

大枣花酒蒸后主要活性成分含量变化的初步研究^{*}

刘世军, 张 阳, 唐志书[△], 张 娱, 宋忠兴, 崔春利, 许洪波, 刘红波, 张军武, 王少程

(陕西中医药大学/陕西省中药资源产业化协同创新中心/秦药特色资源研究开发国家重点实验室(培育)/

陕西省创新药物研究中心, 陕西 咸阳 712083)

摘要: **目的** 研究大枣花酒蒸前后主要活性成分(总酚、总黄酮、总三萜、总生物碱)含量的变化情况, 为大枣花的进一步开发研究奠定基础。**方法** 大枣花生品用黄酒闷润 90 min 后蒸制 30 min 得到酒蒸品, 采用紫外分光光度法测定大枣花蒸制前后总酚、总黄酮、总三萜、总生物碱含量变化。**结果** 大枣花经过酒蒸后, 其总酚、总黄酮、总三萜、总生物碱含量均增加。**结论** 本次试验为大枣花的深入研究和产品开发提供了一定的参考。

关键词: 枣花; 酒蒸; 含量; 活性成分

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2019)03-0028-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2019.03.005

A Preliminary Study on the Changes of Main Active Ingredients in *Ziziphus jujuba* Flower after Steaming with Wine

LIU Shijun, ZHANG Yang, TANG Zhishu, ZHANG Yu, SONG Zhongxing, CUI Chunli,

XU Hongbo, LIU Hongbo, ZHANG Junwu, WANG Shaocheng

(Shaanxi University of Chinese Medicine/Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicine Resources Industrialization / State Key Laboratory of Research & Development of Characteristic Qin Medicine Resources(Cultivation) / Shaanxi Innovative Drug Research Center, Xianyang 712083, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the changes of the contents of main active components(total phenols, total flavonoids, total triterpenes and total alkaloids) in jujube flowers wine before and after steaming, so as to lay a foundation for further development and research of jujube flowers. **Methods** Jujube flowers products were covered moistening with yellow rice wine for 90 min and steamed for 30 minutes. The contents of total phenols, total flavonoids, total triterpenes and total alkaloids were determined by UV spectrophotometry. **Results** After steaming with wine, the contents of total phenols, total flavonoids, total triterpenes and total alkaloids increased. **Conclusion** This experiment provides a certain reference for the further study and product development of jujube flowers.

KEY WORDS: jujube flower; wine steaming; content; active ingredients

大枣花为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥花朵。花期一般在 5 到 7 月左右, 花绿色, 两性, 较小; 花盘厚, 肉质, 圆形^[1]。目前对于大枣^[2-6]和大枣叶^[7-11]的研究比较多, 但对于大枣花的研究比较少。每年花期, 大量的大枣花洒落在地, 造成资源浪费及环

境污染。如何将大枣花充分利用, 是摆在科研人员面前的一个现实问题。根据前人对大枣和大枣叶的研究以及本课题组前期对大枣花定性预试验研究发现大枣花含有酚类、黄酮、三萜、生物碱、皂苷、多糖等成分, 课题组对大枣花酒蒸前后总酚、总黄酮、总三萜、

收稿日期: 2019-05-13

^{*} **基金项目:** 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2015KTCL03-14); 陕西省教育厅服务地方专项计划项目(15JF001); 陕西省中医药管理局中药制药工程学重点学科(2017); 陕西省创新人才推进计划-科技创新团队(2018TD-005); 陕西省重点研发计划(2018SF-285); 大学生创新创业训练计划(201805099)

