

刘盼盼,郑鹏程,郭桂义,等. 茶树品种及生长期对茶叶有机酸含量的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(21):225-228.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.057

茶树品种及生长期对茶叶有机酸含量的影响

刘盼盼¹, 郑鹏程¹, 郭桂义², 金孝芳¹, 尹 鹏², 高士伟¹, 王胜鹏¹, 叶 飞¹, 郑 琳¹, 龚自明¹

(1. 湖北省农业科学院果树茶叶研究所/湖北省茶叶工程技术研究中心, 湖北武汉 430064;

2. 信阳农林学院/河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室, 河南信阳 464000)

摘要:建立茶叶中 10 种有机酸的分离检测方法并对不同生长时期不同茶树品种的样品进行分析。色谱柱: Atlantis T3 C₁₈; 流动相: 0.02 mol/L KH₂PO₄ (pH 值 2.8); 柱温: 30 ℃; 流速: 0.6 mL/min; 检测波长: 210 nm。在优选的色谱条件下 10 种有机酸(草酸、奎宁酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、莽草酸、抗坏血酸、没食子酸)得到良好分离, 每个样品均含有 9 种以上有机酸, 最多可达到 10 种。样品各自的有机酸总量可达到 22.12 ~ 68.55 g/kg, 平均含量 46.21 g/kg, 以奎尼酸、没食子酸、柠檬酸平均含量较高, 分别可达到 20.24、8.66、5.68 g/kg。

关键词: 有机酸; 茶叶品种; 生长期; 高效液相色谱

中图分类号: S571.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)21-0225-03

茶叶中主要有奎尼酸、草酸、苹果酸、柠檬酸、酒石酸、抗坏血酸、没食子酸等近 30 种有机酸^[1]。茶叶中的脂肪族有机酸对滋味的贡献较大, 而芳香族有机酸等是香气的主要成分, 它们在茶叶冲泡过程中大多数可被浸出到茶汤中, 成为影响茶汤风味品质的主要成分之一^[2]。众多研究证实, 有机酸有很强的抗氧化能力, 对茶多酚、维生素等组分的抗氧化活性有明显的增效作用^[3-5]。有机酸作为食品添加剂也被广泛用于果、蔬汁饮料中, 其中柠檬酸、苹果酸和酒石酸主要作为酸味剂, 而抗坏血酸常作为抗氧化剂^[6]。

目前, 茶叶中有机酸的分析方法主要有酸碱滴定法、气相色谱法、离子色谱法、毛细管电泳法和高效液相色谱法等^[7-10]。其中酸碱滴定法影响因素较多, 准确度较差; 气相色谱法需要在分离前对有机酸进行衍生, 样品前处理繁琐费时且回收率低; 离子色谱法由于对样品中蛋白质含量有严格的限定, 不适合作复杂的样品分析, 且对低分子量有机酸检测的准确度不高; 毛细管电泳法相对于其他分析方法来说, 重现性存在明显不足; 高效液相色谱法具有灵敏度高、分离效果好的优点, 是目前有机酸分析中最成熟、最常用的方法^[11-12]。刘盼盼等研究了不同叶位、不同品种和不同茶类茶叶中有机酸的含量, 以及不同冲泡条件下有机酸的浸出特性, 结果表明奎尼酸、苹果酸的含量较高, 有机酸随着鲜叶嫩度下降而减少, 福鼎种的含量较低而黄金桂的含量最高, 红茶中有机酸含量最高^[1]。黎爽等建立了白茶中 8 种有机酸的 HPLC 方法,

检测结果显示, 乙酸是白茶中的主要有机酸, 有机酸总量随着鲜叶等级的降低呈下降趋势^[13]。赵和涛研究表明, 红茶经过萎凋、揉捻、发酵等加工工序后, 有机酸总量呈增长趋势, 如水杨酸等有机酸, 鲜叶中含量为 29.60%, 萎凋叶中含量为 32.21%, 发酵叶中含量为 43.82%, 直至干燥时才有所降低^[14]。谢娇枚等对祁门红茶进行品质分析发现, 在长时间的存放过程中, 祁门红茶的酸类物质总量增加明显, 但各有机酸组分含量均有所改变, 如草酸、乙酸等物质含量显著增加, 而柠檬酸明显降低, 使得茶汤滋味变酸且口感变差^[15]。

