

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60033

# 纳米固相萃取剂分离纯化黄酮类化合物的研究进展

## Research progress on separation and purification of flavonoids by nano-solid-phase extractant

罗诗华<sup>1</sup> 王逸轩<sup>1</sup> 崔波<sup>2</sup> 许宙<sup>1</sup> 焦叶<sup>1</sup> 程云辉<sup>1,2</sup>LUO Shi-hua<sup>1</sup> WANG Yi-xuan<sup>1</sup> CUI Bo<sup>2</sup> XU Zhou<sup>1</sup> JIAO Ye<sup>1</sup> CHENG Yun-hui<sup>1,2</sup>

(1. 长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南 长沙 410114;

2. 齐鲁工业大学[山东省科学院]食品科学与工程学院, 山东 济南 250353)

(1. School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science &amp; Technology,

Changsha, Hunan 410114, China; 2. School of Food Science and Engineering,

Qilu University of Technology, Shandong Academy of Sciences, Jinan, Shandong 250353, China)

**摘要:**文章综述了近年来黄酮类化合物的分类及其生理活性功能和纳米固相萃取剂的分类、吸附机理及在黄酮类化合物分离纯化中的应用效果,并分析了纳米固相萃取剂分离纯化黄酮类化合物的发展趋势。

**关键词:**纳米固相萃取剂; 纳米材料; 黄酮类化合物; 分离纯化

**Abstract:** The article summarized the classification of flavonoids and their physiological activities in recent years. The classification, adsorption mechanism and application effects of nano-solid-phase extractant in the separation and purification of flavonoids were reviewed, and the development trend of the separation and purification on flavonoids by nano-solid-phase extractant was analyzed.

**Keywords:** nano-solid-phase extractant; nanomaterials; flavonoids; separation and purification

黄酮类化合物是植物次生代谢产物,广泛存在于果蔬、豆类和茶叶等天然植物中,主要以糖苷形式存在,部分以游离形式存在<sup>[1]</sup>。黄酮类化合物具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗炎、抗肿瘤及预防心血管疾病等生理活性功能<sup>[2-4]</sup>,但因天然植物中含量较低,在将其用作保健食品、药品的原料或配料时,如何高效提取、分离纯化黄酮类化合物尤为重要。

**基金项目:** 国家“十三五”重点研发计划子课题(编号: 2018YFD0400405)

**作者简介:** 罗诗华,女,长沙理工大学在读硕士研究生。

**通信作者:** 程云辉(1964—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail: cyh@csust.edu.cn

**收稿日期:** 2022-03-21

黄酮类化合物的提取方法通常有溶剂提取法、超声与微波辅助溶剂提取法、酶解辅助溶剂提取法、固相萃取法、超临界流体萃取法等<sup>[5-7]</sup>;分离纯化方法主要有色谱分离法、膜分离法、重结晶法、固相萃取法等<sup>[8-9]</sup>。其中固相萃取法集提取、分离、富集、纯化于一体,系利用固体萃取剂吸附液体样品中的目标成分后采用洗脱液对目标成分进行洗脱或加热解吸附,既可用作黄酮类化合物分析检测的样品前处理,又可用作提取与分离纯化的技术手段。固相萃取剂的选择对分离纯化效果有着决定性作用,活性炭、沸石等传统固相萃取剂的分离纯化效果受限于其比表面积小且难以进行表面修饰等。近年来不乏将新型纳米材料用作固相萃取剂的研究报道,其中纳米氧化物、纳米磁性颗粒显示了其在粒径微小、比表面积大等方面的优势,而纳米金属有机框架材料、纳米分子印迹聚合物等则在高孔隙率、孔径可调且易于修饰等方面显示了其优势,这些新型纳米材料可通过提高吸附容量、吸附选择性等有效改善传统萃取剂在分离效果及选择性方面的不足。文章拟综述近年来黄酮类化合物的分类及其生理活性功能和纳米固相萃取剂的分类、吸附机理及在黄酮类化合物分离纯化中的应用效果,并分析纳米固相萃取剂分离纯化黄酮类化合物的发展趋势,以为黄酮类化合物的分离纯化提供新的思路与方法。

### 1 黄酮类化合物的分类及其生理活性功能

黄酮类化合物是以 2-苯基色原酮为母核的一系列以 C6—C3—C6 为基本骨架的化合物,其结构特点为 A、B 两个苯环通过中间的 C 环 C3 链相联结(见图 1)。根据 B

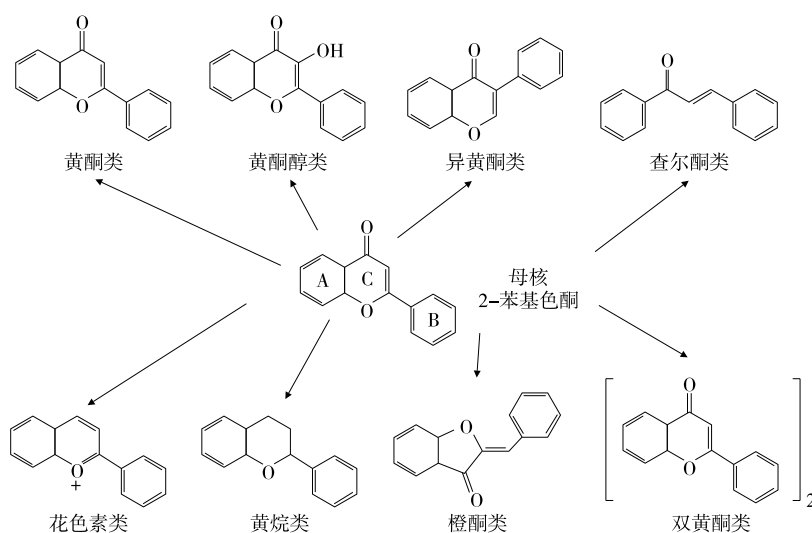
图1 黄酮类化合物的基本化学结构<sup>[10]</sup>

Figure 1 Basic chemical structure of flavonoids

环链接位点、中间 C3 链氧化程度及是否成环等特点, 黄酮类化合物主要可分为黄酮类及二氢黄酮类、黄酮醇类及二氢黄酮醇类、异黄酮类和二氢异黄酮类、查尔酮类、花色苷类、黄烷类、橙酮类和双黄酮类等。

