

3 类蚕品种茧蛹中黄酮类物质含量分析

席鹏伟, 吕毅, 林志家, 虞晓华*

(苏州大学基础医学与生物科学学院, 苏州 215123)

摘要: 家蚕体内和丝中含有黄酮类物质, 采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法对其进行测定。结果表明, 绿茧蚕品种茧层中黄酮类物质的含量是黄、紫荧光色茧蚕品种的 5 倍, 后二者蚕品种茧层中黄酮类物质的含量相当; 绿茧蚕品种蚕蛹中黄酮类物质的含量与紫荧光色茧蚕品种的相当, 比黄荧光色茧蚕品种高出 1.3 倍, 3 类蚕品种蚕蛹中该物质的含量都明显高于茧层中的含量。

关键词: 蚕品种; 茧层; 蚕蛹; 黄酮类物质

中图分类号: S881.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)04-0713-04

Analysis of the flavonoid content in three silkworm cocoon layers and pupas

XI Pengwei, LYU Yi, LIN Zhijia, YU Xiaohua

(College of Basic Medicine and Biological Science, Soochow University, Suzhou 215123)

Abstract: The content of flavonoids in silkworm and its silk was determined using $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ colorimetry. The results showed that the flavonoid content in cocoon layers of green silkworm variety was five times higher than that in yellow and purple fluorescent color silkworms and no difference in flavonoid content was observed in cocoon layers of yellow and purple silkworm varieties. The content of flavonoids in cocoon pupas of green cocoon variety was equivalent to that of purple fluorescent color silkworm, but was 1.3 times higher than that in cocoon pupas of the yellow fluorescent color silkworm. The content of flavonoids in three varieties of silkworm pupas were significantly higher than that in cocoon layers.

Key words: silkworm race; cocoon layer; silkworm pupa; flavonoids

黄酮类物质(flavonoids)是一类植物色素的总称, 为三元环化合物, 又称生物黄酮(bioflavonoids)或植物黄酮, 是植物在长期自然选择过程中产生的一些次级代谢产物。黄酮类化合物有着广泛的生物活性和多种药理活性^[1], 是一类小分子的天然活性物质, 广泛存在于动、植物中, 对动、植物的生长发育及抵御异物侵入起着十分重要的作用^[2]。目前确认有 4000 多种不同的类黄酮。黄酮类色素物质主要有以下生理作用: 增强血管扩张, 降低血管脆性及改善血管通透性; 降低血脂及胆固醇; 减少红细胞、血小板聚集, 减少血栓形成, 改善微循环; 护肝, 解肝毒, 治疗急、慢性肝炎, 肝硬化及多种中毒性肝损伤; 提高机体免疫能力; 消炎、祛痰、解

热、消肿; 抗菌、抗病毒、抗真菌、抑制肿瘤; 抗氧化、抗衰老; 解痉; 抗过敏; 抑制特定酶的活性; 强化细胞膜、活化细胞; 解酒作用及抗血糖升高等作用^[3]。家蚕作为一种特殊的经济动物, 体内富含多种活性物质, 其中就包括黄酮类化合物。本文就 3 类蚕品种^[4]蚕茧及其蛹中黄酮类物质含量进行了分析, 其结果供同仁们参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试家蚕品种: 绿茧蚕品种 A, 黄荧光色蚕茧品种 B, 紫荧光色蚕茧品种 C, 由苏州大学蚕桑研究所提供。

收稿日期: 2013-12-23

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金[cx(13)2036,cx(12)2035], 江苏高校优势学科建设工程一期项目(yx11500113), 国家农业科技成果转化项目(2011G2B100002)和苏州市农业支撑项目(SN201134)共同资助。

作者简介: 席鹏伟, 硕士研究生。E-mail: xipengwei@126.com

* 通信作者: 虞晓华, 教授。E-mail: szxhyu@sina.com

主要试剂：芦丁标准品（由北京世纪奥科生物技术有限公司生产），无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等试剂均为分析纯。

仪器：分光光度计。

1.2 材料的制备

1.2.1 样品制备 2012春季在苏州大学蚕研所，按常规方法同时饲养绿蚕品种A，黄荧光色蚕品种B，紫荧光色蚕品种C，在上簇后第7天分别随时抽取蚕茧若干，放入鼓风干燥箱，用70℃10h烘干备用。

