

碳糊电极阳极吸附伏安法测定中成药及保健品中的槲皮素

周清, 温金莲, 朱明芳, 龙宁, 翟海云
(广东药学院药科学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立碳糊电极(CPE)阳极吸附伏安法测定中成药及保健品中槲皮素的方法。方法: 用石墨粉-液体石蜡(4:1)制备CPE, 在HAc-NaAc(pH 3.6)缓冲液中, 槲皮素在0.401 V(vs. Ag-AgCl)产生一灵敏的吸附氧化峰。结果: 槲皮素浓度在 $3.13 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰电流呈良好的线性关系($r = 0.9960$), 检出限为 $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 应用该法测定中成药及保健品中的槲皮素取得了较好的结果。结论: 该法准确可靠、经济实用, 可用于槲皮素的测定。

[关键词] 槲皮素; 阳极吸附伏安法; 碳糊电极; 银杏叶片; 槲皮素复合胶囊

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0082-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1040.007.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 10:40

Anodic Adsorptive Voltammetric Determination of Quercetin in Chinese Patent Medicine and Health-Care Product at A Carbon Paste Electrode

ZHOU Qing, WEN Jin-lian, ZHU Ming-fang, LONG Ning, ZHAI Hai-yun

(Department of Pharmacy, GuangDong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination method of quercetin in Chinese patent medicine and health-care product by carbon paste electrode (CPE) anodic adsorptive voltammetry. **Method:** The CPE was prepared by carbon powder and liquid paraffin (4:1), in a acetic acid-sodium acetate buffer solution (pH 3.6). Quercetin gives a sensitive adsorptive oxidation peak at 0.401 V (vs. Ag-AgCl). **Result:** The linear relationship between the peak current and the concentration was found between $3.13 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ with correlation coefficient of 0.9960, and the detection limit was $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The method was applied to the analysis of Chinese patent medicine and health-care product and has achieved good results. **Conclusion:** The method is accurate and reliable, economical and practical.

[Key words] quercetin; anodic adsorptive voltammetry; carbon paste electrode; ginkgo leaves tablet; quercetin multiple capsule

槲皮素又名栲精、槲皮黄素等,是一种具有多种生物活性的黄酮类化合物,它存在于许多植物的花、叶、果实中,多以苷的形式存在,提取分离方法较简单,经酸水解可得到槲皮素。槲皮素具有较好的祛痰、止咳作用,并有一定的平喘作用;此外还有降低

血压、增强毛细血管抵抗力、减少毛细血管脆性、降血脂、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量等作用^[1-2]。

槲皮素的含量测定主要有高效液相色谱法^[3-5]及分光光度法光度法^[6],其电化学相关研究也有不少报道^[7-8],但这些报道均侧重于电化学行为的研究,应用于中成药中槲皮素测定尚未见报道。本文建立了较可靠的定量测定方法,并将该法应用于中药片剂和胶囊剂中槲皮素的含量测定。

1 仪器与试剂

槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所),石墨粉(GR,国药集团化学试剂有限公司),液体石蜡(AR),银杏叶片(深圳海王药业有限公司),槲皮素

[收稿日期] 20120208(009)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2009198);国家自然科学基金项目(21005021)

[第一作者] 周清, 讲师, 从事药物分析研究, Tel: 020-39352135, E-mail: gnist163@163.com

复合胶囊(普瑞登健康食品公司),其余试剂均为分析纯,实验用水为蒸馏水。

Ingsens-1010s 掌上型电化学工作站(盈思仪器(广州)有限公司);碳糊电极(自制)为工作电极,银-氯化银电极为参比电极,铂电极为对电极;pHS-25 型酸度计(上海雷磁新泾仪器有限公司)。

2 方法

2.1 标准溶液的配制 准确称取 0.030 2 g 槲皮素对照品,用少量的乙醇溶解后稀释、定容于 100 mL 量瓶中,得到 $0.001 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液,置于冰箱内冷藏,待使用时用缓冲溶液稀释至所需浓度。

2.2 电极制作 将石墨粉和黏合剂按一定比例混合均匀后,装入半径为 2.0 mm 的玻璃管中压实,用铜线做导线引出后固定,将电极表面在平滑的白纸上抛光,备用。使用前需活化电极表面,清理后电极可重复使用。

2.3 方法 取一定量的槲皮素母液至量瓶中,用 HAc-NaAc 缓冲溶液稀释、定容后摇匀,取适量至小烧杯中,插入参比、指示、工作三电极,0 V 富集 150 s,以 $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 的扫速从 0 V 扫描至 0.6 V,记录 0.401 V 附近对应的峰电位及峰电流。

