

韦 贤,李 容,钱 力,等. 百色马缨丹花色素的提取工艺及稳定性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):270-273.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.098

百色马缨丹花色素的提取工艺及稳定性

韦 贤,李 容,钱 力,王金妮,黄祖良
(右江民族医学院药学院,广西百色 53300)

摘要:通过对马缨丹花色素的提取工艺进行研究,确定超声波辅助提取百色马缨丹花色素的最佳工艺条件:液料比 1 g : 60 mL,超声波功率 120 W,乙醇体积分数为 50%,提取时间 40 min。色素的稳定性研究结果表明:色素在酸性、低温条件下稳定,且耐光性好; K^{+} 、 Na^{+} 、 Ca^{2+} 的存在不会影响色素稳定性, Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子、氧化剂和还原剂的存在以及高温、碱性条件会影响色素稳定性。

关键词:马缨丹;色素,提取;稳定性

中图分类号: TS202.3;R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0270-03

马缨丹(*Lantana camara* L.)别称五色梅、臭牡丹、五彩花等,原产于美洲热带和亚热带地区,其花期长,全年均能开花,花色丰富、美丽多彩,每朵花从花蕾期到花谢期可变换多种颜色,1645 年由荷兰引入台湾作为观赏花卉,后逃逸为野生^[1]。目前,野外逸生的马缨丹在我国南方低海拔沿海一带的山区比较常见,在我国云南省、广西壮族自治区、台湾、福建省等地大量繁殖,尤其是在我国云南省、广西壮族自治区。马缨丹已被列为Ⅱ级危害程度的外来入侵植物,并被视为世界上十大有害毒草之一^[2-3]。然而目前对其逸生种类的了解较少,至今尚未有相关报道^[4]。马缨丹花中含有丰富的天然色素,该色素水溶性好、色值高,具有研究开发价值。目前,从马缨丹花中提取色素及其对色素稳定性方面的研究尚未见报道。因此,本研究对马缨丹花色素的提取工艺和稳定性进行研究,旨在为该花卉资源的可持续利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

马缨丹花朵采自广西壮族自治区百色市右江区永乐乡附近公路沿线,将花朵阴干,粉碎后置干燥避光处备用;乙醇、丙酮、乙酸乙酯、氢氧化钠、盐酸、过氧化氢、硫酸锌、硫酸铜、亚硫酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙、氯化铁均为国产分析纯。

主要仪器为:FA1 104 型电子分析天平,上海天平仪器厂;FZ102 型植物粉碎机,上海锐丰仪器仪表有限公司;3-18K 型离心机,Sigma 公司;pHS-3C 型 pH 计,上海雷磁仪器厂;KQ500DB 型数控超声波清洗器,江苏省昆山市超声仪器有限公司;RE-52AA 型旋转蒸发仪,上海安亭实验仪器有限公司;FD-1A-50 型真空冷冻干燥机,上海比朗仪器有

限公司;HHS-21-4 型电热式恒温水浴锅,江苏金坛宏凯凯器厂;SHB-m 型循环水式多用真空泵,河南省郑州市长城科工贸有限公司;TU-1800 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程 自然风干的马缨丹花朵→粉碎→加入溶剂拌匀→超声波提取→减压抽滤→离心(取少量测吸光度)→减压浓缩→低温真空干燥→固体(马缨丹花色素)。

1.2.2 确定最大吸收波长 取 5 份 1.0 g 马缨丹花,各加入 100 mL 不同浓度的乙醇作提取溶剂,室温浸提 2 h,减压抽滤,得色素原液,以提取溶剂为空白对照,在 400~700 nm 范围内扫描吸收光谱。

1.2.3 单因素试验 称取 5 份 1.0 g 已经风干、粉碎的马缨丹花,在不同浓度的乙醇溶液、乙醇溶液体积、超声波功率、提取时间的条件下进行单因素试验,提取完成后抽滤所得溶液,取 5 mL 滤液定容至 50 mL,测吸光度。(1)乙醇体积分数分别为 0、25%、50%、75%、95%,体积为 100 mL,在功率 90 W 条件下超声波提取 30 min;(2)20、40、60、80、100 mL 质量浓度为 75%的乙醇,在超声功率 90 W 的条件下提取 30 min;(3)乙醇体积分数为 75%,体积 60 mL,超声功率分别为 60、90、120、150、180 W,提取 30 min;(4)乙醇体积分数为 75%,体积 60 mL,在超声功率为 90 W,提取时间分别为 10、20、30、40、50 min。色素的提取效果用最大吸收波长处的吸光度来表示^[5],通过试验考察乙醇浓度、固液比、超声功率、超声时间对马缨丹色素提取效果的影响。

