

灯盏花槲皮素测定过程中提取方法的改进

张燕菊, 代世凤, 张仙丽, 许志刚*

(昆明理工大学 理学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 槲皮素是灯盏花中的有效黄酮化合物之一, 为此对灯盏花中槲皮素的提取方法进行改进. 采用真空超声法提取, 联用高效液相色谱进行测定, 最优提取条件为, 提取溶剂为 40% 的乙醇溶液, 提取时间为 15 min, 固液比为 1:20. 测定结果为, 真空超声提取法的萃取量为 0.093 5 mg/g, 优于常压超声提取法的萃取量 0.042 3 mg/g, 改进后的真空超声提取法有利于溶质的溶出、避免了黄酮化合物的氧化.

关键词: 槲皮素; 灯盏花; 真空超声提取法; 高效液相色谱法

中图分类号: O657.72; R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5639(2014)06-0039-03

Improvement of Extraction Method in the Determination of Quercetin in *Erigeron Breviscapus*

ZHANG Yan-ju, DAI Shi-feng, ZHANG Xian-li, XU Zhi-gang*

(Faculty of Science, Kunming University of Science and Technology, Yunnan Kunming 650500, China)

Abstract: Quercetin is one of the effective flavonoids in *Erigeron Breviscapus*. The extraction method of quercetin in *Erigeron Breviscapus* was improved by using ultrasonic extraction under vacuum. Quercetin was determined by high performance liquid chromatography. The optimized conditions of extraction solvent, extraction time and solid-liquid ratio were 40% ethanol, 15 min and 1:20, respectively. The results show that the extraction amount was 0.093 5 mg/g for ultrasonic extraction under vacuum while 0.042 3 mg/g for conventional ultrasonic extraction, which showed the better extraction efficiency. The improved method was benefit to the dissolution of solutes and avoided oxidation of flavone compounds.

Key words: quercetin; *Erigeron Breviscapus*; ultrasonic extraction under vacuum; high performance liquid chromatography

槲皮素是常见的黄酮类化合物之一, 具有祛痰、止咳、降血压、降血脂、抗癌等功效, 可用于慢性支气管炎、冠心病和高血压病的治疗, 广泛存在于许多植物的花、叶和果实中, 如槐花、灯盏花、银杏叶、番石榴叶、茶叶、洋葱、三七、菟丝子等. 灯盏花是云南的特色中草药之一, 又名东菊, 属菊科, 药用为干燥全草. 目前已有较多关于灯盏花有效成分^[1-2]和药理药效^[3-4]的研究, 尤其是关于灯盏花乙素黄酮的研究报道^[5-6], 而关于灯盏花中槲皮素黄酮的报道较少. 本研究在前期关于灯盏花中槲皮素含量测定的基础上^[7-10], 进一步采用真空-超声提取技术, 实现灯盏花中槲皮素黄酮的快速、高效提取, 并且联用高效液相色谱进行定量分析.

1 材料与方 法

1.1 仪器、试剂与材料

戴安公司高效液相色谱仪 (Dionex Ultimate

3000), C₁₈ 色谱柱 (J&K Scientific LTD, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm), 荷兰 Philip 扫描电镜 (XL30 ESEM-TMP).

槲皮素 (购于陕西森弗高科实业有限公司, 98%), 乙腈 (色谱级, 购于西陇化工股份有限公司), 其余试剂为分析纯.

灯盏花购于昆明市菊花村中药市场, 水为娃哈哈饮用纯净水 (使用前过滤).

