

紫肉甘薯药材的质量标准研究

王路平^{1*}, 王文成², 田 荣³, 姜启晓², 王春波², 隋忠国^{1#}(1.青岛大学附属医院药学部, 山东 青岛 266003; 2.青岛大学医学部, 山东 青岛 266071; 3.复旦大学药学院, 上海 200433)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4288-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.36

摘要 目的:建立紫肉甘薯的质量标准。方法:检测药材的显微特征;采用薄层色谱法(TLC)对药材进行定性鉴别;测定药材水分、灰分、重金属和浸出物量;采用高效液相色谱法测定药材中氧化矢车菊素的含量;色谱柱为 Alltima C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%三氟乙酸溶液(80:20, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 538 nm, 柱温为 30 ℃。结果:药材粉末显微鉴别图谱清晰。紫肉甘薯的 TLC 图斑点清晰, 分离良好。药材水分为 8.5%~11.0%, 总灰分为 2.0%~2.9%, 铅含量 < 5 ppm, 浸出物为 15.6%~22.3%。氧化矢车菊素检测进样量线性范围为 0.043~0.215 μg ($r=0.999\ 8$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 2.0%; 加样回收率为 95.50%~99.65% (RSD=1.35%, $n=9$)。结论:该研究所建标准可用于紫肉甘薯的质量控制。

关键词 紫肉甘薯; 氧化矢车菊素; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

Study on the Quality Standard of *Solanum tuberosum*

WANG Luping¹, WANG Wencheng², TIAN Rong³, JIANG Qixiao², WANG Chunbo², SUI Zhongguo¹ (1. Dept. of Pharmacy, Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266003, China; 2. Medical College of Qingdao University, Shandong Qingdao 266071, China; 3. School of pharmacy, Fudan University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Solanum tuberosum*. METHODS: The microscopic characteristics were detected; TLC was used for qualitative identification; moisture, ash, heavy metals and the amount of extract were determined; HPLC was conducted for content determination of oxidized cyanidin: the column was Alltima C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid (80:20, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 538 nm, column temperature was 30 ℃. RESULTS: It showed clear microscopic identification map. *S. tuberosum* TLC had clear spots and well separated. The water content was 8.5%-11.0%; total ash was 2.0%-2.9%; Pb was lower than 5 ppm and alcohol-soluble extracts was 15.6%-22.3%. The linear range of oxidized cyanidin was 0.043-0.215 μg ($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recovery was 95.50%-99.65% (RSD=1.35%, $n=9$). CONCLUSIONS: The established method can be used for the quality control of *S. tuberosum*.

KEYWORDS *Solanum tuberosum*; Oxidized cyaniding; TLC; HPLC; Quality standard

紫肉甘薯 *Solanum tuberosum* 为栽培甘薯中一个特殊的品种类型, 其块根中富含具有显著生理活性的花青素, 因而呈现深紫色^[1], 又名紫甘薯、紫心甘薯。甘薯 *Ipomoea batatas* (L.) Lam 为旋花科甘薯属蔓生性草本植物, 性甘、平, 无毒; 归脾、肾经; 能补中和血、益气生津。由于近年来对紫肉甘薯的药用价值不断深入研究, 其在临床应用和中药研发领域获得了广阔的发展空间。为了保证药材和制剂的质量稳定和安全有效, 笔者首次根据 2015 年版《中国药典》(四部) 对紫肉甘薯药材进行了质量标准的研究。

1 材料

1.1 仪器

2695 型高效液相色谱(HPLC)仪, 包括 2487 紫外检测器、717 自动进样器(美国 Waters 公司); 色谱工作站(美国 Allchrom 公司); AE240 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); SB3200 型超声波清洗器(上海必能信超声有限公司, 功率: 250 W, 频率: 40 kHz); YOKO-ZS 型薄层数码相机(武汉药科新技术开发有限公司)。

* 主管药师, 硕士研究生。研究方向: 制药工程。E-mail: 2585323086@qq.com

通信作者: 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 临床药学、药事管理。电话: 0532-82911277。E-mail: sz_guo@tom.com

1.2 试剂

氧化矢车菊素对照品(北京谱析科技有限公司, 批号: SS0610, 纯度 ≥ 98%); 紫肉甘薯对照药材(青岛农业技术推广站); 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂); 乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

