

文章编号:1673-1689(2005)04-0089-03

乌饭树树叶中槲皮素的提取分离与鉴定

王立¹, 姚惠源¹, 陶冠军², 秦昉²

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214036; 2. 江南大学分析测试中心, 江苏无锡 214036)

摘要: 乌饭树是一种具有一定营养价值和保健功能的食品资源, 其保健功能在许多资料中都有记载, 但其主要功能性成分尚不清楚。作者对其树叶中色素的成分进行了初步分析, 首次从中分离鉴定了槲皮素成分。

关键词: 乌饭树; 黄酮; 槲皮素

中图分类号: R 284.2

文献标识码: A

Extraction, Separation and Identification of Quercetin in *Vaccinium bracteatum* Thunb. Leaves

WANG Li¹, YAO Hui-yuan¹, TAO Guan-jun², QIN Fang²

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2 The Analysis Test Center, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: *Vaccinium bracteatum* Thunb., a resource of Chinese traditional medicine, belongs to the genus *Rhododendron*. It is grown massively in China and also can be found worldwide. Its functions were recorded in some thesaurus of Chinese traditional medicine. The leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. was investigated and quercetin was found from the leaves.

Key words: *Vaccinium bracteatum* Thunb.; flavone; quercetin

乌饭树(*Vaccinium bracteatum* Thunb.)为杜鹃花科越桔属植物。该属全世界约有450种,我国约有91种。乌饭树分布在北温带、亚热带、美洲和亚洲的热带地区,而以马来西亚地区最为集中;少数产于非洲南部、马达加斯加岛,但是不产于热带非洲高山和热带低地,也不产南温带。我国南北各地均产,主产于西南、华南。乌饭树通常为常绿或落叶灌木,很少为小乔木。在我国果实可以食用的种有乌饭树(主产于台湾、华东、华中、华南和西南)、越桔(主产于黑龙江、吉林、内蒙古、陕西、新疆)、笃

斯越桔(主产于黑龙江、内蒙古大兴安岭北部、吉林长白山)、黑果越桔(主产于新疆)、乌饭果(主产于四川、贵州、西藏以及云南大部分地区)、红沫苔子(主产于吉林长白山)和小果红莓苔子(主产于大兴安岭等地)。我国民间有采食乌饭浆果的习惯,有些地方用以制造果酱和酿酒,但是没有形成工业生产规模。

从乌饭树树叶中可分离出很多种化学成分,包括黄酮类物质、维生素、糖、果胶、有机酸、环烯醚萜类和萜类化合物。紫黑浆果中含有多种多酚化合

收稿日期:2004-05-11; 修回日期:2004-06-10.

作者简介:王立(1978-),男,江苏溧阳人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生。

物,如花色素苷和一些甙元、桂皮酸、苯甲酸衍生物、黄烷-3-醇、黄酮醇糖甙等^[1]。

目前对于乌饭树树叶的研究还不是很深入,国外报道很少,而国内的报道也只有30多篇,主要是对于乌饭树树叶中的黑色素进行了初步的研究。胡志杰、江水泉、姜萍等人对乌饭树树叶中的黑色素提取进行了一些探讨,但是对于其中的成分及其功能没有进行具体的研究^[2-4]。在一些中药类书籍或杂志中,对乌饭树树叶中的成分也进行了推测,并且提出了一些保健功能,但这些都需要进行实验来验证。

1 材料与方 法

1.1 实验材料、设备与试剂

乌饭树树叶:2003年3月采摘于江苏溧阳山区,样品风干,粉碎,过20目筛,备用;UV-1100紫外分光光度计:北京瑞利分析仪器公司产品;色谱仪:2690, WATERS公司生产;质谱仪:Platform ZMD 4000, WATERS公司生产;槲皮素:贵州大学生化中试基地提供;普通硅胶、荧光硅胶:中国青岛海洋化工集团公司产品;其余试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 提取分离纯化 提取分离纯化工艺如下:

乌饭树树叶 → 加水搅拌提取 → 抽滤 → 滤液 → 石油醚萃取脱脂 → 水相用氯仿萃取 → 萃取液浓缩 → 硅胶柱层析 → 分别用石油醚、乙酸乙酯、氯仿、正丁醇洗脱 → 氯仿洗脱液 → 硅胶柱层析 → 石油醚、乙酸乙酯、氯仿、正丁醇洗脱 → 收集氯仿洗脱液 → 浓缩至干 → 甲醇溶解备用(浅黄色溶液)