茧层、蛹粉的制备：随机分别选取上述已烘干的3种蚕品种样茧若干，用刀剖开，对应各自取出茧层和蚕蛹。其中茧层剪成1~2mm的碎片^[5]。蚕蛹研磨过80目筛。

1.2.2 试样液的制备 茧层样液的制备。分别称取3种蚕品种茧层碎片各0.5g，各重复3份，每份加入80%的乙醇10ml，超声波处理20min，于60℃下抽提4h，过滤，收集滤液。放入4℃冰箱中静置过夜，吸取上层液，即得供试样液。

蚕蛹样液的制备^[6]。分别称取3种蚕品种蚕蛹粉各0.5g，各重复3份，每份加入80%的乙醇10ml，超声波处理20min，于60℃下抽提4h，过滤，收集滤液。放入4℃冰箱中静置过夜，吸取上层液，即得供试样液。

1.3 标准曲线的绘制^[7] 精确称量芦丁21mg，加入30%乙醇，水浴加热使之溶解后，定容于100mL容量瓶中，备用。取7支试管，分别加入0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5和3.0mL芦丁标液，用30%乙醇补足体积至5mL，混匀。再向每支试管中加入0.3mL 5%NaNO₂，混匀后静置5min，加0.3mL 10%Al(NO₃)₃，混匀后静置6min，加入4mL 1mol·L⁻¹的NaOH溶液，加入0.4mL 30%乙醇，混匀后静置10min，测定OD₅₁₀。

1.4 样品的测定

将试样液稀释2倍，取5mL，入10mL容量瓶中，加0.3mL 5%NaNO₂摇匀。静置5min后，加入0.3mL 10%Al(NO₃)₃，混匀后静置6min，加入4mL 1mol·L⁻¹的NaOH溶液。混匀，用0.4mL溶剂

稀释至刻度，10min后，于波长510nm下测定吸光度，以同样处理的重蒸水进行空白校正。对照标准曲线，求出黄酮类化合物的含量。

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线

以吸光值对芦丁体积质量进行回归分析计算得到标准曲线的回归方程为： $y=0.112x-0.0003$ ， $R^2=0.9994$ ，具体见图1。

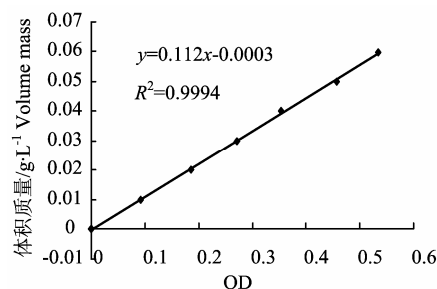


图1 芦丁的标准吸收曲线

Figure 1 Standard absorption curve of rutin

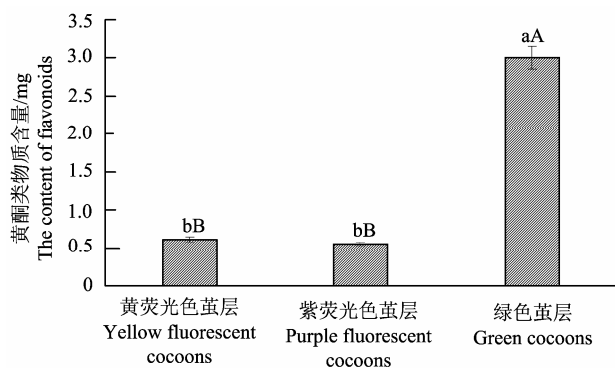
2.2 3类蚕品种黄酮类物质含量分析

2.2.1 3类蚕品种茧层中黄酮类物质含量分析 从表1中数据可知，绿色蚕品种茧层中黄酮类物质的含量是白茧类黄、紫荧光色蚕品种茧层中的5倍以上。对表1数据进行方差分析， $F=114.44$ ， $F_{0.01(2,6)}=9.78$ ， $P<0.01$ ，绿色茧层中黄酮类物质含量与黄荧光色茧和紫荧光色茧层中黄酮类物质含量相比差异达到极显著水平，黄荧光色茧层中的黄酮类物质含量与紫荧光色茧层中黄酮类物质的含量相比差异不显著。进一步对3类蚕品种茧层中黄酮类物质含量的平均数进行多重比较（SSR法），结果见图2。从图2可以看出，绿色茧层中黄酮类物质含量3.006mg·g⁻¹，与黄荧光色茧层中黄酮类物质含量0.611mg·g⁻¹及紫荧光色茧层中黄酮类物质含量0.552mg·g⁻¹之间的差异在 $\alpha=0.01$ 下达到极显著水平，而黄荧光色茧层中黄酮类物质含量与紫荧光色茧层中黄酮类物质含量之间的差异在 $\alpha=0.05$ 下未达到显著水平（图2）。

