

# 紫外分光光度法测定路边青中多酚含量

欧阳玉祝 吕程丽 匡友元

(吉首大学化学化工学院 湖南省吉首市人民南路120号 416000)

**摘 要** 用紫外分光光度法测定了路边青中多酚含量, 并对实验结果进行了方法学考查。实验测得路边青中多酚含量为1.7293%, 平均加标回收率为99.4%, 加标回收的RSD为1.7%。精密性、重复性和稳定性分析的相对标准偏差分别为0.29%、0.41%和0.35%。

**关键词** 路边青; 多酚; 紫外分光光度法

中图分类号: O 657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)03-1055-04

## 1 引言

中草药中多酚的含量分析主要有液相色谱法、红外光谱法、分光光度法等。雷昌贵等对食品中多酚化合物的测定方法进行了综述<sup>[1]</sup>; 罗世榕等用高效液相色谱分析了茶叶中多酚类物质的含量<sup>[2]</sup>; 孙耀国等用近红外光谱法测定了绿茶中咖啡酸和茶多酚的含量<sup>[3]</sup>。路边青(*Herba gei*)为蔷薇科多年生草本植物柔毛路边青(*Geum japonicum Thunb var. chinese F. Bolle*)的干燥全株, 性味苦、辛寒, 具有补虚益肾, 活血解毒之功效, 可用于治疗头晕目眩、四肢无力、遗精阳痿、表虚感冒、咳嗽吐血、虚寒腹痛、月经不调、疮肿骨折等症<sup>[4,5]</sup>。目前主要作为中草药用于临床, 对路边青的活性成分提取与分析的研究报道很少。高玉琼等用GC-MS对水蒸气蒸馏法提取的柔毛路边青挥发油的化学成分进行了分析<sup>[6]</sup>。刘训红等测得大青叶中4-(3H)-喹啉酮的含量为27.5 $\mu\text{g/g}$ <sup>[7]</sup>。本文以湖南吉首市凤凰县的路边青为原料, 用紫外分光光度法测定路边青超声提取液中的多酚含量, 并进行方法学考察。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器及试剂

UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津公司); KQ-250E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); FA 2104N 分析天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); ZD-4 调速多用振荡器(江苏环保仪器厂)。

路边青采自吉首市凤凰县, 样本采回后经洗净、真空干燥、粉碎到20目左右备用; D-101 型大孔吸附树脂(天津市光复精细化工研究所); 无水乙醇、石油醚、浓盐酸、磷酸氢二钠、没食子酸、酒石酸钾钠、硫酸亚铁、磷酸二氢钾等均为国产分析纯试剂。实验用水为蒸馏水。

湖南省科技厅科技计划项目(2008FJ3077); 湖南省大学生创新性实验计划项目(湘教通[2009]320号)

联系人, 电话: (0743) 8563911(办); E-mail: ouyang1227@126.com

作者简介: 欧阳玉祝(1956—), 男, 湖南省宁远县人, 教授, 硕士, 主要从事精细化工和天然产物开发的研究工作。

收稿日期: 2009-07-29; 接受日期: 2009-09-21

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 路边青多酚的提取

称取路边青粉末 1.0g, 加入 40mL 石油醚回流提取 2h, 冷却后抽滤, 滤渣晾干后加 100mL 60% 乙醇超声提取 1h, 抽滤, 滤液用 60% 乙醇定容至 250mL。取滤液 100mL, 加 25g 经预处理的 D101 大孔吸附树脂, 于恒温磁力搅拌器上吸附 3h, 抽滤, 树脂置于 100mL 具塞锥形瓶中, 用 80mL 60% 乙醇震荡解吸 4h, 抽滤, 滤液用 60% 乙醇定容至 100mL, 得路边青多酚提取液, 用于多酚含量分析。

### 2.2.2 路边青多酚的紫外分光光度分析

#### 2.2.2.1 没食子酸标准溶液的配制

精确吸取 10.00mg/mL 没食子酸标准母液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0mL 分别置于 100mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.70, 0.80, 0.90, 1.00mg/mL 的没食子酸标准溶液。

