

单扫示波极谱法测定保健食品中总黄酮的研究

孙仕萍 张文德 马志东 郭忠

(唐山市卫生防疫站,河北 唐山 063000)

摘要:为测定保健食品中的总黄酮含量,探讨用单扫示波极谱法测定总黄酮的快速方法,研究发现在 pH8.6 Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 底液中,峰电位 E_p -0.74V(vs .SCE) 处黄酮化合物产生灵敏的极谱还原波,以芦丁作对照品,该波的二阶导数峰电流(ip)与芦丁浓度在 0.05 ~ 1.0 mg/L 范围内呈良好的直线关系,检出限为 0.02 mg/L。本法操作简便、快速、准确。用于保健食品中总黄酮含量的测定,结果令人满意。

关键词:黄酮类;极谱法;营养保健品

中图分类号: R15;TS218 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 8456(2002)06 - 0015 - 02

黄酮类化合物是很多保健食品中的重要成分,研究快速测定黄酮化合物的分析方法对于该类保健食品的市场质量监控具有重要的意义。

黄酮化合物测定有分光光度法^[1]、荧光法^[2]、气相色谱法和液相色谱法^[3,4]、高效毛细管电泳法^[5]及微分脉冲极谱法^[6]等。本文探讨了以芦丁作对照品,用单扫示波极谱法测定保健食品中总黄酮含量的快速分析方法,结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 仪器

MP-2 型溶出分析仪,三电极系统:滴汞电极、甘汞电极和铂电极。

1.2 试剂

芦丁标准溶液 称取 110 干燥恒重的芦丁对照品(中国药品生物制品检定所)0.2 g,加 60%乙醇加温溶解,冷却并稀释至 100 mL,此液含芦丁 0.2 g/L;用时用水稀释至 0.1 g/L。

磷酸氢二钠溶液(0.2 mol/L) 称取磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 35.8160 g,加水溶解后移入 500 mL 容量瓶中,定容至刻度。

磷酸二氢钾溶液(0.5 mol/L) 称取磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 6.8045 g,加水溶解后移入 100 mL 容量瓶中,定容至刻度。

磷酸盐底液(pH8.6) 吸取 500 mL 0.2 mol/L Na_2HPO_4 与 2.6 mL 0.5 mol/L KH_2PO_4 溶液混合。

实验用水为蒸馏水或去离子水。

1.3 方法

试样提取^[7] 液体试样:吸取 2.0 mL 于 50 mL 量瓶内,加蒸馏水至刻度。固体或半固体试样:准确称取 0.1 ~ 0.5 g 于 100 mL 量瓶中,加沸蒸馏水 50

mL,置沸水中提取 30 min。取出放冷至室温,加水至刻度,混匀。用干滤纸过滤,收集滤液供测定。

测定 视试样中黄酮含量,用微量进样器准确吸取试样提取液 0.01 ~ 0.50 mL 和芦丁标准溶液 0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μg 于 10 mL 容量瓶内,各加水至 1.0 mL。然后各加 9 mL pH8.6 磷酸盐底液,混匀,放置 20 min。将溶液移入极谱池内,以 -0.20 V 为起始电位作阴极化扫描,记录极谱波 E_p -0.74 V 的二阶导数峰电流。绘制校正曲线或计算回归方程,试样的峰电流与校正曲线比较或代入方程求出含量。

1.3.3 计算

$$x = \frac{m_1}{m_2 \times \frac{v_1}{v} \times 1000 \times 1000} \times 100$$

x —试样中总黄酮含量, g/100 g; m_1 —测得试样相当于芦丁的质量, μg ; m_2 —试样质量, g; v —试样稀释总体积, mL; v_1 —测定时试样体积, mL。

2 结果与讨论

2.1 底液的选择

试验了 NH_4Ac - HAc 、 NaAc - HAc 、硼砂 - HCl 、 NaCl - NaOH 、 NH_4Cl - $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 等底液。结果表明,以 Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 底液最佳,试样中的黄酮化合物在峰电位 E_p -0.74V 处产生灵敏、稳定的还原波,并与芦丁的对照品相一致,见图 1。故选 Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 溶液作为底液。

2.2 底液的 pH 和浓度的影响

以 Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 为底液,考察了其 pH 对芦丁二阶导数峰电流(ip)的影响。结果表明,在

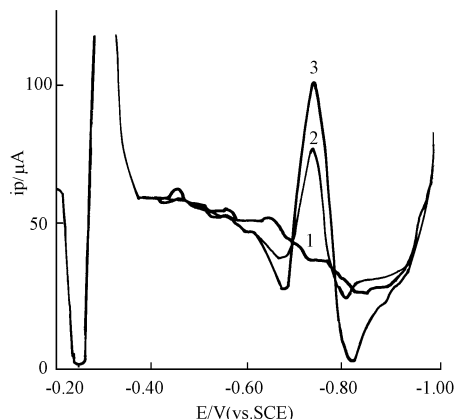


图1 黄酮的二阶导数极谱波

1. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{KH}_2\text{PO}_4$ 底液 (pH8.6); 2. 1+ 试样(山茶); 3. 2+ 芦丁

pH8.4 ~ 8.8 范围内, i_p 保持最大且稳定。故选 pH8.6。

固定 pH8.6 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{KH}_2\text{PO}_4$ 底液, 改变底液用量 2.0 ~ 10.0 mL, 结果, 芦丁的 i_p 随底液浓度的增加而逐渐升高, E_p 也随底液浓度增加而正移, 当底液浓度为 8.0 ~ 10.0 mL 范围时, i_p 最大且恒定。故选底液 10 mL。