表1 3类蚕品种茧层中黄酮类物质含量

Table 1 The content of flavonoids in three kinds of silkworm cocoons

蚕品种 Silkworm variety	1	2	3	平均值 Average value
黄荧光色茧层 Yellow fluorescent cocoons	0.606	0.588	0.640	0.611
紫荧光色茧层 Purple fluorescent cocoons	0.546	0.561	0.549	0.552
绿色茧层 Green cocoons	2.956	2.642	3.421	3.006



不同小写与大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。下同

Values followed by different lowercase and uppercase letters indicate significant difference at 0.05 and 0.01 level (SSR), respectively. The same below

图 2 3 类蚕品种茧层中黄酮类物质含量比较 (SSR 法)
Figure 2 Comparison of contents of flavonoid in three varieties of silk cocoon layer (SSR test)

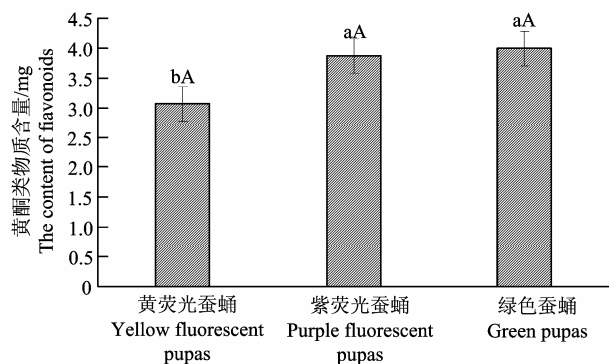


图 3 3 类蚕品种蚕蛹中的黄酮类物质含量比较 (SSR 法)
Figure 3 Comparison of contents of flavonoids in three varieties of silkworm pupas (SSR test)

2.2.2.2 3 类蚕品种蚕蛹中黄酮类物质含量分析 对表 2 中数据进行方差分析, $F=8.1531$, $F_{0.05(2,6)}=5.14$, $F_{0.01(2,6)}=10.92$, $0.01 < P < 0.05$, 说明 3 类蚕品种蚕

蛹中黄酮类物质含量差异达到显著水平。进一步对 3 类蚕品种蚕蛹中黄酮类物质含量的平均数进行多重比较 (SSR 法), 结果见图 3。从图 3 可以看出, 绿色蚕蛹中黄酮类物质含量 $3.991 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和紫荧光色蚕蛹中黄酮类物质含量 $3.870 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 它们之间的差异在 $\alpha=0.05$ 下未达到显著水平。二者与黄荧光色蚕蛹中黄酮类物质含量 $3.067 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间的差异在 $\alpha=0.05$ 下都达到显著水平。

2.2.3 3 类蚕品种茧层与其蚕蛹中黄酮类物质含量分析 从表 1 和表 2 可知, 荧光色蚕蛹中的黄酮类物质含量大大高于茧层中的黄酮类物质含量, 黄荧光色蚕蛹中比茧层中高出 402%, 紫荧光色蚕蛹中的黄酮类物质含量比茧层中高出 601%, 绿色蚕蛹中的黄酮类物质含量比其茧层中的黄酮类物质含量高 33%。

3 讨论

蚕业是我国传统重要产业之一, 是促进农村产业结构调整、推进生态环境建设、增加农民收入和解决“三农”问题的重要支柱。目前家蚕品种正处于多功能性于一体的综合利用开发的阶段。研究证明, 有色茧有高于白茧的抑菌作用, 有较强的清除氧自由基的作用^[8]。而在所有的有色茧蚕品种中, 只有绿色茧品种丝素中含有天然绿色色素, 其他有色茧中的色素仅存在于丝胶中, 丝素中没有, 经精炼脱胶后仍为白色丝绸, 应用前景受到影响, 所以绿色茧蚕品种是今后重点开发的目标。又据报道, 黄酮类色素物质具有降低血脂及胆固醇; 抗菌、消肿; 抗氧化、抗衰老; 抗紫外辐射; 降血糖等作用, 具有很好的保健功能^[9], 本文重点对绿色茧蚕品种进行黄酮类色素物质含量分析, 为其茧、丝、蛹进行综合利用开发有重要的指导意义。

