

# 紫外分光光度法测定双山颗粒中总黄酮的含量\*

## Determination of the Total Flavones in Shuangshan Granules

陈勇, 韦韬, 魏后超, 卢森华, 曾海生, 巫繁菁, 韦玉燕

CHEN Yong, WEI Tao, WEI Hou-chao, LU Sen-hua, ZENG Hai-sheng, WU Fan-jing, WEI Yu-yan

(广西中医学院, 广西南宁 530001)

(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi, 530001, China)

**摘要:**采用紫外分光光度法,以芦丁为对照品,对其进行络合显色,在500nm波长处测定吸光度,测定双山颗粒剂中总黄酮的含量。结果显示,芦丁对照品的线性范围为8.04~48.24 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ( $r=0.9996$ ),总黄酮的平均回收率为98.30%( $RSD=18.6\%$ ,  $n=6$ )。紫外分光光度法简便、准确,可以作为双山颗粒剂的质量控制方法。

**关键词:**分光光度法 总黄酮 含量 双山颗粒

**中图分类号:**R284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-7378(2010)03-0277-03

**Abstract:** The method for determination of the total flavones in Shuangshan granules was established. Rutin was selected as reference material, and the samples were determined at the wavelength of 500nm. Rutin showed a good linear relationship with absorbance when its concentration was in the range of 8.04~48.24 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ( $r=0.9996$ ). The average recovery of rutin was 98.30%( $RSD=18.6\%$ ,  $n=6$ ). This method is simple, accurate, which can be used for quality control of Shuangshan Granules.

**Key words:** spectrophotometry, total flavones, content, shuangshan granules

黄酮类化合物广泛分布于植物药中,有降低血压,增加冠脉流量、降低血脂、耐缺氧等作用。双山颗粒剂由山绿茶和山楂两种中药配伍而成,具有清热降火之功效,主要用于治疗风热感冒、肺热咳嗽、喉头肿痛、扁桃体炎等疾病。同时对高血压、高血脂、高胆固醇、冠心病、脑血管意外所致的偏瘫等症均有一定的疗效。为了能够更好的控制双山颗粒剂的质量,本文采用紫外分光光度法对该制剂中总黄酮的含量进行测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

8453 紫外-可见分光光度计(美国安捷伦科技有限公司生产);B35005-MT 超声清洗仪(上海必能信公司生产);BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯公司生产);芦丁对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 0080-9705,供含量测定用);双山颗粒(广西金秀圣堂药业有限责任公司提供);亚硝酸钠、氢氧化钠、硝酸铝均为分析纯。

### 1.2 对照品溶液的制备

取干燥至恒重的芦丁对照品约 40 mg,精密称定重量为 40.0200mg,置 100ml 量瓶中,加适量 50%乙醇超声使溶解,放冷,加 50%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得(每 ml 含无水芦丁 0.4020mg)。

### 1.3 供试品溶液的制备

精密称取双山颗粒约 1g,加 50%的乙醇 25ml,

收稿日期:2010-06-20

作者简介:陈勇(1961-),男,教授,硕士研究生导师,主要从事中药及其制剂质量分析与科研工作。

\* 广西科技厅科技项目(合同号:桂科产 0815010-7G)资助。

超声 30min, 滤过, 精密量取滤液 2ml 置 50ml 容量瓶, 加 50% 乙醇适量。加 5% 的亚硝酸钠溶液 1ml, 摇匀, 放置 6min, 然后加入 10% 的硝酸铅溶液 1ml, 摇匀, 放置 6min, 然后加入 1mol/L 的氢氧化钠溶液 5ml, 加 50% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15min, 即得。

#### 1.4 检测波长的选择

以芦丁为对照品测定双山颗粒剂中总黄酮的含量。精密取对照品溶液、供试品溶液各适量, 分别加入到 25ml 量瓶中。使用紫外-可见分光光度计在 200~800nm 范围内扫描, 结果均在 500nm 处有最大吸收波长, 其他成分对测定无干扰, 故选择 500nm 为测定波长。

#### 1.5 标准曲线的制备<sup>[1~3]</sup>

精密量取上述对照品溶液 0ml、1ml、2ml、3ml、4ml、5ml、6ml 分别置 50ml 量瓶中, 精密加入 5% 亚硝酸钠溶液 1ml, 摇匀, 放置 6min; 再加入 10% 硝酸铅溶液 1ml, 放置 6min; 再加入 1mol/L 的氢氧化钠溶液 5ml, 然后分别用 50% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15min, 在 500 nm 处测定吸光度, 以第一号为空白, 记录各吸光度(见表 1)并绘制标准曲线(图 1), 芦丁对照品浓度在 8.04~48.24 $\mu\text{g/ml}$  间呈线性关系。计算回归方程为  $y = 0.0105x + 0.0204$ ,  $r = 0.9996$ 。

表 1 标准曲线测定结果

对照品浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	吸光度	对照品浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	吸光度
8.04	0.1018	32.16	0.3608
16.08	0.1886	40.20	0.4475
24.12	0.2748	48.24	0.5196