目前, 有关福鼎大白和中茶 108 品种鲜叶在不同生长期内有机酸含量的变化尚未见报道, 本研究通过优化色谱条件, 建立了采用高效液相色谱法检测茶叶中 10 种有机酸的测定方法, 分析比较了福鼎大白和中茶 108 品种鲜叶在不同生长期内有机酸含量的变化规律, 为茶叶加工工艺优化提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

材料均取自湖北省农业科学院果树茶叶研究所金水基地茶园, 于 2016 年 4 月, 根据不同茶树品种萌动期 20 d 后每隔一段时间采摘中茶 108 和福鼎大白 2 个茶树品种的新梢部分, 先进行微波杀青, 然后 80 ℃ 烘干固样, 磨碎后装入铝箔袋, 低温储藏。不同采摘日期见表 1。

H₃PO₄ (色谱纯), 天津科密欧化学试剂公司; KH₂PO₄ (分析纯), 阿拉丁试剂; 草酸、奎尼酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、莽草酸、抗坏血酸、没食子酸标准品, 源叶生物有限公司。

1.2 仪器设备

Waters 2695 高效液相色谱仪, 2998 PDA 检测器; Milli-RO PLUS 30 纯水机, 法国 Millipore 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 有机酸标准溶液配制 分别称取草酸、奎尼酸、酒石酸、苹果酸 20 mg, 乳酸 10 mg, 柠檬酸、琥珀酸、莽草酸 20 mg, 抗坏血酸 10 mg, 没食子酸 20 mg 至 10 mL 容量瓶中, 用超纯

收稿日期: 2017-12-06

基金项目: 国家现代农业(茶叶)产业技术体系专项(编号: CARS-23); 信阳农林学院河南省豫南茶树资源综合开发重点实验室开放基金(编号: HNKLT0F2017004); 湖北省农业科学院青年科学基金(编号: 2017NKYJJ13); 湖北省农业科技创新中心项目(编号: 2016-620-000-001-032)。

作者简介: 刘盼盼(1988—), 男, 河南洛阳人, 硕士, 助理研究员, 主要从事茶叶品质化学研究。E-mail: liupptea@163.com。

通信作者: 龚自明, 研究员, 主要从事茶叶加工及茶树安全优质高效栽培研究。E-mail: ziminggong@163.com。

水定容至刻度配制成混标储备液。混标中上述各标准品的浓度分别为 2.0、2.0、2.0、2.0、1.0、2.0、2.0、2.0、1.0、2.0 mg/mL。分别量取混标溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 定容至 10 mL 容量瓶中,用 0.45 μm 滤膜过滤后,得到不同浓度的有机酸混合标准品工作液。

表 1 茶树品种及生长期对有机酸含量影响的试验设计

编号	茶树品种	生长期 (d)	编号	茶树品种	生长期 (d)
108-1	中茶 108	20	FD-1	福鼎大白	20
108-2	中茶 108	30	FD-2	福鼎大白	30
108-3	中茶 108	40	FD-3	福鼎大白	40
108-4	中茶 108	45	FD-4	福鼎大白	45
108-5	中茶 108	50	FD-5	福鼎大白	50
108-6	中茶 108	55	FD-6	福鼎大白	55
108-7	中茶 108	60	FD-7	福鼎大白	60
108-8	中茶 108	70	FD-8	福鼎大白	70
108-9	中茶 108	80	FD-9	福鼎大白	80
108-10	中茶 108	90	FD-10	福鼎大白	90

1.3.2 样品前处理 称取 3.0 g 磨碎茶于锥形瓶中,用 450 mL 纯净水冲泡,在沸水浴锅中浸提 45 min,抽滤至 500 mL 容量瓶中,冷却后定容,用 0.22 μm 的膜过滤,分析有机酸含量。

