

籽瓜不同生育期不同部位总黄酮和总皂苷含量测定

张 彬¹, 田 丽萍¹, 张 义 晖¹, 李 欠 南¹, 薛 琳²

(1. 石河子大学 药学院, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子蔬菜研究所, 新疆 石河子 832000)

摘 要:以籽瓜为试材, 分别以芦丁和葫芦素 B 为标准品, 采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法和香草醛-硫酸比色法分别测定籽瓜中总黄酮和总皂苷含量, 为籽瓜质量控制提供科学依据。结果表明: 总黄酮线性方程为 $Y = 0.0059C - 0.0081$, $R^2 = 0.9994$; 总皂苷线性方程为 $Y = 0.005C - 0.0335$, $R^2 = 0.9991$ 。数据表明这 2 种测定方法准确, 且重复性好。籽瓜不同部位的总黄酮和总皂苷含量分别在这 2 种方法下随生长时期变化而变化, 根据这些数据可以为籽瓜的综合开发利用提供参考依据。

关键词:籽瓜; 不同生育期; 不同部位; 总黄酮; 总皂苷; 分光光度法

中图分类号:S 642.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0109-04

籽瓜(*Citrullus lanatus* ssp. *vulgaris* var. *megalaspermus* Lin et Chao) 属葫芦科西瓜属的一个变种, 一年生蔓生草本^[1]。属低糖瓜类, 是一种极具地域特色的农产品, 形状与西瓜类似, 但比西瓜小, 籽就是畅销的大板瓜子。籽瓜药食兼用, 有极高的药用价值, 性温, 有暖胃祛寒、滋嫩肌肤、清肾排毒等功效, 同时又是一种润肺、暖胃的保健食品。《本草纲目》记载:“籽瓜性味甘”;《本草求真》记载:“籽瓜肉汁可润肺, 解心脾胃热, 止消渴, 消除溃疡”。现代医学证明, 籽瓜富含果酸、核黄酸、尼可酸等 18 种氨基酸、维生素及多种微量元素, 具有利尿、润肺、健脾的功效因子, 具备低脂、低糖、低热的特性, 对糖尿病、肥胖症也有辅助医疗作用^[2]。

黄酮类化合物广泛存在于植物体中, 有重要的生理功能, 是良好的抗氧化剂、酶抑制剂、色素及光屏蔽物、植物生长调节剂及植物抗毒素。近年来, 从植物体中分离出来的黄酮类化合物有多种药理作用, 其具有维持血管正常的渗透压、防止血管脆化的生理作用, 对多种炎症、冠心病、心绞痛等均有良好疗效^[3]。皂苷作为籽瓜中最主要的功能成分之一, 具有降血糖、抗肿瘤抑菌、抗

衰老、抗病毒和堕胎等作用。对皂苷的研究主要集中在人参、三七、胶股兰、罗汉果等上。其中人参皂苷由于其显著的多种功能(抗癌、抗肿瘤、抗血栓、提高免疫等)成为国内外研究的一个热点^[4]。国内外对籽瓜中黄酮、皂苷类化合物研究尚鲜见报道。现通过对籽瓜不同生长时期的不同部位中总黄酮及总皂苷成分进行研究, 分别以芦丁和葫芦素 B 为标样, 采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法^[5-7]和香草醛-硫酸比色法分析研究^[8-10], 确定适合籽瓜黄酮类和皂苷类测定的简便方法, 以期为籽瓜进一步开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

籽瓜采自新疆石河子 150 团 15 连, 品种为“内蒙黑中片”; 葫芦素 B 标准品及芦丁标准品, 购自宝鸡市辰光生物科技有限公司, 生产批号为 20120218 和 20121110。

甲醇、乙醇、浓硫酸、冰醋酸、亚硝酸钠、硝酸铝、香草醛、氢氧化钠均为国产分析纯, 试验用水为蒸馏水。

HHS-1-Ni 电热水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂); SK-5200 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); RE-2000A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市英峪子华仪器厂); TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂); BP211D 型电子天平(德国赛多利斯); UV-2401 紫外-可见分光光谱仪(日本岛津)。

1.2 试验方法

1.2.1 原料预处理 分别在籽瓜伸蔓期、结瓜期、盛瓜

第一作者简介:张彬(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为新疆特色药用植物资源与 GAP 规范化种植技术。E-mail: 584768851@qq.com.

