

栀子黄色素溶液稳定性的影响因素研究

张 伦*, 林华庆#, 余楚钦, 陶 慧, 黄劲恒, 陈晓霞(广东药学院中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1370-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.22

摘要 目的:考察影响栀子黄色素溶液稳定性的因素。方法:以色素损失率为指标,分别考察栀子黄色素溶液在不同光照(强光、自然光、避光)、温度(4、25、60、80 ℃)、pH(3.0、5.0、7.0、9.0、11.0)、氧化剂浓度(过氧化氢溶液,0、0.1%、0.2%、0.3%)条件下的稳定性(放置12 h内),3种天然抗氧化剂茶多酚、迷迭香酸、葡萄籽提取物在不同光照(强光、自然光、避光)和温度(25、60、80 ℃)条件下以及不同浓度(0、0.05%、0.1%、0.2%)茶多酚对栀子黄溶液稳定性(放置12 h内)的影响。结果:12 h时色素损失率在3种光照条件下分别约为20%、10%、10%,4种温度下分别约为5%、5%、30%、60%,5种pH下分别约为12%、6%、6%、6%、16%,4种浓度氧化剂下分别约为4%、12%、15%、18%。除80 ℃条件外,3种抗氧化剂的加入使不同光照及温度条件下的色素损失率均约降低10%,并以茶多酚降低效果最强;4种浓度的茶多酚中以0.1%组的色素损失率最低。结论:栀子黄色素溶液在强光、高温下均不稳定;3种抗氧化剂均可提高其稳定性,尤以0.1%的茶多酚作用最强。

关键词 栀子黄色素;光照;温度;天然抗氧化剂;茶多酚;迷迭香酸;葡萄籽提取物;色素损失率;稳定性

Study on Influential Factors for the Stability of Gardenia Yellow Solution

ZHANG Lun, LIN Huaqing, YU Chuqin, TAO Hui, HUANG Jinheng, CHEN Xiaoxia (College of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the influential factors for the stability of gardenia yellow solution. METHODS: Using pigment loss rate as index, the stability of gardenia yellow solution was investigated within 12 h under different light (strong light, natural light, dark place), temperature (4, 25, 60, 80 ℃), pH (3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0), oxidant concentration (hydrogen peroxide solution, 0, 0.1%, 0.2%, 0.3%) conditions. The effects of 3 natural antioxidants as tea polyphenol, rosmarinic acid and grape seed extract on the stability of gardenia yellow solution were investigated within 12 h under different light (strong light, natural light, dark place) and temperature (25, 60, 80 ℃) conditions; the effects of different concentrations of tea polyphenol (0, 0.05%, 0.1%, 0.2%) on the stability of gardenia yellow solution were also investigated within 12 h. RESULTS: The pigment loss rates were 20%, 10% and 10% within 12 h under 3 light conditions; 5%, 5%, 30% and 60% under 4 temperature conditions; 12%, 6%, 6%, 6% and 16% under 5 pH conditions; 4%, 12%, 15% and 18% under 4 oxidant concentrations. After adding 3 antioxidants, pigment loss rate decreased by 10% under different light and temperature conditions except for 80 ℃, and the decrease of tea polyphenol was most significant; among 4 concentrations of tea polyphenol, pigment loss rate was the lowest in 0.1% group. CONCLUSIONS: Gardenia yellow solution can't keep stable under strong light and high temperature; 3 antioxidants can improve the stability of gardenia yellow solution, especially 0.1% tea polyphenol.

KEYWORDS Gardenia yellow; Light; Temperature; Natural antioxidant; Tea polyphenol; Rosemary acid; Grape seed extract; Pigment loss rate; Stability

茜草科植物栀子在我国有悠久的历史。我国民间利用栀子清热、降火的功效,将其泡茶饮用,或与麦芽、山楂、菊花一起煎汤作防暑饮料^[1]。1998年原卫生部公布既是食品又是药品的品种名单中,栀子为第一批列入者。栀子黄色素是从栀子的果实中提取出的一种天然黄色素,由于其色泽鲜艳、无毒、染色优良,在食品行业的应用比较广泛,如糖果、饼干、蜜饯、果汁、面粉等食品的着色^[2]。而近代大量研究显示,栀子黄色素及其主要成分藏花素还具有抑制肿瘤、抗癌、降血脂、抗氧化等药理活性^[3-7]。因此,天然栀子黄色素是一种可以广泛应用于药品、药用辅料、食品及化妆品等领域的天然色素,具有十分广阔的应用前景^[8]。但是,由于栀子黄色素的分子中存在多个共轭双键,导致其性质不稳定,容易受到一些外界