### 1.1 黄酮类及二氢黄酮类

黄酮类及二氢黄酮类广泛存在于黄芩、菊花等植物中, 常见的黄酮类化合物主要有芹菜素、白杨素、香豆素和木犀草素等。黄酮类化合物具有降尿酸<sup>[11]</sup>、降血糖<sup>[12]</sup>等生理活性功能, 以白杨素对高尿酸血症小鼠进行灌胃后, 可发现小鼠血清尿酸水平有明显下降<sup>[11]</sup>; 芹菜素可通过降低长链非编码 RNA MEG8 的表达、高糖诱导的 HK-2 细胞凋亡率及丙二醛含量和提高超氧化物歧化酶活性而抑制高糖诱导的人肾小管上皮细胞损伤<sup>[12]</sup>。

### 1.2 黄酮醇类及二氢黄酮醇类

黄酮醇类及二氢黄酮醇类广泛存在于洋葱、西兰花和白果等植物中, 主要包含山奈酚、槲皮素、异槲皮素和芦丁等, 具有良好的抗菌<sup>[2]</sup>、降血压<sup>[3]</sup>等生理活性功能。黄秋葵中的黄酮醇类化合物, 主要由槲皮素、异槲皮素组成, 其纯化物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等细菌和白假丝酵母、黑曲霉等真菌的生长均有抑制效果<sup>[2]</sup>; 槲皮素还可以抑制氟化钠诱导的自由基生成, 提高大鼠心脏、肾脏和主动脉中细胞外调节蛋白激酶、热休克蛋白、过氧化物酶体增殖物激活受体的表达, 对氟化钠导致的高血压有改善作用<sup>[3]</sup>。

### 1.3 异黄酮类和二氢异黄酮类

异黄酮的结构与哺乳动物的雌二醇相似, 主要存在于豆科植物中, 主要包含大豆黄酮、毛蕊异黄酮、染料木素和葛根素等。异黄酮结构中含有多个酚羟基, 除抗氧化活性外, 还具有抗癌<sup>[4]</sup>、抗炎<sup>[13]</sup>等多种生理活性功能。毛蕊异

黄酮可通过抑制细胞周期蛋白 D1 与基质金属蛋白酶 2 的表达对肺癌细胞 A549 的增殖和转移产生抑制作用<sup>[4]</sup>; 大豆异黄酮具有改善大鼠脑部氧化应激和神经炎症的作用, 在组织病理学试验中可观察到其对大脑中  $\beta$ -淀粉样肽 1-42、促炎细胞因子和胶质纤维酸性蛋白的过度生成有抑制作用, 对老年痴呆症有一定的预防治疗作用<sup>[13]</sup>。

### 1.4 查尔酮类

查尔酮类大多分布在菊科、豆科、苦苣苔科植物中, 具有抗癌<sup>[14]</sup>、抗氧化<sup>[15]</sup>等生理活性功能。袁永贵等<sup>[14]</sup>的研究表明人乳腺癌细胞内抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白的表达与甘草查尔酮 A 的添加量呈浓度依赖性, 甘草查尔酮 A 可引起线粒体功能障碍和内质网应激反应, 促进人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的凋亡。甘草查尔酮 A 还可降低猪肺泡巨噬细胞中丙二醛、NO、活性氧的含量并提高猪肺泡巨噬细胞的活力, 降低因感染副猪嗜血杆菌引起的猪肺泡巨噬细胞的氧化应激反应<sup>[15]</sup>。

### 1.5 花色苷类

花色苷也称为花青素, 广泛存在于植物中, 可使植物的花、叶、果等呈蓝、紫等色泽, 并具有降血压<sup>[16]</sup>、抗炎<sup>[17]</sup>等生理活性功能。花青素可通过调节内皮细胞中内皮型一氧化氮合酶的表达与活性和抑制血管紧张素转化酶、内皮素-1 与血栓素的活性而达到降血压功效<sup>[16]</sup>; 葡萄籽中的原花青素对人牙龈上皮细胞的促炎因子、抗炎因子表达分别有抑制、促进作用, 有助于人牙龈上皮细胞抵抗内毒素的刺激<sup>[17]</sup>。

### 1.6 黄烷类

黄烷类存在于茶叶等含鞣质的木本植物中, 茶多酚是最常见的黄烷类化合物, 主要包括儿茶素、表儿茶素和表没食子儿茶素没食子酸酯等, 大多具有抗氧化生理活

性功能<sup>[18]</sup>。李泽林等<sup>[18]</sup>研究表明经表儿茶素预处理的小鼠肺组织水肿程度降低,肺泡细胞内过氧化氢酶等抗氧化酶活性提高和丙二醛及蛋白质羰基含量降低,显著提高了小鼠体内抗氧化活性。

### 1.7 橙酮类

橙酮类多存在于玄参科、菊科、苦苣苔科等单子叶植物中,具有抗炎<sup>[19]</sup>、抗真菌<sup>[20]</sup>等生理活性功能。刘文君等<sup>[19]</sup>的研究表明水翁花中分离得到的新橙酮其抗炎活性比阳性对照药物布洛芬更强,对脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞前列腺素 E2 的释放有着更强的抑制作用。

### 1.8 双黄酮类

双黄酮类主要分布在银杏科、松科、杉科等裸子植物中,具有抗菌<sup>[21]</sup>、抗炎<sup>[21]</sup>等生理活性功能。苏立燕<sup>[21]</sup>的研究表明穗花杉双黄酮能有效抑制金黄色葡萄球菌转录调控因子 MgrA 的表达;单独使用穗花杉双黄酮对肺炎小鼠进行给药后,不仅小鼠肺部载菌量下降,且其病理损伤、炎症反应均得到明显控制,显著提高了小鼠存活率。

