

竹叶中黄酮类化合物的研究进展

吴 雨<sup>1,2</sup>,李红艳<sup>2</sup>,牛灿杰<sup>2</sup>,沈潇冰<sup>2</sup>,陈小珍<sup>1,2\*</sup>  
(1.浙江工业大学 化学工程学院,浙江 杭州 310014;  
2.浙江省质量检测科学研究院,浙江 杭州 310012)

**摘要:** 竹叶中富含活性强的黄酮类物质,可进一步加工成具有特定功能的保健食品和药品等产品。竹叶中黄酮类化合物的研究已成为近几年的研究热点。主要综述了竹叶中黄酮类化合物提取、分离纯化、含量测定的新方法、新技术研究进展,为竹叶中黄酮类化合物的进一步研究提供参考。  
**关键词:** 竹叶;黄酮类化合物;分离;检测  
**中图分类号:** S795      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2015)11-0001-04

Research Progress on Flavonoids in Bamboo Leaves

WU Yu<sup>1,2</sup>,LI Hongyan<sup>2</sup>,NIU Canjie<sup>2</sup>,SHEN Xiaobing<sup>2</sup>,CHEN Xiaozhen<sup>1,2\*</sup>  
(1. College of Chemical Engineering,Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. Zhejiang Institute of Quality Inspection Science, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** Bamboo leaves are rich in strong active flavonoids, which can be processed into specific functional health food and pharmaceutical products. The study of flavonoids in bamboo leaves has become a hot research direction in recent years. This paper mainly summarized the new methods and new technology for the extraction, separation, purification and content determination of flavonoids in bamboo leaves, so as to provide the reference for the further research of flavonoids in bamboo leaves.  
**Key words:** bamboo leaves; flavonoids; separation; determination

黄酮类化合物是广泛存在于自然界,具有 2-苯基色原酮结构的化合物。它在植物体中通常与糖结合成苷类,小部分以游离态(苷元)的形式存在。黄酮类化合物具有保护心脑血管,调节血脂,增强免疫功能,抗菌、抗病毒等多种保健及药理作用。然而人体不能直接合成黄酮类化合物,只能从植物中获得,大多数植物体内都含有黄酮类化合物,人们可以通过食用葡萄、洋葱,饮用绿茶等方式获得黄酮类化合物。竹叶是一种天然生物黄酮的新资源,竹叶中的黄酮类化合物包括黄酮类、内酯类和酚酸类化合物。竹叶中提取的黄酮类化合物可进一步加工成有特异功能的保健食品、药品、化妆品,以及天然甜味剂、抗氧化剂等食品添加剂,深受企业和消费者追捧。近年来,科学家们积极探索竹叶中天然黄酮成分的提取,并将其应用于医药、农业、化工和食品工业。现就近几年国内外黄酮类化合物的提取、分离纯化和

检测方法的研究作一阐述。

1 竹叶黄酮类化合物的提取方法

1.1 有机溶剂提取法

有机溶剂提取法是根据黄酮类化合物与杂质的极性差异选择合适有机溶剂进行提取的方法,常用的有机溶剂有乙酸乙酯、丙酮、乙醇、甲醇及某些极性较大的混合有机溶剂。黄酮甙类易溶于水、甲醇、乙醇等强极性溶剂,故 90%~95% 的乙醇适宜提取黄酮甙元,60% 的乙醇适宜提取黄酮甙类。周双林等<sup>[1]</sup>优选乙醇提取箬竹叶中黄酮,黄酮的提取率为 1.9%。陈海光等<sup>[2]</sup>对竹叶黄酮的提取工艺进行了优化,结果表明,竹叶黄酮的最佳提取工艺为用 75% 的乙醇在 70℃ 热水中浸提 1.5 h。

1.2 超声波辅助提取法

用超声波辅助法提取竹叶中的黄酮类化合物,

收稿日期:2015-05-20  
作者简介:吴 雨(1991-),女,浙江杭州人,在读硕士研究生,研究方向:食品安全与检测。E-mail:lucky1232009@163.com  
\* 通讯作者:陈小珍(1960-),女,浙江杭州人,教授级高级工程师,主要从事食品与消费品安全检测。E-mail:cxz@163.com

超声的空化作用能破坏细胞膜,有助于黄酮类化合物的释放与溶出;超声波使提取液不断振荡,有助于溶质扩散;同时超声的热效应使溶剂温度高于室温,对原料有加热作用。因此,超声波法只需在常温下提取,与常规提取方法相比,省时节能,提取率高。Jiang 等<sup>[3]</sup>通过单因素试验和正交试验优化竹叶黄酮提取条件,超声波辅助提取时,总黄酮提取率达 0.5%,此法优于热回流萃取法。胡亚平等<sup>[4]</sup>用超声波辅助提取竹叶中黄酮类化合物时发现,影响提取率的主要因素为乙醇浓度、超声波提取时间、料液比;在最优提取条件[乙醇浓度 90%、料液比 1:25 ( $m:V$ )、超声波提取时间 60 min]时,竹叶黄酮的提取率高达 3.1%。

