

紫外光分光光度法测定淫羊藿中 维生素 C 的含量

张华峰^{a, b} 张蕾^b 杨晓华^c

^a(陕西师范大学食品工程与营养科学学院西北濒危药材资源开发国家工程实验室 西安市长安南路 710062)

^b(中国科学院武汉植物研究所/武汉植物园植物保育遗传学重点实验室 武汉市磨山路 430074)

^c(西安交通大学医学院 西安市雁塔西路 710049)

摘要 紫外光分光光度法测定淫羊藿中维生素 C 含量。测定波长为 243nm; 维生素 C 浸提剂为 1.0% (V/V) 盐酸溶液; 维生素 C 浓度在 2—50mg/L 范围内与吸光度线性关系良好 ($r = 0.9992, n = 3$); 回收率在 97%—115% 之间 ($n = 3$); 相对标准偏差都小于 6.0% ($n = 3$); 检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 1.33mg/L 和 4.04mg/L。人工栽培的箭叶淫羊藿、天平山淫羊藿和长蕊淫羊藿鲜叶中维生素 C 的含量不同。

关键词 淫羊藿; 维生素 C; 紫外光分光光度法

中图分类号: O 657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2009)06-1508-05

1 前言

淫羊藿是我国最著名的中草药之一, 在日本、朝鲜以及地中海地区也被作为药用植物^[1, 2]。2002 年, 我国卫生部颁布实施的《关于进一步规范保健食品原料管理的通知》将淫羊藿列入可用于保健食品的中草药名单。淫羊藿含有黄酮类化合物、多糖、生物碱、木脂素、萜类化合物、绿原酸、必需脂肪酸、苯类化合物、微量元素等多种营养成分或生物活性物质, 具有抗骨质疏松、抗氧化、调节免疫等药理活性^[3-6]。但是有关淫羊藿抗骨质疏松、抗氧化、调节免疫活性的化学基础与作用机制至今尚未完全明了^[3]。研究表明, 维生素 C 能促进胚胎干细胞分化成造骨细胞^[7], 参与体内氧化还原反应, 调节机体免疫功能, 改善变态反应^[8]。淫羊藿的抗骨质疏松、抗氧化、调节免疫功能可能与其中所含的维生素 C 有关^[3]。研究淫羊藿中维生素 C 的分布与水平, 对于淫羊藿药效机制的阐明、淫羊藿药材的质量控制以及淫羊藿药品、食品的研发均具有一定的参考价值。然而, 有关淫羊藿中维生素 C 的分布与水平的研究迄今未见报道, 淫羊藿中维生素 C 的定量方法亦未建立。维生素 C 的测定方法很多, 包括磷钼酸法(可见光分光光度法)、2, 6-二氯酚靛酚滴定法、高效液相色谱法等。但是, 可见光分光光度法需要对维生素 C 进行显色; 滴定法重复性较差; 高效液相色谱法成本较高。鉴于此, 本文将建立一种测定淫羊藿中维生素 C 含量的紫外光分光光度法, 并藉以测定几种人工栽培淫羊藿中维生素 C 的含量。

国家自然科学基金项目; 陕西师范大学引进高层次人才科学研究项目; 陕西师范大学优秀科技预研项目

联系人, 电话: (029) 85310517(办); E-mail: yangxh800611@163.com

作者简介: 张华峰(1975—), 男, 陕西省华县人, 博士, 主要从事药用植物资源开发与利用教学和研究工作。

收稿日期: 2009-05-22; 接受日期: 2009-07-31

2 实验部分

2.1 仪器与材料

Lambda 45 紫外/可见分光光度计(美国珀金埃尔默公司);BS224S 电子天平(德国赛多利斯公司)以及其他实验室常用设备。

淫羊藿材料为中国科学院武汉植物研究所人工栽培的箭叶淫羊藿 [*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.], 天平山淫羊藿 (*E. myrianthum* W. T. Stearn) 和长蕊淫羊藿 (*E. dolichostemon* W. T. Stearn), 品种由张学军同志鉴定。

2.2 样品处理方法

淫羊藿鲜叶采摘后迅速用自来水洗净,再用去离子水漂洗,然后用滤纸吸干表面水分。准确称取1.0g,置研钵中,加入1.0% (v/v) 盐酸溶液 5—10mL 一起研磨至匀浆。放置片刻后移入离心管,在相对离心力 3250g 条件下离心 5min,取 2—5mL 上清液,适当稀释后用一次性针头式过滤器 (0.2 μ m) 过滤,得到样品溶液(待测)。在样品制备过程中,如果类黄酮杂质含量过高,可以采用物理或化学方法予以去除。

