

梔子中总黄酮和多糖的微波提取与含量测定

薛梅,李炳奇*,王自军,韦文珍(石河子大学化学化工学院,新疆 石河子 832002)

摘要:目的 从梔子中提取总黄酮和多糖,并测定其含量。方法 运用微波技术提取梔子总黄酮和多糖,用比色法测定总黄酮和多糖含量。结果 测得梔子中总黄酮含量为 3.27%,平均回收率为 100.5%,相对标准偏差(RSD)为 1.95%($n=5$);多糖含量为 10.53%,平均回收率为 101.32%,相对标准偏差(RSD)为 1.05%($n=5$)。结论 运用微波技术从梔子中联合提取总黄酮和多糖,提取速度加快,提高了提取效率。

关键词:微波技术;梔子;总黄酮;多糖;提取;含量测定

中图分类号:R284.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)05-0402-03

Microwave technique extraction and determination of total flavonoids and polysaccharides in Fructus Gardeniae

基金项目:本课题是石河子大学自然科学基金资助项目(No. 2003822415)

作者简介:薛梅(1964-),女,副教授,从事天然产物有效成分和有机合成的研究。联系地址:新疆石河子大学化学化工学院 434号信箱,邮编:832002。联系电话:13999732813;0993-2026796。E-mail: xuemei1992@126.com

* 通讯作者:李炳奇(1951-),男,教授,从事天然产物化学的研究。电话:0993-2057276, E-mail: libingqi@tom.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To extract and determine total flavonoids and polysaccharides in Fructus Gardeniae. **METHODS** Total flavonoids and polysaccharides in Fructus Gardeniae were extracted by microwave technique and determined by colorimetry. **RESULTS** Total flavonoids in Fructus Gardeniae was 3.27%, and the recovery rate was 100.5%, RSD was 1.95% ($n=5$); polysaccharides in Fructus Gardeniae was 10.53%, and recovery rate was 101.32%, RSD was 1.05% ($n=5$). **CONCLUSION** Microwave technique was applied to extracting total flavonoids and polysaccharides in Fructus Gardeniae for the first time. The extraction speed is faster and the result is satisfactory.

KEY WORDS: microwave technique; Fructus Gardeniae; total flavonoids; polysaccharide; extraction; determination

栀子始载于《神农本草经》,为茜草科植物栀子 (*Gardenia jasmminoides* Ellis.) 的干燥成熟果实。性寒味苦,归心、肺、三焦经,具有泻火除烦,清热利尿,凉血解毒之功效。用于热病心烦,黄疸尿赤,血淋涩痛,血热吐衄,目赤肿痛,火毒疮疡,外治扭挫伤痛。焦栀子凉血止血,用于血热吐衄,尿血崩漏。现代研究表明,栀子具有较为广泛的药理作用。

微波技术的应用,近年来得到很大发展。微波具有穿透力强、选择性高、加热效率高等特点。微波辐射 (MWI) 可以大大加快反应速度,缩短反应时间^[1]。微波技术应用于植物细胞破壁,有效地提高了收率^[2]。

我们运用微波技术联合提取栀子中总黄酮和多糖,以芦丁为对照品测定栀子中总黄酮含量,加入铝离子试剂,同时控制适宜 pH 值,使黄酮化合物与铝盐形成配合物在可见光区能获得稳定的特征吸收峰。运用微波技术水提醇沉法制得栀子粗多糖,并采用酚-硫酸比色法对其多糖含量进行测定^[3],反应速度加快,实验结果令人满意,为栀子总黄酮和多糖的研究和开发利用奠定了基础。

1 仪器、样品及试剂

UV-2401 型分光光度计 (日本岛津), MCL-3 型连续微波反应器 (四川大学无线电系)。对照品芦丁购自中国药品生物制品检定所,其余试剂均为分析纯。栀子购自石河子中药店,粉碎后备用。

2 栀子中总黄酮和多糖的含量测定

2.1 样品溶液制备

取栀子约 2g,精密称定,用滤纸包好,置于索氏提取器中,用石油醚 (60~90℃) 水浴回流脱脂 2 次 (每次 2h),弃去石油醚提取液。栀子挥干石油醚后,置 100mL 烧瓶中,将此烧瓶放入 MCL-3 型连续微波反应器中,用 80%乙醇回流提取两次,调整功率 560,500,400,350W,每次反应时间 20min,提尽黄酮。另用少量 80%乙醇多次洗涤栀子,并入提取液中,定量转移入 100mL 量瓶中,加 80%乙醇至刻度,摇匀,即得测总黄酮之栀子样品液。

将提尽黄酮后的栀子置 100mL 烧瓶中,放入 MCL-3 型连续微波反应器中,用 80%乙醇回流提取 20min,调整功率 560,500,400,350W,以除去单糖及一些苷类,弃提取液。栀子挥干乙醇后,再放入 MCL-3 型连续微波反应器中,继续以水回流提取 2 次 (每次 20min),调整功率 560,500,400,

350W,减压抽滤,各次滤液合并。水浴浓缩后,用蒸馏水定容至 250mL,即为测多糖的栀子样品液。

2.2 总黄酮含量的测定

2.2.1 标准曲线制备 精密称取芦丁对照品 10mg,置 25mL 量瓶中,加 80%乙醇溶解,定容,精密吸取 0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0mL,分置于 10mL 量瓶中,加 5%亚硝酸钠 0.3mL,放置 6min,再加 10%硝酸铝 0.3mL,放置 6min,加 4%氢氧化钠 4mL,加水至刻度,摇匀。进行全波长扫描,在 510nm 处均有最大吸收。以 510nm 处测得的吸收度 A 对浓度 C 回归,得回归方程: $A = 11.225C + 0.0027$, $r = 0.99913$,在 $8 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ 的范围内,浓度与吸收度有良好的线性关系。

