

商陆浆果红色素提取工艺 及毒素的清除

徐东翔 谷伏安 于华忠

张惟杰

(武陵大学, 张家界 427000)

(上海交通大学, 上海 200240)

摘要 以垂序商陆(*Phytolacca americana* L.)浆果为原料,采用水提取-醇沉杂质-甲乙混合液清除皂甙类物质的方法进行红色素的提取,色素粗品得率为4.85%,其中甜菜苷含量为3.69%;色素粗品质量初步检验结果为,总糖含量11.2%,还原糖7.5%,铅浓度41.3 $\mu\text{g/g}$,溶解性42 s,分散性($A_{\lambda 520}$)0.323,吸湿性较强;经氯仿-硫酸显色法和紫外扫描法检测,表明色素中皂甙类物质(即所谓“商陆毒素”)已基本清除。

关键词 商陆红色素;提取工艺;商陆毒素

The extraction technology and the detoxin procedure of red pigment from *Phytolacca americana* L. berry Xu Dong-Xian, Gu Fu-An, Yu Hua-Zhong (Wulin University, Zhangjiajie 427000) and Zhang Wei-Jie (Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240), *J. Plant Resour. & Environ.* 1998, 7(2): 1-5

The extraction technology of red pigment from *Phytolacca americana* L. berry and the methods of detoxin from the pigment were studied. The results showed that the procedure of water extraction-alcohol precipitation for deimpurity-detoxin by A-B mixed solvent gave rather satisfied results, the productivity of crude pigment was 4.85%, and with 3.69% betanin in it. The determined quality criteria of crude pigment were as follows: total carbohydrates 11.2%, reductive sugars 7.5%, lead 41.3 $\mu\text{g/g}$, solubility 42 seconds, despersibility ($A_{\lambda 520}$) 0.323, with stronger moisture absorptivity. Saponin was undetectable in crude pigment product by chloroform-sulphuric acid assay and UV scanning, accordingly it indicated the toxin was removed.

Key words *Phytolacca americana* L.; phytolacca red pigment; extraction technology; phytolaccatoxin

商陆为商陆科多年生宿根草本植物,我国有4个种,即商陆(野萝卜)[*Phytolacca acinosa* Roxb. (*Ph. esculenta* Van Houtte)]、垂序商陆(美商陆、美洲商陆、十蕊商陆)[*Ph. americana* L. (*Ph. decandra* L.)]、多雄蕊商陆(*Ph. polyandra* Batalin)和日本商陆(*Ph. japonica* Makino),以垂序商陆分布较广,资源丰富。商陆浆果呈紫黑色,其色素为甜菜苷。自6月下旬到11月上旬,垂序商陆处于开花-结果-果熟循环过程中,一个年生长周期内可采收浆果若

* 本项工作得到孙波、陈斌两位同志指导,本校野生植物资源开发与利用专业97届毕业生朱志辉、龚道理参加研究工作。

徐东翔:男,1934年12月生,大学,教授,主要从事木本油料文冠果丰产生理和沙生植物抗旱生理研究。

收稿日期 1998-01-04

干批,因而产量高,可达 $30\sim 40\text{ t/hm}^2$ 。浆果富含甜菜苷,每kg鲜果为 $1.75\text{ g}^{[1,2]}$,按上述计算,色素产量可达 $50\sim 70\text{ kg/hm}^2$ 。法国曾将商陆红色素用作葡萄酒的增色剂,后来由于发现含有“毒素”而于1892年停用^[3]。1949年Ahmed等报道了垂序商陆的毒性成分,G. H. Stout等于1964年从垂序商陆得到了相同的成分,并命名为商陆毒素(phytolaccatoxin),将之水解得到了葡萄糖、木糖和商陆皂甙元(phytolaccagenin)的结晶^[3]。可见,所谓商陆毒素,实际上就是商陆皂甙(phytolaccaside)。作为中药材,商陆皂甙是治疗多种疾病的有效成分,但存在于色素中则被视为毒素,且“毒素”一词是在尚不明其结构情况下之称谓。本试验的目的是在完善色素提取工艺的同时,研究清除色素中皂甙类物质的方法。这是目前开发利用商陆色素的关键。

