

# 地稔总黄酮含量的测定

杨菁, 朱丹, 杜雨涵, 陈华巧, 于妮 (贵阳中医学院, 贵州贵阳 550031)

**摘要** [目的] 建立地稔中总黄酮含量的测定方法。[方法] 采用紫外-可见分光光度法, 以芦丁为对照, 以  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  为显色剂, 检测波长为 500 nm, 测定地稔中总黄酮含量。[结果] 芦丁浓度在 0.01 ~ 0.07 mg/mL 时与吸光度呈良好的线性关系 ( $R^2 = 0.9998$ ); 平均加样回收率为 99.34%, 相对标准偏差为 0.56%。[结论] 该方法简单可靠、精密度高、重现性好, 为地稔的进一步开发利用提供了理论依据。

**关键词** 地稔; 总黄酮; 紫外-可见分光光度法

中图分类号 R284 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)16-0009-02

## Determination of Total Flavonoids from *Melastoma dodecandrum* Lour.

YANG Jing, ZHU Dan, DU Yu-han et al (Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550031)

**Abstract** [Objective] To establish a method for the total flavonoids content determination from *Melastoma dodecandrum* Lour. [Method] The content of total flavonoids from *Melastoma dodecandrum* Lour. was determined by UV-visible spectrophotometry with rutin as reference substance, sodium nitrite-aluminum nitrate and sodium hydroxide as chromogenic agent at the detection wavelength of 500 nm. [Result] The rutin showed a good linear relationship at the range of 0.01 ~ 0.07 mg/mL ( $R^2 = 0.9998$ ). The average recovery rate was 99.34%, and the relative standard deviation was 0.56%. [Conclusion] The method is simple and reliable, reasonable, specific, reproducible and provides experiment basis for the development of *Melastoma dodecandrum* Lour.

**Key words** *Melastoma dodecandrum* Lour.; Total flavonoids; UV-visible spectrophotometry

地稔为野牡丹科植物地稔 (*Melastoma dodecandrum* Lour.) 的干燥全草, 主要分布于长江以南的广西、福建、贵州、云南等地<sup>[1]</sup>。地稔具有活血止血、清热解毒、化湿等功效, 临床上主要用于治疗高热、咽喉肿痛、赤白血痢疾、黄疸、水肿痛经、崩漏等<sup>[2-3]</sup>。研究表明, 地稔主要含黄酮类<sup>[4]</sup>、多糖类、氨基酸<sup>[5]</sup>等化学成分<sup>[6-7]</sup>, 其中黄酮类化合物为主要有效成分之一, 以芦丁、槲皮素、山奈酚为主<sup>[8-9]</sup>。目前, 人们对地稔的研究主要集中在化学成分、药理作用、营养保健<sup>[10-11]</sup>等方面, 鲜见对地稔总黄酮进行含量测定、提取工艺的研究报道。鉴于此, 笔者对地稔中总黄酮含量进行了测定, 以期地为地稔药材的进一步开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 仪器。**UV-5900 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)、J223BC 型万分之一分析天平(江苏常州市双杰测试仪器厂)、SYG-2 型数显恒温水浴锅(江苏常州朗越仪器制造有限公司)、101-1AB 电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)、WM 数控超声波控制仪(贵州味美食品工业有限公司)。

**1.1.2 试剂。**地稔药材采自贵州省龙里县羊场镇羊场中学附近山头; 芦丁对照品(贵州迪大生物科技有限责任公司, 批号: GZDD-0001, >98%); 亚硝酸钠、氢氧化钠、硝酸铝(天津市恒兴化学试剂制造有限公司), 试剂均为分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 对照品溶液的制备。**称取 105 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 12.50 mg, 置于 25 mL 容量瓶中, 加 60% 乙醇溶解, 定

容, 即得 0.500 0 mg/mL 对照品溶液。

**1.2.2 供试品溶液的制备。**称定地稔药材粉末 0.5 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 50 mL 60% 乙醇溶液, 称重, 在 90 °C 下回流提取 1 h, 放冷至室温, 用 60% 乙醇补足减失的质量, 过滤, 即得供试品溶液。

