

陈凤真. 葫芦巴碱提取与测定方法研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2019(9):145-149.

# 葫芦巴碱提取与测定方法研究进展

陈凤真

(菏泽学院 农业与生物工程学院, 山东 菏泽 274000)

**摘要:**葫芦巴碱是一种两性化合物,具有降血糖、降血脂和抗肿瘤等活性作用,具有较大的市场需求。在植物盐害和干旱逆境中,是一种渗透调节物质。在医学和植物等领域对葫芦巴碱已进行了较广泛的研究。本文归纳总结了各种植物中葫芦巴碱的提取方法和含量测定方法,提出了葫芦巴碱提取和测定方法的发展方向,旨在为葫芦巴碱的研究与利用提供参考。

**关键词:**葫芦巴碱;提取;测定

葫芦巴碱(TRG)是从豆科植物葫芦巴(*Trigonella foenum-graecum L.*)的干燥种子中分离的一种生物碱<sup>[1]</sup>,因此命名为葫芦巴碱。TRG具有温肾、祛寒、止痛的功效,现代药理学表明葫芦巴碱具有降血糖<sup>[2-4]</sup>、降血脂和抗肿瘤等<sup>[5-6]</sup>活性作用;还可有效地治疗皮肤病<sup>[7]</sup>与刺激毛发和指甲生长,国外已有人配制出了含有葫芦巴碱能刺激头发生长的口服药<sup>[8-9]</sup>。此外,葫芦巴碱能调节植物的各种生理生化功能,是植物抗逆境的一种渗透调节物质,具备植物激素的特性<sup>[10]</sup>,作为信号物质能提高豆科植物的固氮能力<sup>[11]</sup>,能调节豆科植物<sup>[12-13]</sup>对盐害或对轻度干旱<sup>[14]</sup>等逆境的适应。因此,它在医学、药理学、食品与植物逆境调节等方面具有较广泛的应用潜力,葫芦巴碱的研究与应用已成为研究的一个热点<sup>[15]</sup>。研究葫芦巴碱的提取方法和测定方法具有非常重要的意义。本文对葫芦巴碱不同的提取和测定方法进行了综述,以期为相关研究提供参考。

## 1 葫芦巴碱提取的方法

葫芦巴碱是一种两性化合物,以内盐形式存在于植物中,亲水性较强,易溶于水、乙醇、甲醇,不溶于氯仿和乙醚。

### 1.1 热水提取法

水是一种极性溶剂,葫芦巴碱能溶于水。Casal等<sup>[16]</sup>、Oosterveld等<sup>[17]</sup>、Franca等<sup>[18]</sup>和刘宏程等<sup>[19]</sup>采用热水浸提咖啡中的葫芦巴碱。有

研究表明,浸提效果与超声波效果相当<sup>[19]</sup>。但也有研究表明,热水法提取会造成葫芦巴碱的损失,并且随着受热时间的延长,损失越严重<sup>[20]</sup>。热水提取法时间长,无净化处理,易污染仪器,且不宜进行大量样品的检测。

### 1.2 醇溶-回流提取法

葫芦巴碱极性强,能溶于甲醇或乙醇。采用甲醇或乙醇提取葫芦巴碱时,脂溶性物质也存在于提取液中,所以对脂溶性含量较高的一些样品在采用乙醇或甲醇提取时,需进一步采用石油醚或乙醚等加热处理,以降低脂溶性物质的干扰。回流法一般在索氏提取器内完成,以甲醇或乙醇等易挥发的有机物质为溶剂,对浸出液进行加热蒸馏,甲醇或乙醇被馏出后,再次冷凝到索氏抽提器中继续参与浸取过程。醇溶-回流提取法是将有机溶剂与回流法有效地结合使用。刘广学等<sup>[20]</sup>将葫芦巴经石油醚脱脂后,采用无水乙醇回流提取,葫芦巴碱提取率不高。赵怀清等<sup>[21]</sup>的研究结果表明,选用无水甲醇和无水乙醇加热回流提取葫芦巴碱,提取效率相同。而有研究结果表明,甲醇提取效率高于乙醇<sup>[20]</sup>。徐雅琴等<sup>[22]</sup>的研究结果表明:南瓜粉经乙醚回流脱脂后,确定了最佳的提取工艺条件:乙醇浓度50%、提取时间8 h、浸提温度60℃、液料比20 mL·g<sup>-1</sup>,在此条件下,南瓜果肉中葫芦巴碱的提取量为297.4 μg·g<sup>-1</sup>。该提取方法较简单、但提取时间较长,且葫芦巴碱在对提取液加热蒸馏过程中,易受热分解。

