

朱琳,郭光,范作卿,等.桑树中色素的快速测定及其在品种和叶位间的差异分析[J].江苏农业科学,2018,46(2):138-142.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.037

桑树中色素的快速测定及其在品种和叶位间的差异分析

朱琳,郭光,范作卿,王娜,邹德庆
(山东省蚕业研究所,山东烟台 264002)

摘要:采用高效液相色谱二极管阵列检测法(HPLC-DAD)快速测定桑树(*Morus alba* L.)上桑叶和桑枝条皮层(以下简称桑枝皮)中的4种色素(叶黄素、 β -胡萝卜素、叶绿素a和叶绿素b)含量,分析各种色素含量在不同叶位和不同桑树品种间存在的差异。结果表明,不同叶位桑叶中的类胡萝卜素含量高于叶绿素含量,但不同叶位桑叶中的上述色素含量具有差异,总体上是成熟叶或老叶中的含量较高,其中 β -胡萝卜素、叶绿素b在第7位成熟叶中的含量最高,分别为254.06、117.66 $\mu\text{g/g}$;叶绿素a在第11位成熟叶中的含量最高,为78.77 $\mu\text{g/g}$;叶黄素在第5位衰老叶中的含量最高,为250.66 $\mu\text{g/g}$ 。不同桑树品种桑叶和桑枝皮中的色素总含量有差异,在10个供试品种中对于桑叶而言含量最高的是湖桑32(1 128.32 $\mu\text{g/g}$);对于桑枝皮而言,沙二含量最高(190.21 $\mu\text{g/g}$)。桑枝皮中色素平均总含量在100 $\mu\text{g/g}$ 左右,约为桑叶的1/8。所以,从废弃的桑枝条皮层中或从桑枝皮加工废料中提取或回收脂溶性的叶绿素和类胡萝卜素特别是叶黄素是切实可行的。测定方法和试验结果可为今后更好地开发和利用桑树资源特别是桑树枝条皮层中的色素提供重要的试验数据。

关键词:桑叶;桑枝皮;色素;高效液相色谱二极管阵列检测法(HPLC-DAD);叶位;叶绿素类,类胡萝卜素类

中图分类号: S888.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0138-04

高等植物的叶绿体色素可分为两大类,即叶绿素类(主要有叶绿素a和叶绿素b)和类胡萝卜素类(主要有 β -胡萝卜素和叶黄素)^[1]。叶绿素广泛存在于高等植物的叶果和藻类中,是植物叶绿体的重要组成成分,使大多数的叶类蔬菜和未成熟的果实呈现绿色^[2]。叶绿素结构与人类和大多数动物血液中的红色素结构相似,从某种意义上讲,它也是维持生命不可缺少的物质。目前的研究表明,叶绿素具有改善便秘、降低胆固醇、抗衰老、排毒消炎脱臭、抗癌抗突变等功能^[3]。 β -胡萝卜素是维生素A的前体,可在动物体内能转化为维生素,是动物体内维生素A的主要来源。另外,类胡萝卜素对动物的繁殖机能有独特作用,类胡萝卜素是一种生理抗氧化剂,可保护卵泡和子宫细胞免受氧化反应的破坏,有助于卵巢内类固醇的合成,改善子宫内环境^[4-5]。

桑树(*Morus alba* L.)叶甘寒无毒,有润肺、平肝、明目等功效,可除寒热,出汗(汉《神农本草经》),多用于外感风热引起的发热、咳嗽、头痛、目赤等症;桑枝和桑白皮分别取自桑树的嫩茎和根皮,均有利水、消肿的作用,可治疗尿少、浮肿等症。最新研究表明,桑叶不仅具有多种营养性功能成分,还有多种多样的生物活性和药理作用,包括降血糖^[6]、延缓衰老、