### 1.3 酶提取法

酶提取法是在酶作用下使细胞壁疏松破裂,破坏植物细胞壁,使有效成分加速释放,提高提取效率。近年来,竹叶中黄酮类化合物的提取大多采用有机溶剂提取法,但其提取成本较高;也有的采用热水浸提法提取,其提取成本虽低,但提取率较低。与之相比,酶提取法对设备无特殊要求,具有操作简便、成本低廉等优点。李慧力等<sup>[5]</sup>采用酶处理技术与水提法相结合的工艺,得出酶解温度和 pH 值对提取效果影响最大;最佳酶解条件为酶解温度 45 ℃、pH 值 4.5、酶用量 1%、酶解时间 150 min,在该条件下总黄酮提取率比直接采用水提法提高 0.2%。

### 1.4 超临界萃取法

超临界萃取法中最常用的超临界流体是环境友好型溶剂  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_2$  在天然产物提取上有极大的应用优势。与传统的提取方法相比,采用超临界萃取法提取竹叶中的黄酮类化合物,提取过程简单,条件温和,提取效率更高、更经济。陶清等<sup>[6]</sup>以芦丁为定量依据,探索  $\text{CO}_2$  超临界流体提取竹叶中黄酮的工艺条件,研究发现,影响  $\text{CO}_2$  超临界流体提取的主要因素是萃取压力和萃取温度,此法的竹叶总黄酮提取率为 0.5%。

### 1.5 微波辅助提取法

微波辅助提取技术是近年来发展起来的一种全新提取方法,它能强化浸提过程,缩短提取时间,降低能耗,节约溶剂,减少废物产生,同时还可大幅度提高黄酮类化合物的产率和纯度。高梦祥等<sup>[7]</sup>研究了微波作用时间、微波功率等对竹叶中总黄酮提取量的影响。在最佳参数下竹叶中总黄酮提取率为 0.5%。宋春芳等<sup>[8]</sup>优化了真空微波预辐射辅助提取竹叶中黄酮化合物的工艺条件,黄酮类化合物提取率为 1.4%。

### 1.6 机械化学辅助提取法

机械化学辅助提取法是一种新型的提取方法,具有无(低)溶剂、提取温度低等优点,属于绿色萃取法。该方法比较新颖,用此法提取黄酮类化合物,提取率比有机溶剂提取法高。Xie 等<sup>[9]</sup>对采用机械化学法辅助提取竹叶中的黄酮类化合物进行初探,提取时选用 12%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  与 2%  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  碾磨,然后用水提取,该试验提取条件有待改进,提取效率有待提升。

## 2 竹叶黄酮类化合物的分离纯化方法

### 2.1 超滤膜法

超滤膜法是膜分离法的一种,是通过超滤膜孔径大小的控制,有效地去除溶液中大分子杂质,提升产品得率和纯度。超滤膜法操作条件温和,能耗低,无相变,可使产物高效地浓缩富集从而有效地去除杂质。王文渊等<sup>[10]</sup>采用微滤和超滤二级膜联用分离技术纯化竹叶黄酮提取液;竹叶黄酮提取液分别通过醋酸纤维素微滤膜、改性聚醚砜膜超滤,有效分离出提取液中固形物和蛋白质等杂质,黄酮类物质保留率达 90% 以上。唐浩国等<sup>[11]</sup>研究超滤膜法分离纯化麻竹叶中黄酮类化合物,比较 5 种超滤膜后发现,聚砜膜 PSF-500 对麻竹叶黄酮有较好的分离纯化效果,产品得率高达 4.3%,纯度为 44.1%。

### 2.2 大孔树脂吸附法

大孔吸附树脂法主要是根据大孔树脂和待分离组分的极性不同进行分离纯化的方法。大孔吸附树脂是结合吸附和筛选作用的分离材料。常用的洗脱剂多为乙醇水溶液、水、丙酮、甲醇等。大孔树脂吸附容量大、使用周期长、成本低、易再生,且该方法选择性好,受无机物影响小、洗脱率高、可工业化。Zhang 等<sup>[12]</sup>采用大孔树脂吸附-解吸分离法和高效液相色谱法,分离出了荭草苷、异荭草苷、牡荆苷及异牡荆苷 4 种常见的碳苷黄酮。Jiao 等<sup>[13]</sup>用 AB-8 树脂柱替代了传统的苜蓿素制备方法,通过 AB-8 树脂柱分离出的苜蓿素精制物产率达 1.8%。