1.2 方法

1.2.1 真空超声萃取方法

采用 50 mL 的圆底烧瓶为萃取瓶, 置于超声场中进行萃取, 上端连接玻璃三通, 由真空泵抽真空控制真空度, 并由三通活塞进行控制开关. 称取 1.0 g 灯盏花粉末, 置于萃取瓶中, 加入一定量的乙醇溶液进行真空超声萃取, 对萃取溶剂的质量浓度、萃取时间和固液比进行优化. 萃取次数为 2 次, 萃取液合并后减压浓缩, 在 3 000 r/min 下离心 10 min, 分别用 15 mL 乙酸乙酯萃取离心液 2 次, 合并萃取液后减压浓缩,

收稿日期: 2014-10-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21205054); 云南省应用基础研究资助项目 (2011FZ043); 昆明理工大学分析测试基金资助项目 (20140956, 20140597); 大学生科技创新资助项目 (20131125111020, 20131125111021).

作者简介: 张燕菊 (1991—), 女, 云南保山人, 助教, 主要从事色谱分析研究.

* 通讯作者: 许志刚 (1979—), 男, 湖北黄冈人, 副教授, 博士, 主要从事色谱分析、中草药分析、样品前处理研究, E-mail: chemxuzg@kmust.edu.cn.

再用提取液定容至 10 mL,即可进行液相色谱检测。

1.2.2 色谱分析方法

流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液,两者的体积比为 $V(\text{甲醇}):V(0.2\% \text{磷酸溶液})=30:70$,流速为 1.0 mL/min ,检测波长为 360 nm ,柱温为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$,进样为 $20 \mu\text{L}$.采用峰面积进行定量分析,标准曲线为 $Y = -0.26 + 0.86X, r = 0.9995$.

2 结果与讨论

2.1 槲皮素的萃取工艺研究

2.1.1 萃取溶剂优化

称取样品 1.0 g ,采用不同体积分数的乙醇溶液萃取,体积均为 15.0 mL ,超声时间为 15 min .样品萃取后的 HPLC 分析结果如下图 1 所示.结果表明,体积分数为 40% 乙醇溶液萃取的槲皮素质量分数最高,最优萃取溶剂是体积分数为 40% 乙醇溶液.

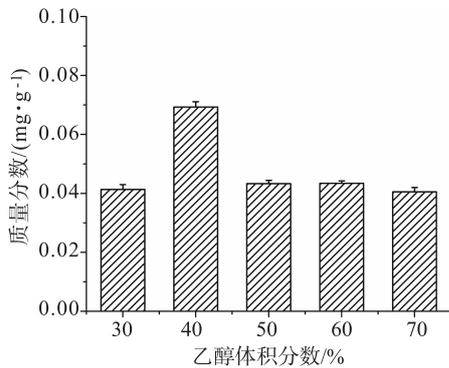


图1 乙醇体积分数对槲皮素提取的影响

2.1.2 萃取时间优化

以体积分数为 40% 的乙醇水溶液为萃取液,进行超声时间优化,超声时间分别选择 10, 15, 20, 25, 30 min,测定结果如下图 2 所示.结果表明,萃取 15 min 基本达到平衡,超过 25 min 提取率略有降低.因此,超声时间选择 15 min.

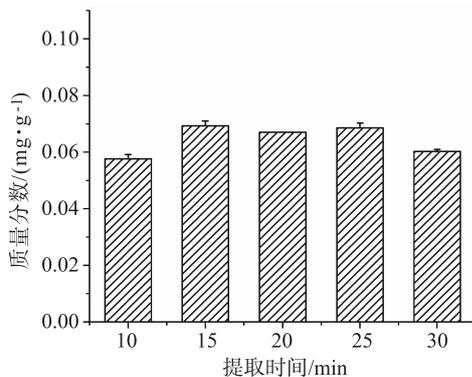


图2 提取时间对槲皮素提取的影响

2.1.3 固液比优化

样品质量固定为 1.0 g ,萃取液为体积分数 40%

的乙醇,萃取时间为 15 min ,萃取溶剂的体积分别为 10, 15, 20, 25, 30 mL, HPLC 分析结果如下图 3 所示.结果表明,萃取液体积为 20 mL,即固液比为 1:20 (质量浓度,单位 g/mL) 的萃取量最大.

