

青稞若叶青汁中总黄酮含量测定

崔倩¹, 李晓蕾¹, 曾伟萍¹, 蔡炫¹, 黄光胜¹, 苏翰^{2*}, 晁志^{1*}

(1. 南方医科大学中医药学院, 广东广州 510515; 2. 上海阿敏生物技术有限公司, 上海 201312)

摘要 [目的] 建立青稞若叶青汁中黄酮含量的测定方法。[方法] 利用超声波提取样品中的黄酮类物质, 采用比色法对青稞若叶青汁中总黄酮含量进行测定。[结果] 试验得出, 该方法的回归方程为: $A = 15.451C - 0.1225$, $R^2 = 0.9913$, 线性范围是 $0.03141 \sim 0.07068$ mg/ml, 加样回收率为 $98.5\% \sim 102.1\%$ 。[结论] 该方法简便、准确、快速, 稳定性符合要求, 可用于测定青稞若叶青汁总黄酮的含量。

关键词 青稞若叶青汁; 总黄酮; 分光光度法

中图分类号 S512.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)36-13043-02

Determination of Total Flavonoids in Naked Barley Young Leaf Powder

CUI Qian¹, LI Xiao-lei¹, ZENG Wei-ping¹, SU Han^{2*}, CHAO Zhi^{1*} et al (1. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515; 2. Shanghai Al-Amin Biotechnology Co. Ltd., Shanghai 201312)

Abstract [Objective] To establish a method for determination of flavonoids in naked barley young leaf powder. [Method] Total flavonoid was extracted by ultrasonic power, and its content was determined by spectrophotometrically. [Result] The regression equation for flavonoid determination was $A = 15.451C - 0.1225$, $R^2 = 0.9913$, with a linear range of $0.03141 \sim 0.07068$ mg/ml, and a recovery rate of $98.5\% \sim 102.1\%$. [Conclusion] The method is accurate, simple, rapid, stable, and can be used to determine total flavonoid content in naked barley young leaf powder.

Key words Naked barley young leaf powder; Total flavonoid; Spectrophotometry

现今经济迅猛发展, 人们的生活水平日益提高, 但由于生活节奏过快、压力过大、饮食的不平衡, 导致越来越多健康问题的出现, 如高血脂、肥胖、便秘等。我国成人血脂异常患病率为 18.6% , 估计全国血脂异常人数约 1.6 亿。不同类型的血脂异常患病率分别为: 高胆固醇血症 2.9% , 高甘油三酯血症 11.9% , 低高密度脂蛋白血症 7.4% 。另外还有人血胆固醇边缘升高^[1]。对这些疾病的治疗和预防是亟需解决的问题。

大麦若叶青汁是近年来十分畅销的一种保健品, 因其在降血脂、降血压等方面的确切效果, 受到市场的青睐^[2]。大麦 (*Hordeum vulgare*) 为禾本科大麦属植物, 大麦若叶是大麦生长到 $20 \sim 30$ cm 的幼苗, 其中含有可以降低血胆固醇的活性物质^[3], 此外大麦若叶还含有大量黄酮、多种维生素及矿物质、丰富的膳食纤维、叶绿素和植物蛋白等。青稞为大麦的变种 (*H. vulgare* var. *nudum*), 《本草拾遗》、《晶珠本草》记载, 其有下气宽中、壮精益力、除湿发汗、止泻等功效。植物化学分类学认为, 亲缘关系越近的植物, 它们所含的化学成分就越相似, 越可能有相似的疗效。笔者进行的药效学试验证实, 青稞若叶具有润肠通便、降血脂、降血糖的功效。上海阿敏生物技术有限公司建立了青稞若叶青汁生产线。笔者用比色法对青稞若叶青汁产品中的总黄酮含量进行了测定。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 主要仪器: HP8453 型紫外分光光度仪, Hewett Packard; 超声波清洗机, Elma; CP225D 电子天平, Sar-

torius; 旋转蒸发仪, EYELA。

原料与试剂: 青稞若叶青汁, 上海阿敏生物技术有限公司; 大麦若叶青汁, 兴化市绿宝食品有限公司; 芦丁对照品, 中国药品生物检定所; 乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠, 均为分析纯; 纯化水。