### 2.3 硅胶柱层析法

硅胶柱层析法是经过吸附、解吸、再吸附、再解吸的过程达到分离纯化目的的方法。根据样品的极性选择流动相,极性小的用乙酸乙酯-石油醚系统,极性较大的用甲醇-氯仿系统,极性大的用甲醇-水-正丁醇-醋酸系统,拖尾可加入少量氨水或冰醋酸。硅胶柱层析法可用于分离较低极性的黄酮类物质,如黄酮类、异黄酮、二氢黄酮醇,以及高度甲基化或乙酰化的黄酮及其醇类,若将硅胶加水活化,也

适用于多羟基黄酮醇及其苷这类极性强的黄酮物质。陈宗等<sup>[14]</sup>将淡竹叶提取物经甲醇-氯仿系统洗脱,用乙酸乙酯-丙酮-乙酸-水系统作为展开剂,再将乙酸乙酯相和正丁醇相通过硅胶柱分离,重结晶后得到 5,4'-二羟基-3',5'-二甲氧基-7- $\beta$ -D-葡萄糖氧基黄酮化合物。

### 3 竹叶黄酮类化合物的含量测定方法

#### 3.1 分光光度法

目前应用于竹叶黄酮含量检测较为普遍的分光光度法是络合-分光光度法,该法利用黄酮类化合物结构上的酚羟基及其还原性羰基能够与金属盐试剂形成有色络合物的原理进行测定,具有工艺简单、操作方便及成本低等优点。池玉梅等<sup>[15]</sup>通过分光光度法测黄酮苷、黄酮醇等 12 种化合物,分别用  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  法、 $\text{AlCl}_3 - \text{KAc}$  法、三乙胺介质法测定黄酮类化合物含量,比较发现,三乙胺介质法所得结果符合含量测定要求,适用范围较其他 2 种方法广泛。

#### 3.2 高效液相色谱法(HPLC)

测定黄酮类化合物时,常用的高效液相色谱柱为 C18 柱与 C8 柱,柱内填充粒径多为 10.5  $\mu\text{m}$ ,流动相以甲醇-水、乙腈-水体系应用最为广泛。Guo 等<sup>[16]</sup>建立高效液相色谱-紫外光电二极管阵列检测法(HPLC-UV/DAD)测定多种竹叶黄酮碳苷类化合物,此法简单可靠,可用作竹叶中黄酮类化合物含量检测标准。Zhang 等<sup>[17]</sup>用反相高效液相色谱-紫外光电二极管(RP-HPLC-UV/DAD)测定竹叶黄酮碳苷类化合物,该方法重复性好,结果可靠准确。

#### 3.3 薄层色谱法(TLC)

薄层色谱法兼备了柱色谱和纸色谱的优点,可用于少量样品的分离,快速定性分析少量物质;也可把吸附层加大,用来精制样品,是一种简单、高效、精确度高、消耗低的天然提取物检测方法。Cui 等<sup>[18]</sup>用高效薄层色谱法测定了 8 种不同箬竹中牡荆素、异牡荆苷等 6 种竹叶黄酮化合物的含量,该方法处理量大、分离速度快。Wang 等<sup>[19-20]</sup>用高效薄层色谱法测定了竹叶中牡荆素、异牡荆苷等的含量,并建立了一种能简单评估竹叶黄酮类抗氧化活性物质的 TCL 筛查法,操作方便,所需溶剂量少。Sun 等<sup>[21]</sup>确定了用高效薄层色谱测定竹叶中牡荆素、异牡荆苷、荭草苷、异荭草素的方法,该方法选择性好、灵敏度高,可用于不同种类黄酮类化合物的常规检测。

#### 3.4 液相色谱-质谱联用法(LC-MS)

液相色谱-质谱联用法适用于不挥发性化

合物、极性化合物、热不稳定化合物以及大分子量化合物的分析检测。相对于通常的检测方法,液相色谱-质谱联用法能提供更好的选择性和更低的检测限,对混合物的分析有很高的灵敏度,能够缩短分析时间,减少原料的浪费。Guo 等<sup>[22]</sup>用液相色谱-质谱联用法成功分离和定量了淡竹叶中的异荭草素、牡荆素、异牡荆素等 7 种黄酮类化合物,证明该方法能快速、准确地鉴定黄酮类化合物。Lü 等<sup>[23]</sup>用液相色谱与离子阱飞行时间质谱联用技术[LC-(ESI)-IT-TOF/MS]成功鉴定出竹叶中超过 76% 的黄酮类化合物,该方法精确可靠,适用度高,有极大的应用价值。