## 2 纳米固相萃取剂的种类及其在分离纯化黄酮类化合物中的应用

纳米固相萃取剂系指其三维空间中至少有一维处于纳米尺寸(1~100 nm)或由它们作为基本单元构成的用于目标物分离纯化的多孔固体材料,包括纳米氧化物、纳米磁性颗粒、纳米金属有机框架材料、纳米分子印迹聚合物、纳米石墨烯/氧化石墨烯、纳米管等。这些纳米材料通常具有粒径微小、比表面积大、易于表面修饰等优点,相较于传统固相萃取剂,其吸附性能与吸附选择性皆有较显著提升,近年来已被广泛应用于黄酮类化合物的分离纯化。表 1 总结了纳米固相萃取剂在黄酮类化合物分离纯化中的应用情况。

### 2.1 纳米氧化物

纳米氧化物(Nano oxide)是指粒径达到纳米级的氧化物,系由氧元素与其他化学元素组成的二元化合物,其中包括金属氧化物和非金属氧化物,如纳米二氧化钛、纳米四氧化三铁、纳米二氧化硅等。金属氧化物具有独特的遇强酸呈碱性、遇强碱呈酸性的两性特性,能广泛地与待分离纯化的酸性、碱性目标物发生酸碱中和作用而结合。黄酮类化合物由于分子结构中苯环上的羟基和碳氧杂环上的酮,可与金属原子产生螯合作用<sup>[41]</sup>。非金属氧化物如二氧化硅表面含有可形成氢键的羟基,且介孔二氧化硅的大孔隙特征还可提高其吸附容量。含顺式二醇结构的黄酮类化合物可以作为纳米氧化物的双齿配体,与纳米氧化物通过配位反应而被吸附。因此,纳米氧化物可通过螯合作用、氢键作用、配位作用与黄酮类化合物发生结合,从而提高吸附选择性、吸附容量和分离效率。

经 TiO<sub>2</sub> 功能化的介孔 SiO<sub>2</sub> 颗粒对槲皮素的吸附量为 TiO<sub>2</sub> 功能化的无孔 SiO<sub>2</sub> 颗粒的 100 倍,其对槲皮素的提取回收率可达 90% 以上<sup>[28]</sup>。

### 2.2 纳米磁性颗粒

纳米磁性颗粒(Magnetic nanoparticles, MNPs)系指具有磁性的纳米级颗粒,一般由铁、钴、镍等金属氧化物作为磁性内核,高分子聚合物/硅/无机矿物或其他材料作为外壳包裹磁性内核而组成。最常见内核为具有磁导向性的超顺磁或铁磁性质的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 或  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>。MNPs 内核或外壳层易于进行功能化,可通过表面修饰连接所需的官能团(-NH<sub>2</sub><sup>[23]</sup>、-COOH)、多聚物和有机大分子<sup>[42]</sup>等,从而提高对待分离纯化目标物的吸附性能。由于自身带有磁性,MNPs 可以较容易被外置磁铁收集,从而避免了吸附后耗时耗力的分离过程;其巨大比表面积有利于与目标物发生接触,对吸附分离有促进作用。

Yusoff 等<sup>[39]</sup>研究发现核壳磁石-羟基磷灰石纳米萃取剂,对儿茶素的最高吸附容量可达 110.97 mg/g,其吸附作用主要基于儿茶素分子中的羟基与外壳上的 Ca<sup>2+</sup> 的相互作用。Cao 等<sup>[23]</sup>合成了氨基修饰的纳米磁性颗粒,用于从花生壳中选择性分离黄酮类化合物木犀草素,吸附量可达 64 mg/g。Majidi 等合成低共熔溶剂/磁性琼脂糖复合材料<sup>[29]</sup>、半胶束/自胶束与磁性二氧化硅纳米颗粒的复合材料<sup>[30]</sup>,建立了磁性分散固相萃取技术,可从黑茶、果汁、蔬菜中提取黄酮醇类化合物如桑色素、槲皮素、山柰酚等,其回收率皆可达到 90% 以上。Li 等<sup>[43]</sup>利用硼酸对含顺式二醇结构分子的亲和性,在磁性纳米颗粒表面修饰 3-羧基苯并硼氧烷、聚乙二醇/4-乙烯基苯基硼酸共聚物,得到硼酸功能化的纳米磁性颗粒,可提高对含顺式二醇结构的黄酮类化合物如木犀草素的吸附选择性,最大吸附量可达 98.7 mg/g。因此,MNPs 在修饰了氨基基团、多聚物如硼酸多聚物后可通过氢键作用、硼酸亲和特性与黄酮类化合物进行结合。

### 2.3 纳米金属有机框架材料

纳米金属有机框架材料(Nanoscale metal-organic frameworks, NMOFs)是由有机配体与金属离子/团簇通过配位键形成的尺度在 1~100 nm 范围内的多孔有机-无机杂化材料,具有大比表面积、高孔隙率及结构性能易于调控等优点。大比表面积及高孔隙率通常可以促进吸附动力速率和扩大吸附容量;而其结构性能易于调控即可根据待分离纯化目标物的分子大小、酸碱性、带电性质、疏水性等对 NMOFs 进行改性。基于黄酮类化合物的分子大小及结构中含有羟基的特点,NMOFs 可通过空间位阻效应及氢键作用对其进行分离,还可通过调节材料的疏水性提高对黄酮类化合物的吸附性能。

Cui 等<sup>[40]</sup>使用 ZIF-8 对传统药用植物鬼箭愁中的黄酮类化合物进行分离纯化,结果表明 ZIF-8 可通过氢键相

互作用对黄烷类化合物进行选择性吸附,富集系数可达57.7,所富集的黄烷类化合物有较好的抗氧化活性,对DPPH自由基的清除率可达79.03%。张瑞平<sup>[44]</sup>合成5种NMOFs对肉苁蓉中的总黄酮类化合物进行富集分

