

笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 结构鉴定

刘静波, 林松毅, 王作昭, 王二雷

(吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室, 吉林 长春

130062)

摘 要: 本实验重点研究了笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 与特殊试剂颜色反应, 紫外光谱特征判断其基本结构为黄酮醇黄酮, 为进一步拓宽笃斯越桔在食品领域和药品领域奠定研究基础。

关键词: 笃斯越桔; 黄酮类化合物; 结构鉴定

Study on Structure Identification of Flavonoids in *Vaccinium uliginosum* L.

LIU Jing-bo, LIN Song-yi, WANG Zuo-zhao, WANG Er-lei

(Laboratory of Nutrition and Functional Food, College of Quartermaster Technology,

Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: Through a detailed analysis of color reaction and UV optical spectrum test of flavonoids, the flavonoids from *Vaccinium uliginosum* L. were primarily identified as flavonols, which had laid a foundation for the deep study of *Vaccinium uliginosum* L. in the field of food and medicine.

Key words *Vaccinium uliginosum* L.; flavonoids; extraction; structure identification

中图分类号: TQ234

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)09-0089-03

笃斯越桔(*Vaccinium uliginosum* L.)又名蓝莓、地果、甸果、都柿等, 隶属杜鹃花科越桔属, 为亚灌木野生植物。越桔属全世界共有 130 多种, 中国约有 20 余种^[1], 主要集中在东北、内蒙古、新疆等地区, 吉林省长白山地区野生笃斯越桔分布极广、产量大、资源丰富。笃斯越桔含有大量的黄酮类化合物等有效成分, 其保健功能在食品领域和医药领域的作用日渐突出, 逐渐被重视, 现在已经被联合国粮农组织列为人类五大健康食品之一。当前, 对笃斯越桔研究主要热点集中在治疗眼科疾病, 血管障碍和糖尿病并发症等, 尤其是笃斯越桔果实黄酮类化合物提取物用于治疗腹泻、痢疾、口腔炎症等, 笃斯越桔叶黄酮类化合物提取物可降低糖尿病患者的血糖浓度^[2]。

吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室课题组成员在利用微波、超声波、脉冲电场等高新技术提取分离长白山笃斯越桔果实、叶片、枝干等不同部位中黄酮类化合物^[3-4]、多糖类化合物、花青素等多种功能因子的研究基础上, 为了使笃斯越桔叶片黄酮类化合物符合第三代功能性食品要求, 功能性成分必须明确结

构化学式, 本实验主要通过黄酮类化合物分离组分 I 与特殊试剂颜色反应和黄酮类化合物分离组分 I 紫外光谱特征^[5]判断其基本结构, 为开发笃斯越桔叶的第三代功能食品奠定研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料

笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I: 吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室提供。

1.2 试剂

甲醇、无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、盐酸、硼酸、三氯化铁、浓盐酸、锌粉等分析纯试剂, 均由北京化工厂生产。

1.3 仪器与设备

MILLIPORE 牌超纯水机 美国; 752PC 型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; AG204 型电子天平, METTLE TOLEDO 瑞士。

1.4 笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 结构鉴定方法

收稿日期: 2007-07-16

基金项目: 吉林省科技厅应用基础研究项目(20050567)

作者简介: 刘静波(1962-), 女, 教授, 研究方向为营养与功能食品。

表1 不同黄酮类化合物类型的甲醇溶液的UV光谱表
Table 1 UV spectrum of flavonoids in solution of methanol

化合物结构类型	带I (300~400nm)	带II (240~280nm)	备注
黄酮	310~350	250~280	
黄酮醇	350~385	250~280	带I红移
异黄酮	310~330	245~275	桂皮酰基系统破坏, 故带I为弱峰带II为主峰
二氢黄酮及二氢黄酮醇	300~330	275~295	同异黄酮, 但主峰比异黄酮红移(大于270nm)

