槟榔提取物中多酚含量的测定

邢建华[1*]，关 丹[2]，朱晓瑜[1]
(1.海南绿槟榔科技发展有限公司，海南 定安 571200； 2.新郑市人民医院，河南 新郑 451100)

摘 要： 考察了福林酚试液用量、Na_2CO_3溶液用量、反应时间等因素对槟榔提取物中多酚测定的影响，确定了多酚测定条件，建立了测定槟榔提取物中多酚的方法. 结果表明，在选定的测定条件下，没食子酸浓度在 2.0～10.0 mg/L之间与吸光度成良好线性关系. 线性方程为：$y = 0.103\ 8x - 0.067\ 6$；相关系数 $r = 0.999\ 5$；检测限为 0.026 mg/L. 该方法具有仪器简单、操作简便，准确度高等特点，用于槟榔提取物中多酚的测定，结果满意.

关键词： 槟榔；分光光度法；多酚；测定
中图分类号： O657.31 **文献标志码：** A **文章编号：** 1008-1011(2019)01-0038-04

Determination of polyphenol in areca extract

XING Jianhua[1*], GUAN dan[2], ZHU Xiaoyu[1]
(1. *Hainan Green Areca Science and Technology Development Co. Ltd*, *Dingan* 571200, *Hainan*, *China*;
2. *People's Hospital of Xinzheng*, *Xinzheng* 451100, *Henan*, *China*)

Abstract: A method was established for determination of polyphenols content in areca extracts, by screening some factors such as volume of Folin´s phenol reagent, Na_2CO_3 solution amout and required chemical reaction time. With optimized determination condtions, the results indicate that a linear relationship between absorbance and concentration of galic acid in the range of 2.0 to 10.0 mg/L, where the linear equation is $y = 0.103\ 8x - 0.067\ 6$ with the correlation coefficient $r = 0.999\ 5$ and the detection limit is 0.026 mg/L. This method can produce highly accurate result with simple instruments and operations, which is satisfying for determination of polyphenols content in areca extracts.

Keywords: areca; spectrophotometry; polyphenol; determination

槟榔(*Areca catechu* L.)是棕榈科槟榔属植物果实，在我国引种栽培已有近 2000 年的历史. 槟榔为四大南药(槟榔、砂仁、益智、巴戟天)之首，具有杀虫、消积、利水、截疟之功效. 海南绿槟榔科技发展有限公司采用现代生物技术，从鲜槟榔中提取功效成分，去除有毒成分得到的槟榔提取物可作为膳食补充剂. 槟榔提取物主要成分为多酚，多酚的含量测定多采用分光光度法[1-4]，高效液相色谱法[5-8]，近红外光谱法[9-11]等. 分光光度法具有仪器简单，准确度高，重现性好等特点. 本文报道了测定多酚的条件，建立了分光光度法测定多酚的方法，该方法用于槟榔提取物中多酚的测定，结果满意.

1 实验部分

1.1 仪器与材料

UV-5500PC 紫外-可见分光光度计：上海元析仪器有限公司.

槟榔提取物：海南绿槟榔科技发展有限公司；没食子酸标准品：中国食品药品检定研究院.

福林酚试液：取钨酸钠 100 g、钼酸钠 25 g，加水 700 mL，85%磷酸 50 mL 与盐酸 100 mL，置圆底烧瓶中，缓缓加热回流 10 h，放冷，再加硫酸锂

收稿日期：2018-08-30.
基金项目：海南省重大科技计划(ZDKJ2016003).
作者简介：邢建华(1968-)，男，副教授，研究方向为食品、药品分析及软饮料工艺. * 通讯联系人，E-mail：xingjianhua1968@163.com.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

150 g、水 50 mL 和溴滴定液 1 滴，加热煮沸 15 min，冷却，加水稀释至1 000 mL，滤过，滤液作为贮备液，置棕色瓶中. 本贮备液(应为黄绿色) 不得显绿色(如放置后变为绿色，可加溴滴定液 1 滴，煮沸除去多余的溴即可) . 临用前取贮备液 2.5 mL，加水稀释至 10 mL，摇匀，即得.

