

# 软儿梨果肉中黄酮类化合物的提取及含量测定

查慧领<sup>1</sup>, 石玉平<sup>2</sup>, 任世霞<sup>3</sup>

(1. 青海卫生职业技术学院, 青海 西宁 810000; 2. 青海师范大学 化学系, 青海 西宁 810008; 3. 青海油田钻采工艺研究院, 甘肃 敦煌 736200)

**摘要:**以青海产软儿梨为试材, 以乙醇为提取剂, 通过单因素、正交实验对黄酮类化合物进行提取, 研究其最佳提取条件。结果表明: 提取的最佳条件为乙醇浓度 95%, 浸提温度为 80℃, 乙醇加入量为 90 mL, 浸提时间为 3.0 h。以芦丁为标准物, 通过分光光度法测定软儿梨果肉中总黄酮的含量为 0.0189 g/100g。

**关键词:**软儿梨; 黄酮类化合物; 单因素试验; 正交实验; 提取

**中图分类号:**Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)10-0042-03

软儿梨属秋子梨系统, 在甘肃和青海一带都有栽培。据《本草纲目》载, 软儿梨有润肺止咳、凉心消痰、降火、解疮毒、酒毒等功效<sup>[1]</sup>, 并具有醒酒除腻的功效, 为食疗兼备的佳品。软儿梨不仅风味独特, 而且营养价值丰富, 含有各种酸、糖和维生素、黄酮类化合物等多种成分。黄酮类化合物以甙或游离的形式广泛分布植物中, 自然界已鉴定出的黄酮类化合物有 10 余个类别多达 8 000 多种<sup>[2]</sup>。黄酮类化合物由于成分的复杂性而使其具有多种多样的生物学功能<sup>[3]</sup>及功效。由于其广泛的药用价值, 引起了人们极大的研究兴趣。现对青海产软儿梨果肉中的黄酮类化合物进行了提取、定性检测及含量测定, 为软儿梨的营养价值以及食品开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 软儿梨为青海黄南州产。

1.1.2 试验仪器 501 型超级恒温槽(上海实验仪器

厂); RE252AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); CS101-2A BN 型数显电热鼓风干燥箱(重庆市永生试验仪器厂); 榨汁机(广东顺德); 电子天平; 722 可见分光光度计(上海精密仪器有限公司); 索氏提取器; 漏斗。

1.1.3 试验试剂 乙醇溶液、浓硫酸均为分析纯(天津市红岩化学试剂厂), 氢氧化钠, 三氯化铁, 镁粉; 芦丁(中国药品生物制品检定所); 30% 乙醇溶液, 5% NaNO<sub>2</sub> 溶液, 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液, 10% NaOH 溶液。

### 1.2 试验方法

1.2.1 软儿梨果肉粉末的制备 将软儿梨用蒸馏水洗净后, 用榨汁机粉碎, 减压抽滤分离果肉与果汁, 果肉置于烘箱中 40~60℃ 恒温烘干至恒重, 冷却、粉碎过目(40 目)备用。

1.2.2 软儿梨中黄酮类化合物的提取及定性检测 称取一定量的软儿梨果肉粉末, 加入乙醇, 采用热回流提取 1 h, 然后过滤、浓缩。分别取黄酮类化合物提取液 1 mL 于 4 支试管中, 依次采用以下显色反应对软儿梨中的黄酮类化合物进行定性分析, 检识方法有以下 4 种<sup>[4]</sup>: 盐酸+镁粉试验: 加入少许镁粉, 再加 4~5 滴浓盐酸, 水浴 2 min 显色(同时做空白对照)。氢氧化钠试验: 加入

**第一作者简介:**查慧领(1965-), 男, 河南内黄人, 本科, 副教授, 研究方向为分析化学。E-mail: qhwyhchl@163.com。

**收稿日期:**2012-02-17

## Influence of Index on Different Strains of the Cabbage Fructification Through Salt Spray

CHANG Mei

(Fuxin Vocational Technology Institute, Fuxin, Liaoning 123000)

**Abstract:** Aiming at the decreasing fructification index of multi-generation selfing cabbages, the solution of 5% NaCl to improve their flowering affinity index was used, thus to reduce the costs of self-incompatible cabbage seed. The results showed that the use NaCl could increase the flowering affinity index of self incompatibility lines and inbred lines, especially could improve the fourth. It's obvious to cut the costly on production of seed of self incompatibility lines.