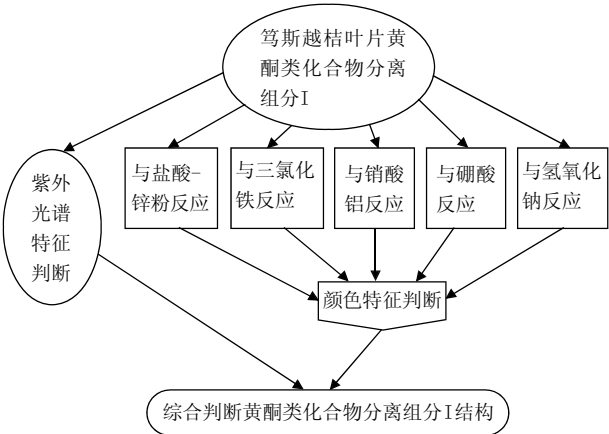


图1 笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I结构的初步鉴定方法
Fig.1 Flow chart of initially identifying flavonoids from *Vaccinium uliginosum* L.

1.5 颜色反应鉴定黄酮类化合物分离组分I方法

1.5.1 盐酸-锌粉反应颜色鉴定方法

取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I分离组分I样品的乙醇溶液1ml, 加放少量锌粉, 然后加浓盐酸4~5滴, 置沸水浴中加热2~3min, 观察颜色变化, 如果出现红色表示有游离黄酮类或黄酮甙。(以同法不加锌粉做一对照, 如果两管都现红色则有花色素存在。如继续加碳酸试液使成碱筭即变成紫色又变为蓝色, 即证明含花色素)[5]。

1.5.2 三氯化铁反应颜色鉴定方法

三氯化铁水溶液或醇溶液为常用的酚类显色剂, 多数黄酮类化合物分离组分I因分子中含有酚羟基, 故可产生阳性反应, 但一般仅在含有氢键缔合的酚羟基时, 才呈现明显的颜色。取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I样品的乙醇溶液5ml, 加放少许的三氯化铁, 观察颜色变化。

1.5.3 硝酸铝反应颜色鉴定方法

取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I样品的乙醇溶液5ml, 加放1%的硝酸铝溶液5ml, 在紫外灯下观察。

1.5.4 硼酸反应颜色鉴定方法

黄酮类化合物分离组分I分子中具有5-羟基黄酮及2'-羟基查尔酮类结构时, 在无机酸或有机酸存在条件

下, 可与硼酸反应, 生成亮黄色。取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I样品的乙醇溶液5ml, 加放少许硼酸, 观察颜色变化。

1.5.5 氢氧化钠反应颜色鉴定方法

取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I样品的乙醇溶液5ml, 加放1mol/L的氢氧化钠10ml, 观察颜色变化, 然后通入空气, 观察颜色变化。

1.6 紫外光谱特征判断结构的实验方法

取笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分I样品甲醇溶液, 以甲醇作参比, 在紫外光谱仪上从200~500nm扫描, 记录样品UV图谱, 并与不同黄酮类化合物类型甲醇溶液的UV光谱(如表1所示)对照, 以确定黄酮类化合物结构类型。

2 结果与分析

2.1 盐酸-锌粉实验结果

盐酸-锌粉实验颜色鉴定实验结果为: 加放锌粉的实验显红色, 不加放锌的对照实验不显红色。结果证明分离组分I中存在游离的黄酮类或黄酮苷。黄酮类的乙醇溶液, 在盐酸存在的情况下, 能被锌粉还原, 生成花色苷元而显红色或紫色反应。这是由于酮类化合物分子中含有一个碱性氧原子, 能溶于稀酸中被还原成带四价的氧原子即锌盐。本法是鉴定黄酮类的一个反应。但花色苷本身在酸性下(不需加放锌粉)呈红色, 应加以区别。

2.2 三氯化铁反应结果

三氯化铁反应颜色鉴定试验结果: 颜色变为绿褐色, 证明有黄酮类化合物分离组分I存在。

2.3 硝酸铝反应结果

硝酸铝反应颜色鉴定试验结果: 呈黄绿色荧光, 证明黄酮或者黄酮醇类。

2.4 硼酸反应结果

硼酸反应颜色鉴定结果: 呈亮黄色, 证明有2-OH查儿酮或5-OH黄酮类。

2.5 氢氧化钠反应结果

氢氧化钠反应颜色鉴定结果: 反应溶液先呈黄色, 通入空气后颜色变为棕色, 证明分离组分I中有黄酮醇类存在。碱性试剂显色反应鉴定黄酮类化合物分

离组分 I 时, 二氢黄酮易在碱液中开环, 转变成相应的异构体查尔酮, 显橙色至黄色。黄酮醇类在碱液中先呈黄色, 通入空气后变为棕色。分子结构中有邻二酚羟基或 3, 4'-二羟基取代时, 在碱液中不稳定, 易被氧化, 产生沉淀。

