

文章编号:1001-6880(2016)10-1572-04

# 蜜棟叶、花及果实中总黃酮含量积累动态研究

马英丽,赵桦\*,闫蕊,王霞

陕西理工大学 生物科学与工程学院,汉中 723000

**摘要:**本文采用紫外分光光度法分析检测了不同生长时期蜜棟叶、花及果实中总黃酮的含量及其积累动态。芦丁标准品在 7.76~77.60 μg/mL 范围内呈良好的线性关系,  $Y = 0.0087X + 0.0268 (R^2 = 0.9964)$ , 平均加样回收率为 101.72%, RSD 为 2.25% ( $n = 6$ )。随着植物发育阶段的推移, 蜜棟叶、花、果实中总黃酮的含量逐渐增加, 其中花蕾和幼果中总黃酮含量最高。研究结果表明蜜棟花及果实中黃酮类化合物含量丰富, 可作为提取制备黃酮类化合物的一种植物资源, 具有很好的开发利用价值。

**关键词:**蜜棟;总黃酮;含量积累

中图分类号:Q949.95

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.10.013

## Accumulation of Total Flavonoids in Different Parts of *Evodia lenticellata* Huang

MA Ying-li, ZHAO Hua\*, YAN Rui, WANG Xia

Biological Science and Engineering College, Shaanxi Sci-Tech University, Hanzhong 723000, China

**Abstract:** In this paper, the contents and accumulation of total flavonoids in the leaves, flower and fruit of *Evodia lenticellata* Huang were determined by ultraviolet-visible spectrophotometer with colorimetric method. Rutin had good linearity within the range of 7.76~77.60 μg/mL,  $Y = 0.0087X + 0.0268 (R^2 = 0.9964)$ . The average recovery was 101.72% with RSD of 2.25% ( $n = 6$ ). The results showed that the content of total flavonoids increased constantly with the growth of *E. lenticellata* and reached the highest when the fruits was close to maturity. The flower and fruit of *E. lenticellata* were rich in total flavonoids and can be used as a resource to extract flavonoids.

**Key words:** *Evodia lenticellata* Huang; total flavonoids; accumulation

蜜棟 *Evodia lenticellata* Huang 为芸香科吴茱萸属植物, 主要分布于我国陕西南部和四川等地<sup>[1-3]</sup>。该植物近成熟果实在民间可入药, 功效同吴茱萸果实。目前, 关于蜜棟果实中药用成分的研究尚不多见, 尤其是对蜜棟中黃酮类化合物的研究未见报道。

黃酮类化合物广泛存在于植物界, 是许多药用植物的主要有效成分, 具有抗菌消炎、镇咳祛痰等多种药理作用, 引起国内外的广泛重视<sup>[4,5]</sup>。本文采用超声辅助提取法对蜜棟不同生长阶段的叶、花和果实中总黃酮含量进行了分析研究, 以期了解蜜棟植物有效成分含量及其积累动态, 为蜜棟植物资源的开发利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与设备

岛津 UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津公司); AB204-S 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-300DE 型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); UPH-II-10T 优普超纯水机(成都优普净化科技有限公司)。

### 1.2 材料与试剂

蜜棟叶、花及果实采自陕西省汉中市汉台区雷家巷, 经陕西理工学院杨培君教授鉴定为芸香科吴茱萸属植物蜜棟。芦丁标准品购自上海同田生物技术股份有限公司(批号分别为: 14061322、15090721)。乙醇为色谱纯, 乙醚等试剂均为分析纯, 水为自制超纯水。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 对照品溶液的制备

精密称取芦丁标准品 19.4 mg, 用 70% 乙醇定容于 50 mL 容量瓶中, 制成 0.388 mg/mL 芦丁母液。准确量取芦丁标准品母液 0.5、1、2、3、4、5 mL

收稿日期:2016-07-04 接受日期:2016-08-02

基金项目:陕西省科技厅科技统筹创新工程计划(2015KTTSSF01-02)