**Key words:** NaCl; Chinese cabbage; self-incompatibility system; self-affinity index

4%氢氧化钠溶液 5 滴,观察现象。浓硫酸试验:加入浓硫酸数滴,振荡混匀,观察现象。3%三氯化铁溶液试验:3%三氯化铁溶液 5 滴,观察现象。

1.2.3 软儿梨果肉中黄酮类化合物的定量分析 芦丁标准溶液的制备及最大吸收波长测定:将芦丁对照品置于减压干燥箱中减压干燥至恒重,准确称取 10 mg,用 30%的乙醇溶解,定容于 50 mL 容量瓶中,即可得到浓度为 0.2 g/L 的标准芦丁溶液。取 1 mL 芦丁标准溶液于 10 mL 刻度比色管中,加入 30%乙醇溶液定容至 5 mL,然后采用刻度移液管加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.3 mL,5 min 后再加入 10%的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 0.3 mL,6 min 后再加入 10%NaOH 溶液 2 mL,最后用 30%乙醇定容至刻度,30 min 后,在 200~700 nm 范围内测定吸收谱,以波长对吸光度作图,找出最大吸收波长为  $\lambda_{\text{max}}=510$  nm。标准曲线的确定:试验采用经典的以芦丁为标准物的分光光度法。准确移取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 的芦丁标准溶液,分别置于 25 mL 的刻度比色管中,在最大吸收波长处测量吸光值,根据最小二乘法,得线性回归方程为  $C=0.0693A-0.0006$ ,相关系数  $R=0.9991$ 。

1.2.4 软儿梨中黄酮类化合物的单因素试验 称取一定量的软儿梨果肉样品,置于索氏提取器中,加入乙醇溶液于进行热回流提取。采用不同浓度的乙醇溶液,在不同浸提时间、浸提温度和不同料液比的条件下进行单因素的条件试验。

1.2.5 软儿梨中黄酮类化合物正交实验 根据单因素试验结果,设定正交实验因素,确定最佳提取条件(表 1)。

表 1 正交实验因素水平

水平	因素			
	A 乙醇浓度/%	B 提取温度/℃	C 乙醇用量/mL	D 浸提时间/h
1	55	60	70	2
2	75	70	80	3
3	95	80	90	4

1.2.6 软儿梨中总黄酮含量的测定 称取一定量的软儿梨果肉样品,采用 1.2.2 中的方法步骤,将萃取的黄酮溶液,在最大吸收波长的条件下,测定吸光 A 值 3 次,取平均值,并计算黄酮含量。按式  $C_1=0.0693A-0.0006$  计算出  $C_1$ ;按式  $C_2=C_1 \times 25/V$ ,式中 V 为移取的提取液的体积(mL)。按式:黄酮的百分含量= $C_2 \times$ 被测定的提取液的体积(mL)  $\times 100\% / (1\ 000 \times$  软儿梨粉末重量(g))。

## 2 结果与分析

### 2.1 软儿梨中黄酮类化合物的定性检测

根据 1.2.2 中的检识方法,对软儿梨中黄酮类化合物进行定性检测。表 2 结果表明,软儿梨中含有黄酮类化合物。

表 2 软儿梨中黄酮类化合物的定性检测结果

种类	盐酸+镁粉	氢氧化钠	浓硫酸	3%三氯化铁溶液
黄酮	黄绿色	黄色	橙黄色	绿色

### 2.2 单因素对软儿梨总黄酮提取率的影响

2.2.1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响 分别称取软儿梨粉末 3 g,各用 55%、65%、75%、85%、95%的乙醇溶液 70 mL 进行加热提取 2 h,过滤、浓缩,然后于 50 mL 容量瓶定容,测定其吸光度,根据其标准曲线方程,计算其黄酮提取率。由表 3 可知,在乙醇加入量、提取温度及时间一致的情况下,95%乙醇的提取效果比较好。

表 3 乙醇浓度对提取率的影响

乙醇浓度/%	55	65	75	85	95
提取率/%	60.1	79.5	92.4	93.7	95.2

2.2.2 乙醇加入量对总黄酮提取率的影响 分别称取软儿梨果肉粉末 3 g,各用 50、60、70、80、90、100 mL 的 95%乙醇溶液进行加热回流提取 2 h,过滤、浓缩,然后以 50 mL 容量瓶定容,测定其吸光度,根据其标准曲线方程,计算其黄酮提取率。由表 4 可知,乙醇加入量从 50~80 mL,黄酮提取率逐渐上升,当乙醇加入量达到 80~100 mL 后,黄酮提取率变化不大,因此最佳条件为 80~90 mL。

表 4 乙醇加入量对提取率的影响

乙醇加入量/mL	50	60	70	80	90	100
提取率/%	63.1	82.5	94.0	96.3	96.8	96.6

2.2.3 提取时间对黄酮提取率的影响 分别称取软儿梨粉末 3 g,各用 90 mL 95%的乙醇溶液对软儿梨粉末进行加热提取,时间分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h 过滤、浓缩,然后于 50 mL 容量瓶定容,测定其吸光度,根据其标准曲线方程,计算其黄酮提取率。由表 5 可知,当提取时间为 3 h 时,提取效果最佳。

表 5 提取时间对提取率的影响

提取时间/h	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
提取率/%	50.3	70.1	85.4	94.3	96.8	96.5

2.2.4 提取温度对提取率的影响 分别称取软儿梨粉末 3 g,各加 90 mL 95%乙醇溶液在 5 个不同温度条件下,于索氏提取器中进行提取,提取时间为 3 h,提取液经离心后浓缩,于 50 mL 容量瓶中定容,根据 1.2.6 方法,计算其黄酮提取率。由表 6 可知,当提取温度为 80℃时,提取效果最佳。