抗氧化^[7]、抗凝血^[8]、抗癌^[9]等功能。目前关于桑叶和桑枝皮中叶绿体色素的研究还比较少,大部分还是集中在桑叶叶绿素提取工艺的优化和桑枝条的综合利用等方面。邓祥元等通过采用有机溶剂萃取法和分光光度法对桑叶叶绿素进行提取与含量测定,通过比较不同节位桑叶及桑叶不同部位的叶绿素含量,分析桑叶叶绿素的光谱特征及其含量的变化规律;通过比较不同溶剂及其浓度(体积)、不同萃取时间对萃取效率的影响,初步获得桑叶叶绿素的萃取工艺;并且研究表明,叶绿素易溶于无水乙醇、丙酮等有机溶剂,而在乙酸乙酯中的溶解度则较低;且丙酮与无水乙醇的混合使用可显著提高叶绿素的萃取效率^[10-11]。陈绍瑗等在前人研究的基础上进一步优化桑叶叶绿素的提取工艺,结果表明,桑叶叶绿素提取的最佳工艺参数为:提取时间5.25 h,提取温度56.5 $^{\circ}\text{C}$,液料比103 mL:1 g^[12]。另外有研究表明,桑枝皮醇提物具有很强的 α -葡萄糖苷酶抑制作用^[13-14]和降血脂等多种药理作用^[15]。在桑枝皮药理成分的提取加工过程中发现,有相当数量的脂溶性物质还没有得到充分利用,这些物质大多属于可见色素如叶绿素和类胡萝卜素等。众所周知,叶绿素、类胡萝卜素等2类色素具有许多生物活性和药理作用。但是,对于桑叶和桑枝条皮层中这些色素的含量及其在不同叶位或桑树品种间的差异等研究报道甚少。

高效液相色谱(HPLC)是分析脂溶性色素如叶绿素和胡萝卜素的常用技术^[16],被广泛应用于各种浮游植物以及水果和蔬菜色素的检测中^[17-19]。

因此,本研究采用反相高效液相色谱和二极管阵列检测法(RP-HPLC-DAD)对桑树中的色素进行快速分离、测定,以期为更好地开发和利用桑树资源特别是桑叶和桑枝条资源提

收稿日期:2016-08-05

基金项目:山东省农业科学院青年科研基金(编号:2016YQN61)。

作者简介:朱琳(1987—),女,山东章丘人,博士研究生,助理研究员,主要从事蚕桑综合利用研究。Tel:(0535)6527626;E-mail:zhulin_0517@163.com。

通信作者:邹德庆,硕士,研究员,主要从事蚕桑综合利用研究。Tel:(0535)6527626;E-mail:zhdq59@126.com。

供可靠的分析依据。

1 材料与方法

1.1 材料与主要试剂和仪器

10 个桑树品种分别为湖桑 32、花桑、白格鲁、沙二、延边秋雨、湖北荆桑、农桑 8 号、皱皮荷叶、皮桑和红皮毛桑。各品种的桑叶与 1 年生桑枝条均于夏秋季节采自山东省蚕业研究所的桑园。采集相同叶位的叶片,每个叶位采集 3~4 张,每个品种的桑枝条采集 3~5 根。湖桑 32 桑叶不同叶位中色素含量的研究,采取隔位采摘的方法采叶,即从上到下,从嫩叶到老叶,从第 1 位、第 3 位、第 5 位…第 17 叶位,共采摘 9 个不同叶位的桑叶样品。用剥皮机对桑枝条进行皮层与木质部分离,然后把所有桑叶及桑枝皮进行冻干处理,冻干样品用 JFS D-100 粉碎机反复粉碎制成粉末,备用。

标准品叶黄素购自上海融乐医药科技有限公司,紫黄质购自 CaroteNature 公司, β -胡萝卜素与叶绿素 a 购自日本和光纯药工业株式会社,叶绿素 b 购自 B & K 科技(中国)有限公司。

高效液相色谱系统:岛津 LC-20A HPLC 系统,包括自动进样器、高压输液泵,二级管阵列检测器;检测波长为 440 nm;扫描波长范围 200~800 nm。

1.2 色素分离提取方法

取桑叶或桑枝皮的冻干粉末在黑暗避光的条件下用丙酮研磨 3 次,合并过滤液,以 1 万 r/min 的转速离心 15 min,最后取上清进行高效液相色谱分析,每个样品重复 3 次。

1.3 色素含量测定

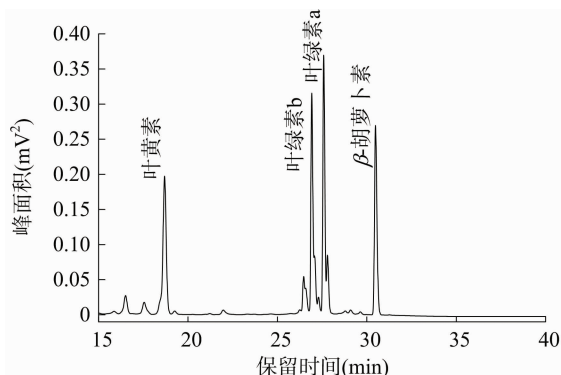


图1 4种色素标准品的色谱峰和紫外光谱

HPLC 检测:采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)分离和二级管阵列检测器(DAD)检测色素,具体方法如下^[20]。

