

# 麻叶千里光中总黄酮的测定分析

高淑云, 程熙

(徐州工程学院, 江苏 徐州 221008)

**摘要:** 目的: 以麻叶千里光为原料, 采用索氏提取和微波提取相结合的方法提取黄酮并测定其提取率。方法: 通过对索氏提取时间、微波提取时间、微波提取功率单因素试验确定最佳单因素水平并做正交试验, 确定以甲醇为提取剂提取麻叶千里光中黄酮类化合物的最佳工艺条件。然后采用紫外分光光度法和薄层扫描法测定黄酮提取率。结果: 最佳提取工艺为索氏提取时间 2h、微波提取时间 150s、微波功率 80W。紫外分光光度法测定的麻叶千里光中总黄酮提取率为 0.543%、回收率为 92.49%、精密度为 4.744%, 薄层扫描法测定的麻叶千里光中总黄酮含量为 0.783%、回收率为 99.20%、精密度 0.380%。结论: 薄层扫描法测定麻叶千里光中总黄酮提取率方法准确、快速。

**关键词:** 麻叶千里光; 提取; 黄酮; 薄层扫描法; 紫外分光光度法

## Determination of Total Flavonoids in *Senecio cannabinifolius* Less

GAO Shu-yun, CHENG Xi

(Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China)

**Abstract:** In this study, total flavonoids was prepared from raw materials of *Senecio cannabinifolius* Less by using soxhlet extraction and microwave extraction. A single-factor test and an orthogonal experiment were employed to investigate the effect of extraction time and the microwave power on the yields of flavonoids. The optimal extracting conditions were obtained as follows: 2 h of extraction time for soxhlet and 150 s for microwave and the microwave power of 80 W. The *Senecio cannabinifolius* Less contained 0.543% of flavonoids by UV method and the recovery of this analysis was 92.49% and 4.744% for precision while the content of flavonoids by TLCS was 0.783% and the recovery was 99.20% and 0.380% for precision test.

**Key words:** *Senecio cannabinifolius* Less; extraction; flavonoids; TLC; UV

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)24-0316-04

麻叶千里光(*Senecio cannabinifolius* Less), 又名宽叶返魂草, 为菊科千里光属多年生草本植物。主要分布在吉林省的长白山地区。该植物全草入药, 具有止血、镇痛的作用。可做外用止血药及肿瘤和分娩前的镇痛药<sup>[1]</sup>, 千里光属植物含少量生物碱、黄酮甙、酚类等具有抗肿瘤作用, 该类生物碱的体内代谢物具有肝、肾损害等毒性作用<sup>[2]</sup>, 黄酮类化合物具有高效、低毒、廉价、抗氧化性强的特点, 从药食两用植物中逐渐被更多人认可。黄酮类化合物具有广泛的药理活性, 除传统意义上的抗炎、抗变态、抗病毒以及解热和保肝作用外, 近年来对其抗氧化、抗肿瘤和抗 HIV 病毒的研究日趋深入。经实验表明, 黄酮类化合物对肿瘤等方面均有显著的药理作用, 说明此类化合物确有多种生物学活性<sup>[3]</sup>。生物类黄酮的传统提取方法主要分为水提

法、碱性水或碱性稀醇提取法、有机溶剂提取法等。微波浸提的最大优点就是提取时间短、温度较低, 并且可以为植物有效成分大规模生产的提取、分离提供合理化生产工艺、流程及参数, 因此, 避免了长时间处于高温下的氧化, 收率和产品质量都较传统方法高<sup>[4-6]</sup>。

麻叶千里光中黄酮提取率的测定目前尚未见报道, 本实验采用索氏提取和微波提取相结合的方法提取麻叶千里光中的黄酮, 并分别采用紫外光谱法和薄层扫描法测定其中总黄酮提取率。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

麻叶千里光产于吉林延边地区, 经延边大学药学院

收稿日期: 2008-12-29

基金项目: 江苏省高校自然科学基金基础研究项目(07KJD550203); 江苏省大学生创新训练计划项目(2008002)

作者简介: 高淑云(1955—), 女, 教授, 硕士, 主要从事食品及天然植物有效成分分离及检测研究。E-mail: gsy@xzit.edu.cn

吕慧子教授鉴定为麻叶千里光(*Senecio cannabifolius* Less)。

甲醇、乙酸乙酯、甲酸、丁酮等均为分析纯; 芦丁(080106)、槲皮素(080121)、山奈酚(080128)标准品 上海融禾医药科技有限公司。

## 1.2 仪器与设备

FZ102 型微型植物粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司; CS-9301PC 岛津双波长飞点扫描薄层分析仪 日本岛津公司; UT-1810 紫外分光光度计 北京普析通用仪器公司; KW-2000 型超声-微波协同萃取仪 上海新拓微波溶样测试技术有限公司; GZX-DH·600℃型电热恒温干燥箱 上海跃进医疗器械厂; 硅胶 G 青岛硅胶精细化工有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样品处理

