

# 松花粉黄色素的超声/微波协同提取工艺及其稳定性研究

李良玉<sup>1\*</sup>, 王欣卉<sup>2</sup>, 宋大巍<sup>1</sup>, 于伟<sup>1</sup>, 贾鹏禹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术研究中心; <sup>2</sup>黑龙江八一农垦大学食品学院, 大庆 163319

**摘要:** 本文以东北野生马尾松松花粉为原料, 研究超声/微波协同提取松花粉黄色素的工艺和松花粉黄色素的溶解性以及 pH 值、温度、光照、食品添加剂和 6 种常见金属离子对其稳定性的影响。结果表明: 超声/微波协同提取松花粉黄色素的最佳工艺参数为微波功率 351.4 W, 液料比 25.4 mL/g, 提取时间 11.9 min; 松花粉黄色素在酸性条件下稳定性较好, 碱性环境对其有增色作用, 对光和热有较好的耐受性,  $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Al^{3+}$  的影响小,  $Cu^{2+}$  和  $Fe^{3+}$  对其有一定的影响, 食盐、葡萄糖、蔗糖、苯甲酸钠的影响较小, 碳酸钠和苯甲酸钠对色素稍有增色作用, 维生素 C 和柠檬酸稍有减色作用。试验结果表明松花粉黄色素稳定性良好, 本研究结果为开发应用松花粉黄色素奠定了基础, 为松花粉黄色素的提取加工及工业应用提供了依据。

**关键词:** 松花粉; 黄色素; 超声/微波协同提取; 稳定性

中图分类号: S789.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.11.016

## Ultrasonic/Microwave Synergistic Extraction of Yellow Pigment from Pine Pollen and Its Stability

LI Liang-yu<sup>1\*</sup>, WANG Xin-hui<sup>2</sup>, SONG Da-wei<sup>1</sup>, YU wei<sup>1</sup>, JIA peng-yu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Heilongjiang Bayi Agricultural University, National Coarse Cereals Engineering Research Center;

<sup>2</sup>The Food Science of Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China

**Abstract:** The objective of this study was to optimize the ultrasonic/microwave synergistic extraction technology of pine pollen yellow pigment and to investigate the stability of the extracted pigment. Northeast wild pine pollen was taken as the raw material, the ultrasonic/microwave synergistic extraction parameters were optimized. In addition, the effects of temperature, pH value, light, food additives and 6 metal ions on the stability of yellow pigment were compared. The results showed that the optimal conditions of ultrasonic/microwave synergistic extraction were: microwave power of 351.4 W, liquid to solid ratio of 25.4 mL/g, extraction time of 11.9 min. The pine pollen yellow pigment was more stable under acidic conditions, its color was enhanced under alkaline environment. It had good tolerance to light and heating, and  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  and  $Al^{3+}$  ions had small effects on it, but  $Cu^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  had certain influences on it. Little effects of salt, glucose, sucrose, sodium benzoate were detected, the color of pigment was enhanced by sodium carbonate and sodium benzoate, while vitamin C and citric acid had slightly hypochromic effect. This study provided a reference for the extraction and processing of pine pollen yellow pigment. The results of this study can be used as a basis for the development of pine pollen yellow pigment products for its industrial application.

**Key words:** pine pollen; yellow pigment powder; ultrasonic/microwave synergistic extraction; stability

松花粉(Pine pollen)是我国特有马尾松和油松的花粉,药名松花、松黄,为鲜黄色或淡黄色细粉,其味甘平无毒,松花粉含有多种蛋白质、氨基酸、核酸、多糖纤维素、不饱和脂肪酸,还含有多酚类化合物、核酸和植物甾醇等生物活性成分,具有很高的保健

价值<sup>[1-3]</sup>,具有收敛止血、燥湿敛疮之功效,主治外伤出血、湿疹、黄水疮、皮肤糜烂、脓水淋漓等<sup>[4,5]</sup>。松花粉具有抗衰老、降血糖、降血脂、调节免疫等作用<sup>[6-11]</sup>。目前,对松花粉的研究较多但主要集中在松花粉多糖、蛋白、不饱和脂肪酸等方面,对于天然黄色素的研究还没有报道。超声-微波协同萃取技术是一种新型的高新提取技术,其将超声波和微波有机的结合起来,充分利用超声波的空化和微波的高能作用,将超声波振动能和微波能直接作用于样