责任作者:田丽萍(1961-), 女, 本科, 教授, 研究方向为植物化学。E-mail: 13999333713@163.com.

基金项目:兵团科技援疆计划资助项目(2012 AB013)。

收稿日期:2015-01-16

期和采收期等 4 个生育期采样。然后把每个生育期植株分为根、茎、叶、蔓、瓜(外皮),分别放置阴凉处晾干,粉碎后备用。

1.2.2 籽瓜不同生育期不同部位总黄酮含量测定 总黄酮样品液的制备:精密称取不同时期籽瓜不同部位的粉末,每份约 1.0000 g,加入 20 倍量 70%乙醇,超声 2 次,每次 1 h。过滤,合并滤液,放在风扇下吹干。甲醇溶解并定容至 10 mL,作为籽瓜待测液。标准曲线的获得及总黄酮含量的检测:精密称取芦丁对照品 3.00 mg 置 10 mL 容量瓶中,甲醇定容,摇匀即得芦丁标准溶液。准确吸取芦丁标准液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 5%NaNO₂ 溶液 0.5 mL,摇匀;放置 6 min 后,加入 10%Al(NO₃)₃ 溶液 0.5 mL,摇匀;放置 6 min 后,加入 4%NaOH 溶液 4 mL,摇匀;最后用甲醇定容至 10 mL,放置 15 min。以芦丁浓度为 0 mg/mL 的反应液为空白参比液,在 400~600 nm 的范围内进行光谱扫描,寻找最大吸收峰所在吸收波长。其最大吸收波长在 500 nm,且空白对照无干扰,故选择 500 nm 为测定波长。然后在此最大吸收波长处对系列梯度反应液进行吸光度测定,并计算回归方程。精密吸取相应的样品溶液 2.0、0.5、0.3、0.3、0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,每个样品液同时制备 4 份,按照上述方法操作,并在 400~600 nm 范围内进行光谱扫描,同样在最大吸收波长处测定吸光度 A。取其同一样品的 4 个吸光度值,并由相应回归方程计算样品中的总黄酮平均含量。方法学考察重复性试验:准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮样品液的制备,取其 0.5 mL 样液按标准曲线项下的方法操作,测定吸光度,计算 RSD。精密度试验:精密移取芦丁标准品溶液 2.5 mL,按标准曲线项下的方法操作,同一供试液重复测定 5 次,测定吸光度,计算 RSD。稳定性试验:准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮总黄酮样品液的制备,取其 0.5 mL 样液按标准曲线项下的方法操作,每隔 10 min 测定 1 次吸光度,计算 RSD。加样回收率试验:精密称取芦丁标准品 3.00 mg 置于 10 mL 容量瓶中定容。准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮样品液的制备,精密移取样液 1.0 mL 共 4 份,置于 10 mL 容量瓶中,精密加入芦丁标准品溶液 1.0 mL,按标准曲线项下的方法操作,测定吸光度,根据回收率公式计算回收率,并求得平均回收率和 RSD。

1.2.3 籽瓜不同时期不同部位总皂苷含量测定 总皂苷样品液的制备:精密称取不同时期籽瓜不同部位的粉末,每份约 1.0000 g,加入 11 倍量 65%乙醇,超声 2 次,每次 1 h。过滤,合并滤液,放在风扇下吹干。用甲醇溶解并定容至 10 mL,作为籽瓜根、籽瓜茎、籽瓜叶待测液。葫芦素 B 标准曲线的获得与籽瓜总皂苷含量的检测:精

