

· 基础研究 ·

中药中维生素 C 含量测定方法对比研究[△]王玉洁¹, 薛健^{1*}, 石上梅^{2*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193; 2. 国家药典委员会, 北京 100061)

[摘要] **目的:** 通过对比研究, 确定适合不同中药中维生素 C 含量测定的方法。**方法:** 以五味子、枸杞、山楂、大枣等果实类药材为研究材料, 用紫外分光光度法、2, 6-二氯酚酚滴定法、高效液相色谱法 3 种常用方法对其维生素 C 进行测定, 通过对其测定过程、结果的比较, 确定不同中药中维生素 C 含量测定的适宜方法。**结果:** 以高效液相色谱测定结果最为准确; 滴定法简单快捷, 但提取液颜色较深的样品, 滴定法无法得到准确结果; 紫外分光光度法测定结果较其他两种偏高, 受杂质影响大。**结论:** 高效液相色谱法是测定中药维生素 C 含量的普遍适用方法, 滴定法有一定局限性, 仅适合提取液颜色较淡的样品, 紫外分光光度法不适合测定中药中维生素 C 含量。

[关键词] 中药; 维生素 C; 五味子; 枸杞; 山楂

Comparison of Determination Methods of Vitamin C Content in Traditional Chinese Medicines

WANG Yujie¹, XUE Jian^{1*}, SHI Shangmei^{2*}

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

2. Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China)

[Abstract] **Objective:** To confirm the accurate method to determine the vitamin C in traditional Chinese medicines (TCMs) by comparing different methods. **Methods:** Determining the vitamin C content in Schisandra; wolfberry and hawthorn by UV spectrophotometry, 2, 6-dichloro-indophenol titration, and HPLC respectively and contrast three determination methods to confirm the suitable methods. **Results:** The results of HPLC is the most accurate. Titration is convenient and easy but not suitable for the sample whose extract is dark. The results of UV spectrophotometry are much higher than the other two methods because of the impurity. **Conclusion:** The method of HPLC is the best for the determination the content of vitamin C. And titration is suitable for samples that whose extraction is lighter in color, while the UV spectrophotometric determination is not suitable for the majority samples containing vitamin C.

[Keywords] Traditional Chinese Medicine; vitamin C; schisandra; wolfberry; hawthorn

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.2.011

维生素 C 又称抗坏血酸, 主要存在于新鲜水果及蔬菜中, 是人体不可缺少的微量营养物质之一。枸杞、山楂等作为常用的药食两用中药, 维生素 C 也是其重要指标成分之一, 科学测定其维生素 C 含量, 有助于衡量其品质优劣, 为其质量控制提供依据。文献报道的维生素 C 的测定方法集中在水果蔬菜上, 主要有容量分析法^[1]、分光光度法^[2]、

高效液相色谱法^[3], 中药中的维生素 C 测定的研究报道很少, 由于中药基质复杂, 蔬菜水果中维生素 C 的测定方法对中药并不适用, 故本实验对中药中维生素 C 含量测定方法进行研究, 选取枸杞、山楂、大枣、五味子几种常见中药, 通过比较高效液相色谱法(HPLC)、滴定法和分光光度法测定维生素 C 的过程和结果, 探索中药中维生素 C 含量

[△] [基金项目] 国家重大新药创制专项(2014ZX09304307-002)

* [通信作者] 石上梅, 主任药师, 研究方向: 中药质量标准, Tel: (010)67079537, E-mail: ssm@chp.org.cn;
薛健, 研究员, 研究方向: 中药有效成分分析及质量控制、中药有害污染物研究, Tel: (010)57833097, E-mail: xuejian200@sina.com

测定的合适方法,为中药中维生素C含量测定提供依据。

1 材料与仪器

1.1 样品与试剂

新鲜山楂、干山楂、五味子、枸杞、大枣购自药材市场或基地,由中国医学科学院药用植物研究所张本刚研究员鉴定为正品。

维生素C(天津市光复科技发展有限公司,含量 $\geq 99.7\%$);草酸(天津市光复科技发展有限公司,含量 $\geq 99.5\%$);浓硫酸(北京化工厂,95.0%~98.0%);2,6-二氯酚酞钠盐合物(北京百灵威科技有限公司,98%,Cat No.: 284784, Lot: L140022);甲醇(色谱纯, Fisher Scientific)等。

1.2 仪器与设备

Waters 2695 高效液相色谱仪-2996PAD 检测器;C₁₈反相色谱柱:Phenomenex Synergi 4u Hydro-P 80A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);岛津 UV-2550 型紫外分光光度计, PL203/01 电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司), E60H 超声波清洗器(德国艾尔玛公司)等。

2 方法

2.1 滴定法

取枸杞、干山楂、五味子、大枣粉末适量,精密称定,置100 mL容量瓶中,1%草酸定容至刻度,超声处理30 min,过滤。精密称取鲜山楂果肉5 g,加1%草酸研磨成匀浆,全部转移至50 mL容量瓶中,1%草酸定容至刻度,超声处理30 min,过滤。取上述滤液10 mL于锥形瓶中,用标定好的2,6-二氯酚酞标准溶液滴定,直至溶液由蓝色变为粉红色,且30 s内不褪色为止,同时取10 mL 1%草酸溶液进行滴定,作为空白试验。

记录两次滴定所消耗的标准溶液体积,计算样品中维生素C含量。维生素C含量 $[\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}] = (V_{\text{样品}} - V_{\text{空白}}) \times T/m \times 100$ 。式中: T 为2,6-二氯酚酞染料滴定度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), m 为滴定时样品稀释液中所含样品的质量(g)^[4]。

