

紫外分光光度法测定石崖茶总黄酮、氨基酸及多糖的含量

程忠泉¹ 叶红庆¹ 冯月燕¹ 杨丹²

1. 广州卫生职业技术学院 药学院 广东广州 510450

2. 广东医科大学 药学院 广东东莞 523808

摘要: 目的: 测定石崖茶(叶)及提取物总黄酮、氨基酸及多糖的含量。方法: 以芦丁为对照品, 采用紫外分光光度法在510 nm处测定石崖茶中黄酮的含量; 以茶氨酸为对照品, 在568 nm处测定石崖茶中氨基酸的含量; 以葡萄糖为对照品, 在490 nm处测定石崖茶中多糖的含量。结果: 芦丁在0.006 ~ 0.036 mg/mL范围内呈良好的线性关系($y=21.333x+0.0044$, $R^2=0.9992$); 茶氨酸在0.0609 ~ 0.1479 mg/mL范围内呈良好线性关系($y=6.0197x+0.0038$, $R^2=0.9995$); 葡萄糖在0.01 ~ 0.08 mg/mL范围内呈良好线性关系($y=10.522x+0.0091$, $R^2=0.9988$)。结论: 紫外分光光度法测定石崖茶(叶)及其提取物总黄酮、氨基酸、多糖含量分别为9.56%、25%, 0.68%、3.46%, 8.52%、21.24%, 有助于推动该种植物资源的学术研究及社会价值的挖掘。

关键词: 石崖茶; 紫外分光光度法; 总黄酮; 氨基酸; 多糖

石崖茶是山茶科(Theaceae)杨桐属(Adinandra)植物亮叶杨桐(Adinandra nitida Merr. ex Li)的干燥叶, 因生长在悬崖上, 又名猴茶、石芽茶、石岩茶等, 分布于广西、广东、贵州等地, 生长于海拔500-1 000 m的沟谷溪边、林缘、林中或石岩边。石崖茶为灌木或乔木, 高5-20米, 胸径可达50厘米, 树皮灰色。果球形或卵球形, 熟时橙黄色或黄色。花期6-7月, 果期9-10月^[1]。

石崖茶含黄酮类、萜类、酚类、多糖及甾体等多种化学成分, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌等作用^[2]。石崖茶不含咖啡碱, 茶色碧绿, 饮后有回甘^[3], 不影响睡眠^[4]。近年在全民养生风潮兴起中广受消费者喜爱, 成为新崛起的养生保健茶。石崖茶具有抗菌作用、抗肿瘤作用、护肝明目、消炎、清热解毒、养颜、降血压、健胃消食等作用^[5-6], 对咽喉炎、肥胖症、糖尿病、高血压、高血脂有明显作用^[7]。石崖茶含茶碱量低, 黄酮含量高, 有很高的开发利用价值, 荣获“中国名优茶叶”称号^[8]。本文采用紫外分光光度法对石崖茶(叶)及其提

取物中总黄酮、氨基酸、多糖等3种活性成分的含量进行测定, 并对其结果进行讨论和分析。

一、试验部分

1. 试验仪器

紫外分光光度计(上海精科仪电722型); 电子分析天平(350-8105-000f1); 101-3AB型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯仪器有限公司); 501型超级恒温水浴锅(上海试验仪器有限公司)。

2. 试验药品、材料

氢氧化钠; 亚硝酸钠; 硝酸铝; 茛三酮; 磷酸二氢钾; L-茶氨酸; 葡萄糖; 浓硫酸; 萘酚; 浓盐酸; 苯酚; 靛红; 草酸; 高锰酸钾; 无水硫酸钠; 亚硫酸钠; 硫氰酸钾; 磷酸; 醋酸锌; 亚铁氰化钾; 乙醇; 三氯甲烷; 蒸馏水, 所有溶剂和试剂均为分析纯。石崖茶于2020年6月采自桂林平乐, 自然阴干粉碎备用。

