

文章编号: 1004-4353(2018)04-0353-03

# 长白山地区野生与栽培蓝靛果 原花青素含量的比较

尹雄杰<sup>1</sup>, 范忠义<sup>2</sup>, 金莉莉<sup>1</sup>, 张昌浩<sup>1\*</sup>

(1. 延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002; 2. 吉林省华惠生物科技有限公司, 吉林 汪清 133200)

**摘要:** 采用紫外分光光度法比较长白山地区野生与栽培蓝靛果果实原花青素的含量. 首先使用回流提取法和大孔吸附树脂法得到原花青素粗品; 然后利用原花青素在 280 nm 处有最大吸收的特点, 测定其在酸性条件下 (pH=3) 的吸光度. 测定结果显示: 原花青素含量在 15.63~250.00  $\mu\text{g/mL}$  之间呈现良好的线性范围; 野生品平均加样回收率为 95.32%, RSD 值为 1.67%; 栽培品平均加样回收率为 95.47%, RSD 值为 1.61%; 野生品原花青素含量为 1.72%, 栽培品原花青素含量为 1.90%. 该结果表明, 栽培蓝靛果果实提取物中的原花青素含量高于野生果实. 本文测定方法简便, 准确, 稳定, 重复性好, 可用于原花青素含量的测定.

**关键词:** 含量测定; 紫外分光光度法; 蓝靛果; 原花青素

**中图分类号:** R932                      **文献标识码:** A

## Comparison with the content of proanthocyanidins in wild and cultivated fruit extract of *Lonicera caerulea* L. in Changbai Mountain region

YIN Xiongjie<sup>1</sup>, FAN Zhongyi<sup>2</sup>, JIN Lili<sup>1</sup>, ZHANG Changhao<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China;

2. Jilin Huahui Biotechnology Company Limited, Wangqing 133200, China)

**Abstract:** The content of proanthocyanidins in wild and cultivated fruit extract of *Lonicera caerulea* L. in Changbai Mountain region is compared with UV spectrophotometry. First, the extraction of proanthocyanidins is used by reflux extraction and macroporous adsorption resin method. Then, the maximum absorption wavelength of proanthocyanidins at 280 nm is confirmed, the absorbance of proanthocyanidins in acidic condition (pH=3) was determined. The measurement results show that the content of proanthocyanidins is good linear range 15.63-250.00  $\mu\text{g/mL}$ . The average wild recovery is 95.32%, RSD is 1.67%, the average recovery rate of the cultivated is 95.47%, RSD is 1.61%. The content of proanthocyanidins in wild fruit is 1.72%, in cultivated fruit is 1.90%. The result indicates that the content of proanthocyanidins in the fruit extract of the cultivated is higher than that of the wild fruits. The method of determination is simple, accurate and stable reproducible, it could be used for the determination of proanthocyanidins content.

**Keywords:** content determination; UV spectrophotometry; *Lonicera caerulea* L.; proanthocyanidins

蓝靛果学名为蓝靛果忍冬 (*Lonicera caerulea* L.), 属忍冬科、忍冬属植物, 俗称黑瞎子果、山茄

子果、羊奶子等, 为多年生落叶小灌木<sup>[1-2]</sup>. 蓝靛果在我国主要分布在吉林省长白山地区和黑龙江省

收稿日期: 2018-08-02

\* 通信作者: 张昌浩(1980—), 男, 博士, 研究方向为天然药物活性成分.

大兴安岭东部山区,且在内蒙古和四川等地区也有少量分布<sup>[3-4]</sup>. 蓝靛果含有丰富的花青素和原花青素,还富含糖类、碳水化合物、维生素、氨基酸、矿物质、有机酸、黄酮类成分、多元醇和多种微量元素<sup>[5-6]</sup>. 原花青素属多酚类化合物,多见于植物当中. 研究表明,原花青素对人体具有抗炎、抗肿瘤、抗辐射、降血脂等功能,而蓝靛果中的原花青素还具有优异的抗氧化性能和显著的清除自由基能力<sup>[7-10]</sup>. 紫外分光光度法适用于提取物的成分分析,具有简洁、方便、易于操作的优点<sup>[11-14]</sup>. 为了比较栽培和野生蓝靛果果实提取物中的原花青素含量,本文采用紫外分光光度法测定栽培和野生蓝靛果中原花青素的含量.

1 材料与方法

1.1 仪器

UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津公司),FA604A 电子天平(上海精天电子仪器有限公司),BAO-250.00A 精密鼓风干燥箱(上海施都凯仪器设备有限公司).

1.2 实验材料

原花青素对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,上海如吉生物科技有限公司),野生、栽培蓝靛果(吉林省汪清县蓝莓基地),无水乙醇、浓盐酸(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司),大孔吸附树脂 D101(天津市光复精细化工研究所).