品,达到良好的提取效果<sup>[12]</sup>。目前,对超声/微波协同提取的应用报道,主要集中在多糖的提取中,对多酚、黄酮、有机酸等其它成分的提取有一定报道,但在天然色素的提取方面研究较少<sup>[13]</sup>。本文以东北野生马尾松松花粉为原料,研究超声/微波协同提取松花粉黄色素的工艺,将超声与微波有机的结合,发挥各自在提取中的优势,最大限度地提高提取得率,并对松花粉黄色素的稳定性进行了系统的研究,希望能为进一步开发利用马尾松这一林产资源提供理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料与试剂

东北野生马尾松松花粉市购;甲醇、乙醇、氯仿、乙醚、丙酮、苯、葡萄糖、蔗糖、苯甲酸钠、柠檬酸、碳酸钠、氯化钾、氯化钠、三氯化铝、三氯化铁、氯化锌、氯化铜、氯化钙、亚硫酸钠、30%双氧水、维生素C等皆为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

Pharo300 紫外可见分光光度计,默克密理博;CW-2000 型超声—微波协同提取仪,上海新拓微波溶样测试技术有限公司;恒温水浴箱,上海森信实验仪器有限公司;MD100-2 型电子分析天平,沈阳华腾电子有限公司;酸度计 S220K,梅特勒·托利多公司。

## 2 实验方法

### 2.1 松花粉黄色素的提取方法

对松花粉黄色素的提取工艺采用单因素实验得到了优化的提取工艺参数和操作步骤,具体操作过程如下:提取剂为95%乙醇<sup>[14]</sup>,微波功率300 W,提取温度50℃,提取时间10 min,料液比1:15 mL/g,得到松花粉黄色素。

### 2.2 松花粉黄色素光谱特性的测定

取松花粉黄色素乙醇溶液,紫外-可见分光光度计在波长范围为200~600 nm内进行扫描,测得最大吸收波长后,在该波长下进行松花粉黄色素吸光值的测定,作为评价松花粉黄色素稳定性的标准<sup>[15]</sup>。

### 2.3 超声/微波协同提取松花粉黄色素的工艺优化研究

#### 2.3.1 微波功率对松花粉黄色素提取的影响

称取松花粉10 g共5份,提取剂为95%乙醇,

提取时间15 min,液料比20:1 mL/g,以吸光度为指标研究不同微波功率100、200、300、400、500 W对松花粉黄色素提取效果的影响,重复三次。

#### 2.3.2 液料比对松花粉黄色素提取的影响

称取松花粉10 g共7份,提取剂为95%乙醇,微波功率300 W,提取时间15 min,以吸光度为指标研究不同液料比10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 (mL/g)对松花粉黄色素提取效果的影响,将液料比统一调配至20:1 mL/g后测定吸光度,重复三次。

#### 2.3.3 提取时间对松花粉黄色素提取的影响

称取松花粉10 g共5份,提取剂为95%乙醇,微波功率300 W,液料比20:1 mL/g,以吸光度为指标研究不同提取时间5、10、15、20、25 min对松花粉黄色素提取效果的影响,重复三次。

#### 2.3.4 响应面优化实验方法

在单因素实验基础上,根据二次回归组合实验设计原理,以松花粉吸光度为响应值,设计微波功率、提取时间、液料比三个因素进行响应面分析实验,实验设计见表1。

表1 因素水平编码表

Table 1 Factors and levels for response surface analysis

编码值 Coding value	X <sub>1</sub> 微波功率 Microwave power (W)	X <sub>2</sub> 液料比 Solid/liquid ratio (mL/g)	X <sub>3</sub> 提取时间 Extraction time (min)
-1.682	200	20	10
-1	241	22	12
0	300	25	15
1	359	28	18
1.682	400	30	20

### 2.4 松花粉黄色的稳定性研究

#### 2.4.1 松花粉黄色素溶解性研究<sup>[16]</sup>

将松花粉黄色素溶液冷冻干燥,称取0.01 g的松花粉黄色素粉末7份分别加入10 mL的蒸馏水、甲醇、乙醚、无水乙醇、丙酮、氯仿、苯,搅拌均匀,加盖,室温下避光浸取3 h,观察溶解情况,考察松花粉黄色素的溶解性。

#### 2.4.2 温度对松花粉黄色素稳定性的影响<sup>[17]</sup>

取松花粉黄色素提取液50 mL共5份分别置于5支具塞试管中,加塞后分别置于20、40、60、80、100℃的恒温水浴锅中加热3 h,取出后冷却至室温,每30 min测定吸光度一次,重复3次。

### 2.4.3 pH 值对松花粉黄色素稳定性的影响<sup>[18]</sup>

取松花粉黄色素提取液 9 mL 共 14 份分别置于 14 支具塞试管中,用 1 mol/L HCL 与 1 mol/L NaOH 调 pH 值为 1~14,用蒸馏水补足至 10 mL,再取混匀后加塞,黑暗处放置 4 h 后测其吸光度,重复 3 次。