7.5% Na_2CO_3溶液: 称取 Na_2CO_3 7.5 g，加水溶解至 100 mL，摇匀即得.

水为纯化水，其他试剂均为分析纯.

1.2　实验方法

取没食子酸标准品约 20 mg，精密称定，加水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，加水定容至刻度，摇匀，得没食子酸储备液. 精密量取不同体积上述储备液，置 10 mL 容量瓶中，加水至刻度，摇匀，得没食子酸标准溶液. 精密移取没食子酸标准溶液 1.0 mL 于刻度试管内，加入 5.0 mL福林酚试液，摇匀. 反应 3 ~ 8 min，加入 4.0 mL 7.5% Na_2CO_3 溶液，摇匀，室温下放置 60 min. 用纯化水代替没食子酸标准溶液，按上述方法制备空白溶液. 以空白溶液调零，在最大吸收波长 765 nm 处用分光光度计测定吸光度.

2　结果与讨论

2.1　福林酚试液用量的选择

在其他条件相同的情况下，考察了福林酚试液用量对吸光度的影响. 福林酚试液用量对吸光度的影响见图 1.

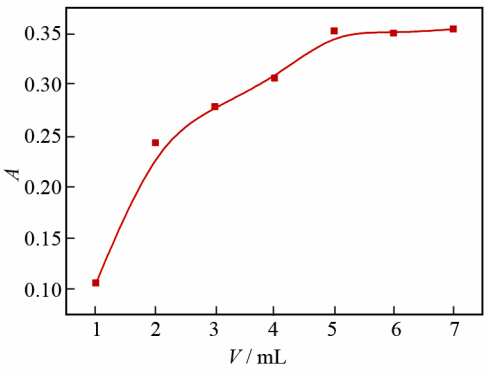

图 1　福林酚试液用量对吸光度的影响

Fig.1　Effect on volume of Folin's phenol reagent

由图 1 可知，福林酚试液用量小于 5 mL 时，随着福林酚试液用量增大，吸光度逐渐增大; 福林酚试液用量大于 5 mL 后，福林酚试液用量对吸光度基本无影响. 故选择福林酚试液用量为 5 mL.

2.2　7.5% Na_2CO_3溶液用量的选择

在其他条件保持一致的情况下，考察了 7.5% Na_2CO_3溶液用量对吸光度的影响. Na_2CO_3溶液用量对吸光度的影响见图 2.

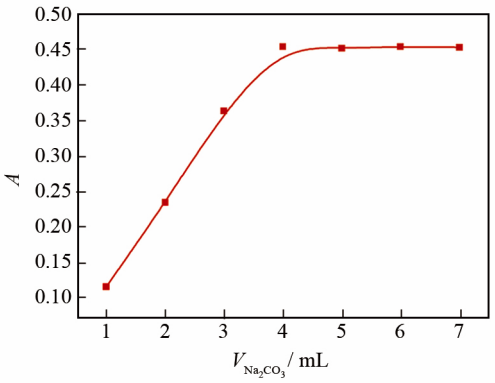

图 2　Na_2CO_3溶液用量对吸光度的影响

Fig.2　Effect of volume of Na_2CO_3 solution on absorbance

由图 2 可以看出，Na_2CO_3溶液用量为 4 mL 时，吸光度达到最大值. 所以选择 Na_2CO_3 溶液用量 4 mL.

2.3　反应时间的确定

其他条件不变的情况下，对反应时间与吸光度的关系进行了考察. 反应时间与吸光度的关系见图 3.

