蜂膠奶粉中類黃酮物質之分析

高明義、吳芳禎

E-mail: 9318411@mail.dyu.edu.tw

摘要

蜂膠奶粉近來在市場廣為盛行。但由於蜂膠會因來源產地、季節及萃取方法等眾多因素的影響,使其所含之類黃酮等具生 物活性成分亦隨之改變。本研究選擇5件蜂膠原料粉末、十件市售蜂膠奶粉及一件無添加蜂膠奶粉,利用HPLC及分光光度 計進行蜂膠奶粉中類黃酮物質的分析測定。研究結果顯示,5件市售蜂膠原料粉末的層析圖譜有很大的差異性。另外在分 光光度計以AICI3法所測得類黃酮含量分別為0.48±0.05%,3.12±0.16%,0.67±0.04%,0.29±0.02%及0.32±0.04%。 以2,4-dinitrophenylhydrazine(2,4-DPN)法所測得類黃酮含量分別為0.95±0.17%,0.19±0.02%,0.26±0.00%,0.24±0.01% 及0.30±0.02%。總類黃酮含量為AICI3法及2,4-DPN法檢測值相加,分別為1.43±0.18 %,3.31±0.16 %,0.93±0.04 %,0.53 ±0.02 %及0.62±0.04 %,顯然亦有很大的不同。以石油醚、正己烷及乙醚測試去除蜂膠奶粉中之脂肪時,對類黃酮分析之 影響。以石油醚作為蜂膠奶粉前處理之溶劑,不會影響到測試結果。 由上述測試結果,以滯留時間約38分鐘之波峰設定為 指標波峰,用七種類黃酮標準品作比對,鑑別出該指標波峰為金黃素(chrysin)。以HPLC進行蜂膠奶粉中類黃酮物質之分析 ,尋得最佳測定條件為: RP-C18之層析管柱,移動相為甲醇:水:冰醋酸(56:41:3),流速為1.0 ml/min,偵測器UV ,設定波長275 nm。以此條件在蜂膠原料粉末及蜂膠奶粉類黃酮物質的分析中,兩者之線性關係(R2)值均達0.99以上。 設定六個濃度之精密度蜂膠原料粉末在2.2±2.0 %、蜂膠奶粉在0.6±0.2 % , 回收率在78.0±1.8 %。 另將蜂膠原料粉末及 蜂膠奶粉五個濃度的檢品分別用AICI3法在分光光度計中進行測試。結果顯示蜂膠奶粉類黃酮測得濃度高出以HPLC所測得 結果之500?680 %。顯然蜂膠奶粉中許多成分會干擾類黃酮含量之分析,因此欲直接使用分光光度計來檢測蜂膠奶粉中之 類黃酮含量是不可行的。將HPLC方法應用在市售蜂膠奶粉類黃酮物質之檢測上,結果顯示並非每個樣品均在滯留時間 約38分鐘有指標波峰呈現。即使是標示相同蜂膠含量之奶粉樣品,所呈現之層析圖譜亦不盡相同;但相似之層析圖譜有可 能為同來源供應商之蜂膠原料粉末。因此本研究建議先以分光光度計測定蜂膠原料粉末之總類黃酮含量,再尋求指標波峰 之確立並以類黃酮標準品鑑定之。分別以蜂膠原料粉末於分光光度計測得結果及蜂膠奶粉樣品於HPLC所測結果,比較兩 者之線性關係,或許可以找出相關函數來推估蜂膠奶粉中類黃酮之含量。

關鍵詞:蜂膠;類黃酮;高效率液相層析儀;奶粉

目錄

封面內頁 簽名頁 授權書 jii 中文摘要 v 英文摘要 vii 誌謝 jx 目錄 x 圖目錄 xii 表目錄 xiii 第一章 前言 1 第二章 文獻回顧 3 第 一節 蜂膠之簡介 3 一、蜂膠的物理性質 3 二、蜂膠之成份 4 三、蜂膠類黃酮藥理活性簡介 7 第二節 類黃酮之分析方法 9 一、分光光度計法 9 二、高效率液相層析儀 12 三、薄層層析法 14 四、毛細管電泳法 15 五、質譜儀 15 第三節 蜂膠的商業 應用 16 第三章 材料及方法 32 第一節 材料、藥品與儀器 32 一、材料 32 二、藥品 32 三、儀器 32 第二節 分析方法 33 一、 蜂膠原料總類黃酮物質含量測定 33 二、蜂膠奶粉類黃酮物質測定 36 第四章 結果與討論 38 第一節 蜂膠原料粉末之比較 38 第二節 去除蜂膠奶粉脂肪溶劑之探討 40 第三節 蜂膠原料粉末中類黃酮物質之鑑定 40 第四節 蜂膠奶粉類黃酮物質含量之 測定 - 以HPLC檢測 41 一、分析方法之確認 41 第五節 蜂膠奶粉類黃酮物質含量之測定 - 以分光光度計檢測 43 第六節 蜂 膠奶粉類黃酮含量測定於HPLC及分光光度計之比較 44 第七節 市售蜂膠奶粉類黃酮物質分析之比較 44 第五章 結 論 46 參 考文獻 59 附 錄 69 附圖一、七種類黃酮標準品之HPLC層析圖 70 附圖二、六個濃度蜂膠原料粉末之層析圖 71 附圖三、六 個濃度蜂膠奶粉檢品之層析圖 72 圖目錄 圖一、類黃酮之化學結構 17 圖二、五種蜂膠原料粉末層析圖 48 圖三、乙醚、石 油醚及正己烷萃取蜂膠原料粉末層析圖 49 圖四、無添加蜂膠奶粉之層析圖 50 圖五、蜂膠原料粉末(a)及蜂膠奶粉(b) 以HPLC法之迴歸分析 51 圖六、蜂膠原料粉末(a)及蜂膠奶粉(b)以分光光度計法之迴歸分析 52 圖七、十種市售蜂膠奶粉之 層析圖 53 表目錄 表一、蜂膠之主要成分 18 表二、蜂膠之化學組成 19 表三、自然界中常見的類黃酮 29 表四、類黃酮對各 種疾病的療效 30 表五、不同蜂膠製品之種類 31 表六、七種類黃酮標準品HPLC之滯留時間 55 表七、不同濃度蜂膠原料粉 末及蜂膠奶粉檢測類黃酮之精密度.56表八、不同濃度蜂膠奶粉檢測類黃酮之回收率 57表九、蜂膠原料粉末及蜂膠奶粉 於AICI3之吸光值 58

參考文獻