

何可群,李相兴. 民族药金丝梅总黄酮含量的测定[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):307-309.

民族药金丝梅总黄酮含量的测定

何可群¹, 李相兴²

(1. 贵州民族大学化学与环境科学学院, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州民族大学民族学与社会学学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:以芸香苷为对照品,用超声辅助提取、紫外-可见分光光度法测定金丝梅总黄酮含量。结果表明,金丝梅中总黄酮的相对百分含量为 5.103%,*RSD* 为 0.936%;芸香苷对照品在 0.013 7~0.220 0 mg/mL 范围有良好的线性关系,回归方程为 $D=9.9261C+0.013$, $r^2=0.9997$ 。说明该方法操作简便,结果可靠,能为金丝梅药用价值的开发及扩大资源利用提供科学的依据。

关键词: 金丝梅;分光光度法;总黄酮

中图分类号: TS201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0307-02

金丝梅(*Hypericum patulum* Thunb.) 是金丝桃科金丝桃属植物,别称金丝桃、芒种花、栽秧花、黄花香、土连翘、山梔子等^[1]。金丝梅以全株入药,具有清热解毒、舒经活络、舒肝、止血的功效。用于肝炎、感冒、痧症、倒经、口腔炎、痢疾、血崩、小儿疳积等,外用治鼻衄、刀枪伤、骨折狗咬伤、黄水疮等^[1]。目前对金丝梅化学成分的研究还很少,只有少量国外的文献报道在金丝梅愈伤组织中分离得到一系列戊二烯化的氧杂蒽酮类黄酮化合物及(-)表儿茶素、齐墩果酸、 β -谷甾醇等^[2-6]。本试验对金丝梅全草 70% 乙醇提取液的紫外光谱及总黄酮含量进行研究,以便为该民族药的进一步开发及扩大资源利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 金丝梅 采自贵州省贵阳市花溪十里河滩,经贵州民族大学民族药物研究所卢文芸副教授鉴定为金丝梅,标本保存于贵州民族大学化学与环境科学学院药学教研室。

1.1.2 仪器 756PC 紫外-可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),METTLERAE240 电子分析天平(上海天平仪器厂),BGZ-30 电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),SG3200HE 超声清洗仪(上海冠特超声仪器有限公司),数显恒温水浴锅(江苏省常州博远试验分析仪器有限公司)。

1.1.3 试剂 氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝、无水乙醇、石油醚均为分析纯,芸香苷对照品(色谱纯,购自贵州迪大科技有限责任公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 金丝梅总黄酮提取^[7-9] 将自然晾干的金丝梅在电热鼓风干燥箱中于(60±1)℃下烘 5 h,称取干燥、研碎的金丝梅粉末适量,按 1 g:20 mL 的固液比用体积分数 70% 的乙

醇浸泡,超声提取 30 min,超声频率为 40 kHz,功率 150 W,提取结束后,合并提取液,过滤,冷却,用沸程 30~60℃ 的石油醚萃取除去叶绿素,浓缩,用 70% 乙醇定容,摇匀备用。

1.2.2 芸香苷标准曲线的绘制^[10-17] (1)芸香苷标准溶液的制备。精确称取 120℃ 干燥至恒重的芸香苷 27.5 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加 70% 乙醇适量,水浴微热使其溶解、冷却,加入 70% 乙醇至刻度,摇匀,芸香苷含量为 0.550 mg/mL。(2)标准曲线的绘制。精确吸取质量浓度为 0.550 mg/mL 的芸香苷标准溶液 0、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00 mL 分别置于 7 支 10 mL 比色管中,加 70% 乙醇补足至 5.0 mL,分别加入 50 g/L 亚硝酸钠溶液 0.40 mL,摇匀,放置 6 min,精确加入 50 g/L 硝酸铝溶液 0.40 mL,摇匀,放置 6 min,再精确加入 40 g/L 氢氧化钠溶液 4.00 mL,并用 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 12 min。以试剂空白为参比,于 510 nm 波长下测定吸光度 D ,以吸光度为纵坐标,显色液中芸香苷的质量浓度 C (mg/mL) 为横坐标,绘制标准曲线,经回归处理得方程: $D=9.9261C+0.013$, 决定系数 $r^2=0.9997$, 芸香苷浓度在 0.013 75~0.220 0 mg/mL 范围内吸光度与质量浓度线性关系良好。