### 2.4.4 光照对松花粉黄色素稳定性的影响<sup>[19]</sup>

取松花粉黄色素提取液 50 mL 以及松花粉黄色素稀释液 50 mL(松花粉黄色素提取液 40 mL + 10 mL 无水乙醇)各 1 份分别置于 2 支具塞试管中,加塞置阳光下和紫外灯下照射 3 h,每 30 min 测吸光度一次,重复 3 次。

### 2.4.5 金属离子对松花粉黄色素稳定性的影响<sup>[20]</sup>

取松花粉黄色素提取液 9 mL 共 30 份置于 30 支具塞试管中,再分别加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 6 种相同浓度 1 mg/mL 的不同金属离子溶液( $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Al^{3+}$ ),用蒸馏水补足至 10 mL,混匀后加塞,黑暗中放置 4 h 后测定其吸光度,重复 3 次。

### 2.4.6 食品添加剂对松花粉黄色素稳定性的影响<sup>[21]</sup>

取松花粉黄色素提取液 9 mL 共 40 份置于 40 支具塞试管中,再分别加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 5 种相同浓度 0.1% 的不同食品添加剂溶液(维生素 C、柠檬酸、碳酸钠、苯甲酸钠、亚硫酸钠)和 3 种相同浓度 10% 的不同食品添加剂溶液(氯化钠、葡萄糖、蔗糖),用蒸馏水补足至 10 mL,混匀后加塞,黑暗中放置 4 h,测定其吸光度,重复 3 次。

## 2.5 数据处理

实验重复 3 次,并采用 Origin 8.0 软件制图,采用 SAS8.2 软件进行数据统计分析。

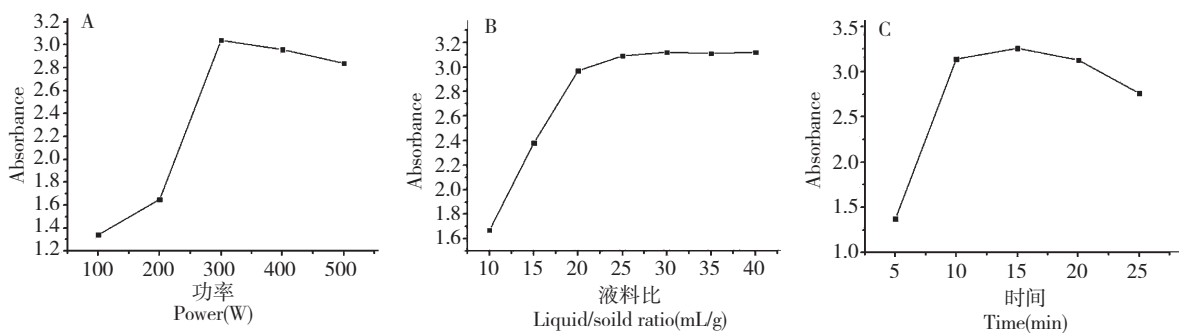


图 2 微波功率(a)、液料比(b)及提取时间(c)对松花粉黄色素提取的影响

Fig. 2 Effects of microwave power (a), liquid/solid ratio (b) and extraction time (c) on the extraction of pine pollen yellow pigment

## 3 结果与分析

### 3.1 松花粉黄色素光谱特性的测定结果

松花粉黄色素光谱特性的测定结果,见图 1。由图 1 可知,松花粉黄色素溶液的紫外光谱扫描发现其光谱在 362 nm 处有吸收峰,选择可见光范围内最大吸收波长 362 nm 作为吸光度测定波长。

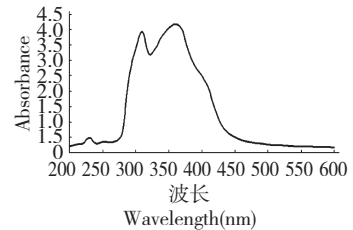


图 1 松花粉黄色素的紫外-可见光吸收光谱曲线  
Fig. 1 UV-Vis spectrum of pine pollen yellow pigment

### 3.2 超声/微波协同提取松花粉黄色素的提取工艺研究结果与分析

#### 3.2.1 单因素实验结果

##### 3.2.1.1 微波功率对松花粉黄色素提取的影响

由图 2-a 可知随着微波功率的增大,松花粉黄色素的吸光度呈现上升趋势。在 100~300 W 时范围内,呈现上升的趋势,在 300 W 时,吸光度达到最大值。在 300~500 W 范围内,提取率逐步下降。可能的原因是当微波功率在 100~300 W 时,微波功率不足乙醇溶剂也达到足够穿透能力。因此,吸光度呈现上升趋势,微波超过 300 W 两者达到最适平衡状态,吸光度也达到最大值。当微波功率大于 300 W 以后会引起色素结构的变化而使吸光度下降。因此,本实验选择响应面优化微波功率范围为在以 300 W 为中心 200 W 到 400 W 之间。