密称取 3 mg 葫芦素 B 标准品,定容至 10 mL,即为葫芦素 B 标准液。分别精密吸取标准液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 至具塞试管中,挥干溶剂,分别加入 5%香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL 和 60%硫酸 0.8 mL,摇匀,60℃水浴加热 15 min,取出后冰浴 10 min,用冰醋酸定容至 5 mL,室温静置 10 min。以葫芦素 B 浓度为 0 mg/mL 的反应液为空白参比液,在 400~600 nm 的范围内进行光谱扫描,寻找最大吸收峰所在吸收波长。其最大吸收波长在 463 nm,且空白对照无干扰,故选择 463 nm 为测定波长。然后在此最大吸收波长处对系列梯度反应液进行吸光度测定,并计算回归方程。分别精密吸取待测液 0.5 mL 于 5 mL 具塞试管中,每个样品液同时制备 4 份按照上述方法操作,并在 400~600 nm 范围内进行光谱扫描,同样在最大吸收波长处测定吸光度 A,取其同一样品的 4 个吸光度值,并由相应回归方程计算样品中的总皂苷平均含量。方法学考察重复性试验:准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮样品液的制备,取其 0.15 mL 样液按标准曲线项下的方法操作,测定吸光度,计算 RSD。精密度试验:精密移取葫芦素 B 标准品溶液 2.5 mL,按标准曲线项下的方法操作,同一供试液重复测定 5 次,测定吸光度,计算 RSD。稳定性试验:准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮样品液的制备,取其 0.15 mL 样液按标准曲线项下的方法操作,每隔 10 min 测定 1 次吸光度,计算 RSD。加样回收率试验:精密称取葫芦素 B 标准品 2.94 mg 置于 10 mL 容量瓶中定容。准确称取籽瓜采收期干皮样品粉末 1.0000 g,按照籽瓜干皮总皂苷样品液的制备,精密移取样液 0.5 mL 共 4 份,置于 10 mL 容量瓶中,精密加入葫芦素 B 标准品溶液 0.5 mL,按标准曲线项下的方法操作,测定吸光度,根据回收率公式计算回收率,并求得平均回收率。总黄酮含量(%)=稀释倍数 $\times C \times 10 \times 10 \times 10^{-3} \times 100/W$,式中:C 为样品溶液中芦丁的浓度,单位为 g/L;W 为籽瓜不同部位样品的干重,单位为 g。总皂苷含量(%)=稀释倍数 $\times C \times 10 \times 10^{-3} \times 100/W$,式中:C 为样品溶液中葫芦素 B 的浓度,单位为 g/L;W 为籽瓜不同部位样品的干重,单位为 g。

2 结果与分析

2.1 籽瓜不同生育期不同部位总黄酮含量

用最小二乘法经线性回归,得回归方程为: $Y = 0.0059C - 0.0081$, $R^2 = 0.9994$,结果表明在 30~150 $\mu\text{g/mL}$ 范围内芦丁浓度与吸光度有良好的线性关系。由图 1 可知,结瓜期籽瓜叶相对于伸蔓期叶有极显著性增长,盛瓜期的籽瓜茎和蔓相对于结瓜期的茎和蔓有显著性增长。籽瓜叶和籽瓜蔓 2 个部位随着不断生长,总黄酮含量整体升高,而籽瓜外皮及籽瓜根基本保持不变,籽瓜茎总黄酮含量虽随生长在不断波动,但范围很小。且

采收期时总黄酮含量籽瓜蔓>籽瓜叶>籽瓜外皮>籽瓜茎>籽瓜根。重复性试验测定总黄酮含量 RSD 为 1.47%,说明该方法的重复性良好。精密度试验测定总黄酮含量 RSD 为 0.39%,表明仪器精密度好。稳定性测定结果表明供试液在 60 min 内基本稳定,RSD 为 2.14%。加样回收率试验计算加样回收率,所得结果如表 1 所示,平均回收率为 98.1%,RSD 为 0.22%。

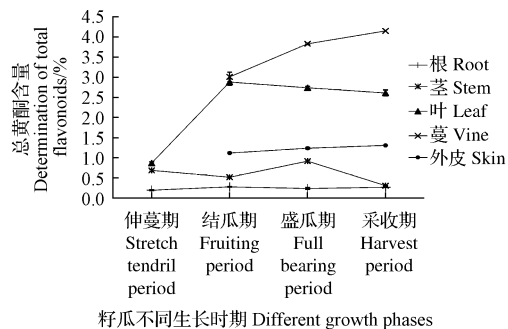


图 1 籽瓜不同生育期总黄酮含量结果

Fig. 1 The content of total flavonoids from different development stages of the seed melon

表 1 加样回收试验结果

Table 1 Add sample recovery experiment results

样品	吸光度	回收率	平均回收率	RSD
Sample	Absorbance	Recovery/%	Average recovery/%	/%
1	0.4577	97.9	98.1	0.22
2	0.4596	98.4		
3	0.4582	98.0		
4	0.4585	98.1		