1.2.4 正交试验 根据单因素试验结果,设置因素水平范围,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,确定马缨丹色素提取的最佳工艺条件(表 1)。

表 1 马缨丹花色素提取工艺的因素水平

水平	因素			
	A:乙醇体积 分数(%)	B:料液比 (g : mL)	C:超声波 功率(W)	D:提取时间 (min)
1	50	1 : 40	90	20
2	75	1 : 60	120	30
3	95	1 : 80	150	40

收稿日期:2014-06-05

基金项目:广西壮族自治区教育科研一般项目(编号:2013YB191)。

作者简介:韦 贤(1981—),男,广西河池人,讲师,从事药理学教育及中草药有效成分及活性研究。E-mail:wei700@126.com。

通信作者:黄祖良,教授,从事高校药理学教育及中草药有效成分及药物活性研究。E-mail:yhmzl0413@163.com。

1.2.5 稳定性研究 在不同的条件下测定其吸光度的变化,考察 pH 值、温度、光照、金属离子、氧化剂和还原剂等对色素稳定性的影响^[6]。

2 结果与分析

2.1 马缨丹色素的最大吸收波长

马缨丹色素的最大吸收波长受 pH 值影响较大,考察 pH 值对最大吸收波长的影响,试验结果如图 1 所示。由图 1 可知,pH 值 < 4.5 时,色素的最大吸收波长在 (530 ± 1) nm 内,且吸光度较大;当 pH 值为 6 时,色素的最大吸收波长明显红移,吸光度减小,这表明色素结构随 pH 值减小而改变。由于本试验在测吸光度时均在 pH 值 < 6 的条件下进行,所以选定 530 nm 作为测定波长。

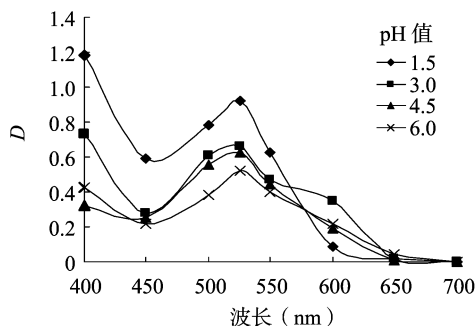


图1 马缨丹花红色素吸收光谱

2.2 超声波辅助提取色素的单因素试验

2.2.1 乙醇体积分数对色素提取效果的影响 吸光度随乙醇体积分数先增大而后缓慢减小,浓度为 50% ~ 75% 时达较大,详见图 2。

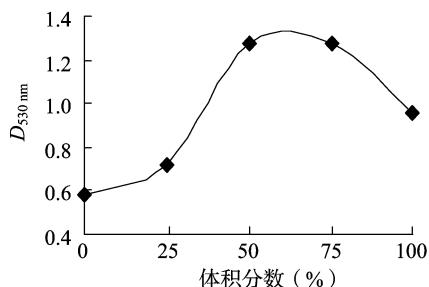


图2 乙醇浓度对提取效果的影响

2.2.2 料液比对色素提取效果的影响 从图 3 可知,当料液比为 1 g : (20 ~ 60) mL 时,随着提取溶剂的增加,色素的吸光度增大;但料液比为小于 1 g : 80 mL 时吸光度增加缓慢。这表明色素在料液比 1 g : 60 mL 的条件下已基本溶出。提取溶剂太少,马缨丹花粉与提取溶剂不能充分接触,使色素不能全部溶出;提取溶液太多又会浪费溶剂,给后期浓缩也带来一定困难。因此,选择料液比 1 g : 60 mL 为最佳条件。

2.2.3 超声波功率对色素提取效果的影响 从图 4 可知,吸光度先随超声功率的增加而增大,超过 90 W 后又降低。超声功率增大,加大了破壁程度,有利于色素溶出,但超声功率达到一定值后吸光度开始下降,这可能是因为超声波具有较强的机械切力作用,作用强度过大可能会改变色素的结构。综合考虑选择 90 W 作为最佳提取功率。

