

赫章半夏生物碱的提取和含量测定

杨 姗^{1,2*}, 陈 涛¹, 陆 欢¹, 罗思莹¹, 申春艳¹

¹贵州工程应用技术学院化学工程学院, 贵州 毕节

²毕节市民族药用植物研究重点实验室, 贵州 毕节

收稿日期: 2024年1月2日; 录用日期: 2024年2月20日; 发布日期: 2024年2月27日

摘 要

对赫章半夏总生物碱(Total alkaloids from *Pinellas ternata*)的提取工艺进行研究, 通过加入适量氨水、乙酸乙酯辅以超声波提取, 以盐酸麻黄碱(Ephedrine hydrochloride)为标准品对提取到的总生物碱含量进行测定。通过单因素试验, 得出提取的最佳条件为: 粒径大小80目、氨水浓度25%、浸提溶剂量18倍和浸提时间3 h, 该条件下生物碱提取率为10.65 mg/g。

关键词

半夏, 生物碱, 超声波提取法, 盐酸麻黄碱

Extraction and Content Determination of Alkaloids from *Pinellia Hezhang*

Shan Yang^{1,2*}, Tao Chen¹, Huan Lu¹, Sixuan Luo¹, Chunyan Shen¹

¹School of Chemistry Engineering, Guizhou University of Engineering Science, Bijie Guizhou

²Bijie Key Laboratory of Ethnic Medicinal Plant Research, Bijie Guizhou

Received: Jan. 2nd, 2024; accepted: Feb. 20th, 2024; published: Feb. 27th, 2024

Abstract

The extraction technology of total alkaloids from *Pinellas ternata* was studied. By adding appropriate amount of ammonia, ethyl acetate and ultrasonic extraction, the total alkaloid content extracted was determined with ephedrine hydrochloride as the standard. Through single factor test, the optimal extraction conditions were as follows: particle size of 80 mesh, ammonia concentration of 25%, extraction solvent of 18 times and extraction time of 3 h. Under these conditions, the

*通讯作者。

文章引用: 杨珊, 陈涛, 陆欢, 罗思莹, 申春艳. 赫章半夏生物碱的提取和含量测定[J]. 食品与营养科学, 2024, 13(1): 118-123. DOI: 10.12677/hjfn.2024.131015

extraction rate of alkaloids was 10.65 mg/g.

Keywords

Pinellia ternata, Total Alkaloids, Ultrasonic Extraction Method, Ephedrine Hydrochloride

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

半夏属(*Pinellia Tenore*)植物属于天南星科(*Araceae*)南星亚科(*Aroideae*), 是一种常用的中药, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效[1], 现代药理学研究表明, 半夏还具有抗炎、抗肿瘤、抗菌、抗癫痫、抗衰老、抗新型冠状病毒肺炎等药理作用[2] [3]。目前发现半夏中有 90 个化学成分, 定性 80 个化学成分, 分别为生物碱类 7 个、醇醚类 8 个、脂肪酸甘油酯类 12 个、黄酮类 5 个、溶血磷脂酰胆碱类 12 个、醇氨类 10 个、氨基酸类 11 个、酰胺类 11 个、其他类型 4 个化合物[4] [5], 而生物碱被认为是半夏药理作用的主要有效成分之一[6]。赫章县属于典型的喀斯特地貌, 气候和地理环境独特, 中草药资源得天独厚, 是全国最大的半夏生产基地之一, 2013 年 2 月, 赫章半夏通过国家质监总局地理标志产品认证。近年来, 该县因地制宜、区域推进、连片开发, 促进半夏产业向规模化、集约化发展, 全县半夏种植面积 1.615 万亩。半夏中生物碱含量是评价药材质量的重要标准, 因此对赫章半夏生物碱的提取和含量测定对半夏发展有着重要意义, 本研究通过超声波提取法[7]对赫章半夏生物碱的提取工艺进行研究和含量测定。

2. 实验仪器及试剂

2.1. 药材和试剂

赫章半夏, 盐酸麻黄碱标准品, 二水磷酸二氢钠, 十二水磷酸氢二钠, 25%氨水, 乙酸乙酯, 溴麝香草酚蓝。

2.2. 仪器

UV-2500PC 紫外分光光度计, 超声波清洗器, 其他玻璃常规仪器。

3. 实验前处理

将半夏放在烘箱中干燥后粉碎机粉碎分别过 40、60、80、100 目筛, 用保鲜袋分装至于阴凉干燥处备用。

4. 实验部分

4.1. 溶液配置

磷酸缓冲液(pH = 6): 精密称取 15.6 g 二水磷酸氢二钠加适量蒸馏水溶解后定容在 500 mL 容量瓶中, 配置成 0.2 mol/L 二水磷酸氢二钠溶液; 精密称取 35.8 g 十二水磷酸氢二钠加适量蒸馏水溶解后定容在 500 mL 容量瓶中, 配置成 0.2 mol/L 的十二水磷酸氢二钠溶液; 将两种溶液以 87.7:12.3 的比例混合即成磷酸缓冲液(pH = 6)。

