

诺丽发酵果汁中总香豆素质量浓度的测定

梁寒峭, 陈建国, 张露, 程池*

(中国食品发酵工业研究院 中国工业微生物菌种保藏管理中心, 北京 100015)

摘要:以东茛菪内酯为对照品,建立诺丽发酵果汁中总香豆素的质量浓度测定方法,结果显示东茛菪内酯在 0~0.020 mg/mL 线性范围良好, $r=0.999\ 2$; 平均回收率为 102.44%, $RSD=1.81\%$ ($n=9$)。采用紫外分光光度法对不同发酵时间的诺丽果汁中总香豆素成分进行质量浓度测定,质量浓度在 0.176~0.243 mg/mL 范围内。本实验建立的质量浓度检测方法简单、迅速、准确、重复性好,适用于液体样品中香豆素成分质量浓度的测定。检测结果表明:随着发酵时间的增长,诺丽果汁中香豆素类成分的质量浓度变化不大。

关键词: 诺丽发酵果汁; 总香豆素; 紫外分光光度法; 质量浓度测定

中图分类号: R 917 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)02-0202-04

Determination of Coumarins Content in Noni Fermented Juice

LIANG Hanqiao, CHEN Jianguo, ZHANG Lu, CHENG Chi*

(China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, China Center of Industrial Culture Collection, Beijing 100015, China)

Abstract: To establish a method for the total coumarins content at the wavelength of 348 nm, scopoletin was used as the reference substance. The linear range was 0~0.020 mg/mL, $r=0.999\ 2$. The average recovery was 102.44%, $RSD=1.81\%$ ($n=9$). Ultraviolet spectrometry was developed to determine total coumarins in noni juice fermented with different time. The contents of Noni juice fermented with 25~500 d were in 0.176~0.243 mg/mL range. This method is simple, rapid, accurate and repeatability, which can be applicable for determination of coumarins content in liquid samples and the result was stable with the fermentation time extended.

Keywords: noni fermented juice, total coumarins, ultraviolet spectrometry, determination

诺丽 (Noni) 学名为海巴戟 (*Morinda citrifolia* Linn.), 茜草科 (Rubiaceae) 巴戟天属 (*morinda*) 植

物,原产于南太平洋群岛、东南亚和澳大利亚等地^[1]。传统上,将诺尼的根、树皮、茎、叶和果实用作偏方

收稿日期: 2015-07-24

基金项目: 中国食品发酵工业研究院科技发展基金(博士基金)项目(15院科-博士02)。

作者简介: 梁寒峭(1986—),女,北京市人,高级工程师,医学博士,主要从事药用植物及食品原材功效物质研究。

E-mail: lianghanqiao@china-cicc.org

* 通信作者: 程池(1962—),男,河南开封人,理学学士,硕士研究生导师,教授级高级工程师,主要从事生物化学研究。

E-mail: cheng100027@163.com

引用本文: 梁寒峭,陈建国,张露,等. 诺丽发酵果汁中总香豆素质量浓度的测定[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(2):202-205.

治疗糖尿病、高血压和癌症^[2-4]。现今广泛应用诺丽发酵果汁来预防与生活方式相关的疾病,如糖尿病、高血压、心脏病和动脉硬化引起的脑溢血^[3-4]。

已有研究表明多酚类物质是诺丽植物中重要的活性成分,在发酵果汁中的质量浓度可达 1.14 mg/mL^[5]。目前从诺丽果实、根、茎和叶中分离得到酚类化合物主要有黄酮类、香豆素类、木脂素类和酚酸类,其中香豆素是一类具有抗肿瘤,抗炎,抗病毒,保肝及抑制血小板活化因子(PAF)等生理活性的成分^[6]。研究报道从诺丽果实中分离得到香豆素类成分如东莨菪亭(scopoletin)、异东莨菪亭(isoscopoletin)、东莨菪苷(scopolin)对脂肪氧合酶和低密度脂蛋白氧化反应具有明显地抑制作用,并且对黑色素的生成也具有抑制活性^[7-9],此外从诺丽叶中也分离得到了香豆素类成分 pteryxin 和 peucedanocoumarin III^[10],但目前仍未见诺丽发酵果汁中香豆素成分含量的文献报道。因此本研究建立了香豆素成分含量的测定方法,并对不同发酵时间的诺丽果汁样品进行了含量的测定与比较。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

UNICO-JV2000 紫外分光光度计,北京五洲东方科技发展有限公司产品;AB204-N 万分之一电子天平,瑞士梅特勒仪器有限公司产品;电子天平,METTLER-TOLEDO 公司产品;离心机,Eppendorff 公司产品。

诺丽发酵果汁由海南诺尼生物工程开发有限公司提供;东莨菪内酯对照品由北京盈泽纳新化工技术研究院提供(批号 14081804),甲醇、乙醇等其它试剂均为分析纯,北京化工厂生产。

