吸率。分别以解吸率对时间、解吸剂 pH、解吸剂体积分数作图, 绘制静态解吸曲线。

1.3.4 动态吸附-解吸试验

1.3.4.1 动态吸附试验

预处理的树脂 XDA-1, 湿法装柱(层析柱内径 1.5 cm, 树脂高 11 cm, 柱床体积 20 mL), 以 20 BV 去离子水除杂后, 取质量浓度为 2.02 mg/mL 黄酮粗提取液上柱纯化, 分别以 1、2、3 BV/h 的流速上柱。每隔 10 管取一管, 按 1.2.2.1 方法测定黄酮含量, 测定流出液黄酮的含量, 至流出液浓度接近上样液浓度且维持恒定, 停止上样。以流出液柱床体积为横坐标, 流速为变量, 黄酮含量为纵坐标, 绘制动态吸附曲线。

1.3.4.2 动态解吸试验

装柱、除杂同 1.3.4.1 的方法。上样以 3 BV/h 流速至流出液为上样液质量浓度为 1/5 时, 停止上柱。先以 20 BV 去离子水冲洗, 再分别以 1、2、3 BV/h 流速的 80% 乙醇 (pH = 3) 洗脱, 每隔 5 管取一管, 同上, 绘制动态洗脱曲线。

1.3.5 纯化后黄酮的纯度

称取粗提取物和纯化物各 0.25 g, 用体积分数为 70% 乙醇溶解并定容, 各取 0.1 mL, 按 1.2.2.1 方法测定黄酮含量, 并计算出纯化倍数。

1.3.6 树脂的重复次数

称取 2.00 g XDA-1 预处理树脂, 以吸附次数为变量, 步骤同 1.3.3.1, 吸附-解吸后, 继续取解吸后的树脂重复操作。

1.3.7 数据分析

采用 Excel 2003 数据处理, Origin 8.0 作图, 使

用 SPSS 16.0 统计分析软件进行分析, 各树脂间的显著性差异采用新 Duncan 复极差法比较, 以上指标测定均重复三次, 图中数据均为三次重复的均值加标准差。

2 实验结果

2.1 最佳树脂类型的筛选

不同的树脂对吸附液中各组分的吸附强弱与解吸难易存在差异^[9]。影响因素很多, 包括树脂的极性、比表面积、粒径、孔径、被吸附物的极性、分子大小。通常, 被吸附物的极性与树脂的极性相同或相近时, 吸附效果较好; 树脂孔径是被吸附分子大小的多倍数时吸附性能最好。因此筛选树脂时要综合考虑树脂的比表面积、极性、孔径等因素, 多数黄酮类化合物分子极性不太高, 在弱极性或非极性树脂上会有更好的吸附效果^[10]。由标准曲线得到回归方程: $Y = 1.0256X + 0.0195$, $R^2 = 0.9989$, 据此选择最佳吸附树脂结果见图 1。推测: 树脂 NKA II 相比其他极性树脂, 其比表面积最小, 吸附效果差; X-5 树脂比表面积稍大于 D101 树脂, 因此 X-5 树脂对黄酮化合物的吸附量略大。而 X-5 树脂比表面积虽是 NKA-9 树脂的 2 倍, 可能 NKA-9 树脂孔隙略大的原因, 使其吸附率大一些; X-5 树脂是非极性, 相比 AB-8 树脂略强, 可能 X-5 树脂与茄叶黄酮的极性相近, 故吸附率高; 非极性树脂中, XDA-1 树脂比表面积大于其余树脂, 使其吸附、解吸效果明显。如图 1 所示, 采用 Duncan 新复极差法进行比较, 从吸附率看, NKA-9 与其它树脂相比较差异显著 ($P < 0.05$); 从解吸率看, NKA II 与其它树脂间差异显著 ($P < 0.05$), 虽然 NKA-9 吸附率最高, 但解吸率低于 XDA-1, NKA II 解吸率最高, 但吸附率也低于 XDA-1。综合吸附率和解吸率两个参数, 认为 XDA-1 类型树脂是比较好的吸附树脂, 故以下实验重点考察 XDA-1 大孔树脂对绿茄叶黄酮的纯化效果。