\* 通讯作者 Tel:86-916-2641661; E-mail:zhaohuahz@126.com

至 25 mL 的棕色容量瓶中,即配制成浓度分别为 7.76、15.52、31.04、46.56、62.08、77.60 μg/mL 的芦丁标准品溶液备用。

### 1.3.2 供试品溶液的制备

取蜜棟药材于 55 °C 条件下干燥至恒重,粉碎过 65 目筛,称取约 1 g 药材粉末,精密称定,加乙醚索氏提取脱脂约 3 h,晾干,加 90 mL 70% 乙醇于 100 mL 锥形瓶中,在超声功率 240 W,频率 40 KHz,温度 40 °C 的条件下超声提取 40 min,取出,放冷,抽滤,滤液定容至 100 mL 容量瓶中。

### 1.3.3 检测波长的选择

按照 1.3.1 和 1.3.2 项下方法制备芦丁标准品溶液和蜜棟提取液,以质量分数 70% 乙醇为溶剂,分别吸取对照品溶液和蜜棟黄酮提取液适量,于 25 mL 容量瓶中,加水至 6 mL,加入 5% 亚硝酸钠 1 mL,摇匀,放置 6 min,再加入 10% 硝酸铝 1 mL,摇匀,放置 6 min,加入 1 mol/L 氢氧化钠 10 mL,加水至刻度,摇匀,放置 15 min,在紫外分光光度计上 200~600 nm 下进行全波长扫描,分别作出芦丁标准品和蜜棟提取液的吸收曲线<sup>[6]</sup>。得出芦丁标准溶液的最大吸收峰在 500 nm 处,蜜棟提取液在波长 500 nm 附近有较大吸收,由于芦丁标准品溶液与蜜棟提取液之间的吸光度相差不大,因此后续标准曲线的制作及蜜棟黄酮提取液中总黄酮的测定均选择 500 nm 为测定波长。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性关系的考察

按照 1.3.3 项下方法,以不加芦丁对照品溶液

为空白,在紫外分光光度计上于 500 nm 检测芦丁标准品梯度溶液得对应吸光值,每个浓度分别检测 3 次得平均值,以芦丁标准品溶液浓度 (X) 为横坐标,吸光值 (Y) 为纵坐标绘制标准曲线,得芦丁的回归方程为  $Y_{\text{芦丁}} = 0.0087X + 0.0268 (R^2 = 0.9964)$ , 在 7.76~77.60 μg/mL 范围内呈良好的线性关系。

### 2.2 精密度试验

准确吸取 0.388 mg/mL 芦丁母液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,按照 1.3.3 项下方法,以不加芦丁对照品溶液为空白,在 500 nm 处测定其吸光度,连续测定 6 次,结果芦丁吸光度的  $RSD = 0.33\% (n = 6)$ , 试验结果表明仪器精密度良好。

### 2.3 稳定性试验

用某一份蜜棟样品制备供试液,供试液分别于提取后 0、10、20、30、40、50、60 min 按 1.3.3 项下条件测定吸光值。测得总黄酮吸光度的  $RSD = 0.66\% (n = 7)$ , 说明样品供试液中总黄酮在 1 h 内稳定。

### 2.4 重复性试验

精密称取同一蜜棟样品 6 份,每份约 0.5 g,均精密称定。按 1.3.2 项下方法制备供试液,按 1.3.3 项下条件测定,每份供试液显色 3 次,每次检测得 3 个吸光值求平均值。结果  $RSD = 2.24\%$ , 说明本实验方法对蜜棟总黄酮的测定有很好的重现性。

### 2.5 加样回收率实验

称取同一蜜棟样品 6 份,每份 0.5 g,精密称定,向 6 份样品中分别加入 97.496 mg 芦丁对照品;按 1.3.2 项下方法制备供试液,按 1.3.3 项下条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 总黄酮加样回收率实验 ( $n = 6$ )

Table 1 Spiked recovery of total flavonoids ( $n = 6$ )

