

# Determination of Total Flavonoids in the Different Breeds of Pomegranate Rind

Jianwen Chen<sup>1</sup>, Mengjie Liang<sup>2</sup>, Shuangfeng Wu<sup>2</sup>, Fangning Lou<sup>2</sup>, Run Sun<sup>2</sup>, Jianbing Yang<sup>3</sup>, Yadong Guo<sup>2</sup>, Liang Deng<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Honghe Health Vocational College, Mengzi Yunnan

<sup>2</sup>College of Pharmaceutical Sciences and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

<sup>3</sup>The First People's Hospital of Honghe State, Mengzi Yunnan

Email: \*dengliangkmmc@163.com

Received: Apr. 30<sup>th</sup>, 2018; accepted: May 15<sup>th</sup>, 2018; published: May 22<sup>nd</sup>, 2018

## Abstract

The total flavonoids in four different breeds of pomegranate rind were determined with UV. The wavelength was 360 nm. The results showed that the linear range was 7.76 - 38.80 µg/ml and the average recovery was 91.8%. The orthogonal test showed that the optimum conditions of ultrasonic extraction were: 60% (v/v) ethanol, 1:20 solid-liquid ratio and 2 h extract time. This method is simple, rapid, and can be used for the determination of total flavonoids of pomegranate rind.

## Keywords

Pomegranate Rind, Total Flavonoids, UV, Determination

# 不同品种石榴皮中总黄酮的含量测定

陈建雯<sup>1</sup>, 梁梦洁<sup>2</sup>, 吴双凤<sup>2</sup>, 娄方宁<sup>2</sup>, 孙润<sup>2</sup>, 杨剑兵<sup>3</sup>, 郭亚东<sup>2</sup>, 邓亮<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>红河卫生职业学院, 云南 蒙自

<sup>2</sup>昆明医科大学, 药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明

<sup>3</sup>红河州第一人民医院, 云南 蒙自

Email: \*dengliangkmmc@163.com

收稿日期: 2018年4月30日; 录用日期: 2018年5月15日; 发布日期: 2018年5月22日

\*通讯作者。

文章引用: 陈建雯, 梁梦洁, 吴双凤, 娄方宁, 孙润, 杨剑兵, 郭亚东, 邓亮. 不同品种石榴皮中总黄酮的含量测定[J]. 药物资讯, 2018, 7(3): 46-51. DOI: 10.12677/pi.2018.73009

## 摘要

应用紫外分光光度法测定了四个不同品种的石榴皮样品总黄酮的含量。检测波长360 nm, 结果表明, 其线性范围为7.76~38.80  $\mu\text{g/ml}$ , 平均回收率为91.8%。正交试验表明其样品的最佳超声提取条件是: 60%的乙醇, 料液比为1:20, 超声提取时间2小时; 该方法简便准确重复性好, 可用于测定石榴皮中总黄酮的含量。

## 关键词

石榴皮, 总黄酮, 紫外分光光度法, 含量测定

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

石榴是石榴科 Punicaceae 石榴属 *Punica* L. 植物, 品种分类较多, 石榴原产伊朗、阿富汗等中亚地区, 相传为西汉张骞出使西域时引进中国, 目前主要分布于陕西、山东、安徽、四川、云南、新疆等地[1]。石榴皮是《中国药典》收载的品种[2], 《本草纲目》记载: “石榴皮主蛔虫”, 中医认为, 石榴味甘、酸、涩, 性温, 归肺、肾和大肠经, 具有生津止渴、收敛止泻、止血、杀虫和解酒等功效, 石榴皮具有涩肠止泻、抗病毒、抗氧化、抑菌、驱虫等功能[3]。临床上石榴皮煎剂可治疗痢疾和腹泻, 浸剂可治疗结肠炎和胃痛等。石榴皮中含有黄酮、多酚、鞣质、有机酸等多类化合物[4] [5], 总黄酮是其主要有效成分之一[6]。本文采用紫外分光光度法测定了不同品种石榴皮中总黄酮的含量。