第一作者简介: 刘世军(1974-), 男, 博士, 高级工程师, 主要从事中药物质基础、中药炮制工艺、制剂工艺与质量标准研究。

[△]通信作者: 唐志书, E-mail: tzs6565@163.com

总生物碱含量的变化进行研究,为大枣花产品的开发和资源利用提供一定的参考。

1 材料

1.1 样品与试剂 大枣花:产地陕西;芦丁(16122801,陕西乐博生化科技有限公司)、没食子酸(B20851,上海源叶生物科技有限公司)、齐墩果酸(16051205,陕西乐博生化科技有限公司)、莲心碱(B20730,上海源叶生物科技有限公司)、甲醇(天津市天力化学科技有限公司)、甲酸(天津市科密欧化学试剂有限公司)、无水碳酸钠(天津市天力化学科技有限公司)、亚硝酸钠(天津市天力化学试剂有限公司)、NaOH(天津市天力化学试剂有限公司)、硝酸铝,九水(成都市科隆化学品有限公司)、香草醛(天津市科密欧化学试剂有限公司)、冰醋酸(天津市天力化学科技有限公司)、乙酸乙酯(天津市天力化学科技有限公司)、高氯酸(天津市天力化学科技有限公司)、Folin 酚试剂(天津市天力化学科技有限公司)、浓盐酸(西安三浦化学试剂有限公司)、无水乙醇(安徽安特食品股份有限公司),所用化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器 电热鼓风干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司);高速万能粉碎机(天津鑫博得仪器有限公司);KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);岛津 UV-2600 紫外可见分光光度计;电子分析天平(赛多利斯科仪器有限公司);DZKW-4 电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);KSW 型电炉温度控制器(北京科伟永兴仪器有限公司);箱式电阻炉(北京科伟永兴仪器有限公司);WFH-201B 紫外透射反射仪(上海精科实业有限公司);MH-500 调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);C21-HT2109 多功能电磁炉;离心机等。

2 方法与结果

2.1 大枣花酒蒸样品的制备

取新鲜干燥的大枣花进行挑拣,一部分大枣花用黄酒喷淋拌匀,稍闷润,待黄酒被吸尽后,装入带盖的小瓷盘,密闭^[12],蒸制 30 min,取出,干燥,得到大枣花酒蒸品,备用;一部分大枣花干燥直接用于实验。样品的水分控制在 5%以内。

2.2 活性成分测定^[13-14]

2.2.1 大枣花甲醇提取液的制备

准确称取各样品 0.5 g,转入 50 mL 离心管中,然后分别加 80%甲醇溶液 5 mL,100 W 超声提取 30 min,4 000 r/min 离心 10 min 后收集上清液,残渣以同样方法提取 2 次,合并提取液,用甲醇定容至 10 mL,4℃冷藏备用。

2.2.2 总酚含量的测定^[15]

(1)标准曲线的绘制:称量 1 mg 没食子酸标准样品,用蒸馏水定容至 10 mL,得浓度为 0.1 mg/mL 标准液,分别准确量取上述标准液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加 6 mL 蒸馏水,摇匀后加 0.5 mL Folin 酚试剂,摇匀,1 min 后加入 1.5 mL 的 20% Na₂CO₃ 溶液,混匀定容,在 75℃恒温水浴反应 10 min,取出后冷却后于 760 nm 波长处测定其吸光度。

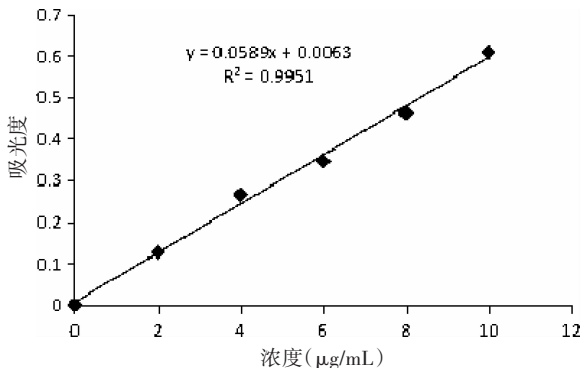


图1 总酚标准曲线

(2)样品测定:准确移取样品 80%甲醇提取液 0.1 mL,分别加入稀释一倍的 Folin 酚试剂 0.5 mL,混匀后加入 1.5 mL,质量分数 10%的 Na₂CO₃ 溶液,然后用蒸馏水定容至 10 mL,混合均匀,75℃恒温水浴反应 10 min,取出冷却后于 760 nm 波长处测定其吸光值。

