

# 贵州产油麻血藤总黄酮含量测定 方法的建立与研究

杨从武<sup>1</sup> 罗九凤<sup>21</sup>

(1 黔东南苗族侗族自治州食品药品检验检测中心, 贵州 凯里 556011;

2 贵州医科大学第二附属医院(原 418 医院), 贵州 凯里 556000)

**【摘要】:**目的:建立贵州产油麻血藤总黄酮含量的方法,为其质量评价提供参考。方法:将芦丁作为标准物质,NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH 为显色剂,样品用 85%甲醇 100mL 超声 30min 提取,在 510nm 波长处对吸光度进行测定。结果:芦丁在 8.686~52.114 μg/mL 区间内线性关系较为显著,回归方程为  $Y=0.01379X-0.01920$ ,  $r=0.99966$ ,回收率、重复性、稳定性、精密度 RSD 均小于 2.0%。结论:本方法可行性强,所得结果具有较高的准确度和精密度,重现性十分理想,可用于贵州油麻血藤中总黄酮含量测定。

**【关键词】:**紫外分光光度法 油麻血藤 总黄酮 含量测定 芦丁

**【中图分类号】:**R284.1 **【文献标识码】:**A **【文章编号】:**1003-6563(2022)04-0011-04

油麻血藤是我省少数民族药材,为豆科植物常春油麻藤 *Mucuna sempervirens* Hemsl. 的干燥藤茎,全年均可采收,除去枝叶切段或片,晒干。常春油麻藤也被命名为棉麻藤、牛马藤、常绿油麻藤<sup>[1]</sup>。该药材绝大部分生长于我国 34.5° N 以南,并且在海拔 300~3000m 地区分布较为广泛,重点涵盖了贵州、甘肃等地区<sup>[2]</sup>,在贵州重点分布于黔东南州、黔西南州和黔南州等地。油麻血藤从客观的角度而言可划分为鸡血藤,能够发挥补血的效果,有效促进血液循环,对多种病症都具有适用性,其中比较主要的包括风湿疼痛、血虚等,然而和鸡血藤进行对比,油麻血藤更加偏向于滋补强壮,而且具有更为理想的口感<sup>[3]</sup>。成分指标为:脂肪酸占 1%~10%<sup>[4]</sup>、总黄酮类占 12.43%<sup>[5]</sup>、酚类、蛋白质<sup>[6]</sup>、七个成分一致的挥发油(比较主要的包括 3-辛醇、β-紫罗兰酮等)<sup>[7]</sup>。目前载于《贵州省中药材质量标准》2003 版中<sup>[8]</sup>,其只有性状鉴定内容,不能更好地控制其质量,因此,还有待于提高和完善。

## 1 材料与仪器

### 1.1 药材

三批样品分别采自贵州凯里、兴义、荔波。经鉴定为豆科植物常春油麻藤 *Mucuna sempervirens* Hemsl. 的干燥藤茎,相关的凭证标本储存在贵州中医药大学的生药实验室。

**作者简介:**杨从武(1988-),男,贵州锦屏人,主管药师,就职于黔东南州食品药品检验检测中心,从事中药质量标准、化学药检测技术研究。

## 1.2 仪器

紫外光度计 UV-2600、UV-2700;超声波清洗器(219J0340, 500W, 53kHz);电热恒温水浴锅单列六 5L(DK-98-II A 型);500 克摇摆式高速中药粉碎机;XPE205 型电子天平;鼓风干燥箱。

## 1.3 试剂

芦丁标准物质(中检院, 92.4%(UV);10080-201811);甲醇(川东化工试剂公司, AR);95%乙醇(西陇科学公司, AR);乙酸乙酯(川东化工试剂公司, AR);氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝等购自国药集团化学试剂公司, 均为 AR。

# 2 方法与分析

## 2.1 干燥油麻血藤样品的制备

取凯里、兴义、荔波产油麻血藤试样 1000g, 切厚片, 于干燥箱 50℃下烘干, 放冷至室温, 打粉过四号筛, 密封存储于广口瓶中, 备用。

## 2.2 标准溶液的制备

称取标准物质 0.01175g(芦丁), 用 85%甲醇适量, 超声充分溶解为 0.21714mg/mL 标准溶液。

## 2.3 测定波长的确定

取 2.2 项下溶液 3.00mL, 将其置于 25mL 量瓶中, 照 2.4 项下方法, 从“加水至 6mL”起依法操作, 照中国药典 2015 年版四部 0401<sup>[1]</sup>, 在 760~200nm 区间, 记录图谱, 确定最大吸收波长为 510nm, 结果见图 1。

