

## HPLC 法检测明绿萌动过程中牡荆素和异牡荆素含量变化规律

万娅琼, 程江华, 吴翔 (安徽省农业科学院农产品加工研究所, 安徽合肥 230031)

**摘要** [目的]为更好地利用安徽明绿资源,开展了绿豆萌动试验中牡荆素和异牡荆素的含量变化规律及其高效液相色谱法(HPLC)检测方法研究。[方法]对安徽特产明绿进行萌动40 h,每4 h取样1次,并用HPLC方法对样品中牡荆素、异牡荆素含量进行检测。[结果]萌动过程中牡荆素、异牡荆素基本上处于波动下降趋势,但在萌动8 h时含量最高,分别为0.57、1.02 mg/g,在16 h时含量最低,并且异牡荆素含量是牡荆素含量的2倍左右。[结论]HPLC法检测牡荆素、异牡荆素方法可靠,明绿萌动过程中,8 h时牡荆素、异牡荆素含量较高。

**关键词** 明光绿豆;牡荆素;异牡荆素;萌动

**中图分类号** TS205 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)25-0105-02

## Analysis on the Change Regulation of Vitexin and Isovitexin Content during Germinating of Mung Bean by HPLC Method

WAN Ya-qiong, CHENG Jiang-hua, WU Xiang (Institute of Farm Product Processing, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

**Abstract** [Objective] In order to make better use of Anhui Mingguang mung bean resources, the vitexin and isovitexin content changes and HPLC detection methods were studied in the experiment of mung bean sprout. [Method] To sprout Mingguang mung bean for 40 h, and take sample 1 time per 4 h, vitexin and isovitexin content were detected by HPLC method. [Result] In the process of germination, the content of vitexin and isovitexin basically was in a downward trend, but in the germination of 8 h was the highest, respectively 0.57 and 1.02 mg/g, at the time of 16 h was the lowest, and the isovitexin basically was about 2 times the contents of vitexin. [Conclusion] HPLC method was used to detect Vitexin, isovitexin, the method is reliable, in the process of germinating mung bean, Vitexin and isovitexin were higher at 8 h.

**Key words** Mung bean; Vitexin; Isoviteixin; Sprouting time

绿豆(Mung bean)为豆科豇豆属绿豆[Vigna radiata (Linn.) Wilczek.]的成熟种子,别名青小豆(因其颜色青绿而得名)、藜豆、植豆等。绿豆原产于中国、印度、缅甸等国家,在我国已有2 000多年的栽培史,现在广泛分布于东亚各国,非洲、欧洲、美国也有少量种植。明绿是安徽明光特产绿豆的简称,因其色泽碧绿、粒大皮薄、汤清易烂、味香爽口等特点和清热解毒、抗过敏等作用,在国内外市场享有很高的声誉。

绿豆营养成分全面,既是调节饮食的佳品,又是食品工业的重要原料,也是重要的药材和化妆品添加剂。中医认为,绿豆味甘、性凉、归心胃经,具有清热解毒、解暑除烦、利水消肿、清胆养胃、润肠通便、明目、降血糖、降血压、降血脂、抗肿瘤、抗过敏、保护肝脏和心血管、增强免疫力、排铅等功效<sup>[1]</sup>。现代研究表明,这些功效与绿豆中含有的功能成分天然植物黄酮苷类化合物牡荆素和异牡荆素相关<sup>[2]</sup>。牡荆素和异牡荆素的生物活性已引起国内外研究人员的极大关注,近年来就牡荆素抗心肌梗死<sup>[3]</sup>、抗炎镇痛<sup>[4]</sup>、降血压、抗菌、抗氧化<sup>[5]</sup>、抗肿瘤<sup>[6]</sup>等方面药理作用进行了大量的研究。由于牡荆素和异牡荆素是同分异构体<sup>[7]</sup>,基本结构均为二羟基异黄酮,因此2个化合物在液相色谱条件下常合并在一起较难分离。该研究通过优化色谱条件,使牡荆素和异牡荆素两峰得到很好地分离,且峰形良好,出峰时间短,提高了工作效率。

