

紫外光谱法在芡实种子品种和产地鉴别中的应用

陈志宏, 张 余*, 何晓伟, 贾小丽

(滁州学院, 生物与食品工程学院, 安徽滁州 239000)

摘要:以两种品种(天长刺芡和苏芡)和产地(天长和湖北刺芡)芡实为材料,分别制备4种提取液(乙酸乙酯、无水乙醇、50%乙醇、70~80℃热水),分析其紫外光谱吸收强度的差异性。同时,对芡实种子结构特性(百粒重、种子及种仁直径、种壳厚度)和功能组分含量(总酚、原花青素及黄酮)差异性进行分析。研究发现,除不同产地芡实种壳乙酸乙酯和无水乙醇提取物之外,两种品种(产地)芡实种壳提取物最大吸光值之间均存在极显著差异($p \leq 0.01$),其种子和种仁直径、种壳厚度、种仁原花青素、种壳总黄酮和总酚含量差异极显著($p \leq 0.01$)。结果表明,紫外光谱分析在芡实品种和产地方面有一定区分度,为芡实品种和产地鉴别提供了一种思路。

关键词:芡实种子,紫外光谱法,品种,产地,差异性

Application of ultraviolet spectrometry in the identification in variety and origin for gordon euryale seeds

CHEN Zhi-hong, ZHANG Cuan*, HE Xiao-wei, JIA Xiao-li

(School of Bio & Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, China)

Abstract:Four kinds of extracts (acetic ether, absolute ethyl alcohol, 50% alcohol, 70~80°C hot water) were prepared with two kinds of variety (north gordon euryale and South gordon euryale from Tianchang) and origin (north gordon euryale from Tianchang and South gordon euryale from Hubei) gordon euryales as the experimental materials, and then the variances of the ultraviolet absorption spectrum intensity were analysed. Simultaneously, the variances between structural property (hundred-grain weight, diameters of seeds and seed kernel, thickness of seed shell) and active ingredients (total phenol, proanthocyanidins and flavone) of gordon euryale seeds were analyzed. It was discovered in the study that there were all highly significant differences in the maximum peak absorption values of extracts which came from two kinds of variety and origin gordon euryale seed shell ($p \leq 0.01$) in addition to the acetic ether and alcohol extracts of gordon euryale seed shell from different origin, and the variance was extremely remarkable between the diameters of seeds and kernel, thickness of seed shell, proanthocyanidins in kernel and the content of total flavonoids and total phenol in the seed shell ($p \leq 0.01$). The search results showed that ultraviolet spectral analysis could have certain discrimination in the variety and origin of gordon euryale, which provided a mind for the identification of gordon euryale variety and origin.

Key words: gordon euryale seeds; ultraviolet spectrometry; variety; origin; variances

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)16-0078-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.16.007

芡实是睡莲科芡属,植物芡的成熟种仁,又名鸡头米^[1]。芡实品种有刺芡和苏芡之分:刺芡又称北芡,其地上器官密生刚刺;苏芡又称南芡,无刺^[2]。芡实含有丰富的营养物质,碳水化合物含量高达77.6%,蛋白质含量9.68%,氨基酸种类齐全^[3],含钙、铁、锌等多种矿物质^[4],脂类多为不饱和脂肪酸,亚油酸含量高达

34.49%^[5]。Samarjit Das等^[6]研究发现芡实有治疗或减轻肾脾疾病、慢性腹泻等功效。Haoru Zhao等发现芡实中含特效活性物质,能有效增强心肌供氧能力^[7]。李美红等^[8]从芡实中分离出多种抗氧化物质。