### 3.2.1.2 液料比对松花粉黄色素提取的影响

由图 2-b 可以看出,随着提取液料比的不断增大,松花粉黄色素的吸光度值呈现上升的趋势;当液料比达到 30:1 mL/g 后,吸光度趋于平衡。因此,本实验选择响应面优化提取液料比范围为在以 25:1 mL/g 为中心 20:1 mL/g 到 30:1 mL/g 之间。

### 3.2.1.3 提取时间对松花粉黄色素提取的影响

由图 2-c 可知随着提取时间的延长,松花粉黄色素吸光度呈现上升趋势。在 5 ~ 15 min 时,提取率呈现快速上升的趋势,在提取 15 min 左右达到最大,超过 20 min 有下降的趋势,这可能是提取时间

过长影响了色素的稳定性。因此,本实验选择响应面优化提取时间范围为在以 15 min 为中心 10 min 到 20 min 之间。

### 3.2.2 响应面实验结果与分析

基于单因素实验结果确定的最佳条件,以微波功率(W),液料比(mL/g),提取时间(min),这三个因素为自变量(分别以  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  表示),以松花粉黄色素吸光度为响应值设计 3 因素共 17 个实验点的三元二次回归正交旋转组合实验,保证实验点最少前提下提高优化效率,运用 SAS 8.2 软件处理,实验结果见表 2。

表 2 实验安排表以及结果

Table 2 Scheme and results of regression orthogonal rotary design

实验号 No.	$X_1$ 微波功率 Microwave power (W)	$X_2$ 液料比 Solid/liquid ratio (mL/g)	$X_3$ 提取时间 Extraction time (min)	吸光度 Absorbance
1	1	1	1	2.09
2	1	1	-1	3.38
3	1	-1	1	2.15
4	1	-1	-1	3.15
5	-1	1	1	2.49
6	-1	1	-1	1.84
7	-1	-1	1	1.93
8	-1	-1	-1	1.28
9	-1.682	0	0	2.68
10	1.682	0	0	1.75
11	0	-1.682	0	3.19
12	0	1.682	0	3.07
13	0	0	-1.682	2.95
14	0	0	1.682	2.91
15	0	0	0	3.4
16	0	0	0	3.28
17	0	0	0	3.07

### 3.2.2.1 多因素组合优化实验分析

采用 SAS 8.2 统计软件对优化实验进行响应面回归分析(RSREG),回归方程以及回归方程各项的

方差分析结果见表 3,二次回归参数模型数据如表 4 所示。

表 3 回归方程各项的方差分析表

Table 3 The ANOVA of regression equations

回归方差来源 Source	自由度 DF	平方和 Sum of square	均方和 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
回归模型 Model	9	6.18	0.88	5.57	0.0169
一次项 Linearity	3	1.907	0.271	5.16	0.034

二次项 Quadratic item	3	2.543	0.361	6.88	0.0171
交互项 Interaction item	3	1.734	0.246	4.69	0.042
失拟项 Lack of Fit	5	0.794	0.159	4.61	0.188
误差 Error	7	0.863	0.123		
纯误差 Pure Error	6	0.069	0.0344		

由表3可以看出:二次回归模型的F值为5.57,  $P$ 值 $<0.05$ ,大于在0.05水平上的F值,而失拟项的F值为4.61,小于在0.05水平上的F值,说明

该模型拟和结果好。一次项、二次项和交互项的F值均大于0.05水平上的F值,说明其对提取率有显著的影响。

表4 二次回归模型参数表

Table 4 The parameters of quadratic regression

模型 Model	非标准化系数 Non-standard	T值 T value	P值 P value
截距 Intercept	-44.857	-3.57	0.009
X1	10.14	5.16	0.0013
X2	1.13	1.71	0.13
X3	1.578	2.93	0.022
X1X2	-0.000132	-4.47	0.0029
X1X3	-0.000671	-0.96	0.371
X2X3	-0.00254	-3.61	0.0086
X1X2X3	-0.0166	-1.41	0.2007
X2X3	0.004	-0.29	0.779
X32	-0.0246	-2.09	0.0748

以松花粉黄色素的吸光度为Y值,得出微波功率(W)、液料比(mL/g)、提取时间(min)的编码值为自变量的三元二次回归方程为:

$$Y = -44.857 + 10.14X_1 + 1.13X_2 + 1.578X_3 - 0.000132X_1^2 - 0.000671X_1X_2 - 0.00254X_1X_3 - 0.0166X_2^2 + 0.004X_2X_3 - 0.0246X_3^2$$

