

然后再用5mL水冲洗滤渣3次，合并滤液。将滤液倒入250mL分液漏斗中，再加20mL萃取剂，摇匀后静置，收集下面部分有机相，再用20mL萃取剂提取两次，将三次萃取所得有机相合并，用萃取剂定容至100mL，摇匀。于1cm的比色皿中，用分光光度计于波长450nm处测定最大吸光度。

4. 计算

$$\text{类胡萝卜素的含量 (mg/L)} = A \times 20$$

式中 A ——测定的最大吸光度

20——换算系数

此计算公式是以公认的类胡萝卜素分子平均吸收系数250为依据。

5. 注意事项

由于类胡萝卜素本身性状不稳定，即见光易氧化分解，所有操作应避光进行。

第十四节 黄酮类化合物

(一) 原理

黄酮类化合物是广泛存在于自然界的一大类化合物，多具有颜色。在植物体内大部分与糖结合成苷，一部分以游离的形式存在。以前黄酮类化合物（flavonoids）主要是指基本母核为2-苯基色原酮（2-phenyl-chromone）类化合物，现在则是泛指两个苯环（A环与B环）通过中央三碳链相互连接而成的一系列化合物。此外，尚有由两分子黄酮，或两分子二氢黄酮，或一分子黄酮及一分子二氢黄酮按C—C或C—O—C键方式连接而成的双黄酮类化合物。天然黄酮类多为上述基本母核的衍生物，常见取代基有一OH，—OCH₃以及萜类侧链等。黄酮、黄酮醇及其苷类多呈灰黄和黄色。

(二) 性质

1. 酸性

黄酮类化合物因分子中多有酚羟基，故显酸性，可溶于碱性

水溶液、吡啶中。

2. 碱性氧原子的性质

黄酮类化合物分子中 γ -吡喃酮环上的1-位氧原子，因有未共用的电子对，故表现微弱的碱性，可与强无机酸，如浓硫酸，盐酸等生成锌盐，但生成锌盐极不稳定，加水后即可分解。

3. 溶解度

黄酮类化合物的溶解度因结构及存在状态（苷或苷元，单糖苷、双糖苷或三糖苷）不同而有很大的差异。一般游离苷元难溶或不溶于水，易溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、乙醚等有机溶剂及稀碱液中。

（三）溶剂萃取法

利用黄酮类化合物与混入的杂质极性不同，选用不同溶剂进行萃取可达到纯化的目的。试样加5%盐酸至pH2~3，用乙醚提取，水洗乙醚提取液两次，合并水洗液加5%碳酸钠至pH10~12，用乙醚提取，水洗乙醚提取液一次，得到乙醚提取液（碱性脂溶成分）和水洗液；水洗液中加5%盐酸中和至pH6~7，蒸发至小体积，加二倍乙醇过滤，得到醇液（极性强的中性成分，两性成分）和沉淀。

（四）测定

（1）盐酸-镁粉试验 取乙醇提取液1mL，加浓盐酸数滴，加镁粉适量，如产生樱红色至红色，表示可能含有黄酮类化合物；如盐酸-镁粉试验呈负反应，表明不含黄酮、黄酮醇、双氢黄酮。

（2）三氯化铝试验 乙醇提取液滴加在纸或薄层上，干燥后，在荧光灯下观察荧光，然后再喷洒试剂，干燥后呈黄色斑点，其荧光发生明显改变或增强时，表明可能含有3-羟基或5-羟基或邻二羟基的黄酮类化合物。

（3）氨熏试验 乙醇提取液滴加在纸或薄层上，置氨中熏片刻，呈亮黄色或深黄色，置荧光灯下呈黄色荧光，表明含有黄酮类化合物。

注：理化分析各项目所用化学试剂和水未标明要求的，一律用分析纯化学试剂和蒸馏水。