近年来,芡实市场需求量逐年增加,但芡实质量差异大,不同产地(品种)芡实在种子结构和生理活

收稿日期:2014-11-14

作者简介:陈志宏(1987-),男,硕士,助教,主要从事农产品深加工及活性组分分析等方面的研究,E-mail:xiari221@163.com。

* 通讯作者:张余(1970-),女,博士,副教授,主要从事食品化学与营养学、功能食品方面的研究,E-mail:zhangchuan2005@126.com。

基金项目:2014年度公益性行业(农业)科研专项(201303039);滁州学院自然科学项目(2012kj006Z);滁州学院规划项目(2014GH36)。

性上有一定差异^[9]。目前,对芡实品种(产地)鉴别的相关研究较少,且多处于探索阶段^[9]。运用色谱和光谱等现代仪器分析方法,可快速对芡实产地(品种)进行鉴别^[10]。朱芳坤等^[11]测定不同产地芡实中8种无机元素含量,发现广东芡实中 $w(\text{Zn})/w(\text{Cu})$ 比值最高;张然等^[12]发现芡实主要营养成分、部分微量元素及总黄酮含量在不同产地间有较大差距。陈蓉等^[13]研究表明芡实氨基酸组分及营养价值与产地有很大的关联度,并对不同产地芡实建立HPLC指纹图谱^[13]。

本课题组前期研究发现,芡实及其种壳中含丰富的多酚类物质,在紫外区有强吸收。因此,本研究利用紫外光谱法分别对两种品种(产地)芡实4种种壳提取物进行差异性分析,并比较了两种品种(产地)芡实在种子结构和功能活性组分方面的差别,为芡实品种和产地鉴别提供了一定的理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

芡实种子(天长刺芡、天长苏芡和湖北刺芡) 采自安徽省天长市杨村镇和湖北省武汉市;乙酸乙酯、乙醇(均为分析纯) 国药集团上海化学试剂有限公司;原花青素、焦性没食子酸、芦丁(均为色谱纯) 贵州迪大科技有限公司;其他试剂 均为分析纯。

Varian Cart 100紫外-可见分光光度计 美国Varian公司;CP224s型电子分析天平 Sartorius德国;KQ-100DB型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;LGJ-10B冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵 郑州长城科技工贸有限公司;KDN-102F自动定氮仪 上海纤检仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取液的制备 将3种芡实种壳粉碎后过80目筛得种壳粉。分别称取20 g种壳粉于3个烧杯中,各加100 mL乙酸乙酯,在超声波清洗器中浸提25 min,抽滤得滤液。滤渣重复浸提2次,合并滤液得乙酸乙酯提取液。滤渣按相同方法依次用无水乙醇、50%乙醇和70~80 °C热水进行提取,得到相应提取液。各提取液经减压浓缩后冷冻干燥48 h,得两种品种(产地)芡实种壳提取物,冷藏备用^[14-15]。

1.2.2 紫外光谱分析 将乙酸乙酯提取物配制成浓度为25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液,其余三种提取物的浓度均为2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别进行紫外光谱扫描,记录其图谱及光谱数据。

1.2.3 种子结构特性分析 随机测定3种芡实种子的百粒重^[16];每种随机取20粒芡实种子,测定其种子

直径、种壳厚度和种仁直径;每种随机取50粒,测定其总质量和种仁质量,计算芡实种子出仁率。

1.2.4 芡种子中功能组分分析

1.2.4.1 总黄酮含量测定 采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法测定芡实种子中总黄酮含量^[17]。准确称取过100目筛样品1~2 g(仁粉)/0.3 g(壳粉)于离心管中,加85%乙醇(料液比1:25),超声器中提取40 min后离心10 min,重复两次,合并上清液,定容至100 mL,得总黄酮提取液。采用上述方法在510 nm处测吸光度。以芦丁为对照品作标准曲线计算总黄酮含量,标准曲线为:总黄酮(mg)=2.1488A-0.0219, $R^2=0.9992$ 。

1.2.4.2 总酚含量测定 准确称取过100目筛样品1.0 g仁粉/0.1 g壳粉于离心管中,加15 mL 50%乙醇溶液,40 °C水浴中浸提1 h,离心取上清液。重复两次,合并上清液,定容至100 mL,得多酚提取液。参考文献[18]中的方法,在540 nm波长处,测吸光度。以焦性没食子酸为对照品作标准曲线计算总酚含量,标准曲线为:总酚(mg)=2.9915A-0.0175, $R^2=0.9997$ 。