2.6 紫外光谱特征判断结果

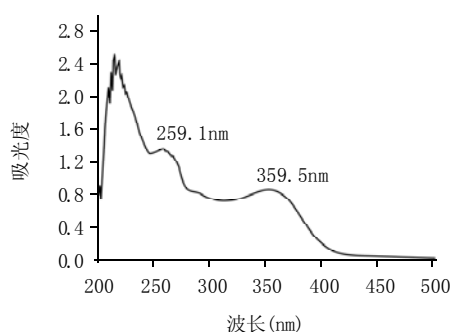


图2 黄酮类化合物分离组分 I 样品在甲醇中的紫外吸收光谱
Fig.2 Ultraviolet absorption spectrum of samples containing flavonoids solved in methanol

紫外光谱特征判断黄酮类化合物分离组分 I 结构实验结果如图 2 所示。从图 2 可以看出, 分离组分 I 吸收峰带 I 落在 350~385nm 之间, 在 359.5nm 处出现峰值, 吸收峰带 II 落在 250~280nm 之间, 在 259.1nm 处出现峰值。

黄酮类化合物甲醇溶液的 UV 光谱特征如表 1 所示, 根据各类黄酮类化合物的紫外吸收波长范围可以初步鉴定笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 为黄酮醇黄酮。

3 结 论

3.1 笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 紫外光谱特征结果: 吸收峰带 I 在 359.5nm 处出现峰值, 吸收峰带 II 在 259.1nm 处出现峰值。

3.2 通过黄酮类化合物分离组分 I 与特定试剂颜色反应实验和 UV 光谱特征图检验实验, 能够鉴定出分离纯化所得笃斯越桔叶片黄酮类化合物分离组分 I 为黄酮醇黄酮。

参考文献:

- [1] 张欣. 黑龙江省野生浆果资源——笃斯越桔[J]. 中国野生植物资源, 1997(3): 23-29.
- [2] Thorne Research, Inc[J]. Alternative Medicine Review, 2001(5): 504.
- [3] 王作昭, 刘静波, 林松毅, 等. 笃斯越桔黄酮类化合物提取技术的试验研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 391-394.
- [4] WANG Zuo-zhao, LIU Jing-bo, LIN Song-yi. Study on extraction of total flavonoids from *Vaccinium uliginosum* L[J]. APJCN, 2006, 15 (suppl): S140.
- [5] 陈晓青, 蒋新宇, 刘佳佳, 等. 中草药成分分离分析技术与方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006(4): 57-107.

欢迎订阅中国蔬菜专业核心技术期刊

中 国 蔬 菜 月刊

《中国蔬菜》1981 年创刊。

《中国蔬菜》集科学性、创新性、指导性、实用性于一体。着重介绍蔬菜育种、栽培、病虫害防治、贮藏加工等方面的研究新成果; 评析蔬菜产业发展中的热点和难点问题, 关注无公害蔬菜、绿色食品、有机蔬菜的产、供、销, 以及农业资材、园艺设施的发展与应用情况; 交流各地蔬菜丰产经验, 推介名特优新蔬菜品种, 荟萃国内外蔬菜产业市场动态。适宜蔬菜科技人员、推广人员、菜农和农资经销商阅读。

《中国蔬菜》国内外公开发行, 每月 1 期, 单价 4.8 元, 年订价 57.6 元, 各地邮政局(所)均可订阅, 邮发代号: 82-131, 可破季订阅, 单本可售, 欢迎直接汇款至编辑部订购(免邮资)。免费索取样刊。

地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号《中国蔬菜》编辑部

邮编: 100081

电话: 010-68919550

传真: 010-62148559

E-mail: zgsc@mail.caas.net.cn zgsc9550@126.com

科 学 新 颖 实 用