

文章编号:1671-6833(2010)04-0113-03

## 三氯化铝比色法测定中草药雀儿舌头中总黄酮研究

龙 跃, 寇 娟, 程素霞, 王武鹏, 王 超, 潘浩顺

(郑州大学 化学系, 河南 郑州 450001)

**摘 要:**三氯化铝比色法的基本原理是利用芦丁与  $\text{AlCl}_3$  发生显色反应, 生成黄色络合物, 在 421 nm 左右有较强吸收能力。而大多数黄酮类中药材多含有黄酮苷, 常见的黄酮苷在 421 nm 波长处有较强吸收, 而非黄酮类物质在此处无吸收。该方法实验条件容易控制, 操作简单, 平均回收率为 102.52%, 表明回收率的重现性好; 而其相对标准偏差  $RSD$  为 2.04%, 表明方法的精密度高。因此以芦丁作为对照, 可作为测定黄酮类化合物的常用方法。

**关键词:**总黄酮; 三氯化铝比色法; 芦丁

**中图分类号:** O637.32 **文献标识码:** A

### 0 引言

中药材中总黄酮的含量测定成为近年来研究黄酮化合物的焦点<sup>[1]</sup>。雀儿舌头中黄酮类化合物含量的分析鲜见报道。目前, 文献报道的有关测定中草药中总黄酮含量的主要方法有  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  体系分光光度法, 高效液相色谱法, 反向色谱法和三氯化铝比色法<sup>[2-4]</sup>等几种方法, 其中又以三氯化铝比色法较常用。该方法利用芦丁与  $\text{AlCl}_3$  发生显色反应, 在 421 nm 左右有较强吸收; 许多中药材中都含有黄酮苷, 黄酮苷在 421 nm 波长处也有较强吸收。因此以芦丁作为对照,  $\text{AlCl}_3$  比色法可以成为测定中药总黄酮含量的理想方法。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂

美国 Perkin Elmer 紫外分光光度计(型号: lambda 35); PHS-3C 精密 pH 计(上海雷磁仪器厂); Rc-52-99 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 索氏提取器; Sartorius BS210S 电子天平(北京塞多利斯天平有限公司)。

芦丁, 三氯化铝, 醋酸钠, 冰醋酸, 甲醇, 亚硝酸钠, 氢氧化钠, 硝酸铝, 乙醇, 石油醚等均为分析纯, 水为蒸馏水。

#### 1.2 雀儿舌头中总黄酮的测定

##### 1.2.1 标准品溶液配制:

精密称取芦丁标准品(120℃烘干至恒重) 10.0 mg, 用甲醇定容至 50 mL, 配成  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的芦丁标准溶液。

##### 1.2.2 待测样品溶液制备

将粉碎后的雀儿舌头粗粉在鼓风干燥箱中于 60℃ 下干燥 24 h, 精密称取 10 g 置于索式提取器中, 加 90 mL 无水乙醇回流提取至无色, 提取液浓缩回收乙醇后, 转移至 50 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容。

##### 1.2.3 显色条件的优化选择

通过对三氯化铝比色法的显色条件进行了优化试验, 试验结果表明采用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{AlCl}_3$  溶液, pH 值为 5.2 的  $\text{NaAc} - \text{HAc}$  缓冲溶液, 40℃ 水浴显色 10 min, 是  $\text{AlCl}_3$  比色法测定中草药中总黄酮含量的最优条件。

##### 1.2.4 显色试剂的配置

精密称取三氯化铝 1.34 g, 用甲醇定容至 100 mL, 配成  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液。精密称取无水醋酸钠 1.76 g, 用蒸馏水溶解至 100 mL, 配成  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液。精密量取 1.15 mL 冰醋酸, 用蒸馏水稀释至 100 mL, 配成  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的醋酸溶液。将醋酸钠溶液和冰醋酸溶液配成 pH 值为 5.2 的缓冲溶液。

收稿日期: 2009-08-03; 修订日期: 2010-01-16

基金项目: 河南省科技厅攻关基金资助项目(0624420031)

作者简介: 龙跃(1960-), 男, 郑州大学教授, 硕士, 主要从事有机合成和天然产物化学研究。E-mail: longyue@zzu.edu.cn.com.

1.2.5 波长选择

精密量取 1 mL 芦丁标准溶液,置于 10 mL 容量瓶中,加入 2 mL 0.1 mol · L<sup>-1</sup>的 AlCl<sub>3</sub> 溶液,再加入 1 mL pH 值为 5.2 的 NaAc - HAc 缓冲溶液,用甲醇定容,40 ℃ 水浴显色 10 min,在 200 ~ 600 nm 范围扫描,芦丁在 421 nm 处有最大吸收,空白无干扰。

精密量取 1 mL 待测的雀儿舌头溶液,置于 10 mL 容量瓶,加入 2 mL 0.1 mol · L<sup>-1</sup>的 AlCl<sub>3</sub> 溶液,再加入 1 mL pH 值为 5.2 的 NaAc - HAc 缓冲溶液,用甲醇定容,40 ℃ 水浴显色 10 min,在 200 ~ 600 nm 范围扫描,待测溶液在 421 nm 附近也有最大吸收,因此,选择 421 nm 作为测定波长。

1.2.6 标准曲线的绘制

精密吸取芦丁标准品溶液(0.2 mg/mL)0.0, 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL,置于 10 mL 容量瓶,加入 2 mL 0.1 mol · L<sup>-1</sup>的 AlCl<sub>3</sub> 溶液,pH 值为 5.2 的 NaAc - HAc 缓冲溶液 1 mL,用甲醇定容,40 ℃ 水浴显色 10 min,在 421 nm 处测定吸光度值。