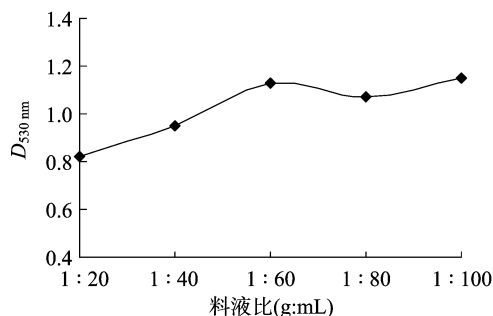


图3 料液比对色素提取效果的影响

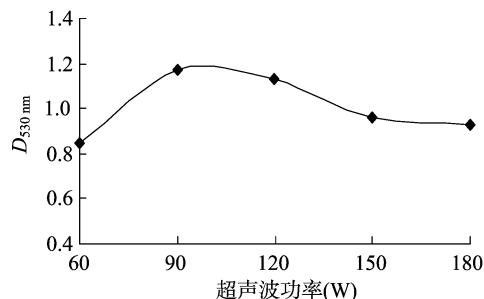


图4 超声波功率对色素提取效果的影响

2.2.4 提取时间对色素提取效果的影响 由图 5 可知,吸光度随提取时间的增加而增大,到 30 min 达最大值,而后又呈下降趋势。超声作用时间长引起热效应,使提取物局部温度过高,可能会使色素不稳定,大部分色素中含有酚羟基,易被氧化而脱色。因此,较合适的超声提取时间为 30 min。

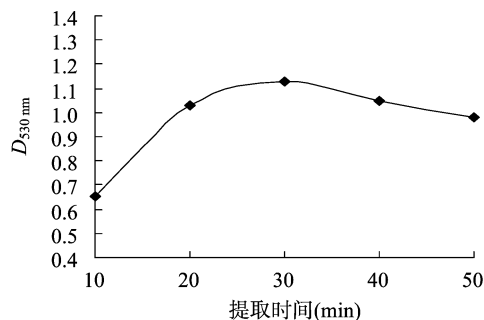


图5 提取时间对色素提取效果的影响

2.3 正交试验结果

以乙醇为提取溶剂,采用超声波辅助提取马缨丹花色素,影响色素提取的主要因素是乙醇体积分数、料液比、超声功率、提取时间。根据单因素试验结果,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,确定马缨丹色素提取的最佳工艺条件。从表 2 可知,各因素对色素提取的影响因素顺序为 C > B > D > A,即超声功率 > 料液比 > 提取时间 > 乙醇体积分数;最优组合是 $A_1B_2C_2D_3$,即超声波提取马缨丹花色素的最佳工艺为:超声功率 120 W,料液比 1 g : 60 mL,乙醇体积分数 50%,提取时间 40 min。在最优水平的条件下进行 3 次验证性试验,测得色素的 $D_{520\text{ nm}}$ 分别为 1.425、1.433、1.420,平均值为 1.426,高于正交表中编号 2 的试验结果; RSD 为 1.05%,说明最佳工艺条件具有良好的重现性。

2.4 色素稳定性研究

2.4.1 pH 值对色素稳定性的影响 用 HCl、NaOH 溶液调节色素溶液的 pH 值,测定吸光度,试验结果见表 3。

表 2 马缨丹花色素提取工艺的正交试验结果

试验编号	A	B	C	D	$D_{530\text{ nm}}$
1	1	1	1	1	0.878
2	1	2	2	2	1.412
3	1	3	3	3	0.986
4	2	1	2	3	1.205
5	2	2	3	1	1.079
6	2	3	1	2	0.985
7	3	1	3	2	0.780
8	3	2	1	3	1.177
9	3	3	2	1	1.112
k_1	1.092	0.954	1.013	1.023	
k_2	1.090	1.223	1.243	1.059	
k_3	1.023	1.028	0.948	1.123	
R	0.069	0.269	0.295	0.100	

表 3 pH 值对色素稳定性的影响

pH 值	$D_{530\text{ nm}}$
1	0.825
3	0.830
5	0.835
7	0.826
9	0.772
11	0.758
13	0.750

从表 3 可看出,马缨丹花色素在酸性条件下较稳定,吸光度变化不大。在碱性条件下,吸光度变化较大,主要原因是在碱性条件下天然色素的结构或组成会发生变化,从而使其颜色发生变化。因此,在提取、保存和应用中最好在酸性条件下进行。

2.4.2 温度对色素稳定性的影响 取 5 份色素溶液,分别置于 20、40、60、80、100 ℃ 的温度下加热 4 h,测定吸光度,试验结果见图 6。结果表明,在温度低于 40 ℃ 时,吸光度随加时间的延长基本没有变化,在高于 60 ℃ 后随时间的延长吸光度呈下降趋势,温度越高影响越大。这是因为色素在高温条件下容易发生氧化反应,且温度越高反应越快。因此,在制备和保存马缨丹花色素时应尽量在低温条件下进行。