1.3.3 色谱条件 色谱柱:Atlantis T3 Column(4.6 mm × 250 mm,5 μm);柱温:30 ℃;流动相:0.02 mol/L 磷酸二氢钾(用磷酸调 pH 值至 2.8),流速为 0.6 mL/min,进样量 10 μL;紫外检测器波长 210 nm。

2 结果与分析

2.1 HPLC 检测有机酸色谱条件的确定

2.1.1 检测波长的选择 本研究采用二极管阵列检测器(DAD)进行检测,混合标准品进样后对各有机酸的 DAD 图谱进行分析:在 190~400 nm 波长范围内,有机酸的吸收强度

基本呈现先上升而后下降趋势,发现在 210 nm 处均有较大吸收峰,且基线稳定、噪音小。因此,确定检测有机酸的波长为 210 nm。

2.1.2 流动相浓度、流速、pH 值选择 磷酸盐缓冲溶液是最典型适用的洗脱液,在紫外区几乎无吸收,常作为有机酸测定的流动相^[13]。本试验以磷酸二氢钾为流动相,考察了 0.02、0.05、0.1、0.2 mol/L 4 个不同浓度对有机酸混合标准品进行分离,发现出峰时间和分离度无明显变化(图 1),但是高浓度磷酸盐容易在仪器和色谱柱中结晶析出,因此,确定采用 0.02 mol/L 磷酸二氢钾为流动相。

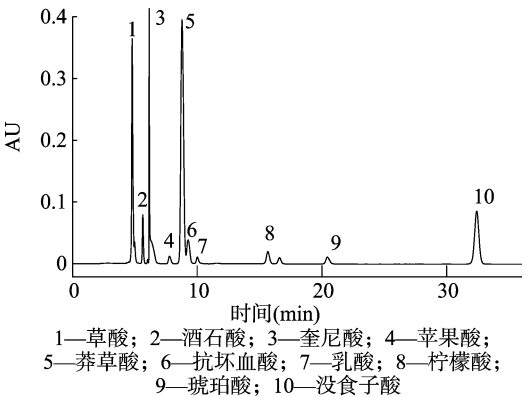


图 1 有机酸标准品的高效液相色谱

2.2 标准曲线绘制与线性范围考察

将各有机酸标准试剂分别配成单一的标准溶液,在同一色谱条件下分别进样,确定每种有机酸的保留时间,根据保留时间定性。然后将不同浓度的有机酸单标混合成混标溶液,从低浓度到高浓度依次进样,计算各自的峰面积(每个样平行进样 3 次)。按试验结果绘制各有机酸的标准曲线,以色谱峰面积为横坐标(X),有机酸浓度为纵坐标(Y),计算标准曲线方程(表 2)。10 个有机酸峰面积和浓度的相关系数在 0.991 8~0.999 6 之间,在一定的浓度范围内线性关系良好。

表 2 有机酸标准曲线及精密度分析

组分	标准曲线方程	线性范围 (mg/mL)	相关系数 (r)	变异系数 (%)
草酸	$y=0.000\ 000\ 06x+0.009\ 8$	0.001~0.50	0.992 9	0.54
酒石酸	$y=0.000\ 000\ 5x-0.001\ 1$	0.001~0.50	0.997 5	0.76
奎尼酸	$y=0.000\ 002x-0.002\ 6$	0.01~10.00	0.999 6	0.82
苹果酸	$y=0.000\ 001x-0.000\ 1$	0.01~5.00	0.997 5	0.63
莽草酸	$y=0.000\ 000\ 02x-0.001\ 5$	0.001~0.30	0.996 9	1.02
抗坏血酸	$y=0.000\ 000\ 09x+0.000\ 2$	0.001~0.50	0.997 0	1.15
乳酸	$y=0.000\ 002x-0.001\ 9$	0.001~1.00	0.991 8	1.08
柠檬酸	$y=0.000\ 001x+0.003\ 1$	0.01~5.00	0.997 6	0.95
琥珀酸	$y=0.000\ 001x+0.003\ 1$	0.01~5.00	0.995 5	0.86
没食子酸	$y=0.000\ 000\ 008x-0.001\ 1$	0.01~10.00	0.996 8	0.52