2.2 高效液相色谱法

2.2.1 色谱条件 柱温:25℃;流动相:0.1%草酸;流速:1 mL·min⁻¹;检测器:二极管阵列检测器;检测波长:245 nm^[5]。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取对照品适量,加1%草酸制成1 mL含维生素C 100 μg的溶液,即得。

2.2.3 测定 取上述5种样品滴定液作为供试品溶液,微孔滤膜(0.45 μm)过滤,取续滤液,进样。

2.3 紫外分光光度法测定

2.3.1 对照品溶液配制 精密称取对照品适量,加pH 2.5硫酸水溶液制成1 mL含维生素C 100 μg的溶液,即得。

2.3.2 标准曲线绘制 分别精密吸取维生素C对照品溶液0.0、1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 mL,置于6个洁净的50 mL容量瓶中,加入pH 2.5的硫酸水溶液,摇匀,并定容至刻度,以0.0 mL维生素C标准溶液为空白作参比,在244 nm波长下,用1 cm石英比色皿,测定吸光度。将数据进行回归处理,结果表明,维生素C质量浓度(X)在0~15 μg·mL⁻¹呈线性关系,线性回归方程为 $Y = 0.0551X - 0.0081$, $r = 0.9996$ ^[6]。

2.3.3 供试品溶液的制备 枸杞、五味子、干山楂:精密称取粉末适量于100 mL容量瓶中,用pH 2.5硫酸水溶液定容至刻度,超声处理30 min,过滤,取滤液1 mL于50 mL容量瓶中,用pH 2.4硫酸水溶液定容至刻度,作为供试品溶液,244 nm下测定其吸光值。

新鲜山楂、大枣:精密称取山楂和大枣可食果肉部分5 g,加少量pH 2.5硫酸水溶液研匀,全部转移至100 mL容量瓶中,定容至刻度。过滤,取滤液1 mL于10 mL容量瓶中,用pH 2.5硫酸水溶液定容至刻度,作为供试品溶液,244 nm下测定其吸光值。

3 结果与讨论

3.1 测定结果

3种方法测定5种中药的维生素C含量的结果见表1。

表1 3种方法测定样品中维生素C含量

样品	维生素C含量 /mg·(100g) ⁻¹		
	HPLC	滴定法	紫外分光光度法
山楂(鲜)	41.79	43.37	225.06
枸杞	0.70	-	950.08
大枣	0.21	-	146.34
山楂(干)	41.84	50.66	1 072.19
五味子	0	-	876.00

注:-表示枸杞和五味子滴定液颜色深,无法准确判断滴定终点。

3.2 讨论

本实验用3种方法对5种中药中的维生素C含量进行测定,对于各种样品适用的方法总结见表2。

表2 5种中药中维生素C含量测定适用的方法

样品	2,6-二氯酚酚 滴定法	高效液相 色谱法	紫外分光 光度法
山楂(干)	√	√	×
山楂(鲜)	√	√	×
大枣	×	√	×
五味子	×	√	×
枸杞	×	√	×

注:√表示该方法适用于该样品;×表示该方法不适用于该样品。

实验过程中可见,山楂提取液颜色较浅,并且其维生素C含量丰富,使用滴定法可以准确地判断滴定终点,其结果也与高效液相色谱法互相佐证,无显著差异。故对于山楂一类提取液颜色较浅且维生素C含量丰富的样品,不需要昂贵精密仪器,滴定法简单快捷,是其测定的最佳方法。对于大枣、枸杞等药材,其提取液颜色深,多为深棕色,滴定法由于无法判断滴定终点并不适用。高效液相色谱法以其高分离度和灵敏度的特性可对其中微量的维生素C进行测定,并得到准确的结果。而五味子作为果实并未见其含维生素C的报道,在液相色谱法测定过程中,五味子在维生素C标准品出峰处(4.885 min)无色谱峰,在5.224 min处有一较高色谱峰,保留时间偏差较大,判断不是维生素C。

由于维生素C用酸提取,溶出成分较多,244 nm下紫外分光光度法干扰较多,所得结果与其他两种方法相比偏差较大,故紫外分光光度法不适用于中药中的维生素C含量测定。

综上所述,对于样品颜色较浅、维生素C含量较多的样品,滴定法由于其方便操作,成本低更为适用;而颜色较深的样品,滴定终点无法确定,HPLC由于其高灵敏度和分离度更为适用。中药成分复杂,紫外分光光度法结果有待进一步证实,不建议使用。

参考文献

- [1] 苑乃香,宣亚文,谢东坡,等. 2,6-二氯酚酚测定蔬菜中抗坏血酸的含量[J]. 安徽农业科学,2009,37(25): 11853-11854.
- [2] 马宏飞,卢生有,韩秋菊,等. 紫外分光光度法测定五种果蔬中维生素C的含量[J]. 化学与生物工程,2012,29(8):92-94.
- [3] 刘志聪,王路,朱友冲. HPLC测定潮州柑果肉中维生素C[J]. 光谱实验室,2011,28(4):2038-2041.
- [4] 国家标准化委员会. GB/T 6195-1986 水果、蔬菜维生素C含量测定法(2,6-二氯酚酚滴定法)[S]. 北京:中国质检出版社,1986.
- [5] 徐保利,管慧洁,王冰. 高效液相色谱法测定锦灯笼药材中维生素C含量[J]. 中华中医药学刊,2012,30(4):76.
- [6] 斯琴格日乐,恩德. 怀药中维生素C含量的测定[J]. 广东微量元素科学,2011,18(5):45-49.

(收稿日期 2016-05-31)