表 6 提取温度对提取率的影响

提取温度/℃	40	50	60	70	80
提取率/%	55.3	68.2	85.1	92.3	96.3

### 2.3 软儿梨中黄酮含量测定

通过单因素试验,用 1 mL 的刻度移液管移取 0.7 mL 的提取液,于 510 nm 的条件下测量吸光值 A。每份测定 3 次并记录下数据后,求出平均值为 0.021。通过测定得出,软儿梨中总黄酮的含量为 0.0189%。

## 2.4 正交实验

正交实验因素水平<sup>[5-11]</sup>及结果分析见表1。极差分析为A>B>D>C,提取软儿梨中黄酮类化合物的最佳条件为A3B3C3D2,即乙醇浓度为95%,浸提温度为80℃,乙醇加入量为90 mL,浸提时间为3.0 h,其黄酮提取率较高,测得的总黄酮含量为0.0189 g/100g。

表7 正交实验结果及分析

水平	A 乙醇浓度 /%	B 浸提温度 /℃	C 乙醇用量 /mL	D 浸提时间 /h	提取率 /%
1	1	1	1	1	90.2
2	1	2	2	2	93.1
3	1	3	3	3	94.3
4	2	1	2	3	93.8
5	2	2	3	1	94.6
6	2	3	1	2	95.8
7	3	1	3	2	95.1
8	3	2	1	3	94.4
9	3	3	2	1	95.0
K1	277.6	278.4	280.4	279.8	
K2	284.2	282.1	281.9	284.7	
K3	284.5	285.1	284.0	282.5	
极差	6.9	6.7	3.6	4.9	

## 3 结论

以芦丁为标准物,采用分光光度法测定软儿梨中黄酮类化合物的含量,当乙醇浓度为95%,浸提温度为80℃,乙醇加入量为90 mL,浸提时间为3.0 h时,其黄

酮提取率较高,每100 g软儿梨中总黄酮的含量为0.0189 g。以乙醇作为提取剂,由于具有毒性小,回收容易而可反复使用<sup>[12]</sup>。

## 参考文献

- [1] 赵生元,宋柯.软儿梨果酒的研制[J].酿酒科技,2009,175(1):87-88.
- [2] 陆柏益,张英,吴晓琴.黄酮类化合物的潜在毒性作用[J].中国中药杂志,2006,31(7):533-536.
- [3] Martin H D, Beutner S, Frixel S, et al. Modified flavonoids as strong photoprotecting UV-Absorbers and Antioxidants [J]. Chemische Vereniging, 2003(1):288-291.
- [4] 蔡碧琼,余萍.稻壳中黄酮提取物结构的初步鉴定[J].湖北民族学院学报(自然科学版),2008,26(4):448-451.
- [5] 买合布白·阿不都热依木,艾克白尔,库尔班尼莎,等.心草中总黄酮含量的测定及其提取研究[J].生物技术,2007,17(4):67-69.
- [6] 葵健,王薇.黄瓜叶中总黄酮含量的研究[J].食品科学,2005,26(8):194-196.
- [7] 许钢,张虹,胡箭.竹叶中黄酮提取方法的研究[J].分析化学,2000(7):857-859.
- [8] 范志刚,麦军利.微波技术对雪莲中黄酮 QIN 出量影响的研究[J].中国民族医药杂志,2000(1):43-44.
- [9] 王选东,刘利林,许宗运.正交设计研究石榴皮总黄酮提取工艺[J].塔里木农垦大学学报,2003,15(2):11-15.
- [10] 华辉,郭勇.黄酮类化合物药理研究进展[J].广东药学,1999,9(4):9-12.
- [11] 王玮,王琳.黄酮类化合物研究进展[J].沈阳医学院学报,2001,4(2):115-119.
- [12] 古丽娜尔·夏依马尔旦.黄连中总黄酮含量测定及提取工艺的研究[J].新疆师范大学学报(自然科学版),2010,29(1):77-78.

## Determination of Flavonoids Extraction in Soft Pear from Qinghai Province

CHA Hui-ling<sup>1</sup>, SHI Yu-ping<sup>2</sup>, REN Shi-xia<sup>3</sup>

(1. Qinghai Health Vocational and Technical College, Xining, Qinghai 810000; 2. Department of Chemistry, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai 810008; 3. Qinghai Oilfield Drilling Technology Research Institute, Dunhuang, Gansu 736200)

**Abstract:** With Qinghai soft pear as test materials, used ethanol as extracting agent, extracting flavonoids by single and orthogonal test were studied. The results showed that optimal conditions for extraction was 95% ethanol concentration, extraction temperature was high at 80℃, the amount of ethanol was up to 90 mL and the extraction time was 3.0 h. Using Rutin as the standard, the total content of flavonoids was 0.0189 g/100g in soft pear pulp by spectrophotometry.

**Key words:** soft pear; flavonoids; single test; orthogonal test; extraction