1 材料与方 法

1.1 材料

供试材料为垂序商陆成熟浆果,1996年秋采自武陵大学校园内野生植株,置 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待用。

1.2 商陆红色素提取方法

用4种方法提取商陆红色素:75%乙醇;95%乙醇;水提取;水提取,减压浓缩。

1.3 常规指标检测方法

糖类物质用蒽酮比色法测定,氨基酸用茚三酮分光光度法测定,铅浓度用双硫脲比色法检测,溶解性为磁力搅拌下溶解时间,分散性用比色法测定,吸湿性用称重法测定。

1.4 皂甙类物质清除效果检测

1.4.1 化学方法检测 用甲乙混合液萃取液加氯仿-硫酸液,氯仿层显红色并有绿色荧光出现者,表示其中存在皂甙类物质。

1.4.2 紫外扫描法检测 取经水提取-醇沉淀-甲乙混合液清除皂甙类物质所制得的商陆色素粗品配成的溶液,用紫外可见分光光度计(UV-160A,日本岛津)扫描,观察在 $200\sim 400\text{ nm}$ 波段是否出现皂甙类物质的特定吸收峰。

2 结果与讨论

2.1 商陆红色素提取工艺的比较

商陆色素4种不同提取工艺的比较见表1。由表1可以看出,用水提取-醇沉淀杂质-甲乙混合液萃取的方法清除皂甙类物质,效果较好。因此,根据商陆红色素易溶于水难溶于甲乙混合液,而皂甙类物质易溶于甲乙混合液,以及多糖和蛋白质不溶于乙醇等特性,设计了下列商陆色素提取工艺流程(图1)。

按水提-醇沉-甲乙混合液清除杂质的工艺流程,经3次萃取,得色素液,再经烘干称重,色素得率为4.85%,其中甜菜苷含量为3.69%,均为3个平行。

另用大量材料按相同提取工艺全过程提取,最后加入赋型剂喷雾干燥,得到商陆色素粗品,经测定,甜菜苷含量为3.40%。

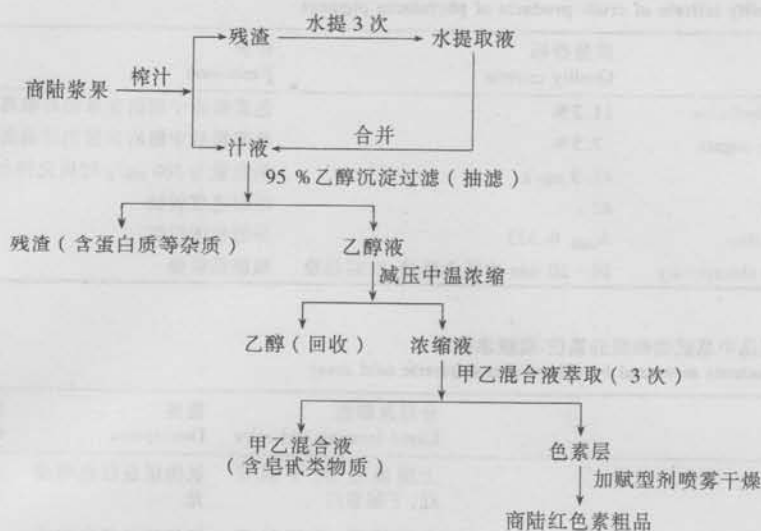


图1 商陆浆果色素提取工艺流程
Fig 1 The extraction technology of phytolacca pigment

表1 商陆色素4种不同提取工艺效果的比较

Tab 1 Comparison of four different extraction methods of phytolacca red pigment

提取方法 Extraction methods	除杂质方法 Methods of deimpurity	萃取溶剂 Extraction solvents	沉淀剂 Precipitants	检验方法 Assay methods	检验结果 Results
75%乙醇 75% alcohol	金属离子沉淀	-	20% Pb(AC) ₂ , Ba(OH) ₂	表面观察	颜色改变不理想
95%乙醇 95% alcohol	醚液	乙醚	95%乙醇	氯仿-硫酸反应	分两层,但不易析沉
水提取 Water extract	醇沉萃取	甲乙混合液	95%乙醇	氯仿-硫酸反应	分三层,上层检测出皂甙类物质,下层为色素,检测效果好
水提取,减压浓缩 Water extract, vacuum concentrate	醇沉萃取	甲乙混合液	95%乙醇	氯仿-硫酸反应	分三层,上层检测出皂甙类物质,下层为色素,检测效果较好,中层厚度变薄