色谱条件:色谱柱为 C₁₈ VP-ODS 色谱柱 (SHIMADZU 250 4.6 mm),流动相 A 为 80% 的甲醇;流动相 B 为乙酸乙酯。流速 1 mL/min,检测波长 440 nm,DAD 扫描范围 200~800 nm。梯度洗脱条件为:0~2.5 min,B 浓度由 20% 上升到 22.5%;2.5~17.5 min,B 的浓度由 22.5% 升到 50.0%;17.5~20.0 min,B 浓度维持在 50%;20~21.5 min,B 的浓度上升为 80%;21.5~23.5 min,B 的浓度维持在 80%;23.5~28.5 min,B 的浓度上升为 100%;28.5~40 min,B 的浓度维持在 100%。

1.4 数据统计分析

测定的数据运用 Origin 8.5 软件进行分析,试验数据用“平均值±标准差”来表示。

2 结果与分析

2.1 4种色素标准曲线的绘制

标准样品用丙酮溶解,配制成一定浓度的母液,于 4℃ 冷冻保存待测。检测时取 4 种色素标准样品母液配制成混合标样进行 HPLC-DAD 分析,其进样量分别为 2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 μL,每个梯度重复 3 次。图 1 为 4 种标准品的色谱图和 200~800 nm 可见紫外光谱扫描图。以标准品质量浓度为 y 轴,色谱峰面积为 x 轴,用 Origin 8.5 软件绘制标准曲线,得出各标准样品浓度与吸光度相关性的线性方程与相关系数,结果如图 2 所示。

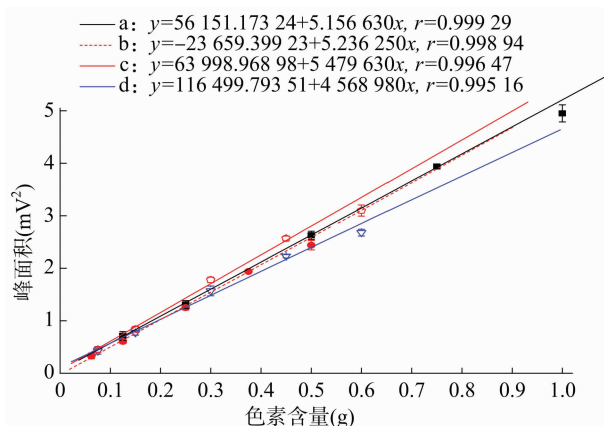
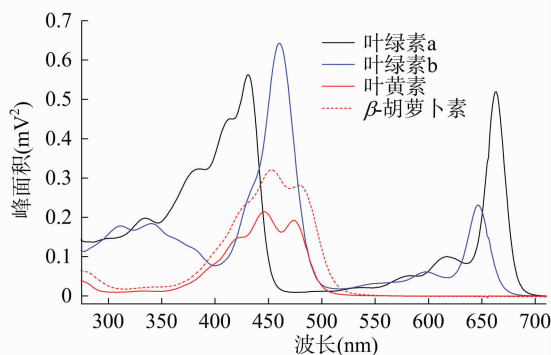


图2 4种色素标准品的标准曲线

56 151.173 24+5.156 630x, 相关系数 $r=0.999\ 29$; 叶绿素 b 的回归方程是 $y=116\ 499.793\ 51+4\ 568\ 980x$, 相关系数 $r=0.995\ 16$; 叶绿素 a 的回归方程是 $y=63\ 998.968\ 98+5\ 479\ 630x$, 相关系数 $r=0.996\ 47$; β -胡萝卜素 (β -carotene) 标准品的回归方程是 $y=-23\ 659.399\ 23+5.236\ 250x$, 相关系数 $r=0.998\ 94$ 。从图 2 可以看出,各色素标准品的浓度梯度与光吸收的色谱峰面积之间呈现良好的线性关系(线性范围为 0.062 5~1.0 μg)。