笔者以安徽明绿为原料,研究其萌发过程中牡荆素和异

牡荆素的变化规律,旨在为开发明绿深加工产品提供实践依据。同时为更好地满足人们对天然活性成分牡荆素日益增长的需求,使其为人类的健康和保健做出更大贡献,也为人们以绿豆及其萌芽作为食品、保健品及化妆品原料的高效应用提供依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

**1.1.1 原料与主要试剂。**原料:明光绿豆,徽王食品有限公司;绿豆不同时间萌动的样品(包括实验室和中试样品)。主要试剂:乙醇(分析纯)、乙酸(色谱纯)、乙腈(色谱纯),上海国药集团化学试剂有限公司;娃哈哈纯净水;牡荆素、异牡荆素标准品,上海优纯生物科技有限公司。

**1.1.2 仪器设备。**Shimadzu LC-20A 高效液相色谱仪,紫外检测器;Alltech C<sub>18</sub>柱(4.6×250 mm, 5 μm)色谱柱;电热鼓风干燥箱,型号DHG-9023A;生化培养箱,型号SPX-70;超声波清洗仪,型号XO25-12DTD;电子天平,型号ML104;旋转蒸发仪,型号N-1100。

## 1.2 方法

**1.2.1 绿豆萌动工艺**<sup>[8]</sup>。绿豆→筛选→清洗→消毒→纯水清洗→浸泡→发芽→取样→干燥→粉碎。

**1.2.2 对照品溶液的制备。**精确称量牡荆素、异牡荆素标准品20 mg,加甲醇制成0.1 mg/mL的母液,备用。

**1.2.3 明绿萌动后样品处理。**绿豆粉碎,过60目筛,称取1.00 g粉末,按固液比1:20(g:mL)用75%乙醇溶液溶解,超声波振荡60 min,3 000 r/min离心10 min,取上清液用旋转蒸发仪蒸发,再用乙腈定容,过0.45 μm有机膜,滤液备用,此为待测样品溶液。

**1.2.4 牡荆素、异牡荆素的测定色谱条件。**色谱条件:色谱柱为Alltech C<sub>18</sub>,流动相为A为乙腈,B为0.2%乙酸,0~

**基金项目** 公益性行业(农业)科研专项(201403063);安徽省农业科学院科技创新团队项目(14C1207)。

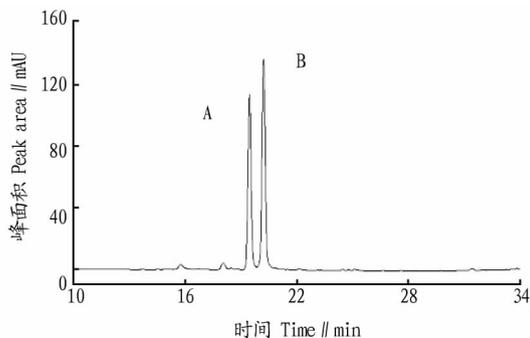
**作者简介** 万娅琼(1972—),女,安徽合肥人,助理研究员,从事农产品储藏加工技术研究。

**收稿日期** 2017-06-18

20 min, B由5%→25%; 20~30 min, B由25%→90%; 流速1 mL/min, 检测波长为365 nm, 柱温箱温度35℃, 样品进样量均为10 μL, 以峰面积(A)和质量浓度(C, mg/L)绘制标准曲线; 按信噪比 $S/N=3$ 计算检测限。

## 2 结果与分析

**2.1 牡荆素和异牡荆素高效液相色谱(HPLC)检测结果** 牡荆素、异牡荆素对照品图谱见图1。由图1可见, 牡荆素出峰时间为19.685 min, 异牡荆素出峰时间为20.392 min。



注: A. 牡荆素; B. 异牡荆素

Note: A. Vitexin; B. Isovitexin

图1 牡荆素、异牡荆素对照品图谱

Fig. 1 Vitexin and isovitexin standard spectrum

**2.2 绿豆萌动工艺及过程中牡荆素、异牡荆素变化规律** 挑选籽粒饱满的明光绿豆, 自来水清洗, 体积分数75%的乙醇消毒5 min, 纯水清洗3遍。在生化培养箱中, 采用培养皿+上盖纱布模式萌动, 及时补充水分, 25℃黑暗试验, 发芽时间设定为从0 h开始, 每4 h取样1次, 到40 h时一共取11个样品, 每个样品取样后及时在高低温培养箱中, 60~70℃下干燥含水量低于14%, 冷却后, 4℃下密封避光保存, 备用。