2.3 维生素C 比色方法

首先将维生素C 标准溶液在 200—300nm 波长范围内进行扫描,然后在最大吸收波长下测定浓度分别为 0.2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、30、40、50mg/L 的维生素C 标准溶液的吸光度,每个浓度的标准溶液重复测定 3 次,以维生素C 浓度和吸光度的平均值绘制校准曲线。然后在最大吸收波长下测定样品溶液的吸光度,计算淫羊藿鲜叶中维生素C 含量。

3 结果与讨论

3.1 测定波长的选择

测定维生素C 标准溶液在 200—300nm 的吸收光谱(图 1),共扫描 2 次,发现最大吸收波长分别为 243.06、243.04nm,因此将测定波长定为 243nm。

3.2 浸提剂的选择

分别用水、稀乙酸溶液(体积百分比浓度为 1.0%)、稀盐酸溶液(1.0%)溶解维生素C,然后定时扫描 200—800nm 波长的光吸收,发现以 1.0% 盐酸溶液作为溶解介质时

最为稳定。肖光等^[9]也发现盐酸溶液适宜作为市售果味维生素C 片剂中维生素C 的浸提剂。因此,选择 1.0% 盐酸溶液作为淫羊藿中维生素C 的浸提剂。

3.3 校准曲线、线性范围

以维生素C 标准溶液浓度 x (mg/L) 为横坐标,吸光度 y 为纵坐标绘制校准曲线,参考 Rolim 等^[10]的方法求得回归方程为 $y = 0.0617x - 0.0155$,相关系数 $r = 0.9992$,说明方法线性关系良好。当维生素C 浓度在 2—50mg/L 范围时,精密性、准确性均较好(表 1)。

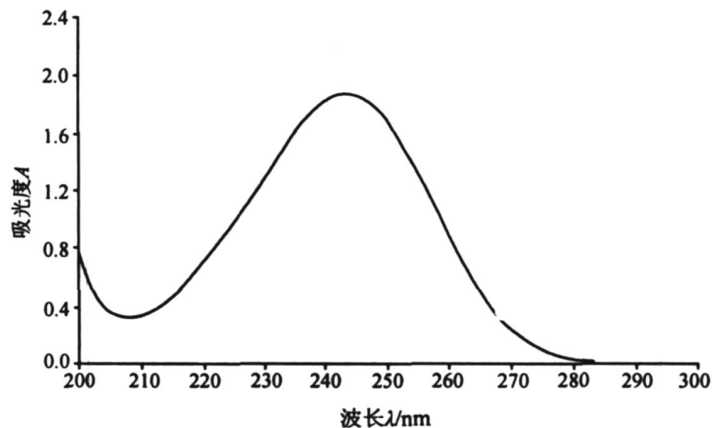


图 1 维生素C 标准溶液的紫外吸收图谱

表 1 校准曲线数据以及范围

标准溶液浓度 (mg/L)	吸光度				标准偏差	相对标准偏差 (%)	准确度 (%)
	A ₁	A ₂	A ₃	A _{mean}			
0	0.0001	0.0000	0.0006	0.0002	0.00032		
2	0.1247	0.1251	0.1257	0.1252	0.00050	0.40	114.02
4	0.2434	0.2447	0.2467	0.2450	0.00166	0.68	105.55
6	0.3617	0.3618	0.3631	0.3622	0.00078	0.22	102.03
8	0.4751	0.4776	0.4769	0.4765	0.00129	0.27	99.68
10	0.5990	0.6008	0.6000	0.6000	0.00090	0.15	99.76
12	0.7209	0.7232	0.7223	0.7221	0.00116	0.16	99.62
14	0.8385	0.8408	0.8448	0.8414	0.00319	0.38	99.20
16	0.9642	0.9674	0.9728	0.9681	0.00435	0.45	99.64
18	1.0822	1.0858	1.0946	1.0876	0.00638	0.59	99.32
20	1.1991	1.2080	1.2022	1.2031	0.00452	0.38	98.75
30	1.7716	1.7854	1.8232	1.7934	0.02671	1.49	97.73
40	2.3355	2.5247	2.3831	2.4144	0.09842	4.08	98.46
50	2.9372	3.2573	3.2152	3.1366	0.17394	5.55	102.18

3.4 回收率、精密度与重现性

将一定量的低、中、高三个浓度水平的维生素 C 标准溶液(浓度依次为 2、30、50mg/L)中的溶剂挥发干净,然后与已知维生素 C 含量的淫羊藿鲜叶(事先称重)混合,再进行样品处理和吸光度测定,求得加标回收率,结果表明各梯度浓度的回收率($n=3$)在 97%—115% 之间。

