

3 种不同提取方法测定百癣夏塔热片中的总黄酮

鹿毅 张辽生 冉文生 杨涛^①

(新疆产品质量监督检验研究院 乌鲁木齐市新华南路 167 号 830004)

摘 要 采用索氏提取、超声提取、微波萃取对百癣夏塔热片中总黄酮进行提取。3 种方法均采用 20 倍(mL/g) 甲醇; 其中索氏提取时间为 6h; 超声提取时间为 1h; 微波萃取辐射时间: 10min; 温度: 100℃。以芦丁为标准品, 用分光光度法测定, 波长为 510nm, 芦丁浓度与吸光度呈良好的线性关系($r=0.9999$)。微波萃取、索氏提取和超声提取进行比较, 微波萃取提取时间短, 溶剂用量少, 操作简单, 快速高效, 节能环保, 收率高, 是一种较理想的提取方法, 值得推广应用。

关键词 不同提取方法; 总黄酮; 百癣夏塔热片

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)03-1524-03

1 引言

百癣夏塔热片收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》维吾尔药分册, 由芦荟、地锦草、诃子肉等制成^[1]。能够清除异常粘液质、胆液质, 消肿止痒。用于治疗手癣, 体癣, 足癣, 花斑癣, 过敏性皮炎, 痤疮, 银屑病, 带状疱疹等。其中地锦草为大戟科植物地锦(*Euphorbia humifusa Willd*) 或斑地锦(*Euphorbia maculata L.*) 的干燥全草。具有清热解毒、凉血止血之功能, 目前临床上多用于治疗菌痢、肠炎、病毒性肝炎、咳血、尿血、便血等^[2,3]。其化学成分主要有黄酮、甾醇及鞣质类化合物, 其中黄酮类化合物主要有槲皮素苷及苷元、山奈苷及苷元、地锦草素。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

MDS-6 微波萃取仪(上海新仪微波化学科技有限公司); Cintra 40 紫外可见分光光度计(澳大利亚 GBC 公司); 梅特勒 AL204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 甲醇(分析纯); 芦丁标准品(编号 100080-200707, 中国药品生物制品检定所); 百癣夏塔热片(批准文号: 国药准字 Z20043505, 新疆奇康哈博维药有限公司)。实验用水为蒸馏水。

2.2 对照品溶液的配制

准确称取 130℃干燥至恒重的芦丁对照品 20mg, 用甲醇溶解并稀释至 100mL 容量瓶中, 即得 0.20mg/mL 的芦丁对照品溶液。

2.3 最大测定波长的选择

准确吸取芦丁对照品溶液及空白溶液各 2mL, 分别置于 25mL 容量瓶中, 加水至 6.0mL, 加

① 联系人, 电话: (0991) 2332301; 传真: (0991) 2332301; E-mail: cuckoo2002@163.com

作者简介: 鹿毅(1966—), 男, 乌鲁木齐市人, 高级工程师, 主要从事产品质量管理、化学分析及标准化研究工作。

收稿日期: 2011-03-22; 接受日期: 2011-04-21

5% 亚硝酸钠溶液 1mL, 混匀, 放置 6min; 加 10% 硝酸铝溶液 1mL, 混匀, 放置 6min; 加 10% 氢氧化钠试液 10mL, 再加水稀释至刻度, 摇匀, 放置 15min。在 400—600nm 波长范围内扫描测定吸收光谱, 结果芦丁对照品溶液在 510nm 波长处有最大吸收, 故以 510nm 为最大测定波长。

3 结果与讨论

3.1 校准曲线的绘制

准确吸取芦丁对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 分别置 25mL 容量瓶中, 各加水至 6.0mL, 加入 5% 亚硝酸钠溶液 1mL, 混匀, 放置 6min, 加 10% 硝酸铝溶液 1mL, 混匀, 放置 6min, 加入 10% 氢氧化钠试液 10mL, 再加水至刻度, 摇匀, 放置 15min, 同时做试剂空白对照, 在 510nm 波长处测吸光度。以吸光度(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标绘制校准曲线, 得回归直线方程为: $A = 15.5214C - 0.0249$, $r = 0.9999$, 表明芦丁对照品在 0.008—0.04mg/mL 范围内线性关系良好。

3.2 样品的测定

3.2.1 样品的制备

- (1) 微波萃取: 将百癣夏塔热片粉末置于聚四氟乙烯萃取罐中, 以 20 倍甲醇(mL/g), 辐射 10min, 温度 100℃为提取条件, 进行微波萃取, 过滤, 取滤液 1mL 于 25mL 容量瓶中加甲醇稀释至刻度。
- (2) 索氏提取: 取百癣夏塔热片粉末加 20 倍甲醇(mL/g)用索氏提取器提取 6h, 减压回收甲醇至干, 用甲醇溶解后过滤, 滤液转移至 25mL 容量瓶中, 再用甲醇稀释至刻度。
- (3) 超声提取: 以 20 倍甲醇(mL/g)进行超声提取 1h, 过滤, 取滤液 1mL 于 25mL 容量瓶中加甲醇稀释至刻度。