1.3 药材

笔者收集青岛各种植基地的紫肉甘薯药材样品共 10 批(见表 1), 经山东省医学科学院中药研究室孙敬勇研究员鉴定为真品。

表 1 紫肉甘薯药材来源

Tab 1 Origin of *S. tuberosum*

样品编号	产地	供样单位
1	山东	青岛市即墨市农科所
2	山东	青岛市即墨色素科技有限公司
3	山东	青岛市即墨王村农业科研基地
4	山东	青岛市甘薯专业合作社 1
5	山东	青岛市即墨鳌山绿色农业基地
6	山东	青岛市农技站
7	山东	青岛市平度农技站
8	山东	青岛市甘薯专业合作社 2
9	山东	青岛市甘薯专业合作社 3
10	山东	青岛市甘薯专业合作社 4

2 方法与结果

2.1 显微特征鉴别

取样品适量,将其粉碎后过40目筛,得紫褐色粉末,再以水合氯醛制成粉末显微片在100倍光学显微镜下进行观察。结果可见,网纹导管呈粉红色,直径可达30 μm;草酸钙簇晶呈粉红色,直径为5~10 μm;淀粉粒呈透明状,单粒呈圆形、盔帽形或类三角形,直径为2~12 μm,脐点呈点状、人字状、短缝状及星状,而大粒可见层纹;淀粉粒复粒由2~3分粒组成,详见图1。

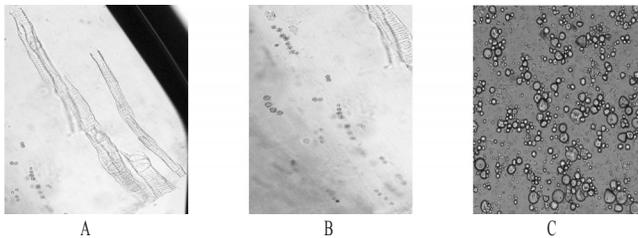


图1 显微特征鉴别结果

A.导管;B.簇晶;C.淀粉粒

Fig 1 Identification results of microscopic characteristics

A.catheter;B.crystal clusters;C.starch grains

2.2 薄层色谱(TLC)鉴别

取样品粉末1 g,加甲醇10 ml,超声处理20 min,滤过,滤液浓缩蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取紫肉甘薯对照药材1 g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,吸取上述2种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-冰乙酸-水(4:1:1, V/V/V)为展开剂,在温度为25 ℃、相对湿度为70%的条件下展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,加热到100 ℃后,斑点清晰显色,分别置于日光和紫外光灯(365 nm)下检视^[3]。结果,供试品色谱中,在与对照药材相应位置上显相同颜色的斑点,详见图2。

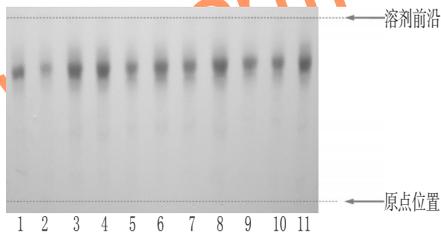


图2 薄层色谱图

1~5、7~11.供试品;6.对照药材

Fig 2 TLC chromatograms

1-5, 7-11.test samples;6.control medicinal herb

2.3 水分和总灰分检测^[4]

参照2015年版《中国药典》(四部)水分测定法第一法烘干法和灰分测定法测定样品的水分和总灰分。根据测定结果,拟定紫肉甘薯药材中水分不得过15.0%,总灰分不得过4.0%,详见表2。

2.4 重金属检测^[5]

参照2015年版《中国药典》(四部)重金属检查法第二法检查样品中重金属。根据检测结果,拟定紫肉甘薯药材中铅的含量应低于5 ppm,详见表2。

2.5 浸出物检测^[6]

参照2015年版《中国药典》(四部)浸出物测定法热浸法进行检测。根据检测结果,拟定紫肉甘薯药材中浸出物的含量

不得少于11.0%,详见表2。

表2 样品中水分、总灰分、铅和浸出物检测结果

Tab 2 Determination results of moisture, total ash, Pb and extract

样品编号	水分,%	总灰分,%	铅,ppm	浸出物,%
1	8.9	2.4	<5	15.6
2	10.1	2.2	<5	20.8
3	10.5	2.3	<5	21.3
4	9.9	2.5	<5	20.9
5	9.6	2.3	<5	18.9
6	9.6	2.6	<5	21.3
7	9.1	2.3	<5	16.5
8	10.3	2.9	<5	17.3
9	11.0	2.4	<5	17.5
10	8.5	2.0	<5	22.3