分别取低、中、高三个浓度水平的维生素 C 标准溶液(浓度依次为 2、30、50mg/L),重复测定各浓度梯度标准溶液中维生素 C 的浓度($n=3$),算出相对标准偏差依次为 0.40%、1.49%、5.55%,准确度依次为 114.00%、97.73%、102.18% (表 2)。

按照上述样品处理和分光光度法测定箭叶淫羊藿鲜叶中维生素 C 的含量,重复 3 次,求得相对标准偏差为 4.88%,说明重现性较好。

表 2 精密度和准确度分析

理论浓度 (mg/L)	浓度平均值 (mg/L)	标准偏差	相对标准偏差 (%)	准确度 (%)
2	2.28	0.00	0.40	114.00
30	29.32	0.03	1.49	97.73
50	51.09	0.17	5.55	102.18

3.5 LOD 和 LOQ

测定 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、30、40、50mg/L 维生素 C 系列标准溶液的吸光度,每个梯度浓度标准溶液重复测定 3 次,计算出各自的标准偏差,然后按照 Rolim 等^[10]的方法估算 LOD 和 LOQ (表 3),求得 LOD 和 LOQ 分别为 1.33 和 4.04mg/L。

3.6 实际样品测定

按照上述样品处理和紫外分光光度法测定箭叶淫羊藿、天平山淫羊藿和长蕊淫羊藿鲜叶中维生素 C 的含量,发现三种样品中维生素 C 含量不同。以往的研究表明,人工栽培淫羊藿中总黄酮和淫羊藿苷等的含量受到生长时期的显著影响^[11]。本研究显示,人工栽培淫羊藿中维生素 C 的含量很可能受到品种的影响。

4 结论

维生素 C 是具有多种生理功能的营养物质^[8]。定量分析药用植物中的维生素 C,对于药用植物

的质量评价、作用机制研究以及开发应用均具有一定的参考意义^[12]。淫羊藿品种繁多,化学成分复杂,药理活性多种多样^[5,13-14],药材质量控制难度很大^[3]。本研究建立的淫羊藿中维生素C的定量方法简便、准确、重复性较好,在淫羊藿药材质量控制中具有一定的应用价值。此外,本研究测得了三种人工栽培淫羊藿中维生素C的含量,对于淫羊藿药材的GAP(Good agricultural practice,中药材生产质量管理规范)标准化种植与规范化栽培具有一定的参考价值。今后,可以深入开展淫羊藿中维生素C分布与水平的研究,系统考察淫羊藿品种、生境、采摘时期、贮藏方法、炮制工艺等因素对维生素C含量的效应,探讨淫羊藿维生素C在淫羊藿抗骨质疏松、抗氧化、调节免疫等疗效中所起的作用,为淫羊藿药材质量控制标准的完善和药材道地性机理、药效机制的阐明及其在医药、食品工业中的应用提供参考依据。

表3 检出限和定量限

理论浓度 (mg/L)	吸光度 平均值	标准偏差	平均 标准偏差	斜率	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
2	0.1252	0.00050	0.02491	0.0617	1.33	4.04
4	0.2450	0.00166				
6	0.3622	0.00078				
8	0.4765	0.00129				
10	0.6000	0.00090				
12	0.7221	0.00116				
14	0.8414	0.00319				
16	0.9681	0.00435				
18	1.0876	0.00638				
20	1.2031	0.00452				
30	1.7934	0.02671				
40	2.4144	0.09842				
50	3.1366	0.17394				