2.2 不同叶位桑叶中叶绿体色素的组成与含量

同一桑树品种(湖桑 32)不同叶位桑叶样品中叶绿体色素的 HPLC-DAD 反相色谱(图 3)都含有 4 个主要色谱峰,以标准样品作对照,这 4 个峰的保留时间和其紫外可见吸收光谱按出峰时间顺序分别为叶黄素($RT=17.6\ min$)、叶绿素 b($RT=26.5\ min$)、叶绿素 a($RT=27.5\ min$)和 β -胡萝卜素

经回归分析,叶黄素(lutein)标准品的回归方程是 $y=$

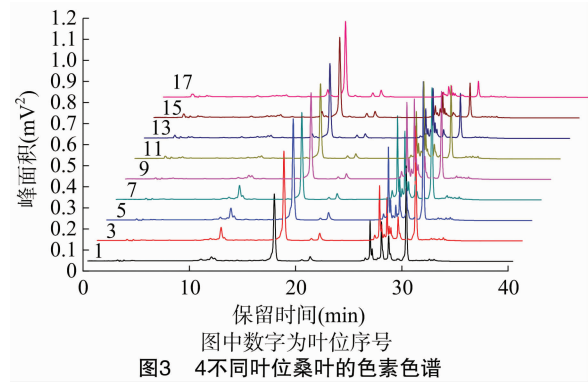


图3 4不同叶位桑叶的色素色谱
(RT=30.2 min)。
将色谱图中各个色谱峰的峰面积代入相应标准曲线的线性方程中得到各样品中各种色素的含量。由图4可知,9个

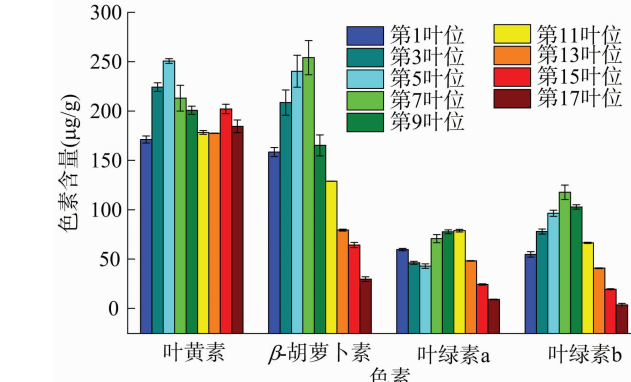
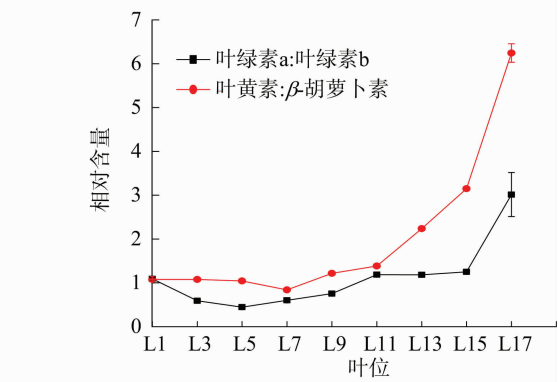


图4 不同叶位桑叶中4种色素的含量及叶绿素与类胡萝卜素的相对含量变化

上述结果表明,随着叶片的成熟,叶黄素成为衰老叶片中积累量最多的色素,但就叶黄素本身的含量而言,并没有发生很大的变化,特别是在衰老叶片中,其含量没有明显提高; β -胡萝卜素在衰老过程中变化最明显,先升高成熟后又逐渐降低,最后降到和叶绿素含量相当的水平。对叶绿素来说,最后叶绿素 a 的含量可达叶绿素 b 的 3 倍。

2.3 桑叶与桑枝皮中叶绿体色素含量在品种间的差异
2.3.1 各种色素含量的差异 10 个供试品种相同叶位(第 5 位至第 7 叶位)的桑叶及桑枝皮冻干粉样品,用“1.2”节中

叶位的桑叶样品从嫩叶到老叶编号为第 1 位至第 17 位,不论夏季桑叶是嫩叶还是老叶,其叶黄素和 β -胡萝卜素的含量都高于叶绿素 a 和叶绿素 b。随叶位的升高, β -胡萝卜素含量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量整体上都呈先升高后降低的变化趋势, β -胡萝卜素、叶绿素 b 在第 7 位成熟叶中的含量最高,分别为 254.06、117.66 $\mu\text{g/g}$;叶绿素 a 在第 11 位成熟叶中的含量最高,为 78.77 $\mu\text{g/g}$ 。而叶黄素的变化规律有些不同,呈先升高后降低然后再再升高的变化趋势,并最终在老叶中积累。叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的变化为第 1 位至 5 位至第 11 叶位,叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值先减小后增大,11 叶位以后叶片逐渐变黄,叶绿素 a 的比例也明显升高,最后达到叶绿素 b 的 3 倍左右。叶黄素含量和 β -胡萝卜素含量的比值除了第 7 叶位小于 1 外,其他都大于 1 且随着叶位的升高而增加。



