

山豆根总黄酮不同提取方法的比较^①

彭湘君^{a, b} 梅蕾蕾^a 李银保^a 李青松^{②a}

^a 赣南医学院药学院 江西省赣州市医学院路 1 号 341000)

^b 赣南师范学院化学与生命科学学院 江西省赣州市 341000)

摘 要 分别采用常规回流提取法、超声提取法、微波辅助萃取法及索氏提取法对中药山豆根进行提取;以芦丁为对照品,采用分光光度法测定提取物中总黄酮的含量;以总黄酮的含量为考察指标,优选出最佳提取方法。结果表明,4 种提取方法中,常规回流提取法总黄酮含量最高,微波辅助萃取法和超声提取法总黄酮含量较高,索氏提取法总黄酮含量最低;综合考虑,认为微波辅助萃取法和超声提取法具有高效、省时等优点,提取效果较好。

关键词 山豆根;总黄酮;提取方法;分光光度法

中图分类号:O657.32

文献标识码:B

文章编号:1004-8138(2011)03-1089-04

1 引言

山豆根(*Sophora tonkinensis* Gapnep.) 为豆科植物越南槐的干燥根及根茎,别名山大豆根(《经验方》)、苦豆根(《中药材手册》),其有效化学成分有黄酮、生物碱、皂苷、酚类、木质素及中性多糖 SSA,在临床上,山豆根具有抗心率失常、抗肝炎、消炎等药理作用。据记载,山豆根在传统中药中用于清热解毒、消肿止痛之功效^[1]。《中华人民共和国药典 2005 版》记载主治功能有:清热解毒,消肿利咽,用于火毒蕴结,咽喉肿痛,牙龈肿痛^[2]。

黄酮类化合物的提取方法主要有水提法、醇提法。基于黄酮类化合物的重要生理活性,为寻找山豆根总黄酮高效、省时的提取方法,本实验分别采用回流提取法、索氏提取法、微波辅助萃取法及超声波提取法提取山豆根中的总黄酮,并以芦丁为对照品,采用紫外分光光度法^[3,4]测定总黄酮的含量,确定山豆根总黄酮的最佳提取方法,为山豆根中黄酮类化合物的提取提供实验依据。

2 实验部分

2.1 材料

山豆根购自赣州市青年路华尔康大药房。80℃烘至恒重,粉碎并过 40 目筛,备用。

2.2 仪器与试剂

FA 2104 型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司);SJH-2S 型数控精密恒温水浴锅(宁波天恒仪器厂);SHB-3 循环水式真空泵(郑州杜甫仪器厂);RE-2000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化

① 江西省自然科学基金:2008GZY0074

② 联系人,手机:(0)18970786209;E-mail:gnyxylqs@163.com; ytsm_10@sohu.com

作者简介:彭湘君(1980—),女(土家族),湖南省永顺县人,实验师,硕士研究生,主要从事有机药物化学及光谱分析研究工作。

李青松(1955—),男,江西省兴国县人,教授,主要从事天然有机药物及光谱分析,药物活性成分研究工作。

收稿日期:2010-07-19;接受日期:2010-08-30

仪器厂); WF-400 型微波快速反应系统(上海屹尧分析仪器有限公司); JHBE-50 型闪式提取器(北京金鼎科技发展有限公司); UV1900 PPC 型紫外-可见分光光度计(上海亚研电子科技有限公司)。

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所); 95% 乙醇、 NaNO_2 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaOH 等试剂均为分析纯。实验用水为超纯水。

2.3 实验方法

2.3.1 样品溶液制备

常规回流提取法: 准确称取山豆根粉末 5.0000g, 置于 250mL 烧瓶中, 加入 80mL 70% 乙醇, 加热回流提取 2h, 过滤, 减压回收溶剂至少量, 转移至 100mL 容量瓶中, 以 70% 乙醇定容。

索氏提取法: 准确称取山豆根粉末 5.0000g, 置于滤纸筒中, 于 250mL 索氏提取器中, 加入 80mL 95% 乙醇, 加热回流提取 2h, 提取液减压回收溶剂至少量, 转移至 100mL 容量瓶中, 以 70% 乙醇定容。

微波辅助萃取法: 准确称取山豆根粉末 5.0000g, 置于微波提取罐中, 加入 80mL 70% 乙醇, 80℃微波 30min, 减压回收溶剂至少量, 转移至 100mL 容量瓶中, 以 70% 乙醇定容。