二、实验部分

1. 石崖茶总黄酮含量测定

(1) 标准曲线的制备

精密称取芦丁标准品12 mg, 用95%乙醇溶解, 定容至100 mL容量瓶中, 摇匀, 制成浓度为0.12 mg/mL的标准品溶液。然后精密吸取0.5、1、1.5、2、2.5、3 mL, 分别置于10 mL容量瓶中, 加5% NaNO₂溶液0.3 mL, 摇匀放置6 min, 续加10% Al(NO₃)₃溶液0.3 mL, 摇匀放置6 min, 再加1.0 (mol/L) NaOH溶液4.0 mL, 用95%乙醇(水)定容, 充分摇匀, 20 min后, 以相应试剂为空白溶液, 在510 nm处测定吸光度, 以浓度x (mg/

基金项目: 广州市教育局高校科研项目(202235420); 广东省普通高校特色创新类项目(2022KTSCX306); 广东医科大学博士科研启动项目(4SG21009G)

作者简介:

- 程忠泉(1976-), 男, 山东惠民人, 博士, 教授, 广州卫生职业技术学院, 研究方向为植物资源与天然活性成分发现与结构修饰。
- 杨丹, 博士, 副教授, 从事天然药物化学成分、活性及应用研究。

mL) 和吸光度A进行回归分析, 得回归方程 $y=21.333x+0.0044$ ($R^2=0.9992$) (图1)。

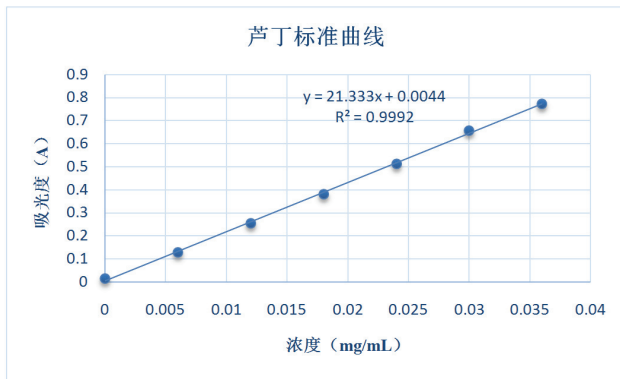


图1 芦丁标准曲线

(2) 石崖茶总黄酮含量测定

精密称取石崖茶(叶) 2.014 g, 95%乙醇40 mL 80℃下加热1h, 过滤, 滤液定容至50 mL, 取1 mL 95%乙醇定容至10 mL, 再取0.2 mL, 置于10 mL容量瓶中, 照“2.1.1标准曲线的制备”项下测其吸光度, 以标准曲线计算黄酮含量为0.0077 mg/mL, 石崖茶(叶)中总黄酮含量为9.56%。

(3) 石崖茶提取物中总黄酮含量测定

精密称取粉碎的石崖茶(叶) 10 g, 分别用95%乙醇150 mL 80℃下热提1h 2次, 合并滤液, 旋干得石崖茶提取物3.475 g (提取物得率为34.75%)。精密称取石崖茶提取物10 mg, 用95%乙醇定容至10 mL, 再取0.2 mL, 置于10 mL容量瓶中, 照“2.1.1标准曲线的制备”项下测其吸光度, 以标准曲线计算石崖茶提取物黄酮含量占石崖茶提取物的25%, 推算石崖茶(叶)中总黄酮含量为8.69%, 低于石崖茶热提后直接测得的黄酮含量(9.56%)。

2. 石崖茶氨基酸含量测定

(1) 茛三酮溶液及磷酸缓冲溶液的配制

精密称取茛三酮1.000 g, 加95%乙醇使溶解并定容至50 mL, 即得2%茛三酮溶液。磷酸缓冲溶液: 取0.2 mol/L磷酸缓冲溶液250 mL, 加0.2 mol/L氢氧化钠溶液118 mL, 用蒸馏水稀释至1000 mL, 摇匀, 即得, pH=6.80。