1.2.4.3 原花青素含量的测定 准确称取过100目1.0 g仁粉/0.3 g壳粉于离心管中,加10 mL 70%丙酮室温下搅拌提取30 min,离心取上清液。重复两次,合并上清液,定容至25 mL,得原花青素提取液。参考文献[19]中的方法,在550 nm波长下测其吸光度。以原花青素为对照品作标准曲线计算原花青素含量,标准曲线为:原花青素(mg)=0.4946A_{550nm}+0.0069, $R^2=0.9959$ 。

1.2.5 数据处理 采用Excel和DPS数据处理软件对实验数据进行分析整理,所有样品重复测定3次,以(平均值 \pm 标准差)表示最终结果。

2 结果与分析

2.1 不同品种和产地芡实种壳提取物紫外光谱分析

不同品种(天长刺芡、天长苏芡)和不同产地(天长刺芡、湖北刺芡)芡实种壳四种溶剂提取物的紫外光谱见图1,其紫外最大吸收峰值及其差异显著分析见表1所示。结果显示,尽管不同品种间4种溶剂提取物在200~400 nm范围内的紫外吸收光谱图变化趋势均非常接近,最大吸收波长也基本相同。除乙酸乙酯提取物(最大吸收波长为271 nm)外,其他3种提取物最大吸收波长都非常接近(分别为217、211 nm和214 nm),且其紫外光谱均呈现双峰。但是除不同产地芡实种壳乙酸乙酯和无水乙醇提取物外,不同品种(产地)芡实种壳提取物最高吸收峰值间均存在极显著差异($p \leq 0.01$),其中天长刺芡的四种溶剂提取物的吸收峰值均最高(图1,表1)。

表1 不同品种(产地)芡实种壳提取物的最大吸光值及其差异显著性分析($n=3$)

Table 1 The UV absorption speccum peak values and differences of extracts from different varieties of *Euryale ferox* seed shell ($n=3$)

芡实品种	乙酸乙酯提取物	乙醇提取物	50%乙醇提取物	热水提取物
天长刺芡	0.789 \pm 0.011 ^A	0.296 \pm 0.009 ^A	0.343 \pm 0.007 ^A	0.224 \pm 0.006 ^A
天长苏芡	0.692 \pm 0.014 ^B	0.248 \pm 0.008 ^B	0.271 \pm 0.008 ^B	0.126 \pm 0.005 ^B
湖北刺芡	0.759 \pm 0.011 ^A	0.283 \pm 0.007 ^A	0.291 \pm 0.008 ^B	0.156 \pm 0.008 ^B

注:同列数据上标不同小写字母,表示存在显著差异($p \leq 0.05$),同列数据上标不同大写字母,表示存在极显著差异($p \leq 0.01$);表2~表4同。

表2 不同品种和产地芡实种子的部分参数分析 (n=3)

Table 2 Some structure parameters analysis of different varieties and origins of *Euryale ferox* seeds (n=3)

样品	百粒重(g)	种子直径(mm)	种壳厚度(mm)	种仁直径(mm)	出仁率(%)
天长刺芡	43.84±0.31 ^a	10.55±0.11 ^A	0.95±0.03 ^A	7.26±0.07 ^A	49.71±0.09 ^a
天长苏芡	74.54±7.16 ^b	13.12±0.23 ^B	1.55±0.03 ^B	8.88±0.16 ^B	46.85±5.50 ^a
湖北刺芡	63.69±7.30 ^a	12.87±0.26 ^B	1.21±0.09 ^B	8.66±0.16 ^B	56.81±1.43 ^a