表1 样品总酚含量测定

样品	量取提取液体积/mL	吸光度	含量/(mg·g ⁻¹)
生品	0.1	0.361	12.044
酒蒸品	0.1	0.496	16.628

由表 1 可知大枣花生品总酚含量为 12.044 mg/g,经过酒蒸后其含量增加为 16.628 mg/g。大枣花酒蒸后总酚含量增加。

2.2.3 总黄酮含量测定^[16]

(1)标准曲线的绘制:称量芦丁标准品 2 mg,80%甲醇溶解定容至 10 mL 的容量瓶中,即为 0.2

mg/mL 的芦丁标准液,吸取芦丁标准液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 分别置于 10 mL 的容量瓶中,用 80% 甲醇溶液补充至 5 mL,加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6min 后加入 0.3 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液摇匀,六分钟后加入 4 mL 1 mol/L 的 NaOH 溶液,混匀,用 80% 甲醇溶液定容至 10 mL,摇匀,10 min 后在 510 nm 波长处测定吸光度。

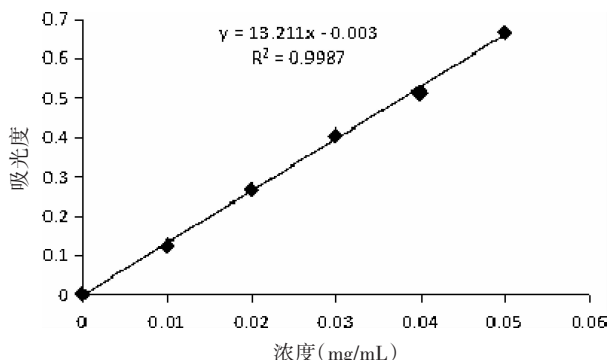


图 2 总黄酮标准曲线

(2) 样品测定:用移液枪准确移取大枣花生品 80% 甲醇提取液 1 mL,酒蒸品 0.7 mL 于 10 mL 的容量瓶中,用 80% 甲醇溶液补充至 5 mL,加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6min 后加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL,摇匀,6min 后加入 1 mol/L 的 NaOH 溶液 4 mL,混匀,用 80% 甲醇溶液定容至 10 mL,摇匀,10min 后在 510 nm 波长处测定吸光度。

表 2 样品总黄酮含量测定

样品	量取提取液体积/mL	吸光度	含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
生品	1	0.630	9.583
酒蒸品	0.7	0.629	13.668

由表 2 可知大枣花生品总黄酮含量为 9.583 mg/g,经过酒蒸后其含量增加为 13.668 mg/g,大枣花酒蒸后总黄酮含量增加。

2.2.4 总三萜含量的测定^[17]

(1) 标准曲线的绘制:称量齐墩果酸对照品 1 mg,用 80% 甲醇溶解并定容至 10 mL 的容量瓶中摇匀,即得对照品溶液。准确吸取对照品溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于 10 mL 的容量瓶中,水浴挥去溶剂后,加入 0.4 mL 的 5% 的香草醛冰醋酸溶液,高氯酸试剂 1.6 mL,混匀后于 70℃ 水浴加热反应 15 min,冷却至室温,加乙酸乙酯至刻度线,摇匀后在