2.3 方法回收率

选择 108-1 样品作为加标基质,重复添加 3 次,10 种有机酸的加标回收率为 95.33%~101.42%(表 3),表明该处理样品的方法具有较高的回收率,适合对茶叶中有机酸检测分析。

2.4 样品中有机酸含量

使用优选的色谱条件对 20 个茶叶样品分别进行检测,不同茶树品种不同生长阶段有机酸含量见表 4。从表 4 可以看出,共检出 10 个有机酸组分,中茶 108、福鼎大白 2 个品种样

品的有机酸总量的平均值相近,在生长期均呈先增加后减少的趋势,但中茶 108 样品在 60 d 时有机酸总量最高,为 57.98 g/kg;福鼎大白样品在 30 d 时有机酸总量最高,为 68.55 g/kg。中茶 108、福鼎大白 2 个品种在不同生长期奎尼酸、没食子酸、柠檬酸平均含量最多,分别为 20.24、8.66、5.68 g/kg,分别占有有机酸总量的 43.81%、18.75% 和 12.29%。乳酸含量最低,尤其是在大部分福鼎大白样品中未检出。奎尼酸、莽草酸在生长期与有机酸总量的变化趋势

表 3 有机酸回收率试验

组分	有机酸 (mg/mL)			回收率 (%)
	基质含量	加标量	加标后测定量	
草酸	0.018 9	0.020 0	0.039 5	101.42
酒石酸	0.002 5	0.020 0	0.021 8	96.96
奎宁酸	0.104 4	0.020 0	0.123 0	98.85
苹果酸	0.060 6	0.020 0	0.081 5	101.16
莽草酸	0.001 4	0.010 0	0.010 9	95.33
抗坏血酸	0.006 4	0.020 0	0.025 5	96.71
乳酸	0.005 3	0.020 0	0.024 6	97.17
柠檬酸	0.012 9	0.020 0	0.031 4	95.39
琥珀酸	0.019 9	0.010 0	0.028 7	95.86
没食子酸	0.026 5	0.020 0	0.045 3	97.32

含量为 46.21 g/kg, 以奎尼酸、没食子酸、柠檬酸平均含量较一致, 而苹果酸与抗坏血酸在生长期内呈持续减少趋势, 草酸相对稳定, 其他有机酸变化无明显规律。

3 结论

本试验对茶叶中有机酸的检测条件进行了优化, 确定了以 0.02 mol/L 磷酸二氢钾 (pH 值 2.8) 为流动相, Atlantis T3 Column 为色谱柱, 10 种有机酸, 即草酸、奎尼酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、莽草酸、抗坏血酸、没食子酸在 210 nm 处得到完全分离。对不同品种茶叶在不同生长期阶段的有机酸进行了检测分析, 结果表明, 中茶 108 和福鼎大白品种鲜叶含有的有机酸种类无明显差异, 10 种有机酸均有检出。样品各自的有机酸总量可达到 22.12 ~ 68.55 g/kg, 平均