序号 No.	取样量 Sample weight (g)	样品中含量 Content of sample (mg)	添加标品量 Added amount (mg)	测得值 Detected amount (mg)	回收率 Recovery (%)	平均值 Average value (%)	RSD (%)
1	0.5	97.684	97.496	196.858	101.72		
2	0.5007	97.821	97.496	192.963	97.59		
3	0.5002	97.723	97.496	196.475	101.29	101.72	2.25
4	0.5008	97.84	97.496	195.39	100.05		
5	0.5003	97.743	97.496	199.476	104.35		
6	0.5003	97.743	97.496	194.751	99.5		

### 2.6 蜜棟叶、花及果实中总黄酮含量测定

称取不同发育阶段的蜜棟叶、花及果实 15 个样

品,不同发育阶段吴茱萸花及果实 4 个样品,每个样品各取样 3 份,每份 0.5 g,精密称定。按照 1.3.2

项下方法制备供试液,按照1.3.3项条件下测定,每份样品重复测定3次,求其吸光值的平均值,根据回归方程,计算总黄酮的含量,得出得率。

$$\text{总黄酮得率} = cVf/1000 m$$

式中:c为所测浓度;V为供试液体积;f为稀释

倍数;m为样品质量。

测得15个蜜棟样品中总黄酮含量在52.15~223.96 mg/g之间,4个吴茱萸样品中总黄酮含量在131.59~196.90 mg/g之间,不同发育阶段总黄酮含量和RSD见表2。

表2 密棟不同部位中不同生长时期总黄酮含量测定( $n=3$ )

Table 2 Determination results of the content of total flavonoids in different growth stages of different parts of *E. lenticellata* ( $n=3$ )

样品编号 Sample No.	部位 Position	采样日期 Sampling time	总黄酮含量 Content of total flavonoids (mg/g)	RSD (%)
1	蜜棟幼叶	2014-4-17	81.415	2.85
2	蜜棟幼叶	2014-5-17	89.093	3.21
3	蜜棟叶	2014-6-20	60.143	2.59
4	蜜棟叶	2014-7-20	74.981	2.00
5	蜜棟叶	2014-8-26	92.055	4.27
6	蜜棟叶	2014-9-11	58.900	3.59
7	蜜棟叶	2014-10-26	52.152	2.84
8	蜜棟花蕾	2014-6-28	223.956	2.89
9	蜜棟花蕾	2014-7-20	207.829	3.85
10	蜜棟盛花	2014-8-13	206.915	2.45
11	蜜棟幼果	2014-8-26	207.162	3.14
12	蜜棟果实	2014-9-11	223.672	3.28
13	蜜棟果实	2014-9-21	195.368	3.79
14	蜜棟果实	2014-10-11	184.252	3.92
15	蜜棟果实	2014-10-26	141.681	1.45
16	吴茱萸花	2014-8-4	138.934	0.56
17	吴茱萸果实	2014-9-3	169.415	1.16
18	吴茱萸果实	2014-10-11	196.898	1.59
19	吴茱萸果实	2014-11-3	131.587	2.20

实验结果表明,随着发育时间的推移,蜜棟叶、花和果实中总黄酮的积累有一定的变化规律。从4月中旬幼叶萌发到5月中旬期间,蜜棟幼叶中总黄酮含量较高,随后随着叶片的生长,叶中总黄酮成分含量有所下降,但到8月下旬时,叶中的总黄酮含量达到最高(92.055 mg/g),10月下旬落叶前,叶中的总黄酮含量降至最低(52.152 mg/g)。在花蕾至花期(6月下旬至8月中旬)花中的总黄酮含量可达206.915~223.956 mg/g,其中花蕾中含量最高(223.956 mg/g)。在蜜棟幼果及近成熟果实中,总黄酮含量很高,可达207.162~223.672 mg/g,到果实成熟时总黄酮的含量又有所下降(141.681 mg/g)。果实中总黄酮含量积累的动态变化情况与其绿原酸、吴茱萸生物总碱和苦内酯成分的积累变化