### 3.2.2.2 最优提取条件确定

为了进一步确证最佳点的值,采用SAS软件的Rsreg语句对实验模型进行响应面典型分析,以获得最大提取效果时的条件。经典型性分析得最优提取条件和提取率为:微波功率351.4 W,液料比25.4 mL/g,提取时间11.9 min时,松花粉黄色素的吸光

度值最大,理论最大值为3.491。

### 3.2.3 验证实验

按照最优提取条件进行实验,重复三次。结果麦松花粉黄色素的吸光度值 $3.49 \pm 0.3$ ,实验值与模型的理论值非常接近,且重复实验相对偏差不超过2%,说明实验条件重现性良好。结果表明,该模型可以较好的反映出超声/微波协同提取松花粉黄色素的条件。

## 3.3 松花粉黄色素的稳定性研究

### 3.3.1 松花粉黄色素溶解性能

松花粉黄色素在不同溶剂中的溶解性能实验结果见表5。

表5 不同溶剂中松花粉黄色素的溶解性能

Table 5 The solubility of pine pollen yellow pigment in different solvents

项目 Items	蒸馏水 Distilled water	甲醇 Methanol	乙醚 Ether	无水乙醇 Anhydrous alcohol	丙酮 Acetone	氯仿 Chloroform	苯 Benzene
溶解情况 Dissolution	微溶 Slightly soluble	溶解 Soluble	溶解 Soluble	溶解 Soluble	速溶 Instant	速溶 Instant	速溶 Instant
颜色 Color	浑浊 Muddy	微黄 Slightly yellow	淡黄色 Canary yellow	黄色 Yellow	黄色 Yellow	金黄 Golden	金黄 Golden

由表5可以看出,随着溶剂极性的不断减弱松花粉黄色素的溶解性不断提高,可以认为松花粉黄色素为一种脂溶性色素。

### 3.3.2 温度对松花粉黄色素稳定性的影响

温度对松花粉黄色素稳定性影响的实验结果,见表6。

表6 温度对松花粉黄色素稳定性的影响

Table 6 Effects of temperature on pine pollen pigment stability

温度 Temperature (°C)	时间 Time(h)					
	0.5	1	1.5	2	2.5	3
20	0.618 ± 0.008 <sup>C,ab</sup>	0.619 ± 0.002 <sup>B,a</sup>	0.612 ± 0.01 <sup>AB,ab</sup>	0.61 ± 0.003 <sup>B,ab</sup>	0.608 ± 0.002 <sup>AB,ab</sup>	0.609 ± 0.003 <sup>A,ab</sup>
40	0.632 ± 0.01 <sup>BC,a</sup>	0.628 ± 0.006 <sup>AB,b</sup>	0.614 ± 0.003 <sup>A,c</sup>	0.614 ± 0.02 <sup>A,cd</sup>	0.612 ± 0.007 <sup>A,cd</sup>	0.608 ± 0.009 <sup>AB,cd</sup>
60	0.641 ± 0.01 <sup>B,a</sup>	0.632 ± 0.007 <sup>A,b</sup>	0.61 ± 0.003 <sup>AB,c</sup>	0.605 ± 0.009 <sup>B,d</sup>	0.598 ± 0.004 <sup>B,e</sup>	0.596 ± 0.003 <sup>B,ef</sup>
80	0.672 ± 0.009 <sup>A,a</sup>	0.615 ± 0.003 <sup>BC,b</sup>	0.603 ± 0.008 <sup>B,c</sup>	0.592 ± 0.01 <sup>C,d</sup>	0.583 ± 0.01 <sup>C,e</sup>	0.582 ± 0.007 <sup>C,ef</sup>
100	0.602 ± 0.009 <sup>D,a</sup>	0.592 ± 0.012 <sup>C,b</sup>	0.507 ± 0.006 <sup>C,c</sup>	0.398 ± 0.008 <sup>D,d</sup>	0.366 ± 0.011 <sup>D,e</sup>	0.365 ± 0.016 <sup>D,ef</sup>

注:A-D为组间的方差分析结果, $P < 0.05$ ; a-f为组内的方差分析结果, $P < 0.05$ 。下同。

Note: A-D indicated significant difference between groups,  $P < 0.05$ ; a-f indicated significant difference within group,  $P < 0.05$ . Same as below.