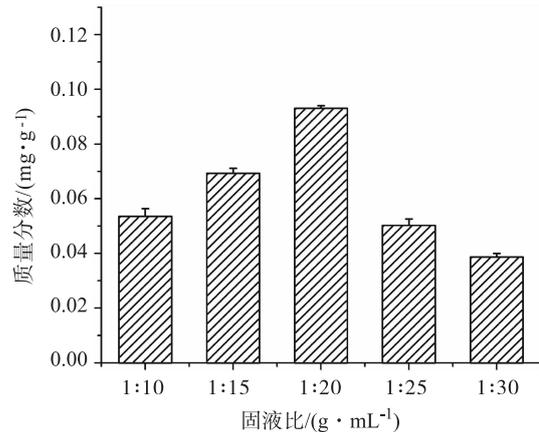


图3 固液比对槲皮素提取的影响

2.2 样品中槲皮素的测定

采用真空超声提取灯盏花中的槲皮素,联用高效液相色谱进行测定,并与常压超声提取进行对比.结果表明,真空超声提取法用时短、效率高,萃取量质量分数达 0.0935 mg/g ($RSD = 5.0\%$, $n = 5$);而常压超声提取的萃取量质量分数仅为 0.0423 mg/g ($RSD = 3.3\%$, $n = 5$),色谱分析结果如下图 4 所示.分析结果也表明真空超声提取法可避免黄酮化合物的氧化.

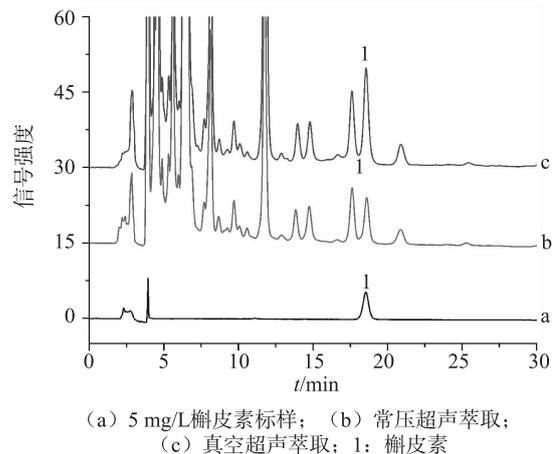


图4 灯盏花提取液的色谱图分析图

2.3 样品萃取前后的扫描电镜图

分别对真空超声萃取、常压超声萃取和未经萃取的样品进行了扫描电镜分析,放大倍数均为 1000 倍,如下图 5 所示.与未萃取的样品相比,超声提取的样品表面都有较多的侵蚀和破坏,尤其是真空超声萃取的样品,样品表面蓬松、塌陷,这种破坏源自于真空下的超声波作用,有利于萃取

溶剂的进入,溶解并释放目标物质,从而进一步提高提取率^[11].