## 2. 仪器和试剂

1) 四个不同品种的石榴样品购自云南省蒙自市当地农贸市场。

2) 仪器为紫外-可见分光光度计(TU1810, 北京普析), 超声提取器(SK3200H, 上海仪器制造厂), 电热鼓风干燥器(101-1AB 型, 天津市泰斯特仪器有限公司), 芦丁对照品(自制, 经 HPLC 检测纯度达到 98%), 其他试剂为分析纯。

3) 供试品溶液制备: 将新鲜石榴的皮剥下, 洗干净后剪小, 置于电热鼓风干燥箱中 70 度加热干燥 12 小时, 粉碎后过 100 目筛, 备用。

4) 对照品溶液制备: 精密称量 9.7 mg 的芦丁对照品于 25 mL 的容量瓶中, 用乙醇溶解后定容, 得到浓度为 0.3880 mg/ml 的对照品溶液。

## 3. 实验方法与结果

### 3.1. 提取条件优化

#### 3.1.1. 乙醇体积分数对提取率的影响

精密称取石榴皮粉末三份各 1 g, 精密称定后放入 100 ml 容量瓶中, 将提取的料液比(g/ml)固定为 1:20, 超声时间固定为 2 h, 设定不同体积分数的溶剂: 50%乙醇、60%乙醇、70%, 80%乙醇, 加入提取溶剂,

提取完成后分别用不同体积分数的溶剂定容，过滤后精密量取 1 ml，用溶剂定容到 50 ml，于 360 nm 波长处测定吸光度，结果见图 1，可见 60%乙醇的提取效果最好。

### 3.1.2. 料液比对提取率的影响

固定 60%乙醇浓度、提取时间 2 h，考察料液比为：1:10，1:15，1:20，1:25 对提取率的影响，提取及处理过程同 2.1.1，测定结果见图 2。可见 1:20 的料液比提取效果最好。

### 3.1.3. 超声时间对提取率的影响

固定提取溶剂为 60%的乙醇溶液，料液比为 1:20，通过改变超声的提取时间来考察时间对提取率的影响，时间定为：1 h、1.5 h、2.0 h、2.5 h，提取及处理过程同 2.1.1，测定结果见图 3。可见 2 h 的超声时间提取效果最好。