由表6可以看出,在20~60℃时松花粉黄色素稳定;当温度为80℃时,松花粉黄色素的吸光度呈先增加后下降的趋势,在0.5h内吸光度增加,这是由于温度升高有利于松花粉黄色素分子的热运动促进色素的溶解,1h后吸光度呈下降的趋势,3h后趋于平衡,保留率较高,温度低于80℃松花粉黄色

素稳定性较好;当温度超过80℃后,松花粉黄色素稳定性急剧下降保留率低稳定性差,因此该色素应避免在80℃以上的环境下使用。

### 3.3.3 pH值对松花粉黄色素稳定性的影响

pH值对松花粉黄色素稳定性影响的实验结果,见表7。

表7 pH值对松花粉黄色素稳定性的影响

Table 7 Effects of pH on pine pollen pigment stability

pH	吸光度 A Absorbance	pH	吸光度 A Absorbance
1.0	0.547 ± 0.006 <sup>k</sup>	8.0	1.457 ± 0.005 <sup>f</sup>
2.0	0.560 ± 0.008 <sup>jk</sup>	9.0	1.481 ± 0.011 <sup>e</sup>
3.0	0.562 ± 0.009 <sup>j</sup>	10.0	1.508 ± 0.012 <sup>d</sup>
4.0	0.571 ± 0.022 <sup>i</sup>	11.0	1.534 ± 0.007 <sup>c</sup>
5.0	0.585 ± 0.012 <sup>h</sup>	12.0	1.580 ± 0.008 <sup>b</sup>
6.0	1.345 ± 0.009 <sup>g</sup>	13.0	1.595 ± 0.009 <sup>ab</sup>
7.0	1.457 ± 0.013 <sup>fg</sup>	14.0	1.600 ± 0.013 <sup>a</sup>

由表7可以看出,随着pH值的提高,松花粉黄色素的吸光度成上升趋势,酸性条件下稳定性较好,碱性环境对其有增色作用。

### 3.3.4 光照对松花粉黄色素稳定性的影响

光照对松花粉黄色素稳定性影响的实验结果,见表8。

表8 光照对松花粉黄色素稳定性的影响

Table 8 Effects of irradiation on pine pollen pigment stability

项目 Items	时间 Time (h)					
	0.5	1	1.5	2	2.5	3
光照 Sunlight	0.763 ± 0.005 <sup>ab</sup>	0.761 ± 0.008 <sup>ab</sup>	0.766 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.765 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.762 ± 0.009 <sup>ab</sup>	0.763 ± 0.007 <sup>ab</sup>
紫外灯照射 UV light irradiation	0.659 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.657 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.656 ± 0.011 <sup>ab</sup>	0.65 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.654 ± 0.007 <sup>ab</sup>	0.655 ± 0.003 <sup>ab</sup>

由表 8 可以看出,无论是日光照射还是紫外灯照射对色素的吸光度变化幅度很小,颜色基本没有变化,说明松花粉黄色素的光稳定性良好。

### 3.3.5 金属离子对松花粉黄色素稳定性的影响

金属离子对松花粉黄色素稳定性影响的实验结果,见表 9。

表 9 不同金属离子对松花粉黄色素稳定性的影响

Table 9 Effects of different metal ions on pine pollen pigment stability

金属离子 Ions	添加量 Addition amount (mL)				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Ca <sup>2+</sup>	0.783 ± 0.01 <sup>CD, ab</sup>	0.782 ± 0.005 <sup>CD, ab</sup>	0.788 ± 0.009 <sup>C, a</sup>	0.782 ± 0.02 <sup>CD, ab</sup>	0.786 ± 0.003 <sup>B, ab</sup>
K <sup>+</sup>	0.788 ± 0.005 <sup>C, a</sup>	0.783 ± 0.005 <sup>CD, ab</sup>	0.78 ± 0.005 <sup>CD, ab</sup>	0.782 ± 0.005 <sup>CD, ab</sup>	0.783 ± 0.005 <sup>BC, ab</sup>
Fe <sup>3+</sup>	0.895 ± 0.001 <sup>A, d</sup>	1.129 ± 0.009 <sup>A, b</sup>	1.252 ± 0.008 <sup>A, a</sup>	1.035 ± 0.009 <sup>A, c</sup>	1.027 ± 0.01 <sup>A, cd</sup>
Al <sup>3+</sup>	0.788 ± 0.01 <sup>CD, a</sup>	0.761 ± 0.004 <sup>D, b</sup>	0.764 ± 0.007 <sup>D, bc</sup>	0.767 ± 0.002 <sup>D, bc</sup>	0.765 ± 0.009 <sup>D, bc</sup>
Mg <sup>2+</sup>	0.783 ± 0.003 <sup>D, ab</sup>	0.786 ± 0.009 <sup>C, a</sup>	0.784 ± 0.006 <sup>CD, ab</sup>	0.785 ± 0.008 <sup>C, ab</sup>	0.783 ± 0.007 <sup>BC, ab</sup>
Cu <sup>2+</sup>	0.806 ± 0.009 <sup>B, c</sup>	0.816 ± 0.002 <sup>B, b</sup>	0.845 ± 0.01 <sup>B, a</sup>	0.801 ± 0.003 <sup>B, cd</sup>	0.72 ± 0.002 <sup>C, d</sup>