### 1.3 醇溶-超声波提取法

超声辅助提取葫芦巴碱的原理是超声波空化产生的极大压力造成细胞壁及整个生物体瞬间破裂,同时超声波产生振动作用加强了葫芦巴碱的

收稿日期:2019-03-27

基金项目:菏泽学院博士基金(XYJJKJ-9)。

作者简介:陈凤真(1980-)女,博士,副教授,从事蔬菜遗传育种与生物技术研究。E-mail:duoduo12008@163.com。

释放、扩散及溶解,使葫芦巴碱快速渗透到溶剂,从而提高提取率。醇溶-超声波提取法即将样品干燥粉碎后浸泡在甲醇或乙醇溶液中,然后采取超声波进行提取。刘广学等<sup>[20]</sup>与郑祥菊<sup>[23]</sup>对醇溶-回流法和醇溶-超声波法提取葫芦巴碱进行了比较,研究结果表明,采用50%甲醇-超声波提取效率比50%甲醇回流提取效率高。兰卫等<sup>[24]</sup>用乙醇作为溶剂,超声波法提取率比回流法提取率高,超声波法提取率为0.588%,回流法提取率为0.467%。但在冬瓜子葫芦巴碱含量测定研究中,甲醇-回流法提取效率高<sup>[25]</sup>。曲燕等<sup>[26]</sup>用甲醇作溶剂对雀巢速溶咖啡进行超声提取、加热回流和索氏回流提取进行了比较,结果表明超声提取效率最高。在天南星<sup>[27]</sup>、火麻仁<sup>[28]</sup>、卢豆<sup>[29]</sup>、桑树<sup>[30]</sup>、紫茉莉<sup>[31]</sup>等作物中均采用甲醇-超声波提取葫芦巴碱,提取率较高。醇溶-超声波提取法提取率高、简单、省时、溶剂使用量较少,成本低、无需加热,特别适合对热敏感的化学物质(如葫芦巴碱)的提取。超声波在天然产物提取方面得到广泛的应用,由于中草药成分复杂,且易被破坏,更适合超声提取法。

#### 1.4 微波辅助萃取

微波辅助萃取是利用微波与介质的离子和偶极分子的相互作用,使细胞壁破裂,提取溶剂易于进入细胞内,溶解并释放胞内产物,且可对某些组分选择性加热,使被萃取物质从体系中分离进入萃取剂,具有强力、瞬时、高效等特点<sup>[32]</sup>。王翀等<sup>[33]</sup>采用微波辅助技术对南瓜中葫芦巴碱提取工艺进行了优化,最佳的工艺条件为微波功率600 W、提取时间7 min、微波温度65 °C、70%乙醇、液料比20 mL·g<sup>-1</sup>,葫芦巴碱的提取量为338.7 μg·g<sup>-1</sup>,提取率较高。但微波萃取受外界因子影响较大,如萃取溶剂种类、时间、温度和压力的不同,提取率不同。