2.2 商陆色素粗品的常规检测

商陆色素粗品常规质量指标检测结果见表2。

表2表明,商陆色素粗品中铅含量大大低于国家标准,且溶解性及分散性均佳;但由于其中糖含量偏高,从而导致吸湿性较强。

2.3 商陆色素粗品皂甙类物质清除效果的检测

采用甲乙混合液萃取的方法,使皂甙类物质溶解于甲乙混合液中。因此用氯仿-硫酸法检测第3次甲乙混合液萃取液层中是否还含有皂甙,即可知是否完全清除,结果见表3。

表2 商陆色素粗品的几项质量指标

Tab 2 Several quality criteria of crude products of phytolacca pigment

检测项目 Assay	质量指标 Quality criteria	评价 Evaluation
总糖 Total carbohydrates	11.2%	色素粗品中糖的含量仍然偏高
还原糖 Reductive sugars	7.5%	色素粗品中糖的含量仍然偏高
铅 Lead	41.3 $\mu\text{g/g}$	铅含量为 300 $\mu\text{g/g}$ 时属允许上限, 该结果较理想
溶解性 Solubility	42 s	溶解速度较快
分散性 Dispersibility	A_{520} 0.323	分散性能较好
吸湿性 Moisture absorptivity	10~20 min 内吸水迅速, 以后趋稳	吸湿性较强

表3 商陆色素粗品中皂甙类物质的氯仿-硫酸法检测

Tab 3 Saponin contents measured by chloroform-sulphuric acid assay

检测液 Samples	分层及颜色 Layer-forming and color	检测 Description	检测结果 Results
水直接提取液 Water extract	上层淡橙黄, 中层黄红, 下层紫红	氯仿层显红色和荧光	上层有皂甙, 下层在检测线以下
水提醇沉浓缩液 Concentrate of water extract and alcohol deposit	上层橙黄, 中层浅紫红, 下层紫红	氯仿层显红色和荧光	上层有皂甙, 下层在检测线以下
经一次萃取的甲乙混合液层 Mixed liquid layer of A & B by extract at 1 time	上层浅黄, 中层红黄, 下层紫红	氯仿层呈浅红, 显弱绿色荧光	上层有皂甙, 中、下层均低于检测限
经三次萃取的甲乙混合液层 Mixed liquid layer of A & B by extract at 3 times	上层浅黄, 中层红黄, 下层紫红	三层均不显红色且不出荧光	三层含皂甙均在检测限以下

由表3可知: 商陆色素提取液, 经甲乙混合液萃取, 可将色素中的皂甙类物质逐步清除; 经3次萃取后, 在甲乙混合液萃取液层中, 皂甙含量已在检测限以下。这表明皂甙类物质已从色素中清除。

为了更准确地了解提制的商陆红色素粗品是否含有皂甙类物质, 将色素粗品配制成溶液, 以 pH 5.0 的磷酸缓冲液为溶剂, 用紫外-可见分光光度计进行扫描, 结果见图2。

从图2可见, 溶剂的光谱除紧靠 200 nm 有很强的溶剂吸收峰外, 曲线保持平稳状态。清除皂甙前商陆色素粗品的光谱中, 268 nm 波段的吸收峰值, 为皂甙的吸收峰值, 538 nm 处有很强的吸收峰值, 此系甜菜苷的最大吸收区。清除皂甙后商陆色素粗品的光谱, 有一与溶剂相近似的吸收峰值, 另在 538 nm 有一较强的吸收峰值, 而在 268 nm 处则无明显的吸收峰值出现。这进一步说明色素中所谓毒素(皂甙), 已被基本清除。

