

橘核中柠檬苦素类物质测定方法的研究

徐玉娟, 施英, 肖更生, 陈卫东, 张友胜, 刘学铭

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所; 广东省农产品加工公共实验室, 广东 广州 510610)

摘要: 由于传统方法检测橘核中柠檬苦素类物质的含量效率低、成本高, 采用微量快速法处理样品, 检测速度快, 回收率高, 能真实反映原料中柠檬苦素类物质的含量, 可用于橘核及其提取产品的质量分析和控制。

关键词: 橘核; 柠檬苦素类物质; 检测方法

中图分类号: TS202.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)02-0080-02

Determination of Limonoids in Tangerine Seed

XU Yu-juan, SHI Ying, XIAO Geng-sheng, CHEN Wei-dong, ZHANG You-sheng, LIU Xue-min

(The Sericulture & Farm Produce Processing Research Institute of GAAS; GD Open Access Lab. of Agricultural Product Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: A new method to determine limonoids in tangerine seed was established in this paper. The pretreatment of tangerine seed by this method is simpler and rapider than the traditional methods and the achieved results were more accurate than that using the traditional methods. So the new method was valuable for analyzing and controlling the quality of tangerine seed and its products.

Key words: tangerine seed; limonoids; analysis method

柠檬苦素类物质 (limonoids) 是一种三萜类的植物次生代谢产物, 主要存于芸香科植物和楝科植物中, 现今已分离得 300 多种柠檬苦素类化合物, 柑橘属中分离出 36 种柠檬苦素类物质和 19 种配糖体^[1-4]。大量实验证明柠檬苦素类物质具有抗肿瘤、镇痛、催眠等作用, 是一种新型的食品添加剂, 市场前景非常看好。随着对柠檬苦素类物质应用的不断扩展, 各级研究机构需求一种高效、安全、环保的检测方法。本文对柠檬苦素类物质的检测方法作了改进, 大大提高了工作效率。

1 材料与方 法

1.1 实验原料

橘核: 市售药材, 粉碎备用。

1.2 主要试剂

无水乙醇、丙酮、浓硫酸、对二一甲氨基苯甲醛、三氯化铁、石油醚 (均为分析纯)。

反应液: 125 mg 对二一甲氨基苯甲醛溶解于 100 mL 硫酸-无水乙醇混合液($V_{\text{硫酸}}:V_{\text{无水乙醇}}=35:65$)中, 加入 0.5 mL 0.9% 三氯化铁溶液, 现配现用。

1.3 主要仪器

收稿日期: 2006-10-09

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (04002072)

作者简介: 徐玉娟, 副研究员, 研究方向为农产品深加工

紫外可见分光光度计 (日本岛津 UV-1700)、涡流混合器 (上海精科 XW-80A)、台式低速离心机 (上海安亭 TDL-5-A)、微型植物试样粉碎机 (天津泰斯特)。

1.4 实验方法

1.4.1 标准曲线的制作

将柠檬苦素标准品用无水甲醇配成 130 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液, 在 6 支试管中分别加入 0, 0.5, 0.8, 1.2, 1.5, 2.0 mL 标准溶液, 分别加无水乙醇至 2.0 mL, 再分别加入反应液 5.0 mL, 摇匀, 静置 30 min, 500 nm 波长下测定吸光值。以空白溶液为参比溶液, 根据所得结果采用直线回归方法计算出标准曲线的回归方程, 并以标准品的加入量为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.4.2 样品的制备

传统方法: 准确称取 10.0 g 供试样品 (精确到 0.001 g) 于索氏提取器中, 石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$ 沸程) 回流 4 h 后弃去石油醚提取液。再用 100 mL 丙酮水浴冷凝回流提取 6 h。丙酮提取物减压蒸干, 溶于二氯甲烷并过滤, 滤液减压蒸干, 以无水乙醇定容到 25 mL, 待测。

微量快速法: 准确称取 0.2 g 供试样品 (精确到 0.001 g) 于 10 mL 玻璃试管中, 加 2 mL 石油醚, 涡流混合 3 min, 于 4000 r/min 条件下离心, 吸走石油醚

提取物,再加入适量石油醚重复以上操作,至提取物无色为止。试管中的剩余物中加入 2 mL 丙酮,涡流提取 3 min, 4000 r/min 下离心,收集上清液,再加入丙酮重复以上操作数次。丙酮提取物定容至 10 mL,待测。

