



3种天然产物中黄酮类化合物总含量的测定

韩秀萍¹, 田海燕², 付云芝^{1*}, 黄仙红¹, 王丽芝¹

(1.海南大学材料与化工学院, 海口 570228;

2.山西省孝义市孝义三中, 孝义 032300)

摘要: 采用紫外-可见分光光度法测定3种天然产物: 黄秋葵叶、水稻叶及刺苋中总黄酮类化合物的含量。用70%乙醇超声提取3种天然产物中的黄酮类化合物, 以芦丁为对照品, 以NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH为显色系统, 在505 nm处进行分光光度测定, 建立标准曲线 $A=0.01175C-0.02247$, 相关度 $r=0.9998$ 。结果表明, 3种天然物中黄酮类化合物总含量分别为黄秋葵叶: 34.40 mg/g; 刺苋: 20.26 mg/g; 水稻叶: 2.34 mg/g。

关键词: 黄秋葵叶; 水稻叶; 刺苋; 黄酮类化合物; 分光光度法

中图分类号: TS 207.3

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2012)10-0264-03

Determination of total flavonoids in three natural products

HAN Xiu-ping¹, TIAN Hai-yan², FU Yun-zhi^{1*}, HUANG Xian-hong¹, WANG Li-zhi¹

(1.College of Material and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228;

2.The Third High School Xiaoyi, Xiaoyi City, Shanxi Province, Xiaoyi 032300)

Abstract: The flavonoids in three natural products (including okra leaves, rice leaves, Theorny amaranth) were determined by UV-visible spectrophotometry. The flavonoids in three natural products were ultrasonic extracted with 70% ethanol. The standard curve $A=0.01175C-0.02247$ of Rutin was established by spectrophotometry at 505 nm when the color reagent was admixtures of NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH solution. Data between the flavonoids content and absorbance had a better linear relationship $r=0.9998$. The total flavonoids in three natural products are okra leaves 34.40 mg/g, rice leaves 20.26 mg/g, Theorny amaranth 2.34 mg/g.

Key words: okra leaves; rice leaves; Theorny amaranth; flavonoids; spectrophotometry

黄酮类化合物是以黄酮(2-苯基色原酮)为母核而衍生的一类黄色色素, 也即以C₆-C₃-C₆为基本碳架的一系列化合物, 即2个苯环(A环和B环)

通过3个碳原子结合而成, 如图1, 其中C₃部分可以是脂链, 或与C₆部分形成六元或五元氧杂环。根据中央三碳的氧化程度、是否成环、B环的联

收稿日期: 2012-03-11 *通讯作者

基金项目: 国家自然科学基金(90207026); 海南省自然科学基金(211009); 海南大学与天津大学合作项目。

作者简介: 韩秀萍(1978—), 女, 山西文水人, 硕士, 讲师, 研究方向为天然产物分离提纯。



接位点等特点, 该类化合物分为黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、二氢黄酮醇、查耳酮、异黄酮类等化合物^[1]。

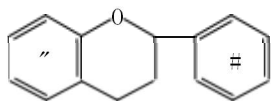


图1 黄酮类化合物的结构通式

黄酮类化合物在植物界分布很广, 黄酮类化合物是药用植物中主要活性成分之一, 具有抗炎、抗病毒、利胆、强心、镇静和镇痛作用, 还有抗氧化、抗衰老、免疫调节和防癌抗癌、抗骨质疏松、雌激素样与抗雌激素样作用以及对酒精中毒的解毒作用和治疗酒依赖的作用等^[2]。黄酮类化合物母核中某些位置的羟基能与 Al^{3+} 发生络合反应形成有色络合物。本实验采 $NaNO_2-Al(NO_3)_3-NaOH$ 为显色体系, 以芦丁为对照品, 在碱性条件下, 利用其与黄酮类化合物形成的红色螯合物为特征, 测定其吸光度。

黄秋葵别名秋葵、羊角豆, 其嫩果荚是一种具有极高营养价值的新保健蔬菜。黄秋葵广泛种植于热带和亚热带, 大量的富含营养的叶片作为副产物, 有很大的利用价值。在非洲黄秋葵嫩叶可以像菠菜一样被烹饪食用, 也可以被用于利尿剂、堕胎药、胃溃疡药和伤口愈合药^[3]。水稻叶是水稻生产中的副产物, 产量很大, 长期以来都以丢弃或焚烧的方式处理, 没有得以有效利用。