1.2.2 鉴定

1) 简单鉴定^[5,6]

盐酸-锌粉试验:取试液1 mL,加入少量锌粉,摇晃,滴加少量浓盐酸,加热3~5 min。

铅盐沉淀试验:取试液2 mL,滴加少量乙酸铅试剂。

三氯化铝试验:取少量试液滴于滤纸上,喷质量分数为1%的三氯化铝溶液,然后于紫外灯下观察。

TLC(普通硅胶和荧光硅胶板):分别以 $V_{(正丁醇)} : V_{(乙酸)} : V_{(水)} = 4 : 1 : 5$, $V_{(氯仿)} : V_{(甲醇)} = 9 : 2$ 为展开剂, $AlCl_3$ 甲醇溶液为显色剂,槲皮素标样为参照物,观察样品和标样的 R_f 值。

2) 光谱鉴定^[7,8]

紫外扫描光谱鉴定:观察“样品”的甲醇图谱、“样品+ $AlCl_3$ ”图谱和“样品+ $AlCl_3 + HCl$ ”图谱,并且与槲皮素标样对照。

万方数据

HPLC-MS图谱鉴定:观察样品的HPLC-MS图谱,并且与槲皮素标样对照。

2 结果与讨论

2.1 简单鉴定

简单鉴定结果见表1。

表1 黄酮类化合物定性分析结果
Tab.1 Qualitative analysis of the flavones

反应类型	现象	结果
盐酸-锌粉试验	变成红色并且静置后有红色沉淀	可能含有黄酮、二氢黄酮以及二氢黄酮醇类化合物
铅盐沉淀试验	有明显的红色沉淀	可能存在黄酮类化合物,有邻二酚羟基或兼有3-OH、4-酮基或5-OH、4-酮基黄酮
三氯化铝试验	生成黄色并有荧光	可能含有查耳酮、黄酮醇以及黄酮类化合物

2.2 TLC 鉴定

样品与槲皮素标样的 R_f 值基本一致,在 $V_{(正丁醇)} : V_{(乙酸)} : V_{(水)} = 4 : 1 : 5$ 系统中 R_f 值均为0.85左右, $V_{(氯仿)} : V_{(甲醇)} = 9 : 2$, R_f 值均为0.70左右,初步确定样品为槲皮素。

2.3 光谱鉴定

2.3.1 紫外扫描光谱 利用UV-1100紫外分光光度计对样品和槲皮素标样在200~600 nm进行扫描,以甲醇为参比。具体扫描图谱见图1和图2。

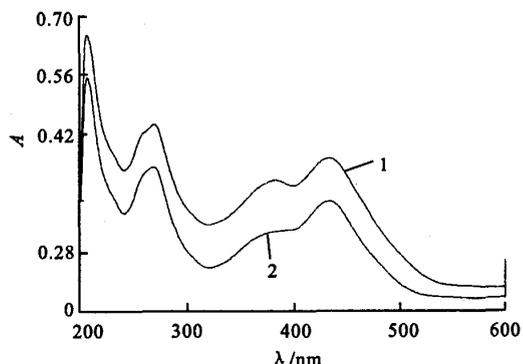


图1 样品和槲皮素标样的甲醇图谱

Fig.1 Spectrum of sample and quercetin dissolved in methanol

从样品的甲醇溶液和样品甲醇溶液添加 $AlCl_3$ 以及 $AlCl_3 + HCl$ 图谱,可以初步确认黄酮的种类。从图1可以看出,样品的吸收光谱图与槲皮素标样的吸收光谱图基本一致,而图2与资料报道的也基本一致,所以可以确认样品为槲皮素。

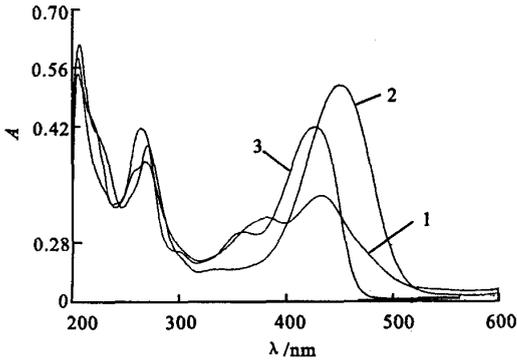


图2 样品及添加移动试剂的甲醇图谱

Fig. 2 Spectrum of sample and quercetin with $AlCl_3$ and HCl dissolved in methanol