2.6 氯化矢车菊素含量测定^[4]

2.6.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Alltima C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%三氟乙酸溶液(80:20, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:538 nm;柱温:30 ℃。在上述色谱条件下,理论板数以氯化矢车菊素峰计≥5 000^[5-7];各成分基线分离良好,分离度>1.5,详见图3。

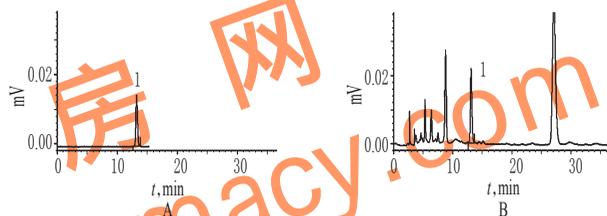


图3 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;1.氯化矢车菊素

Fig 3 HPLC chromatograms

A.reference substance;B.test sample;1.oxidized cyanidin

2.6.2 对照品溶液的制备 精密称取氯化矢车菊素对照品1.72 mg,置于10 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,作为对照品贮备液(质量浓度为0.172 mg/ml)。精密量取上述对照品贮备液5 ml,置于100 ml量瓶中,加盐酸甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为0.008 6 mg/ml的对照品溶液。

2.6.3 供试品溶液的制备 取样品粉末约1 g,精密称定,置于烧瓶中,精密加入盐酸甲醇20 ml,精确称量后90 ℃下水浴加热水解1 h,取出,冷却后再次精密称量,用盐酸甲醇补足减失的质量,摇匀后滤过,取续滤液,即得。

2.6.4 线性关系考察^[8-11] 分别精密量取“2.6.2”项下对照品溶液5、10、15、20、25 μl,按“2.6.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以氯化矢车菊素进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得氯化矢车菊素回归方程为 $y=2\ 879\ 486x+3\ 733$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,氯化矢车菊素检测进样量线性范围为0.043~0.215 μg。

2.6.5 精密度试验 取“2.6.2”项下对照品溶液适量,按“2.6.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,氯化矢车菊素峰面积的RSD=0.77%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.6.6 稳定性试验 取“2.6.3”项下供试品溶液(编号:7)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.6.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,氯化矢车菊素峰面积的RSD=0.81%(n=5),表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.6.7 重复性试验 精密称取同一批样品(编号:7)适量,按

“2.6.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.6.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算平均含量。结果,氯化矢车菊素的含量平均值为0.208 mg/g, RSD=1.15% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.6.8 加样回收率试验 取已知含量样品(编号:7)适量,共9份,分别加入一定质量的氯化矢车菊素对照品,按“2.6.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.6.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 3 Results of recovery tests(n=9)

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.504 2	0.104 9	0.086 0	0.187 6	96.19		
0.510 8	0.106 2	0.086 0	0.189 1	96.34		
0.510 6	0.105 3	0.086 0	0.189 9	98.24		
0.501 1	0.104 2	0.107 5	0.208 9	97.37		
0.503 8	0.105 2	0.107 5	0.207 9	95.50	97.25	1.35
0.508 7	0.105 8	0.107 5	0.209 4	96.36		
0.499 8	0.104 0	0.129 0	0.229 8	97.55		
0.507 2	0.105 8	0.129 0	0.232 2	98.01		
0.513 2	0.106 7	0.129 0	0.235 3	99.65		

2.6.9 样品含量测定 取10个编号的样品各适量,分别按“2.6.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.6.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=2, mg/g)

Tab 4 Results of contents determination of samples(n=2, mg/g)

样品编号	含量		平均含量
	1	2	
1	0.192	0.195	0.194
2	0.183	0.187	0.185
3	0.286	0.294	0.290
4	0.130	0.134	0.132
5	0.145	0.148	0.147
6	0.266	0.273	0.269
7	0.205	0.212	0.208
8	0.217	0.220	0.219
9	0.265	0.262	0.263
10	0.222	0.219	0.221