用蒸馏水反复冲洗麻叶千里光, 于 60℃ 恒温箱中干燥, 然后用微型植物粉碎机粉碎装瓶备用。

### 1.3.2 黄酮类化合物的定性分析

黄酮类化合物在 200~400nm 区域内存在两个主要吸收峰: 峰带 I 300~400nm 和峰带 II 220~280nm。首先取麻叶千里光样品 2.000g 置于索氏提取器中, 以甲醇为提取剂进行提取。将麻叶千里光提取液用紫外分光光度计及薄层扫描仪在 200~450nm 区域内扫描。在 266nm 和 360nm 处有特征峰, 证明麻叶千里光中的提取物是黄酮类化合物。

### 1.3.3 试剂及展开剂的配制

标准品的选择: 以甲醇为空白, 分别作芦丁、槲皮素、山奈酚标准品及麻叶千里光的吸收曲线。结果表明, 麻叶千里光吸收曲线与芦丁标准品的吸收曲线相近, 均在 266nm 和(360 ± 1)nm 波长处有吸收, 故选择芦丁为标品, 在 360nm 波长处测定。

标准溶液的制备: 精确称取芦丁 10.00mg, 置于 10ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 稍稍振动溶解均匀, 得质量浓度为 1mg/ml 的储备液。

展开剂的配制: 分别量取乙酸乙酯、丁酮、甲酸、水为 50、30、10、10ml 于洗净烘干后的层析柱中, 充分溶解, 放置待用。

### 1.3.4 标准曲线的绘制

用芦丁标准溶液配制成不同浓度的溶液, 经紫外光谱法和薄层扫描法测定, 绘制标准曲线, 确定线性关系。

### 1.3.5 正交试验优化提取效果

作单因素和正交试验, 确定微波时间、微波功率、索氏提取时间对提取效果的影响, 并在最佳条件下测定总黄酮提取率。

## 1.3.6 回收率实验和精密度考察

在最优化提取实验条件下, 分别考察紫外光谱法和薄层扫描法实验的回收率和精密度, 并对样品中总黄酮提取率进行测定。

## 1.3.7 提取率计算

采用紫外分光光度法测定麻叶千里光中总黄酮提取率, 计算公式如下:

$$\text{总黄酮提取率(\%)} = \frac{\text{吸光度} + 0.0067}{0.0335} \times 10 \times 25 \times \frac{1}{2 \times 10^6} \times 100$$

采用薄层扫描法测定麻叶千里光中总黄酮提取率, 计算公式如下:

$$\text{总黄酮提取率(\%)} = \frac{\text{峰面积} + 354.76}{55.551} \times \frac{25 \times 10^3}{30} \times \frac{1}{2 \times 10^6} \times 100$$

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

#### 2.1.1 紫外光谱法标准曲线的绘制

用移液管准确吸取该标准溶液 2.50ml 置于 25ml 容量瓶中, 用甲醇定容作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 0.10、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00ml 分别置于 10ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。在选定的波长处进行测定, 以吸光度(y)对质量浓度(x)作图。得回归方程为  $y = 0.0335x - 0.0067$ ,  $R^2 = 0.9998$ 。结果表明, 芦丁在 1~30 μg/ml 范围内与其吸光度呈现良好的线性关系。

#### 2.1.2 薄层扫描法标准曲线的绘制

分别精密吸取芦丁储备液(1.0mg/ml)10、15、20、25、30 μl 点于同一硅胶 G 薄层板上, 放入有展开剂的层析柱中经过一段时间取出, 用吹风机将其吹干, 用 3% 氯化铝显色, 再用吹风机吹干进行薄层扫描, 以点样量  $m(\mu\text{g})$  为横坐标, 测得峰面积  $A$  为纵坐标, 作回归曲线。得回归方程为  $A = 55.551m - 354.76$ ,  $R^2 = 0.9969$ 。结果表明, 芦丁在 10~30 μg/ml 范围内与其峰面积呈现良好的线性关系。

### 2.2 影响提取效果的因素

#### 2.2.1 微波时间对提取效果的影响

称取 5 份麻叶千里光样品各 2g 分别放入脂肪烧瓶中, 各加入 20ml 甲醇, 先用索氏提取 1h(在进行 0.5h 后再加入 20ml 甲醇), 然后在微波功率为 50W 微波时间 60、