### 4 展望

竹叶中黄酮类化合物在多个领域都有较好的应用价值,它能提高人们的生活品质,为人类的健康生活做贡献,怎样更好地从竹叶中获得黄酮类化合物已成为学术界非常关注的问题。然而科学家们对竹叶中黄酮类化合物的研究还很薄弱,存在提取率较低,检测方法不完善,药理活性不明确等问题,这些都严重影响了人们对竹叶中黄酮类化合物的认知及应用。如何在提取纯化时减少溶剂用量,使反应条件更温和,提取率更高,黄酮类化合物更多地被保留下来;如何检测出更多种类的黄酮类化合物,建立省时高效的提取、纯化、检测竹叶中黄酮类化合物的体系,并进一步对其药理作用进行更深入的研究,将会成为未来竹叶中黄酮类化合物的研究方向。

#### 参考文献:

- [1] 周双林,祝宗波,许龔,等. 箬竹叶黄酮醇提工艺条件优选[J]. 中国药师,2011,14(7):944-946.
- [2] 陈海光,于立梅,黄东雨. 竹叶黄酮的提取工艺及抑菌作用研究[J]. 仲恺农业工程学院学报,2010,23(3):50-53.
- [3] Jiang S J. Study on ultrasonic wave extraction of flavonoids from bamboo leaves[J]. Advanced Materials Research, 2013,781-784:731-736.
- [4] 胡亚平,秦丹,彭颖,等. 超声波辅助提取竹叶黄酮的研究[J]. 轻工科技,2013(4):11-12.
- [5] 李慧力,陶文亮,吴钰娟,等. 酶法提取竹叶中总黄酮的工艺研究[J]. 贵州农业科学,2010,38(10):185-187.
- [6] 陶清,吕鉴泉.  $\text{CO}_2$  超临界流体萃取法提取竹叶黄酮的研究[J]. 湖北师范学院学报:自然科学版,2010,30(1):96-99.
- [7] 高梦祥,张佳兰,王江明. 微波浸提竹叶黄酮的工艺研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33

- (7):147-150,154.
- [8] 宋春芳,翟新,于震,等. 真空微波预辐射辅助提取竹叶黄酮工艺的优化[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,10(10):192-198.
- [9] Xie J, Lin Y S, Shi X J, *et al.* Mechanochemical-assisted extraction of flavonoids from bamboo (*phyllostachys edulis*) leaves[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 43: 276-282.
- [10] 王文渊,龙红萍,唐守勇. 膜技术耦合酶法提取竹叶总黄酮的研究[J]. 中国酿造,2011(7):74-77.
- [11] 唐浩国,李叶,向进乐,等. 超滤分离纯化麻竹叶黄酮的研究[J]. 食品科学,2008,29(5):177-180.
- [12] Zhang Y, Jiao J J, Liu C Mi, *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*, 2008, 107: 1326-1336.
- [13] Jiao J, Zhang Y, Liu C, *et al.* Separation and purification of tricrin from an antioxidant product derived from bamboo leaves[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(25):10086-10092.
- [14] 陈宗,陈张好. 竹叶黄酮类物质的提取和分离纯化研究[D]. 杭州:浙江大学,2006:1-63.
- [15] 池玉梅,居羚,邓海山,等. 分光光度测定总黄酮法的适用性[J]. 分析化学,2010,38(6):893-896.
- [16] Guo Q, Tian X, Yang A. Orientin in *Trollius chinensis* Bunge inhibits proliferation of HeLa human cervical carcinoma cells by induction of apoptosis[J]. *Monatshefte für Chemie*, 2014, 145: 229-233.
- [17] 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.
- [18] Cui J, Yue Y D, Tang F, *et al.* HPTLC analysis of the flavonoids in eight species of *indocalamus* leaves[J]. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 2011, 24 (5): 394-399.
- [19] Wang J, Yue Y D, Tang F, *et al.* TLC screening for antioxidant activity of extracts from fifteen bamboo species and identification of antioxidant flavone glycosides from leaves of *Bambusa textilis* McClure [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2012, 17(10):12297-12311.
- [20] Wang J, Tang F, Yue Y, *et al.* Development and validation of an HPTLC method for simultaneous quantitation of isoorientin, isovitexin, orientin, and vitexin in bamboo-leaf flavonoids [J]. *Journal of AOAC International*, 2010, 93(5):1376-1383.
- [21] Sun J, Yue Y D, Tang F, *et al.* Simultaneous HPTLC analysis of flavonoids in the leaves of three different species of bamboo [J]. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 2010, 23(1):40-45.
- [22] Guo X F, Yue Y D, Tang F, *et al.* Simultaneous determination of seven flavonoids in dan bamboo *phyllostachys glauca* mcclure leaf extract and in commercial products by HPLC-DAD[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2013, 37:748-757.
- [23] Lü Z L, Dong J, Zhang B L. Rapid identification and detection of flavonoid compounds from bamboo leaves by LC-(ESI)-IT-TOF/MS[J]. *BioResources*, 2011, 7(2): 1405-1418.