#### 2.2.2.2 没食子酸校准曲线的绘制

分别移取 2.2.2.1 中标准溶液 2mL 置于 10 个 25mL 容量瓶中, 加 4mL 蒸馏水, 5mL 酒石酸亚铁溶液, 混匀后用 pH 值为 7.5 的磷酸盐缓冲液定容至刻度, 以蒸馏水代替待测液作空白对照, 用分光光度计测波长 543nm 处的吸光度, 以吸光度为横坐标, 浓度为纵坐标作图, 并用计算机进行线性回归, 得回归方程和相关系数为:

$$C = 1.7475A \quad r = 0.9987$$

式中:  $C$  —— 没食子酸浓度, mg/mL;  $A$  —— 吸光度。

结果表明, 在 0.10—1.00mg/mL 范围内线性关系良好。

#### 2.2.2.3 路边青多酚的定量分析

取路边青提取液 2mL, 按 2.2.2.2 方法测吸光度, 结合回归方程计算多酚浓度。

## 3 结果与讨论

### 3.1 显色剂对路边青提取液的紫外光谱影响

由于天然产物的成分十分复杂, 路边青提取液的紫外光谱可能受各种成分的影响而发生变化。为此, 用路边青提取物和没食子酸标准样为原料, 用酒石酸亚铁法进行显色, 在 200—800nm 范围内扫描, 比较供试样品和标准品在显色和不显色时的紫外光谱图, 考查显色剂对紫外光谱的影响。结果见图 1。

图 1 结果表明, 路边青提取液的紫外光谱图与没食子酸一致, 通过酒石酸亚铁法显色后, 供试样品和没食子酸标样都在 543nm 处出现吸收峰, 不显色的样品在可见光区没有吸收, 其他共存成分不会对分析产生干扰。因此,

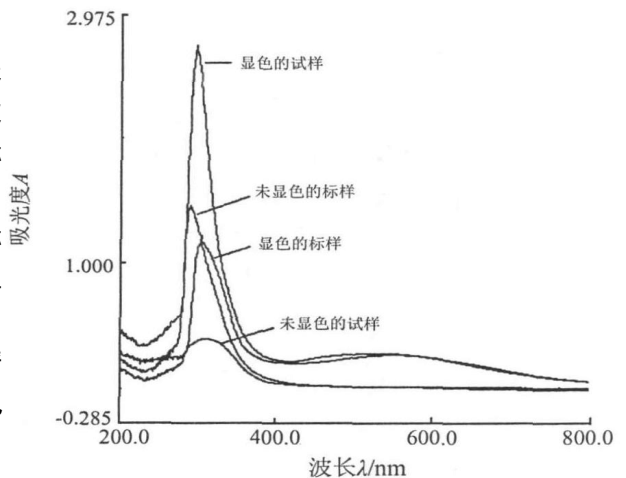


图 1 路边青提取液和没食子酸标准样的紫外光谱比较  
本实验采用酒石酸亚铁法显色, 测定 543nm 处的吸光度进行定量分析。

### 3.2 显色时间对吸光度的影响

把路边青供试样品按 2.2.2.2 方法用酒石酸亚铁显色后, 放置一段时间, 每间隔 5min 取样测定吸光度, 考查显色时间对吸光度的影响和仪器的稳定性, 结果见图 2。

图 2 结果表明, 在 60min 时间内, 路边青供试样溶液的吸光度受显色时间影响较小, 仪器的稳定性良好, 其吸光度约在 0.158 左右。

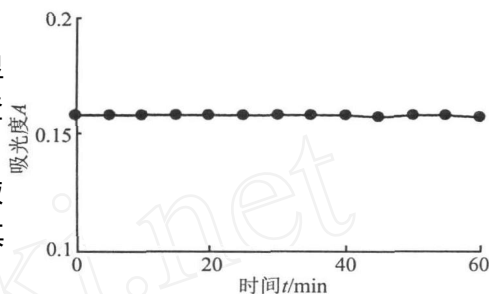


图 2 显色时间对吸光度的影响

### 3.3 路边青中多酚含量的测定

取路边青提取液 2mL, 置于 25mL 洁净比色管中, 按

2.2.2.2 方法测吸光度, 结合回归方程计算路边青中多酚含量。平行测定 5 次, 计算平均值, 结果见表 1。

表 1 路边青中多酚含量测定结果

序号	1	2	3	4	5	平均值	RSD (%)
多酚含量 (%)	1.7228	1.7334	1.7331	1.7236	1.7336	1.7293	0.32

表 1 结果可见, 路边青中多酚含量为 1.7293%, 分析的 RSD 为 0.32%。

### 3.4 方法学考察

#### 3.4.1 准确度分析

实验采用加标回收法测定分析的准确度。取 1.0mL 待测液(含多酚 0.2771mg), 按 2.2.2.2 方法测其吸光度。用标准加入法, 在测试样品中分别加入不同量的标液, 考查分析方法的准确度, 结果见表 2。