表 4 不同茶树品种在不同生长阶段的有机酸含量

样品编号	有机酸含量 (g/kg)										
	草酸	酒石酸	奎尼酸	苹果酸	莽草酸	抗坏血酸	乳酸	柠檬酸	琥珀酸	没食子酸	总量
108-1	2.66±0.04	0.35±0.01	14.66±0.12	8.50±0.07	0.20±0.01	0.89±0.02	0.75±0.01	1.81±0.03	2.80±0.04	3.73±0.04	36.34
108-2	3.65±0.12	0.11±0.01	19.08±0.35	5.98±0.09	0.39±0.03	0.81±0.05	0.38±0.02	4.98±0.15	1.82±0.02	2.08±0.06	39.27
108-3	2.37±0.05	0.49±0.03	14.28±0.16	3.87±0.05	0.18±0.02	0.36±0.03	0.37±0.01	2.81±0.30	2.69±0.05	8.46±0.26	35.88
108-4	2.71±0.06	1.14±0.04	22.09±0.29	4.50±0.03	0.40±0.04	0.39±0.02	0.22±0.01	4.69±0.33	1.75±0.06	12.44±0.33	50.33
108-5	2.32±0.03	0.07±0.01	24.94±0.44	6.00±0.12	0.41±0.05	0.47±0.05	0.49±0.00	7.84±0.42	1.97±0.03	8.32±0.24	52.81
108-6	2.54±0.04	0.19±0.02	25.59±0.31	4.55±0.13	0.48±0.03	0.47±0.04	0.28±0.03	7.86±0.15	1.41±0.02	9.98±0.36	53.35
108-7	2.25±0.07	0.36±0.02	25.62±0.24	5.71±0.15	0.48±0.03	0.38±0.03	0.57±0.05	7.84±0.17	1.79±0.04	12.98±0.15	57.98
108-8	2.98±0.11	1.36±0.06	19.40±0.17	3.38±0.04	0.32±0.02	0.27±0.02	0.25±0.02	4.70±0.21	1.28±0.06	12.43±0.24	46.36
108-9	3.35±0.16	1.97±0.05	22.70±0.22	3.93±0.06	0.51±0.03	0.34±0.03	0.54±0.04	6.82±0.23	1.69±0.05	14.49±0.18	56.33
108-10	3.12±0.13	1.44±0.07	13.72±0.21	3.42±0.05	0.24±0.04	0.25±0.05	0.79±0.05	4.51±0.12	1.54±0.03	6.28±0.37	35.31
FD-1	5.11±0.18	2.99±0.13	17.08±0.13	3.53±0.11	0.32±0.05	1.07±0.04	0.05±0.00	3.29±0.16	2.44±0.07	10.17±0.41	46.06
FD-2	5.03±0.14	2.44±0.15	39.93±0.55	2.50±0.04	0.56±0.07	0.70±0.02	ND	9.07±0.44	1.68±0.08	6.65±0.26	68.55
FD-3	5.34±0.13	1.56±0.06	30.25±0.40	2.51±0.06	0.76±0.08	0.44±0.03	0.02±0.00	8.91±0.36	2.36±0.05	7.69±0.33	59.84
FD-4	5.45±0.15	1.62±0.03	24.60±0.29	2.46±0.08	0.63±0.06	0.45±0.04	ND	6.15±0.31	1.95±0.06	5.88±0.25	49.20
FD-5	5.89±0.11	1.19±0.04	23.62±0.23	2.23±0.04	0.68±0.05	0.23±0.02	ND	6.95±0.28	1.97±0.12	11.28±0.19	54.04
FD-6	5.90±0.08	1.18±0.05	23.08±0.28	2.00±0.11	0.67±0.06	0.25±0.01	ND	5.64±0.25	2.23±0.13	8.81±0.22	49.76
FD-7	5.86±0.09	0.56±0.02	18.82±0.19	1.93±0.06	0.63±0.04	0.21±0.00	0.03±0.00	5.48±0.22	1.75±0.11	10.19±0.27	45.45
FD-8	5.49±0.19	0.23±0.01	14.52±0.13	1.75±0.07	0.51±0.03	0.20±0.01	ND	5.76±0.13	1.92±0.04	7.99±0.31	38.37
FD-9	3.98±0.06	0.27±0.02	4.97±0.15	0.93±0.03	0.22±0.01	0.13±0.02	ND	3.49±0.17	1.70±0.07	6.42±0.23	22.12
FD-10	4.64±0.14	0.33±0.02	5.96±0.12	1.52±0.05	0.38±0.02	0.20±0.01	ND	5.00±0.15	1.79±0.03	6.99±0.18	26.80