1.2 样品溶液的制备

精密量取样品 10.0 mL,置于 100 mL 的容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,精密移取 31.25 mL 置于 100 mL 的容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀离心,上清液即得样品溶液。

1.3 对照品溶液的制备

精密称取东莨菪内酯(scopoletin)对照品 11.20 mg 置于 50 mL 的容量瓶中,用甲醇溶解,制成母液。精密移取 3 mL 母液置于 10 mL 的容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得标准溶液。

2 结果与讨论

2.1 测定波长的选择

吸取对照品溶液和样品溶液在 190~400 nm 波长范围内进行扫描,结果见图 1 和图 2。

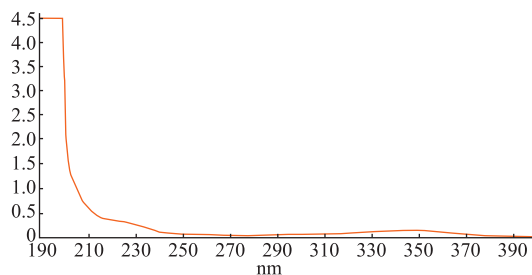


图 1 对照品溶液吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectrum of reference

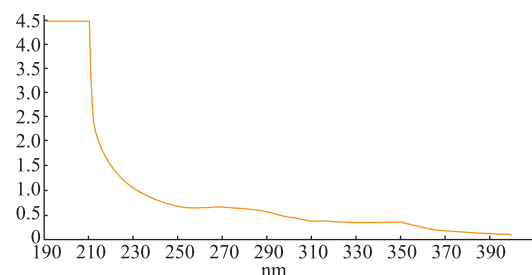


图 2 样品溶液吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectrum of sample

由上图可知,对照品溶液和样品溶液在 348 nm 处都有最大吸收峰,因此确定 348 nm 为测定波长。

2.2 线性关系考察

精密吸取东莨菪内酯标准溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置于 10 mL 的容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配制成系列质量浓度的对照品溶液,在 348 nm 处进行测定,并以吸光度(y)对质量浓度(x)进行线性回归,绘制标准曲线,得回归方程: $y=0.0677x+0.0198$ ($r=0.9992$),结果表明对照品在 0~0.020 mg/mL 具有良好的线性关系。

2.3 精密度试验

取 1.2 项下制备的样品溶液,以甲醇为空白对照,连续 6 次测定其在 348 nm 处的吸光度,计算 RSD 为 0.16%,表明仪器精密度良好。

2.4 重复性试验

取 1.2 项下制备的样品溶液,以甲醇为空白对照,在 348 nm 处测定吸光度,测得其吸光度并计算 RSD 值为 1.88%,表明样品的重复性良好($n=6$)。

2.5 稳定性试验

精密吸取东莨菪内酯对照品溶液,分别在0、10、20、40、80、120、240 min 时 348 nm 处进行紫外测定,测得吸光度并计算 RSD 值为 0.62%,表明对照品在 240 min 内的稳定性良好。取 1.2 项下制备的样品溶液,分别在 0、10、20、40、80、120、240 min,以甲醇为空白对照,在 348 nm 处测定吸光度,测得其吸光度并计算 RSD 值为 1.34%,结果表明样品在 240 min 内的稳定性良好。

2.6 加样回收率的考察

精密量取 1.2 项下所配样品溶液 9 份,各 1.0 mL 分别置于 5 mL 的容量瓶中,精密量取对照品标准液 1.00 mL(0.067 2 mg),1.35 mL(0.090 7 mg),1.60 mL(0.107 5 mg)3 个水平各 3 份加入样品溶液中,加甲醇稀释至刻度,并以甲醇为空白对照,在 348 nm 处测定吸光度,由标准曲线计算平均回收率为 102.44%,RSD 为 1.81%,结果见表 1,表明该测定方法准确可靠。

表 1 样品加样回收率试验结果
Table 1 Recovery test of the samples

	样品中东莨菪内酯质量/mg	加入对照品的质量/mg	回收对照品的质量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.091 0	0.067 2	0.070 3	104.62	102.44	1.81
2		0.067 2	0.069 6	103.52		
3		0.067 2	0.069 7	103.74		
4		0.090 7	0.091 0	100.31		
5		0.090 7	0.091 1	100.48		
6		0.090 7	0.090 2	99.50		
7		0.107 5	0.111 2	103.46		
8		0.107 5	0.111 5	103.74		
9		0.107 5	0.110 3	102.64		

