

箬叶中 4 种黄酮苷的同步 HPLC 检测

朱 理^{1,2}, 陈召桂³, 何剑飞³, 卢艳花^{*1,2}

(1. 华东理工大学 生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237; 2. 上海生物制造技术协同创新中心, 上海 200237; 3. 浙江五芳斋实业股份有限公司 检测中心, 浙江 嘉兴 314000)

摘要: 箬叶中含有丰富的黄酮类化合物, 具有多种生物活性。采摘国内箬叶主产区浙江松阳、武义, 以及安徽黄山、福建光泽、江西宁都的样品。样品经体积分数 50% 乙醇提取, 随后利用高效液相色谱法 (HPLC) 快速检测其中异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素含量, 方法简单准确。结果显示, 不同产地的箬叶均含有较丰富的黄酮苷。该结果揭示了国内不同产地的箬叶中异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素的含量差异, 为全面深入研发箬叶提供采收情况和质量评价参考。

关键词: 箬叶; 黄酮; 高效液相色谱法

中图分类号: TS 206.4 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2016)06—0657—03

Simultaneous Determination of 4 Flavonoid Glycosides in *Indocalmus* Leaf by HPLC

ZHU Li^{1,2}, CHEN Zhaogui³, HE Jianfei³, LU Yanhua^{*1,2}

(1. State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. Shanghai Institute of Biomanufacturing Technology, Shanghai 200237, China; 3. Testing Center for Zhe Jiang Wufangzhai Industry Co., Ltd, Jiaxing 314000, China)

Abstract: *Indocalmus* leaf is rich in flavonoids, which have various kinds of biological activities. *Indocalmus* leaves were collected from Songyang (Zhejiang province), Wuyi (Zhejiang province), Huangshan (Anhui province), Guangze (Fujian province) and Ningdu (Jiangxi province). Samples were extracted by 50% ethanol and flavonoids including isoorientin, orientin, vitexin and isovitexin were then determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Results indicated the richness of flavonoids in samples and the difference among isoorientin, orientin, vitexin and isovitexin in *Indocalmus* leaves from different regions, and thus provided a reference for deep research and development of *Indocalmus* leaf.

Keywords: *Indocalmus* leaf, flavonoids, HPLC

箬叶是箬竹属 (*Indocalmus*) 植物叶的总称, 常被用作传统食物粽子的包装材料。《本草纲目》记载

其功能为清热止血、解毒消肿。现代医学证明, 箬叶可以治疗吐血、衄血、下血、小便不利、喉痹、痈肿等

收稿日期: 2014-11-27

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项 (WF1113010); 嘉兴市科技计划项目 (2012AZ1008)。

* 通信作者: 卢艳花 (1968—), 女, 山东青岛人, 理学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事功能天然产物研究。

Email: luyanhua@ecust.edu.cn

病症^[1]。近年来的研究表明,箬叶中含有丰富的黄酮类化合物、多糖、酚酸、蒽醌等生物活性成分,尤其是碳苷黄酮。碳苷黄酮具有抗菌、保肝、抗氧化等功能,主要含荭草素、异荭草素、牡荆素、异牡荆素^[2-3]。

目前,人们对于竹类的利用多集中在竹叶,而专门针对箬叶的研究较少。作者对不同产地箬叶中碳苷黄酮含量进行测定,比较不同产地箬叶中黄酮含量的差异,为箬叶的开发利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

箬叶采摘于浙江松阳、武义,以及安徽黄山、福建光泽、江西宁都,分别对应样品 1—5,均由浙江五芳斋实业股份有限公司提供;异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素标准品,购于上海士锋生物科技有限公司。

DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱,真空干燥器,上海一恒科技仪器有限公司制造;FW-200A 型高速万能粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司制造;电子天平,上海衡平仪器仪表厂制造;LC-10AT 型高效液相色谱仪,日本岛津公司制造。

1.2 实验方法

1.2.1 干燥粉碎 取各产地箬叶样品干燥至恒质量,并粉碎。

1.2.2 样品制备 准确称取 10 g 箬叶粉末,用 100 mL 体积分数 50%乙醇超声萃取 1.5 h,抽滤,并用体积分数 50%乙醇洗涤滤渣^[4]。将滤液转移至研钵,在真空干燥器中干燥。取干燥残余物 2 mg,用 1 mL 体积分数 50%甲醇溶解,0.22 μm 滤膜过滤后待测。