2.3 反应速度和稳定性

实验表明, 芦丁在该底液中放 20 min, i_p 达最大恒定值, 并在室温条件下稳定 4 h 以上。

2.4 线性范围及检出限

芦丁浓度在 0.05 ~ 1.00 mg/L 范围与二阶导数 i_p 呈线性关系。线性回归方程为: $i_p (\mu\text{A}) = 9.950C (C = \mu\text{g}/10 \text{ mL}) + 0.900, r = 0.9996$, 检出限 ($3 \cdot \text{SD}/K$) 为 0.02 mg/L。

2.5 共存物质的影响

以 50 μg 芦丁标准做试验。当添加其他物质后测得相对误差 < 5 % 时, 下列物质允许量 (μg) 为: 低聚糖、葡萄糖、蔗糖 (5 000); Cl^- 、 Na^+ 、 K^+ 、 Fe^{2+} (1 000); 甜味素、甜蜜素、抗坏血酸 (200); Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、糖精钠 (40); 乙醛 (20); 山梨酸、苯甲酸、柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、亮蓝、靛蓝 (10); 苯酚、

甲醛 (2.5); Pb^{2+} (0.1); 季铵盐型阳离子、阴离子、非离子和分子表面活性剂 (10)。但由于保健食品多为天然植物提取物, 或添加了一些糖、微量元素、维生素、有机酸等做成复合制剂, 种类繁多, 成分比较复杂, 有些仅标示主成分, 对于此类试样, 建议采用试样标准加入法测定, 以消除基体成分的影响。

2.6 准确度和精密度

按方法对试样进行测定, 同时做加标回收率及与铝盐比色法对比试验, 结果见表 1。可见, 本法的回收率为 95.0 % ~ 105.0 %, 表 1 结果作显著性检验, $t = 1.11, t_{0.05(5)} = 2.57, t < t_{0.05}, P > 0.05$, 本法与铝盐比色法比较, 差异无显著性。对 1 号和 2 号试样重复测定 5 次, RSD 分别为 1.0 % 和 3.8 %。

表1 试样分析结果

试样	本法 ($n=2$)	加标量	测得量	回收率	铝盐比色法 ^[7]	%
1	0.15	0.15	0.30	100.0	0.15	
2	1.86	2.00	3.80	97.0	1.86	
3	2.20	2.00	4.10	95.0	2.30	
4	1.03	1.00	1.98	95.0	1.04	
5	0.11	0.10	0.21	100.0	0.11	
6	0.03	0.020	0.05	105.0	0.03	

参考文献:

- [1] 孟宪纾, 陈发奎. 中成药分析[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990, 404—405.
- [2] 邓淑华, 陈达美. 荧光光度法测定黄酮化合物的研究[J]. 化学世界, 1999, (7): 375—379.
- [3] 李广, 王清刚, 王义明, 等. 黄酮化合物的定量色谱分析[J]. 食品科学, 2001, 22(2): 57—62.
- [4] 吴惠勤, 程志青, 张桂英, 等. 南雄银杏叶中银杏黄酮含量的 HPLC 测定[J]. 分析测试学报, 2001, 20(6): 53—54.
- [5] 宋秀荣, 杨更亮. 毛细管电泳测定桑叶中药效成分[J]. 中成药, 2000, 22(2): 158—160.
- [6] 徐礼, 张秀琴, 刘爱茹. 三白草中黄酮的微分脉冲极谱测定[J]. 药物分析杂志, 1988, 8(4): 223.
- [7] 周维书, 黄振安, 郑爱云. 银杏叶及其制剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995, 73.

Determination of flavones in health foods by oscillopolarographic/Sun Shiping, Zhang Wende, Ma Zhidong, et al. // Chinese Journal of Food Hygiene. - 2002, 14(6): 15 ~ 16.

Abstract: In order to determine the flavones in health foods, a rapid oscillopolarography method was developed. It was found that in the solution of pH8.6 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{KH}_2\text{PO}_4$, flavones produce a sensitive reduction wave on the dropping mercury electrode at the potential of $E_p - 0.74\text{V}$ (vs. SCE). Second order derivative peak current is proportional to rutin concentration in the range of 0.05 ~ 1.0 mg/L, and detection limit is 0.02 mg/L. The method is simple, rapid and accurate. It was applied to the determination of the flavones in health foods, the result is satisfactory.

Author's address: Sun Shiping, et al. Tangshan Epidemic Prevention Station, Hebei Tangshan 063000, PRC.

Key Words: Flavones; Polarography; Dietary Supplements

[收稿日期: 2002 - 04 - 15]