90、120、150、180s 条件下提取, 将提取液冷却过滤, 浓缩定容至 25ml 容量瓶, 然后量取提取液 2.5ml 于 25ml 容量瓶中稀释定容, 用紫外分光光度计测定结果表明, 当微波时间为 150s 时吸光度较高。

### 2.2.2 微波功率对提取效果的影响

称取 5 份麻叶千里光样品各 2g 分别放入脂肪烧瓶中, 各加入 20ml 甲醇, 先用索氏提取 1h(在进行 0.5h 再加入 20ml 甲醇), 在微波时间为 150s, 微波功率分别为 50、80、110、140、170W 条件下提取, 将提取液冷却过滤, 浓缩定容至 25ml 容量瓶, 然后量取提取液 2.5ml 于 25ml 容量瓶中稀释定容, 用紫外分光光度计测定结果表明, 微波功率为 80W 时吸光度较高。

### 2.2.3 索氏时间对提取效果的影响

称取 5 份麻叶千里光样品各 2g 分别放入脂肪烧瓶中, 各加入 20ml 甲醇, 分别在索氏时间为 0.5、1、1.5、2、2.5h(每次均在进行一半时间时再加入 20ml 甲醇), 微波时间为 150s, 微波功率 80W 条件下提取, 将提取液冷却过滤, 浓缩定容至 25ml 容量瓶, 然后量取提取液 2.5ml 于 25ml 容量瓶中稀释定容, 用紫外分光光度计测定结果表明, 索氏提取时间为 2h 时吸光度较高。

## 2.3 正交试验分析

为确定麻叶千里光中黄酮提取最佳条件, 故设定微波时间、微波功率、索氏提取时间对提取效果的影响, 建立三因素三水平正交试验见表 1<sup>[7]</sup>。

表 1 提取条件正交试验因素及水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	A 索氏提取时间(h)	B 微波提取时间(s)	C 微波功率(W)
1	1	100	60
2	1.5	150	80
3	2	200	100

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

水平	A	B	C	空列	提取率(%)
1	1	1	1	1	0.2388
2	1	2	2	2	0.4316
3	1	3	3	3	0.4003
4	2	1	2	3	0.3185
5	2	2	3	1	0.3577
6	2	3	1	2	0.4249
7	3	1	3	2	0.3208
8	3	2	1	3	0.4353
9	3	3	2	1	0.4984
$K_1$	2.849	2.925	2.914	2.333	
$K_2$	2.931	3.326	3.135	2.262	
$K_3$	3.342	2.871	3.073	3.527	
$k_1$	0.950	0.975	0.971	0.778	
$k_2$	0.977	1.042	1.045	1.087	
$k_3$	1.114	0.957	1.024	1.176	
R	0.493	0.455	0.22	1.194	

由表 2 可以看出, 试验中  $A_3B_3C_2$  提取率较高, 根据表中极差 R 分析, 各个因素对提取率的影响顺序为  $A > B > C$ , 而分析最佳为  $A_3B_2C_2$ 。

由于分析得到的最佳水平组合: 索氏时间 2h、微波时间 200s、微波功率 80W 和实际得到的最优水平组合: 索氏时间 2h、微波时间 150s、微波功率 80W 不一致, 因此做验证性实验, 结果表明, 麻叶千里光中总黄酮提取最佳条件为索氏时间 2h、微波时间 150s、微波功率 80W。

## 2.4 回收率实验

### 2.4.1 紫外测定回收率实验

以样品的加标回收率验证方法的准确性。取已知含量的样品 9 份, 分别加入芦丁标准溶液, 回收率结果见表 3。

表 3 紫外回收率实验

Table 3 Recovery test of UV

实验号	样品量( $\mu\text{g/g}$ )	加标量( $\mu\text{g/g}$ )	总测得量( $\mu\text{g/g}$ )	回收率(%)
1	42.67	30	70.51	92.80
2	42.67	30	70.92	94.17
3	42.67	30	70.79	93.73
4	64.01	40	101.12	92.78
5	64.01	40	101.08	92.67
6	64.01	40	100.35	90.85
7	85.34	50	131.47	92.26
8	85.34	50	131.29	91.90
9	85.34	50	130.95	91.22
平均值				92.49

实验回收率为 92.49%, 说明实验方法的准确性较好, 测定结果可信。

### 2.4.2 薄层测定回收率实验

分别精密吸取 5、10、15、20、25、30、35  $\mu\text{g/g}$  的芦丁标准品储备液点于同一块硅胶 G 薄层板上, 再分别吸取 15.21  $\mu\text{g/g}$  麻叶千里光提取液点于各点之上, 进行层析和扫描, 结果见表 4。