2.2 籽瓜不同生育期不同部位总皂苷含量

用最小二乘法经线性回归,得回归方程为: $Y=0.005C-0.0335$, $R^2=0.9991$,结果表明在 30~150 $\mu\text{g/mL}$ 范围内葫芦素 B 浓度与吸光度有良好的线性关系。由图 2 可知,采收期的籽瓜叶相对于之前所有生长期的叶均有极显著性增长,除籽瓜外皮,籽瓜其它部位相对前一时期均有显著性增长。籽瓜根、茎、叶、蔓部位随着不断生长,总皂苷含量不断升高,且籽瓜叶总皂苷含量上升幅度明显,大于其它 3 个部位,籽瓜外皮含量保持平

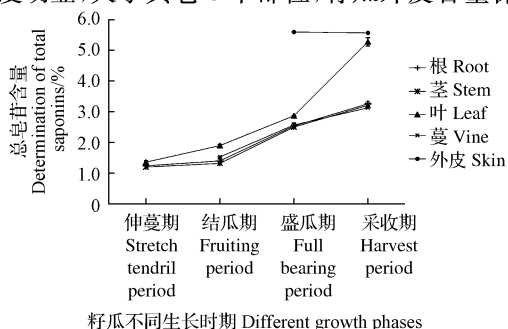


图 2 籽瓜不同生育期总皂苷含量结果

Fig. 2 The content of total saponins from different development stages of the seed melon

稳,是总皂苷含量最高的部位。采收期时总皂苷含量籽瓜外皮>籽瓜叶>籽瓜蔓、籽瓜茎、籽瓜根。重复性试验测定总皂苷含量 RSD 为 1.47%,说明该法的重复性良好。精密度试验测定总皂苷含量 RSD 为 0.40%,表明仪器精密度好。稳定性测定结果表明,供试液在 60 min 内基本稳定,RSD 为 1.1555%。加样回收率试验计算加样回收率,所得结果如表 2 所示,平均回收率 97.5%,RSD 为 2.83%。

表 2 加样回收试验结果

Table 2 Add sample recovery experiment results

样品	吸光度	回收率	平均回收率	RSD
Sample	Absorbance	Recovery/%	Average recovery/%	/%
1	0.9617	101.5	97.5	2.83
2	0.9328	97.2		
3	0.9134	95.3		
4	0.9416	96.1		

3 结论

该研究结果表明,分光光度法测定籽瓜中总黄酮和总皂苷含量,简单易行,重现性好,结果稳定可靠,可作为测定籽瓜总黄酮和总皂苷含量的检测方法。该研究采集 4 个不同生长时期的籽瓜不同部位的样品,对其中的总黄酮和总皂苷含量进行分析,发现不同生长时期的籽瓜不同部位总黄酮和总皂苷含量均有一定差异,这可能与籽瓜的生长环境、取样时间有一定关系。

该试验通过对籽瓜不同生育期不同部位中总黄酮及总皂苷成分进行研究,分别以芦丁和葫芦素 B 为标样,采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法和香草醛-硫酸比色法分别对籽瓜中黄酮类化合物及皂苷类化合物进行提取并测定含量。试验可为黄酮类化合物及皂苷类化合物等天然产物的提取提供依据,同时可以使籽瓜的某些部位变废为宝,对其综合利用具有一定指导作用。

参考文献

- [1] 孙亦农. 籽瓜瓤和皮的综合利用[J]. 食品科学, 1994(4): 75-76.
- [2] 武冬梅, 李冀新, 孙新纪. 籽瓜副产物综合利用现状及存在的问题[J]. 黑龙江农业科学, 2010(11): 148-150.
- [3] 张曦, 吴锡信. 月季花的药理及临床应用探讨[J]. 吉林中医药, 2004, 24(4): 47.
- [4] 姚毅. 苦瓜皂甙的提取纯化工艺及抑菌功效研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [5] 吴德玲, 金传山, 刘金旗, 等. 益智仁中总黄酮含量测定[J]. 安徽中医学院学报, 2005, 24(6): 38-40.
- [6] 吴春霞, 宋曼曼, 阿不都拉·阿巴斯. 小甘菊不同部位总黄酮含量测定及其薄层色谱的初步分析[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 430-433.
- [7] 赵喜红, 何小维, 罗志刚. 柿叶黄酮类物质的乙醇提取工艺及其抗氧化性的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(3): 49-52.
- [8] 张娟, 路金才. 皂苷的提取方法及含量测定研究进展[J]. 中国现代中药, 2006, 8(3): 25.
- [9] 吴红, 梁恒, 刘永红, 等. 山茱萸总皂苷的提取分离与含量测定[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(5): 430-432.
- [10] 梁卫文, 赵邦爱, 杨淑华. 紫外分光法测定知母总皂苷元的含量[J]. 中草药, 2002, 33(7): 621-622.