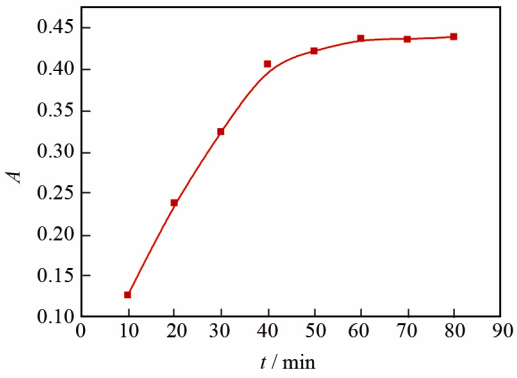

图 3　反应时间对吸光度的影响

Fig.3　Effect of chemical reaction time on absorbance

由图 3 可知，反应时间为 60 min 时，吸光度达到最大值. 故选择反应时间 60 min.

2.4　工作曲线与检测限

配制一系列不同浓度的没食子酸标准溶液，按实验方法测定吸光度，以吸光度对浓度作图. 工作曲线见图 4.

DOI: 10.14002/j.hxya.2019.01.004|化学研究，2019，30(1)：38-41

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

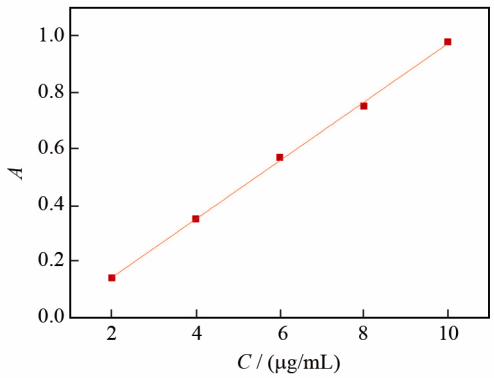

图 4 工作曲线

Fig.4 Working curve

结果表明，没食子酸浓度在2.0～10.0 mg/L 之间与吸光度成良好线性关系. 线性方程为: y = 0.103 8x−0.067 6; 相关系数 r = 0.999 5; 检测限为 0.026 mg/L.

2.5 干扰试验

没食子酸浓度为 0.50 mg/L 的条件下，根据样品中可能存在的干扰物质，进行干扰实验. 按照实验方法，试验了一些常见物质对测定结果的影响. 测出有干扰离子存在时的吸光度 $A_{干扰}$ 和没有干扰离子时的吸光度 A，当($|A_{干扰}-A|$)/A ≤10%时认为不干扰. 干扰物质及其允许其存在的倍数: Ca^{2+}(500)、K^+(500)、Na^+(500)、SO_4^{2-}(500)、Cl^-(500)、牛血清蛋白(50)、没食子酸(50)、氢溴酸槟榔碱(20). 从上述结果可知，样品中可能存在的物质对测定基本无干扰.

2.6 样品的测定

取样品约 25 mg，精密称定. 加水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，为供试品溶液. 精密量取供试品溶液 1.0 mL 于刻度试管内，照标准曲线测定项下的方法制备供试品和空白溶液，以空白溶液调零，于 765 nm 波长处测定吸光度. 计算槟榔提取物中的多酚含量. 槟榔提取物中多酚含量测定结果见表 1.

表 1 槟榔提取物中多酚测定结果(n=5)

Table 1 Determination results of polyphenol (n=5)

批号	多酚含量/%	RSD/%
17052201	18.2	2.16
17060801	17.6	1.83
17082001	19.1	2.02

2.7 加样回收率

采用标准加入法进行回收率实验，结果见表 2.

表 2 回收率实验(n=5)

Table 2 Recovery test (n=5)

批号	加入前测得量/mg	加入量/mg	加入后测得量/mg	回收率/%
17052201	4.51	0.50	5.02	102.0
	4.51	1.00	5.49	98.0
	4.51	2.00	6.50	99.5
17060801	3.89	0.50	4.38	98.0
	3.89	1.00	4.87	98.0
	3.89	2.00	5.92	101.5
17082001	4.28	0.50	4.77	98.0
	4.28	1.00	5.29	101.0
	4.28	2.00	6.26	99.0

回收率测定结果表明，该方法具有较高的准确度.

