

长白山区野生金灯藤种子及种皮中 总黄酮的含量测定^①

胡彦武^② 关颖丽 谢庆往

(通化师范学院制药与食品科学系 吉林省通化市育才路 950 号 134002)

摘 要 以芦丁为对照品,采用分光光度法测定了长白山区野生金灯藤成熟种子及种皮中总黄酮含量。芦丁在 8.16—48.96 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内呈良好线性关系,测得种子及种皮中总黄酮含量分别为 2.71%、0.91%,平均加标回收率为 99.32%。该方法简单可行,灵敏度高,测定结果可靠,可用于测定金灯藤种子及种皮中总黄酮含量。

关键词 金灯藤种子及种皮;总黄酮;分光光度法

中图分类号:O657.32

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2011)06-3052-03

1 引言

金灯藤(*Cuscuta japonica* Choisy),又名日本菟丝子,为旋花科菟丝子属植物,其种子可作为大粒菟丝子药材入药,或作为小粒菟丝子的代用品。具有补肾益精、养肝明目、安胎等功效,是常用的补肾壮阳药^[1]。黄酮类成分是中药菟丝子主要药效成分之一,目前对其成熟种子及种皮总黄酮含量的测定及比较尚未见报道。由于目前关于分光光度法测定总黄酮含量的研究报道很多,且多数以芦丁为对照品、 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 为显色剂。为此,本文首次以芦丁为对照品,采用分光光度法测定了长白山区野生金灯藤成熟种子及种皮中总黄酮含量,以期为合理开发利用长白山区野生植物金灯藤药用价值提供参考性依据。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

长白山区野生金灯藤种子及种皮,采自通化师范学院后山,经通化师范学院制药与食品科学系于俊林教授鉴定为旋花科菟丝子属植物金灯藤的干燥成熟种子及种皮;芦丁对照品(中国药品生物制品检定所;批号 1097-060918); NaNO_2 、 NaOH 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、甲醇等试剂均为分析纯。实验用水为双蒸水。

Sartorius-CP225D 电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司);TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);KQ-200KDB 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

① 通化师范学院自然科学基金项目(201043)

② 联系人,电话:(0435) 3209377;手机:(0) 13844545298;E-mail:hywcz@163.com

作者简介:胡彦武(1980—),男,吉林省四平市人,讲师,硕士,主要从事生药有效成分的分离鉴定及生物活性研究工作。

收稿日期:2011-03-19;接受日期:2011-04-12

2.2 实验方法

2.2.1 对照品溶液的制备

称取 105℃干燥至恒重的芦丁对照品约 10.0mg 置小烧杯中,加适量甲醇溶解,转移至 50mL 容量瓶中,再用少量甲醇洗涤烧杯 2 次后转移至容量瓶中,再加甲醇至刻度,摇匀,得浓度为 204 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.2.2 样品溶液的制备

准确称取金灯藤种子和种皮粉末各约 1.0g,分别置于 150mL 具塞锥形瓶中,准确加入甲醇 20.0mL,超声提取 30min 后,过滤于 25mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,弃初滤液,得续滤液为样品溶液。

2.2.3 测定波长的选择^[2,3]

准确量取芦丁对照品溶液 4.0mL,置 25mL 容量瓶中,加 5% NaNO_2 溶液 1.0mL,摇匀,放置 6min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1.0mL,摇匀,再放置 6min,加入 4% NaOH 溶液 10.0mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15min,以相应试剂为空白,在 400—600nm 波长范围内扫描,发现芦丁对照品在 510nm 处有最大吸收。将选择 510nm 作为测定波长。

2.2.4 校准曲线的绘制

准确量取上述芦丁对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0mL 置于 25mL 容量瓶中,各加水至 6.0mL,加 5% NaNO_2 溶液 1.0mL,摇匀,放置 6min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1.0mL,摇匀,再放置 6min,加入 4% NaOH 溶液 10.0mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15min,以相应试剂为空白,在 510nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制校准曲线,所得回归方程为 $y = 0.0201x - 0.0184$, $r = 0.9998$,表明样品浓度在 8.16—48.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