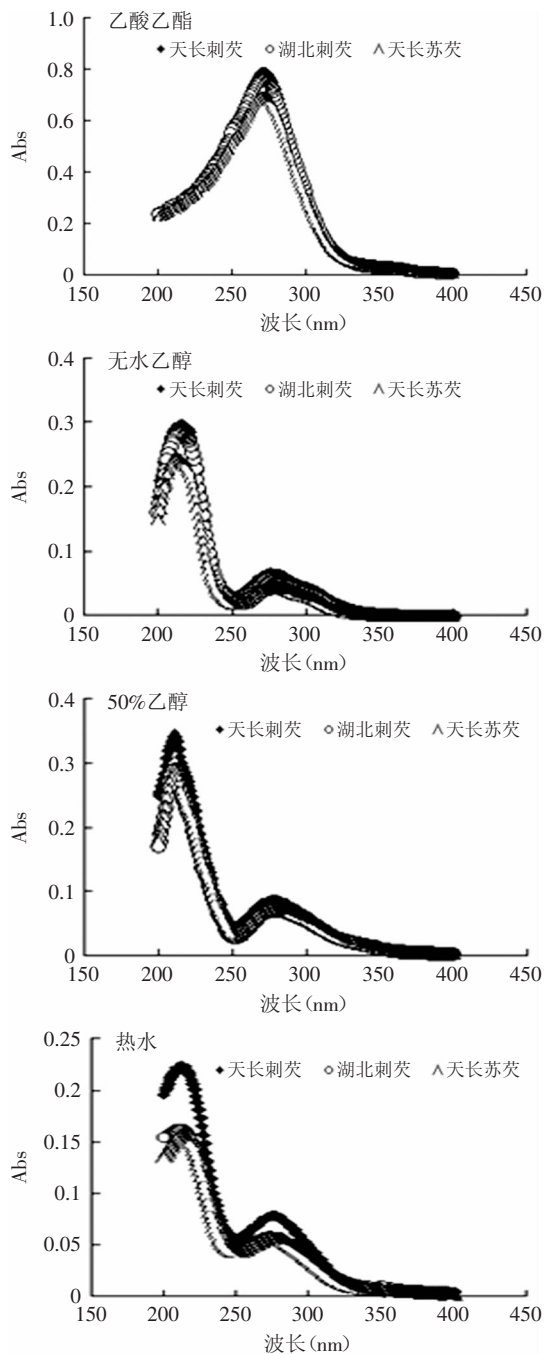


图1 不同品种和产地芡实种壳提取物紫外吸收光谱

Fig.1 The UV absorption speccum of extracts from different varieties and origins of *Euryale ferox* seed shell

天长刺芡和湖北刺芡种壳提取物紫外吸收光谱显示,不同产地芡种壳提取物紫外光谱图间的差异性要小于不同品种间的差异。两种刺芡种壳乙酸乙酯和无水乙醇提取物间的紫外图谱几乎完全重叠,

吸收峰值间差异不显著 ($p>0.05$),50%乙醇提取物和热水提取物紫外吸收峰值存在极显著差异 ($p\leq 0.01$) (图1,表1)。

上述分析结果提示,芡实种壳提取物溶液的紫外吸收光谱特性在区分芡实品种方面比区分产地更加有效。

2.2 不同品种(产地)芡实种子特性比较

不同品种(产地相同)和产地(品种相同)芡实种子结构特性比较见表2。结果显示,天长刺芡和天长苏芡之间百粒重差异显著 ($p\leq 0.05$),种子直径、种壳厚度和种仁直径存在极显著差异 ($p\leq 0.01$),天长苏芡均显著高于天长刺芡,而出仁率无显著差异。天长刺芡和湖北刺芡之间种子百粒重和出仁率无显著差异 ($p>0.05$),但种子直径、种壳厚度和种仁直径存在极显著差异 ($p\leq 0.01$),湖北刺芡均显著高于天长刺芡。上述结果表明,种子直径、种壳厚度和种仁直径等数据在芡实品种和产地区分方面有较高的区分度。

2.3 芡实种子中功能性组分分析

芡实种仁和种壳中含丰富的多酚类物质,尤其是种壳中总酚含量高达0.79 mg/g^[20]。对两种品种(产地相同)和产地(品种相同)芡实种子中总黄酮、总酚和原花青素含量的分析结果如表3、表4所示。

表3 不同品种和产地芡实种仁功能性组分含量 (n=3)

Table 3 Functional compositions contents of different varieties and origins of *Euryale ferox* seeds (n=3)

样品名称	总黄酮含量 (%)	总酚含量 (%)	原花青素含量 (%)
天长刺芡(仁)	0.57±0.05 ^A	0.53±0.02 ^a	7.55±0.02 ^A
天长苏芡(仁)	0.12±0.04 ^B	0.57±0.03 ^a	2.86±0.02 ^B
湖北刺芡(仁)	0.59±0.03 ^A	0.45±0.01 ^b	4.98±0.02 ^B