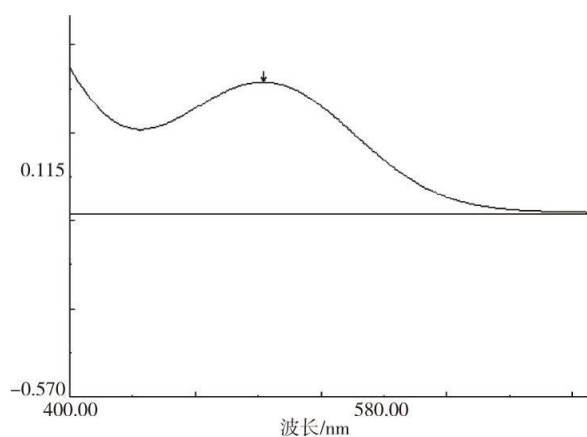


图 1 对照品溶液光谱图

## 2.4 标准曲线的制备

量取 2.2 项下溶液 1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL、5.00mL、6.00mL, 各置 25mL 量瓶中, 各加水至 6mL, 加 5%亚硝酸钠溶

液 1mL, 摇匀, 放置 6min<sup>[9]</sup>, 加 10%硝酸铝溶液 1mL, 摇匀, 放置 6min<sup>[9]</sup>, 加氢氧化钠试液 10mL, 再加水至刻度, 摇匀, 放置 15min<sup>[9]</sup>, 即得。立即在 510nm 处测定各个溶液的吸光度, 其吸光度分别为: 0.106, 0.219, 0.334, 0.458, 0.580, 0.703, 以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线<sup>[10]</sup>。其回归方程为  $Y=0.01379X-0.01920$ ,  $r=0.99966$ , 在测定浓度为 8.686~52.114  $\mu\text{g/mL}$  范围内线性关系良好, 可以进行定量分析, 结果见图 2。

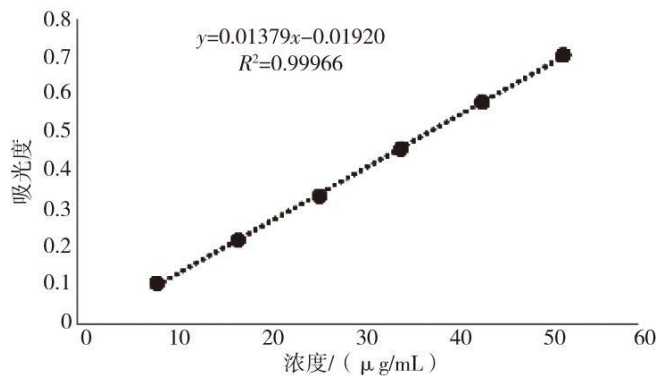


图 2 芦丁标准物质溶液标准曲线

## 2.5 样品溶液的配制

精密称取荔波产油麻血藤粉末约 0.25g, 将其置具塞锥形瓶中, 精密加入 85%甲醇 100mL, 称重, 超声 30min, 冷却再称重, 用 85%甲醇进行补重, 摇匀滤过, 量取续滤液 5.00mL 置 25mL 量瓶中, 照 2.4 项下方法, 自“加水至 6mL”起依法操作, 并测定吸光度, 从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的重量。

## 2.6 方法学验证

### 2.6.1 重复性试验

精密称取荔波产油麻血藤各约 0.25g, 共 6 份, 照 2.5 项下依法操作, 计算总黄酮量, 重复性试验结果见表 1,  $RSD=0.96\%$  ( $n=6$ ) $<1.5\%$ , 该方法的重复性良好。

表 1 重复性试验结果

No	称量/g	测得量/%	Avg/%	RSD/%
1	0.2515	7.670	7.560	0.959
2	0.2502	7.620		
3	0.2498	7.550		
4	0.2501	7.570		
5	0.2502	7.510		
6	0.2501	7.470		

### 2.6.2 中间精密度试验

在与重复性不同的实验时间(不是同一天),精密称取荔波产油麻血藤 3 份,各约 0.25g,照 2.5 项下方法操作,计算总黄酮量,结果见表 2, RSD=0.53%<3.0%, 该方法的精密度良好。

表 2 中间精密度试验结果

No	样品/g	测得量/%	Avg/%	RSD/%
	0.2509	7.620	7.582	0.528
第 1 天	0.2504	7.510		
	0.2505	7.601		
	0.2515	7.600		
第 2 天	0.2502	7.562		
	0.2515	7.600		