以芦丁的浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,作图得到标准曲线(见图 1),其回归方程为: $y = 0.4633x + 0.0131$  相关系数  $R^2 = 0.9986$ ,表明芦丁在 40 ~ 240 μg 范围内,体积(浓度)与吸光度呈良好线性关系。

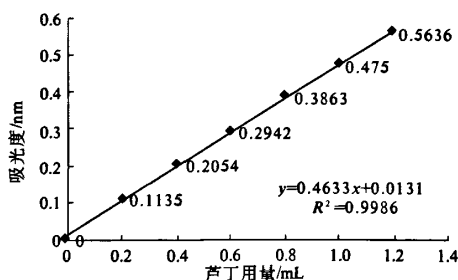


图 1 标准曲线的绘制

Fig.1 Drawing of standard curve

1.2.7 样品含量测定

精密吸取雀儿舌头待测溶液 6 份,每份 1 mL,置于 10 mL 容量瓶,在 421 nm 处测定吸光度值,结果见表 1。

表 1 平行待测溶液的吸光度测定结果

Tab.1 Results of absorbance

编号	1	2	3	4	5	6
吸光度	0.399	0.412	0.410	0.398	0.390	0.391

由试验所得平均吸光度值为 0.400,吸光度的 RSD 为 2.32 %,将所得值代入回归方程可计算出雀儿舌头中的总黄酮的平均含量为 0.84 %。

1.2.8 稳定性试验

精密吸取雀儿舌头待测溶液 1.0 mL,置于 10 mL 容量瓶,在 421 nm 处每隔十分钟测定一次吸光度值.结果见表 2。

表 2 稳定性实验结果

Tab.2 Results of stability

测定时间/min	吸光度/A
0	0.401
10	0.400
20	0.399
30	0.399
40	0.398
50	0.397
60	0.395

实验所得 RSD 为 1.21 %。试验结果表明:在室温的环境中,显色时间在 10 ~ 60 min 范围内,吸光度稳定,基本没有变化。

1.2.9 精密度试验

精密吸取雀儿舌头待测样品溶液 6 份,每份 1 mL,置于 10 mL 容量瓶,在 421 nm 处测定吸光度值.结果见表 3。

表 3 精密度实验结果

Tab.3 Result of precision

测定次数	吸光度(A)
1	0.399
2	0.412
3	0.410
4	0.398
5	0.390
6	0.391

试验结果表明,采用本法测定雀儿舌头中总黄酮含量,精密度良好,其相对标准偏差 RSD 为 2.04 %。

1.2.10 方法回收率

精确吸取雀儿舌头待测样品溶液 6 份,每份 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,依次分别加入精密吸取的芦丁对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL,再各依次加入 0.1 mol/L 的 AlCl<sub>3</sub> 溶液 2 mL,pH 值为 5.2 的 NaAc - HAc 缓冲溶液 1 mL,摇匀,用甲醇定容,40 ℃ 水浴显色 10 min,在 421

nm 处测定吸光度值. 结果见表 4.

表 4 回收率实验结果  
Tab. 4 Result of recovery rate

序号	含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	1.72	0.1	1.875	103.2
2	1.72	0.2	1.983	103.7
3	1.72	0.3	2.044	101.4
4	1.72	0.4	2.193	104.2
5	1.72	0.5	2.253	101.9
6	1.72	0.6	2.332	100.7
平均回收率				102.52

2 结论

实验结果表明:雀儿舌头中的总黄酮的平均含量为 0.84 %,利用三氯化铝比色法对雀儿舌头

中总黄酮含量进行测定,实验条件容易控制,操作简单,重现性好,可作为测定黄酮类化合物的常用方法. 因此以芦丁作为对照,AlCl<sub>3</sub> 比色法可以成为测定中草药雀儿舌头中总黄酮含量的理想方法.

参考文献:

[1] 马陶陶,张群林,李俊,等. 三氯化铝比色法测定中药总黄酮方法的探讨[J]. 时珍国医国药,2008,19(1):54-56.

[2] 丁明玉,赵纪萍. 贯叶金丝桃提取物中总黄酮的测定方法[J]. 分析试验室,2001,20(6):45-47.

[3] 周兰香,黄阿根. 分光光度与 HPLC 法测定荷叶总黄酮的研究[J]. 中草药,2002,33(1):35-37.

[4] 刘利娥,李红萍,吴予明,等. 反相高效液相色谱法测定青莢叶中表儿茶素含量[J]. 郑州大学学报:医学版,2010,45(01):132-134.

AlCl<sub>3</sub> Colorimetry for Determination of Total Flavonoids Leptopus  
Chinensis Chinese Herbal Medicine

LONG Yue, KOU Xian, CHENG Su-xia, WANG Wu-peng, WANG Chao PAN Hao-shun

(Department of Chemistry, Zhengzhou University Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The basic principles of aluminum chloride colorimetric method is the use of rutin and AlCl<sub>3</sub> color reaction occurs to produce a yellow complex, which has strong absorption around 421 nm. Most of Chinese herbal medicines contain flavonoids glycosides and common flavonoid glycosides in the 421 nm wavelength has strong absorption, rather than the flavonoids here without absorption. This method is easy to control experimental conditions, simple operation, the average recovery was 102.52%, indicating good reproducibility and recovery rates; while the relative standard deviation RSD = 2.04%, indicating good precision approach. Therefore rutin can be a reference and used as a common measurement method of flavonoids.

**Key words:** AlCl<sub>3</sub> colorimetry; totalfl avonoids; rutin