### 2 葫芦巴碱的测定方法

葫芦巴碱的测定方法有光谱法、毛细管电泳法和质子核磁共振法等。

#### 2.1 色谱法

葫芦巴碱含量的测定一般采用色谱法,包括薄层色谱、高效液相色谱、液相色谱-质谱、亲水作用色谱和超高效液相色谱,其中高效液相色谱是目前应用最广泛的方法。

2.1.1 薄层色谱法 薄层色谱法是将硅胶、纤维素、氧化铝等作为吸附剂,在一定尺寸的平板上,铺成厚度为0.10~0.25 mm的薄层作为固定相,用展开剂(流动相)把将测样品展开。它利用各成分对同一吸附剂吸附能力不同,使在流动相(展开剂)流过固定相(吸附剂)的过程中,连续的产生吸附、解吸附、再吸附、再解吸附,从而达到各成分的互相分离的目的<sup>[34]</sup>。高压薄层色谱法的展开剂通过压力展开。在葫芦巴碱含量的测定中一般采用普通薄层色谱法和加压薄层色谱法。Tyihák等<sup>[35]</sup>采用加压薄层色谱测定了番茄叶片中葫芦巴碱和胆碱的含量,加压色谱能很好地将它们分离。Stennert等<sup>[36]</sup>采用普通薄层色谱(TLC)和高效液相色谱(HPLC)测定了咖啡豆中葫芦巴碱含量,结果表明HPLC能同时测出葫芦巴碱和咖啡豆中的咖啡因等成分,而TLC法不能同时测出咖啡因等成分。因此,需同时进行多个成分的测定时,不能采用TLC方法。薄层色谱能够提供图像可以直接观测并传达色谱结果,具有速度较快,灵敏度较高,溶剂消耗量少,成本低等优点<sup>[37]</sup>。薄层层析的缺点是对生物高分子的分离效果不甚理想。

2.1.2 高效液相色谱 高效液相色谱柱使用了细颗粒、高效率的固定相( $C_{18}$ 为代表的高效反相液相色谱柱和 $NH_2$ 为代表的正相液相色谱柱)和均匀填充技术,流动相可根据所提取物质的特性选用溶剂,且可采用梯度洗脱装置。葫芦巴碱含量的常用测定方法是高效液相色谱法。在咖啡<sup>[16,18]</sup>、掌叶半夏<sup>[38]</sup>、冬瓜子<sup>[25]</sup>和南瓜果肉<sup>[22-33]</sup>中葫芦巴碱含量的测定均采用 $C_{18}$ 柱。因为葫芦巴碱极性强, $C_{18}$ 柱对葫芦巴碱吸附较弱,因此一般流动相其中选择一种离子型的溶剂(如磷酸缓冲盐<sup>[16]</sup>),以利于样品中葫芦巴碱的分离。刘青等<sup>[31]</sup>采用Shim-pack VP-ODS反相色谱柱测定了人工种植喜马拉雅紫茉莉和野生喜马拉雅紫茉莉中的葫芦巴碱,分别为0.26和0.21 mg·g<sup>-1</sup>。刘衡等<sup>[27]</sup>、刘宏程等<sup>[19]</sup>和赖佐发等<sup>[39]</sup>分别对天南星、咖啡粉、速溶咖啡和消疳化积散中葫芦巴碱含量进行测定时,均采用 $NH_2$ 基键合柱。 $NH_2$ 基键合柱分离效果较好,提取率较高。高效液相色谱法分离效率较高、简单,适合大批量样品检测,

但平衡时间较长。

**2.1.3 液相色谱-质谱(HPLC-MS)** 液相色谱-质谱是液相色谱与质谱联用的仪器。它结合了液相色谱仪有效分离热不稳定性及高沸点化合物的分离能力与质谱仪很强的组分鉴定能力。Bruggink 等<sup>[40]</sup>采用高效阴离子交换色谱法-质谱测定了菊苣咖啡中的葫芦巴碱。Perrone 等<sup>[41]</sup>采用液相色谱-质谱(HPLC-MS)同时测定了咖啡中咖啡因、葫芦巴碱、尼克酸和蔗糖的含量,结果分别为:11.9,36.4,18.5,5.0 ng·mL<sup>-1</sup>。此法比 HPLC 法快速简单,可同时分离多种离子化合物,且分离时间短、灵敏度更高,稳定性更好。