超声提取法: 准确称取山豆根粉末 5.0000g, 置于超声仪中, 加入 80mL 70% 乙醇, 超声提取 30min, 过滤, 减压回收溶剂至少量, 转移至 100mL 容量瓶中, 以 70% 乙醇定容。

2.3.2 校准曲线绘制^[5]

准确称取 105℃干燥至恒重的芦丁对照品 25mg, 用 95% 乙醇溶解定容于 50mL 容量瓶中, 配成 $0.5\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦丁标准溶液。准确吸取芦丁标准溶液 0.0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL, 分别置于 10mL 具塞刻度试管中, 各加水至 5.0mL, 分别加入 5% 亚硝酸钠 0.6mL, 摇匀, 放置 6min, 加入 10% 硝酸铝 0.6mL, 摇匀后放置 6min, 加入 4% 氢氧化钠 3.0mL, 加水至刻度, 摇匀后放置 15min。以第一管作空白, 在波长 506nm 处测定吸光度, 以吸光度 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标, 进行回归分析, 绘制回归曲线, 得回归方程: $A = 13.271C - 0.1465$, $r^2 = 0.9975$ 。结果在 $0.00 - 0.10\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的范围内, 浓度与吸光度有较好的线性关系。

2.3.3 样品总黄酮含量测定

各取上述待测原溶液 10mL, 置于 50mL 容量瓶中, 加 95% 乙醇定容至刻度, 摇匀。分别取稀释液 2.0mL, 置于 10mL 具塞刻度试管中, 按照“校准曲线绘制”项下的方法, 在 506nm 下测定其吸光度 A , 按回归方程计算出样品溶液中的总黄酮含量($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 根据稀释倍数及样品质量换算出样品中总黄酮的含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

2.4 方法考察

2.4.1 精密度考察

将上述样品溶液在相同的条件下平行测定 5 次吸光度, RSD 在 0.29%—0.86% 之间, 表明仪器的精密度良好。

2.4.2 稳定性考察

将上述样品溶液每隔 10min 测定一次吸光度, 5 次测定的 RSD 为 0.61%, 表明待测样品溶液在 1h 内稳定。

2.4.3 加标回收率实验

分别准确吸取 2.0mL 的样品溶液置于 10mL 具塞刻度试管中, 同时加入一定量的芦丁对照品

溶液,按照上述方法测定其吸光度,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

样品原含量 (mg · mL ⁻¹)	加标量 (mg · mL ⁻¹)	测定量 (mg · mL ⁻¹)	回收率 (%)
0.0352	0.050	0.0842	98.00
0.0297	0.050	0.0790	98.60
0.0334	0.050	0.0841	101.40
0.0335	0.050	0.0838	100.60

由表 1 知,加样回收率在 98.00%—101.40% 之间,表明该方法回收率较好,准确度较高。

3 结果与讨论

不同提取方法山豆根样品中总黄酮的含量如表 2 所示。

表 2 不同提取方法山豆根总黄酮测定结果 (n= 3)

提取方法	总黄酮含量(mg/ g)	RSD(%)
常规回流提取法	8.81	0.05
索氏提取法	7.43	0.09
超声提取法	8.36	0.13
微波辅助萃取法	8.38	0.20

注:表中测定结果为 3 次重复的平均值。

由表 2 可知,4 种提取方法中,采用常规回流提取法的样品总黄酮含量最高,超声提取法和微波辅助萃取法的样品总黄酮含量均较高,且两者相差不大;索氏提取法的样品总黄酮含量较低。考虑到微波辅助萃取法和超声提取法操作简单、提取时间短,相对效率较高,认为此两种方法最适于山豆根中总黄酮的提取。

4 结论

微波辅助萃取法和超声提取法分别以超声波和微波作为热源,通过分子在超声波或微波电磁场中的快速旋转和离子在微波场中的快速迁移从而相互摩擦而发热,能量直接作用于被加热物质,加热速度快,通常只需 30min 左右即可完成提取,且不会破坏任何物质的分子结构,是理想的中草药有效成分提取的方法。

常规回流提取法虽然效果也较好,但是提取所需时间较长,通常需要 3—4h,而且样品长时间受热容易破坏结构,和微波辅助萃取法相比,相对效率较低。

索氏提取法的效果比较差,可能是由于提取时间没有足够长所造成的,而且,索氏提取法由于提取时样品温度较低,黄酮类化合物溶解的速度比较慢。因此,如果要提取山豆根中黄酮类化合物,不建议采用索氏提取法。

参考文献

[1] 江苏新医学院编. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986. 181—182.
[2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2005 版[M]. 北京:化学工业出版社,2004. 12, 19.
[3] 吴春,陈林林. 菟丝子黄酮体外清除自由基活性的研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(5): 553—556.
[4] 吴春,陈林林. 大孔吸附树脂分离纯化菟丝子黄酮的研究[J]. 中草药,2006,37(11): 1663—1666.
[5] 彭金年,李银保,程庚金生等. 菟丝子总黄酮不同提取方法的比较[J]. 西北林学院学报,2010,25(2): 140—142.