### 2.6.3 加样回收率试验

精密称取与重复性同一批荔波产油麻血藤约 0.15g,6 份,添加与芦丁本底含量相当的对照品,照 2.5 项下方法操作,计算总黄酮量,结果见表 3,平均回收率达到 99.97%, RSD<3%,符合检测要求。

$$\text{回收率}\% = (C-A) / B \times 100\%$$

式中, A 指代的是本底含量; B 指代的是加入对照品量; C 指代的是实测值。

表 3 加样回收率试验结果

NO.	样品/g	本底量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	Avg/%	RSD/%
1	0.1501	10.7802	11.4576	22.490	102.20	99.97	1.15
2	0.1500	10.7730	11.4576	22.236	100.04		
3	0.1502	10.7874	11.4576	22.200	99.60		
4	0.1499	10.7658	11.4576	22.092	98.85		
5	0.1501	10.7852	11.4576	22.200	99.62		
6	0.1503	10.7945	11.4576	22.200	99.54		

#### 2.6.4 供试品溶液稳定性试验

精密称取荔波产油麻血藤约 0.25g, 照 2.5 项下方法操作, 先后在 0min、15min、30min 时测定。得到的数据见表 4, RSD<3%, 这说明该溶液在半小时内稳定性十分理想。

表 4 稳定性试验结果

时间/min	吸光度	平均吸光度	RSD/%
0	0.478	0.477	1.03
15	0.479		
30	0.47		

#### 2.6.5 不同型号仪器试验

精密称取荔波产油麻血藤 3 份, 各约 0.25g, 照 2.5 项下方法操作, 选取 2 个紫外分光光度计, 其型号必须有所区别, 此后进行测定操作, 得到的结果见表 5, RSD<3%, 表明不同的紫外分光光度计检测分析对总黄酮的测定无影响。

表 5 不同仪器测定结果

仪器厂家和型号	测得量/%	Avg/%	RSD/%	总 RSD/%
	7.670			1.66
岛津 UV-2600	7.620	7.623	0.591	
	7.580			
	7.480			
岛津 UV-2700	7.450	7.446	0.471	
	7.410			

### 3 不同产地油麻血藤中总黄酮含量比较

精密称取凯里、兴义、荔波产油麻血藤各 2 份, 各约 0.25g, 照 2.5 项下方法操作, 计算总黄酮量, 并对得到的数据进行分析, 结果见表 6。由表 6 可知, 贵州凯里油麻血藤中总黄酮含量为 8.736%, 贵州荔波油麻血藤中总黄酮含量为 7.881%, 贵州兴义油麻血藤中总黄酮含量为 8.915%。

表 6 含量测定结果

---

产地	含量 1/%	含量 2/%	Avg/%
贵州凯里	8.752	8.721	8.736
贵州荔波	7.910	7.853	7.881
贵州兴义	8.893	8.938	8.915

## 4 结果

油麻血藤总黄酮以芦丁标准物质计,通过亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色,使黄酮紫外吸收红移,在 510nm 波长进行测定。这种方法可行性高,精确度非常理想,稳定性良好,满足样品加标回收试验,通过此方法能很好地测得不同产地的油麻血藤中总黄酮的含量,其中贵州兴义的油麻血藤总黄酮含量最高,为 8.915%,贵州荔波的油麻血藤总黄酮含量最低,为 7.881%。该方法可以用于贵州产油麻血藤质量控制和评价。

### 参考文献:

- [1] 云南省药物研究所. 云南天然药物图鉴: 第 2 卷[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2007:402.
- [2] 董运常. 常春油麻藤地理分布分析和应用研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(5):2633-2635.
- [3] 卫爱黎. 常春油麻藤的显微观察及成分初探[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 41:351-353.
- [4] 芦夕芹, 彭志金. 常春油麻藤的开发利用[J]. 中国林副特产, 2007(2):85-86.
- [5] 张凌, 刘亚丽, 饶志军, 等. 正交实验优选常春油麻藤总黄酮提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4):796-798.
- [6] 卫爱黎. 常春油麻藤的显微观察及成分初探[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4):796-798.
- [7] 倪士峰. 药用植物挥发物指纹图谱研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [8] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003:259.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:32.
- [10] 王晚翠, 马倩, 暨迪军, 等. 高原毛茛总黄酮含量测定及提取工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(15):120-122.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:38.