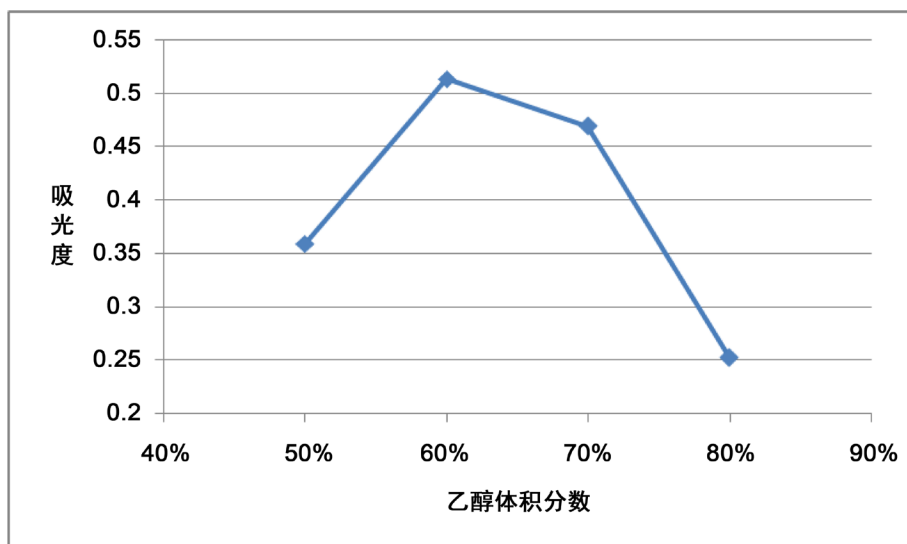


Figure 1. The effect of ethanol volume fraction on extraction rate

图 1. 乙醇体积分数对提取率的影响

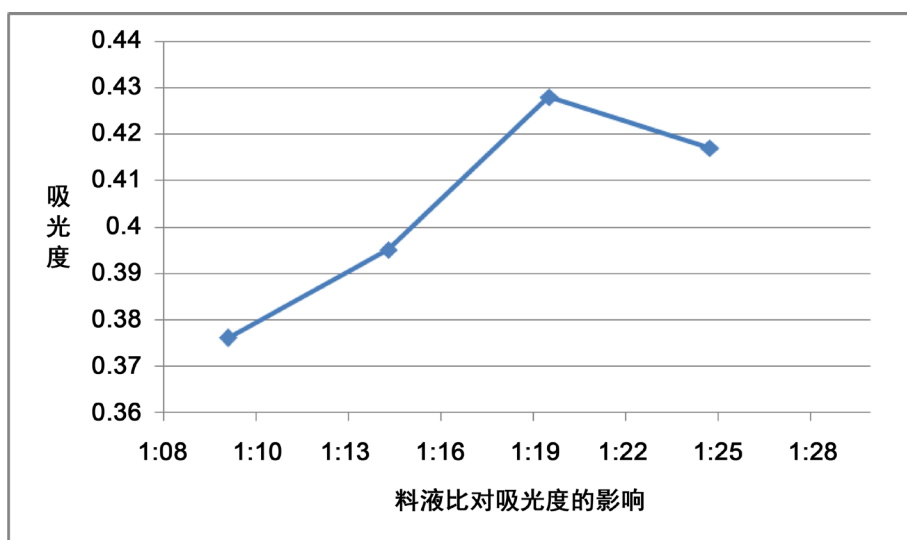


Figure 2. The effect of feed liquid ratio on extraction rate

图 2. 料液比对提取率的影响

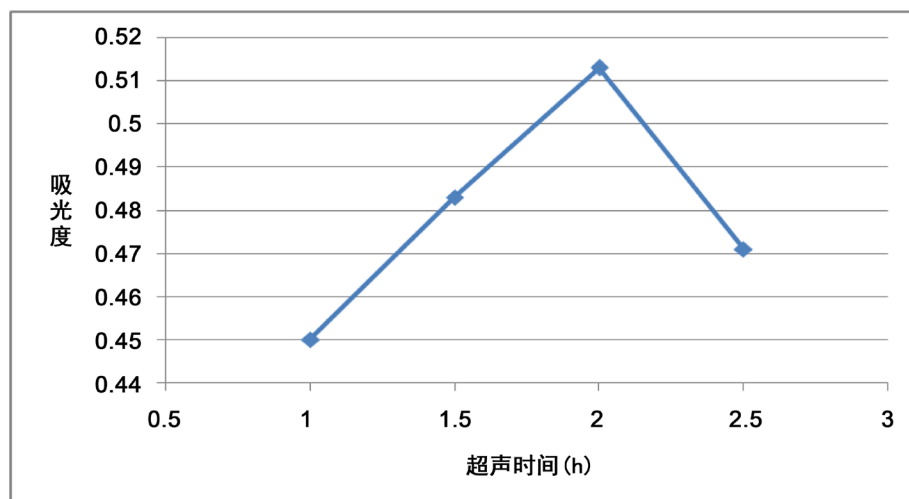


Figure 3. The effect of ultrasonic time on extraction rate

图 3. 超声时间对提取率的影响

Table 1. Orthogonal test header

表 1. 正交试验表头

水平因素	A(乙醇浓度)/(%, v/v)	B(提取时间)/(h)	C(料液比)/(g/ml)
1	50	1.5	1:15
2	60	2.0	1:20
3	70	2.5	1:25

### 3.1.4. 正交试验设计

通过以上单因素实验，确定了最好的超声提取单因素试验条件，由于各因素间存在交互作用，单因素试验不能全面的反应各因素间的相互作用，所以选择正交试验来考察各因素对提取率的影响，采用三因素三水平的  $L_9(3^3)$  超声提取正交试验，确定最佳提取条件参数。因素水平见表 1。