注:ND 表示未检出。

含量为 46.21 g/kg, 以奎尼酸、没食子酸、柠檬酸平均含量较高, 分别为 20.24、8.66、5.68 g/kg。有机酸是茶叶品质成分的重要组成部分, 与茶叶品质的相关性还未开展系统研究。不同茶树品种、不同生长期的有机酸种类和含量均有一定差异, 因此, 今后要明确各种有机酸组分对茶叶品质的影响, 有针对性地选择适宜的茶树品种, 在最佳生长期内采摘鲜叶进行加工, 为茶叶品质的提高提供理论依据。

参考文献:

- [1] 刘盼盼, 钟小玉, 许勇泉, 等. 茶叶中有机酸及其浸出特性研究[J]. 茶叶科学, 2013, 33(5): 405-410.
- [2] 谭和平, 叶善蓉, 陈丽, 等. 茶叶中有机酸的测试方法概述[J]. 中国测试技术, 2008, 34(6): 77-80.
- [3] 吕海鹏, 张悦, 陈兴华, 等. 不同花色种类白茶的抗氧化活性及其主要品质化学成分分析[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 42-50.
- [4] 周才琼, 段缀萍, 李春保. 有机酸对菜籽色拉油中茶多酚抗氧化

- 作用的影响[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(4): 362-364.
- [5] 蒋增良, 刘晓庆, 王珍珍, 等. 葡萄糖素有机酸分析及其体外抗氧化性能[J]. 中国食品学报, 2017, 17(5): 255-262.
- [6] Scherer R, Rybka A P, Ballus C A, et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices[J]. Food Chemistry, 2012, 135(1): 150-154.
- [7] Petucci C, Zelenin A, Culver J A, et al. Use of ion chromatography/mass spectrometry for targeted metabolite profiling of polar organic acids[J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(23): 11799-11803.
- [8] 王清萍. 毛细管电泳在茶叶有效成分分离检测中的应用[D]. 福州: 福州大学, 2010.
- [9] 张伟, 李晓君, 张静, 等. 柱前衍生-气相色谱法同时测定功能食品中 8 种有机酸[J]. 分析试验室, 2014, 33(2): 175-179.
- [10] Sandin-Espana P, Mateo-Miranda M, Lopez-Goti C, et al. Development of a rapid and direct method for the determination of organic acids in peach fruit using LC-ESI-MS[J]. Food Chemistry, 2016, 192: 268-273.

曹剑锋, 刘其高, 蒋小飞, 等. 阴地蕨总黄酮的提取及抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 228–231.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.058

阴地蕨总黄酮的提取及抗氧化活性研究

曹剑锋^{1,2}, 刘其高¹, 蒋小飞^{1,2}, 周进康¹, 欧岳姣¹, 徐连巧¹

(1. 贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵州贵阳 550018; 2. 贵州师范学院药用植物生物技术研究所, 贵州贵阳 550018)

摘要:利用超声波辅助提取技术对阴地蕨根的总黄酮提取工艺进行优化研究, 同时考察黄酮提取液的还原力和清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)以及 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的能力。通过单因素试验和正交试验分析影响黄酮提取率的主要因素, 结果发现, 影响阴地蕨种黄酮提取率的因素主次顺序为乙醇浓度 > 料液比 > 提取时间 > 提取温度; 最佳提取条件为乙醇浓度 90%, 料液比 1 g : 70 mL, 提取温度 60 ℃, 提取时间 40 min。阴地蕨根总黄酮提取液具有较强的还原力, 对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot 均有明显的清除作用。通过正交试验得出清除每种自由基的最佳提取工艺。