1.2 样品的制备 分别称取 5.0 g 青稞若叶青汁和大麦若叶青汁粉末, 加 50 ml 75% 乙醇浸泡 2.0 h 后, 在 45 °C 下超声波 40 kHz 超声处理 40 min, 趁热过滤; 过滤后将滤渣再按上述方法超声处理 1 次, 过滤; 合并滤液, 在 45 °C 下减压回收乙醇, 水浴浓缩得浸膏, 用 75% 乙醇溶解并定容至 25 ml, 即得样品溶液。

1.3 含量测定^[4]

1.3.1 供试品溶液的制备。 精密吸取青稞样品溶液 2.0 ml, 置于 25 ml 容量瓶中, 加 75% 乙醇适量超声溶解, 冷却至室温, 定容至刻度, 摇匀, 即得青稞供试品溶液。同样方法制得大麦若叶供试品溶液。

1.3.2 对照品溶液的制备。 精密称取芦丁对照品 8.49 mg, 置 50 ml 容量瓶中, 加 75% 乙醇适量, 超声使之溶解; 冷却至室温, 并用 75% 乙醇定容至刻度, 摇匀, 即得芦丁对照品溶液 (0.1698 mg/ml)。

1.3.3 测定波长的选择。 精密吸取芦丁对照品溶液 3.0 ml, 置于 10 ml 容量瓶中; 加 5% NaNO_2 溶液 0.3 ml, 摇匀, 放置 6 min; 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 ml, 摇匀, 放置 6 min; 加入 4% NaOH 溶液 4.0 ml, 再用 75% 乙醇定容并摇匀, 放置 10 min; 以 75% 乙醇作为溶剂空白, 在紫外可见分光光度计上进行全波长扫描。

1.3.4 标准曲线的制备。 精密吸取芦丁对照品溶液 2.0 、 2.5 、 3.0 、 3.5 、 4.0 ml 分别置于 10 ml 容量瓶中, 加 5% NaNO_2 溶液 0.3 ml, 摇匀, 放置 6 min; 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 ml, 摇匀, 放置 6 min; 加 4% NaOH 溶液 4.0 ml, 并用 75% 乙

基金项目 广州市科技计划项目 (2011J4300090)。

作者简介 崔倩 (1987 -), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源。* 共同通讯作者: 晁志 (1971 -), 男, 山东菏泽人, 教授, 从事中药资源、鉴定与质量评价研究; 苏翰 (1970 -), 男, 甘肃临潭人, 从事清真生物制品开发与生产研究。

收稿日期 2014-11-03

醇定容至刻度,摇匀,放置 10 min;以 75% 乙醇作为溶剂空白,用紫外可见分光光度计在波长 507 nm 处测定吸光度。以浓度为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.3.5 精密度考察。精密吸取芦丁对照品溶液 3.0 ml,按“1.3.4”项下方法操作,于 507 nm 波长处连续测定 5 次,计算变异系数。

1.3.6 重复性考察。精密吸取超声提取的青稞若叶青汁样品溶液 5 份,按“1.3.1”下方法平行制备青稞供试品溶液。再精密吸取青稞供试品溶液 5.0 ml,按“1.3.4”项下方法操作,于波长 507 nm 处测定吸光度。

1.3.7 稳定性考察。精密吸取超声提取的青稞若叶青汁供试品溶液 5.0 ml,按“1.3.4”项下方法操作显色,分别在放置 20、25、30、35、40、60 min 后,于波长 507 nm 波长处测定吸光度值。

1.4 供试品含量测定 取“1.3.1”项下制备的供试品溶液 5.0 ml,按“1.3.4”中显色方法操作,测定吸光度。将测得样品吸光度,代入标准曲线回归方程,计算供试品中总黄酮含量。

1.5 加样回收试验 精密称取青稞样品 5.000 g,按照“1.3.1”的方法处理,将得到的总黄酮提取物加入 32.43 mg 的芦丁对照品,按“1.4”项下的方法进行操作,按公式 $K = (A - B) / C \times 100\%$ (A 为加入标准物质的样品测得量, B 为样品中该物质的测得量, C 为加入的标准物质量),计算回收率。