3 结果与讨论

3.1 槲皮素的循环伏安图 槲皮素的氧化和还原峰电位分别为 0.401, 0.307 V(图 1),说明槲皮素在碳糊电极上的反应是可逆的。

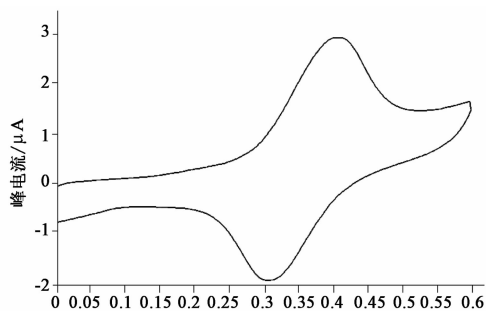


图 1 槲皮素的循环伏安图

3.2 实验条件的选择

3.2.1 碳糊电极组成的选择 分别试验了不同种类/比例的液体石蜡、磷酸三丁酯、甘油、 α -溴代萘作为黏合剂,结果发现石墨-液体石蜡比例为 4:1 时电极的峰电流最大,峰型较好。

3.2.2 缓冲溶液的选择 分别在 NaH_2PO_4 -NaOH, NaSO_4 -NaOH, B-R, H_3PO_4 , HAc-NaAc, HNO_3 , H_2SO_4 , HCl 等缓冲溶液中进行试验,结果发现在强碱和中性溶液中其氧化峰均不明显,在弱酸中氧化峰较好,在 HAc-NaAc 缓冲溶液中峰电流最大,峰形

较好,稳定性较好。

3.2.3 pH 的选择 HAc-NaAc 底液 pH 对峰电流影响较大(图 2)。在 pH 3.6 时波形最好、稳定性较好,峰电流也相对较大。

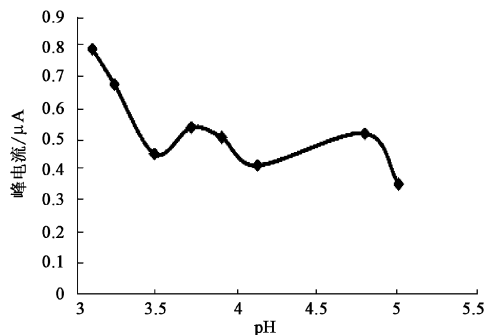


图 2 pH 对峰电流 I_{pc} 的影响

$$C_{\text{que}} = 2.5 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}; \text{pH } 3 \sim 5.5;$$

$$v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}; T_{\text{ac}} = 150 \text{ s}$$

3.2.4 搅拌富集时间的选择 在 3 个不同的浓度下测定搅拌富集时间 t_{ac} 对峰电流 I_{pc} 的影响(见图 3),结果发现在 $t_{\text{ac}} < 110 \text{ s}$ 时 I_{pc} 没有很明显的变化,在 130 ~ 150 s I_{pc} 随 t_{ac} 的增加而增加,在 150 s 之后 I_{pc} 随 t_{ac} 的增加而减小,然后逐渐相对稳定。浓度不同的槲皮素达到平衡所需要的时间略有不同;浓度越小,达到吸附平衡所需要的时间越长;浓度越大,达到吸附平衡所需要的时间越短。为了在不同浓度下测定均有较大的响应值,实验时选择了 150 s 的富集时间。

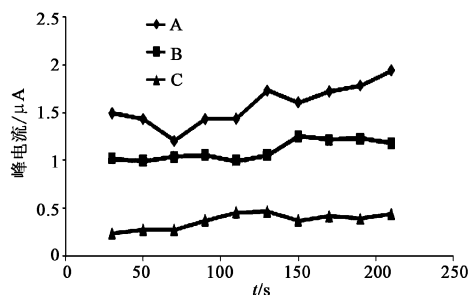


图 3 搅拌富集时间 t_{ac} 对峰电流 I_{pc} 的影响

$$C_{\text{que}} = 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} (\text{A}); 5.0 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} (\text{B});$$

$$3.0 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} (\text{C})$$

3.2.5 扫描速率的选择 固定槲皮素浓度为 $2.5 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,改变扫描速度 v ,发现氧化峰电流 I_{pc} 随 v 的增大而增大,在 v 为 30 ~ 600 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 呈现线性关系(图 4)。随着 v 的不断增大氧化峰电位 E_{p} 稍微向右移动,峰型也逐渐变差,为了获得较好的信噪比及较好的峰型,实验中扫描速度选择为 $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