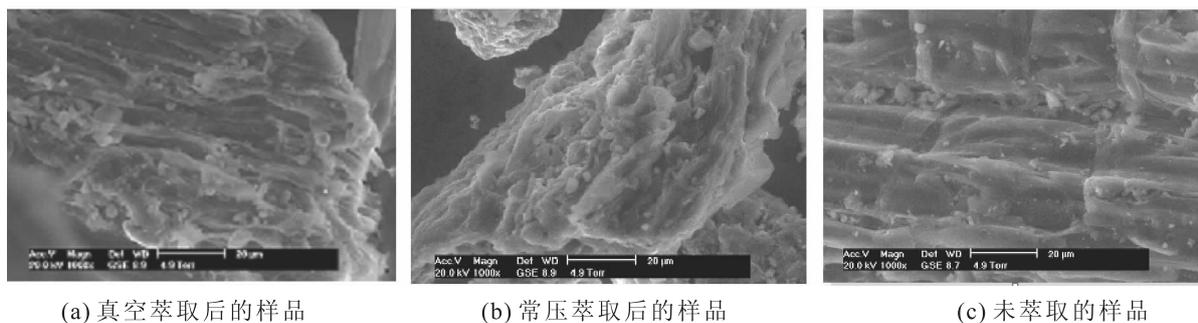


图5 萃取前后的扫描电镜对比图

3 结论

采用真空超声法提取了灯盏花中的槲皮素黄酮化合物,对提取工艺进行了优化,联用高效液相色谱法进行测定.改进后的真空超声提取法的萃取量达 0.0935 mg/g (质量分数),优于常压超声提取的萃取量 0.0423 mg/g (质量分数).改进后的真空超声提取法具有明显的优势,不仅有利于溶质的溶出,还能避免黄酮化合物的氧化.

[参考文献]

- [1]李菁,于德泉.灯盏花化学成分研究[J].中国中药杂志,2011,36(11):1458-1462.
- [2]黄洪波,包文芳,杨芳芳,等.灯盏花的化学成分研究[J].沈阳药科大学学报,2001,18(4):266-267.
- [3]苏梅,杨和金,崔涛,等.栽培灯盏花提取物的药效学研究[J].中

成药,2011,33(6):938-943.

- [4]杨挺.灯盏花颗粒主要药效学实验[J].现代预防医学,2007,34(14):2639-2643.
- [5]朱发彦,杨芳,王建军,等.灯盏花中黄酮类化合物的研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(10):5853-5857.
- [6]武正才,梁晓原,丁永胜.超声波提取灯盏花中总黄酮的研究[J].云南中医中药杂志,2004,25(3):35-36.
- [7]张燕菊,刘智敏,许志刚.用高效液相色谱法测定灯盏花中槲皮素的含量[J].化学研究,2014,25(2):140-143.
- [8]许志刚,陈云丽,张仙丽,等.超声波提取-高效液相色谱法测定茶叶中的槲皮素[J].昆明学院学报,2013,35(3):66-68.
- [9]许志刚,胡劲召,单法辉,等.灯盏花中灯盏花乙素的提取与高效液相色谱分析[J].琼州学院学报,2012,19(2):23-25.
- [10]许志刚,刘智敏,杨保民,等.灯盏花中灯盏花乙素的提取与分析方法探讨[J].昆明学院学报,2011,33(6):81-84.
- [11]卢彦芳.张福成.安静.等.微波辅助萃取应用研究进展[J].分析科学学报,2011,27(2):246-252.

(上接第38页)

[参考文献]

- [1]何俊,张舒,王红,等.滇重楼植物的研究进展[J].云南植物研究,2006,28(3):271-276.
- [2]杨黎江,沈放,全向荣,等.滇池微囊藻毒素对小鼠肝脏的毒性研究[J].昆明学院学报,2013,35(3):45-47.
- [3]罗民波,沈新强,杨良,等.微囊藻毒素对小白鼠肝脏的毒理效应[J].海洋水产研究,2005,26(3):55-60.
- [4]王洁,王淑静,张炎,等.茜草醇提取物对刀豆蛋白A致小鼠肝损伤保护作用的研究[J].宁夏医科大学学报,2010,32(4):484-486.
- [5]陈主初.病理生理学[M].北京:人民卫生出版社,2005:83-84,190-191.
- [6]高云涛,杨利荣,杨益林,等.重楼提取物体外清除活性氧及抗氧化作用研究[J].中成药,2007,29(2):195-198.
- [7]周满红,杜文胜,龙胜双.重楼总皂苷对脂多糖诱导大鼠腹腔巨噬细胞分泌TNF- α 及IL-1 β 的影响[J].四川中医,2008,26(3):14-16.
- [8]邱海波,周韶霞,陈德昌.IL-10对肺泡巨噬细胞致炎效应的调节作用[J].中国危重病急救医学,2000,12(6):353-355.
- [9]SURH Y J, CHUN K S, CHA H H, et al. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-Kappa B activation[J]. Mutat Res, 2001, 480(2):243-268.