

新疆核桃仁隔膜中黄酮苷含量的测定

马木提·库尔班

(新疆大学化学化工学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要: 将核桃仁隔膜用 50% 乙醇回流 2h, 每次回流体积为 100ml, 回流两次, 用芦丁标准品作参照, 硼酸-柠檬酸为显色剂, 以 410nm 作为测定波长, 用正交设计法来确定测定最佳条件。测定核桃仁隔膜中黄酮苷含量为 0.15mg/ml, 回收率为 84%~114%。

关键词: 核桃仁隔膜; 黄酮苷; 硼酸-柠檬酸; 正交设计法

Determination of Flavone Glycoside Contents in Walnut Septum of Xinjiang

MAMUT Kurban

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: The walnut septum was refluxed twice for two hours each with 100 ml 50% ethanol. With rutin as reference and boric citric acid was taken as developer, at 410 nm wavelength and the optimum conditions were determined by orthogonal design method. The flavone glycoside content in walnut benevolence is 0.15 mg/ml and recover rate 84%~114%.

Key words walnut septum; flavone glycoside; boric acid-citric acid; orthogonal design method

中图分类号: 0623.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)02-0321-03

核桃仁隔膜(又称分心木)是胡桃科植物核桃(*Juglans regia* L)果核的干燥木质隔膜。秋季果实成熟时采收, 除去果皮和种子, 晒干。本品多破碎成半圆性片状或不规则片状, 完整者呈类圆形或椭圆形, 直径 2.5~3 cm。表面棕色至浅棕褐色, 稍有光泽, 边缘不整齐, 上中部有一所圆形或椭圆形孔洞, 长约占隔膜直径 1/2, 边缘增厚处呈棕褐色, 增厚部分汇合延伸至基部。具有坚硬、骨质、薄、苦、涩、平等特点。

自古以来新疆人不仅将核桃仁隔膜与石榴外皮按一定比例配比用于染发、染布, 且可与茶一起泡制饮用。据文献报道, 核桃仁隔膜除具有补肾、涩精、强精、增精、归脾^[1]等功效外, 还可以治疗牙根出血、口腔溃疡、多汗、滑精、遗精^[2]等。

核桃仁隔膜具有以上的许多作用和其化学成分密切相关。但目前为止, 有关核桃仁隔膜有效成分的研究很少, 本研究采用正交试验法对核桃仁隔膜中黄酮苷的提取工艺条件进行优化, 为从核桃仁隔膜中提取黄酮苷提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料

新疆和田核桃仁隔膜(分心木), 磨碎成粉末。

1.1.2 试剂

芦丁 上海试剂二厂; 乙醇、石油醚、硼酸、柠檬酸、丙酮均为分析纯。

芦丁标准溶液的配制: 称取芦丁标准品 25mg, 用 50% 的乙醇溶解转移至 100ml 容量瓶, 稀释至刻度, 备用。

显色溶液的配制: A. 10% 柠檬酸丙酮溶液: 称取柠檬酸 25g 用丙酮溶解稀释至 250ml; B. 0.8% 硼酸溶液: 称取 2g 硼酸用 50ml 无水乙醇溶解后用丙酮溶解稀释至 250ml (使用前把两种溶液等体积混合即可)。

1.1.3 仪器

722型紫外分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; 恒温水浴锅、层析柱(宽 3.5cm × 长 70cm)。

1.2 方法

1.2.1 提取方法

取 5g 样品, 用 100ml 50% 的乙醇在 80℃ 回流 2h, 过滤, 残渣继续用 50% 的乙醇回流 2h, 合并滤液, 蒸馏除去乙醇后的溶液用石油醚萃取两次, 除去脂溶性杂质, 然后把溶液于聚酰胺柱, 用 95% 的乙醇洗脱, 洗脱液合并, 蒸馏除去乙醇溶液, 使之浓缩至 30~40ml, 用 50% 乙醇稀释至 100ml。

收稿日期: 2006-12-20

作者简介: 马木提·库尔班(1950-), 男, 副教授, 研究方向为天然植物有效成分分析。E-mail: mamut2006@163.com

将准备装柱使用的聚酰胺树脂用2倍备体积的95%乙醇浸泡4~6h使树脂充分溶胀后装柱^[3]。

1.2.2 分析方法

1.2.2.1 测定波长的选择

精密移取3ml样品溶液于25ml容量瓶中加3ml等体积混合的硼酸-柠檬酸显色液,试剂为空白,于波长380~480nm范围内进行扫描。实验结果表明,在410nm波长处有最大吸收,故选择410nm为测定波长。