致 谢 中国科学院武汉植物研究所分子遗传与比较功能基因组学研究室以及新药研发中心提供了部分仪器和材料,特致谢忱。

参考文献

- [1] Naeyer A D, Pocock V, Milligan S et al. Estrogenic Activity of a Polyphenolic Extract of the Leaves of *Epimedium Brevicornum* [J]. *Fitoterapia*, 2005, **76**(1): 35—40
- [2] Wang Y K, Huang Z Q. Protective Effects of Icaritin on Human Umbilical vein Endothelial Cell Injury Induced by H₂O₂ in Vitro [J]. *Pharmacological Research*, 2005, **52**(2): 174—182
- [3] 张华峰, 杨晓华. 淫羊藿药材质量控制的问题与对策[J]. *中草药*, 2009, **40**(1): 160—163
- [4] Meng F H, Li Y B, Xiong Z L et al. Osteoblastic Proliferative Activity of *Epimedium Brevicornum* Maxim. [J]. *Phytotherapy*, 2005, **12**(3): 189—193
- [5] Wu H, Lien E J, Lien L L. Chemical and Pharmacological Investigations of *Epimedium* Species: a Survey [J]. *Progress in Drug Research*, 2003, **60**(1): 1—57
- [6] Liu C M, Zhao X L, Liu Z Q et al. Isolation and Extraction of Total Flavonoids from *Epimedium Koreanum* Nakai by Supercritical Fluid Extraction [J]. *Chemical Research in Chinese University*, 2004, **20**(6): 707—710
- [7] Carinci F, Pezzetti F, Spina A M et al. Effect of Vitamin C on Pre-osteoblast Gene Expression [J]. *Archives of Oral Biology*, 2005, **50**(5): 481—496
- [8] 仪宏, 张华峰, 曾远智等. 维生素C生产技术[J]. *中国食品添加剂*, 2003, **61**(6): 76—81
- [9] 肖光, 范美坤, 韩梅等. 维生素C片剂的紫外分光光度法测定[J]. *光谱实验室*, 2004, **21**(5): 947—949
- [10] Rolim A, Maciel C P M, Kaneko T M et al. Validation Assay for Total Flavonoids, as Rutin Equivalents from *Trichilia Catigua*

- Adri Juss (Meliaceae) and Ptychopetalum Obovatum (Oleaceae) Commercial Extract[J]. *Journal of AOA International*, 2005, **88**(4): 1015—1019.
- [11] 张华峰, 杨晓华, 郭玉蓉等. 药用植物淫羊藿资源可持续利用现状与展望[J]. *植物学报*, 2009, **44**(3): 363—370.
- [12] 武华, 高丽, 周晓英等. 维药野蔷薇果实中总黄酮及维生素C含量的测定[J]. *新疆中医药*, 2001, **19**(2): 10—11.
- [13] Shen P, Guo B L, Gong Y *et al*. Taxonomic, Genetic, Chemical and Estrogenic Characteristics of Epimedium Species[J]. *Phytochemistry*, 2007, **68**(10): 1448—1458.
- [14] Zhang H F, Yang T S, Li Z Z *et al*. Simultaneous Extraction of Epimedin A, B, C and Icarin from Herba Epimedii by Ultrasonic Technique[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2008, **15**(4): 376—385.

Determination of Vitamin C in Herba Epimedii by Ultraviolet Spectrophotometry

ZHANG Hua-Feng^{a,b} ZHANG Lei^b YANG Xiao-Hua^c

^a(National Engineering Laboratory of Endangered Medicinal Materials Resources Development in Northwest China, College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, P. R. China)

^b(Key Laboratory of Plant Conservation Genetics, Wuhan Institute of Botany, Wuhan Botanical Garden,

Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, P. R. China)

^c(School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, P. R. China)

Abstract Vitamin C in herba epimedii was determined by ultraviolet spectrophotometry at 243nm; 1.0% (V/V) HCl aqueous solution was selected to extract vitamin C from fresh *Epimedium* leaves. Calibration curve was found in the range of 2—50mg/L and the correlation coefficient of linear regression analysis was 0.9992 ($n=3$). Recovery of vitamin C was between 97% and 115% ($n=3$). Relative standard deviations (RSDs) were less than 6.0% ($n=3$). LOD and LOQ were 1.33mg/L and 4.04mg/L, respectively. A variation of the contents of vitamin C was found among the cultivated samples of *E. sagittatum*, *E. myrianthum* and *E. dolichostemon*.

Key words Herba Epimedii; Vitamin C; Ultraviolet Spectrophotometry

1980多种核心期刊
从12400
多种中文期刊
中脱颖而出

北京高校图书馆期刊工作研究会最新评选结果汇编
北京 大学 出版社 出版
《中文核心期刊要目总览》(2008)
化学/晶体学类核心期刊一览表

各学科5500多位
专家参加了
审查工作, 评议
指标高达80种

序号	刊名	序号	刊名	序号	刊名
1	高等学校化学学报	10	分析测试学报	19	化学试剂
2	分析化学	11	化学通报	20	功能高分子学报
3	化学学报	12	分子科学学报	21	光谱实验室
4	催化学报	13	分析科学学报	22	合成化学
5	无机化学学报	14	中国科学(B辑), 化学	23	人工晶体学报
6	物理化学学报	15	化学进展	24	影像科学与光化学
7	有机化学	16	理化检验(化学分册)	25	计算机与应用化学
8	分析试验室	17	分子催化	26	核化学与放射化学
9	色谱	18	化学研究与应用		