由表 9 可以看出, K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Al<sup>3+</sup> 等四种离子对松花粉黄色素的稳定性影响很小; Cu<sup>2+</sup> 对松花粉黄色素的稳定性有一定的影响,当 Cu<sup>2+</sup> 浓度较低时 Cu<sup>2+</sup> 自身颜色影响测定导致吸光度升高,浓度较高时 Cu<sup>2+</sup> 影响松花粉黄色素的稳定性导致吸光度下降; Fe<sup>3+</sup> 对松花粉黄色素的稳定性影响较大,当

Fe<sup>3+</sup> 浓度较低时出现浑浊现象导致吸光度升高, Fe<sup>3+</sup> 浓度较高时松花粉黄色素的稳定性较差导致吸光度下降,但仍高于对照。

### 3.3.6 食品添加剂对松花粉黄色素稳定性的影响

食品添加剂对松花粉黄色素稳定性影响的实验结果,表 10。

表 10 食品添加剂对松花粉黄色素稳定性的影响

Table 10 Effects of food additives on pine pollen pigment stability

食品添加剂 Food additives	添加量 Addition amount (mL)				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
碳酸钠	0.66 ± 0.002 <sup>A, e</sup>	0.679 ± 0.003 <sup>A, d</sup>	0.739 ± 0.01 <sup>A, c</sup>	0.782 ± 0.007 <sup>A, b</sup>	0.827 ± 0.02 <sup>A, a</sup>
苯甲酸钠	0.654 ± 0.002 <sup>B, de</sup>	0.659 ± 0.01 <sup>B, d</sup>	0.66 ± 0.004 <sup>B, c</sup>	0.672 ± 0.007 <sup>B, b</sup>	0.681 ± 0.003 <sup>B, a</sup>
葡萄糖	0.647 ± 0.002 <sup>C, ab</sup>	0.649 ± 0.006 <sup>C, a</sup>	0.645 ± 0.004 <sup>C, ab</sup>	0.646 ± 0.005 <sup>C, ab</sup>	0.649 ± 0.002 <sup>C, ab</sup>
氯化钠	0.646 ± 0.002 <sup>CD, ab</sup>	0.645 ± 0.01 <sup>CD, ab</sup>	0.649 ± 0.005 <sup>CD, a</sup>	0.644 ± 0.003 <sup>CD, ab</sup>	0.648 ± 0.005 <sup>CD, ab</sup>
蔗糖	0.648 ± 0.003 <sup>CD, a</sup>	0.644 ± 0.01 <sup>CD, ab</sup>	0.648 ± 0.01 <sup>CD, ab</sup>	0.645 ± 0.007 <sup>CD, ab</sup>	0.651 ± 0.012 <sup>CD, ab</sup>
亚硫酸钠	0.645 ± 0.007 <sup>CD, ab</sup>	0.643 ± 0.002 <sup>CD, ab</sup>	0.648 ± 0.01 <sup>CD, ab</sup>	0.647 ± 0.003 <sup>CD, ab</sup>	0.649 ± 0.002 <sup>CD, a</sup>
维生素 C	0.638 ± 0.002 <sup>E, a</sup>	0.629 ± 0.007 <sup>E, b</sup>	0.613 ± 0.005 <sup>E, c</sup>	0.602 ± 0.008 <sup>E, d</sup>	0.598 ± 0.004 <sup>E, e</sup>
柠檬酸	0.625 ± 0.005 <sup>F, a</sup>	0.614 ± 0.008 <sup>F, b</sup>	0.601 ± 0.007 <sup>F, c</sup>	0.586 ± 0.01 <sup>F, d</sup>	0.567 ± 0.009 <sup>F, e</sup>

由表 10 可以看出,葡萄糖、氯化钠、蔗糖和亚硫酸钠对色素的吸光度变化幅度很小,颜色基本无变化,说明其对松花粉黄色素的稳定性没有显著的影响;碳酸钠和苯甲酸钠对色素的吸光度变化幅度较大,颜色加深,说明其对松花粉黄色素的稳定性有显著的增色作用;而维生素 C 和柠檬酸对色素的吸光度变化幅度较大,颜色减弱,说明其对松花粉黄色素的稳定性有显著的减色作用。