表 1 吸附树脂的物理性质

Table 1 Physical properties of the adsorption resin

树脂型号 Model resin	外观 Exterior	极性 Polarity	比表面积 The specific surface area (m ² /g)	平均孔径 The average pore size (nm)	孔隙率 Porosity (%)	孔隙 Pore (m ² /g)	粒径范围 Size range (mm)
AB-8	乳白色球状颗粒	弱极性	480 ~ 520	130 ~ 140	42 ~ 48	0.73 ~ 0.77	0.315 ~ 1.25
NKA-9	乳白色至微黄色	极性	250 ~ 290	155 ~ 165	46 ~ 50	15.5 ~ 16.5	0.315 ~ 1.25
X-5	乳白色球状颗粒	非极性	500 ~ 600	290 ~ 300	50 ~ 60	1.20 ~ 14	0.315 ~ 1.25
D4020	乳白色球状颗粒	非极性	540 ~ 580	100 ~ 105	74 ~ 78	2.88 ~ 2.92	0.315 ~ 1.25

NKA-II	红棕色球状颗粒	极性	160~200	145~155	-	-	0.315~1.25
D101	乳白色球状颗粒	非极性	500~550	90-100	65-75	1.18~1.24	0.3~1.25
XDA-1	棕红色球状颗粒	非极性	1200~1300	85~95	70-80	-	0.3~1.25
D3520	乳白色球状颗粒	非极性	480~520	85~90	65~70	2.10~2.15	0.3~1.25
ADS-17	乳白色球状颗粒	非极性	90~150	5~30	64~68	0.74~0.78	0.3~1.25
LX-38	乳白色球状颗粒	弱极性	480~520	25-30	65-75	-	0.3~1.25

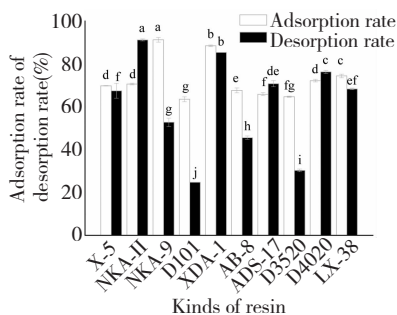


图1 10种大孔吸附树脂对绿茄叶黄酮吸附率和解吸率的影响

Fig. 1 Effect of 10 macroporous resins on absorption and desorption rates of flavonoids from green eggplant leaves

注:不同字母表示差异显著($P < 0.05$);同一字母代表差异不显著($P > 0.05$)。

Note: different letters indicated significance difference at $P < 0.05$, same letters indicated no significant difference at $P > 0.05$.

2.2 静态吸附试验

2.2.1 时间对 XDA-1 树脂吸附黄酮的影响

XDA-1 树脂纯化黄酮粗提物吸附时间的试验,结果如图 2(A)所示。随着时间的延长,吸附逐渐达到饱和。当吸附 7 h 时,XDA-1 树脂对绿茄叶黄酮的吸附率高达 89.91%,8 h 黄酮的吸附率达到平衡。因此,后续吸附时间采用 8 h。

2.2.2 粗提液 pH 值对 XDA-1 树脂吸附黄酮的影响

分别将黄酮粗提取液的 pH 值调至 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0,XDA-1 树脂对黄酮吸附的结果如图 2(B)所示。当 pH 值为 3.0 时,吸附率最大,吸附效果最好,随 pH 升高吸附率呈下降趋势。可能因为黄酮类化合物含有酚羟基,呈现一定的酸性,在微酸性条件下以分子形式存在容易被树脂吸附^[11]。当 pH 值再增大到中性至碱性,黄酮类化合物容易转变为伴盐,而以盐的形式存在不易被树脂吸附,且黄酮分子上的酚羟基容易被氧化而使溶液颜色变深^[12]。故上样液的 pH 值应控制在 3.0 左右。