1.2.3 色谱条件 HPLC 分析条件如下^[5-6]:色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;体积流量 1.0 mL/min;流动相 A 相为体积分数 0.3%磷酸水溶液,B 相为乙腈;检测波长 330 nm;洗脱条件(体积分数):0~10 min 15% B 相,10~45 min 15%~25% B 相,45~46 min 25%~100% B 相,46~51 min 100% B 相,51~52 min 100%~15% B 相,52~57 min 15% B 相。

1.2.4 标准曲线绘制 取异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素,配制成 200 $\mu\text{mol/L}$ 的标准溶液,依次稀释 2、4、10、20 倍,按上述色谱条件检测,绘制 4 种目标组分的标准曲线。

2 结果与分析

2.1 标准品混合物测定结果

荭草素、异荭草素、牡荆素、异牡荆素标准品混合物的 HPLC 图谱如图 1 所示。图中 1—4 峰依次为异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素。

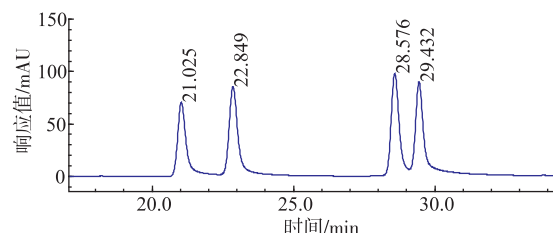


图 1 标准品 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC spectrum of the standards

2.2 标准曲线建立

以化合物质量浓度 X ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标,响应面积 Y 为纵坐标进行线性回归,得到 4 种化合物的标准曲线、相关系数,如表 1 所示。

表 1 标准曲线及相关系数

Table 1 Standard curves and correlation coefficients

化合物	标准曲线	线性范围/ ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 R
异荭草素	$Y = -43\ 889 + 39\ 828X$	4.48~89.68	0.999 74
荭草素	$Y = -14\ 662 + 39\ 318X$	4.48~89.68	0.999 77
牡荆素	$Y = 1\ 359 + 35\ 839X$	4.32~86.47	0.999 49
异牡荆素	$Y = 19\ 712 + 43\ 678X$	4.32~86.47	0.998 19

2.3 回收率实验

以样品 1 为实验对象,取适量箬叶提取物,分别加入适量异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素标准品,混合后用 HPLC 分析,结果见表 2。回收率在 96%~108%, $\text{RSD} \leq 6.22\%$ 。

2.4 样品检测

图 2 为样品 1 的 HPLC 检测图谱,其中 1—4 峰依次为异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素。

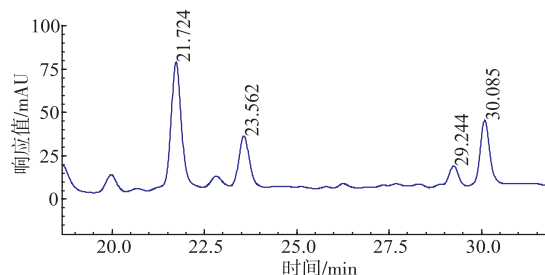


图 2 样品 1 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC spectrum of sample 1