560 nm 波长处测定吸光度,制作标准曲线。

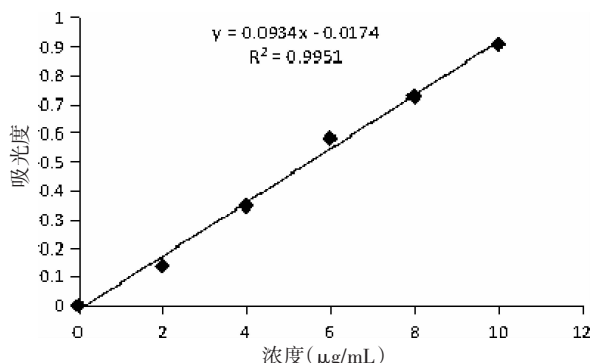


图 3 总三萜标准曲线

(2) 样品测定:准确移取样品 80% 甲醇提取液 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中,水浴挥去溶剂后,加入 0.4 mL 的 5% 的香草醛冰醋酸溶液,高氯酸试剂 1.6 mL,混匀后于 70℃ 水浴加热反应 15 min,冷却至室温,加乙酸乙酯定容至刻度线,摇匀后在 560 nm 波长处测定吸光度。

表 3 样品总三萜含量测定

样品	量取提取液体积/mL	吸光度	含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
生品	0.1	0.265	6.047
酒蒸品	0.1	0.593	13.071

由表 3 可知大枣花生品总三萜含量为 6.047 mg/g,经过酒蒸后其含量增加为 13.071 mg/g,大枣花酒蒸后总三萜含量增加。

2.2.5 总生物碱含量测定^[18-19]

(1) 标准曲线的绘制:称取 2 mg 莲心碱对照品至 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇溶解定容,配置成 0.2 mg/mL 的溶液。分别量取 0、1.2、1.5、1.8、2.1、2.4 mL 于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度于 282 nm 波长处测定吸光度。

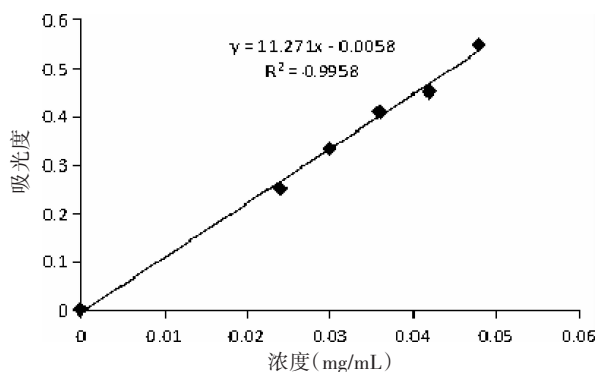


图 4 总生物碱标准曲线

(2)样品制备:①配制 1% 盐酸 250 mL,1% 氢氧化钠 300 mL 备用。②分别称取各枣花样品 0.5 g 置于离心管中,并贴好标签。③向每个离心管中分别加入 10 mL 的 1% 盐酸,调节 pH=2,浸泡 2 h,使生物碱都形成生物碱盐溶于酸水中。④碱化。每个离心管中分别加入 1% 氢氧化钠,调节 pH 为 9~10,使生物碱游离出来。⑤有机溶剂萃取。分别加入无水乙醇 15 mL,封住盖,超声处理 40 min,取出离心管,准备下一步处理。⑥过滤样品溶液。⑦然后将经过过滤后的滤液用无水乙醇溶液定容到 50 mL 的容量瓶中并贴上标签备用。⑧用移液枪移取生品试液 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇溶液稀释至刻度。移取酒蒸品试液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中加无水乙醇稀释至刻度,移取配置的溶液 5 mL 于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇溶液稀释至刻度。