溴麝香草酚蓝指示液：精密称取 0.1 g 溴麝香草酚蓝置于 200 mL 容量瓶中，加 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 3.2 mL 溶解，再加蒸馏水至刻度摇匀。

4.2. 标准品溶液的配制

精密称取盐酸麻黄碱 10 mg，至 50 mL 的容量瓶中加入适量乙酸乙酯溶解，并稀释至刻度，摇匀，得到浓度为 0.2 mg/mL 的盐酸麻黄碱标准品溶液。

4.3. 样品处理

精密称取半夏粉末 1.0 g，加入 2 mL 的 25% 氨水搅拌使湿润，加入样品量 18 倍乙酸乙酯浸泡[7] 3 h，超声波提取 1 h 后过滤，滤渣以 10 mL 乙酸乙酯分三次洗涤，合并滤液，蒸干，加入少量乙酸乙酯溶解，转移到 50 mL 容量瓶中，加入乙酸乙酯至刻度线，取 5 mL 提取液至分液漏斗中，加入蒸馏水 5 mL，加入 5 mL 磷酸缓冲液(pH = 6)，再加入 1 滴溴麝香草酚蓝指示液，搅匀，静置，分取乙酸乙酯层作为供试液[8]。

4.4. 最大吸收波长的选择

取标准品溶液 2 mL，供试液 2 mL 在 UV-2500PC 紫外分光光度计上进行全波长扫描，结果盐酸麻黄碱在 420 nm 处有最大吸收峰，供试液在 416 nm 处有最大吸收峰，故本含量测定选定 420 nm 为测定波长。

4.5. 标准曲线绘制[9]

分别量取 3.2 下的溶液 1、2、3、4、5 mL 于分液漏斗中，加入蒸馏水至 5 mL，在各分液漏斗中加入 5 mL 磷酸缓冲液，加入 5 mL 乙酸乙酯，再加入 1 滴溴麝香草酚蓝水溶液，搅匀，静置，分取乙酸乙酯层，在 420 nm 波长处分别测定吸光度。以浓度为 x ，吸光度为 y 求得标准曲线为 $y = 4.325x - 0.0383$ ，相关系数 $R^2 = 0.9902$ ，见图 1。

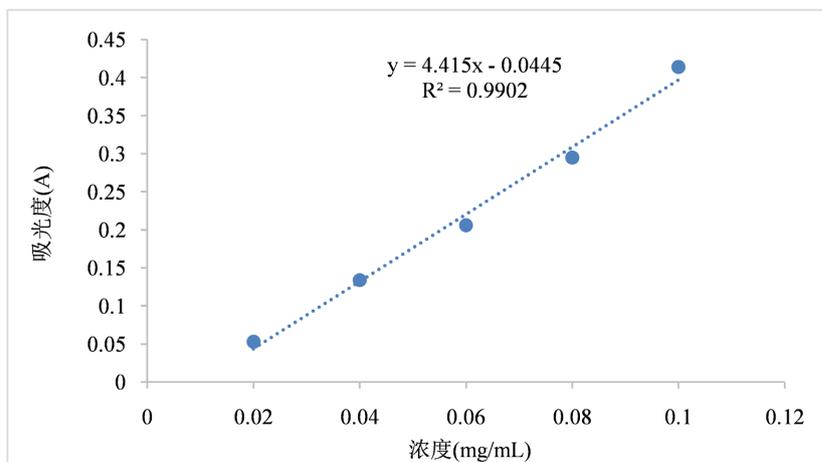


Figure 1. Standard curve of ephedrine hydrochloride

图 1. 盐酸麻黄碱标准曲线

4.6. 测定含量

将 3.2 制备的供试液用紫外分光光度计在 420 nm 波长下测定吸光度，把吸光度值带入标准曲线方程计算总生物碱的含量值。

5. 单因素实验

5.1. 样品粒径对提取效果的影响

分别称取粒径为 40、60、80、100 目的半夏粉末各 1.0 g，加入 2 mL 的 25% 氨水搅拌使湿润，加入样品量 18 倍乙酸乙酯浸泡 3h，超声波提取 1 h。过滤，滤渣以 10 mL 乙酸乙酯分三次洗涤，合并滤液，蒸干，加入少量乙酸乙酯溶解，转移到 50 mL 容量瓶中，加入乙酸乙酯至刻度线，取 5 mL 提取液至分液漏斗中，加入蒸馏水 5 mL，加入 5 mL 磷酸缓冲液(pH = 6)，再加入 1 滴溴麝香草酚蓝指示液，搅匀，静置，分取乙酸乙酯，在 420 nm 波长处测定吸光度，带入标准曲线计算含量值，将其作图得到图 2：