表 4 薄层回收率实验

Table 4 Recovery test of TLCS

实验号	样品量( $\mu\text{g/g}$ )	加标量( $\mu\text{g/g}$ )	测得量( $\mu\text{g/g}$ )	加样回收率(%)
1		5	20.39	101.18
2		10	24.72	96.78
3		15	29.20	93.35
4	15.21	20	35.61	102.63
5		25	40.59	102.50
6		30	45.13	99.47
7		35	49.98	98.49
平均值				99.20

实验回收率为 99.20%, 说明实验方法的准确性较好, 测定结果可信。

## 2.5 精密度实验

### 2.5.1 紫外光谱精密度实验

从同一份提取液中精密吸取 2.5ml 于 25ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 待测。在同一条件下重复测定 6 次, 得出 RSD 为 4.744%, 表明实验的重现性较好, 测定结果可信。

### 2.5.2 薄层扫描精密度实验

在同一硅胶 G 薄层板上点上相同量的同一份提取液, 展开, 显色再进行扫描, 分别重复测定 6 次, 得出 RSD 为 0.38%, 表明实验的重现性好, 测定结果可信。

## 2.6 样品测定

称取麻叶千里光样品 2g 若干份, 在最佳条件为索氏时间 2h、微波时间 150s、微波功率 80W 进行索氏和微波相结合的方法提取, 提取液分别用紫外分光光度法和薄层扫描法测定。测定总黄酮提取率分别为 0.543% 和 0.783%。

## 3 结论

### 3.1 提取剂的选择

因黄酮及其苷类均可溶于甲醇和乙醇, 所以两者都可作为提取溶剂。实验证明, 在同样条件下, 甲醇作提取剂时的提取率大于乙醇。

### 3.2 提取方法的选择

通过实验显示索氏提取效率高于微波提取, 但索氏提取耗时是它的一个缺点, 为探讨一种相对省时、高效率的提取方法, 本实验探索研究了索氏与微波结合的方法, 在借鉴单独索氏和微波实验基础上, 做了尝试性的比较实验, 结果是索氏提取率为 0.69%, 索氏-微波提取率为 0.64%, 微波提取率为 0.43%, 可见索氏-微波结合提取将是一种较理想的提取方法。

## 3.3 索氏-微波结合提取的特点

通过实验表明, 在索氏提取中分阶段加入甲醇比一次加入提取率要高; 由索氏转入微波提取时易产生误差, 需要十分谨慎。理论上讲, 在一定范围内, 微波时间越久, 功率越大提取效率越高。但在做单因素实验时, 当达到一定功率、一定温度时萃取效率逐渐降低, 当提取时间增加时, 而提取效率变化不大, 这可能是由于微波对细胞膜的破碎作用随着功率和时间增加而逐渐增强, 从而有利于提取, 但当微波强度进一步加强时其强热效应可对某些成分产生破坏作用, 反而不利于提取效率的提高。

实验表明, 麻叶千里光中总黄酮提取最佳条件为: 索氏提取时间 2h、微波提取时间 150s、微波功率 80W。索氏-微波结合提取将是值得应用的一种提取方法。采用紫外分光光度法和薄层扫描法分别测定麻叶千里光中总黄酮提取率, 测定结果分别为 0.543% 和 0.783%。薄层扫描法测定麻叶千里光中黄酮类化合物的提取率, 其方法简便、快速, 适用于药材中黄酮类化合物的提取率测定。

## 参考文献:

- [1] 中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第 7 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 943.
- [2] 吴斌, 林文辉, 高慧媛, 等. 麻叶千里光抗菌化学成分的研究(II)[J]. 中草药, 2005, 36(10): 1447-1450.
- [3] 吕泽田, 姜德永, 田惠争, 等. 蜂胶中黄酮类化合物抑制肿瘤作用的试验与应用[J]. 蜜蜂杂志, 1999, 14(1): 89-91.
- [4] 张庆云. 茶多酚提取方法的进展[J]. 福建茶叶, 2002(2): 15-17.
- [5] 曾里, 夏之宁. 超声波和微波对中药提取的促进和影响[J]. 化学研究与应用, 2002, 14(3): 245-249.
- [6] 郭孝武, 张福成, 林书玉, 等. 超声技术在中草药成分提取中的应用[J]. 中草药, 1993, 24(10): 548-550.
- [7] 李云雁, 胡传荣. 实验数据与处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 3.