刺苋, 野生于荒地或园圃地, 生命力极其旺盛, 长期以来视为杂草, 不被重视。在中药上, 刺苋可入药, 具有清热解毒; 利尿; 止痛; 消肿; 清肝明目; 散风止痒等作用^[4]。

本文通过提取、测定黄秋葵叶、水稻叶、刺苋中黄酮类化合物的总含量, 为这些天然产物的有效利用提供依据。国内外未见有这方面的报道。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

黄秋葵叶、水稻叶: 中国热带农业科学院品种资源研究所基地; 刺苋: 中国热带农业科学院附近的路边、荒地, 样品都经低温晾干粉碎, 贮存于棕色试剂瓶备用; 芦丁标准品: 天津一方科技有限公司; 乙醇、硝酸铝、氢氧化钠都为分析纯。

TU-1901型双光束紫外-可见分光光度计: 北京普析通用仪器公司; 超声波清洗器: 上海科导超声仪器有限公司; AUY120微波炉: 青岛迈可威有限公司; JJ-1精密增力电动搅拌器: 金坛市富华仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 称取芦丁标准品0.0066 g, 置10 mL容量瓶中, 用70%乙醇超声溶解, 稀释至刻度, 得到浓度为0.6600 mg/mL芦丁标准溶液。

准确移取配制好的芦丁标准溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL置于10 mL容量瓶中。加5%的 $NaNO_2$ 溶液0.4 mL, 摇匀, 放置6 min; 再加10% $Al(NO_3)_3$ 溶液0.4 mL, 摇匀, 放置6 min; 再加4%的 $NaOH$ 溶液4 mL, 用70%乙醇定容至刻度, 摇匀, 放置10 min。以第1份溶液为空白, 在505 nm处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 以浓度对吸光度进行回归, 计算回归方程。

1.2.2 黄酮类化合物的提取 称取样品1.0~5.0 g(精确到0.0001 g), 置于250 mL锥形瓶中, 加50 mL 70%乙醇, 于超声波清洗器中超声提取15 min(微波提取法中, 在微波炉中处理15 min; 搅拌提取法中, 电动搅拌15 min), 将提取后的溶液置于离心机中离心9 min, 取出上清液, 残渣继续用70%乙醇超声提取, 直至残渣颜色变浅, 离心, 合并几次上清液于100 mL容量瓶中, 用70%乙醇定容至刻度, 待测。

1.2.3 黄酮类化合物的测定 精确吸取样品提取液2.0 mL, 置10 mL容量瓶中, 平行取3份。按1.2.1中的方法加入显色剂, 待测。另吸取样品提取液2.0 mL置10 mL容量瓶中, 加入4% $NaOH$ 溶液4 mL, 加乙醇至刻度, 摇匀, 作为空白。

$$\text{台觥} \quad (NH/H) = \frac{50f10f}{1000f}$$

式中: C为标准曲线上读出浓度值, $\mu\text{g/mL}$;

M为样品质量, g;

10为样品液的体积, mL;

50为稀释倍数。

2 结果与分析

2.1 芦丁的标准曲线及回归方程

由图2可知, 芦丁标准曲线的回归方程为 $A=0.01175C-0.02247$, 相关度 $r=0.9990$ 。

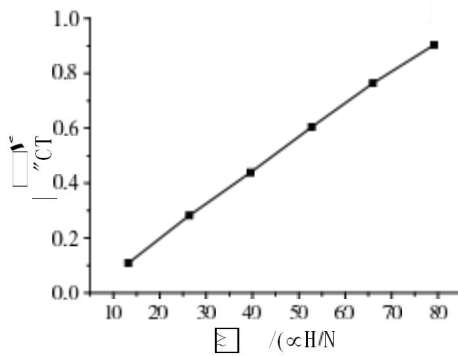


图2 芦丁的标准曲线

2.2 提取方法的确定

以乙醇为提取剂, 采用了乙醇搅拌提取、乙醇微波提取、乙醇超声波提取3种方法提取黄酮类化合物, 结果如表1。

表1 采用不同方法提取3种天然产物中的黄酮类化合物的结果

样品	方法	质量 M/g	吸光度 A	含量/(mg/g)
黄秋葵叶	搅拌提取	1.0014	0.5548	24.5310
	微波提取	1.0018	0.4068	18.2356
	超声波提取	1.0013	0.7515	32.8930
水稻叶	搅拌提取	5.0004	0.1937	1.8393
	微波提取	5.0002	0.2108	1.9849
	超声波提取	5.0000	0.2290	2.1403
刺苋	搅拌提取	2.0008	0.6786	14.9089
	微波提取	2.0024	0.3897	8.7591
	超声波提取	1.9988	0.9399	20.4882