(2) 茶氨酸标准曲线的测定

茶氨酸标准对照溶液的制备: 精密称取茶氨酸对照品43.5mg, 用蒸馏水溶解并定容至50 mL, 即得0.87 mg/mL茶氨酸对照品溶液。精密吸取上述茶氨酸对照品液0.7、0.9、1.1、1.3、1.5、1.7 mL分别置于10 mL容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度。然后分别吸取1.0 mL稀释后

的对照液置于6个10 mL容量瓶中, 然后分别加入0.5 mL茛三酮溶液, 1 mL磷酸缓冲溶液, 摇匀, 置于烘箱100-105温度下反应15 min, 取出置于室温中冷却15 min, 然后用蒸馏水稀释至10 mL, 摇匀, 显紫色。在568 nm波长下测定吸光度, 以不加茶氨酸溶液做空白对照。测得的结果以茶氨酸浓度(mg/mL)为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线 $y=6.0197x+0.0038$ ($R^2=0.9995$) (图2)。

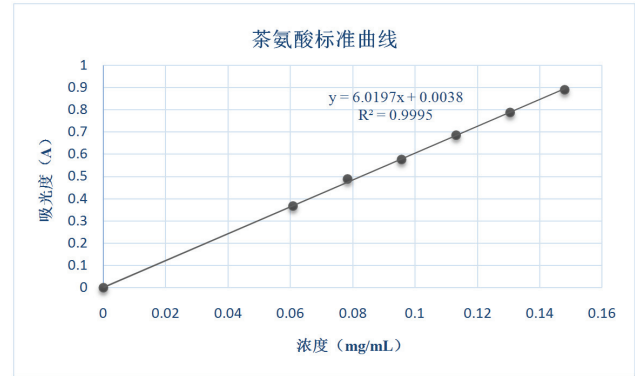


图2 茶氨酸标准曲线

(3) 石崖茶氨基酸含量测定

精密称取石崖茶细粉2.013 g, 然后用20 mL 95%乙醇回流提取1h, 2次, 合并滤液, 回收溶剂至无醇味, 用蒸馏水定容至50 mL, 从中吸取1.0 mL稀释至10 mL, 然后再从稀释液中吸取1.0 mL, 照“2.2.2茶氨酸标准曲线的测定”项下测其吸光度, 以茶氨酸标准曲线计算出提取液中氨基酸的浓度, 然后再计算出石崖茶中氨基酸的百分含量, 最后得到石崖茶(叶)中氨基酸的含量为0.68%。

(4) 石崖茶提取物中总黄酮含量测定

精密称取石崖茶提取物粉末0.010 g, 溶解于95%乙醇中并定容至10 mL容量瓶中, 然后从中吸取1.0 mL样液检测, 照“2.2.2茶氨酸标准曲线的测定”项下测其吸光度, 以茶氨酸标准曲线计算氨基酸的浓度, 计算出石崖茶(叶)提取物粉末中氨基酸的百分含量为3.46%。以提取物得率34.75%推算石崖茶(叶)中氨基酸含量为1.20%, 高于石崖茶热提后直接测得的氨基酸含量(0.68%)。

3. 石崖茶多糖含量测定

(1) 葡萄糖标准对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷减压干燥12 h的无水葡萄糖对照品适量, 加蒸馏水使溶解制成每1 mL含无水葡萄糖1mg的溶液, 作为对照品溶液。

(2) 标准曲线的制备

精密称取10 mL对照品溶液置于100 mL容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 制备成0.1 mg/mL的葡萄糖标准对

照品溶液。精密吸取对照品溶液0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6 mL，分别置于具塞试管中，加蒸馏水补足至2.0 mL，然后分别加入5%苯酚溶液1.0 mL，摇匀，然后精密迅速垂直加入浓硫酸5.0 mL，使反应完全和整个体系均匀发热，摇匀，待其在室温下反应10 min，然后置于40℃的水浴锅中保温15 min，取出后迅速冷却至室温，以加对照品0.0 mL试管内的溶液为空白，照紫外可见分光光度法，在490 nm波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，质量浓度为横坐标，绘制标准曲线图，得到回归曲线 $y=10.522x+0.0091$ ($R^2=0.9988$) (图3)。