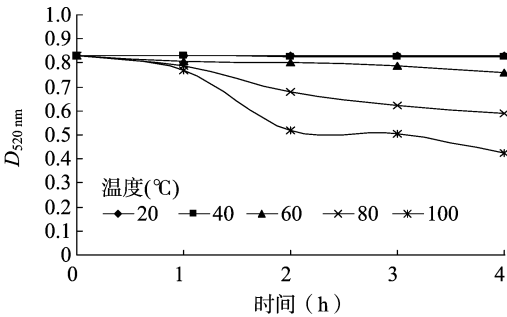


图6 不同温度对色素稳定性的影响

2.4.3 光照条件对色素稳定性的影响 将相同浓度的色素溶液分别置于室外自然光、室内自然光、避光的环境下放置一定时间,测定吸光度,结果见表 4。结果表明,在这几种光照条件下,吸光度几乎没有变化,有较好的光稳定性。

表 4 光照条件对色素稳定性的影响

时间 (h)	$D_{530\text{ nm}}$		
	室外自然光	室内自然光	室内避光
0.5	0.830	0.845	0.852
1.0	0.812	0.842	0.850
2.0	0.805	0.840	0.845
4.0	0.802	0.836	0.845

2.4.4 金属离子对色素稳定性的影响 配制含有 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 浓度均为 100 mg/L 的色素溶液及空白色素溶液,避光放置 2 h,测定溶液吸光度,结果见表 5。

表 5 金属离子浓度对色素稳定性的影响

金属离子	$D_{530\text{ nm}}$
空白	0.856
K^+	0.850
Na^+	0.848
Ca^{2+}	0.835
Zn^{2+}	0.739
Cu^{2+}	0.628
Mg^{2+}	0.550
Fe^{3+}	0.380

从表 5 可知,加入 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 使色素吸光度略有减少,对马缨丹花色素有一定的增色、护色作用。加入 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 使色素吸光度减小,甚至观察到加入 Fe^{3+} 后色素液变为棕色,表明这些离子对色素的稳定性影响较大,其原因可能是这些离子会与色素反应,使色素褪色或生成其他颜色的物质。

2.4.5 氧化剂、还原剂对色素稳定性的影响 含有不同浓度亚硫酸钠、双氧水的色素溶液及空白色素溶液测定溶液吸光度并观察溶液的颜色,结果(表 6)显示,加入氧化剂和还原剂后,色素的吸光度在较短的时间内下降很大,颜色也消退,且氧化剂和还原剂浓度越大影响越明显。因此,氧化剂和还原剂对色素的稳定性影响很大,在使用过程应避免加入氧化剂和还原剂。

表 6 氧化还原剂对色素稳定性的影响

时间 (min)	$D_{530\text{ nm}}$				
	空白	0.5% H_2O_2	1.0% H_2O_2	0.5% Na_2SO_3	1.0% Na_2SO_3
15	0.856	0.425	0.186	0.508	0.478
30	0.850	0.389	0.143	0.328	0.435

3 结论与讨论

马缨丹全年能开花,花期较长、花量大、色值高,资源极其丰富,如果进一步在色素的化学成分、生理活性、毒理学等方面进行全面的研究,是一种很有开发前景的色素品种。充分利用马缨丹资源是合理治理这种外来入侵物种的最有效方法之一。

采用超声波辅助提取马缨丹花色素,最佳的工艺条件为:液料比 1 g : 60 mL,超声波功率 120 W,乙醇体积分数为 50%,提取时间 40 min。通过马缨丹花色素的稳定性试验结

郭志红,周鸿立. 玉米须多糖和黄酮的半仿生提取及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):273-276.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.099

玉米须多糖和黄酮的半仿生提取及抗氧化活性

郭志红^{1,2}, 周鸿立¹

(1. 吉林化工学院化学与制药工程学院, 吉林吉林 132022; 2. 吉林大学化学学院, 吉林长春 130012)

摘要:通过正交试验设计,采用半仿生水浸提、醇提玉米须 2 种方法,并与传统水提、传统醇提方法作比较,以多糖、黄酮的提取量和抗氧化活性为考察指标,确定最佳提取条件。结果表明,半仿生水提多糖提取量为 35.29 mg/g,比传统水提法提高了 14.39%,半仿生水提黄酮提取量为 5.16 mg/g,比传统水提低 36.6%。2 种水提取物均有抗氧化活性且半仿生法更弱。半仿生醇提多糖提取量为 49.53 mg/g,比传统醇提提高了 19.75%,醇提黄酮提取量为 15.59 mg/g,比传统醇提提高了 59.4%。2 种醇提取物均有抗氧化活性且半仿生法较强。半仿生水提有利于玉米须多糖的提取;半仿生醇提玉米须黄酮、多糖均提高,且有较高的生物活性,是提取分离玉米须活性成分的有效方法。