因素(如光照、温度、pH、氧等)的影响^[9],从而限制了其在各领域的应用。

天然抗氧化剂是指从天然动、植物体内或其代谢物中提取出来的具有抗氧化活性的物质,可消除体系环境内的自由基等,具有增强稳定剂、护色的作用。与人工合成抗氧化剂如丁基羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、特丁基对苯二酚(TBHQ)等相比,天然抗氧化剂具有天然、高效、低毒等优点。合成类抗氧化剂因为其价格低廉、获取容易,仍然在各领域尤其是色素行业大量使用。而多年前的研究已表明,这些合成抗氧化剂会引起明显的肝肿大,且BHT还会使肝和肺微粒体酶的活性增强,从而使人体摄取的其他物质变成有毒或致癌物^[10]。因此,推广使用绿色的天然抗氧化剂就显得更有意义。本研究针对栀子黄色素溶液稳定性的主要影响因素(光照、温度)比较考察了3种天然抗氧化剂茶多酚、迷迭香酸、葡萄籽提取物对提高其稳定性的作用,为栀子黄色素及天然抗氧化剂的开发与应用提供试验基础。

* 硕士研究生。研究方向:中药药物制剂。E-mail: 18814099716@163.com

通信作者:教授。研究方向:药物制剂。E-mail: huaqing_@vip.tom.com

1 材料

1.1 仪器

UV1800型双光束紫外-可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司);LS-300型光照试验仪(上海黄海药检仪器有限公司);GZX-9246MBE型数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);恒宇电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂);万分之一分析天平、pH计(德国 Sartorius 公司)。

1.2 药品与试剂

栀子黄色素(广州威伦食品有限公司,批号:XH14-06-20,色价: ≥ 120);茶多酚(河南旗诺食品配料有限公司,批号:QT-140902,纯度: $\geq 80\%$);迷迭香酸(广州合诚三生物技术有限公司,批号:HS-140501,纯度:供含量测定用);葡萄籽提取物(石家庄健禾生物科技有限公司,批号:JH-140303,原花青素含量:95%~99%);过氧化氢、磷酸氢二钠、柠檬酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 栀子黄色素稳定性评价指标

西红花苷为栀子黄色素的显色成分,其含量变化在一定程度上可以反映栀子黄色素的含量变化^[7,11]。因此,在相同的稀释倍数、相同的试样质量条件下,以西红花苷为测定成分,测得的吸光度的变化即可反映栀子黄色素的稳定性情况,吸光度损失率即为色素损失率^[12];并且色素损失率越高,栀子黄稳定性越弱,色素损失越严重。色素损失率计算公式为 $(A_{前}-A_{后})/A_{前}\times 100\%$ 。式中, $A_{前}$ 为处理前溶液吸光度, $A_{后}$ 为处理后吸光度。

2.2 最大吸收波长的确定^[13]

取栀子黄色素粉末约0.1 g(精确至0.000 2 g),用水溶解并转移至100 ml量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。然后再吸取1 ml试样液,转移至25 ml量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,得栀子黄色素水溶液。另各取茶多酚、迷迭香酸、葡萄籽提取物适量,制备成一定质量浓度的水溶液,得各抗氧化剂溶液。以水为空白对照,于400~600 nm波长范围对栀子黄色素水溶液和各抗氧化剂溶液进行光谱扫描,绘制各溶液的光谱。结果栀子黄色素的最大吸收波长为441 nm,与国标规定的 (440 ± 5) nm^[13]一致,且各抗氧化剂溶液在该最大吸收波长下基本无吸收。栀子黄色素水溶液和各抗氧化剂溶液的紫外吸收光谱见图1。