### 3.1.5. 正交试验结果及分析

$L_9(3^3)$  正交试验中各因素和水平组建的 9 种组合方式、试验结果及分析见表 2 和表 3，因为称取相同重量的样品，所以用吸收度代替提取率。

从表 2 可以看出，最佳工艺组合是  $A_2B_2C_3$ ，对极差贡献最大的是 C 因素，其次是 A 因素，B 因素影响最小。可见料液比在提取过程中有重要作用。

## 3.2. 方法学讨论

### 3.2.1. 线性关系考察

取 1.4 配制的 0.3880 mg/ml 的对照品溶液，分别精密吸取 1.0, 1.6, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0 ml 于 50 ml 容量瓶中，用乙醇稀释至刻度，在 360 nm 波长处测定吸收度(A)，以吸收度为纵坐标(Y)，浓度( $\mu\text{g/ml}$ )为横坐标(X)，得到线性回归方程： $Y = 0.0226X - 0.0374$ ，相关系数  $r = 0.9978$ ， $n = 6$ ，表明总黄酮在 7.76~38.80  $\mu\text{g/ml}$  浓度范围内有良好的线性关系。

### 3.2.2. 精密度试验

取对照品溶液，适当稀释后，于 360 nm 波长处测定吸收度，平行测定 5 份，由测得的吸收度计算

**Table 2.** Orthogonal test analysis table  
**表 2.** 正交试验直观分析表

试验号	A	B	C	D(空列)	吸收度
1	1	1	1	1	0.318
2	1	2	2	2	0.280
3	1	3	3	3	0.346
4	2	1	2	3	0.328
5	2	2	3	1	0.417
6	2	3	1	2	0.306
7	3	1	3	2	0.301
8	3	2	1	3	0.330
9	3	3	2	1	0.311
I	0.944	0.947	0.954		
II	1.051	1.022	0.919		
III	0.942	0.963	1.064		
R	0.109	0.080	0.145		

**Table 3.** Analysis of variance  
**表 3.** 方差分析

来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	p 值
A	0.9610	2	0.4805	0.9995	0.4098
B	0.9596	2	0.4798	0.9981	0.4102
C	0.9623	2	0.4811	1.0008	0.4093

从方差分析的结果看, A、B、C 三个因素对提取率没有显著性差异。

RSD 为 1.73%, 表明测定的精密度良好。

### 3.2.3. 重复性试验

取同一样品 5 份, 精密称定, 用 60% 的乙醇, 按 1:20 的料液比超声提取 2 h, 过滤取滤液适当稀释后在 360 nm 波长处分别测定吸收度, 由测得的吸收度计算 RSD = 1.89%, 说明重复性良好。

### 3.2.4. 稳定性试验

取 3.2.3 得到的同一个供试品溶液, 室温放置, 分别于 0 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 于 360 nm 测定吸收度值, 计算得到其 RSD = 1.39%。说明样品在 5 h 内稳定性良好。

### 3.2.5. 加标回收率试验

精密称取已经测定含量的同一个供试品 4 份, 分别加入一定量的芦丁对照品溶液, 按供试品制备和测定方法操作。计算其平均加标回收率为 91.8%, RSD 为 3.40%。

## 3.3. 样品测定

取不同品种的石榴皮样品各约 0.5 g, 精密称定, 用 60% 的乙醇按 1:20 的料液比超声提取 2 h 后定容至 100 ml, 过滤后精密量取续滤液 1 ml 用 60% 乙醇定容到 25 ml, 在 360 nm 波长处分别测定吸收度。计算其含量测定结果为(干重): 甜绿籽 9.40%; 甜光颜 7.42%; 酸绿子 10.94%; 酸沙子 11.83%。