1.3 实验方法

**1.3.1 样品的提取与纯化** 将野生新鲜的蓝靛果果实 1 kg 打成匀浆,使用 3 mol/L 盐酸酸化的乙醇(体积分数为 60%、pH=3)回流提取 3 次,提取温度为 60℃,提取时间为 1 h;合并 3 次提取液后进行减压浓缩,获得原花青素粗品 a 118 g. 取原花青素粗品 a 40 g,使用 D101 型大孔吸附树脂进行纯化. 分别用水(pH=3)、体积分数为 60%和 90%的乙醇(pH=3)进行洗脱,依次得到样品 a<sub>1</sub>(22 g)、a<sub>2</sub>(7 g)和 a<sub>3</sub>(2 g). 使用同样的提取方法和提取条件对 1 kg 栽培蓝靛果果实进行提取,得原花青素粗品 b 123.84 g. 取原花青素粗品 b 40 g,采用相同纯化方法进行纯化,得到样品 b<sub>1</sub>(21 g)、b<sub>2</sub>(6 g)和 b<sub>3</sub>(2 g).

**1.3.2 对照品溶液的制备** 室温下称取原花青

素对照品 2.5 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加入超纯水(pH=3)定容至 10 mL,得到 250.00 μg/mL 对照品溶液;吸取上述对照品溶液 5 mL 置于 10 mL 容量瓶中,再加入超纯水(pH=3)定容至 10 mL,得到 125.00 μg/mL 对照品溶液. 以此方法依次配制 62.50、31.25、15.63 μg/mL 对照品溶液.

**1.3.3 供试品溶液的制备** 室温下称取样品 a<sub>2</sub> 2.5 mg 和 b<sub>2</sub> 2.5 mg,分别置于 10 mL 容量瓶中,加入超纯水(pH=3)定容至 10 mL,得到 250.00 μg/mL 供试品溶液 a<sub>2</sub> 和 b<sub>2</sub>. 根据对照样品溶液中原花青素的含量确定稀释倍数.

**1.3.4 标准曲线的制备** 室温下测定浓度分别为 15.63、31.25、62.50、125.00、250.00 μg/mL 的标准溶液的吸光度,并根据吸光度值(y)和原花青素浓度(x)绘制标准曲线. 标准曲线方程为  $y = 0.0047x - 0.0132$ ,  $R^2 = 0.999$ . 运用该标准曲线测定样品溶液的原花青素含量.

**1.3.5 重现性** 室温下精密称取同一批次样品 a<sub>2</sub> 6 份,每份 2.5 mg,按 1.3.3 方法制备样品溶液. 平行测定,测得 1—6 号样品的含量分别为 104.24、104.28、104.25、104.27、104.26、104.25 μg/mL,  $RSD = 1.47\%$ ;用同样方法测定 6 份同一批次样品 b<sub>2</sub>,测得的 1—6 号样品的含量分别为 109.67、109.65、109.68、109.66、109.69、109.67 μg/mL,  $RSD = 1.41\%$ .

**1.3.6 精密度** 取 1.3.5 中 6 号 a<sub>2</sub> 样品溶液,于 280 nm 处连续测定 6 次,得吸光度  $RSD = 0.043\%$ . 用同样方法测定 6 号 b<sub>2</sub> 样品溶液,得吸光度  $RSD = 0.062\%$ .

**1.3.7 稳定性** 取 1.3.5 中 6 号 a<sub>2</sub> 样品溶液,于 280 nm 处测定吸光度,每隔 30 min 测定 1 次,连续测定 9 次,得吸光度  $RSD = 0.12\%$ . 用同样方法测定 6 号 b<sub>2</sub> 样品溶液,得吸光度  $RSD = 0.11\%$ . 这表明, a<sub>2</sub> 和 b<sub>2</sub> 样品溶液在 4 h 内具有良好的稳定性.

**1.3.8 回收率** 取 1.3.5 中 1—6 号 a<sub>2</sub> 样品溶液,分别加入等量的原花青素对照品溶液(62.50 μg/mL),测定其回收率,结果见表 1. 取 1.3.5 中 1—6 号 b<sub>2</sub> 样品溶液,分别加入等量的原花青素对照品溶液(62.50 μg/mL),测定其回收率,结果见表 2.

表 1 野生果实提取物中原花青素加样回收率( $n=6$ )

序号	样品含量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	加入量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	测得量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	125.322 8	62.50	178.07	94.81		
2	125.319 0	62.50	175.02	93.19		
3	125.222 8	62.50	178.79	95.24	95.32	1.67
4	125.251 7	62.50	183.11	97.53		
5	125.209 5	62.50	177.12	94.36		
6	125.322 6	62.50	181.77	96.78		

表 2 栽培果实提取物中原花青素加样回收率( $n=6$ )

序号	样品含量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	加入量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	测得量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	125.201 3	62.50	181.87	96.88		
2	125.222 8	62.50	175.26	93.37		
3	125.302 7	62.50	177.30	94.41	95.47	1.61
4	125.230 3	62.50	177.99	94.81		
5	125.322 8	62.50	182.81	97.33		
6	125.209 5	62.50	180.28	96.04		