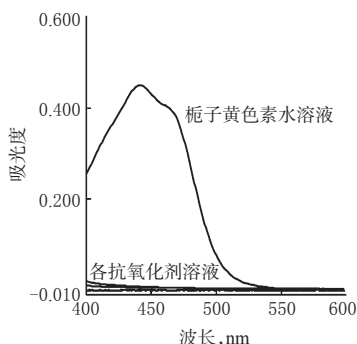


图1 紫外吸收光谱图

Fig 1 UV absorption spectrum

2.3 光照对栀子黄色素溶液稳定性的影响

取栀子黄色素粉末0.2 g,置于200 ml量瓶中,用水定容至刻度,摇匀后分成3份,分别置于暗室、室内试验台面、光照箱

(光照强度20 000 lx)中,作为避光、自然光、强光照射处理条件。于放置0、2、4、8、12 h时各取1 ml相应色素溶液置于25 ml量瓶中,用水定容后在441 nm波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较不同光照条件对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图2。

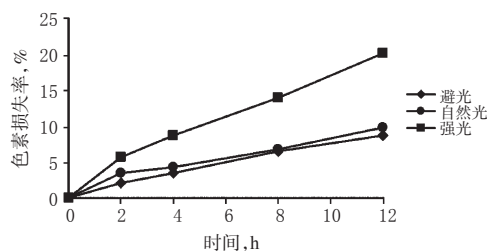


图2 不同光照条件对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 2 Effects of different light conditions on the stability of gardenia yellow solution

由图2可知,光照对栀子黄色素溶液的影响明显,强光照下栀子黄色素溶液的稳定性最差,12 h后色素损失率达到20%左右;避光和自然光放置后的区别不大,色素损失率均最大在10%左右。以上结果说明栀子黄色素溶液在强光下稳定性不好。

2.4 温度对栀子黄色素溶液稳定性的影响

取栀子黄色素粉末0.2 g,置于200 ml量瓶中,用水定容至刻度摇匀后分成4份,置于锥形瓶中,分别置于冰箱、恒温箱、干燥箱(2个)中,并分别设定环境温度为4、25、60、80 ℃。于放置0、2、4、8、12 h时各取1 ml(待溶液恢复至室温后取样)相应色素溶液置于25 ml量瓶中,用水定容后在441 nm波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较不同温度对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图3。

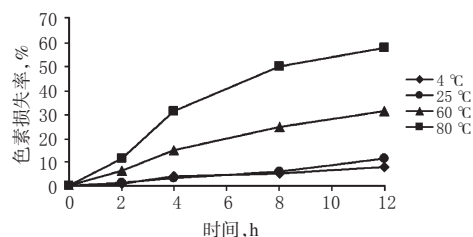


图3 不同温度对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 3 Effects of different temperatures on the stability of gardenia yellow solution

由图3可知,温度对栀子黄色素溶液的稳定性影响极为明显,高温(80 ℃)环境下放置12 h后的色素损失率已达到60%左右;60 ℃下色素损失率也有30%左右;而常温(25 ℃)及低温(4 ℃)环境下,栀子黄色素损失均不大,损失率在5%左右。以上结果说明栀子黄色素溶液在高温下稳定性不好。

2.5 pH对栀子黄色素溶液稳定性的影响

分别精密称取栀子黄色素粉末5份,每份0.1 g,置于100 ml量瓶中,分别用pH为3.0、5.0、7.0、9.0、11.0(实测pH为2.99、5.00、7.01、8.99、11.00)的磷酸氢二钠(0.2 mol/L)-柠檬酸(0.1 mol/L)缓冲溶液定容至刻度,摇匀后常温下放置于室内。于放置0、2、4、8、12 h时各取1 ml相应色素溶液置于25 ml量瓶中,

用水定容后在 441 nm 波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较不同 pH 对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图 4。

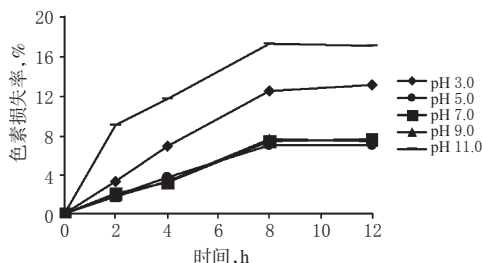


图 4 不同 pH 对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 4 Effects of different pH on the stability of gardenia yellow solution