**1.2.3 标准曲线的绘制。**移取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 对照品溶液于 25 mL 容量瓶中, 依次加入 6%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.6 mL、8%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 1.0 mL 和 2%  $\text{NaOH}$  溶液 4.0 mL, 用水定容, 显色 15 min, 于 500 nm 波长处测定吸光度, 以浓度(C)为横坐标、吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线。

**1.2.4 测定波长的选择。**量取对照品溶液 3 mL 及供试品溶液 4 mL, 按照“1.2.3”方法显色, 以相应试剂为空白, 在 200 ~ 700 nm 波长处进行扫描。

**1.2.5 精密度的试验。**移取 4.0 mL 芦丁对照品溶液于 25 mL 容量瓶中, 按照“1.2.3”方法显色, 在 500 nm 波长处测定吸光度, 反复测试 6 次, 计算吸光度和相对标准偏差。

**1.2.6 稳定性试验。**称取地稔粉末 0.5 g, 置于圆底烧瓶中, 按照“1.2.2”方法操作, 移取 4 mL 供试品溶液于 25 mL 容量瓶中, 按照“1.2.3”方法显色, 分别在 0、2、4、6、8、24 h 测定吸光度, 考察其稳定性。

**1.2.7 重复性试验。**称取同一批地稔粉末 0.5 g 于圆底烧瓶中, 共 6 份。按照“1.2.2”方法操作, 移取供试品溶液 4 mL 于 25 mL 容量瓶中, 按照“1.2.3”方法显色, 测定吸光度, 计算总黄酮含量和相对标准偏差。

**1.2.8 加样回收试验。**称取同一批地稔粉末 6 份, 各 0.2 g, 于圆底烧瓶中, 分别加入适量芦丁对照品, 按照“1.2.2”方法操作, 移取 4 mL 滤液于 25 mL 容量瓶中, 按照“1.2.3”方法显色, 测定吸光度, 计算回收率和相对标准偏差。

## 2 结果与分析

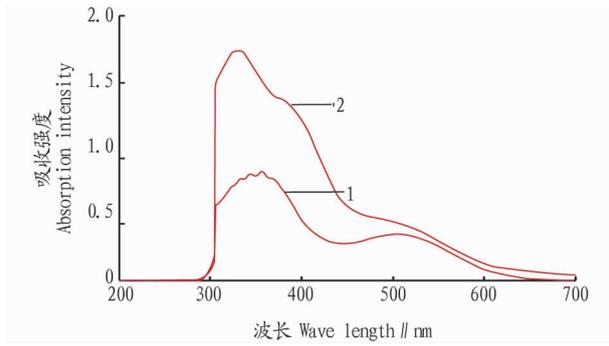
**2.1 测定波长的选择** 由图 1 可知, 芦丁对照品溶液与供

**基金项目** 国家级大学生创新创业训练计划项目(贵中医大创合字[2015]12号)。

**作者简介** 杨菁(1988—), 女, 贵州黔东南人, 助理实验师, 硕士, 从事中药药效物质基础及质量标准研究。

**收稿日期** 2017-05-12

试品溶液均在 500 nm 波长处有最大吸收,且干扰较小,故确定 500 nm 为测定波长。



注:1. 对照品溶液;2. 供试品溶液

Note:1. Reference substance solution; 2. Test solution

图1 芦丁对照品溶液与供试品溶液吸收曲线

Fig.1 The absorption curve of reference substance solution and test solution of rutin