表4 不同品种和产地芡实种壳功能性组分含量 (n=3)

Table 4 Functional compositions contents of different varieties and origins of *Euryale ferox* seed-case (n=3)

样品名称	总黄酮含量 (%)	总酚含量 (%)	原花青素含量 (%)
天长刺芡(壳)	3.53±0.14 ^A	11.99±1.03 ^A	17.38±0.05 ^A
天长苏芡(壳)	9.37±0.55 ^B	18.47±0.83 ^B	17.16±0.01 ^A
湖北刺芡(壳)	6.25±0.15 ^B	18.93±0.34 ^B	13.40±0.03 ^B

结果显示,天长刺芡和天长苏芡种仁之间总黄酮含量和原花青素含量均存在极显著差异 ($p\leq 0.01$),天长刺芡显著高于天长苏芡,而总酚含量无显著差异 ($p>0.05$)。天长刺芡和湖北刺芡种仁之间原花青素含量存在极显著差异 ($p\leq 0.01$),总酚含量存在显

著差异 ($p \leq 0.05$), 而总黄酮含量无显著差异 ($p > 0.05$)。

种壳中三种酚类物质含量分析结果显示, 天长刺芡和天长苏芡种壳之间总黄酮含量和酚含量均存在极显著差异 ($p \leq 0.01$), 天长苏芡显著高于天长刺芡, 原花青素含量无显著差异 ($p > 0.01$)。天长刺芡和湖北刺芡种仁之间总黄酮、总酚和原花青素含量间均存在极显著差异 ($p \leq 0.01$), 湖北刺芡种壳中的总黄酮和总酚含量显著高于天长刺芡, 天长刺芡种壳中的原花青素含量显著高于湖北刺芡。

3 结论

研究表明, 两种品种(产地)芡实种壳4种提取物的紫外吸收光谱最大吸收峰和次峰吸光值之间均存在极显著差异 ($p \leq 0.01$)。芡实种子部分结构参数, 如种子直径、种壳厚度, 种仁直径等, 以及种仁和种壳中部分功能成分含量(总黄酮、总酚和原花青素等)与品种和产地有一定关联度。本研究是对紫外吸收光谱和酚类物质在不同品种和产地芡实种子区分中的一次初步探讨, 通过研究, 对不同芡实品种和产地判定指标进行了初步选择, 该结果对芡实产品产地和品种溯源体系建立和芡实质量评价具有一定借鉴作用。

参考文献

- [1] 张然, 崔竹梅. 芡实及其应用研究进展[J]. 农技服务, 2009, 26(11):130-131.
- [2] 夏红, 曹卫华. 芡实的营养价值及保鲜加工[J]. 中国食物与营养, 2004(10):27-28.
- [3] 张名位, 池建伟, 孙玲, 等. 潮州芡实的营养学评价[J]. 广东农业科学, 1999(2):27-29.
- [4] 丁利君, 任乃林, 张木生, 等. 火焰原子吸收法测定潮州芡实中的矿物质元素[J]. 微量元素与健康研究, 2004, 21(6):28-29.
- [5] 李美红, 方云山, 陈景超, 等. 芡实和冬葵挥发性成分的GC-MS分析[J]. 云南化工, 2007, 34(1):47-49.
- [6] Das S, Der P, Raychaudhuri U, et al. The effect of Euryale ferox(makhana), an herb of aquatic origin, on myocardial ischemic

reperfusion injury[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2006, 289(1-2):55-63.