3.2.2 测定结果

微波萃取、索氏提取、超声提取的测定结果见表 1。

表 1 3 种提取方法测定结果			(n= 6)
提取方法	总黄酮含量(mg/ g)	RSD(%)	
微波萃取	0.129	2.28	
超声提取	0.122	2.77	
索氏提取	0.088	1.99	

结果显示, 微波萃取提取量大于传统提取方法, 索氏提取法处理试样一般要耗时数小时至数十小时, 微波萃取法仅需十几分钟至几十分钟, 且消耗的有机溶剂可节省 50% 以上, 与超声提取相比, 避免超声波噪音的影响。

3.2.3 精密度实验

准确吸取对照品溶液 5mL 共 6 份, 分别置于 25mL 容量瓶中, 进行微波提取, 分别测定吸光度。RSD 为 1.48%, 表明本方法精密度良好. 结果见表 2。

表 2 精密度实验测定结果							
编号	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
吸光度 A	0.578	0.560	0.558	0.556	0.559	0.557	1.48

3.2.4 稳定性实验

准确吸取微波提取后供试品溶液 2mL, 按波长选择方法操作, 分别于显色后 10、20、30、40、50,

60min 时在 510nm 波长处测定吸光度。结果 60min 内测得吸光度的 RSD 为 2.43%, 结果表明显色后 60min 内吸光度基本稳定, 故应在显色后 60min 内进行测定。

3.2.5 加标回收率实验

将总黄酮含量为 0.129mg/g 的样品 6 份, 各加入浓度为 0.04mg/mL 的对照品 100 μ L, 微波提取并测定总黄酮浓度, 每份样品重复测定 5 次, 计算回收率, 结果回收率为 99.4%—103.5%, RSD 为 1.37%—2.52%, 加标平均回收率为 101.4%, 平均 RSD 为 1.98%, 表明该方法准确度较高。

4 结论

微波萃取技术广泛应用于从植物中提取天然有效成分, 因其具有简便快速, 可缩短实验和生产时间, 降低能耗, 节省溶剂等优点^[3,4]。本文将该技术应用于百癣夏塔热片总黄酮的提取, 并与其他传统提取方法进行比较。实验表明采用微波萃取技术提取总黄酮具有安全, 节能, 快速, 高效和选择性好的特点, 值得推广应用。微波辅助萃取技术(MAE)具有选择性高、操作时间短、溶剂消耗量少、有效成分得率高、不产生噪音、适合于热不稳定成分等优点, 而且作为吸收微波最好介质的水也是中药提取的主要提取剂, 因此微波萃取技术在中药提取中有良好的应用前景。如何针对中药的特点设计微波萃取技术方案以及工业化微波萃取设备的开发等是有待研究的。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 药品标准-维吾尔药分册[M]. 新疆: 新疆科技卫生出版社, 1999. 85.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅编. 维吾尔药材标准(上册)[M]. 新疆: 新疆科技卫生出版社, 1991. 99.
- [3] 杨艳红, 戴富华, 刘慎等. 微波法提取红花黄色素的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 12(8): 190—192.
- [4] 张帆, 周峰, 王桂花等. 微波辅助萃取-分光光度法测定卫矛中总黄酮[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 6(7): 1633—1636.

Determination of Total Flavonoids in Baixuan Xiatare Tablets by Three Different Extraction Methods

LU Yi ZHANG Liao-Sheng RAN Wen-Sheng YANG Tao

(Institute of Xinjiang Production Quality Inspection, Urumqi 830004, P. R. China)

Abstract The total flavonoids of Baixuan Xiatare Tablets were extracted by Soxhlet extraction, supersonic extraction and microwave extraction. The optimum technological conditions for the three methods were as follows: the ratio of solid-liquid (methanol) was 1:20 (g/mL), extraction time of Soxhlet extraction was 6h, supersonic extraction was 1h and the radiation time of microwave extraction was 10min at 100 $^{\circ}$ C. The determination method of total flavonoids content in Baixuan Xiatare Tablets with spectrophotometry was studied with rutin as standard substance at the wavelength of 510nm. There was a good linear relationship between concentration of rutin and absorbance ($r = 0.9999$). Microwave extraction had the advantages of shorter extraction time, less solvent dosage, high efficiency, energy-saving, simple operation and higher yield compared with Soxhlet extraction. Microwave extraction method is the ideal extraction, and deserves popularization and application.

Key words Different Extraction Methods; Total flavonoids; Baixuan Xiatare Tablets