

紫外分光光度法测定蜂胶胶囊中总黄酮的含量

万军 兰雁 周霞

(成都中医药大学科技中试中心 成都 610072)

摘 要: 本文研究了紫外分光光度法测定蜂胶胶囊中总黄酮的含量。当芦丁浓度在 0.00816~0.04896mg/mL 范围内, 与吸收度呈良好线性关系, $r=0.9999$; 平均回收率为 99.0%。本文方法简单、快速、结果准确。

关键词: 蜂胶胶囊 总黄酮 紫外分光光度法

1 实验部分

1.1 仪器与试药

TU-1901 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); sartorius BP2111D 电子天平; 水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司); autoscience AS5150A 超声波清洗器。

芦丁对照品 (0080-9705): 中国药品生物制品检定所。其余试剂均为分析纯。

1.2 溶液的制备

1.2.1 对照品溶液的制备

取经 120℃干燥至恒重的芦丁对照品适量, 精密称定, 加乙醇制成 0.2mg/mL 的溶液。

1.2.2 供试品溶液得制备

取本品 0.35g 精密称定, 置 50.0mL 容量瓶中, 加乙醇适量, 超声处理 (150W, 50Hz) 45min, 取出, 放冷, 加乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择

据药典及文献报道, 蜂胶中主要含黄酮类成分, 可溶于甲醇、乙醇、醋酸乙酯, 故采用甲醇、乙醇、醋酸乙酯、75%乙醇、75%甲醇、60%乙醇作为提取溶剂进行考察。据药典介绍, 芦丁最大吸收波长在 500nm 左右, 故取各个样品溶液与芦丁对照品乙醇溶液, 以不加样品 (但需要加显色剂及 NaOH 试液) 的乙醇溶液为空白, 分别于 300~600nm 波长范围内进行扫描。结果见表 1。

表 1 不同提取溶剂的提取结果

提取溶剂	甲醇	乙醇	醋酸乙酯	75%乙醇	75%甲醇	60%乙醇
样品吸收波长 (nm)	378	402	398	501	378	493
芦丁吸收波长 (nm)	503					

由表 1 可见, 芦丁对照品在 503nm 波长处有最大吸收, 样品 (75%乙醇处理) 在 501nm 波长处有最大吸收, 考虑到操作误差及仪器因素, 故选择 75%乙醇作为样品提取溶剂, 501nm 作为测定波长。

2.2 标准曲线的制备

精密量取对照品溶液 (浓度 0.204mg/mL) 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0mL, 置 25.0mL 容量瓶重, 各加甲醇至 6mL, 加 5%亚硝酸钠溶液 1mL, 摇匀, 放置 6min, 加 10%硝酸铝溶液 1mL, 摇匀放置 6min, 加氢氧化钠试液 10mL, 摇匀, 加乙醇至刻度, 摇匀, 放置 15min, 按紫外分光光度法 (《中国药典》2000 年版一部附录 VA), 在波长 501nm 处测定吸收度, 以吸收度与其对应的浓度计算回归方程。回归方程 $C=2.4445 \times 10^{-4}+8.495 \times 10^{-2}A$; $r=0.9999$, 浓度在 0.00816~0.04896mg/mL 范围内, 与吸收度呈良好线性关系。

2.3 加样回收率试验

精密称取已知含量的供试品 (含量 5.74%), 精密加入对照品适量 (三种不同水平, 各两份), 按正文总黄酮含量测定方法进行含量测定, 计算回收率, 其中吸收度已扣除样品空白吸收, 结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

NO.	吸收度	样品取样 量 (g)	样品中总黄酮 含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	实测总黄酮含 量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.033	0.0204	1.170	0.816	1.952	95.8	99.0	2.28
2	0.033	0.0202	1.158	0.816	1.952	97.3		
3	0.034	0.0171	0.984	1.020	2.005	100.1		
4	0.035	0.0178	1.019	1.020	2.059	102.0		
5	0.034	0.0139	0.799	1.224	2.005	98.5		
6	0.034	0.0135	0.776	1.224	2.005	100.4		

2.4 精密度试验

取同一批蜂胶胶囊样品, 按供试品溶液的制备与测定法制备供试品溶液, 重复进样测定 5 次, 吸收度 (A) 的相对标准偏差 RSD 为 1.40%。

2.5 稳定性试验

供试品溶液于制样后不同时间进样测定, 结果见表 3。实验所得 RSD 为 1.62%, 说明供试品溶液在制样后 30min 内测定稳定。

表 3 供试品溶液的稳定性考察

测定时间 (min)	15	20	25	30	RSD (%)
------------	----	----	----	----	---------

吸收度 (A)	0.521	0.517	0.506	0.504	1.62
---------	-------	-------	-------	-------	------

2.6 样品测定

取蜂胶胶囊样品 6 批, 按供试品溶液制备, 精密量取续虑液 5mL 至 25.0mL 的量瓶中, 加 75%乙醇至 10mL, 照标准曲线制备项下的方法, 自“加 5%亚硝酸钠溶液 1mL”起, 依法操作, 另量取乙醇 10mL 至 25.0mL 的容量瓶中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“加 5%亚硝酸钠溶液 1mL”起, 依法操作; 另精密量取供试品续虑液 5mL 至 25.0mL 容量瓶中, 加氢氧化钠试液 10mL, 摇匀, 加乙醇至刻度, 摇匀, 放置 15min, 作为样品空白, 在波长 501nm 处, 以试剂空白液校正基线, 测定供试品液与样品空白液吸收度, 用供试品液吸收度减去样品空白液吸收度的值代入回归方程计算供试品溶液中总黄酮的量。结果见表 4。

表 4 蜂胶胶囊含量测定结果

样品编号	测定结果 (mg/粒)		平均
	1	2	
01	24.9	22.0	23.5
02	23.4	21.2	22.3
03	20.6	22.1	21.4
04	20.2	20.1	20.2
05	21.2	21.4	21.3
06	19.9	20.0	20.0

3 讨论

3.1 提取方法的考察

取样品 5 份, 按不同方法进行处理, 结果见表 5。

表 5 不同提取方法的提取结果

提取方法	吸光度 (A)	总黄酮含量 (%)
超声 30min	0.343	5.34
超声 45 min	0.372	5.76
超声 60 min	0.370	5.73
冷浸 60 min	0.300	4.66
回流 45 min	0.354	5.54

由表 5 可见, 超声 45 min, 所得的总黄酮含量较其它方法高, 故选用超声 45 min 作为提取方法。

3.2 稳定性考察

稳定性试验中，每隔 5 min 测定了样品的吸收度，结果 35min 时其吸收度降为 0.483，RSD 为 2.93%，且溶液颜色已开始变浅，考虑到对测定结果准确性的影响，故应在显色后 30min 内测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》2000 年版一部.化学工业出版社.
- [2] 谢秀琼等.中药新制剂开发与应用（第二版）.人民卫生出版社.2000，9.
- [3] 郑虎占等.中药现代研究与应用（第一卷）.学院出版社.1997，10.
- [4] 范碧亭等.中药药剂学（第三版）.上海科学技术出版社.2000，2.
- [5] 王爱平、贾存英.蜂胶的药用价值[J].时珍国医国药.1998，9（5）：464
- [6] 郭伽、周立东.蜂胶的化学成分研究进展（综述）[J].中国养蜂.2001，51（2）：17~18