**2.1.4 亲水作用色谱(HILIC)** 亲水作用色谱以硅胶或衍生硅胶等极性填料为固定相,流动相以极性有机溶剂(比例高)-水溶液(比例低)为流动相<sup>[42]</sup>。因此它对强极性化学物质的分离效果较好,已成为色谱科学的一个热点<sup>[43]</sup>。卓荣杰等<sup>[44]</sup>建立了对葫芦巴碱含量测定的亲水作用色谱法,结果表明,此法分离效果好,快速简单,且平衡时间较短。Lang 等<sup>[45]</sup>采用 HILIC 法测定了人摄入咖啡后,血浆和尿中葫芦巴碱的含量。

**2.1.5 超高效液相色谱** 与高效液相色谱仪相比,固定相颗粒更小,所以分离效果更好。程再兴等<sup>[46]</sup>采用 HILIC 在 UPLC 上测定半夏、葫芦巴和咖啡豆中葫芦巴碱的含量,结果分别为:6.460,2.770,4.219 mg·g<sup>-1</sup>。此法比 HPLC 法灵敏度更高、速度更快和分离度更高。

## 2.2 毛细管电泳(EC)

由于所测用品中各物质之间所带电荷不同,在电场作用下,因移动速率不同而达到分离不同分子的目的。Sánchez-Hernández 等<sup>[47]</sup>采用毛细管电泳测定了大豆、向日葵和橄榄及其油中葫芦巴碱的含量。黄端华等<sup>[48-49]</sup>采用毛细管电泳法对白鲜皮中的葫芦巴碱、白鲜碱和胆碱同时进行了测定,建立了葫芦巴中葫芦巴碱(TRG)、槲皮素(QU)和柚皮素(NA)的电泳分析方法,回收率较高。毛细管电泳所需样品少,有多个分离模式;但灵敏度较低,重现性较差。

## 2.3 质子核磁共振(NMR)

目前应用最多的是氢核磁共振谱。核磁共振法根据不同的质子吸收峰的面积只与所包含的质子数有关,无需引进校正因子,就可根据各共振峰

的积分值推算所代表的自旋核的数量。Mantur 等<sup>[50]</sup>采用 NMR 分别测定了辣木根中莢、叶、茎、花和根中葫芦巴碱的含量,其中莢中含量最高。Campo 等<sup>[51]</sup>采用核磁共振测定了速溶咖啡中咖啡因、甲酸 5-羟甲基糠醛、葫芦巴碱的含量,其中葫芦巴碱的含量为 0.58 mg·g<sup>-1</sup>。Machado 等<sup>[52]</sup>采用核磁共振测定了阿拉比卡咖啡根中葫芦巴碱的含量 1.20 mg·g<sup>-1</sup>。Machado 等<sup>[53]</sup>也采用核磁共振测定了 6 个番荔枝品种中葫芦巴碱的含量,结果表明:不同品种中葫芦巴碱含量差异显著,测定含量为 0.67~10.04 mg·g<sup>-1</sup>。此法不需样品基准物质,简单、快速、准确、重复性好。

此外,Michael Kuhn 等<sup>[54]</sup>研究了不同粒径大小和夯压处理的咖啡粉对咖啡因和葫芦巴碱提取的影响。结果表明:咖啡粉粒径大小能显著影响咖啡因和葫芦巴碱的提取率,粒径越小,两者提取率越高。