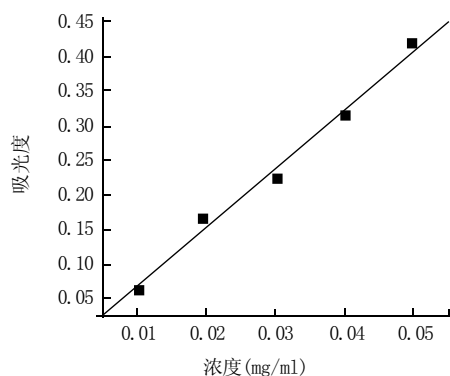


图1 标准曲线
Fig.1 Standard curve

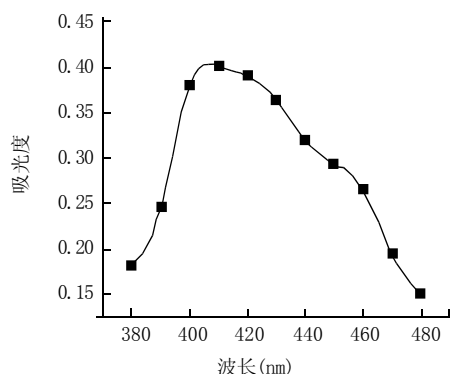


图2 吸收光谱
Fig.2 Absorbance spectrum

1.2.2.2 标准曲线的制作

分别吸取芦丁标准品溶液1.00、2.00、3.00、4.00、5.00ml于25ml容量瓶中,加入等体积混合的硼酸-柠檬酸显色液3ml,用丙酮稀释至刻度^[4],在选定的波长下测定的吸光度与浓度呈线性相关,回归方程为 $Y=3.74 \times 10^{-3} + 0.1814X$, $r=0.9986$ 。实验结果表明,芦丁标准品在浓度范围0.01~0.05mg/ml与吸光度呈线性相关。

1.2.2.3 精密度实验

用芦丁对照品溶液(0.15mg/ml)于一日内在选定的波长下重复测定吸光度5次,得日内精密度RSD为0.444%;用同一份溶液连续测定5d,得日间精密度RSD为0.483%。

1.2.2.4 重现性实验

精密移取样品溶液1ml于25ml容量瓶中,用丙酮稀释至刻度,在选定的波长下测定吸光度,计算得RSD为0.346%, $n=5$ 。

1.2.2.5 稳定性实验

用同一份提取液放置48h,分别于以下时间0.5、1、2、4、8、12、16、20、24、28、36、48h测定吸光度A,计算得RSD为0.395%, $n=11$ 。实验结果表明,在实验条件下,提取液的吸光度在48h内基本上保持不变。

1.2.2.6 脂溶性杂质对测定结果的影响

取三份核桃仁隔膜原料,不除去脂溶性杂质的样品液显色,测定吸光度,实验结果表明,脂溶性杂质对黄酮苷的含量有显著性影响。

2 结果与分析

2.1 供试液的测定

取5ml样品溶液置于25ml容量瓶中,加入硼酸-柠檬酸显色液3ml,用丙酮定容,在选定的波长下测定其光度值,根据回归方程计算溶液浓度,进而计算出黄酮苷含量。测得黄酮苷含量为0.15mg/ml。

2.2 正交试验法

根据前期的实验和参考文献,选取四个因素即温度、时间、柠檬酸、硼酸的体积、各因素选取了三个水平,进行 $L_9(3^4)$ 正交设计试验(表1)。

表1 正交试验结果表 $L_9(3^4)$
Table 1 Results of orthogonal test $L_9(3^4)$

试验号	A提取温度(℃)	B提取时间(min)	C柠檬酸(ml)	D硼酸(ml)	吸光度
1	1(20)	1(10)	1(1.5)	1(1.5)	0.116
2	1(20)	2(20)	2(3)	2(3)	0.166
3	1(20)	3(40)	3(5)	3(5)	0.222
4	2(30)	1(10)	1(1.5)	3(5)	0.169
5	2(30)	2(20)	3(5)	1(1.5)	0.100
6	2(30)	3(40)	2(3)	2(3)	0.168
7	3(50)	1(10)	2(3)	2(3)	0.227
8	3(50)	2(20)	3(5)	3(5)	0.108
9	3(50)	3(40)	1(1.5)	1(1.5)	0.209
K_1	0.504	0.512	0.494	0.425	
K_2	0.437	0.374	0.561	0.561	
K_3	0.534	0.599	0.430	0.499	
R	0.097	0.225	0.131	0.136	

从表1中可以看出,影响吸光度的因素由大到小依次为:时间>柠檬酸的体积=硼酸的体积>温度。综合考虑选择 $A_3B_1C_2D_2$ 为最佳实验条件,即温度在50℃,显色时间为40min,需加入的柠檬酸-硼酸混合显色液各3ml。此条件下进行测定时,样品中黄酮苷含量较大。

2.3 回收率实验

吸取已知黄酮苷含量为 0.15mg/ml 样品溶液 1ml, 各加入 0.00、0.50、1.00、1.50、2.00ml 芦丁标准品液, 按照 2.1 方法显色, 测定吸光度, 计算得到黄酮苷的回收率 84%~114%。

3 讨 论

3.1 核桃仁隔膜不仅能溶解在 50% 乙醇中, 而且能溶解在热水和冷水中, 但水溶液不太稳定, 因此将试样在 50% 的乙醇处理符合实验要求。

3.2 核桃仁隔膜中油脂量较高, 因次应采用有机溶剂萃取, 通过聚酰胺柱获得较纯的黄酮苷。

3.3 黄酮类化合物的分子结构上羰基能与硼酸作用, 产生黄色化合物, 再利用柠檬酸的缓冲能力, 可加强比色法结果显示, 这种颜色与硝酸铝、三氯化铝的反应, 减少了花色素和黄烷醇对测定结果的影响。

参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组. 中草药大辞典: 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 667.
- [2] 茹克娅·沙德克. 维吾尔医常用药材学: 下册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 323.
- [3] 扬洋. 生姜黄酮的提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2002, 23(4): 45-50.
- [4] 刘佳佳, 李子骥, 华辉, 等. 硼酸-柠檬酸比色法测定银杏叶中黄酮苷含量[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(6): 42-44.