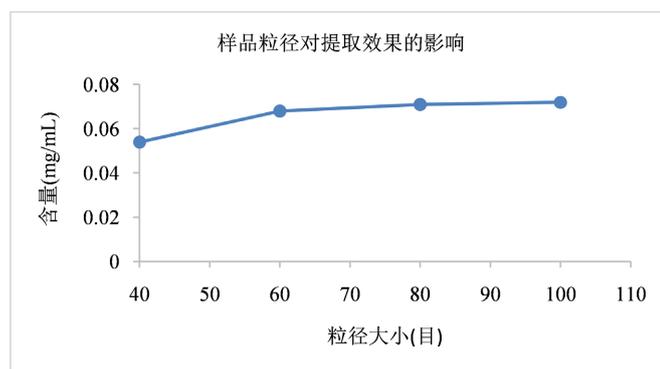


Figure 2. Influence of sample particle size on extraction efficiency
图 2. 样品粒径对提取效果的影响

由图 2 可以看出，在粒径为 80~100 时，提取效果最佳。

5.2. 氨水浓度对提取效果的影响

精密称取四份粒径为 90 目的半夏粉末 1.0 g，分别加入 2 mL 的 10%、15%、20%、25% 氨水搅拌使湿润，加入样品量 18 倍乙酸乙酯浸泡 3 h，超声波提取 1 h。过滤，滤渣以 10 mL 乙酸乙酯分三次洗涤，合并滤液，蒸干，加入少量乙酸乙酯溶解，转移到 50 mL 容量瓶中，加入乙酸乙酯至刻度线，取 5 mL 提取液至分液漏斗中，加入蒸馏水 5 mL，加入 5 mL 磷酸缓冲液(pH = 6)，再加入 1 滴溴麝香草酚蓝指示液，搅匀，静置，分取乙酸乙酯层作为供试液，在 420 nm 波长处测定吸光度，带入标准曲线计算含量值将其作图得到图 3：

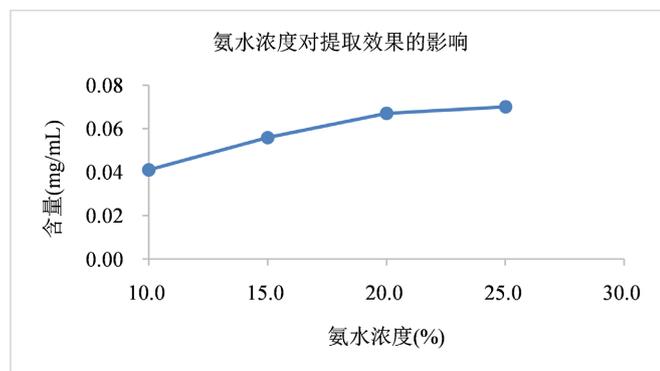


Figure 3. Influence of ammonia concentration on extraction effect
图 3. 氨水浓度对提取效果的影响

由图 3 可以看出, 当氨水浓度为 25% 时, 提取效果最佳。

5.3. 溶剂剂量对提取效果的影响

精密称取四份粒径为 90 目的半夏粉末 1.0 g, 加入 2 mL 的 25% 氨水搅拌使湿润, 分别加入样品量的 6、12、18、24 倍乙酸乙酯浸泡 3 h, 超声波提取 1 h。过滤, 滤渣以 10 mL 乙酸乙酯分三次洗涤, 合并滤液, 蒸干, 加入少量乙酸乙酯溶解, 转移到 50 mL 容量瓶中, 加入乙酸乙酯至刻度线, 取 5 mL 提取液至分液漏斗中, 加入蒸馏水 5 mL, 加入 5 mL 磷酸缓冲液(pH = 6), 再加入 1 滴溴麝香草酚蓝指示液, 搅匀, 静置, 分取乙酸乙酯层作为供试液, 在 420nm 波长处测定吸光度, 带入标准曲线计算含量并作图见图 4:

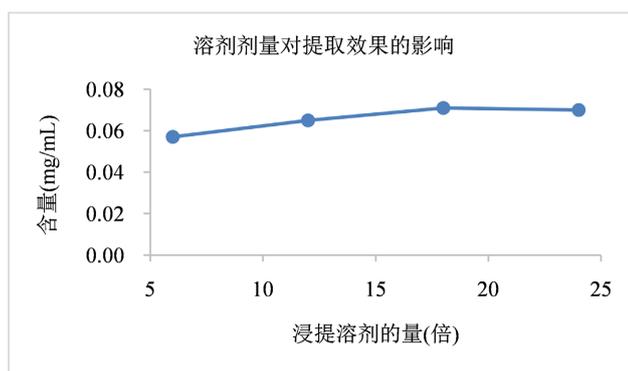


Figure 4. Influence of solvent dose on extraction effect

图 4. 溶剂剂量对提取效果的影响

由图 4 可以看出, 当溶剂量为 18 倍时, 提取效果最佳。

5.4. 浸泡时间对提取效果的影响

精密称取四份粒径为 90 目的半夏粉末 1.0 g, 加入 2 mL 的 25% 氨水搅拌使湿润, 加入样品量 18 倍乙酸乙酯分别浸泡 1、2、3、4 h, 超声波提取 1 h。过滤, 滤渣以 10 mL 乙酸乙酯分三次洗涤, 合并滤液, 蒸干, 加入少量乙酸乙酯溶解, 转移到 50 mL 容量瓶中, 加入乙酸乙酯至刻度线, 取 5 mL 提取液至分液漏斗中, 加入蒸馏水 5 mL, 加入 5 mL 磷酸缓冲液(pH = 6), 再加入 1 滴溴麝香草酚蓝指示液, 搅匀, 静置, 分取乙酸乙酯层测定吸光度计算含量并作图见图 5。

由图 5 可以看出, 当浸泡时间为 3 h 时, 提取效果最佳。

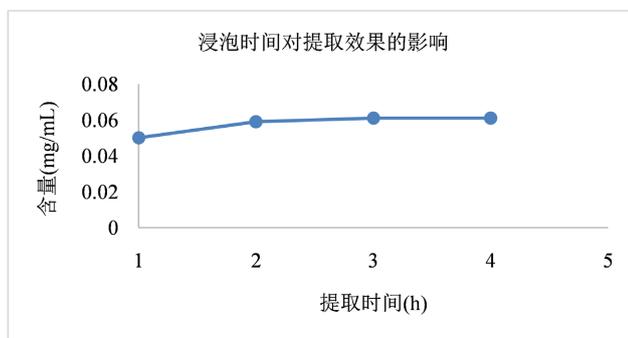


Figure 5. Influence of soaking time on extraction effect

图 5. 浸泡时间对提取效果的影响

6. 结论

通过超声波辅助提取单因素试验, 得到赫章半夏总生物碱最佳提取条件为粒径 80 目、氨水浓度为 25%、浸提溶剂量 18 倍、浸提时间 3 h, 半夏总生物碱提取率为 10.65 mg/g。这与文献报道张楠[9]等用热提方法提取最佳时间为 1 h、温度为 35℃~40℃有所差别, 相比曾建红[10]等对半夏中的生物碱提取的条件优化: 材料粉碎至 60 目, 以 2.575 mol/L 的氨水搅拌均匀材料, 加 18 倍的氯仿于室温下浸提 25 h, 浸提时间明显改善。

基金项目

贵州工程应用技术学院 2022 年大学生创新创业训练计划项目《毕赫章半夏生物碱的提取和含量测定》(S202210668161); 毕节市民族药用植物研究重点实验室(毕科平台合[2017] 05 号)。

参考文献

- [1] 耿晓桐, 刘琦, 花娇娇, 等. 半夏化学成分及药理作用研究进展[J]. 山西化工, 2023, 43(9): 53-54+61.
- [2] 钟赣生. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2013: 298-299.
- [3] 黄凤英, 高健美, 龚其海. 半夏药理作用及其毒性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(10): 1773-1781.
- [4] 李东梅, 张思维, 高向娜, 等. 半夏主要化学成分及检测方法研究进展[J]. 甘肃科技纵横, 2023, 52(1): 37-41.
- [5] 李丹丹, 汪文琪, 张志千, 等. 半夏生物碱的研究进展[C]//中华中医药学会. 中华中医药会中药化学分会第九届学术年 6 会论文集(第一册). 北京: 北京中医药大学, 2014: 30-34.
- [6] 祝军委, 冯果, 冯泳, 等. 半夏中生物碱的研究概述[J]. 河南中医, 2012, 32(3): 360-362.
- [7] 游素碧, 韩宗先. 半夏生物碱提取工艺的研究[J]. 甘肃联合大学学报(自然科学版), 2006(2): 69-71.
- [8] 于超, 张明, 王宇, 等. 紫外分光光度法测定不同产地半夏中总生物碱的含量[J]. 时珍国医国药, 2002(2): 73-75.
- [9] 张楠, 郭春延, 薛晶晶, 等. 半夏生物碱提取方法及抗氧化性研究[J]. 实验技术与管理, 2019, 36(8): 61-64.
- [10] 曾建红, 彭正松, 毛子成, 等. 半夏生物碱最佳提取条件的研究[J]. 中药材, 2003, 26(5): 361-363.