## 3 结语

赵怀清等<sup>[21]</sup>和 Lang 等<sup>[45]</sup>对葫芦巴碱在体内代谢机制和药物动力学进行了研究,这将对于保健食品开发、新药设计、药效和安全性的提高具有指导意义,使葫芦巴碱在医学、食品和植物等领域研究和应用更进一步。随着对葫芦巴碱市场需求量的增加,葫芦巴碱提取方法也在不断改进和提高。很多植物中都含有葫芦巴碱,所以在选择提取方法和测定方法时,要考虑到植物中其他成分的影响,选择合适的提取方法。醇溶-超声提取法和醇溶-微波提取法操作较简单,节省时间,提取率较高。因此,在葫芦巴碱的提取工艺研究中,可将两种或几种提取方法有效地配合使用,会使葫芦巴碱的提取率更高。目前 HPLC 是测定葫芦巴碱含量应用最多的测定方法,但平衡时间较长;亲水作用色谱和超高效色谱是一种基于 HPLC 的测定方法,具有 HPLC 的优点,且平衡时间短,是葫芦巴碱或极性较强化学物质含量测定的较好方法。若同时测定样品中多个成分时,可将葫芦巴碱的测定方法有效地结合使用,以取得更好的分离效果。今后工业化提取分离和测定葫芦巴碱更注重综合利用、节能高效、环境友好等因素,如向简单、快速、高效、降低成本、环境污染和几种方法有效配合使用方向发展,以建立更高效、快速的提取方法和测定方法。