2.2.3 温度对 XDA-1 树脂吸附黄酮的影响

研究温度对吸附的影响,对进一步阐明树脂的

吸附作用机理和热力学具有重要意义。将装入黄酮粗提取液和树脂的锥形瓶分别置于温度为 25、30、35、40、45 °C 的摇床中振荡吸附,结果如图 2(C)所示。温度对黄酮的整体影响较大,在 25 °C 时吸附率最高,可能因为温度较低时,黄酮类化合物相对比较稳定。因此,上样液温度以 25 °C 效果最佳。

2.2.4 浓度对 XDA-1 树脂吸附黄酮的影响

固定其它因素,分别配制质量浓度为 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00 mg/mL 的黄酮提取液(pH 3.0),考察黄酮质量浓度对 XDA-1 树脂吸附性能的影响,其结果如图 2(D)所示。绿茄叶黄酮的吸附率随黄酮质量浓度的升高,呈先上升后平衡的趋势。在 2.00 mg/mL 时最高,此后波动不大,可能因为浓度过大,黄酮向树脂内的扩散速度减慢,容易使过饱和而成糊状,对树脂的孔隙产生了影响^[13];其次浓度太大会使杂质竞争吸附,黄酮物质在树脂内部的扩散能力会降低,而且随着质量浓度的增加,将加重浓缩工艺负荷,造成质量浓度过高而引起上样困难^[11]。因此,质量浓度为 2.00 mg/mL 吸附效果最佳。

2.3 静态解吸试验

2.3.1 洗脱液 pH 值对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响

分别配制 pH 值为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 的体积分数为 70% 乙醇溶液,考察洗脱液 pH 值对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响,其结果如图 3(A)所示。随着洗脱液 pH 值的增加黄酮的解吸率先下降后升高,可能乙醇减弱了黄酮与树脂之间的吸附力,同时酸的电离作用将增加乙醇溶液的极性从而增大树脂的解吸率,而碱的电离作用产生的 OH⁻ 极性效果低于 H⁺ 的效果,故酸性溶液中的黄酮类化合物易被解吸出来。因此,宜选用 pH = 3.0 的乙醇溶液作为洗脱剂。

2.3.2 时间对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响

时间对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响,结果如图 3(B)所示,2 h 时,绿茄叶黄酮的解吸率达到最高,

随后解吸率维持恒定,从提高效率和经济性的原则

出发,因此解吸时间选择 2 h。

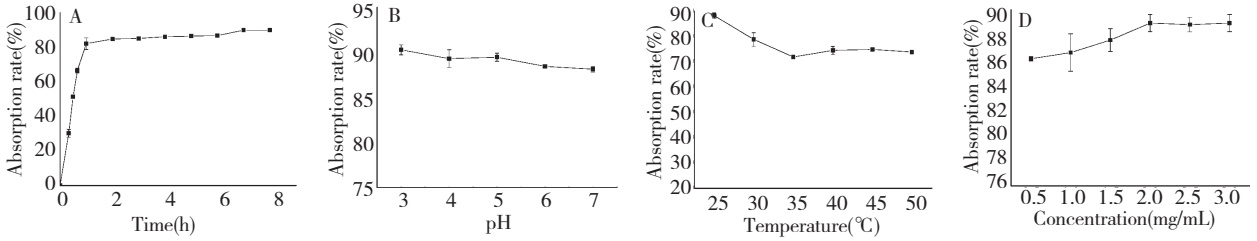


图 2 时间 (A)、pH (B)、温度 (C) 及浓度 (D) 对绿茄叶黄酮吸附率的影响

Fig. 2 Effects of time (A), pH (B), temperature (C) and concentration (D) on absorption rate of flavonoids from green eggplant leaves

2.3.3 乙醇体积分数对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响

分别配制体积分数为 60%、70%、80%、90%、100% (pH = 3) 的乙醇溶液,考察乙醇体积分数对 XDA-1 树脂解吸黄酮的影响,其结果如图 3 (C) 所示。随着乙醇体积分数的升高,解吸率呈先升高后下降的趋势。当洗脱液为体积分数 80% 乙醇溶液

时,解吸率最高。可能是黄酮类化合物与树脂间的强烈氢键作用,导致吸附在树脂上的黄酮类成分不容易被水和低浓度的乙醇洗脱下来^[14],而无水乙醇洗脱时解吸率明显下降,这可能是由于提取液含有水溶性黄酮类化合物,故洗脱液宜选体积分数为 80% (pH = 3) 的乙醇溶液。