## 4 结论

通过实验研究可以得到松花粉黄色素超声/微波协同的最佳提取工艺参数为:微波功率 351.4 W,液料比 25.4 mL/g,提取时间 11.9 min,松花粉黄色素的吸光度值最大为 3.49;在溶解性方面松花粉黄色素微溶于水,速溶于有机溶剂,属于脂溶性色素,最大吸收波长为 362 nm;稳定性方面,在低于 80 °C 的条件下,色素的热稳定性较好,应在 80 °C 以下生

产和存放;该色素对光不敏感,光稳定性良好;松花粉黄色素酸性条件下稳定性较好,碱性环境对其有增色作用;金属离子  $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Al^{3+}$  对色素稳定性影响小, $Cu^{2+}$  和  $Fe^{3+}$  对色素稳定性有一定的影响;食盐、葡萄糖、蔗糖、苯甲酸钠的影响较小,碳酸钠和苯甲酸钠对色素稍有增色作用,维生素 C 和柠檬酸稍有减色作用。

#### 参考文献

- Hui J (回晶), Lin JS (林家帅), Li TY (李天翼), *et al.* Study on antioxidant activity of flavonoids from pine pollen *in vitro*. *J Liaoning Univ, Nat Sci* (辽宁大学学报, 自科版), 2014, 41: 281-285.
- Kroyer G, Hegedus N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innov Food Sci Emerging Echol*, 2001, 2: 171-174.
- Liu JE (刘杰尔). Pine pollen and composition analysis of weight control function. Zhejiang: Zhejiang University, MSc. 2008.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Vol I (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010, 191-192.
- Luo YX (罗砚曦), Cai HF (蔡华芳), Zhong YS (钟宇森). Research progress of medicinal efficacy of pine pollen. *China Pharm* (中国药房), 2009, 20: 957-958.
- Yang XP, Guo DY, Zhang JM, *et al.* Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7: 401-408.
- Eraslan G, Kanbur M, Silici S, *et al.* Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2009, 72: 931-937.
- Cao W, Wei YH. The Principle and Processing Technology of bee Products and Health Care. Beijing: Chemical Industry Press, 2002. 15.
- Uzbekova DG, Makarova VG, Khvoynitskaya LG, *et al.* Evaluation of bee-collected pollen influence on lipid peroxidation, antioxidant system and liver function in old animals. *J Hepatol*, 2003, 38: 203.
- Marghitas LA, Stanciu OG, Dezmirean DS, *et al.* *In vitro* antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chem*, 2009, 115: 878-883.
- LeBlanc BW, Davis OK, Boue S, *et al.* Antioxidant activity of Sonoran desert bee pollen. *Food Chem*, 2009, 115: 1299-1305.
- Lin S (林硕). Study on technology and equipment of ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction. Hefei: Anhui Agricultural University (安徽农业大学), MSc, 2009.
- Xin XC (辛晓晨). Study on ultrasonic/microwave assisted extraction and analysis of physicochemical of Betel Nut oil. Haikou: Hainan University (海南大学), MSc. 2012.
- Bai M (白明). The separation and purification of flavonoids and research of extraction on Chinese pine pollen. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology (天津科技大学), MSc. 2009.
- Yang L (杨玲), Jiang D (江丹), Zhou B (周波), *et al.* Study of stability of monascus yellow pigment and methods for enhancing its photostability. *Modern Food Sci Technol* (现代食品科技), 2008, 24: 1124-1127.
- Wen CF (文赤夫), Xiang XQ (向小奇), Liu X (刘旋), *et al.* Extraction and stability of yellow pigments from *Ginkgo biloba* leaves. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31(8): 43-45.
- Song FY (宋凤艳), Jiang XP (江晓萍). Stability of the pigment of *Arachis duranehsis*. *Modern Food Sci Technol* (现代食品科技), 2010, 26: 247-252.
- Abu L (阿布来提·阿布都热西提). Study on extraction and stability of natural yellow pigment from ligulate flowers of sunflower. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30(4): 96-98.
- Shi HY (史海英), Lv XL (吕晓玲). Study on the stability of the purple corn pigment. *Modern Food Sci Technol* (现代食品科技), 2007, 23: 7-10.
- Li XK (李学坤), Li WH (李稳宏), Han F (韩枫), *et al.* Basic research on stability of yellow pigment from fenugreek. *Trans Chin Soc Agric Eng* (农业工程学报), 2009, 25: 246-250.
- Li CX (李彩霞), Yang XL (杨小龙), Li Q (李琼), *et al.* Stability of the pigment from "Black Beauty" Potato. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31(9): 89-94.