由图 4 可知,pH 对栀子黄色素溶液稳定性亦有极大的影响,室内放置 12 h 后,强酸(pH=3.0)环境下溶液色素损失率达 12% 左右;强碱(pH=11.0)环境下色素损失率在 16% 左右;其余 pH 下色素损失区别不大,约为 6%。以上结果说明栀子黄色素溶液在强酸、强碱条件下稳定性不好。

2.6 氧化剂对栀子黄色素溶液稳定性的影响

分别精密称取栀子黄色素粉末 4 份,每份 0.1 g,置于 100 ml 量瓶中,其中 3 份分别加入适量过氧化氢溶液后用水定容至刻度,使其中过氧化氢浓度分别为 0.1%、0.2%、0.3%,即每 100 ml 含 0.1、0.2、0.3 g;另一份作空白处理。室内常温放置,于放置 0、2、4、8、12 h 时各取 1 ml 相应色素溶液置于 25 ml 量瓶中,用水定容后于 441 nm 波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,结果见图 5。

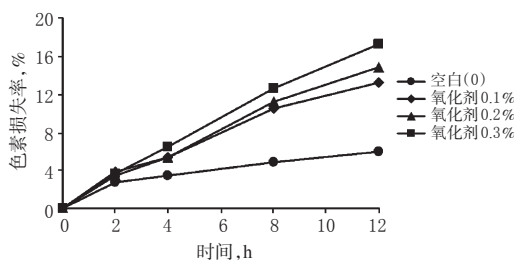


图 5 不同氧化剂浓度对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 5 Effects of different oxidants on the stability of gardenia yellow solution

由图 5 可知,各浓度氧化剂作用下色素损失率均在 12% 以上(约 12%、15%、18%,空白组约为 4%),表明氧化剂对栀子黄色素具有破坏作用,并且环境体系内氧化剂浓度越高,色素损失越明显。

2.7 同等浓度天然抗氧化剂在不同光照条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响

分别精密称取栀子黄色素粉末 4 份,每份 0.2 g,置于 200 ml 量瓶中,其中 3 份分别加入适量的茶多酚、迷迭香酸和葡萄籽提取物,使含有抗氧化剂浓度均为 0.1%,即每 100 ml 含 0.1 g;另一份作空白处理。每组样品用水定容至刻度后摇匀,分装成 3 份,分别进行强光(20 000 lx)照射、自然光、避光处理。于放置 0、2、4、8、12 h 时各取 1 ml 相应色素溶液置于 25 ml 量瓶中,用水定容后在 441 nm 波长下测定吸光度,计算色

素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较 3 种抗氧化剂在不同光照条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图 6。

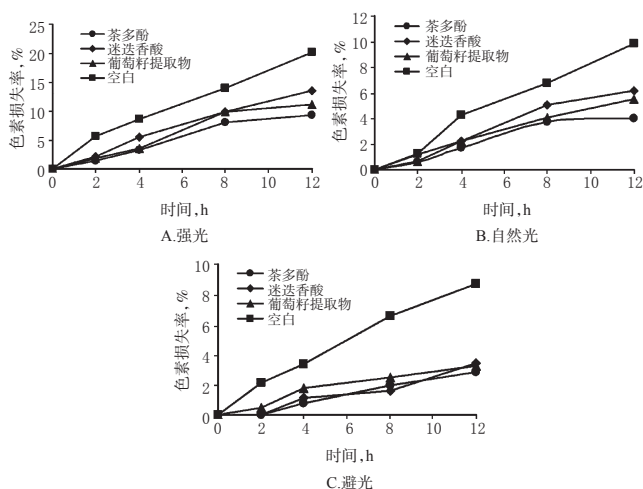


图 6 3 种抗氧化剂在不同光照条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 6 Effects of 3 antioxidants on the stability of gardenia yellow solution under different light conditions