每个样品按照“1.2.3”的方法处理, 进样, 检测结果见图2。由图2可以看出, 在绿豆萌动过程中牡荆素、异牡荆素和两者总和基本处于波动下降趋势, 在8 h时处于萌动过程中的含量高峰期, 分别为0.57、1.02、1.59 mg/g, 在16 h时含量最低, 分别为0.15、0.34、0.49 mg/g。在0~4和8~16 h时间内, 牡荆素、异牡荆素下降最为明显, 在0~4 h内两者含量分别减少了37.8%和37.5%。整个发芽过程中牡荆素和异牡荆素的含量变化趋势基本一致, 且异牡荆素含量基本保持在牡荆素含量2倍的水平。

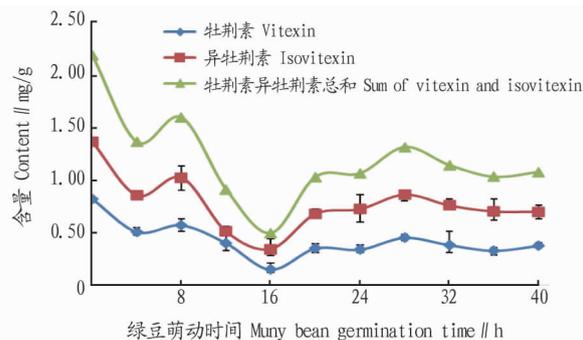


图2 明绿萌动过程中牡荆素和异牡荆素含量变化趋势

Fig. 2 The trend of vitexin and isovitexin content changes during germination of mung bean in Mingguang

## 3 结论与讨论

牡荆素和异牡荆素是绿豆种子中含有的主要黄酮类物质, 这2类物质在绿豆种子中含量最高, 自萌芽开始, 含量呈现波浪式下降趋势, 这说明萌芽绿豆中的牡荆素、异牡荆素可能是作为代谢原点和双向代谢物质, 并且在0~4、8~16 h代谢作用激烈, 逐渐转化为其他物质, 在8、28 h又转化为牡荆素和异牡荆素。因此, 如果要利用萌动的明光绿豆中牡荆素和异牡荆素, 最佳萌动时间为8 h。

试验可知, 萌动后的绿豆具有更广泛的生物活性和丰富的次生代谢产物, 该试验只是考察了牡荆素、异牡荆素在明绿萌动过程中的变化趋势, 其他的蛋白质、氨基酸等未作分析, 课题组下一步拟对萌芽绿豆中其他营养成分变化规律进行分析, 了解绿豆萌动过程中代谢途径及变化规律, 为萌动绿豆在食品等相关领域的利用提供理论依据。

## 参考文献

- [1] 董银卯. 萌芽绿豆抗敏抗氧化活性物质分析及其作用机制研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014: 1-141.
- [2] 顾成波, 蔡曼, 袁肖寒, 等. 牡荆苷的植物资源及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 382-389.
- [3] 李晟, 江勤, 郭岩, 等. 牡荆素对实验性心肌缺血的保护作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 44-47.
- [4] 程建忠, 黄金华. 牡荆素的镇痛及抗炎免疫作用研究[J]. 中国医药指南, 2016, 14(31): 29-30.
- [5] 李春正, 苏艳芳, 靳先军. 牡荆属植物化学成分及生物活性研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(6): 930-938.
- [6] 方呈祥, 孙海燕, 姜浩, 等. 牡荆属植物提取物抗肿瘤作用研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(24): 4796-4797, 4800.
- [7] 冯广卫, 李翠兵, 廖尚高, 等. 荜草素和异荜草素、牡荆素和异牡荆素2对碳苷化合物的快速检测与鉴定[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1263-1268.
- [8] 汪洪涛, 陈成, 余芳, 等. 3种大豆发芽过程中营养成分变化规律研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 30-32, 163.

## 科技论文写作规范——引言

扼要地概述研究工作的目的、范围、相关领域的前人工作和知识空白、理论基础和分析、研究设想、研究方法和实验设计、预期结果和意义等。一般文字不宜太长, 不需做详尽的文献综述。在最后引出文章的目的及试验设计等。“引言”两字省略。