2.3.2 HPLC 图谱 HPLC 分析条件:检测器:WATERS 996;分析柱:Lichrospher C-18 2.1 mm \times 250 mm;流动相:甲醇-水-乙酸(质量分数1%)梯度洗脱;柱温:30 $^{\circ}C$;流速:0.3 mL/min;进样量:10 μ L 定性方法:外标法。

具体 HPLC 结果见图3和图4。

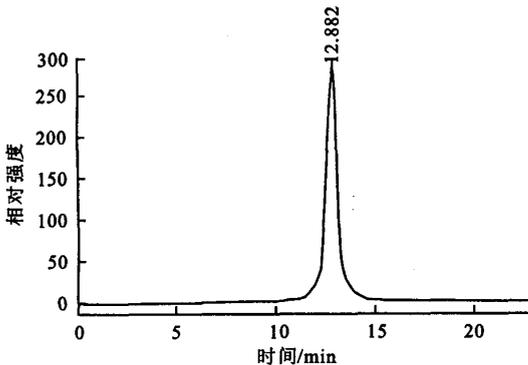


图3 槲皮素标样的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC spectra of quercetin

参考文献:

- [1] 柳云溪. 黑果越桔的研究进展[J]. 国外医药·植物药分册, 1998, 13(1): 13-17.
- [2] 胡志杰, 姜萍. 乌饭树叶色素提取工艺及色素性质再研究[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(1): 47.
- [3] 江水泉, 李伯珩. 野生乌饭树叶中脂肪的超临界 CO_2 萃取及其色谱分析[J]. 中国油脂, 2003, 28(7): 56-57.
- [4] 姜萍, 程从球. 乌饭树叶色素提取工艺及色素特性的研究[J]. 中国野生植物资源, 1999, 18(3): 47-49.
- [5] 林启寿. 中草药成分化学[M]. 北京: 科学出版社, 1977. 163-164.
- [6] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 科学技术出版社, 1997. 112-113.
- [7] K. R. 马卡姆. 黄酮类化合物结构鉴定技术[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [8] 高锦明. 植物化学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [9] 罗玲, 吴凯南, 吴晓健. 槲皮素对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖及凋亡的影响[J]. 中草药, 2004, 35(1): 71-73.
- [10] 向廷秀, 王丕龙, 高青, 等. 槲皮素对胃癌细胞 SGC-7901 和 BGC-823 生长的影响[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2003, 12(6): 560-562.
- [11] 肖东, 顾振纶. 槲皮素对大鼠血小板和再灌性心律失常的影响[J]. 中国药理学报, 1993, 14(6): 505-508.
- [12] 顾振纶, 谢梅林. 槲皮素对花生四烯酸诱导人血小板化学发光的影响[J]. 中国药理学报, 1993, 14(3): 263-265.

(责任编辑:朱明)

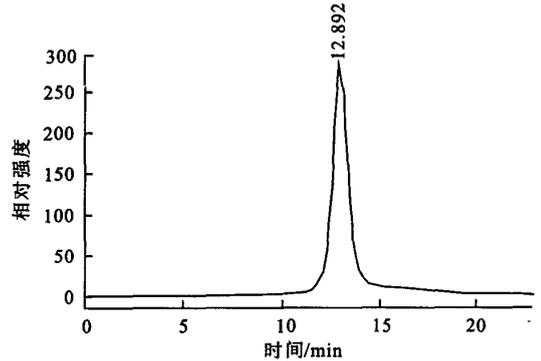


图4 样品的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC spectra of sample

由图3和图4比较,在相同的分析条件下,样品与槲皮素标样的保留时间相差为0.01 min,可以确认两者为同一物质。

MS 条件:离子方式:(EIS-)和(EIS+);毛细管电压:3.88 kV(EIS-), 3.87 kV(EIS+);锥孔电压:30 kV(EIS-), 24 kV(EIS+);离子源温度:120 $^{\circ}C$;脱溶剂气温度:300 $^{\circ}C$; m/z : 200~800;光电倍增器电压:650 V。

3 小结

槲皮素是一种天然的黄酮类化合物,具有广泛的生理活性。槲皮素可扩张冠状血管,降低血脂,抗血小板聚集,抗炎和抗氧化自由基等^[9-12]。近年来槲皮素对肿瘤的化学预防作用和治疗作用日益受到人们的重视。作者首次确定了从乌饭树叶中用氯仿提取得到的主要成分是槲皮素。