1.2.3 芸香苷、金丝梅测定波长的选择 精确吸取芸香苷标准溶液(0.550 mg/mL)、金丝梅的提取液各 1.00 mL,分别置于 2 支 10 mL 比色管中,加入体积分数为 70% 的乙醇补足至 10.00 mL,以 70% 乙醇溶液建立基线,在 200~700 nm 波长范围进行波长扫描,得到芸香苷和金丝梅提取液显色前的紫外吸收光谱。精确吸取 0.550 mg/mL 芸香苷标准溶液、金丝梅的提取液各 1.00 mL,分别置于 2 支 10 mL 比色管中,加 70% 乙醇补足至 5.0 mL,分别加入 50 g/L 亚硝酸钠溶液 0.40 mL,摇匀,放置 6 min;精确加入 50 g/L 硝酸铝溶液 0.40 mL,摇匀,放置 6 min;精确加入 40 g/L 氢氧化钠溶液 4.00 mL,并用 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 12 min。以试剂空白建立基线,在 200~700 nm 波长范围进行波长扫描,得到芸香苷和金丝梅提取液显色后的紫外吸收光谱。

1.2.4 样品测定^[10-17] 精确量取“1.2.1”所得金丝梅乙醇提取液 1.00 mL,按标准曲线的绘制方法加显色剂处理,于 510 nm 波长下测得金丝梅的吸光度 D ,代入回归方程得金丝梅的总黄酮类化合物以芸香苷计算的质量浓度 C (mg/mL),

收稿日期:2012-10-31

基金项目:国家社会科学基金(编号:12XMY033)。

作者简介:何可群(1971—),女,云南云龙人,硕士,副教授,从事药用植物学、分析化学研究。Tel:(0851)3612796;E-mail:hekequn2004@163.com。

换算为干燥药材中总黄酮的含量。

1.2.5 重复性试验 精确称取金丝梅全草样品 5 份,按含量测定方法进行测定,计算平均含量及 *RSD*。

1.2.6 加标回收试验 精确称取一定量金丝梅全草样品 3 份,再精确加入 0.550 mg/mL 芸香苷标准溶液 4.00 mL,按样品含量测定方法进行提取、测定,计算加标回收率及 *RSD*。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

于 510 nm 波长下测定芸香苷标准溶液系列的吸光度 *D*,以吸光度为纵坐标,显色液中芸香苷的质量浓度 *C* (mg/mL) 为横坐标,绘制标准曲线(图 1),经回归处理得方程: $D = 9.926\ 1C + 0.013$, $r^2 = 0.999\ 7$,芸香苷浓度在 0.013 75 ~ 0.220 0 mg/mL 范围内吸光度与质量浓度线性关系良好。

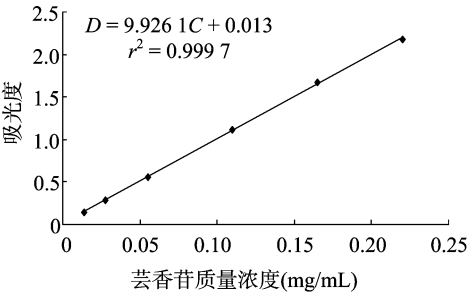
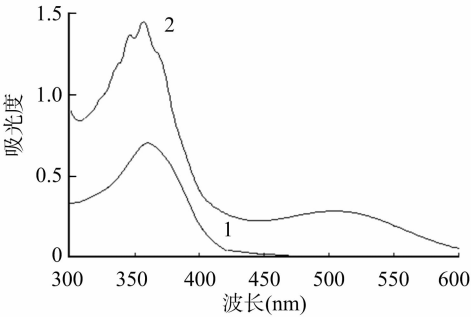