表 2 3 类蚕品种蚕蛹中黄酮类物质含量

Table 2 The content of flavonoids in three kinds of silkworm pupas

蚕品种 Silkworm variety				mg·g ⁻¹
	1	2	3	平均值 Average value
黄荧光色茧蚕蛹 Yellow fluorescent cocoon pupas	2.879	3.073	3.249	3.067
紫荧光色茧蚕蛹 Purple fluorescent cocoon pupas	3.703	4.248	3.660	3.870
绿色茧蚕蛹 Green cocoon pupas	3.716	3.845	4.411	3.991

本研究表明在茧层比较中, 黄荧光茧的黄酮类物质含量高于紫荧光色茧, 而蚕蛹中的黄酮类物质含量则是紫荧光色中较高。已有研究证明紫荧光色茧蚕后部中肠积累的黄荧光物质从色谱行为和光谱特性等分析后肯定其与黄荧光色茧蚕的黄荧光物质

是同一类色素, 家蚕在 5 龄盛食期在体内特别是中肠对桑叶中的黄酮类物质的代谢是相同或相似^[10]。本结果间接证明黄荧光色茧蚕品种与紫荧光色茧蚕品种中肠对荧光色素的差异吸收, 导致荧光茧色的判性。绿茧蚕品种茧层中黄酮类物质的含量是黄、

紫荧光色茧蚕品种茧层中的5倍,其蚕蛹中该物质的含量与紫荧光色茧蚕品种相当,比黄荧光色茧蚕品种高出1.3倍。所以绿茧蚕品种蚕丝制成内衣,或者制成化妆品,有很好的养颜作用,其蚕蛹制成食品也有较好的保健作用。

参考文献:

- [1] 罗艺萍. 黄酮类化合物的药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(4): 126-128
- [2] 刘淑梅, 时连根, 李有贵. 家蚕幼虫体黄酮类化合物的提取及测定方法[J]. 蚕业科学, 2005, 31(1): 74-78.
- [3] Harborne J B, Mabry T J, HeLgeMabry. 黄酮类化合物[M]. 戴伦凯, 谢如玉译. 北京: 科学出版社, 1983. 324-350.
- [4] 虞晓华, 贾仲伟, 尹书倩, 等. 家蚕荧光茧色判性品种“苏·雄×荧晓”的选育[J]. 蚕业科学, 2008, 34(1): 140-143.
- [5] 魏广卫, 袁燕萍, 张彩霞, 等. 家蚕绿色茧品种 G1 的茧色性状遗传及不同茧色蚕体组织的黄酮类化合物含量分析[J]. 蚕业科学, 2010, 36(6): 0905-0909
- [6] 张军, 宛晓春, 刘朝良, 等. 家蚕蚕蛹黄酮类化合物的提取与测定[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(3): 386-388.
- [7] 潘云海, 薛忠民, 苏超. 家蚕幼虫体中黄酮类化合物的提取与测定[J]. 北方蚕业, 2009, 4(30): 29-31.
- [8] 徐世清, 王建南, 陈息林, 等. 天然彩色茧丝资源及其开发利用(1)[J]. 丝绸, 2003(1): 42-43.
- [9] 白凤梅, 蔡同一. 类黄酮生物活性及其机理的研究进展[J]. 食品科学, 1999, 20(8): 11-13.
- [10] 张雨青, 虞晓华, 沈卫德, 等. 家蚕荧光茧色的判性机理[J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2009, 39(4): 372-383.

- [1] 罗艺萍. 黄酮类化合物的药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(4): 126-128
- [2] 刘淑梅, 时连根, 李有贵. 家蚕幼虫体黄酮类化合物的提取及测定方法[J]. 蚕业科学, 2005, 31(1): 74-78.
- [3] Harborne J B, Mabry T J, HeLgeMabry. 黄酮类化合物[M]. 戴伦凯, 谢如玉译. 北京: 科学出版社, 1983. 324-350.
- [4] 虞晓华, 贾仲伟, 尹书倩, 等. 家蚕荧光茧色判性品种