- [7] Zhao H R, Zhao S X, Sun C Q, et al. Glucosylsterols in extracts of Euryale ferox identified by high resolution NMR and mass spectrometry[J]. Journal of Lipid Research, 1989, 30:1633-1637.
- [8] 李美红, 杨雪琼, 万直剑, 等. 芡实的化学成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(1):24-26.
- [9] 陈蓉, 吴启南, 沈蓓. 不同产地芡实氨基酸组成分析与营养价值评价[J]. 食品科学, 2011, 32(15):239-244.
- [10] 陈蓉, 陈广云, 沈蓓, 等. 基于共有峰率和变异峰率双指标序列分析法的芡实红外指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2012, 23(23):13-15.
- [11] 朱芳坤, 汤长青, 曲黎. 不同产地芡实中8种无机元素含量比较研究[J]. 光谱实验室, 2010, 27(4):1432-1434.
- [12] 张然, 王晶, 张悦, 等. 不同产地芡实营养成分分析[J]. 粮食工程, 2010, 12(2):68-70.
- [13] 陈蓉, 沈蓓, 吴启南. 基于主成分分析和聚类判别模式对不同产地芡实HPLC指纹图谱研究[J]. 中成药, 2012, 23(23):2141-2146.
- [14] 陈蓉, 吴启南. 响应面法优化芡实种皮多酚的提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(13):205-210.
- [15] 张余, 贾小丽, 孙艳辉, 等. 芡实多酚提取条件分析[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(2):83-86.
- [16] 李晓旭, 栗宏林, 林善枝, 等. 不同种源黄连木种子百粒重及含油量的比较分析[J]. 2008, 15(6):11-12.
- [17] 张静, 余家进, 戴建辉, 等. 中药提取物中总黄酮的分析研究[J]. 云南民族大学学报:自然科学版, 2010, 19(6):414-416.
- [18] 杜淑霞, 欧仕益, 徐丽, 等. 奶茶中茶多酚测定方法的改进[J]. 食品工业科技, 2010, 3(4):358-360.
- [19] 杨磊, 苏文强, 汪振洋, 等. 落叶松树皮提取物中低聚原花青素含量测定方法的研究[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(S1):111-114.
- [20] 张余, 张国权, 郑建梅, 等. 安徽芡实营养特性分析[J]. 中国食品添加剂, 2010(2):206-209.

(上接第77页)

- 定—反滴定法[J]. 食品研究与开发, 2001, 23(3):54-55.
- [4] 于晓萍. 分光光度法快速测定蔬菜水果中V_C的含量[J]. 河北化工, 2007, 30(11):76-77.
- [5] 张秀芹, 王敏, 顾莹, 等. HPLC检测食品中L-抗坏血酸、D-异抗坏血酸及抗坏血酸总量[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(9):2056-2058.
- [6] 张攀, 刘梅, 付建, 等. 高效液相色谱法检测肉制品中L-抗坏血酸与D-异抗坏血酸[J]. 现代农业科技, 2010, 17(2):353-355.
- [7] 张清, 李刚. 高压液相色谱法同时测定食品中抗坏血酸与异抗坏血酸的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(1):251-256.
- [8] 陈雪, 吴林, 李刚, 等. 食品中总抗坏血酸和总异抗坏血酸HPLC法测定[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(2):160-161.
- [9] 任一平, 黄伯芬, 俞荣华. 应用反相高效液相色谱法快速测定食品中L-抗坏血酸与D-异抗坏血酸[J]. 食品与发酵工业, 1993, 7(2):12-17.
- [10] GOURMEL C, ALEXANDRE G P, WALLER L, et al.

Evaluation and comparison of various separation techniques for the analysis of closely-related compounds of pharmaceutical interest[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1282:172-177.

- [11] PERRENOUD A G, VEUTJEY J L, GUILLARME D. Analysis of basic compounds by supercritical fluid chromatography: Attempts to improve peak shape and maintain mass spectrometry compatibility[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1266:158-167.
- [12] PERRENOUD A G, BOCCARD J, VEUTJEY J L, et al. Comparison of ultra-high performance supercritical fluid chromatography and ultra-high performance liquid chromatography for the analysis of pharmaceutical compounds[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1262:205-213.
- [13] 徐永威, 孙庆龙, 黄静, 等. 沃特世超高效合相色谱系统—ACQUITY UPC²[J]. 现代科学仪器, 2012, 10(5):153.
- [14] 刘倩倩, 周围, 王波, 等. 超高效合相色谱直接测定V_C方法[J]. 食品科学, 2014, 35(16):208-211.