经过比较, 确定超声波乙醇提取法提取3种天然物中黄酮类化合物的效果较好。超声波乙醇提取法的工艺为: 以70%乙醇为提取剂在超声波清洗器中超声处理15 min, 离心9 min, 取出上清液, 残渣继续超声提取, 直至残渣颜色变浅, 离心, 合并几上清液, 待测。

2.3 黄秋葵叶、水稻叶、刺苋中黄酮类化合物的总含量的测定结果

表2 3种天然产物中黄酮类化合物的总含量

样品	试验号	质量/ (M/g)	吸光度 A	浓度 C/ (μg/mL)	含量/ (mg/g)	平均含量/(mg/g)	相对标准偏差 RSD/%
黄秋葵叶	1		0.7947	69.5483	34.6115		
	2	1.0047	0.7977	69.8036	34.7385	34.3948	1.42
	3		0.7726	67.6674	33.8337		
水稻叶	1		0.2472	22.9519	2.2951		
	2	5.0002	0.2561	23.7064	2.3705	2.3492	2.01
	3		0.2574	23.8200	2.3819		
刺苋	1		0.9181	80.0485	20.0241		
	2	1.9988	0.9399	81.9038	20.4882	20.2555	1.14
	3		0.9289	80.9677	20.2541		

黄秋葵叶、水稻叶、刺苋中黄酮类化合物的含量测定, 平行测定3次取平均值, 结果见表2。

由测定结果的相对标准偏差为RSD≤2%, 说明数据较准确, 提取方法与测试方法可行。

黄秋葵、水稻叶、刺苋中黄酮类化合物的总含量的分别为34.3948 mg/g、2.3492 mg/g、20.2555 mg/g。方晴霞等^[5]用分光光度法测定黄秋葵果中黄酮类化合物含量为28 mg/g; 黄阿根等^[6]用分光光度法测得黄秋葵嫩果中黄酮类化合物的含量为27.96 mg/g, 本实验测定结果表明黄秋葵叶中的黄酮类化合物含量较高。刺苋中黄酮类化合物含量也较高, 水稻叶中含量最低。

与其他天然产物中黄酮类化合物的含量, 如红景天211.5 mg/g^[7]、银杏叶35.8 mg/g^[8]、党参25 mg/g^[9]、鱼腥草鲜品823.42 mg/100 g^[10]、芹菜叶3.65 mg/g^[11]、胡萝卜15.03 mg/100 g^[12]、西红柿9.83 mg/100 g^[12]相比, 黄秋葵中黄酮类化合物的含量较高, 可以作为黄酮类化合物的天然来源; 刺苋中黄酮类化合物的含量处于中等水平, 也可以作为黄酮类化合物的补充来源; 而水稻叶中黄酮类化合物含量相对较低, 与一般的蔬菜中黄酮类化合物的含量相当, 如果将其加工成饲料, 可大大提高利用率。

3 结论

本实验探讨了黄酮类化合物的提取方法, 确定了对黄秋葵叶、水稻叶、刺苋适当的方法为超声波乙醇提取法。采用NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH为显色系统的紫外-可见分光光度法, 测定黄酮类化合物的含量, 以芦丁为标准品建立标准曲线, 线性关系良好。测得, 黄秋葵叶中黄酮类化合物含量为34.3948 mg/g, 可以作为制备富含黄酮类化合物的保健品、药品的天然来源; 刺苋中黄酮类化合物的含量为20.2555 mg/g, 可以作为黄酮类化合物的补充天然, 也可以作为保健蔬菜开发; 水稻叶中黄酮类化合物含量为2.3492 mg/g, 与普通蔬菜的含量相当, 可将水稻叶作为饲料, 提高其利用率。

参考文献:

- [1] 延玺, 刘会青, 邹永青, 等. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展[J]. 有机化学, 2008, 28(9): 1534-1544
- [2] 黄爱玲. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(10): 71-72

(上接第272页)



- [7] 叶能胜,谷学新,张琦.固相萃取-高效液相色谱法检测牛奶和猪肉中5种β-内酰胺类抗生素[J].分析试验室,2010,29(06):73-77
- [8] YOKLEY R A, MAYER L C, REZAAIYAN R. Analytical method for the determination of cyromazine and melamine residues in soil using LC-UV and GC-MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2000,48(8):3352-3358
- [9] STRAUB R F, LINDER M, VOYKSNER R D. Determination of beta-lactam residues in milk using perfusive-particle liquid chromatography combined with ultrasonic nebulization electrospray mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 1994,66(21):3651-3658
- [10] 江鑫.食品及环境样品中三聚氰胺的液质联用分析技术研究[D].南昌:南昌航空大学,2010
- [11] 姜侃,陈宇鹏,金燕飞,等.应用酶联免疫法快速检测乳制品中β-内酰胺类抗生素残留[J].中国乳品工业,2010,38(01):51-54
- [12] 陈锡龙,黄瑾,钱莘莘.使用酶联免疫吸附法测定奶粉中三聚氰胺的研究[J].奶粉工业,2008,29(18):53-55
- [13] 杨利国,胡永昶,魏平华,等.酶免疫测定技术[M].南京:南京大学出版社,1998
- [14] SUN Xiulan, ZHAO Xianlian, TANG Jian, et al. Preparation of gold-labeled antibody probe and its use in immunochromatography assay for detection of aflatoxin B1[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005,99(2):185-194
- [15] 中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局.SN/T2050—2008,进出口动物源食品中14种β-内酰胺类抗生素残留量检测方法液相色谱-质谱/质谱法[S].北京:中国标准出版社,2008
- [16] 中国检验检疫科学研究院,国家食品质量监督检验中心.GB/T22388—2008,原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].北京:中国标准出版社,2008

(下转第266页)

- [3] 刘娜.黄秋葵的综合利用及前景[J].中国食物与营养,2007,6:27-29
- [4] 廖里,郑作文.刺苋的药理研究[J].广西中医学院学报,1999,16(3):107-109
- [5] 方晴霞,金戈.黄秋葵中总黄酮的含量测定[J].医药导报,2004,23(9):675-676
- [6] 黄阿根,陈学好,高云中,等.黄秋葵的成分测定与分析[J].食品科学,2007,28(10):451-454
- [7] 彭曦.新疆狭叶红景天黄酮的超声提取及含量测定[J].时珍国医国药,2005,(12):1251
- [8] 刘晶芝,赵永光,冯玉珠,等.超声法提取银杏叶黄酮类化合物的工艺研究[J].安徽农业科学,2007,35(14):4105-4106
- [9] 薛长晖.微波法提取党参黄酮的最佳提取工艺研究[J].技术食品工程,2008,(11):124-126
- [10] 张颖.鱼腥草干品,湿品中总黄酮含量的测定[J].贵阳学院学报(自然科学版),2009,6(2):36-38
- [11] 叶春,聂开慧.对40种新鲜蔬菜中总黄酮含量的测定[J].山地农业生物学报,2000,19(2):121-124
- [12] 郭长江,徐静,韦京豫,等.我国常见蔬菜类黄酮物质含量[J].营养学报,2009,31(2):185-190

本刊启事

食品科技网站(<http://www.e-foodtech.net/>)投稿功能已经开通,2010年10月1日起邮箱不再执行收稿工作,邮箱自动回复将提示您登录投稿平台,请各位作者注意邮箱的自动回复。投稿流程可以登录食品科技博客(<http://blog.sina.com.cn/shipinkj>)参考。审稿期仍为两个月,您可以通过您的稿件编号等信息在平台进行稿件进度及结果的查阅。

如果您的稿件录用后(一定是确定已录用的稿件,如果您的稿件在录用之前需要修改,请您用您的稿件编号登录,在平台上投送修改稿)编辑需要您修改或补充资料,请您将补充的资料或是修改稿件发送至原收稿邮箱。另外本刊没有启用中国知网的采编平台,请您不要到知网投稿,以免耽误您稿件的审阅。某些代发论文网站与我社均毫无联系,请您注意以免上当受骗。