DOI:10.11937/bfyy.201509031

不同贮藏温度对鲜食核桃呼吸速率和油脂品质的影响

李孙玲¹, 杨建华¹, 陈诗², 习学良¹, 李淑芳¹, 熊新武¹

(1. 云南省林科院 漾濞核桃研究院, 云南 漾濞 672500; 2. 西南林业大学 林学院, 云南 昆明 650224)

摘要:以核桃为试材, 研究云南“大泡核桃”在 $(0\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、 $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、常温 $(15\sim 25^{\circ}\text{C})$ 条件下贮藏期间核桃的呼吸速率变化及脂肪酸氧化变化, 为云南鲜食核桃的采后贮藏保质提供参考依据。结果表明:低温贮藏核桃的呼吸速率显著低于常温贮藏, 低温贮藏能降低核桃呼吸速率, 抑制核桃油脂快速哈败, 在 150 d 贮藏期内, $(0\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 贮藏效果最好, 可较好地保持核桃的营养品质。

关键词:温度; 核桃; 呼吸速率; 油脂品质

中图分类号:S 664.109⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0112-03

核桃(*Juglans regia* L.)属核桃科核桃属植物, 与扁桃、腰果、板栗并称为世界四大干果。云南省是中国南方核桃的起源地之一, 已有 3 500 多年的栽培历史, 核桃已成为云南省优势经济林树种和优势传统产业^[1]。云南的“漾濞大泡核桃”, 主产于云南省大理白族自治州漾

濞彝族自治县, 果大、壳薄, 形正色好, 仁白质细, 味正清香^[2]。据了解, 云南大泡核桃主产区, 由于鲜食核桃营养成分损失少, 口味极香纯, 受到越来越多百姓的欢迎, 已经具有一定的市场, 销售量呈逐年增加的趋势。核桃油中饱和脂肪酸含量极高, 如果贮藏条件不佳, 核桃油容易发生脂肪酸氧化, 严重时会出现哈败气味, 降低了核桃的营养价值及商品价值^[3-5]。温度、相对湿度、氧气浓度、光照等因素均会对油脂品质和核桃果呼吸速率产生影响, 其中, 温度是重要因素之一^[4, 6-7]。目前, 国内外有关鲜食核桃贮藏保鲜方法较少, 研究普遍认为, $(0\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 是最适宜新鲜核桃的贮藏温度^[8-11]。现以云南大泡核桃为试材, 通过分析不同贮藏温度对新鲜核桃生理和

第一作者简介:李孙玲(1985-), 女, 硕士, 研究实习员, 现主要从事经济林等研究工作。E-mail:282387724@qq.com.

责任作者:杨建华(1980-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事经济林良种选育及配套栽培技术等研究工作。E-mail:414078502@qq.com.

基金项目:大理州科技计划资助项目(20121101)。

收稿日期:2015-01-19

Determination of Total Flavonoids and Total Saponins in Different Growth Phases and Different Parts of *Citrullus lanatus* ssp. *vulgaris* var. *megalaspermus* Lin et Chao

ZHANG Bin¹, TIAN Li-ping¹, ZHANG Yi-hui¹, LI Qian-nan¹, XUE Lin²

(1. Pharmacy School, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. Shihezi Vegetable Research Institute, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: Taking *Citrullus lanatus* as test material, the contents of total flavonoids and total saponins from *Citrullus lanatus* was determined by sodium nitrite-aluminum nitrate chromomeric method and vanillin-sulfuric acid method, which provide a scientific basis for the quality control of *Citrullus lanatus*. To determinate the contents of total flavonoids and total saponins from *Citrullus lanatus*, the rutin and cucurbitacin B were used as standard product. The results showed that, the linear equations of total flavonoids and total saponins determination were respectively $Y=0.0059C-0.0081$, $R^2=0.9994$ and $A=0.005C-0.0335$, $R^2=0.9991$. Data showed that the contents of total flavonoids and total saponin in different parts of *Citrullus lanatus* with growth period changes. The method was accurate and reproducible, which provided a theoretical basis for the comprehensive development and utilization of *Citrullus lanatus*.

Keywords: *Citrullus lanatus*; different growth phases; different parts; total flavonoids; total saponins; spectrophotometric method