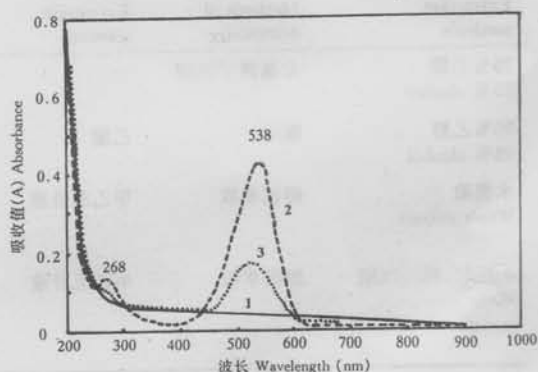


图2 商陆色素紫外-可见吸收光谱扫描图

Fig 2 UV-Absorption spectra of pigment

1. 溶剂 solvent; 2. 清除皂甙前商陆色素溶液 (538 nm 处的吸收峰为甜菜苷特定吸收波段) phytolacca pigment solution before desaponin (the peak at 538 nm was betanin-specific peak); 3. 清除皂甙后商陆色素溶液 phytolacca pigment solution after desaponin

3 初步结论

(1) 商陆红色素的提取方法,以“水提取-醇沉淀-甲乙混合液清除皂甙类物质”的方法较好,其红色素粗品得率为 4.85%,其中甜菜苷含量为 3.69%。

(2) 商陆色素粗品的铅含量大大低于国家标准,且溶解性与分散性均佳,但由于含糖量偏高,吸湿性仍然偏强。所得粗品中,甜菜苷与糖类物质总计不到 1/4,还有大量其他成分。这些成分是什么,如何再纯化,有待进一步研究。

(3) 经两种方法检测,结果表明,用甲乙混合液萃取 3 次后,色素粗品中已基本不存在皂甙类物质。这说明甲乙混合液为较理想的皂甙类物质清除剂。

参 考 文 献

- 1 杨瑞因. 苋菜叶中所含的不是花青素,而是甜菜苷. 植物生理学通讯,1987,(3): 75.
- 2 陈 斌,于华忠,徐东翔. 商陆红色素基本特性的研究. 武陵生物研究,1995年2期与1996年1期合刊,80-87.
- 3 原思通,王祝举,程 明. 中药商陆的研究进展. 中药材,1991,14(1):46-48. (责任编辑:许定发)

国际药用植物会议

1998年2月16-19日在印度邦加罗尔市举行了“国际药用植物会议”。这是继1988年在泰国青迈召开的第一次国际药用植物大会以后的又一次重要国际会议,来自31个国家400余名代表出席了会议。鉴于药用植物的重要性日益被社会各界所重视,这次会议主办单位较上次增多,包括IUCN、WWF、WHO、BGCI、FAO以及其他国际组织和印度的若干部门。会议由印度地方保健传统复兴基金会和邦加罗尔农业大学承办。大会的主题是“药用植物和人类的生存”,这反映了大会的内容是围绕着“回归自然”和环境意识提高的现实而设计的。国际知名科学家美国密苏里植物园主任、美国科学院国内秘书长、美国总统科学顾问、中国科学院外籍院士、南京中山植物园名誉主任雷文博士作大会的主题报告,他主要讲了环境问题、物种保护问题、药用植物和医药的传统问题等。这次会议除了药用植物的保护、栽培、作用、贸易、利益分享等内容外,对药用植物及其产生的文明基础也有较多的注意,这是本次大会的一个明显特点。历时4天的大会开得十分紧凑和热烈,会上还有板报、展出和贸易等多种形式的交流活动。

会议分组讨论的中心议题包括:

- 1) 药用植物保护
 - 喜马拉雅地区药用植物
 - 以保护项目为基础的社区
 - 药用植物保护的政策与行动
- 2) 知识产权与交叉文化
 - 知识产权在交叉文化知识和资源交流中的作用
 - 交换与利益分享: 国家、社区、个人
 - 执行国际生物多样性公约和FAO农民权利等法规的原则和方法
- 3) 贸易和企业
 - 药用植物是工业和地方之间关系的基础
 - 以社区为基础的企业与生物多样性的保护
- 4) 医药和药用植物的传统体系
 - 整个传统药的数据库
 - 从原住民保健系统中学习民族植物学知识

1997年11月在南美阿根廷召开了一次药用植物和芳香植物国际会议,仅过3个月又在印度召开这样的大会,说明国际上对药用植物的重视程度。

(贺善安)