

# 银杏不同部位中黄酮含量分析方法研究

李稳宏<sup>1</sup>, 王 锋<sup>1</sup>, 李多伟<sup>2</sup>, 韩 枫<sup>1</sup>, 郭莹娟<sup>1</sup>, 金 汤<sup>2</sup>, 高 新<sup>1</sup>

(1. 西北大学化学工程系, 陕西 西安 710069; 2. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069)

**摘 要:** 采用有机溶剂索氏提取法进行提取, 利用紫外分光光度计、高效液相色谱等分析仪器对银杏叶、银杏果梗、银杏外种皮中银杏黄酮成分含量进行了检测。通过对比研究紫外分光光度法和高效液相色谱法对银杏不同部位黄酮含量的检测结果, 得出准确高效的银杏黄酮含量的检测方法。结果发现银杏黄酮的含量用紫外分光光度计的检测结果普遍高于高效液相色谱的检测结果, 而 HPLC 法相对干扰较小, 重现性好, 更能反映其内在质量, 准确可靠。

**关键词:** 银杏; 银杏黄酮; 含量分布规律; 分析方法

## Study on the Analytical Methods of the Ginkgo Flavonoid in Different Parts of Ginkgo biloba L

LI Wen-hong<sup>1</sup>, WANG Feng<sup>1</sup>, LI Duo-wei<sup>2</sup>, HAN Feng<sup>1</sup>, GUO Ying-juan<sup>1</sup>, JIN Tang<sup>2</sup>, GAO Xin<sup>1</sup>

(1. Chemical Engineering College, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Institutes of Biological Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** The contrast research on the analytical methods of the flavonoid compounds in different parts of Ginkgo biloba L were studied by using Soxhlet's extracting method, spectrophotometer and HPLC were adopted to analyze the products. The Ginkgo flavonoid contents assayed by the spectrophotometer and HPLC were compared so as to find a more accurate determination methods for Ginkgo flavonoid. The result was that the content of Ginkgo flavonoid detected by spectrophotometer was generally higher than that of HPLC. But HPLC showed the advantages of little interference and good fidelity, and better expression of the immanent quality. So the HPLC was more rapid, accurate and reliable.

**Key words:** Ginkgo biloba; Ginkgo flavonoids; distribution of content; analytical methods

中图分类号: Q949.64

文献标识码: A

文章编号: 1002-630(2005)12-0187-03

银杏(Ginkgo biloba L)系银杏科植物,为我国特有种。银杏具有良好的食用和保健价值。在我国银杏用作食疗已有几千年的历史,元代饮食太医忽思慧写的《饮膳正要》,书中介绍了膳食内加入银杏,对人体机能和不同疾病所产生的效能。清代瘟病学家王士雄的食疗作用被更加深入地认识:银杏叶中含有黄酮类化合物,具有抗氧化作用,能清除人体内的自由基,防止自由基引起的损伤和抑制脂质过氧化,对高血压、冠心病心绞痛、高脂血症具有良好的治疗作用,同时还能抑制脂质过氧化,延缓皮肤衰老、消除老年斑。开发前景良好<sup>[1,2]</sup>。银杏又具有敛肺、平喘、提高免疫力的作用,对呼吸系统疾病效果明显。因此,研究银杏不同部位黄酮类化合物的准确检测方法<sup>[3][6]</sup>具有重要的指导作用和实用价值。

## 1 材料与方法

收稿日期: 2005-01-18

作者简介: 李稳宏(1950-),男,教授,博士生导师,主要从事天然有机物活性成分分离与纯化方面的研究。

### 1.1 仪器和试剂

紫外分光光度计(UV-265) Shimadzu 日本; HPLC 系统 Waters 美国 色谱柱 Symmetry C<sub>18</sub>(5nm)column (4.6 × 150mm); 芸香叶苷标准品 上海试剂二厂,纯度 ≥ 95%; 化学试剂均为分析纯或色谱纯。

### 1.2 材料

银杏叶、果梗和外种皮 江苏泰兴市胡庄镇提供,原植物标本经西北大学生命科学学院鉴定。

### 1.3 样品提取工艺过程

试验中以银杏树的叶、梗、外种皮等不同部位的试样为原料,采取索氏提取法对其中的黄酮类化合物进行萃取。操作步骤如下:称取经烘干、粉碎至20目的样品2g,精确称量,加250ml甲醇于索氏提取器中回流提取28h,将提取液浓缩,再用甲醇将浓缩液定容,提取液中黄酮类化合物含量利用紫外分光光度计和高效