的方法抽提样品中的可见色素并进行 HPLC-DAD 分析。不同品种的桑叶和桑枝皮中 4 种色素的含量各不相同(表 1),其中除红皮毛桑外的 9 个桑树品种桑叶中的 4 种色素均以叶黄素含量为最高,最高可达到 446.12 $\mu\text{g/g}$;均以叶绿素 a 的含量最低,只有 24.75 $\mu\text{g/g}$;而红皮毛桑桑叶中的叶绿素 a 含量最高,为 212.85 $\mu\text{g/g}$ 。10 个品种桑枝皮中叶黄素和叶绿素 a 等 2 种色素所占的比例较高,叶绿素 b 含量不稳定,在桑树品种花桑、白格鲁、红皮毛桑的样品中几乎检测不到。

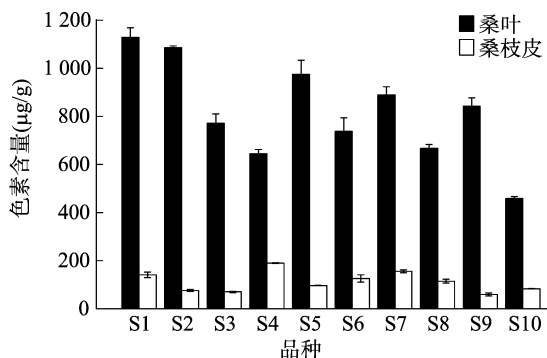
表 1 不同桑品种桑叶和桑枝皮中 4 种色素的含量

编号	品种	叶黄素含量($\mu\text{g/g}$)		β -胡萝卜素含量($\mu\text{g/g}$)		叶绿素 a 含量($\mu\text{g/g}$)		叶绿素 b 含量($\mu\text{g/g}$)	
		桑叶	桑枝皮	桑叶	桑枝皮	桑叶	桑枝皮	桑叶	桑枝皮
S1	湖桑 32	446.12 \pm 18.68	68.93 \pm 8.01	278.84 \pm 8.16	15.90 \pm 0.81	128.30 \pm 4.49	40.95 \pm 2.01	275.06 \pm 9.29	15.81 \pm 0.93
S2	花桑	359.44 \pm 11.03	32.95 \pm 1.56	333.58 \pm 7.93	8.07 \pm 0.45	184.62 \pm 4.31	34.99 \pm 2.28	214.65 \pm 5.92	—
S3	白格鲁	271.58 \pm 16.11	31.39 \pm 1.10	257.18 \pm 10.15	6.47 \pm 0.26	106.56 \pm 5.78	32.64 \pm 1.26	136.09 \pm 7.17	—
S4	沙二	247.65 \pm 6.65	84.98 \pm 0.28	205.85 \pm 6.52	24.52 \pm 0.30	56.00 \pm 1.34	74.87 \pm 0.85	135.48 \pm 3.44	5.84 \pm 0.18
S5	延边秋雨	331.18 \pm 18.63	50.56 \pm 0.75	322.95 \pm 19.65	11.90 \pm 0.16	101.72 \pm 6.07	24.19 \pm 0.59	219.20 \pm 13.86	10.17 \pm 1.00
S6	湖北荆桑	253.79 \pm 21.62	57.67 \pm 6.77	253.10 \pm 17.50	14.82 \pm 1.74	47.95 \pm 3.68	50.96 \pm 6.18	181.75 \pm 14.41	2.79 \pm 0.89
S7	农桑 8 号	317.59 \pm 12.53	76.78 \pm 5.72	274.81 \pm 9.96	17.71 \pm 0.40	51.86 \pm 1.75	50.07 \pm 0.70	245.36 \pm 9.20	11.65 \pm 0.24
S8	皱皮荷叶	242.37 \pm 6.77	60.12 \pm 7.10	233.22 \pm 5.24	14.02 \pm 0.51	24.75 \pm 0.53	35.40 \pm 0.72	166.45 \pm 4.22	5.43 \pm 0.21
S9	皮桑	264.60 \pm 13.02	29.01 \pm 2.53	235.26 \pm 7.50	8.55 \pm 0.77	155.24 \pm 7.09	18.62 \pm 1.94	187.17 \pm 7.99	3.80 \pm 0.96
S10	红皮毛桑	126.54 \pm 4.20	42.00 \pm 0.56	100.92 \pm 1.79	9.24 \pm 0.09	212.85 \pm 0.18	32.56 \pm 0.46	18.26 \pm 2.01	—