Comparison Between the Different Methods for Extraction of Total Flavonoids from *Sophora Tonkinensis Gapnep*.

PENG Xiang-Jun^{a,b} MEI Lei-Lei^a LI Yin-Bao^a LI Qing-Song^a

^a(College of Pharmacy, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, P. R. China)

^b(Institute of Chemistry and Life Science, Gannan Normal University, Ganzhou, Jiangxi 341000, P. R. China)

Abstract The contents of total flavonoids were extracted from *Sophora tonkinensis Gapnep*. by different methods of regurgitant extracting, Soxhlet extracting, microwave aided extracting and ultrasonic wave extraction, that were determined by spectrophotometry with the rutin as reference substance. The total flavonoids as reference, the best conditions were optimized. The results showed that the contents of total flavonoids in four extraction methods were highest in the samples extracted by regurgitant extracting, and microwave aided extracting and ultrasonic wave extraction were second higher, then Soxhlet extracting were lowest. The microwave aided extracting and the ultrasonic wave extraction were suitable for extracting total flavonoids from *Sophora tonkinensis Gapnep*. with low extraction time and high efficiency.

Key words *Sophora Tonkinensis Gapnep*.; Ttotal Flavonoids; Extraction Method; Spectrophotometry

欢迎您投稿 “高效、保质、宽容”的中文核心期刊 《光谱实验室》

这是您的发明、发现获得“优先权”的可靠保障!

发表周期多数(50% - 75%)为5—9个月,

少数(20% - 45%)为1—5个月,极少数(0 - 7%)为15—30天

及时发表科技论文,是尽早实现其社会效益的前提,也是作者创造性劳动得到尊重、为在世界上取得“优先权”的可靠保障,因为发明、发现的“优先权”通常是以出版时间为准的。因此,本刊把尽快发表作者的论文,视为自己的神圣职责。

确保论文质量是论文早日发表的条件。作者发表论文总是要反映自己在工作有所发明、有所发现和有所创造的成绩,而不是去暴露自身的“缺欠”和“毛病”,换言之,作者发表论文总是要为自己“争光”,而不是让自己“蒙羞”。因此,作者投稿之前,除了自己要反复检查外,一定要多请您周围的同事、专家挑“毛病”,把“毛病”消灭在投稿之前,再投本刊才能发表得快。如果本刊挑出毛病,再请作者修改,反复“折腾”,不仅消耗双方精力,而且必然延长发表时间。保证质量的基本要求就是论文要做到“齐、清、定”。“齐”即文字、表格、图片等齐全,并符合本刊《投稿须知》的各项要求;“清”即文字、图片打印清楚,不得有模糊不清的图片(包括上面的文字和数字);若有彩色图片及彩色曲线,请转化为清晰的黑白图片和黑色曲线,并清除图片和曲线上的背景,便于排版和复制;“定”即做到稿件内容(文字、表格、图片等)完整,无需再作增删修改。

来稿请用 Word 排版,用电子邮件发到本部电子信箱(E-mail: gpsys@263.net)。

本刊收到作者来稿后,都会在3日(遇公休日顺延)内发出“收稿通知”。因此,作者发送稿件后7日以上都没有消息,一定要及时来电查询。

一篇论文出版,常常需要反复沟通“作者→编辑部→审者→编辑部→作者”之间的联系,其中与作者的联系是最重要的一环,一旦脱节,必然中断编辑过程。因此作者来稿时,务必将联系人的正确的姓名和详细地址、办公室电话、手机号码、传真号码和电子信箱等(通讯方式要尽可能全)告诉编辑部,以便能与您及时联系。否则,由此而产生的不良后果由作者自己负责。

本刊发表论文的宗旨是交流学术,提倡“高效、保质、宽容”的精神,欢迎作者将被他刊判为“没有发表价值”的佳作再投本刊,而不是为了应付“评职称”、“拿文凭”。

《光谱实验室》编辑部