## 参考文献:

- [1] Khanna P, Jain S C. Effect of nicotinic acid on growth and production of trigonelline by *Trigonella foenum-graecum* L. tissue cultures[J]. Indian journal of Experimental Biology, 1972, 10: 248-249.
- [2] Lang R, Wahl A, Stark T, et al. Urinary N-methylpyridinium and trigonelline as candidate dietary biomarkers of coffee consumption[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2011, 55(11): 1613-1623.
- [3] Olthof M R, Dijk A E, Deacon C F, et al. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on incretin hormones[J]. Nutrition & Metabolism, 2011, (8): 8-10.
- [4] Castañeda R, Rodriguez I, Nam Y H, et al. Trigonelline promotes auditory function through nerve growth factor signaling on diabetic animal models[J]. Phytomedicine, 2017, 36: 128-136.
- [5] Bakuradze T, Lang R R, Hofmann T, et al. Antioxidant effectiveness of coffee extracts and selected constituents in cell-free systems and human colon cell lines[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 54(12): 1734-1743.
- [6] Hirakawa N, Okauchi R, Miura Y, et al. Anti-invasive activity of niacin and trigonelline against cancer cells[J]. Biosci Biotech Biochem, 2005, 69(3): 653-658.
- [7] Mai J, Mai H. Treatments of skin diseases with trigonelline. Germany, 3915535[P]. 1990-11-15.
- [8] Mai J. Oral hair growth stimulant based on fenugreek extract. Germany, 273379[P]. 1989-11-15.
- [9] Stueckler E. Compositions comprising trigonelline and vitamin B6 for hair, nail, and skin care. Germany 4012148[P]. 1990-10-31.
- [10] Evansi S, Almeida M S, Lynnd G, et al. Chemical characterization of a hormone that promotes cell arrestin G2 in complete tissues[J]. Science, 1979, 203(4385): 1122-1123.
- [11] Lum M R, Hirch A M. Roots and their symbiotic microbes: strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient-limiting environment[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2003, 21(4): 368-382.
- [12] Cho Y, Njiti V N, Chen X, et al. Trigonelline concentration in field-grown soybean in response to irrigation[J]. Biologia Plantarum, 2003, 46(3): 405-410.
- [13] Tramontano W A, Jouve D. Trigonelline accumulation in salt-stress legumes and the roll of other osmregulators and cell cycle control agents[J]. Photochemistry, 1997, 44(6): 1037-1040.
- [14] 刘晓东, 孙广玉, 李威. 干旱对苜蓿叶片葫芦巴碱含量和渗透调节能力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(4): 121-124.
- [15] Minorsky P V. Trigonelline: A diverse regulator in plants[J]. Plant Physiology January, 2002, 128(1): 7-8.
- [16] Casal S, Olibeir M B, Ferreira M A . Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(8): 3420-3424.
- [17] Oosterveld A, Voragen A G J, Schols H A. Effect of roasting on the carbohydrate composition of Coffea arabica beans[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54(2): 183-192.
- [18] Franca A S, Mendonc J C F, Oliveira S D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities[J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38 ( 7 ): 709-715.
- [19] 刘宏程, 黎其万, 邵金良, 等. 超声波萃取-高效液相色谱测定咖啡粉和速溶咖啡中的葫芦巴碱[J]. 色谱, 2011, 29(11): 1103-106.
- [20] 刘广学, 尚明英, 李辉, 等. 胡芦巴药材中葫芦巴碱的提取方法及其含量测定[J]. 中国药品标准, 2005, 6(4): 11-14.
- [21] 赵怀清, 曲燕, 王雪娅, 等. 高效液相色谱法测定葫芦巴中葫芦巴碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27 ( 3 ): 194-196..
- [22] 徐雅琴, 刘春生, 崔崇士. 南瓜果肉中葫芦巴碱提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(6): 46-48.
- [23] 郑祥菊. 青海地区葫芦巴中葫芦巴碱含量分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(21): 9328-9329.
- [24] 兰卫, 陶宁, 哈木拉提·吾甫尔. 胡芦巴碱超声提取工艺研究[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2200-2202.
- [25] 董芳, 万丽, 吕芳, 等. 冬瓜子中葫芦巴碱的含量测定[J]. 中药与临床, 2010, 1(2): 20-22.
- [26] 曲燕, 赵怀清, 张洪建. HPLC 法测定雀巢速溶咖啡中葫芦巴碱的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18 ( 6 ): 422-424.
- [27] 刘衡, 徐春芬, 陈英. HPLC 法测定不同种天南星中葫芦巴碱的含量[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(18): 177-178.
- [28] 蔡明宸, 张北灿, 鲁雅文, 等. HPLC 法测定不同产地火麻仁药材中葫芦巴碱的含量[J]. 化学工程师, 2014 ( 7 ): 29-31.
- [29] 杨玉焕, 葛强, 王洋, 等. 超声法提取卢豆茎中葫芦巴碱[J]. 农学学报, 2011(11): 18-21.
- [30] 赵钰, 石媛, 张亚楠, 等. 桑树不同方位叶片中葫芦巴碱含量测定[J]. 林业科技, 2011, 36(2): 36-37.
- [31] 刘青, 达瓦潘多, 央美, 等. PLC 法测定西藏野生和人工种植喜马拉雅紫茉莉中葫芦巴碱[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1401-1402.
- [32] Deng C H, Liu N, Gao M X, et al. Recent developments in sample preparation techniques for chromatography analysis of traditional Chinese medicines[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1153(1-2): 90-96.
- [33] 王翀, 徐雅琴. 微波辅助萃取南瓜葫芦巴碱工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2009, 30(1): 258-262.
- [34] 张震南. 薄层色谱 ABC[J]. 云南化工, 1995(1): 46-50.
- [35] Tyihák E, Sarhan A R T, Cong N T, et al. The level of