离,发现MIL-101(Cr)和 $[Zn(nicotinate)_2]_n$ 的吸附性能良好,纯化后总黄酮含量可由6.55%提高到45.00%以上。Zhu等<sup>[36]</sup>合成磁性ZIF-8纳米颗粒,对葛根中的葛根素及大豆异黄酮进行吸附分离,回收率达到95%以上。

表1 纳米固相萃取剂在黄酮类化合物分离纯化中的应用情况<sup>†</sup>

Table 1 Application of nano-solid-phase extractant in the separation and purification of flavonoids

分类	化合物名称	固相萃取剂	吸附量/ ( $mg \cdot g^{-1}$ )	回收率 <sup>a</sup> / 纯度 <sup>b</sup> /%	富集因子 <sup>c</sup> / $K_p$ 值 <sup>d</sup> / ( $mL \cdot g^{-1}$ )	参考文献
黄酮类及二氢黄酮类	木犀草素	纳米磁性颗粒	98.70	—	—	[22]
	木犀草素	纳米磁性颗粒	64.00	—	—	[23]
	木犀草素	纳米分子印迹聚合物	12.42	—	—	[24]
	木犀草素	纳米管	83.42	—	—	[25]
	淫羊藿定 A/B/C	纳米管	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[26]
	淫羊藿苷	—	—	>88.7 <sup>a</sup>	—	[27]
	木犀草素	纳米片	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[28]
	槲皮素	纳米氧化物	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[29]
	桑色素	—	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[29]
	槲皮素	纳米磁性颗粒	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[29]
	山柰酚	—	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[30]
	槲皮素	—	—	>90.0 <sup>a</sup>	—	[30]
	黄酮醇类及二氢黄酮醇类	异鼠李素	纳米分子印迹聚合物	—	>94.0 <sup>a</sup>	—
山柰酚		—	—	—	59.81 <sup>d</sup>	[32]
槲皮素		—	—	—	25.33 <sup>c</sup>	[32]
紫杉叶素		—	—	—	14.56 <sup>c</sup>	[33]
山柰酚		—	—	—	18.04 <sup>c</sup>	[33]
金丝桃素		—	—	—	12.25 <sup>c</sup>	[33]
杨梅素		—	—	>98.0 <sup>a</sup>	—	[34]
芦丁		纳米石墨烯/氧化石墨烯	—	>98.0 <sup>a</sup>	—	[34]
槲皮素		纳米石墨烯/氧化石墨烯	30.61	—	—	[35]
杨梅素		—	—	>88.7 <sup>a</sup>	—	[27]
异黄酮类	异鼠李素	纳米片	—	>88.7 <sup>a</sup>	—	[27]
	山柰酚	—	—	—	—	[27]
花青素类	葛根素	纳米金属有机框架材料	—	>95.0 <sup>a</sup>	—	[36]
	大豆异黄酮	—	—	—	—	[36]
黄烷类	花青素	纳米分子印迹聚合物	—	89.0 <sup>b</sup>	—	[37]
	花青素	纳米共价有机框架材料	—	88.0~94.0 <sup>b</sup>	—	[38]
黄烷类	儿茶素	纳米磁性颗粒	110.97	—	—	[39]
	—	纳米金属有机框架材料	—	—	57.70 <sup>c</sup>	[40]

<sup>†</sup> 回收率<sup>a</sup>为纳米固相萃取剂对黄酮类化合物的回收率;纯度<sup>b</sup>为经纳米固相萃取剂分离纯化后所得产物中黄酮类化合物的纯度;富集因子<sup>c</sup>为经纳米固相萃取剂分离纯化后所得产物中黄酮类化合物的富集程度; $K_p$ 值<sup>d</sup>为目标物在纳米分子印迹聚合物上的分布系数。

## 2.4 纳米分子印迹聚合物

纳米分子印迹聚合物 (nano-molecularly imprinted polymers, nMIPs) 是通过使用模板分子制备的在空间结构和化学键上可形成特定的空位, 能将待分离纯化目标物从复杂体系中识别出来的纳米尺寸的聚合物<sup>[45]</sup>。nMIPs 制备简便, 分离纯化时溶剂消耗低<sup>[37]</sup>, 且对压力、酸碱条件、高温等具有较好的耐受性<sup>[46]</sup>。nMIPs 通过模板分子形成的特定空间结构及化学键空位可选择性捕获类似分子结构的物质, 因此具有选择特异性, 可根据此选定目标黄酮类化合物对其进行选择性分离。不少研究者利用 nMIPs 的特殊选择性, 通过选用合适的分子模板合成 nMIPs 或与氧化物<sup>[24, 32]</sup>、石墨烯/氧化石墨烯<sup>[33]</sup>形成复合物, 对槲皮素<sup>[31-32]</sup>、花青素<sup>[37]</sup>等黄酮类化合物进行吸附分离。

Li 等<sup>[31]</sup> 利用六方氮化硼制备 nMIPs, 其表面积为  $59.35 \text{ m}^2/\text{g}$ , 高于普通 nMIPs ( $29.81 \text{ m}^2/\text{g}$ ), 用于提取银杏叶中槲皮素、异鼠李素和山奈酚等黄酮醇类化合物, 其回收率可达 94% 以上。Zhao 等<sup>[37]</sup> 通过在纳米磁性颗粒表面包裹分子印迹层制备磁性 nMIPs, 对青蓝忍冬粗提物中花色苷类化合物花青素进行分离纯化, 纯化物中花青素纯度达到 89%。虽然 nMIPs 自身对目标物有一定的识别能力, 但将其与其他纳米材料复合还可进一步提高其吸附选择性。Liang 等<sup>[32]</sup> 通过将 nMIPs 层接枝在  $\text{SiO}_2$  纳米颗粒的孔壁上, 制备了有序大孔印迹聚合物, 从银杏叶粗提物中选择性提取黄酮醇类化合物槲皮素, 对槲皮素的  $K_p$  值 ( $K_p$  值为目标物在分子印迹聚合物上的分布系数) 为  $59.81 \text{ mL}/\text{g}$ , 高于其他结构类似物的, 表明所制备的有序大孔印迹聚合物对槲皮素的亲和力和选择性高于其结构类似物。Guo 等<sup>[24]</sup> 将  $\text{ZrO}_2$  和 3-氨基苯基硼酸修饰在  $\text{SiO}_2$  上, 制得双亲和分子印迹聚合物, 通过硼酸盐亲和技术与金属氧化物产生协同作用, 可有效提高从花生壳样品中富集黄酮类化合物木犀草素的吸附能力, 最大吸附量可达  $12.42 \text{ mg}/\text{g}$ 。Ma 等<sup>[33]</sup> 以杜鹃素为模板合成了新型掺杂网状氧化石墨烯的磁性分子印迹聚合物, 对杜鹃花中的 4 种黄酮醇类化合物杜鹃素、紫杉叶素、山奈酚和金丝桃素的富集系数分别为 25.33, 14.56, 18.04, 12.25, 且对杜鹃素表现出更高的选择性。