关键词:阴地蕨; 总黄酮; 提取工艺; 抗氧化活性; 药理效用; 开发利用

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)21-0228-04

阴地蕨 [*Botrychium ternatum* (Thunb) Sw.] 为阴地蕨科阴地蕨属植物, 别称一朵云、小春花、四块瓦等^[1], 具有清热解暑、平肝熄风、止咳、止血、明目去翳等作用^[2], 药用价值高。现代药理学研究表明, 阴地蕨具有增强机体免疫力^[3]、祛痰^[4]、抗肿瘤^[5]、抗氧化^[6]、改善肝功能以及阻断和逆转肝纤维化等功效^[7]。对阴地蕨成分的研究表明, 阴地蕨含有丰富的黄酮类化合物^[8]。黄酮类物质因具有活性高、作用广泛等特点而被用于医药、保健食品及化妆品等领域^[9-11]。因此, 本试验采用超声波辅助法提取阴地蕨根中的总黄酮, 并采用正交试验优化确定最佳提取工艺, 对总黄酮抗氧化活性进行研究, 以期对阴地蕨根黄酮的药理效用研究及天然的抗氧化剂开发利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

以阴地蕨根为试验材料。试验所用试剂包括芸香苷标准品(上海源叶生物科技公司); 亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、

水杨酸、硫酸亚铁(FeSO_4)、过氧化氢(H_2O_2)、三羟基氨基甲烷、邻苯三酚、盐酸、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁(国药化学基团有限公司)等为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

KQ5200E 型超声波清洗机、FW135 粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); 722 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); 80-2B 型离心机(江苏正基仪器有限公司); 旋转蒸发仪(EYELA-N-1100, 东京理化器械株式会社)。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的绘制 采用硝酸铝络合紫外分光光度法, 以芸香苷标准品为标准样绘制标准曲线。通过测定不同质量浓度芸香苷标准品在 510 nm 处的吸光度, 得到标准曲线回归方程 $y = 10.53x + 0.008$, 其中, y 表示测试样品液在 510 nm 处的吸光度, x 表示样品液的浓度, 标准曲线适用范围为 0 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ ^[12]。

1.3.2 阴地蕨根总黄酮提取及含量的测定 准确称取阴地蕨根干粉末 0.08 g, 并将其置于 10 mL 离心管中, 按一定料液比(g : mL)添加乙醇溶液, 采用一定功率超声波在一定时间内提取总黄酮。提取液在 4 000 r/min 的转速下离心 5 min, 滤渣以同样条件提取、离心、合并上清液, 然后用乙醇溶液定容至 25 mL。取定容好的样品 2 mL 进行检测, 每个水平的试验在相同条件下提取 3 个平行样^[13-14]。

用制作标准曲线的方法测定阴地蕨根提取液中总黄酮的吸光度, 根据标准曲线的回归方程计算提取液总黄酮的质量

Methods, 2013, 6(1): 309–316.

[13] 黎爽, 刘蕊, 马博凯. 反相高效液相色谱法测定水果中有机酸含量[J]. 现代科学仪器, 2013(3): 145–146.

[14] 赵和涛. 红茶加工中有机关代谢及对茶叶香气形成的影响[J]. 茶叶通讯, 1993(1): 25–27.

[15] 谢娇枚, 罗敏燕, 刘易凡, 等. 陈年祁门红茶品质分析[J]. 湖南农业科学, 2012(21): 100–102, 105.

收稿日期: 2017-07-02

基金项目: 贵州省教育厅自然基金(编号: 黔教合 KY 字[2015]374); 贵州省科技厅自然科学基金重点项目(编号: 黔科合基础[2016]1415); 贵州省一流师资团队建设项目(编号: 黔高教发[2017]158号); 贵州省茶籽资源综合利用工程研究中心项目(编号: 黔教合 KY 字[2017]020)。

作者简介: 曹剑锋(1971—), 男, 甘肃天水人, 博士, 教授, 研究方向为天然药物。Tel: (0851) 85816647; E-mail: cjj266@126.com。

[11] Wang M, Qu F, Shan X Q, et al. Development and optimization of a method for the analysis of low-molecular-mass organic acids in plants by capillary electrophoresis with indirect UV detection[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 989(2): 285–292.

[12] Barros L, Pereira C, Ferreira I C. Optimized analysis of organic acids in edible mushrooms from Portugal by ultra fast liquid chromatography and photodiode array detection[J]. Food Analytical