2.2.2 样品测定 分别将测总黄酮之各样品液定量稀释 5 倍后,再精密吸取各稀释液适量于 10mL 量瓶中,照标准曲线制定项下方法操作,测定吸收度,由回归方程求出稀释液中总黄酮浓度,然后计算百分含量,结果见表 1。

2.2.3 稳定性试验 按样品测定方法操作,测定同一供试液在不同时间吸收度。结果表明,吸收度值在 6h 内基本不变,因此测定应控制在 6h 内完成。

2.2.4 回收率试验 取已知总黄酮含量的供试品溶液 1.0mL 于 10mL 量瓶中,再加入 0.2mg/mL 的芦丁对照品溶液 0.5mL,依法测定,结果平均回收率为 100.5%, RSD = 1.95% ($n=5$)。

2.3 多糖含量测定

2.3.1 标准葡萄糖溶液的配制 精密称取干燥恒重的葡萄糖 25.2mg,加适量水溶解,转移至 250mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,配成浓度为 $100.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准葡萄糖溶液备用。

2.3.2 5%苯酚试剂的配制 取苯酚 100g,加铝片 0.1g 和 NaHCO_3 0.05g,蒸馏。收集 182℃ 馏份,称取 7.5g,加水 150mL 溶解,置棕色瓶内放冰箱备用。

2.3.3 标准曲线制备 精密量取 $100.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准葡萄糖溶液 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7mL 置于干燥试管中,分别加水使成 1.0mL,再分别加入 5%苯酚溶液 1.6mL,摇匀,然后加浓 H_2SO_4 7.0mL,充分摇匀,室温放置 25min,在 490nm 处测定其最大吸收度,同时做一空白。结果浓度在 $10.05 \sim 75.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈线性关系,实验数据做回归处理得回归方程: $A = 0.0691C + 0.003$, $r = 0.9991$ 。

2.3.4 换算因素测定 栀子粉碎后,称取 100g,置于 500mL

烧瓶中,将此烧瓶放入 MCL-3型连续微波反应器中,依次用 250mL石油醚(60~90℃)、乙醚和 80%乙醇回流提取两次,调整功率 560,500,400,350W,反应时间 20min。减压抽滤,残渣挥干溶剂后,再放入 MCL-3型连续微波反应器中,调整功率 630,600,560,450W,继续以水回流提取两次,每次 20min。减压过滤,合并滤液。将滤液减压浓缩至一半体积,加入 0.1%活性炭,脱色两次,过滤,滤液加 5倍量 95%乙醇,放置过夜,抽滤后的沉淀以 100mL水溶解重复醇沉一次。过滤,残渣用乙醚、无水乙醇反复洗涤,60℃干燥,即得栀子多糖。精确称取 60℃干燥恒重的栀子多糖 20.00mg,水溶解后定容到 100mL量瓶中,摇匀,做为多糖储备液。精确量取多糖储备液 0.2mL,加水至 1mL,按测定标准曲线同样的方法测其吸收度。按下式计算换算因素: $f = W / CD$ 式中:W 为多糖重量(μg),C 为多糖液中葡萄糖的浓度(μg·mL⁻¹),D 为多糖的稀释因素。测得 $f = 1.653$ 。

2.3.5 样品含量测定 精确吸取样品液 1mL,按标准曲线制备项下方法测定其吸收度值,按下式计算多糖含量,多糖含量 = $CDf / W \times 100$ (C 为样品溶液的葡萄糖的质量, D 为样品溶液的稀释倍数, f 为换算因素),结果见表 1。

表 1 栀子中总黄酮和多糖含量

Tab 1 The content of total flavonoid and polysaccharide from Fructus Gardeniae

测定 次数	总黄酮			多糖		
	含量 (%)	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)	含量 (%)	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
1	3.29			10.50		
2	3.21	3.27 ± 0.057	1.74	10.62	10.53 ± 0.097	0.92
3	3.32			10.47		

2.3.6 稳定性试验 用硫酸-苯酚法测定同一样品液在不同时间的吸收度,吸收度值至少在 24h 内不变。

2.3.7 回收率测定 精密称取栀子适量,加入精制栀子多糖适量,按样品液制备和多糖含量测定方法操作,测得多糖平均回收率为 101.32%, RSD = 1.05% (n = 5)。

3 讨论

黄酮类化合物具有降脂、抗血栓、抗氧化、降糖等多种生理活性^[4]。多糖广泛存在于自然界,是多种中草药的有效成分之一,具有多种生物活性,是理想的免疫增强剂。它能提高机体免疫系统的功能,而对正常细胞没有不良反应。在抗肿瘤、抗病毒、抗衰老等药物研究中,多糖类药物的研制已成为当今世界新药的发展方向之一^[5]。我们运用微波技术从栀子中联合提取出栀子总黄酮和多糖,并对其含量进行了测定,反应时间缩短。结果显示栀子中黄酮含量较少,为 3.27%,但多糖的含量较高,为 10.53%,有较高的开发价值。栀子黄酮和多糖的结构组成和生理活性有待进一步研究和探讨。

参考文献

[1] 曾昭钧,李香文.微波有机化学进展[J].沈阳药科大学学报,1999,10:304-309.
[2] 张代佳,刘传斌,修志龙,等.微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J].中草药,2000,31(9):附 5-64.
[3] 席先蓉,李寿星.蒲黄及不同炮制品中总黄酮和多糖含量分析[J].中国中药杂志,2000,25(1):25-28.
[4] 韩公羽,沈企华.植物药有效成分的研究与开发[M].杭州:杭州大学出版社,1991:94-102.
[5] 田庚元,冯宇澄,林颖.植物多糖的研究进展[J].中国中药杂志,1995,20(7):441.