注:“—”表示该成分未被检测到。

2.3.2 色素总量的差异 如图 5 所示,各个品种桑叶和桑枝皮中的 4 种色素总量存在比较明显的差异:红皮毛桑叶片中 4 种色素含量为 400 $\mu\text{g/g}$ 左右,而湖桑 32 叶片中 4 种色素总量

约是前者的 2.7 倍,达到 1 100 $\mu\text{g/g}$ 以上。桑枝皮中,品种间 4 种色素的总量差异也较明显,其中沙二 4 种色素占样品的质量比最高,为 190.20 $\mu\text{g/g}$,而皮桑中含量最低,为 59.97 $\mu\text{g/g}$ 。



横轴上编号对应的品种名称与表1一致

图5 不同桑品种桑叶与桑枝皮中的4种色素总含量比较

2.4 桑叶与桑枝皮中4种色素总含量的比较

10个供试桑品种的桑枝皮中,4种色素总含量(与样品的质量比)平均在100 µg/g左右,而桑叶中4种色素总含量的平均值约为800 µg/g,桑枝条皮层中4种色素的总含量可达到桑叶的1/8。所以,从废弃的桑枝条皮层中或从桑枝皮加工废料中提取或回收脂溶性的叶绿素和类胡萝卜素特别是叶黄素是具有一定可行性的,此外这还与提取分离工艺、成本、效益等有关,所以需要进一步的研究证明。

3 讨论与结论

本研究采用高效液相色谱法和二极管阵列检测器对桑叶和桑枝条皮层(简称桑枝皮)中的色素种类及其含量进行分离、鉴定和分析。同一品种(湖桑32)不同叶位的桑叶,无论是嫩叶还是老叶中的类胡萝卜素(叶黄素和β-胡萝卜素)含量都高于叶绿素a和叶绿素b,就其中单一色素含量的变化而言,β-胡萝卜素、叶绿素a和叶绿素b的含量整体上都随叶位的升高呈先升高后降低的变化趋势,最高值分别出现在成熟叶片第7、第11、第7位样品,β-胡萝卜素最高为254.06 µg/g,叶绿素a为78.77 µg/g,叶绿素b为117.66 µg/g;而叶黄素则是先升高后降低,最后又升高,最终在老叶中积累。由此可以说明,β-胡萝卜素、叶绿素a和叶绿素b在桑树不同叶位桑叶中含量的变化与桑叶成长过程基本保持一致,在成熟的壮年期含量达到最高,但随着叶片的逐渐衰老含量也随之下降并在最后达到最低值。叶黄素含量的变化在幼年期和壮年期也随叶位的升高而呈先升高后降低的变化趋势,但到老年期却又升高甚至高于幼年期的含量,可能是由于叶片在老年期时,其他类胡萝卜素转变成了叶黄素从而产生了这种现象。不同桑树品种桑叶和桑枝皮中色素总量的比较分析结果表明,不同品种桑叶和桑枝皮中的色素含量差异较大,可能是桑树自身基因、生长环境等多种因素共同作用的结果。桑枝皮中色素的平均总含量在100 µg/g左右,而桑叶中的色素总量为800 µg/g左右,桑枝皮中色素总量可达到桑叶的1/8。所以,从废弃的桑枝条皮层中或从桑枝皮加工废料中提取或回收脂溶性的叶绿素和类胡萝卜素特别是叶黄素切实可行。

高效液相色谱法虽具有应用范围广的优点,但也存在一定的局限性,如仅以保留时间定性和以峰面积定量可能会产生误差;但其具有灵敏度高、选择性强、分析速度快等优点,且

流出的组分容易收集,操作自动化,使用安全,经过多次重复试验,能够尽可能缩小误差的产生。本研究的测定方法和试验结果可为今后更好地开发和利用桑树资源特别是桑树枝条皮层中的可见色素提供重要的试验数据。