图1 芸香苷标准曲线

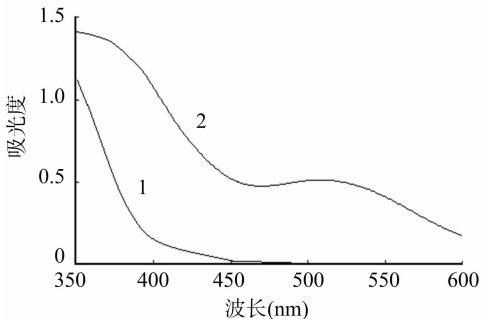
2.2 芸香苷、金丝梅测定波长的选择

图 2、图 3 表明,在加显色剂前后,芸香苷标准溶液和金丝梅样品溶液的紫外吸收光谱均有所改变,显色后在 510 nm 处有较平缓的吸收峰,适于定量测定。



1—未加显色剂的芸香苷溶液; 2—加显色剂的芸香苷溶液

图2 芸香苷标准溶液的紫外吸收光谱



1—未加显色剂的样品溶液; 2—显色后的样品溶液

图3 金丝梅样品的紫外吸收光谱

2.3 样品总黄酮含量的测定

由表 1 可知,金丝梅样品中总黄酮的平均含量为 5.103%,重复性试验 *RSD* 为 0.936%,精密度高。

表 1 总黄酮测定及精密度试验结果

测定次数	样品总黄酮含量(%)
1	5.056
2	5.065
3	5.087
4	5.151
5	5.157
平均	5.103

注:*RSD* = 0.936%。

2.4 加标回收率

由表 2 可知,加标回收率为 97.56% ~ 98.25%,*RSD* 为 0.356%。

表 2 加标回收试验结果

重复	样品重量 (mg)	样品黄酮含量 (mg)	加标量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	100.00	5.103	2.200	7.125	97.56
2	100.00	5.103	2.200	7.156	97.99
3	100.00	5.103	2.200	7.175	98.25
平均					97.93

注:*RSD* = 0.356%。

3 结论

本研究首次对金丝梅全草的紫外光谱及总黄酮含量进行了研究,结果表明,金丝梅干燥全草中黄酮类物质丰富,其含量平均为 5.103%,为该民族药的药用价值开发及扩大资源利用提供了一定的科学依据。

参考文献:

[1] 云南省卫生厅. 云南中草药[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1971: 332-333.

[2] Ishiguro K, Nagareya N, Suitani A, et al. A prenylated xanthone from cell suspension cultures of *Hypericum patulum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(6): 1065-1066.

[3] Ishiguro K, Nakajima M, Fukumoto H, et al. Co-occurrence of prenylated xanthones and their cyclization products in cell suspension cultures of *Hypericum patulum* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(4): 867-869.

[4] Ishiguro K, Fukumoto H, Suitani A, et al. Prenylated xanthones from cell suspension cultures of *Hypericum patulum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(2): 435-437.

[5] Ishiguro K, Nakajima M, Fukumoto H, et al. A xanthone substituted with an irregular monoterpene in cell suspension cultures of *Hypericum patulum* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(4): 903-905.

[6] Ishiguro K, Nagareya N, Fukumoto H. A phloroglucinol derivative from cell suspension cultures of *Hypericum patulum* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(6): 1041-1043.

[7] 方 敏, 占才贵, 宫智勇. 玉米须总黄酮的提取与抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(18): 206-208.

[8] 南 江, 王 星, 黄伟敏, 等. 超声辅助提取野菊花黄色素及其稳定性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(4): 243-246.

朱巧萍,高雪平,程璐,等.微波辅助提取香榧假种皮挥发油及其对植物病原真菌的抑制活性[J].江苏农业科学,2013,41(5):309-311.

微波辅助提取香榧假种皮挥发油及其对植物病原真菌的抑制活性

朱巧萍¹,高雪平¹,程璐¹,邱小芸¹,郑军晓¹,胡绍泉¹,徐丽燕¹,孙小红²,葛建²

(1.绍兴文理学院元培学院,浙江绍兴 312000; 2.中国计量学院,浙江杭州 310018)

摘要:采用微波水蒸气蒸馏法提取香榧假种皮中的挥发油,以 GC-MS 法分析其成分,并采用离体法测定其对 5 种植物病原真菌的抑菌活性。结果表明香榧假种皮挥发油最佳提取工艺为:微波功率为低火、微波时间 2 min、蒸馏时间 60 min。从香榧假种皮挥发油中共检测出 43 种成分,鉴定出 36 种成分,主要成分为柠檬烯(25.333%)、 α -蒎烯(17.472%)等。在 2 mg/mL 浓度下,香榧假种皮挥发油对黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)和番茄早疫病病菌(*Alternaria solani*)菌丝生长均有较强的抑制作用,抑制率均达到 85% 以上。