## 2.5 纳米石墨烯/氧化石墨烯

纳米石墨烯及其衍生物氧化石墨烯 (nano-Graphene/nano-Graphene oxide, nG/nGO) 是以  $\text{sp}^2$  杂化连接的碳原子紧密堆积成单层结构和蜂窝状晶格、尺度在纳米范围的二维碳纳米材料。nG/nGO 具有强  $\pi$ -电子体系和疏水特点, 对含有碳基环状结构的黄酮类化合物及疏水分子有很强的亲和力, 因此 nG/nGO 还可通过疏水相互作用与强疏水性的黄酮类化合物发生结合, 达到分离纯化的效果。

Sun 等<sup>[34]</sup> 通过引入杂原子和低共熔溶剂对 nGO 进行改性, 以提高其渗透和吸附性能, 改性后的 nGO 可用于富集茶叶样品中黄酮醇类化合物杨梅素和芦丁, 其吸附量高于未改性氧化石墨烯, 回收率可达 98% 以上。Zhao 等<sup>[35]</sup> 制备了 nMIPs 修饰的 nGO, 用于对黄酮醇类化合物槲皮素进行吸附分离, 其吸附量为  $30.61 \text{ mg}/\text{g}$ , 显著高于氧化石墨烯对槲皮素的吸附量  $11.58 \text{ mg}/\text{g}$ 。Hou 等<sup>[47]</sup> 制备了连接  $\beta$ -环糊精的 nGO, 对枸杞中的槲皮素、芦丁进行富集。nGO 具有较大的离域  $\pi$  电子体系, 且  $\beta$ -环糊精的疏水内腔与疏水的黄酮类化合物间存在疏水相互作用, 该材料富集效果好, 提取回收率可达 75% 以上。

## 2.6 纳米管

纳米管是由碳、硅等元素分子组成的纳米尺寸管状材料, 包括碳纳米管、埃洛石纳米管等。纳米管具有比表面积大、机械强度大、质量密度低和易于修饰等优点, 且表面所带的羟基可用作吸附位点, 在吸附过程中与目标物发生氢键作用。碳纳米管 (Carbon nanotubes, CNTs) 是由一层或多层同轴组装的石墨烯薄片组成的空心石墨材料, 称为单壁或多壁碳纳米管, 在吸附过程中其表面的羧基和环氧基等官能团可与目标物发生静电相互作用和  $\pi$ - $\pi$  相互作用。埃洛石纳米管 (Halloysite nanotubes, HNTs) 是一种易于获得的黏土矿物, 其外表面由硅氧烷基团 ( $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ ), 内表面、外表面分别由铝醇基团 ( $\text{Al}-\text{OH}$ )、硅氧烷基团 ( $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ ) 组成, 因其内外表面所带的电荷不同<sup>[48]</sup>, 可实现不同带电性能目标物的吸附分离<sup>[49]</sup>。纳米管可通过表面所带的羟基、环氧基产生氢键作用、 $\pi$ - $\pi$  相互作用实现对黄酮类化合物的结合, 且在其表面引入多聚物、酰胺基团等可提高对黄酮类化合物的吸附选择性<sup>[50]</sup>。

Wang 等<sup>[26]</sup> 将碳纳米管与磺化聚苯乙烯-二乙烯基苯复合制得复合材料并从淫羊藿中提取淫羊藿定 A/B/C 和淫羊藿苷 4 种黄酮类化合物, 该方法回收率可达到 90% 以上。Yang 等<sup>[50]</sup> 制备了聚酰胺-胺型树枝状大分子功能化的磁性多壁碳纳米管, 以从芹菜、大豆分离黄酮类化合物, 对总黄酮的吸附效率分别为 81.5%, 76.4%。Liu 等<sup>[25]</sup> 在埃洛石纳米管上修饰了具有双重识别的 nMIPs, 用于中性条件下对天然黄酮类化合物木犀草素的高特异性分离, 其最大负载量可达  $83.42 \text{ mg}/\text{g}$ 。Dramou 等<sup>[51]</sup> 将 3-氨基丙基三甲氧基硅烷功能化磁性氧化石墨烯和磁性埃洛石纳米管共价结合, 所构建的复合材料对黄酮醇类化合物芦丁的吸附效果较单一组分纳米管材料更优。

## 2.7 其他纳米材料

除上述纳米材料外, 纳米片、纳米共价有机框架材料 (NCOFs) 等纳米材料也被应用于黄酮类化合物的分离纯化。

硫化锌纳米片是一种薄片形式的纳米尺寸材料, Wang 等<sup>[27]</sup>制备的硫化锌纳米片通过锌原子与黄酮类化合物分子相邻苯环之间的范德华力,可用于沙棘汁和橙汁中杨梅素、木犀草素、异鼠李素和山奈酚的分离及检测,回收率可达 88.7% 以上;且材料稳定性好,可重复使用 50 次以上。