1.4.3 柠檬苦素类物质总量的测定

精密吸取一定量样品制备液,以无水乙醇稀释至 2.0 mL,然后按照标准曲线的方法测定样品制备液的吸光度,由吸光度从标准曲线上查出样品制备液的柠檬苦素物质浓度,按下列公式计算出原料中柠檬苦素类似物的含量。

$$\text{原料中柠檬苦素类似物含量}(\%) = (10C/LM) \times 100$$

其中, C: 检测值; L: 样品加入体积; 10: 样品制备定容体积; M: 样品质量

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的建立

表 1 标准溶液体积与吸光度的关系

编号	1	2	3	4	5
加入标准溶液体积/mL	0.5	0.8	1.2	1.5	2.0
吸光值	0.025	0.100	0.238	0.359	0.580

按照实验中标准曲线建立方法测得的标准溶液吸光度结果如表 1 所示,绘制的标准曲线图见图 1。对表 1 中的数据点进行回归分析得到标准曲线的回归方程为: $Y=0.0029X-0.1867$, $R^2=0.9901$ 。(Y: 吸光值, X: 标准品相当量)

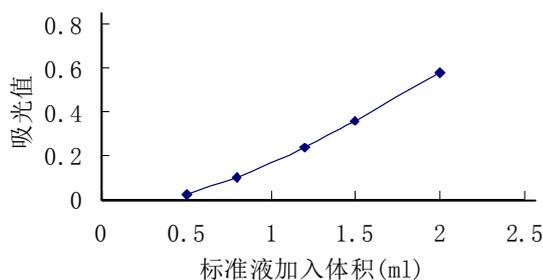


图 1 标准曲线图

2.2 微量快速法精密度、重现性和回收率检测

精密称取对照品适量,加甲醇溶解制成含柠檬苦素 130 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液。吸取 1.0 mL 标准工作液,重复检测 5 次,吸光值 RSD=1.07% (n=5),符合测定要求。

精密称取同批次桔核粉末 0.2g (精确到 0.001 g),共 5 份,按照 1.4.2 和 1.4.3 方法操作,测定原料中柠檬苦素类物质总量,结果 RSD=1.57% (n=5)。

采用加标法测回收率。分别精密称取已知柠檬苦

素类物质含量的样品 0.2 g (精确到 0.001 g) 分成 3 组,每组 5 份,各组分别精密加入标准工作液 50 μg , 80 μg , 100 μg ,按微量快速法的制备与测定方法测得其吸光度,并计算回收率。实验结果见表 2。从结果来看,该方法的回收率在 79.8%到 81.3%之间,平均回收率为 80.7%,组内回收率 RSD 为 0.68%~1.13%。说明该方法获得的结果是稳定可靠的。

表 2 标准品回收实验结果

编号	加入量	检测值	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	50 μg	39.9	79.8		1.09
2	80 μg	65.0	81.3	80.7	0.68
3	100 μg	81.0	81.0		1.13

2.3 样品分析结果

同一批样品平行取 3 次样,分别用传统方法和微量快速法检测样品中柠檬苦素类物质含量,每次取样平行测定 3 次。检测结果见表 3。

表 3 样品测试结果/(mg/g)

编号	1	2	3
传统法	0.32	0.33	0.31
微量快速法	0.35	0.35	0.37

两方法测得的样品柠檬苦素类物质平均含量分别是 0.32 mg/g 和 0.37 mg/g。从两种方法检测的结果来看,微量法较传统方法的实验结果偏高。分析部分原因可能是后者待测液处理步骤减少,背景色较深,对检测结果干扰要大于传统方法。

3 小结

建立了橘核中柠檬苦素类物质的微量快速分析方法,经过系统的方法考察证明,该方法样品前处理简单、方便,测定结果准确,重现性好,可用于橘核及其提取产品的质量分析与控制,为研究生产相应的药品、功能食品提供了质量控制的方法和具体的技术手段,具有实际应用价值。

参考文献

- [1] 孙崇德,陈昆松,陈青俊,等. 柑桔果实中天然柠檬苦素和诺米林的提取、鉴别和检测[J].中国食品学报,2004,4 (1): 6-11
- [2] 田庆国,丁霄霖.测定橘核中柠檬苦素类似物的分光光度法[J].分析测试学报,1999,18(9):45-47
- [3] 孙崇德,陈昆松,戚行江,等.柠檬苦素类化合物的研究与与应用[J].浙江农业学报,2002,14(5):297-302
- [4] 李思义.柠檬苦素类似物[J].广西热作科技,1999,71(2):21-25