表2 异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素回收率实验

Table 2 Recoveries of isoorientin, orientin, vitexin and isovitexin

化合物	样品中量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%	化合物	样品中量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
异荭草素	30.57	22.42	54.51	106.79	106.38	2.18	牡荆素	6.25	4.94	11.44	105.10	107.46	2.37
		28.70	61.80	108.81					6.27	12.93	106.58		
		35.87	67.71	103.53					6.92	13.91	110.71		
	20.38	15.00	34.50	95.88	99.38	5.79		4.17	3.29	7.20	92.23	98.48	5.26
		19.13	38.50	94.71					4.18	8.27	98.11		
		23.91	46.09	107.54					4.61	9.02	105.10		
	15.29	11.21	26.80	102.71	97.27	3.89		3.13	2.47	5.61	100.50	99.38	0.82
		14.35	28.96	95.28					3.14	6.22	98.56		
		17.94	32.12	93.83					3.46	6.56	99.09		
荭草素	13.72	11.21	25.42	104.41	99.38	6.22	异牡荆素	11.96	9.51	21.22	97.34	98.56	5.63
		14.35	28.52	103.11					11.89	22.94	92.35		
		15.94	28.16	90.61					14.27	27.08	105.98		
	9.15	7.47	16.56	99.25	98.37	3.10		7.97	6.34	13.90	93.46	97.27	3.43
		9.57	18.88	101.66					7.93	15.63	96.58		
		10.63	19.16	94.21					9.51	17.65	101.78		
	6.86	5.61	12.19	95.02	101.54	4.62		5.98	4.76	10.70	99.15	96.93	1.84
		7.18	14.40	105.04					5.95	11.61	94.64		
		7.97	15.19	104.552					7.14	12.91	97.00		

据标准曲线计算样品目标物质量分数(表3)。

表3 各样品中目标物质量分数

Table 3 Amounts of target compounds in samples $\mu\text{g/g}$

黄酮苷	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5
异荭草素	744.4	640.3	734.0	535.8	758.8
荭草素	293.4	548.5	629.3	506.1	656.4
牡荆素	100.7	129.7	135.7	147.0	108.8
异牡荆素	299.6	42.8	170.2	161.0	5.5

3 结 语

高效液相色谱法能准确有效地同时测定箬叶中4种黄酮苷含量。该结果为了解国内不同产地箬叶中黄酮含量的差异、探究不同采收期箬叶中黄酮含量的变化提供了依据。今后的研究中可结合箬叶外观形状、产量及微量元素含量^[7],全面深入研发箬叶,为进行质量评价和风味物质提取提供参考。

参考文献:

- [1] ZHANG Y. Natural function extract of bamboo leaves; Bamboo leaf anthoxanthin[J]. **China Food Additives**, 2002, 3(5): 12.
- [2] ZHANG Y, BAO B, LU B, et al. Determination of flavone C-glucosides in antioxidant of bamboo leaves(AOB) fortified foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection [J]. **Journal of Chromatography A**, 2005, 1065(2): 177-185.
- [3] ZHANG Y, JIAO J, LIU C, et al. Isolation and purification of four flavone C-glycosides from antioxidant of bamboo leaves by macroporous resin column chromatography and preparative high-performance liquid chromatography [J]. **Food Chemistry**, 2007, 107(3): 1326-1336.
- [4] 袁晓峰. 竹叶、竹秆总黄酮动态变化研究[D]. 南京: 南京林业大学 植物学院, 2006.
- [5] 刘体云, 卢艳花, 魏东芝, 等. 淡竹叶中总黄酮和三种黄酮苷的同步 HPLC 检测[J]. **中成药**, 2009, 31(1): 96-100.
LIU Tiyun, LU Yanhua, WEI Dongzhi, et al. Simultaneous determination of total flavonoids and three flavonoid glycosides in *Lophatherum gracile* Brongn. by HPLC[J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**, 2009, 31(1): 96-100. (in Chinese)
- [6] 袁珂, 薛月芹, 殷明文, 等. RP-HPLC 同时测定淡竹叶中 4 种黄酮苷的含量[J]. **中国中药杂志**, 2008(10): 386-388.
YUAN Ke, XUE Yueqin, YIN Mingwen, et al. Simultaneous determination of 4 flavonoid glycosides in *Lophatherum gracile* Brongn by RP-HPLC[J]. **China Journal of Chinese Materia Medica**, 2008(10): 386-388. (in Chinese)
- [7] 陈召桂, 朱理, 何剑飞, 等. 不同地区箬叶中 18 种微量元素快速检测及分析[J]. **食品科技**, 2014, 39(10): 323-326.
CHEN Zaogui, ZHU Li, HE Jianfei, et al. Rapid determination and analysis of 18 trace elements in *indocalmus* leaf from different regions[J]. **Food Science and Technology**, 2014, 39(10): 323-326. (in Chinese)