纳米共价有机框架材料(Nanoscale covalent organic frameworks, NCOFs)是指有机构建单元通过共价键连接在一起而形成的纳米级二维或三维结晶多孔聚合物,具有比表面积大、孔隙结构规则等优点,可表现出较强的吸附能力和较快的吸附速率。NCOFs 不仅可通过  $\pi-\pi$  相互作用与黄酮类化合物结合而达到分离纯化的目的,还可通过硼酸功能化提高其选择性和富集能力。Hu 等<sup>[52]</sup>合成了硼酸功能化 NCOFs,由于苯基硼酸和顺式二醇结构之间的亲和反应,被应用于富集及检测辣椒样品中的含顺式二醇结构木犀草素。Zhao 等<sup>[38]</sup>在包裹 MNPs 的 NCOFs 表面修饰了分子印迹聚合物,并应用于蓝莓、黑莓和越橘中花色苷类化合物花青素的提取富集,所制得的纯化物中花青素纯度可达 88%~94%。

### 3 结论与展望

固相萃取法集提取、分离、富集、纯化于一体,既可用于黄酮类化合物分析检测的样品前处理,又可用于提取与分离纯化的技术手段。固相萃取剂的选择是决定黄酮类化合物分离纯化效果的决定性因素。纳米氧化物、纳米磁性颗粒显示了其粒径微小、比表面积大等优势,而纳米金属有机框架、纳米分子印迹聚合物等则在高孔隙率、孔径可调且易于修饰等方面显示了其优势。

但从现有研究报道来看,将纳米固相萃取剂应用于黄酮类化合物的分离纯化仍需吸附选择性、吸附机理及大孔径多孔纳米固相萃取剂制备方法等方面开展深入研究。① 吸附选择性,除分子印迹聚合物可对待分离纯化目标物进行高选择性吸附外,其他纳米固相萃取剂在未经修饰前其吸附选择性皆较差,难以从复杂基质中得到单一组分的黄酮类化合物,通常需要结合高效液相色谱等方法进行单一组分的分离;虽然经过修饰后其吸附选择性可得到一定程度的提升,但如何选择合适的修饰方法仍需开展更深入的研究。② 吸附机理,对黄酮类化合物吸附机理的研究可为纳米固相萃取剂的改性调控提供理论指导,目前尽管许多研究已对纳米固相萃取剂吸附黄酮类化合物的吸附机理进行了探索,但大多为对其吸附作用力的推测,纳米固相萃取剂对黄酮类化合物的吸附机理亟待从吸附亲和性、吸附作用位点等方面开展更深入研究。③ 大孔径多孔纳米固相萃取剂制备方法,黄酮类化合物其相对分子量较大,现有的纳米金属有机框架、纳米共价有机框架等多孔纳米固相萃取剂的孔径

较小,黄酮类化合物难以进入其孔径内部,后续研究可考虑通过制备大孔径的多孔纳米固相萃取剂来改善对黄酮类化合物的吸附性能。

### 参考文献

- [1] JANG H H, NOH H Y, KIM H W, et al. Metabolic tracking of isoflavones in soybean products and biosamples from healthy adults after fermented soybean consumption[J]. Food Chem, 2020, 330: 127317.
- [2] 陈晓琪, 李瑶晨, 李璐瑶, 等. 黄秋葵中黄酮类化合物提取方法优化及总黄酮抑菌效果研究[J]. 核农学报, 2022, 36(3): 669-679.  
CHEN Xiao-qi, LI Yao-chen, LI Lu-yao, et al. Optimization by response surface methodology of flavonoids extraction and the antibacterial activities of the total flavonoids from Okra (*Abelmoschus esculentus* L.)[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(3): 669-679.
- [3] OYAGBEMI A A, OMOBOWALE T O, OLA-DAVIES O E, et al. Quercetin attenuates hypertension induced by sodium fluoride via reduction in oxidative stress and modulation of HSP 70/ERK/PPAR $\gamma$  signaling pathways[J]. BioFactors, 2018, 44(5): 465-479.
- [4] 周立霞, 关洪全, 马贤德, 等. 毛蕊异黄酮对肺腺癌细胞增殖和迁移功能的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(7): 1 474-1 477, 1 567.  
ZHOU Li-xia, GUAN Hong-quan, MA Xian-de, et al. Calycosin inhibits biological function of lung cancer cells[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 46(7): 1 474-1 477, 1 567.
- [5] 丘苑新, 张泽雄, 何娣, 等. 超声波辅助提取桉树叶黄酮及其抗氧化、抑菌能力研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(6): 174-178.  
QIU Yuan-xin, ZHANG Ze-xiong, HE Ti, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of flavonoids from pomelo leaves and its antioxidant and antibacterial capabilities[J]. Food & Machinery, 2021, 37(6): 174-178.
- [6] 倪雪花, 王恒鹏. 低共熔溶剂提取绿茶总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2022, 38(1): 159-163.  
NI Xue-hua, WANG Heng-peng. Research on extraction of total flavonoids from green tea with deep eutectic[J]. Food & Machinery, 2022, 38(1): 159-163.
- [7] LUMMAETEE K, KU H M, WONGRAT W, et al. Optimization of supercritical fluid extraction of isoflavone from soybean meal[J]. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2017, 95(6): 1 141-1 149.
- [8] 王胜利, 于虹, 李超群, 等. 制备色谱法从槐米中同时精制芦丁和槲皮素[J]. 食品科技, 2022, 47(2): 245-250.  
WANG Sheng-li, YU Hong, LI Chao-qun, et al. Preparation and purification of rutin and quercetin from *sophora japonica* by semi-preparative HPLC[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(2): 245-250.
- [9] 范敬宜. 牡丹黄酮的膜法提纯及其美白活性研究[D]. 北京: 北