(3)样品测定:将上述溶液于 282 nm 波长处测定吸光度。

表 4 样品总生物碱含量测定

样品	量取提取液体积/mL	吸光度	含量/(mg·g ⁻¹)
生品	1	0.665	59.516
酒蒸品	1	1.267	112.927

由表 4 可知大枣花生品总生物碱含量为 59.516 mg/g,经过酒蒸后其含量增加为 112.927 mg/g,大枣花酒蒸后总生物碱含量增加。

3 结论和讨论

大枣的果实,枣核^[20-21]和叶子均已被科研工作者大量研究,然而,作为大枣的一个重要部分大枣花却鲜有研究,在本草著作中也很难发现。鉴于此课题组对大枣花酒蒸前后的主要化学成分进行了研究。根据试验结果发现,大枣花经过酒蒸后其主要活性成分总酚、总黄酮、总三萜、总生物碱含量均增加。这其中的机理是什么?其主要含有的化物和物又是什么?是否有药理作用?有待本课题组及其他科研工作者进一步的深入研究。本研究的开展一方面可以为大枣花的深入研究和进一步开发利用奠定一定的基础,另一方面也可以为当地的经济的发展做出一定的贡献。

参考文献:

- [1] 陈艺林,周邦楷.中国植物志[M].北京:科学出版社,1982:133-134.
- [2] 刘世军,唐志书,崔春利,等.大枣化学成分的研究进展[J].云南中医学院学报,2015,38(3):96-100.
- [3] 郭盛,唐于平,段金殿,等.大枣的化学成分[J].中国天然药物,2009,7(2):115-118.
- [4] 刘世军,姜慧慧,唐志书,等.大枣鸡蛋发糕的研制[J].中国食物与营养,2019,25(4):53-55.
- [5] 高佳琪,于泽鹏,刘聪,等.大枣果醋的镇静、催眠及抗焦虑作用[J].中国老年学杂志,2018,38(22):5526-5528.
- [6] 刘世军,李松,唐志书,等.大枣煎膏剂的制备工艺研究[J].西部中医药,2018,31(10):11-12.
- [7] 蔡兴航,刘世军,韩玲,等.大枣及大枣叶水提醇沉物对高脂血症模型小鼠降脂作用初探[J].陕西农业科学,2018,64(8):1-3.
- [8] 刘世军,王欢欢,唐志书,等.大枣叶中甜味抑制剂的提取与纯化工艺[J].中国食品添加剂,2017(3):74-79.
- [9] 林勤保,李艳红.大枣叶中甜味抑制成分提取的研究[J].食品工业科技,2005(12):94-95.
- [10] 赵喜荣,莫简,王景祥.大枣叶提取物的抗炎作用及其机理[J].中医药研究,1994(5):47-48.
- [11] 刘世军,王转转,唐志书,等.干大枣叶中叶绿素提取工艺研究[J].中国食品添加剂,2017(9):177-181.
- [12] 龚千峰.中药炮制学[M].3版.北京:中国中医药出版社,2012:201.
- [13] 张娜,雷芳,黄帅,等.骏枣在蒸制后主要活性成分含量的变化[J].食品科技,2016,41(6):99-103.
- [14] 张娜,雷芳,马娇,等.蒸制对红枣主要活性成分的影响[J].食品工业,2017,38(1):138-141.
- [15] 刘丽香,Tanguy Laura,梁兴飞,等.Folin-Ciocalteu 比色法测定苦丁茶中多酚含量[J].茶叶科学,2008(2):101-106.
- [16] 钟冬莲,韩素芳,丁明.分光光度法测定西红柿中总黄酮含量的方法比较[J].食品科学,2009,30(22):272-274.
- [17] 苗利军,鲁凤娟,刘孟军.枣果中齐墩果酸含量分析[J].湖北农业科学,2011,50(20):4258-4259.
- [18] 孙燕,孙浩,乔卫,等.酸枣仁中总生物碱含量的紫外分光光度法测定[J].时珍国医国药,2013,24(1):39-40.
- [19] 刘卓,晏星,徐春霞,等.附子总生物碱的提取工艺研究[J].安徽农业科学,2012,40(9):5199-5201.
- [20] 刘世军,段长浩,唐志书,等.利用大枣核壳制备糠醛的工艺研究[J].应用化工,2017,46(11):2143-2145.
- [21] 刘世军,高森,唐志书,等.磷酸活化制备枣核活性炭研究[J].陕西农业科学,2016,62(12):23-24,36.