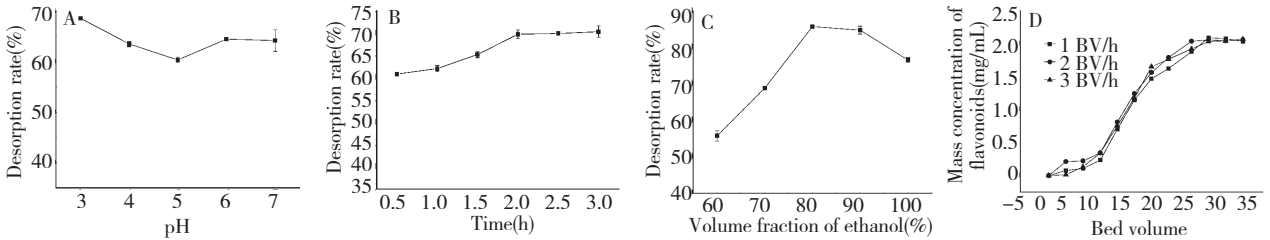


图 3 pH (A)、时间 (B)、洗脱剂体积分数 (C) 及上样流速 (D) 对绿茄叶黄酮解吸率的影响

Fig. 3 Effects of pH (A), time (B), ethanol volume fraction (C) and velocity of sample solution (D) on desorption rate of flavonoids from green eggplant leaves

2.4 XDA-1 树脂动态吸附曲线

XDA-1 树脂对绿茄叶黄酮的动态吸附曲线如图 3 (D) 所示,均呈特殊的“S”型,流速 2 BV/h 时趋势最好。当上柱体积为 10 BV 时,流出液的质量浓度为 0.42 mg/mL,接近上柱液质量浓度的 1/5,达到了泄漏点的质量浓度。因此,XDA-1 树脂对质量浓度为 2.02 mg/mL 粗提液的处理能力是 10 BV。当吸附 27 BV 时,流出液质量浓度趋于平衡吸附达到饱和,此时即为上样的终点。

2.5 XDA-1 树脂动态解吸曲线

结果如图 4 所示,用 80% 乙醇洗脱,流速 3 BV/h 时峰值最高,黄酮含量的峰值出现在 1 ~ 10 BV,峰尖而宽,峰左侧线性增加,表明急速洗脱,在 2.3 BV 时,黄酮含量最高,洗出液颜色为金黄色。在 14 BV 后,黄色逐渐消失,表明绝大部分黄酮已被解吸,因此 14 BV 为合理的洗脱剂量。

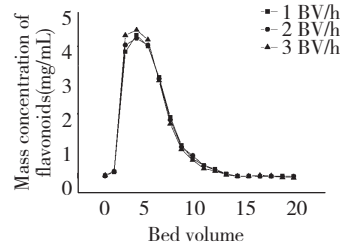


图 4 XDA-1 树脂动态解吸曲线

Fig. 4 Dynamic desorption curve of XDA-1

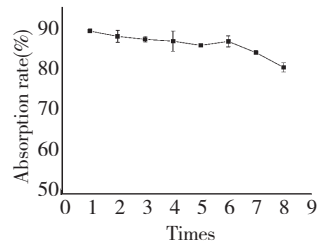


图 5 XDA-1 树脂重复次数

Fig. 5 XDA-1 resin repetitions

2.6 大孔吸附树脂的重复次数

XDA-1 树脂重复使用次数如图 5 所示,树脂使用次数在 1~6 次之间时,黄酮的吸附率变化幅度较小,使用 6 次以后,吸附性能急剧下降,说明 XDA-1 树脂可重复使用 6 次。