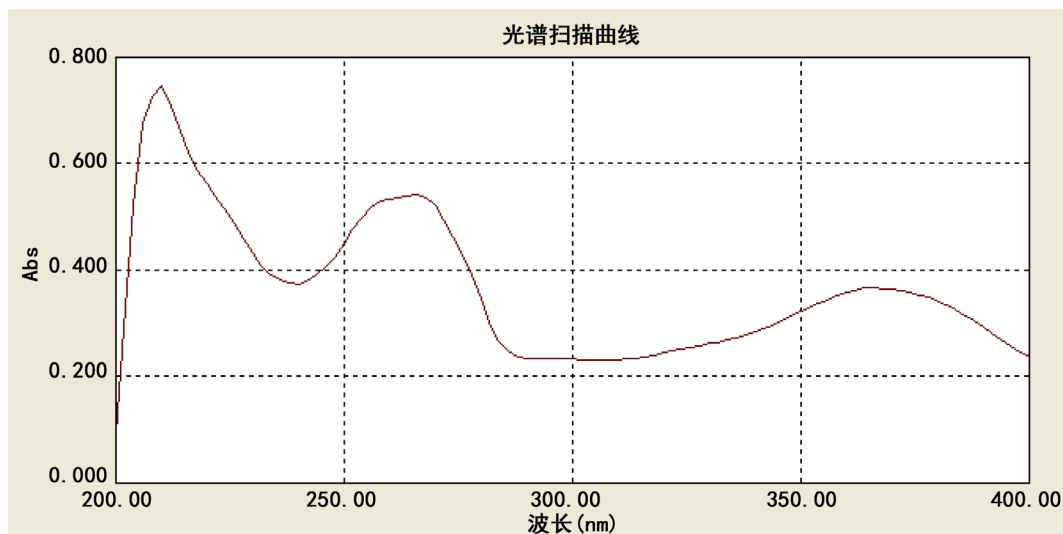


Figure 4. The ultraviolet spectral scanning of rutin  
图 4. 芦丁对照品的紫外光谱扫描图

#### 4. 讨论

1) 测定波长的选择: 用 0.01164 mg/ml 的芦丁对照品溶液, 在 200~400 nm 波长范围内扫描, 可见在 210 nm, 268 nm 和 360 nm 处有最大吸收(见图 4), 360 nm 波长处峰平坦并且干扰少, 所以选择 360 nm 作为本实验的测定波长, 文献[7]则用 258 nm 测定。

2) 本文比较了超声提取和热回流提取, 其提取率差别很小, 而超声提取简便快速, 所以选择用超声提取处理样品。其他提取方法还有水提醇提, 微波提取[8]等。

3) 本文所测定四个品种的石榴皮中总黄酮含量, 酸的品种比甜的品种含量高, 与同样样品测定没食子酸的含量一致[9], 该方法简便, 快速, 测定的准确度, 精密度和线性关系都令人满意, 可以用于石榴皮中总黄酮的测定。

#### 基金项目

云南省教育厅科学研究基金项目资助(2016ZDX225), 云南省科技厅 - 昆明医科大学应用基础研究联合专项资金项目[2017FE468(-186)]。

#### 参考文献

- [1] 胡正梅, 马清河. 石榴的化学成分与药理活性研究进展[J]. 新疆中医药, 2015, 33(1): 74-77.
- [2] 中华人民共和国药典(2015年版)一部[M]. 北京: 中国医药工业出版社, 2015: 93.
- [3] 滕碧蔚. 石榴皮的研究与应用进展[J]. 大众科技, 2013, 15(2): 59-61.
- [4] 杨丽平. 石榴皮的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2004(3): 45-47.
- [5] 邓佩欣, 周文财, 高雅媛, 等. HPLC 法同时测定石榴皮中 4 种多酚类成分的含量[J]. 广州化工, 2017, 45(2): 107-109.
- [6] 林勇. 石榴皮的化学、药理与临床研究概述[J]. 中药材, 2010(11): 1816-1818.
- [7] 牛俊乐, 黄斌, 黄秋月. 石榴皮中黄酮类化合物提取工艺优化及含量测定[J]. 安徽农学通报, 2017, 23(4): 74-75.
- [8] 霍文, 张卫国, 王雅宁. 石榴皮总黄酮的微波提取工艺及含量测定研究[J]. 合理用药呵护公众健康, 2013, 10(10): 19-23.
- [9] 陈建雯, 王雪, 林彦君, 等. 不同品种石榴皮中没食子酸的含量测定[J]. 药物资讯, 2018, 7(2): 10-14.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-441X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[pi@hanspub.org](mailto:pi@hanspub.org)