液相色谱仪测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 紫外分光光度法

标准曲线的制作: 精确称取芸香叶苷(Rutin)5mg, 置于50ml容量瓶中, 加入适量60%乙醇, 在水浴上加热溶解, 自然冷却, 用60%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 准确吸取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml分别置于10ml容量瓶中, 各加30%乙醇补充至5ml。加入5%亚硝酸钠溶液0.3ml, 摇匀, 放置6min, 再加10%硝酸铝溶液0.3ml, 摇匀, 再放6min, 加4%NaOH溶液4ml, 用水稀释到10ml, 放置20min, 在波长510nm处测定吸光度, 以浓度(C)为横坐标, 吸光度(A)为纵坐标作图即得标准曲线图。峰面积和标准样浓度关系用最小二乘法线性回归, 得到工作曲线方程:  $A=9.79808C-0.0062$ ,  $R=0.9999$ 。

### 2.2 高效液相色谱法(HPLC)<sup>[4,5]</sup>

#### 2.2.1 色谱工作条件

反相色谱柱 Symmetry C<sub>18</sub> 5 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm; 流动相为甲醇: 5%乙酸(9:1), 流速1ml/min, 在254nm处检测黄酮含量。

#### 2.2.2 工作曲线的制作

精确称取芸香叶苷对照品5mg, 用甲醇溶解定容至10ml, 用微量进样器吸取对照溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 $\mu$ l注入色谱仪, 记录图谱, 保留时间、峰面积。用芸香叶苷峰面积(A)对进样量(V,  $\mu$ l)进行线性回归, 得回归方程:  $A=1.10337 \times 10^6 V + 41498.84091$ ,  $r=0.99869$ 。峰面积与进样量的线性范围为: 1~10 $\mu$ l。

### 2.3 检测结果对比

提取液中黄酮类化合物含量利用紫外分光光度计和高效液相色谱仪测定, 检测结果分别见表1、2、3。

表1 不同银杏叶中黄酮类化合物含量检测结果

Table 1 Content of Ginkgo flavonoids detected in different kinds of leaves of Ginkgo biloba L

样品号	提取器	样品重量G(g)	高效液相检测结果		紫外分光光度检测结果	
			提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)	提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)
银杏叶 1#	A	2.0000	0.09007	0.02250	0.0145	0.03621
	B	2.0002	0.05933	0.01854	0.0141	0.03515
银杏叶 2#	A	1.9998	0.06259	0.01956	0.0101	0.03157
	B	2.0000	0.06081	0.01900	0.0098	0.03063
银杏叶 3#	A	2.0083	0.06162	0.01918	0.0189	0.02941
	B	1.9967	0.04963	0.01554	0.0181	0.02833
银杏叶 4#	A	2.0000	0.06321	0.01975	0.0190	0.02966
	B	2.0018	0.06097	0.01904	0.0179	0.02797

从表1、表2、表3中可看到紫外分光光度法测得

表2 银杏叶梗中黄酮类化合物含量检测结果

Table 2 Content of Ginkgo flavonoids detected in different kinds of peduncle of Ginkgo biloba L

样品号	提取器	样品重量G(g)	高效液相检测结果		紫外分光光度检测结果	
			提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)	提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)
银杏果梗 1#	A	2.0000	0.02331	0.00728	0.0084	0.00921
	B	2.0000	0.02267	0.00708	0.0078	0.00810
银杏果梗 2#	A	2.0002	0.02477	0.00774	0.0086	0.00894
	B	2.0004	0.01664	0.00520	0.0065	0.00630

表3 银杏外种皮中黄酮类化合物含量的检测结果

Table 3 Content of Ginkgo flavonoids detected in different kinds of testa of Ginkgo biloba L

样品号	提取器	样品重量G(g)	高效液相检测结果		紫外分光光度检测结果	
			提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)	提取液浓度(mg/ml)	黄酮含量(g/g样品)
外种皮 1#	A	2.0035	0.00439	0.00137	0.0015	0.00158
	B	2.0156	0.00347	0.00108	0.0012	0.00129
外种皮 2#	A	2.0006	0.02746	0.00858	0.0068	0.01060
	B	2.0007	0.02252	0.00703	0.0054	0.00843

注: A, B 为两种不同索氏提取器, 其中A为作者改进索氏提取器, B为外购的索氏提取器。

的黄酮含量较HPLC测得的数值偏高, 一般高于20%, 其原因之一可能是采用HPLC时, 流动相极性较大, 有一些极性较小的双黄酮及甙元未被洗脱所至。其原因之二是紫外分光光度法容易受银杏提取物中其它杂质影响, 从而导致测定结果偏大。而采用HPLC法相对干扰较小, 重现性好, 更能反映其内在质量。所以, 以HPLC测的结果更具准确性。