**2.2 标准曲线绘制** 由图2可知,线性回归方程为  $y = 11.614x + 0.0266$  ( $R^2 = 0.9998$ ),表明芦丁对照品浓度在 0.01 ~ 0.07 mg/mL 时与吸光度呈良好的线性关系。

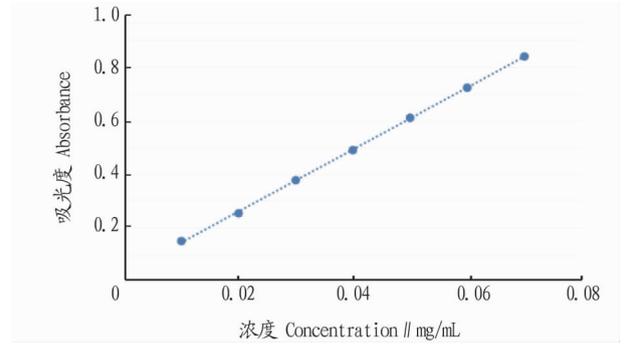


图2 芦丁对照品溶液标准曲线

Fig.2 The standard curve of reference substance solution of rutin

**2.3 精密度** 精密度的相对标准偏差为 0.29%,表明仪器精密度良好。

**2.4 稳定性** 吸光度的相对标准偏差为 0.66%,表明该方法在 24 h 内稳定性良好。

**2.5 重复性** 计算得总黄酮的平均含量为 3.82%,相对标准偏差为 0.91%,表明该方法重复性良好。

**2.6 加样回收率** 由表1可知,芦丁的平均加样回收率为 99.34%,相对标准偏差为 0.56%,表明该方法准确度较高。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Table 1 The results of the sample recovery test ( $n=6$ )

称样量 The sample quantity // g	原含量 The original content // mg	对照品加入量 The added amount of reference substance // mg	测得量 The determined amount mg	回收率 Recovery %	平均回收率 Average recovery %	相对标准 偏差 RSD %
0.226 6	8.656	9.55	18.15	99.41	99.34	0.56
0.230 7	8.811	9.55	18.23	98.63		
0.216 6	8.274	9.55	17.82	99.96		
0.217 4	8.305	9.55	17.85	99.94		
0.216 2	8.260	9.55	17.74	99.27		
0.225 3	8.605	9.55	18.04	98.80		

### 3 结论

总黄酮的显色方法主要有硝酸铝显色法和三氯化铝显色法,该研究对这 2 种显色方法分别进行了考察,通过比较对照品溶液和供试品溶液的吸收曲线,发现采用硝酸铝显色法显色后,所得吸收曲线有明显的吸收峰,所以选择硝酸铝显色法。

地稔中主要黄酮化合物为槲皮素和芦丁,通过硝酸铝显色方法显色后比较吸收曲线,结果表明以芦丁为对照,所得吸收曲线与供试品溶液相似,所以选择芦丁作为对照品。

试验以 60% 乙醇为提取溶剂,  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  为显色剂,采用紫外-可见分光光度法测定地稔中总黄酮含量为 3.82%,且精密度、重复性、稳定性、加样回收率试验结果表明,该测定方法操作简单,结果稳定、可靠。

### 参考文献

[1] 唐新霖,唐建平. 地稔栽培技术及开发前景[J]. 特种经济动植物,2007,

- 10(6):27.  
 [2] 国家中医药管理局编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:628.  
 [3] 田庚元,冯宇澄,林颖. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志,1995,20(7):441-444.  
 [4] 张超,陈志成,姚惠珍,等. 地苿水溶性多糖 MD<sub>1</sub> 的分离纯化及组成分析[J]. 广州医学院学报,2002,30(2):20-23.  
 [5] 石冬梅,刘剑秋,陈炳华. 地苿果实营养成分研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版),2000,16(3):69-71.  
 [6] 许晓春,林朝朋,钟瑞敏,等. 应用大孔吸附树脂吸附分离岗稔总黄酮[J]. 现代食品科技,2008,24(12):1271-1273.  
 [7] 张超,方岩雄. 中药地苿黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 中国药杂志,2003,38(4):256-258.  
 [8] 李光喜,宋粉云,毋福海,等. HPLC 测定地苿中的槲皮素[J]. 华西药理学杂志,2007,22(4):455-456.  
 [9] 林媛,李援朝,郭玉瑜,等. 地稔的化学成分研究(II)[J]. 中草药,2009,40(8):1192-1195.  
 [10] 余智城,林秀香,苏金强,等. 地苿的研究进展[J]. 安徽农业科学,2011,39(27):16557-16559.  
 [11] 陈丽珍. 山稔子的有效成分及其药食应用研究进展[J]. 亚太传统医药,2012,8(6):212-213.