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择 全波长结果表明,显色后的溶液在 507 nm 处有最大吸收,因此,该试验选择 507 nm 为测定波长。

2.2 标准曲线 制得标准曲线如图 1 所示,其回归方程为: $A = 15.451C - 0.1225$, $R^2 = 0.9913$ 。浓度在 0.031 41 ~

0.070 68 mg/ml 范围内与吸光度线性关系良好。

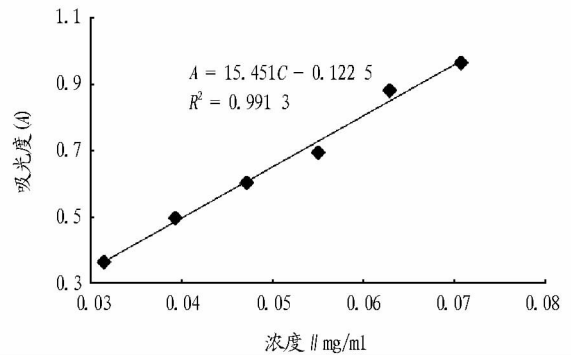


图 1 标准曲线

2.3 精密度、重复性、稳定性考察 用芦丁对照品连续进行 5 次测定,进行精密度考察,得 $SD = 0.78\%$, $RSD = 1.30\%$ 。用青稞若叶青汁样品溶液 5 份进行重复性考察,结果 $SD = 1.7\%$, $RSD = 2.9\%$ 。表明该试验方法重复性良好。

稳定性考察结果表明,总黄酮与铝离子形成的红色络合物在 1 h 内基本稳定,最佳测定时间为显色后 20 ~ 40 min (表 1)。

表 1 稳定性考察

放置时间 // min	吸光度	放置时间 // min	吸光度
20	0.613 8	35	0.621 5
25	0.637 5	40	0.614 8
30	0.627 1	60	0.598 5

2.4 样品含量测定 由表 2 可见,平行试验 5 次的青稞若叶青汁和大麦若叶青汁中总黄酮含量平均值依次为 5.866、4.494 mg/g, RSD 分别为 3.53%、4.41%。

表 2 青稞若叶青汁和大麦若叶青汁中总黄酮含量

样品编号	重复 // mg/g					$\bar{x} \pm SD$	RSD
	1	2	3	4	5	mg/g	%
青稞若叶青汁	6.192	5.777	5.822	5.633	5.904	5.866 ± 0.207	3.53
大麦若叶青汁	4.707	4.558	4.331	4.631	4.245	4.494 ± 0.198	4.41

2.5 加样回收率 试验测得,青稞若叶青汁的加样回收率为 98.5% ~ 102.1%,回收率平均值为 96.19%。

3 讨论

黄酮的含量测定有分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法、超临界流体色谱法、毛细管电泳法等方法,其中分光光度法比较普及,设备价格便宜,简单易行,试验精度和准确度符合企业生产需求,一般的分析人员都会操作。因而该试验选择了铝盐比色法对青稞若叶青汁中的总黄酮含量进行测定。其基本原理为黄酮类化合物与 Al^{3+} 在碱性条件下反应生成红色络合物,颜色的深浅与黄酮的含量成一定的比例关系,在一定的浓度范围内符合郎伯比耳定律,可以定量测定。笔者以芦丁为标准溶液,在波长 507 nm 处进行比色测

定黄酮类化合物的含量。

由于供试液的颜色较深,在波长 507 nm 处有一定的吸收,所以增加供试样品的空白试验。测得的供试品吸光度,减去这个数值才是样品中黄酮的吸光度值。

参考文献

- [1] 陈灏珠,金雪娟.我国人群血脂水平现状及其对策[J].中国工程科学,2002(11):1-6.
- [2] 王小雨.第四届中国国际保健博览会引领中国健康经济的发展[J].中国保健,2004(12):11.
- [3] 大竹英俊,野中凉代,泽田淑子,等.大麦若叶青汁成分の研究-ラットの食餌による高コレステロール血症に対する影響[J].药学杂志,1985,4(13):1052.
- [4] 晁志,刘传明,张宏伟,等.益母草药材中总黄酮和芸香甙的含量测定[J].中药药理与临床,2000,16(S):148-149.