- trigonelline and other quaternary ammonium compounds in tomato leaves in ratio to the changing nitrogen supply[J]. Plant and Soil, 1988, 109, 285-287.
- [36] Stennert A, Maie H Ge. Trigonellin in bohnenkaffee[J]. Z Lebensm Unters Forsch, 1993, 196(5): 430-434.
- [37] Poole C F. Thin-layer chromatography: challenges and opportunities [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1000(1): 963-984.
- [38] 徐立军, 魏胜利, 王文全. HPLC 同时测定掌叶半夏中四种含氮化合物的含量 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36 (10): 1334-133.
- [39] 赖佐发, 钟国庆, 廖宝源, 等. 消痈化积散中葫芦巴碱含量测定 [J]. 江西中医院大学学报, 2017, 29(4): 71-72.
- [40] Bruggink C, Maurer R, Hermann H, et al. Analysis of carbohydrates by anion exchange chromatography and mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1085(1): 104-109.
- [41] Perrone D, Donangelo C M, Farah A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography – mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2008, 1030(4): 1030-1035.
- [42] Alpert A J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds [J]. Journal of Chromatography A, 1990, 499(19): 177-196.
- [43] 王媛, 顾惠新, 路鑫, 等. 以亲水作用色谱为核心的液相色谱联用技术及其应用研究 [J]. 色谱, 2008, 26 (6): 649-657.
- [44] 卓荣杰, 王莉, 王龙星, 等. 亲水作用色谱法测定葫芦巴中的葫芦巴碱[J]. 色谱, 2010, 28(4): 379-382.
- [45] Lang R, Wahl A, Skrurkk T, et al. Development of a hydrophilic liquid interaction chromatography-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based stable isotope dilution analysis and pharmacokinetic studies on bioactive pyridines in human plasma and urine after coffee consumption[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(4): 1486-1497.
- [46] 程再兴, 严通萌, 陈红, 等. UPLC 测定半夏中葫芦巴碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 85-87.
- [47] Sánchez H L, Puchalska P, Garcíá R C, et al. Determination of trigonelline in seeds and vegetable oils by capillary electrophoresis as a novel marker for the detection of adulterations in olive oils[J]. Journal Agricultural Food Chemistry, 2010, 58(13): 7489-7496.
- [48] 黄端华, 童萍, 何聿, 等. 毛细管电泳用于中药白鲜皮中生物碱的分析 [J]. 分析测试技术与仪器, 2011, 17 (1): 23-28.
- [49] 黄端华, 张银平, 刘薇, 等. 毛细管电泳法用于葫芦巴中活性物质的分离和测定 [J]. 福州大学学报(自然科学版), 2013, 41(1): 109-114.
- [50] Mathur M, Kamal R. Studies on trigonelline from *Moringa oleifera* and its in vitro regulation by feeding precursor in cell cultures[J]. Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2012, 22(5): 994-1001.
- [51] Campo G, Berregi I, Caracena R, et al. Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl) furfural in soluble coffees by 1H NMR spectrometry[J]. Talanta, 2010, 81(1-2): 367-371.
- [52] Machado A R T, Campos, V A C, Silva W R J, et al. Metabolic profiling in the roots of coffee plants exposed to the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*. [J]. European journal of Plant Pathology. 2012, 134(2): 431-441.
- [53] Machado A R T, Lage G A, Medeiros F S, et al. Quantitative analysis of trigonelline in some *Annona* species by proton[J]. Natural Products and Bioprospecting 2013, 3(4): 158-160.
- [54] Michael K, Sandra L, Franziska B, et al. Time-resolved extraction of caffeine and trigonelline from finely-ground espresso coffee with varying particle sizes and tamping pressures[J]. Journal of Food Engineering, 2017, 206: 37-47.

## Research Progress on Extraction and Determination of Trigonelline

CHEN Feng-zhen

(College of Agricultural and Biological Engineering, Heze University, Heze 274000, China)

**Abstract:** Trigonelline is an amphoteric compound, which has the functions of lowering blood sugar, lowering blood lipid and anti-cancer. It has a great market demand. It is a kind of osmotic adjustment substance in plant salt damage and drought stress. Trigonelline has been extensively studied in the fields of medicine and plants. This paper summarized the extraction and determination methods of trigonelline in various plants, and put forward the development direction of extraction and determination methods of trigonelline in order to provide reference for the research and utilization of trigonelline.

**Keywords:** trigonelline; extraction; determination