- 京化工大学, 2020: 38-57.
- FAN Jing-yi. Purification of flavonoids from peony by membrane method and its whitening activity[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2020: 38-57.
- [10] CAO Y, XIE L, LIU K, et al. The antihypertensive potential of flavonoids from Chinese Herbal Medicine: A review[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 174: 105919.
- [11] 徐军, 杨美林, 仲崇琳. 蜂胶中白杨素衍生物抗高尿酸活性研究[J]. *特产研究*, 2021, 43(6): 49-53.
- XU Jun, YANG Mei-lin, ZHONG Chong-lin. Effects of chrysin derivative in propolis on anti-hyperurimia activities [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2021, 43(6): 49-53.
- [12] 卢迪, 黎瑶, 李婷. 芹菜素调控 lncRNA MEG8 对高糖诱导的人肾小管上皮细胞损伤的影响[J]. *临床肾脏病杂志*, 2022, 22(1): 46-52.
- LU Di, LI Yao, LI Ting. Effect of apigenin regulating lncRNA MEG8 on high glucose-induced injury of human renal tubular epithelial cells[J]. *Journal of Clinical Nephrology*, 2022, 22(1): 46-52.
- [13] ESSAWY A E, ABDU H M, IBRAHIM H M, et al. Soybean isoflavone ameliorates cognitive impairment, neuroinflammation, and amyloid  $\beta$  accumulation in a rat model of Alzheimer's disease[J]. *Environ Sci Pollut R*, 2019, 26(25): 26 060-26 070.
- [14] 袁永贵, 张夏炎, 朱晓俊, 等. 甘草查尔酮 A 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(20): 95-100.
- YUAN Yong-gui, ZHANG Xia-yan, ZHU Xiao-jun, et al. Effect of licochalcone A on apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(20): 95-100.
- [15] 杨裕, 关文超, 崔小珍, 等. 甘草查尔酮 A 对副猪嗜血杆菌感染猪肺泡巨噬细胞氧化应激的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(2): 480-487.
- YANG Yu, GUAN Wen-chao, CUI Xiao-zhen, et al. Effects of licochalcone A on oxidative stress induced by haemophilus parasuis infection in porcine alveolar macrophages[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 49(2): 480-487.
- [16] VENDRAME S, KLIMIS D. Potential Factors Influencing the Effects of Anthocyanins on Blood Pressure Regulation in Humans: A Review[J]. *Nutrients*, 2019, 11: 1431.
- [17] 张秀娟, 吴伟, 陈欣, 等. 葡萄籽原花青素对牙龈上皮细胞炎症介质表达的影响[J]. *华西口腔医学杂志*, 2022, 40(1): 39-44.
- ZHANG Xiu-juan, WU Wei, CHEN Xin, et al. Effects of grape seed proanthocyanidins on the expression of inflammatory mediators in gingival epithelial cells[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2022, 40(1): 39-44.
- [18] 李泽林, 代红丽, 沈晓静, 等. 表儿茶素对急性肺损伤小鼠抗氧化应激和抗炎作用研究[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2021, 36(5): 848-854.
- LI Ze-lin, DAI Hong-li, SHEN Xiao-jing, et al. Study on the anti-oxidative stress and anti-inflammatory effect of epicatechin on acute lung injury in mice[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2021, 36(5): 848-854.
- [19] 刘文君, 李兆亮, 程宁波, 等. 水翁花中 1 个抗炎活性的新橙酮[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(7): 1 467-1 470.
- LIU Wen-jun, LI Zhao-liang, CHENG Ning-bo, et al. A new aurone with anti-inflammatory activity from *Cleistanthus operculatus* flower buds[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, 43(7): 1 467-1 470.
- [20] 宋艳霞, 马强, 李捷. 海洋 *Penicillium* sp. FJ-1 中一个抗真菌活性的新橙酮苷(英文)[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(6): 1 097-1 101.
- SONG Yan-xia, MA Qiang, LI Jie. A new aurone glycoside with antifungal activity from marine derived fungus *Penicillium* sp. FJ-1[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(6): 1 097-1 101.
- [21] 苏立燕. 穗花杉双黄酮作为金黄色葡萄球菌 MgrA 抑制剂对小鼠肺炎的治疗作用[D]. 长春: 吉林大学, 2021: 44-77.
- SU Li-yan. Therapeutic effect of amentoflavone as an inhibitor of *Staphylococcus aureus* MgrA on pneumonia in mice[D]. Changchun: Jilin University, 2021: 44-77.
- [22] LI N, QIU J, LIU H Y, et al. Thermoregulated extraction of luteolin under neutral conditions using oligo(ethylene glycol)-based magnetic nanoparticles with Wulff-type boronate affinity[J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1607: 460396.
- [23] CAO X X, WANG M, SUN L L, et al. Preferential adsorption of flavonoids from peanut shell by amino-modified  $Fe_3O_4$  nanoparticles (MNP-NH<sub>2</sub>) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(9): 3 588-3 594.
- [24] GUO B L, TONG Y K, ZHANG B Y, et al. Double affinity based molecularly imprinted polymers for selective extraction of luteolin: A combination of synergistic metal chelating and boronate affinity[J]. *Microchem J*, 2021, 160: 105670.
- [25] LIU S C, LIU J X, PAN J M, et al. Two are better than one: Halloysite nanotubes-supported surface imprinted nanoparticles using synergy of metal chelating and low pKa boronic acid monomers for highly specific luteolin binding under neutral condition [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(38): 33 191-33 202.
- [26] WANG N N, XIN H L, ZHANG Q Y, et al. Carbon nanotube-polymer composite for effervescent pipette tip solid phase microextraction of alkaloids and flavonoids from *Epimedii herba* in biological samples[J]. *Talanta*, 2017, 162: 10-18.
- [27] WANG L C, FAN W, LI S M, et al. Zinc sulfide nanosheets as a novel solid-phase extraction material for flavonoids[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(6): 1 403-1 409.
- [28] KHAN M A, WALLACE W T, ISLAM S Z, et al. Adsorption and recovery of polyphenolic flavonoids using TiO<sub>2</sub>-functionalized mesoporous silica nanoparticles[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2017, 9(37): 32 114-32 125.
- [29] MAJIDI S M, HADJMOHAMMADI M R. Development of magnetic dispersive micro-solid phase extraction based on magnetic