3 结论

考察了测定条件对多酚测定的影响，优化了测定条件，建立了分光光度法测定多酚的方法. 结果表明，在选定的测定条件下，没食子酸浓度在 2.0～10.0 mg/L 之间与吸光度成良好线性关系. 线性方程为: y=0.103 8x−0.067 6; 相关系数 r=0.999 5; 检测限为0.026 mg/L. 该方法具有仪器简单、操作简便，准确度高等特点，用于槟榔提取物中多酚的测定，结果满意.

参考文献:

[1] 杨美燕，李楠，邢国秀，等. 分光光度法测定茶多酚注射剂中茶多酚的含量[J]. 中草药，2004，85(5)：528-529.
YANG M Y，LI N，XING G X，et al. Determination of tea polyphenols in injection by spectrophotometry [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs，2004，85(5)：528-529.

[2] 刘顺航，孟宪军，牛涛，等. 葡萄籽中总多酚成分的测定[J]. 中华中医药杂志，2007，22(10)：715-716.
LIU S H，MENG X J，NIU T，et al. Determination of total polyphenols in grape seeds [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy，2007，22(10)：715-716.

[3] 刘清，李 玉，姚惠源. Folin-Ciocalteus 比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J]. 食品科技，2007，54(4)：175-177.
LIU Q，LI Y，YAO H Y. Determination of total polyphenol

DOI: 10.14002/j.hxya.2019.01.004|化学研究，2019，30(1)：38-41

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

in barely seed extracts by Folin-Ciocalteus colorimetry [J]. Food Science and Technology, 2007, 54(4): 175-177.

[4] 邓祥, 黄小梅, 王芬. 川佛手中多酚类物质的和超声波联合提取工艺优化含量 [J]. 化学研究, 2017, 28(3): 353-358.
DENG X, HUANG X M, WANG F. Process optimization of microwave and ultrasonic extraction of polyphenols from Chuan Bergamo [J]. Chemical Researsh, 2017, 28(3): 353-358.

[5] ANDREW C H, PHILIP C. Reversed phase high performance liquid chromatography of tea constiuents [J]. Chromatography A, 1976, 129(12): 450-463.

[6] 刘锦文, 李红玉, 石瑞君, 等. 高效液相色谱法测定茶多酚中 EGCG 和 ECG 的含量 [J]. 食品工业科技, 2010, 11(31): 372-374.
LIU J W, LI H Y, SHI R J, et al. Determination of content of EGCG and ECG in tea polyphenols by HPLC [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 11(31): 372-374.

[7] 张小红, 雷晓林, 钱星文. HPLC 法测定绿茶雪哈片中表没子儿茶素没食子酸酯的含量 [J]. 安徽医药, 2010, 14(8): 899-901.
ZHANG X H, LEI X L, QIAN X W. Determination of EGCG in lvcha xueha tablets by HPLC [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2010, 14(8): 899-901.

[8] CHEN Q S, ZHAO J W, LIU M H, et al. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms [J]. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008, 46(3): 568-573.

[9] 王毅, 陈斌, 叶静, 等. 优化茶多酚红外光谱定量分析模型 [J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(5): 686-690.
WANG Y, CHEN B, YE J, et al. Optimization of models for quantitative analysis of tea polyphenols in green tea by near Infrared spectrophotometry [J]. Computers and Applied Chemistry, 2010, 27(5): 686-690.

[10] NORGAARD L, AULAND S, WAGNER J, et al. Internal partial least-squares regression (iPLS): a comparative chemometric study with an example from near-infrared spectroscopy [J]. Applied spectroscopy, 2000, 54(3): 413-419.

[11] 范淑珍, 韩延东, 侯冬岩, 等. 红外光谱技术在茶叶分析中的应用综述 [J]. 化学研究, 2012, 23(1): 107-110.
FAN S Z, HAN Y D, HOU D Y, et al. Review on application of infrared spectrophotometry in analysis of tealeaf [J]. Chemical Researsh, 2012, 23(1): 107-110.

责任编辑: 吴文鹏

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net