3 结论

10 种供试大孔树脂中,XDA-1 树脂对绿茄叶黄酮粗提物有较好的吸附和解吸性能,吸附量为 14.50 mg/g,解吸率为 85.29%,因此 XDA-1 树脂适合绿茄叶黄酮粗提物的纯化。XDA-1 树脂纯化绿茄叶黄酮粗提取的最佳工艺参数:吸附平衡时间 8 h,吸附浓度 2.00 mg/mL,pH 值 3.0,温度 25 ℃,上样流速 2 BV/h;解吸平衡时间 2 h,解吸剂乙醇的体积分数为 80%,pH 值 3.0,解吸流速 3 BV/h。此条件下的纯化物浸膏中黄酮的质量浓度为 5.68 mg/mL,纯化倍数为 2.37。目前生物活性物质的纯化是我们亟待解决的问题,本课题主要研究了树脂法纯化绿茄叶黄酮粗提物的工艺过程,后续将比较树脂纯化前、后黄酮的抗氧化能力和抑菌能力以及其组分。

参考文献

- 1 Wei XS(魏小伞),Cao BH(曹必好),Lei JJ(雷建军),*et al.* Research progress on disease resistance breeding of eggplant. *China Vegetables*(中国蔬菜),2010,5;1-8.
- 2 Czaplińska M,Czepas J,Gwoździński K. Structure,antioxidative and anticancer properties of flavonoids. *Postepy Biochem*,2012,3;235-244.
- 3 Akachi T,Shiina Y,Ohishi Y,*et al.* Hepatoprotective effect of flavonoids from *shekwasha* (*Citrus depressa*) against D-galactosamine-induced liver injury in rats. *J Nutr Sci Yitami-nol* (Tokyo),2010,56;60-67.
- 4 Majewska-Wierzbicka M,Czczot H. Flavonoids in the preventing and treatment cardiovascular diseases. *Pol Merkur Lekarski*,2012,32;50-54.
- 5 Wang KQ(王克勤),Liu ZH(刘仲华),Luo JW(罗军武),

et al. Study on separating and purification of flavonoid from *Apium graveolens* L with xda-1 macroporous adsorbing resin. *Food Machine*(食品与机械),2007,32;65-69.

- 6 Ma YM(马彦梅),He YX(何艳熙),Li H(李红),*et al.* Adsorption and desorption of *Angustifolia* flavonoid with XDA-1. *Chin Tradit Plant Med* (中成药杂志),2010,1;135-137.
- 7 Gao HN(高海宁),Li CX(李彩霞),Zhang Y(张勇),*et al.* Antioxidant activity of the pigment from "Black Beauty" Potato. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2012,24;224-228.
- 8 Xie H(谢宏),Liu J(刘镜),Song C(宋宸). Purification of saponins from *Ginseng* seeds by macroporous adsorption resin. *J Food Ind* (食品工业),2014,5;176-179.
- 9 Yin ZP(尹忠平),Shangguan XC(上官新晨),Zhang YH(张月红),*et al.* Purification of triterpenoids from *Cyclocarya paliurus* leaves by macroporous resin adsorption. *Food Sci*(食品科学),2011,32;161-165.
- 10 Tang JP(汤建萍),Zhou CS(周春山),Ding LW(丁立稳). Study of separating and purifying properties of macroporous adsorption resins for flavonoids in litchi seed. *Ion Exchange Adsorp*(离子交换与吸附),2006,22;551-559.
- 11 Lv QJ(吕群金),Yi JR(衣杰荣),Ding Y(丁勇). Macroporous resin adsorption for separation of polyphenols in *Carambola* dregs. *Food Sci* (食品科学),2010,31;39-42.
- 12 Chen CJ(陈丛瑾),Huang KY(黄克瀛),Li JJ(李姣娟),*et al.* The separation and purification of total flavonoids from *Toona sinensis* (A. JUSS.) roem leaves by macroporous adsorption resins. *Ion Exchange Adsorp* (离子交换与吸附),2008,24;335-344.
- 13 Jing Y(景怡),Jing RQ(景荣琴),Ren Y(任远),*et al.* Study on the separation and purification the total flavonoids in the stigma maydis by AB-8 macroporous absorption resins. *Acta Chin Med Pharm*(中医学报),2010,38;75-78.
- 14 Hu MM(胡明明),Zhang GW(张国文),HE L(何力). The purification of polyphenols from peanut shell by macroporous resin. *Food Sci Tech* (食品科技),2011,36;197-200.