## 3 结论

通过用紫外分光光度法和高效液相色谱法对银杏叶、银杏果梗、银杏外种皮中黄酮成分含量进行了检测, 并对比研究检测结果, 得出准确高效的银杏黄酮含量的检测方法。结果发现对银杏黄酮的含量分析, 高效液相色谱法相对干扰较小, 重现性好, 更能反映其内在质量, 准确可靠, 优于紫外分光光度法。

## 参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典上册[M]. 上海科学技术出版社, 1986. 754.
- [2] 姚渭溪. 银杏中活性成分提取工艺、测定及其进展[J]. 中草药, 1995, 26(3): 157-159.
- [3] 张迪清, 何照范. 银杏资源化学研究[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [4] Hasler A, Sticher O, Meier B. Identification and determination of the flavonoids from Ginkgo biloba by HPLC [J]. J Chromatogr, 1992, 605: 41.

# 催化光度法测定痕量亚硝酸根的研究及在食品中的应用

严小平, 李成平

(浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015)

**摘要:** 基于稀磷酸介质中亚硝酸根催化溴酸钾氧化橙黄IV的褪色反应, 建立测定痕量亚硝酸根的新方法。方法检出限为  $0.56 \times 10^{-6} \text{g/L}$ , 线性范围为  $0.03 \sim 10.00 \mu\text{g/ml}$ , 回收率为  $98.5\% \sim 100.4\%$ 。该方法已用于食品中亚硝酸根的测定, 结果满意。

**关键词:** 亚硝酸根; 溴酸钾; 橙黄IV

## Catalytic Spectrophotometric Determination of Trace Nitrite and Food Application

YAN Xiao-ping, LI Cheng-ping

(Biology and Environment Engineering College, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

**Abstract:** A new catalytic spectrophotometric method for determination of trace nitrite was developed. The method was based on the catalytic effect of  $\text{NO}_2$  on oxidation of orange IV by potassium bromate in  $\text{H}_3\text{PO}_4$  medium. The detection limit for nitrite was  $0.56 \times 10^{-6} \text{g/L}$ . The linear range of the determination was  $0.03 \sim 10.00 \mu\text{g/ml}$  and the recovery was among  $98.5\% \sim 100.4\%$ . The method was applied to direct determination of nitrite in food with satisfactory results.

**Key words:** nitrite; potassium bromate; orange IV

中图分类号: Q657.32

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0189-02

亚硝酸根是环境中重要的污染物之一, 广泛存在于土壤、水和食品等物质中。目前, 亚硝酸根的测定常用  $\alpha$ -萘胺法<sup>[1]</sup>, 该法选择性高, 但灵敏度较低。催化动力学光度法已有不少报道<sup>[2~6]</sup>, 但橙黄IV催化光度法未见报道。实验表明, 在稀磷酸介质中, 亚硝酸根可灵敏地催化溴酸钾氧化橙黄IV褪色, 据此建立了测定痕量亚硝酸根的新方法。该方法简便、灵敏, 干扰少, 选择性好, 测定结果准确, 用于食品中亚硝酸根的测定, 结果满意。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

6010 型紫外可见分光光度计 安捷伦科技上海公司;  
VIS-7220 型可见分光光度计 北京瑞利分析仪器公司;  
CS501 型超级恒温器 重庆试验设备厂。

亚硝酸根标准溶液:  $1 \text{mg/ml}$ , 用时再稀释为  $5 \mu\text{g/ml}$ ;  
橙黄IV溶液:  $0.5 \text{mg/ml}$ ; 溴酸钾溶液:  $0.05 \text{mol/L}$ ;  
磷酸溶液:  $0.2 \text{mol/L}$ 。

所用试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

于 2 支  $25 \text{ml}$  具塞比色管中, 依次分别加入  $0.05 \text{mol/L}$  溴酸钾溶液  $2 \text{ml}$ ,  $0.5 \text{mg/ml}$  橙黄IV溶液  $1 \text{ml}$ ;  $0.2 \text{mol/L}$  磷

收稿日期: 2005-01-24

作者简介: 严小平(1967-), 男, 实验师, 主要从事食品分析与检验的教学和研究。

[5] 庄向平, 虞杏英, 杨更生. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992, 23(8): 122-124.

[6] 陈仲良. 银杏提取物的化学成分和溶剂质量[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(6): 326-330.