由图 6 可知,即使在强光照射条件下,3 种天然抗氧化剂均能有效增强栀子黄色素的稳定性,加入抗氧化剂的样品组比空白组的色素损失率降低约 10%;避光条件下加入了抗氧化剂的样品组在 12 h 后色素损失率只有 2% 左右。综合比较 3 种光照条件下同等浓度天然抗氧化剂对栀子黄色素的稳定效果,以茶多酚效果更优。

2.8 同等浓度天然抗氧化剂在不同温度条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响

分别精密称取栀子黄色素粉末 4 份,每份 0.2 g,置于 200 ml 量瓶中,其中 3 份分别加入适量的茶多酚、迷迭香酸和葡萄籽提取物,使含抗氧化剂浓度均为 0.1%,即每 100 ml 含 0.1 g;另一份作空白处理。每组样品用水定容至刻度后摇匀,分装成 3 份,分别置于恒温箱、干燥箱(2 个)中,并设定温度为 25、60、80 ℃。于放置 0、2、4、8、12 h 时各取 1 ml(待溶液恢复至室温再取样)相应色素溶液置于 25 ml 量瓶中,用水定容后在 441 nm 波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较 3 种抗氧化剂在不同温度条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图 7。

由图 7 可知,当温度在 60 ℃ 及以下时,同等浓度下的 3 种天然抗氧化剂均能有效增强栀子黄色素溶液的稳定性;当温度在 60 ℃ 时,加入了抗氧化剂的栀子黄色素溶液其色素损失率比空白组低 15% 左右;当温度达到 80 ℃ 时,高温对抗氧化剂亦产生破坏作用从而致抗氧化剂不能发挥抗氧化作用。综合比较 3 种温度条件下同等浓度天然抗氧化剂对栀子黄色素溶液的的稳定效果,以茶多酚效果更优。

2.9 不同浓度茶多酚对栀子黄色素溶液稳定性的影响

由上述试验可知,在抗氧化剂浓度一致的前提下,茶多酚对栀子黄色素溶液的的稳定作用优于其余 2 种抗氧化剂。在此基础上,再对不同浓度下茶多酚的作用进行初步考察。分别精密称取栀子黄色素粉末 4 份,每份 0.1 g,置于 100 ml 量瓶中,

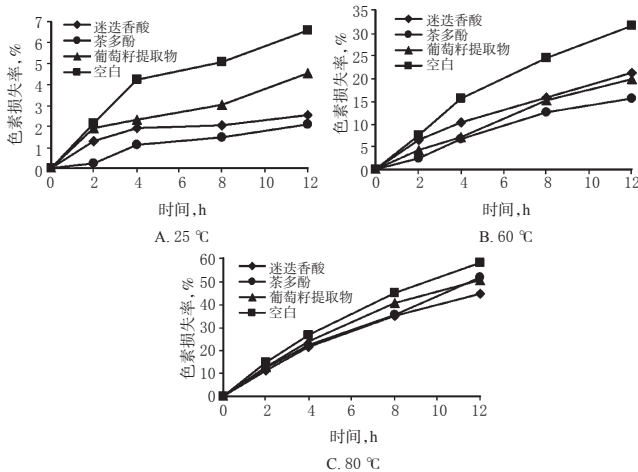


图7 3种抗氧化剂在不同温度条件下对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 7 Effects of 3 antioxidants on the stability of gardenia yellow solution under different temperatures

其中3份分别加入不同量的茶多酚,使含茶多酚浓度分别为0.05%、0.1%、0.2%,即每100 ml含0.05、0.1、0.2 g;另一份作空白处理。每组样品用水定容至刻度,摇匀后在室内自然光、常温条件下放置。于0、2、4、8、12 h时各取1 ml相应色素溶液置于25 ml量瓶中,用水定容后在441 nm波长下测定吸光度,计算色素损失率;并以时间为横坐标、色素损失率为纵坐标绘制变化曲线,比较不同浓度茶多酚对栀子黄色素溶液稳定性的影响,结果见图8。