3 讨论

紫肉甘薯自20世纪90年代经日本引入我国后,在山东全省都有广泛种植,本试验中的紫肉甘薯药材均来自于山东青岛的各种植基地。

进行粉末显微鉴定时笔者发现草酸钙簇晶和网纹导管均呈粉红色,这是由于紫肉甘薯中富含花青素的原因,而淀粉粒为透明状则是因为经过稀释后制备,因此不显色。为了判断紫肉甘薯药材的真伪,笔者又通过TLC法对其进行了定性鉴别。结果发现,样品1~5、7~11的显色位置与对照药材6的显色位置有相同颜色的斑点,进一步证明了供试品的真实性。

紫肉甘薯中含有大量的花青素类物质,其主要成分为矢车菊素和芍药素及极少量的天竺葵色素,以糖苷化后的酰基化衍生物形式存在,而经过酸水解后会生成花青素苷元的盐酸盐。花青素类化合物既为有效成分,又为指标成分。因此,氯化矢车菊素含量的高低就成为衡量紫肉甘薯质量的一个非

常重要的指标^[12-16]。测定氯化矢车菊素含量时,在供试品溶液的制备中,对提取的酸浓度:(1→10)、(2→10)、(3→10)、(4→10)盐酸甲醇;提取时间:0.5、1、2 h;提取温度:70、80、90、100 ℃进行了考察,确定最终的供试品制备方法为取1 g紫肉甘薯药材粉末,加入20 ml盐酸甲醇(3→10),在90 ℃的水浴中加热1 h。为了验证此质量标准的科学性和可行性,笔者又进行了方法学的考察,证明此方法操作方便、专属性强、稳定性好、重复性佳、结果准确。本研究首次制定了紫肉甘薯的质量标准,可为其质量控制的更深入研究提供参考。

参考文献

- [1] Kinno S, Norihiko T, Norio S. Chemical structure of two anthocyanin from purple sweet potato [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(6): 2127.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57.
- [3] 马成, 热娜·卡斯木, 徐熠. 维药索索葡萄中齐墩果酸薄层鉴别方法研究[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(5): 1778.
- [4] 田荣, 隋忠国, 曹玉. 等. 牛蒡根药材的质量标准研究[J]. *中国药房*, 2014, 25(31): 2934.
- [5] 黄敏. 茶碱缓释片有关物质检查系统适用性探讨[J]. *医药导报*, 2014, 33(4): 511.
- [6] 柯雪红. 高效液相色谱法测定舒舒克喘胶囊中和厚朴酚与厚朴酚的含量[J]. *时珍国医国药*, 2005, 16(8): 732.
- [7] 宣超, 汤峰. 高效液相色谱法测定竹叶提取物中木犀草素的含量[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(26): 15846.
- [8] 杜洪志, 骆莉莉, 农亨. 等. 复方远枣宁神薄膜包衣片中有有效成分丹皮酚含量测定的方法学研究[J]. *贵阳中医学院学报*, 2014, 36(4): 37.
- [9] 孙丹丹, 闫雪生, 李岩. 菊葛天麻颗粒质量标准研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(8): 86.
- [10] 谢宁, 王玉平, 王枫. 等. HPLC法测定决明消障丸中丹皮酚含量[J]. *中国疗养医学*, 2013, 22(6): 540.
- [11] 孙林霞, 阮英恒, 高昭. 等. 阳春砂种子质量标准的研究[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(21): 83.
- [12] 李志民, 夏亚君, 何厚洪. 反相高效液相色谱法测定双氯酚酸钾片的含量及有关物质[J]. *中国新药与临床杂志*, 2002, 21(9): 529.
- [13] 方婧, 付梅红, 杨洪军. 等. 微波协助提取在中药材含量测定中的应用(2): 微波法与药典法测定白芷中欧前胡素含量比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(20): 89.
- [14] 周宗元, 王建, 陆小华. 2010版《中国药典》中药材含量测定成分与其功效的相关性分析[J]. *中药与临床*, 2014, 5(5): 5.
- [15] 周娟, 王颖, 伍丕娥. 等. 血府逐瘀软胶囊中药材的鉴别及芍药苷的含量测定[J]. *华西药学杂志*, 2006, 21(5): 475.
- [16] 英锡相, 袁昌鲁, 曲贤广. 等. 11种中药材及3种中成药马兜铃酸的含量测定[J]. *辽宁中医杂志*, 2003, 30(5): 404.

(收稿日期: 2016-01-17 修回日期: 2016-02-15)

(编辑: 张 静)