关键词:玉米须;多糖;黄酮;半仿生;抗氧化;正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0273-04

玉米须为禾本科玉蜀黍属植物玉米的花柱及柱头,含有黄酮类、多糖类、皂苷、生物碱、单宁酸、绿原酸、蛋白质、挥发性油、类固醇等多种生物活性成分^[1-2]。现代药理研究证明,玉米须具有显著的利尿、降血糖、抑菌、降压、增强免疫、抗癌等功效^[3]。目前多糖、黄酮的提取方法主要包括浸渍法、煎煮法、回流提取法、连续回流提取法等,新兴的提取方法包括超声波辅助提取法、微波辅助提取法、酶解法、超临界流体萃取法、半仿生提取法(semi-bionic extraction, SBE)、破碎提取法、空气爆破法、亚临界流体萃取等,其中半仿生提取法是模拟口服药物在人体胃肠道中的转运过程,采用选定 pH 值的酸性、碱性溶剂依次提取得到活性混合物^[4]。目前,半仿生法提取法已被应用于提取柚皮总黄酮^[8-9](水提)、了哥王总黄酮^[6](醇提)、半边莲黄酮苷^[7](醇提)、叶下珠总黄酮^[8](水提)等,尚未见玉米须多糖、黄酮的半仿生浸提工艺研究报道。本研究运用半仿生法原理,以特定 pH 值的水、乙醇为

溶剂,比较相同条件下传统水提、醇提黄酮、多糖的提取率以及粗提取物的抗氧化性能,旨在为提高玉米须的药用价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米须(安徽省亳州市药材市场),芸香苷对照品(批号:0080-9705,纯度>98%,购于中国药品生物制品检定所)。试验用水为蒸馏水,无水乙醇、浓盐酸、氢氧化钠、浓硫酸、苯酚、无水氯化铝均为分析纯。752 型紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司)、FA2004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、GZX-GW-2-BS 高温干燥箱(上海博泰实验设备有限公司)、PHS-3C 型数字酸度计(上海理达仪器厂)、SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)、RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 多糖含量测定 以葡萄糖为对照品,采用苯酚-硫酸法^[10]测定玉米须多糖含量,得回归方程: $y = 6.6671x + 0.0202$, $r^2 = 0.9994$,多糖质量浓度在 20.84~125.04 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好的线性关系。多糖提取率计算公式如下:

$$\text{多糖提取率} = \frac{\text{样品中多糖质量}}{\text{药材质量}} \times 100\% \quad (1)$$

物药分册,2002,17(3):93-96.

[2] 丁莉,杜凡,张大才. 云南外来入侵植物研究[J]. 西部林业科学,2006,35(4):98-103,108.

[3] Sharma O P, Makar H P S, Dawra R K. A review of the noxious plant of *Lantana camara* [J]. Toxicon, 1988, 26(11):975-987.

[4] 王华娟,曲韵智,潘辉. 马缨丹化学成分及药理研究进展[J]. 中国医药技术经济与管理,2011(3):76-78.

[5] 李容,蒋林斌,覃涛,等. 红花羊蹄甲花色素的提取及其稳定性研究[J]. 食品工业科技,2013,34(20):326-329.

[6] 陈杰. 紫甘薯色素提取、纯化及稳定性研究[D]. 无锡:江南大学,2011:23-29.

收稿日期:2014-05-21

基金项目:吉林省科技厅科研项目(编号:20130303050NY);吉林省教育厅 2013 第 319 号。

作者简介:郭志红(1987—),女,河北邯郸人,硕士研究生,从事有机化学研究。E-mail:gz81011@163.com。

通信作者:周鸿立,博士,教授,从事天然产物研究与开发。E-mail:zh167@126.com。

果可知,色素在酸性、低温、光照条件下稳定,在含有 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 条件下稳定;但 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等离子、高温和氧化剂或还原剂的存在会影响色素稳定性。

但本试验的工艺条件主要适用于实验室,色素的不稳定性是许多天然色素普遍存在的问题,如何提高天然色素的稳定性是以后研究的方向,规模化的生产工艺条件需要在色素的化学成分、生理活性、毒理学等方面进一步研究。

参考文献:

[1] 朱小薇,李红珠. 马缨丹化学成分与生物活性[J]. 国外医药:植