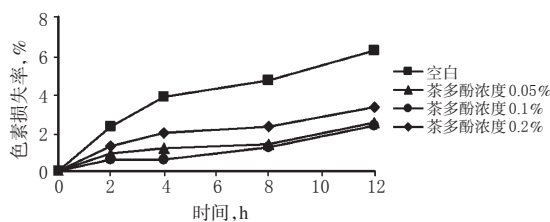


图8 不同浓度茶多酚对栀子黄色素溶液稳定性的影响

Fig 8 Effects of different concentrations of tea polyphenol on the stability of gardenia yellow solution

由图8可知,3种浓度的茶多酚均能增强栀子黄色素溶液的稳定性,但增强稳定性的效果与浓度并不成正比,其中当茶多酚浓度为0.1%时色素的损失率更低。

3 讨论

由栀子黄色素溶液的稳定性影响因素考察结果可知,强光、高温、强酸、强碱、氧化剂均会对栀子黄产生破坏作用而使色素损失。在这几种影响因素中,光照、温度与pH、氧化剂相比,更难以控制,对栀子黄色素稳定性的影响最明显。因此在之后对天然抗氧化剂的考察中,笔者主要从光照和温度这两方面对抗氧化剂的作用进行了详细考察。

天然抗氧化剂能够有效清除环境体系内的自由基,增强栀子黄色素的稳定性从而发挥减少色素损失的作用。通过对主要影响因素光照和温度两方面的考察,可知本试验中的3种

天然抗氧化剂均能有效提高栀子黄色素的稳定性,减缓其降解速度而不影响其“绿色、安全”使用。在3种抗氧化剂中,茶多酚对栀子黄色素的稳定性效果要优于其余2种,且当溶液内茶多酚浓度为0.1%时,稳定性效果最佳。

本试验研究及结果具有一定的局限性,比如为了更方便地检测和计算,本文只是考察了不同条件下对同一浓度栀子黄色素溶液的影响,而未考察对不同浓度栀子黄色素溶液稳定性的影响。根据各抗氧化剂在光照和温度条件下的考察结果,可得知同一浓度下茶多酚的稳定性效果最好,故在之后的抗氧化剂浓度考察中只考察了茶多酚的作用,而未考察其他2种抗氧化剂不同浓度的作用,均有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 孟祥乐,李红伟,李颜,等. 栀子化学成分及其药理研究作用进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(10): 959.
- [2] 肖正春,张广伦. 我国植物食用色素资源开发利用评价[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(1): 45.
- [3] 马新起,周慧,高景曦,等. 栀子提取技术开发研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 493.
- [4] 倪慧艳,张朝晖,傅海珍. 中药栀子的研究与开发概述[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 538.
- [5] Xu GL, Qian ZY, Yu SQ, et al. Evidence of crocin against endothelial injury induced by hydrogen peroxide in vitro [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(1/2): 79.
- [6] Hosseinzadeh H, Abootorabi A, Sadeghnia HR. Protective effect of Crocus sativus stigma extract and crocin (trans-crocin 4) on methyl methanesulfonate-induced DNA damage in mice organs[J]. *DNA Cell Biol*, 2008, 27(12): 657.
- [7] 张留记,刘钦松,屠万倩,等. RP-HPLC法同时测定不同产地栀子中栀子苷、西红花苷-I和西红花苷-II的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(7): 630.
- [8] 徐春明,焦志亮,李丹,等. 栀子黄色素 β -环糊精包合物制备及其稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 106.
- [9] 陈峰,罗五魁,叶楠. 栀子黄色素稳定性的研究[J]. 化学工程与设备, 2013, 36(10): 4.
- [10] Bran AL. Toxicology and biochemistry of BHA and BHT [J]. *JAACS*, 1975, 52(2): 372.
- [11] 陈阳,赵璨,张浩,等. 栀子黄OD值、色价与西红花苷和栀子苷的相关性研究[J]. 食品科技, 2010, 35(5): 262.
- [12] David J, Weiter M, Vala M, et al. Stability and structural aspects of diketopyrrolopyrrole pigment and its *N*-alkyl derivatives[J]. *Dyes and Pigments*, 2011, 89(2): 137.
- [13] 卫生部. GB7912-2010 食品安全国家标准: 食品添加剂: 栀子黄[S]. 2010-10-21.

(收稿日期:2015-10-23 修回日期:2015-11-26)

(编辑:刘萍)