情况十分相似<sup>[7,8]</sup>。

### 3 讨论

本实验对与蜜棟同一生长地的吴茱萸花及果实中总黄酮积累变化同时做了分析研究,吴茱萸果实中总黄酮含量积累变化范围在131.587~196.898 mg/g,在9月下旬的近成熟果实中总黄酮含量最高(196.898 mg/g),幼果和成熟果实中含量较低。相比之下,蜜棟果实中总黄酮含量高于吴茱萸果实的含量。张颖等报道,吴茱萸果实中总黄酮含量为109.9 mg/g<sup>[9]</sup>,也低于本实验测得的蜜棟果实中总黄酮含量。

《中国药典》(2015版)规定,槐米中总黄酮含量不低于20%<sup>[6]</sup>。此外据文献报道,荷叶中总黄酮

含量为 116.4 mg/g<sup>[10]</sup>, 葛根中为 117 mg/g<sup>[11]</sup>, 桂花果实中可达 69.9 mg/g<sup>[12]</sup>, 薄荷叶中的可达 61.1 mg/g<sup>[4]</sup>, 通关藤中最高达 40.22 mg/g<sup>[13]</sup>。相比之下, 蜜棟近成熟果实中总黄酮含量已经达到《中国药典》对槐米总黄酮含量的要求, 也远高于一些常见的富含总黄酮的中药材。因此, 蜜棟近成熟果实可作为一种提取植物黄酮类化合物的优质资源, 具有很好开发利用潜力。

## 参考文献

- 1 The editorial board of Flora of China of Chinese Academy of Sciences (中国科学院中国植物志编委会). *Flora of China* (中国植物志). Beijing: Science Press, 1997, 43 (2): 64-65.
- 2 Northwest botanic institute of Chinese academy of sciences (中国科学院西北植物研究所). *Flora of qinling* (秦岭植物志). Beijing: Science Press, 1981, 1: 134.
- 3 The editorial board of Flora of Sichuan (四川植物志编辑委员会). *Flora of Sichuan* (四川植物志). Chengdu: Sichuan Minorities Press, 1989, 9: 124.
- 4 Hou XM (侯学敏), Li LX (李林霞), Zhang ZF (张直峰), et al. Total flavonoids from *Mentha haplocalyx* Briq. leaves: Optimization of extraction process by response surface methodology and antioxidant Activity. *Food Sci* (食品科学), 2013, 34: 124-128.
- 5 She LP (舍莉萍), Sun J (孙菁), Zhou YB (周玉碧), et al. Determination of total flavonoids in four *Meconopsis* species from Qinghai-Tibet Plateau. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 466-469.
- 6 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2015, 1: 171-172.
- 7 Ma YL (马英丽), Zhao H (赵桦), Yang QC (杨秋琛), et al. Research about the accumulation of chlorogenic acid at different part of *Evodia lenticellata* Huang. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2016, 37(5): 11-14.
- 8 Ma YL (马英丽), Yang QC (杨秋琛), Yin YY (尹阳阳), et al. Accumulation of evodin, evodiamin and rutaecarpine in flowers and fruits of *Evodia lenticellata* Huang. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 2069-2073.
- 9 Zhang Y (张颖), Zhen P (甄攀), Ma YY (马媛媛), et al. Determination of contents of total saponins, total flavonoids and total phenolic acid in *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. *J Hebei North Univ* (河北北方学院学报), 2008, 24(3): 27-29.
- 10 Zhang K (张堃), Zhang SL (张双灵), Zhang R (张忍). Ultrasonic assisted extraction of flavonoids from lotus leaf and *Sophora japonica*. *Mod Food Sci Technol* (现代食品科技), 2013, 29: 583-586.
- 11 Zhang PF (张鹏斐), Wu WG (吴卫国). The development of research in flavonoids of puerariae. *Acade Periodical Farm Prod Proc* (农产品加工), 2012, 3: 113-116.
- 12 Tao AL (陶阿丽), Feng XH (冯学花), Cao DJ (曹殿洁), et al. Optimizing ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from fruits of *Osmanthus fragrans* Lour. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2014, 35: 264-267.
- 13 Meng HL (孟衡玲), Yang SC (杨生超), Su YL (苏一兰), et al. Study on the extractive technology of flavonoids from *Marsdenia tenacissima*. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2013, 42: 157-160.