参考文献:

- [1] Wright S W, Jeffrey S W, Mantoura R F C, et al. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1991, 77(2/3): 183-196.
- [2] 王丽霞, 刘坤, 张秀媛. 植物性天然色素的研究进展[J]. 北方园艺, 2011(17): 208-211.
- [3] 关锦毅, 郝再彬, 张达, 等. 叶绿素提取与检测及生物学功效的研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(12): 130-134.
- [4] Coffey M T. Enhancement of sow productive performance by β-carotene or vitamin[J]. J Anim Sci, 1993, 71: 1198-1202.
- [5] 田允波. 维生素A胡萝卜素与牛的繁殖机能[J]. 甘肃畜牧兽医, 1991(2): 28-30.
- [6] Singab A N B, El-Beshbishy H A, Yonekawa M, et al. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract; effect on diabetes and lipid peroxidation streptozotocin-induced diabetic rats[J]. J Ethnopharmacol, 2005, 100(3): 333-338.
- [7] Kim S Y, Gan J J, Kang H K. Two flavonoids from the leaves of *Morus alba* induce differentiation of the human promyelocytic leukemia (HL-60) cell line[J]. Biol Pharm Bull, 2000, 23(4): 451-455.
- [8] Ko H H, Yu S M, Ko F N, et al. Bioactive constituents of *Morus australis* and *Broussonetia papyrifera*[J]. J Nat Prod, 1997, 60(10): 1008-1011.
- [9] Nomura T, Fukai T, Hano Y, et al. Chemistry and anti-tumor promoting activity of *Morus flavonoids*[J]. Prog Clin Biol Res, 1988, 280: 267-281.
- [10] 邓祥元, 高坤, 张丽娟. 不同溶剂萃取桑叶叶绿素效率的初步研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(2): 389-394.
- [11] 邓祥元, 高坤, 张丽娟. 桑叶叶绿素光谱特征及其含量测定的初步研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(31): 17423-17424, 17426.
- [12] 陈绍媛, 吕贞儿, 董峰丽, 等. 响应面分析法优化桑叶叶绿素提取工艺[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2012, 38(6): 725-731.
- [13] Wang S, Fang M, Ma Y L, et al. Preparation of the branch bark ethanol extract in mulberry *Morus alba*, its antioxidation, and antihyperglycemic activity *in vivo*[J]. Evid-Based Compl Alt, 2014, 2014: 569652.
- [14] Liu H Y, Fang M, Zhang Y Q. *In vivo* hypoglycaemic effect and inhibitory mechanism of the branch bark extract of the mulberry on STZ-induced diabetic mice[J]. The Scientific World J, 2014, 2014: 614265.
- [15] 刘先明, 李琳, 王元净, 等. 桑枝皮提取物对急性高血脂症小鼠血脂水平的影响[J]. 蚕业科学, 2011, 37(4): 771-774.
- [16] Mantoura R F C, Llewellyn C A. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high-performance liquid chromatography[J]. Analyt Chim Acta, 1983, 151: 297-314.
- [17] Quiblier C, Bourdier G, Amblard C, et al. Separation of phyto-

吴 昊,邵江娟,张佳辉,等. 薰衣草精油与总黄酮的超声波辅助综合提取[J]. 江苏农业科学,2018,46(2):142-145.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.038

薰衣草精油与总黄酮的超声波辅助综合提取

吴 昊¹,邵江娟²,张佳辉¹,章文明¹,姜 岷¹

(1. 南京工业大学/国家级江苏先进生物与化学制造协同创新中心,江苏南京 211816;

2. 南京中医药大学,江苏南京 210023)

摘要:将薰衣草干花粉碎,首先采用超声波辅助水蒸气蒸馏法提取薰衣草精油,考察料液比、超声温度、超声时间、蒸馏时间及无机盐对精油提取率的影响,优化后的精油提取工艺为以 30 g/L Na₂SO₄ 水溶液为提取剂,料液比为 1 g:12 mL,50 ℃下浸泡 2 h,随后超声处理 40 min,蒸馏 2 h。在此条件下,薰衣草精油的提取率高于 2.00%。对提取后的残渣采用乙醇溶液超声波辅助提取薰衣草总黄酮,经正交设计优化,残渣中总黄酮的单次提取率为 8.72%,经过 2 次提取可将总黄酮的提取率进一步提高至 11.81%。该方法提高了薰衣草资源的利用率,有利于降低薰衣草产品的制备成本。