3.3 线性范围与检测限 在上述最佳实验条件下

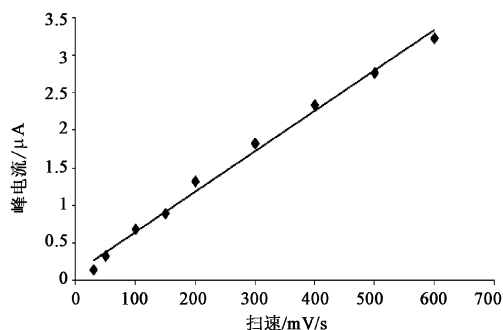


图 4 峰电流 I_{pc} 与扫描速度 v 的线性关系

测定,槲皮素质量浓度在 $3.13 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 I_{pc} 呈良好线性关系,线性方程为 $I_{pc} = 0.243c + 0.170 (r = 0.996 0)$; 检测限为 $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} (S/N = 3)$ 。

3.4 电极的稳定性与重复性 新制作的电极在空白溶液中扫描处理稳定后,测定同一对乙酰氨基酚标准溶液,每隔 12 h 测 1 次,共测定 12 次 (6 d), RSD 0.9%,说明电极的稳定性较好。相同条件下平行制作 6 支电极,测定同一标准溶液, RSD 2.2%,说明电极的重复性较好。

3.5 样品分析 银杏叶片中槲皮素的测定 银杏叶片 (标示量总黄酮醇苷约 9.2 mg/片) 样品研细后称重,置于圆底烧瓶中,加甲醇、25% 盐酸,超声 30 min 后水浴回流 30 min,过滤,滤液用甲醇稀释定容至量瓶中,备用^[9]。在上述最佳实验条件下测量,结果经换算后得到银杏叶片中槲皮素平均含量为 8.13 mg/片 ($n = 3, \text{RSD } 3.2\%$),回收率测定结果见表 1。

表 1 银杏叶片中槲皮素的测定及回收率

原含量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	加入量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	平均测得量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率 /%	RSD /%
5.00	2.69	7.48	92.2	4.0
5.00	4.68	9.31	92.1	6.0
5.00	9.81	14.00	91.7	4.1

槲皮素复合胶囊中槲皮素含量的测定 取槲皮素复合胶囊 (标示量槲皮素 250 mg/粒) 倾取内容物并称量,溶于去离子水中,过滤 (除去水溶性的维生素 C),取一定量干燥滤渣置于锥形瓶中,加甲醇超声 30 min,过滤,取滤液用甲醇稀释定容至量瓶中,备用。在上述最佳实验条件下测量,结果换算后得到槲皮素复合胶囊中槲皮素的平均含量为 266.3 mg/粒 ($n = 3, \text{RSD } 3.0\%$)。回收率测定结果见表 2。

表 2 槲皮素复合胶囊中槲皮素的测定及回收率

原含量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	加入量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	平均测得量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率 /%	RSD /%
1.66	0.50	2.14	96.0	3.1
1.66	1.00	2.61	95.0	4.0
1.66	2.00	3.48	91.0	1.2

4 结论

建立了用碳糊电极直接测定中成药中槲皮素的方法,碳糊电极制作简单、容易更新,测定的成本较低,配合小型的掌上电化学工作站可实现现场检测。

银杏叶片中槲皮素测量的回收率偏低, RSD 偏大,可能的原因是该法在前处理步骤初步提取分离过程中有部分损失,作者也尝试了直接测定或用其他提取分离方法处理后测定,但结果都不理想;另外,中药制剂的成分过于复杂,一些氧化或还原性的成分对测量的干扰较大,这也是电化学法难以直接测定中成药中有效成分的原因。槲皮素复合胶囊的配方较简单,干扰成分容易去除,因此测得的回收率也相对较高。

[参考文献]

- [1] 王艳芳,王新华,朱宇同. 槲皮素药理作用研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 171.
- [2] 王晓建,王珊,黄胜阳. 天然产物中槲皮素类化合物的抗 HIV 作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 274.
- [3] 方玲芬,徐洪,林开中. 高效液相色谱法测定贵州苦荞麦中槲皮素的含量 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(5): 383.
- [4] 刘燕,唐铁鑫. 野牡丹中槲皮素的测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 85.
- [5] 杨立昌,乙引,林俊清,等. RP-HPLC 测定苗药黑白保肝清颗粒中槲皮素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 64.
- [6] 姚本林,时小波. 槲皮素铝的络合反应及槲皮素的荧光光度测定 [J]. 理化检验-化学分册, 2002, 38(4): 183.
- [7] 宋桃,何晓英,华俊. 槲皮素的伏安行为研究及其分析检测 [J]. 西华师范大学学报: 自然科学版, 2010, 31(1): 86.
- [8] 刘永明,李桂芝. 槲皮素在玻碳电极上的伏安行为研究 [J]. 分析化学, 2002, 30(8): 1022.
- [9] 涂华,陈碧琼,张燕军. 天然类黄酮物质的提取工艺研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 277.

[责任编辑 顾雪竹]