3 结果与讨论

3.1 样品中总黄酮含量测定结果

分别准确称取金灯藤种子、种皮各约 1.0g,同一样品平行操作 3 份,按照“2.2.2”项下操作方法制备样品溶液,准确量取 4.0mL 于 25mL 容量瓶中,按照“2.2.4”项下方法依法显色、测定吸光度,计算总黄酮含量。结果表明,金灯藤种子、种皮中均含有黄酮类成分,但种皮中含量较低。其中,种子中总黄酮含量为 2.71%,种皮中总黄酮含量为 0.91%,结果提示:如以总黄酮为质量评价依据,长白山区野生金灯藤应以种子入药,种皮药用价值不大。

3.2 精密度实验

准确吸取芦丁对照品溶液 4.0mL,置于 25mL 容量瓶中,共 6 份,按照“2.2.4”项下方法操作,分别测定吸光度,结果 $\text{RSD} = 1.01\%$,表明本法精密度良好。

3.3 稳定性实验

准确称取金灯藤种子粉末 1.0g,1 份,按照“2.2.2”项下操作方法制备样品溶液,准确量取 4.0mL 于 25mL 容量瓶中,按照“2.2.4”项下方法操作,每隔 30min 测定 1 次,连续 6 次。结果 $\text{RSD} = 1.20\%$,表明样品溶液在 3h 内基本稳定。

3.4 重现性实验

准确称取金灯藤种子粉末 1.0g,6 份,按照“2.2.2”项下操作方法制备样品溶液,准确量取 4.0mL 于 25mL 容量瓶中,按照“2.2.4”项下方法操作,测定吸光度,结果 $\text{RSD} = 1.43\%$,表明本方

法重现性良好。

3.5 加标回收率实验

称取已知含量的金灯藤种子粉末约 0.5g, 6 份, 分别加入一定量的芦丁对照品, 按 2.2.2”项下操作方法制备样品溶液, 测定吸光度, 计算回收率, 结果表明本实验加标回收率较好, 说明该方法可用于金灯藤种子及种皮中总黄酮的检测, 见表 1。

表 1 加标回收率实验结果

样品称样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5006	13.57	13.01	26.48	99.23	99.32	0.91
0.5007	13.57	13.04	26.40	98.39		
0.5004	13.56	13.00	26.49	99.46		
0.5003	13.56	12.98	26.38	98.77		
0.5008	13.57	13.06	26.51	99.08		
0.5011	13.58	12.96	26.67	101.00		

4 结论

本文采用超声提取法首次对长白山区野生植物金灯藤种子、种皮中总黄酮进行提取, 并参照《中国药典》2010 版中总黄酮的定量检测方法, 采用分光光度法测定其含量, 该方法简单、易于操作、技术成熟、实验结果可靠。

参考文献

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993. 2006.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010. 333.
[3] 赵超, 陈华国, 靳风云等. 槐枝中总黄酮的含量测定[J]. 光谱实验室, 2010, 21(1): 188—191.

Determination of Total Flavonoids in Seed and Pericarp of Wild
Cuscuta japonica Choisy from Changbai Mountain Region

HU Yan-Wu GUAN Ying-Li XIE Qing-Wang

(Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Normal University, Tonghua, Jilin 134002, P. R. China)

Abstract With rutin as the standard substance, the content of total flavonoids in seed and pericarp of wild *Cuscuta japonica* Choisy from Changbai mountain region was determined by spectrophotometry. There was a good linear relationship for concentration of rutin in the range of 8.16—48.96μg/mL. The contents of total flavonoids in seed and pericarp were 2.71%, 0.91%, respectively. The average recovery was 99.32%. The method is simple, and has high sensitivity and reliable determination result, it can be used to determine the total flavonoids in seed and pericarp of *Cuscuta japonica* Choisy.

Key words Seed and Pericarp of *Cuscuta japonica* Choisy; Total Flavonoids; Spectrophotometry