关键词:薰衣草;精油;黄酮;综合提取;超声波;正交试验;工艺优化

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0142-04

薰衣草(*Lavandula* spp.)为唇形科(Labiatae)一年生或多年生植物,同时具备香料植物与药用植物 2 种属性。薰衣草所含香气成分是天然香精与香料的主要构成部分,从中提取出的薰衣草精油具有促进血液循环、提升机体活力和免疫力、缓解焦虑及神经性偏头痛、松弛消化道痉挛、消除肠胃胀气等众多益处^[1],被称为“精油之母”,已广泛应用于日化产品、保健品、食品加工及医药等领域^[2]。薰衣草自 20 世纪 60 年代开始被引进到我国新疆地区,目前,新疆地区薰衣草的种植面积占全国种植面积的 95% 左右^[3],薰衣草精油的年产量大于 100 t。黄酮类化合物是天然产物中的主要有效成分,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、保护心血管等多种生物活性^[4],研究表明,薰衣草黄酮具有较强的抗氧化和清除自由基的作用^[5-6]。目前,国内对薰衣草原料的利用率极低,主要提取其中的挥发性精油,出油率仅为干花质量的 1.5% 左右^[7],提取后的薰衣草残渣往往被作为废弃物,既严重浪费了资源,又大大增加了薰衣草产品的生产成本。虽然提取薰衣草黄酮已有报道^[5-6,8-9],但均直接以薰衣草花为原料进行单一提取,经济性不高。因此,亟需对薰衣草开展深加工研究,进一步提高其附加值。

从植物中提取有效成分的主要手段是基于组分在固液两相之间质量传递的固液浸提,但无论是溶剂进入物料内部,还是物料内可溶性成分转移进入溶剂,均受物料的细胞组织结构的影响^[10],形成严重的传质阻力,因此造成固液浸提效率低下。超声波具有机械效应、空化效应及热效应,而且还可以产生乳化、击碎、扩散、化学效应等一系列次级效应^[11],这些效应增大了介质分子的运动速度,同时也提高了介质的穿透能力,从而促进有效成分的溶解及扩散,缩短提取时间,有利于提高有效成分的提取率。本试验首先将薰衣草干花浸于水中,采用超声波-水蒸气蒸馏法提取出挥发性的薰衣草精油,分离出精油提取后的残渣,以乙醇溶液为提取溶剂,采用超声波辅助浸提薰衣草总黄酮,通过探讨薰衣草精油与总黄酮综合提取的可行性,为薰衣草的深加工提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验材料 薰衣草干花(产地为新疆霍城县农四师 65 团,2015 年收割,自然晾干),预先将干花粉碎,过 80 目备用。所用试剂为分析纯或色谱纯,试验用水为超纯水。

1.1.2 试验装置与仪器 电热植物蒸馏浸提装置(自制,含冷凝收集器),超声波萃取仪(KQ-600V,超声频率 40 Hz,功率 600 W,购自江苏省昆山市超声仪器有限公司),真空干燥箱(DZF-6050,购自上海博迅医疗生物仪器股份有限公司),电子分析天平[BS124S,购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],旋转蒸发器(RE52A,购自上海亚荣生化仪器厂),紫

收稿日期:2016-08-02

基金项目:新世纪优秀人才支持计划(编号:NCET-12-0732);江苏高校优势学科建设工程资助项目;南京中医药大学国家基金预研基金(编号:13XYZY5)。

作者简介:吴 昊(1976—),男,江苏扬州人,博士,副教授,主要从事生物工程、分离工程研究。E-mail:wuhao@njtech.edu.cn。

planktonic pigments by HPLC for the study of phyto-zooplankton trophic relationships[J]. Aquat Sci,1994,56(1):29-39.

[18] Biehler E, Mayer F, Hoffmann L, et al. Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables[J]. J Food Sci,2010,75:55-61.

[19] Reichel M, Carle R, Srumsiri P, et al. Changes in flavonoids and

nonphenolic pigments during on-tree maturation and postharvest pericarp browning of litchi[J]. J Agri Food Chem,2011,59(8):3924-3939.

[20] Kidmose U, Knuthsen P, Edelenbos M. Carotenoids and flavonoids in organically grown spinach (*Spinacia oleracea* L.) genotypes after deep frozen storage[J]. J Sci Food Agric,2001,81(9):918-923.