关键词:香榧假种皮;挥发油;微波辅助提取;抑菌活性

中图分类号:S664.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)05-0309-03

香榧(*Torreya grandis* cv. *Merrilli*)是红豆杉科(Taxaceae)榧属(*Torreya*)植物,是我国特有的经济树种,仅产于浙江省会稽山区的诸暨、嵊州、绍兴、东阳、磐安等地^[1]。其种子是我国特有的珍稀干果,榧属植物的种子外面有一层很厚的肉质化假种皮,约占种子鲜重的 50%~60%。仅诸暨市每年就剥落香榧假种皮 4 000 t。长期以来,剥落的香榧假种皮被丢弃,既浪费了宝贵的生物资源,又造成了严重的环境污染。前期研究发现香榧假种皮内含有多种黄酮类化合物和醇、醛、烯等植物芳香物质^[2]。近年来,香榧假种皮挥发油在医药、化工以及农业等方面都有一定应用^[3-4]。

由于香榧假种皮挥发油成分复杂,选择合适的提取方法非常关键。目前香榧假种皮挥发油萃取主要有水蒸气蒸馏法和超临界 CO₂ 流体萃取法等^[5-6]。微波辅助萃取法是指使用适合的溶剂在微波反应器中从天然药用植物、矿物、动物组织中萃取各种化学成分。微波加热过程对于被萃取物料的内外是同时进行的,缩短了萃取组分分子由物料内部扩散到萃取

溶剂界面的时间,能够使萃取效率提高数倍^[7]。微波辅助萃取具有无溶剂残留、加热速度快、挥发油受热时间短、香气损失少、节能等优点。

本研究首次采用微波辅助水蒸气蒸馏法从香榧假种皮中提取挥发油,并利用 GC-MS 方法对挥发油的化学成分和含量进行分析,并研究挥发油对 5 种常见植物病原菌的抑制活性,为香榧假种皮挥发油综合开发应用提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

香榧假种皮收集自浙江省绍兴市稽东镇香榧基地,经绍兴文理学院元培学院金自学教授鉴定为香榧的假种皮,置于阴凉通风处自然阴干。黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)和番茄早疫病病菌(*Alternaria solani*)由山东省农业科学院提供。

1.2 方法

1.2.1 香榧假种皮挥发油的提取方法 准确称取已粉碎香榧假种皮 30 g,按照 1:8 比例加入蒸馏水 240 mL 置于 500 mL 大烧杯中,用保鲜膜封口,然后置于微波炉内加热。然后将烧杯中的香榧假种皮及其溶液转移至 500 mL 圆底烧

收稿日期:2012-11-24

基金项目:浙江省分析测试科技计划项目(编号:2011C37044);浙江省绍兴市 2011 年科技计划项目(编号:2011A22009);2011 年度浙江省绍兴市大学生科技创新项目[编号:绍市教高(2012)15]。

作者简介:朱巧萍(1990—),女,本科生,研究方向为天然产物化学。

通信作者:孙小红,讲师。E-mail:xhsun2000@163.com。

[9]景小楠,钟菡,张宏,等.黑骨藤中总黄酮含量的测定[J].

四川师范大学学报:自然科学版,2010,33(1):89-92.

[10]李艳提,赵金凤,张卫明,等.罗布麻茶总黄酮含量测定方法研究[J].食品科技,2010,35(6):274-278.

[11]何书美,刘敬兰.芹菜中黄酮类物质的提取和测定[J].分析实验室,2006,25(8):84-87.

[12]蔡定建,柳茶花,钟鸿鸣,等.野菊花中黄酮类物质的提取和鉴定[J].中国食品添加剂,2010,(02):143-147.

[13]张桂兰.茶藨子中总黄酮的测定[J].食品科学,2007,28(11):

506-508.

[14]甄会贤,李平,张虹,等.白英中总黄酮的含量测定[J].中华中医药学刊,2008,26(10):2231-2233.

[15]熊春华,姚彩萍.浙产菊米中总黄酮含量的测定[J].食品科技,2008,33(5):213-215.

[16]左爱华,韦群辉,曾元儿,等.紫外可见分光光度法测定青刺尖总黄酮含量[J].云南中医中药杂志,2008,29(6):43-45.

[17]张岭苓,李楠,徐凌川,等.不同炮制方法的杜梨叶中总黄酮含量测定[J].食品科技,2011,35(10):269-271.