- agarose nanoparticles and deep eutectic solvents for the isolation and pre-concentration of three flavonoids in edible natural samples[J]. *Talanta*, 2021, 222: 121649.
- [30] SANI T H, HADJMOHAMMADI M, FATEMI M H. Extraction and determination of flavonoids in fruit juices and vegetables using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> magnetic nanoparticles modified with mixed hemi/ad-micelle cetyltrimethylammonium bromide and high performance liquid chromatography[J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(7): 1 224-1 231.
- [31] LI X X, ROW K H. Preparation of deep eutectic solvent-based hexagonal boron nitride-molecularly imprinted polymer nanoparticles for solid phase extraction of flavonoids[J]. *Microchim Acta*, 2019, 186(12): 753.
- [32] LIANG C L, ZHANG Z Y, ZHANG H D, et al. Ordered macroporous molecularly imprinted polymers prepared by a surface imprinting method and their applications to the direct extraction of flavonoids from *Ginkgo* leaves[J]. *Food Chem*, 2020, 309: 125680.
- [33] MA X B, LIN H L, HE Y H, et al. Magnetic molecularly imprinted polymers doped with graphene oxide for the selective recognition and extraction of four flavonoids from *Rhododendron* species[J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1 598: 39-48.
- [34] SUN L P, DENG Q L, ZHU T. Optimization of heteroatom doped graphene oxide by deep eutectic solvents and the application for pipette-tip solid-phase extraction of flavonoids[J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(14): 2 371-2 378.
- [35] ZHAO X F, DUAN F F, CUI P P, et al. A molecularly-imprinted polymer decorated on graphene oxide for the selective recognition of quercetin[J]. *New Carbon Materials*, 2018, 33(6): 529-543.
- [36] ZHU J Q, CHENG H, ZHOU M L, et al. Determining three isoflavones from *Pueraria lobata* using magnetic ZIF-8 nanoparticle-based solid-phase extraction and pressurized capillary electrochromatography[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 212: 114592.
- [37] ZHAO Q Y, ZHAO H T, YANG X, et al. Selective recognition and fast enrichment of anthocyanins by dummy molecularly imprinted magnetic nanoparticles[J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1 572: 9-19.
- [38] ZHAO Q Y, ZHANG H, ZHAO H T, et al. Strategy of fusion covalent organic frameworks and molecularly imprinted polymers: A surprising effect in recognition and loading of cyanidin-3-*O*-glucoside[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(7): 8 751-8 760.
- [39] YUSOFF A H M, SALIMI M N, GOPINATH S C B, et al. Catechin adsorption on magnetic hydroxyapatite nanoparticles: A synergistic interaction with calcium ions[J]. *Mater Chem Phys*, 2020, 241: 122337.
- [40] CUI Y Y, YANG C X, YANG X D, et al. Zeolitic imidazolate framework-8 for selective extraction of a highly active antioxidant flavonoid from *Caragana Jubata*[J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1 544: 8-15.
- [41] NAM G W, JI Y H, LEE H J, et al. Orobol: An isoflavone exhibiting regulatory multifunctionality against four pathological features of alzheimer's disease[J]. *ACS Chemical Neuroence*, 2019, 10(8): 3 386-3 390.
- [42] GUO H, XUE L, YAO S, et al. Rhein functionalized magnetic chitosan as a selective solid phase extraction for determination isoflavones in soymilk[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 165: 96-102.
- [43] LI D J, LIU Z Y, SONG R M, et al. Branched polyethyleneimine-assisted 3-carboxybenzoboroxole improved Wulff-type boronic acid functionalized magnetic nanoparticles for the specific capture of cis-diol-containing flavonoids under neutral conditions[J]. *Rsc Advances*, 2019, 9(65): 38 038-38 046.
- [44] 张瑞平. MOFS 对肉苁蓉总黄酮精制研究[D]. 天津: 天津工业大学, 2018: 39-50.
- ZHANG Rui-ping. Study on the purification of total flavonoids from *Cistanche deserticola* by MOFS[D]. Tianjin: Tiangong University, 2018: 39-50.
- [45] HUANG S Y, XU J Q, ZHENG J T, et al. Synthesis and application of magnetic molecularly imprinted polymers in sample preparation[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(17): 3 991-4 014.
- [46] DRAMOU P, ITATAHINE A, FIZIR M, et al. Preparation of novel molecularly imprinted magnetic graphene oxide and their application for quercetin determination[J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1 124: 273-83.
- [47] HOU X D, LU X F, NIU P H, et al.  $\beta$ -Cyclodextrin-modified three-dimensional graphene oxide-wrapped melamine foam for the solid-phase extraction of flavonoids[J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(10): 2 207-2 213.
- [48] ROZZA R, FERRANTE F. Computational study of water adsorption on halloysite nanotube in different pH environments[J]. *Applied Clay Science*, 2020, 190: 105589.
- [49] LI G Y, ZHA J, NIU M C, et al. Bifunctional monomer molecularly imprinted sol-gel polymers based on the surface of magnetic halloysite nanotubes as an effective extraction approach for norfloxacin[J]. *Applied Clay Science*, 2018, 162: 409-417.
- [50] YANG J J, ZHANG Z F, PANG W T, et al. Polyamidoamine dendrimers functionalized magnetic carbon nanotubes as an efficient adsorbent for the separation of flavonoids from plant extraction[J]. *Sep Purif Technol*, 2019, 227: 115710.
- [51] DRAMOU P, WANG F Q, SUN Y Y, et al. Synthesis and characterization of superparamagnetic graphene oxide assembled halloysite composites for extraction of rutin[J]. *Applied Clay Science*, 2022, 217: 106397.
- [52] HU K, LU Y X, YE F G, et al. Boric-acid-functionalized covalent organic framework for specific Enrichment and direct detection of cis-diol-containing compounds by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(9): 6 353-6 362.