2.7 样品测定

精密量取 4 个不同发酵时间的诺丽果汁样品,按照 1.2 项下方法制备供试品溶液,以甲醇为空白对照,在 348 nm 处测定吸光度,由标准曲线计算香豆素质量浓度。发酵 25 d 至 500 d 的诺丽果汁中香豆素质量浓度在 17.59~24.26 mg/dL 范围内,结果见表 2。

表 2 不同发酵时间诺丽果汁的香豆素质量浓度结果
Table 2 Coumarins content in Noni juice with different fermented time

发酵时间/d	吸光度	稀释倍数	质量浓度/(mg/dL)
25	0.392	32	17.59
100	0.409	32	18.34
250	0.443	32	20.00
500	0.533	32	24.26

3 结 语

本实验建立的紫外分光光度法测定诺丽发酵果汁中总香豆素质量浓度的方法简便快捷且稳定可靠,适用于液体类样品中香豆素成分质量浓度的检测。

前期文献报道诺丽植物中所含香豆素主要为吡喃型香豆素,已分离得到东莨菪内酯、异东莨菪内酯、东莨菪苷,东莨菪内酯具有解热、舒张血管和抑制 PC3 细胞增殖与诱导凋亡等生理活性^[11-13],是诺丽发酵果汁中的一类重要活性物质。本研究结果显示诺丽发酵果汁中香豆素成分的质量浓度随发酵时间的增长变化不大,表明此类成分在发酵过程中较稳定。本研究为后期诺丽发酵工艺的研究及相关生产的质量控制奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 黄婧婧. 海巴戟果化学成分研究及药理活性初步筛选[D]. 北京:北京协和医学院,2011.
- [2] WANG M Y, WEST B J, JENSEN C J. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research[J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23: 1127-1141.
- [3] HIRAZUMI A, FURUSAWA E, CHOU C, et al. Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia*

- (noni) fruit juice[J]. *Proc West Pharmacol. Soc*, 1996, 39: 25-27.
- [4] KAMIYA K, TANAKA Y, ENDANG H, et al. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation.[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 22; 52(19): 5843-5848.
- [5] CHEN Jianguo, LI Xue, LI Jinxia, et al. Determination of total polyphenol content in Xisha noni juice[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2014, 42(29): 10127-10128. (in Chinese)
- [6] LIN C F, NI C L, HUANG Y L, et al. Lignans and anthraquinones from the fruits of *Morinda citrifolia*[J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(13): 1199-1204.
- [7] SIDDIQUI S, SATTAR A, AHMAD F, et al. Isolation and structural elucidation of chemical constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn[J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30(8): 919-923.
- [8] BEH H K, SEOW L J, ASMAWI M Z, et al. Anti-angiogenic activity of *Morinda citrifolia* extracts and its chemical constituents. [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(16): 1492-1497
- [9] DENG S, PALUK, WEST J, et al. Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni(*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti [J]. *Nat Prod*, 2007, 70(5): 859-862.
- [10] TAKASHIMA J, IKEDA Y, KOMIYAMA K, et al. New constituents from the leaves of *Morinda citrifolia*[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2007, 55(2): 343-345.
- [11] YANG Ke, ZENG Chunhui. Experimental studies on antipyretic mechanisms of scopoletin[J]. *Chinese Journal of Drug Application and Monitoring*, 2006, 3(27): 24-27. (in Chinese)
- [12] LIU Xueli, ZHANG Liang, FU Xinlu, et al. Effect of scopoletin on PC3 cell proliferation and apoptosis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(10): 929-933. (in Chinese)
- [13] OLIVEIRA J, ROMERO A, SILVA S, et al. Intracellular calcium mobilization as a target for the spasmolytic action of scopoletin [J]. *Planta Med*, 2001, 67(7): 605-608.

科技信息

欧盟发布二氧化硅作为食品添加剂的安全评估报告

2018年1月18日,欧洲食品安全局(EFSA)发布 10.2903 / j.efsa.2018.5088 文件,发布二氧化硅(silicon dioxide, E 551)作为食品添加剂的安全评估报告。根据法规(EC)No 1333/2008 的附录 II 和附件 III,合成无定形二氧化硅(SAS)被授权在欧盟(EU)作为食品添加剂,目前对其安全性重新评估,经评估,小组得出结论:欧盟关于二氧化硅的规范不足以充分表征用作食品添加剂的二氧化硅,应包括描述(如中位数等)、纳米尺度等,所采用的测量方法应符合 EFSA 指导文件,从现有数据库中无报告得出使用二氧化硅(E 551)的限量要求,由于上述可用数据库的限制,无法确认目前的“未指定的”ADI。小组建议对二氧化硅的欧盟规范进行一些修订。

[信息来源]国家质量监督检验检疫总局. 欧盟发布二氧化硅作为食品添加剂的安全评估报告 [EB/OL]. (2018-1-20). <http://www.aqsiq.gov.cn/>