表 2 路边青中多酚加标回收结果

序号	样液含量 (mg)	加标量 (mg)	测定值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.2771	0.2983	0.5661	96.9	99.4	1.7
2	0.2771	0.3977	0.6709	99.0		
3	0.2771	0.4971	0.7787	100.9		
4	0.2771	0.5965	0.8687	99.2		
5	0.2771	0.6959	0.9803	101.0		

表 2 结果表明, 加标回收率为 96.9%—101.0%, 平均回收率为 99.4%, RSD 为 1.7% (n=5)。

#### 3.4.2 精密度分析

取同一份供试品溶液 1mL 置于 25mL 洁净比色管中, 按 2.2.2.2 方法测其吸光度。平行测定 5 次, 考查分析方法的精密度, 结果表明, 多酚含量的 RSD 为 0.29% (n=5)。

#### 3.4.3 重复性实验

取同一批供试样品 5 份, 按 2.2.2.2 方法测定吸光度并计算多酚的含量, 考查重复性实验的标准偏差, 结果表明, 重复性实验分析结果的 RSD 为 0.41% (n=5)。

#### 3.4.4 稳定性实验

取一份样品按上述方法制成供试品溶液, 在不同时间下取样按 2.2.2.2 方法测吸光度, 考查多酚分析的稳定性, 结果表明, 分析结果的稳定性良好, RSD 为 0.35% (n=7)。

## 4 结论

以没食子酸为标准样品,采用酒石酸亚铁显色,用紫外分光光度法测得路边青中多酚的含量为 1.7293%,平均加样回收率为 99.4%,RSD 为 1.7%。实验数据的精密度高,重复性和稳定性好,相对标准偏差分别为 0.29%、0.41% 和 0.35%。

## 参考文献

- [1] 雷昌贵,孟宇竹,刘蒙佳等.食品中多酚类化合物测定方法研究进展[J].粮油食品科技,2007,15(4):61—63
- [2] 罗世榕,薛佳.茶叶中多酚类物质的高效液相色谱分离测试[J].福建分析测试,2005,14(4):2302—2303
- [3] 孙耀国,林敏,吕进等.近红外光谱法测定绿茶中氨基酸、咖啡酸和茶多酚的含量[J].光谱实验室,2004,21(5):940—943
- [4] 刘塔斯,裔秀琴.四种大青叶的生药研究[J].中药材,1986,9(4):28—29
- [5] 国家中医药管理局.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999.151—153
- [6] 高玉琼,王恩源,赵德刚等.柔毛路边青挥发性成分研究[J].生物技术,2005,15(2):52—54
- [7] 刘训红,房克慧,潘金火.四种大青叶中4(3H)喹啉酮的含量测定[J].中草药,2000,23(7):388—389

## Determination of Polyphenol Content from Roadside Green by Ultraviolet Spectrophotometry

OUYANG Yu-Zhu LV Cheng-Li KUANG You-Yuan

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou, Hunan 416000, P. R. China)

**Abstract** The content of polyphenol was analyzed by ultraviolet spectrophotometry and methodology of experiment results was investigated. The results showed that the content of polyphenol from roadside green was 1.7293%. The recovery of the average adding sample and its RSD were 99.4%, 1.7%, respectively. Relative standard deviation of precision, repeatability and stability analysis were 0.29%, 0.41% and 0.35%, respectively.

**Key words** Roadside Green; Polyphenol; Ultraviolet Spectrophotometry

### 招聘启事

## 本刊招聘“沉潜专注 甘于寂寞”的编辑 2 名

因工作需要,本刊招聘编辑 2 名,条件如下:

1. 大学化学或物理学本科(包括同等学力)毕业,成绩良好;
2. 身体健康,不吸烟,对人诚实、守信、和善;
3. 工作认真负责,任劳任怨,勤奋节俭,热爱科学,沉潜专注,甘于寂寞;
4. 不限户口,性别,年龄,民族,党派,信仰等。

提供在北京市住宿,工资从优(面议),上 5 险。有意者,请将本人简历以及希望的工资报酬等要求发至《光谱实验室》编辑部电子邮箱: gpsys@263.net。

《光谱实验室》编辑部