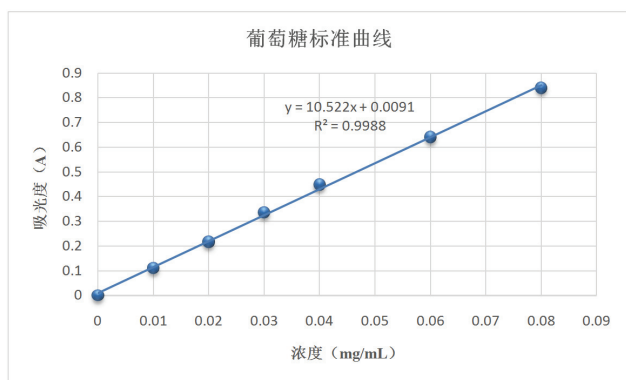


图3 葡萄糖标准曲线

(3) 石崖茶(叶)中多糖含量的测定

精密称取粉碎的石崖茶(叶)细粉0.245g，加80%乙醇20 mL，水浴回流2h，趁热过滤，残渣用80%热乙醇洗涤3次，每次10 mL，弃去乙醇洗涤液，将残渣和滤纸置烧杯中，加蒸馏水150 mL，水浴回流2 h，趁热过滤，用热水洗涤4次，放冷，加水定容至250 mL容量瓶中。精密吸取提取液1.0 mL稀释至10 mL，然后再从稀释液中精密吸取0.2 mL，照“2.3.2 标准曲线的制备”项下测吸光度，代入葡萄糖标准曲线中，计算石崖茶(叶)多糖的百分含量为8.52%。

(4) 石崖茶提取物中多糖含量的测定

精密称取石崖茶(叶)提取物粉末0.001g，用80%乙醇溶解并定容至10 mL容量瓶中，然后从中吸取0.2

mL，照“2.3.2 标准曲线的制备”项下测吸光度，计算石崖茶提取物多糖的百分含量为21.24%。以提取物得率34.75%推算石崖茶(叶)中多糖含量为7.38%，低于石崖茶热提后直接测得的多糖含量(8.52%)。

三、结论

石崖茶味甘、微苦，性凉，归肝、胆、胃经，具有清热解毒、护肝明目、健胃消食的功效，可用于目赤肿痛、目暗干涩、痈疮肿毒、黄疸等^[9]，在壮、瑶、苗、侗等少数民族地区有着悠久的历史^[10]，常用于治疗腮腺炎、痢疾等疾病^[11]。该文以紫外分光光度法测定石崖茶及其提取物总黄酮、氨基酸、多糖含量分别为9.56%、25%、0.68%、3.46%、8.52%、21.24%。黄酮类化合物具有抗癌、抗肿瘤等多种药理作用，能够改善微血管的渗透性，增强血管的抵抗力。据《中国药典》(2020版)记载，槐花总黄酮“按干燥品计算，含总黄酮以芦丁计，槐花不得少于8.0%；槐米不得少于20.0%”。石崖茶(叶)中总黄酮含量为9.56%，高于槐花总黄酮含量；石崖茶95%乙醇提取物的总黄酮含量(25%)高于槐米总黄酮含量。

石崖茶含有非常丰富的黄酮类、氨基酸、多糖，且咖啡碱的含量低，是一种较适宜的饮料。有必要全面系统的研究该植物的植物化学成分及药理活性，特别不同生长阶段叶及落叶的经济价值研究，有助于推动该种植物资源的学术研究及社会价值的挖掘，积极推进民族地方经济发展。

参考文献:

- [1]中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志(第五十卷,第一分册)[M].北京:科学出版社,1998,50(1):28.
- [2]李水萍,李妮励,张永怡,等.石崖茶化学成分及药理活性研究进展[J].中成药,2021,43(5):1280-1285.
- [3]金静兰,文永新,成桂仁.亮叶杨桐(石芽茶)中黄酮类成分的研究[J].广西植物,1985,5(3):301-303.