2 实验结果

根据吸光度值( $y$ )和原花青素浓度( $x$ )绘制标准曲线,见图 1. 参考标准品溶液吸光度值,本文选取供试品的溶液浓度为 125.00  $\mu\text{g/mL}$ . 吸取 250.00  $\mu\text{g/mL}$  供试品溶液 a 5 mL 置于 10 mL 容量瓶中,再加入超纯水( $\text{pH}=3$ )定容至 10 mL,得到 125.00  $\mu\text{g/mL}$  供试品溶液. 室温下测定供试品溶液 a 的吸光度,得吸光度  $A=0.476\ 8$ . 根据方程  $y=0.004\ 7x-0.013\ 2$ ,求得供试品溶液的原花青素浓度为 104.25  $\mu\text{g/mL}$ ,  $a_2$  中原花青素含量为 83.40%;室温下用相同方法测定供试品溶液 b,得吸光度  $A=0.502\ 3$ ,原花青素浓度为 109.68  $\mu\text{g/mL}$ ,  $b_2$  中原花青素含量为 87.74%.

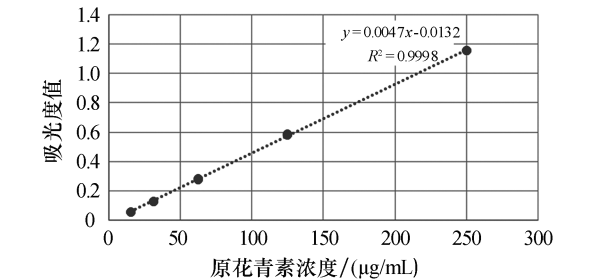


图 1 吸光度值与原花青素浓度的线性关系

3 结论

供试品溶液  $a_2$  中原花青素的含量为 83.40%,即野生蓝靛果鲜果果实中原花青素的含量为

17.222 1 g/kg,平均回收率为 95.32%,RSD 值为 1.67%. 供试品溶液  $b_2$  中原花青素的含量为 87.74%,即栽培蓝靛果鲜果果实中原花青素的含量为 19.014 6 g/kg,平均回收率为 95.47%,RSD 值为 1.61%. 原花青素浓度在 15.63 ~ 250.00  $\mu\text{g/mL}$  范围内与紫外吸收值呈现良好的线性关系,标准曲线方程为  $y=0.004\ x-0.013$ ,  $R^2=0.999$ . 本文方法简便、准确、稳定,可应用于测定蓝靛果中的原花青素含量,并可为测定其他植物中的原花青素含量提供参考.

参考文献:

[1] 文永国,杨元超. 蓝靛果忍冬的资源开发及育苗技术[J]. 农民致富之友,2013(12):102.

[2] 向延菊,王大伟. 蓝靛果忍冬的研究利用现状及其发展前景[J]. 塔里木大学学报,2004,16(4):26-29.

[3] 周以良. 中国东北植被地理[M]. 北京:科学出版社,1997.

[4] 兰士波,罗旭,李谓. 蓝靛果忍冬研究进展及开发应用前景[J]. 中国林副特产,2008,92(1):87-90.

[5] 扈伊雯. 蓝靛果色素的提取、纯化及性质的研究[D]. 大连:大连工业大学,2016.

[6] 向延菊,郑先哲,王大伟. 野生浆果资源-蓝靛果忍冬利用价值的研究现状及应用前景[J]. 东北农业大学学报,2005,36(5):669-671.

[7] Dai J, Patel J D, Mumper R J. Characterization of blackberry extract and its antiproliferative and anti-inflammatory properties[J]. J Med Food, 2007,10(2):258-265.

[8] 李淑芹,李延冰,都昌杰. 蓝靛果中黄酮类成分初探及总含量测定[J]. 东北农业大学学报,1996,27(1):99-101.

[9] 侯锐,陈琦,王利,等. 原花青素及其生物活性的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2015,51(28):5590-5593.

[10] 张玲珠. 蓝靛果忍冬的药理功能及作用机理的研究[J]. 生物技术世界,2015(3):110.

[11] 赵益,黄宇玫,杨彦平. 葡萄原花青素含量测定方法的研究进展[J]. 甘肃中医学院学报,2006,23(6):43-46.

[12] 刘桂玲,李海霞,郭宾会,等. 不同提取方法对甘薯原花青素含量测定的影响[J]. 中国农学通报,2007,23(4):91-94.

[13] 周秋枝,黄蕾,沈丹华,等. 火棘果中原花青素含量测定方法的建立[J]. 食品工业科技,2013,34(7):314-318.

[14] 倪晓霞,王庆芬,魏浩泽,等. 紫外分光光度法测定蒲地灌肠液中总黄酮含量[J]. 中医药导报,2017(2):57-59.