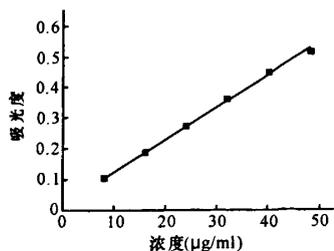


图 1 标准曲线

#### 1.6 稳定性试验

取供试品溶液 1 份每隔 10min 测定 1 次吸光度, 结果见表 2。实验表明在 60min 内稳定,  $RSD$  为 1.29%。

表 2 稳定性试验结果

时间(min)	吸光度	时间(min)	吸光度
0	0.3066	40	0.2971
10	0.2988	50	0.2961
20	0.2983	60	0.2951
30	0.2981		

#### 1.7 精密度试验

分别精密吸取同一供试品溶液, 测定吸光度, 结果见表 3。6 组供试品溶液的吸光度的平均值为 0.3048,  $RSD$  为 0.86%, 表明仪器精密度良好。

表 3 精密度试验结果

编号	吸光度	编号	吸光度
1	0.3085	4	0.3026
2	0.3066	5	0.3031
3	0.3030	6	0.3088

#### 1.8 重复性试验

取同一批号样品 5 份, 按 1.3 项平行制备供试品溶液, 测定吸光度, 结果见表 4。5 份样品吸光度平均值为 0.309, 吸光度的  $RSD$  为 2.63%, 结果表明本方法重复性好。

表 4 重复性试验结果

编号	吸光度	编号	吸光度
1	0.3116	4	0.3176
2	0.2993	5	0.3149
3	0.3015		

#### 1.9 加样回收试验

取已测知含量的双山颗粒适量(批号 20081202), 精密加入芦丁对照品溶液 1ml, 按 1.3 项下供试品溶液制备方法制备, 测定吸光度, 平行测定 6 份样品, 计算回收率, 平均回收率为 98.30% (表 5)。

表 5 加样回收率测定结果

编号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	$RSD$ (%)
1	0.526	0.483	1.007	97.59	98.30	1.86
2	0.541	0.483	1.018	98.55		
3	0.522	0.483	1.013	101.62		
4	0.525	0.483	0.996	97.52		
5	0.548	0.483	1.024	98.34		
6	0.556	0.483	1.021	96.19		

## 2 样品测定

取不同批号样品, 按上述方法制备供试品溶液, 测定吸光度, 总黄酮的含量(以芦丁计)测定结果见表 6。

表6 样品含量测定结果

批号	平均含量 (mg/g)	批号	平均含量 (mg/g)
20080401	16.70	20090404	16.93
20081201	15.94	20090801	18.66
20081202	16.25	20091201	14.84

### 3 结束语

通过对双山颗粒剂的提取溶剂、提取方法和提取时间等因素进行考察,确定最佳的提取条件为50%乙醇超声30min。根据含量较多的3,5位羟基黄酮类化合物可与硝酸铝试液显色后在一定波长下有最大吸收峰的特点,在供试品溶液中加入硝酸铝,又加入亚硝酸钠和氢氧化钠,使其在碱性溶液中呈红色,显色反应在60min内稳定。实验考察了亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色系统中,不同加入量与不同放置时间对实验结果的影响,最终确定加入5%

亚硝酸钠溶液1ml,摇匀,放置6min,再加入10%硝酸铝溶液1ml,放置6min,再加入1mol/L的氢氧化钠溶液5ml,放置15min后测量。所得结果最佳。

本文实验表明,使用分光光度法测定双山颗粒中总黄酮的含量,该方法简便、快速、准确,可以作为双山颗粒剂的质量控制方法。

#### 参考文献:

- [1] 郭亚健,范莉,王晓强,等.关于 $\text{NaNO}_2$ - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - $\text{NaOH}$ 比色法测定总黄酮方法的探讨[J].药物分析杂志,2002,22(2):97-98.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2005年版:一部[M].北京:化学工业出版社,2005:576.
- [3] 罗兰,郭丽冰,曾常青.大山楂丸总黄酮的含量测定[J].时珍国医国药,2007,18(9):2207-2208.

(责任编辑:韦廷宗)

(上接第276页)

测,结果令人满意。由于滤膜法采样本身的不稳定性,它不像碱液吸收法的空白值那么稳定。而空白值的不稳定会直接影响测定结果的准确性,为了降低空白值对分析结果的影响,必须在每次分析中,将每批经磷酸氢二钾浸渍过的空白滤膜随机抽取5张左右,按样品测定方法测定其氟含量,取平均值为该批滤膜的空白值。

#### 参考文献:

- [1] 傅若农,牟世芬.离子色谱方法及应用[M].北京:化学工业出版社,2000.
- [2] 吴伟杰.氟离子检测方法的改进及离子色谱法的应用

[J].广东化工,2005(8):69.

- [3] 邹汉法,张玉奎,卢佩章.高效液相色谱法[M].北京:科学出版社,1998.
- [4] 陈小丽,沈珑珑,朱建晖.离子色谱法测定牙膏中的氟化物[J].中国卫生检验杂志,2001,11(1):56.
- [5] GB/T 15434-1995,环境空气氟化物质量浓度的测定—滤膜·氟离子选择电极法[S].
- [6] 陈宁,于彦彬,刘嵘.离子色谱法测定氟化物的干扰及其消除[J].理化检验2化学分册,2000,36(2):70.

(责任编辑:韦廷宗)