

蜂花粉中黄酮类化合物的测定

浙江省医学科学院 毛丽珍 刘良初 周蓉蓉

提 要: 本文报导用比色法测定蜂花粉中总黄酮含量的方法。此法采用70%乙醇提取,以5%亚硝酸钠溶液,10%硝酸铝溶液和氢氧化钠试液为显色剂,在波长510 nm处测定吸收度。方法简便易行,重现性好,加样回收率为98.99%,变异系数1.29%。

花粉是显花植物的雄性配子体,具有丰富的营养成分和生物活性物质^[1]。近年来,国内对花粉营养成分的研究已诸见报导^{[2][3]},但对生物活性成分的测定尚未见报导。本文对蜂花粉中黄酮类化合物的测定作了初步探讨。结果如下。

一、仪器和样品

1. 仪器: 岛津 UV-210A 紫外—可见分光光度计。

2. 样品: 油菜花粉(产地青海), 向日葵花粉、玉米花粉和荞麦花粉(产地甘肃)。

二、标准曲线

精密称取经120℃减压干燥至恒重的芦丁对照品50 mg, 置50 ml量瓶中, 加70%乙醇适量, 水浴上温热使溶解, 放冷、用70%乙醇稀释至刻度、摇匀。精密吸取10 ml置50 ml量瓶中, 加70%乙醇至刻度(每ml含无水芦丁0.2 mg)。然后分别吸取0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml分别置25 ml量瓶中, 各加水至6.0 ml, 加5%亚硝酸钠溶液和10%硝酸铝溶液各1 ml, 摇匀, 放置6分钟, 加氢氧化钠试液10 ml, 加水至刻度, 摇匀、放置15分钟, 用1 cm比色池于波长510 nm处测定吸收度。绘制标准曲线, 见表1。

回归方程 $C = 0.6641 + 80.94A$

相关系数 $r = 0.9999$

三、样品测定

将样品粉碎并过40目筛, 然后于60℃真

表1 直线回归

标准品($\mu\text{g/ml}$)	7.99	15.97	23.96	31.95	39.94	47.92
吸 收 度	0.090	0.190	0.287	0.385	0.490	0.581

空干燥6小时。取样约1 g, 精密称定, 置100 ml圆底烧瓶中, 加70%乙醇40 ml, 水浴回流2小时, 放冷、过滤, 用70%乙醇洗涤渣, 滤液一并滤入50 ml量瓶中, 至刻度, 摇匀。精密吸取5.0 ml置25 ml量瓶中, 以70%乙醇稀释至刻度, 摇匀。然后精密吸取3.0 ml, 置25 ml量瓶中, 自“加水至6.0 ml”起按“标准曲线”项下测定吸收度、计算, 结果见表2。

表2 样品测定结果

品 种	产 地	采 集 期 (年)	黄 酮 含 量 (%)
油菜花粉	青 海	1985	3.51
油菜花粉	青 海	1986	4.03
油菜花粉	青 海	1987	4.17
向日葵花粉	甘 肃	1987	0.95
玉米花粉	甘 肃	1987	0.71
荞麦花粉	甘 肃	1987	1.20

四、回收率试验

精密称取1986年采集的油菜花粉约1 g, 共三份, 分置于三只100 ml圆底烧瓶中。分别精密加入芦丁对照品10.58 mg, 16.70 mg, 20.55 mg, 然后按“样品测定”项下处理, 测定吸收度, 计算结果, 见表3。

五、重现性试验

以86年收集的油菜花粉作试验, 按“样

表3 回收率试验结果

样品编号	芦丁加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
1	10.58	10.31	97.44	
2	10.58	10.64	100.59	
3	16.70	16.62	99.50	98.99
4	16.70	16.28	97.51	
5	20.55	20.53	99.90	
6	20.55	20.34	98.99	

标准差(SD)1.28。变异系数(CV)1.29%

品测定”项下处理,称取四份测定含量,每只样品重复3次,结果见表4。

表4 重现性试验

样品序	黄酮含量 (%)	$\bar{x}$ (%)	SD	CV%
1	3.93	3.93	0.025	0.64
	3.95			
	3.90			
2	4.02	4.05	0.025	0.62
	4.07			
	4.05			
3	4.07	4.07	0.01	0.25
	4.06			
	4.08			
4	4.10	4.06	0.04	0.99
	4.02			
	4.05			

六、加显色剂后溶液的稳定性试验

以86年收集的油菜花粉作试验,按“样品测定”项下处理,结果见表5。

15~30分钟内测定,吸收度相对偏差在±4.57~5.78%。

表5 时间对比色液稳定性的影响

量 时间(min)	吸收度		
	样品编号		
	1	2	3
15	0.229	0.239	0.237
30	0.209	0.217	0.212
45	0.189	0.203	0.193
60	0.172	0.188	0.184

七、讨 论

1. 六十年代,日本久道周次和联邦德国威尔曼(R. Wiermann)先后报导对多种植物花粉所含黄酮类化合物分类检测的结果^[1],1981年Palosh Elena等报导用分光光度法测定花粉中黄酮类化合物的含量^[4]。我们采用水浴回流法提取黄酮,用比色法测定其含量、方法简便、重现性好,加样回收率为98.99%。

2. 从表2可知,不同品种的花粉,其黄酮含量差异较大。本文对四种花粉进行测试,其中以油菜花粉含量最高。且花粉越新鲜,黄酮含量越高。

3. 从表5看,加显色剂后,溶液的稳定性较差。15分钟后,形成的红橙色逐渐退色,故应在加试剂后15分钟时尽快比色。否则测定结果不稳定,重现性不好。

本实验承胡庆余堂制药厂冯成汉同志的帮助指导,特此致谢!

参 考 文 献

- [1] 房柱,花粉,农业出版社,1985,北京。
- [2] 王学斌等,中成药研究(10),28,1984。
- [3] 毛丽珍等,浙江药学(5),8,1985。
- [4] Palosh Elena et al: Apiacta (4), 173, 1981。

Quantitative Determination of Flavonoids in Bee Pollen

Mao Lizhen et al

(Zhejiang Academy of Medicine, Hangchow)

Abstract

Quantitative determination of the flavonoids in Bee Pollen with colorimetry is described. Bee Pollen was extracted using 70% ethanol. The extract was developed by 5% sodium nitrite, 10% aluminum nitrate and sodium hydroxide test solution. The wavelength of absorbance is 510 nm. The recoveries of Bee Pollen were 98.99% and the variation coefficients were 1.29%. The method is simple, sensitive and reproducible. It was applied to the determination of flavonoids from the Pollen of *Helianthus annuus* L., *Zea Mays* L., *Fagopyrum esculentum* Moench. and *Brassica Campestris* L. The results showed that the flavonoid contents in Pollen of *Brassica campestris* L. were higher than those in other Pollens.