

# 青藏高原白刺、枸杞和沙棘果粉中 水溶性维生素含量比较分析

张凤枰<sup>1,2,3</sup>, 赵艳<sup>2</sup>, 刘耀敏<sup>2</sup>, 索有瑞<sup>1,\*</sup>

(1.中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2.通威股份有限公司, 四川 成都 610041;  
3.中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:**采用高效液相色谱(HPLC)法对青藏高原白刺、枸杞、沙棘果粉中的7种水溶性维生素进行分析测定。结果表明:一次提取、分离可同测定7种水溶性维生素的含量,加标回收率在88.0%~113.4%之间,相对标准偏差在1.1%~9.0%之间;3种果粉的VC、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>含量差异显著,VC含量高低顺序为沙棘果粉>白刺果粉>枸杞果粉,沙棘、白刺果粉VC含量丰富,分别高达(18266.4±201.1)、(1468.5±24.6)mg/kg;VB<sub>1</sub>含量高低顺序为枸杞果粉>白刺果粉>沙棘果粉;VB<sub>2</sub>含量高低顺序为白刺果粉>枸杞果粉,而沙棘果粉未检出VB<sub>2</sub>;VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸均没有检出。

**关键词:**白刺;枸杞;沙棘;果粉;水溶性维生素;高效液相色谱法

## Comparative Analysis of Water-soluble Vitamins in Fruit Powders of *Nitraria*, Wolfberry and Seabuckthorn Grown in Qinghai-Tibetan Plateau

ZHANG Feng-ping<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Yan<sup>2</sup>, LIU Yao-min<sup>2</sup>, SUO You-rui<sup>1,\*</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. Tongwei Co. Ltd., Chengdu 610041, China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** The contents of 7 water-soluble vitamins in fruit powders of *Nitraria*, wolfberry and seabuckthorn grown in Qinghai-Tibetan Plateau were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Results showed that the contents of 7 water-soluble vitamins were successfully determined simultaneously by sequential treatment of extraction followed by chromatographic separation and the recoveries for spiked standards and the relative standard deviations were 88.0% - 113.4% and 1.1% - 9.0%, respectively. Significant differences in the contents of VC, VB<sub>1</sub> and VB<sub>2</sub> were observed among the three fruit powders. The contents of VC and VB<sub>1</sub> were decreased in the following order: seabuckthorn > *Nitraria* > wolfberry, and wolfberry > *Nitraria* > seabuckthorn, respectively. However, higher VB<sub>2</sub> was exhibited in *Nitraria* fruit powder than in wolfberry powder, whereas no VB<sub>2</sub> was detected in seabuckthorn powder. Moreover, fruit powders of seabuckthorn and *Nitraria* were abundant in VC with contents of (18266.4 ± 201.1) mg/kg and (1468.5 ± 24.6) mg/kg, respectively. In additions, no other water-soluble vitamins like nicotinic acid, pyridoxine hydrochloride, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> were also detected in the three fruit powders.

**Key words:** *Nitraria*; wolfberry; seabuckthorn; fruit powder; water-soluble vitamins; HPLC

中图分类号: Q563; Q564

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)02-0179-04

白刺是蒺藜科的旱生或超旱生典型荒漠植物,自然分布在干燥、盐碱、多风、植被稀少的严酷环境中,是防风固沙的优良灌木。全世界有12个种,我国有8个种,主要分布在青海、新疆、甘肃、内蒙古等地,

其中唐古特白刺(*Nitraria tangutorun* Bobr.)为我国的特有品种。白刺是西部蒙、藏、维等少数民族的传统药材,可用于多种疾病的治疗,同时具有广谱的营养作用,经常在中药和藏药复方上出现。枸杞是一味传统

收稿日期: 2009-03-05

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目(0629171211)

作者简介: 张凤枰(1972—),男,工程师,博士研究生,研究方向为天然药物化学。E-mail: fengpingzhang@163.com

\*通信作者: 索有瑞(1960—),男,研究员,博士,研究方向为青藏高原特色生物资源综合利用。E-mail: yrsuo@nwipb.ac.cn

常用中药, 记载于《神农本草经》, 被列为上品。枸杞性平, 味甘, 归肝、肾、肺经, 具有滋补肝肾、益精明目的功效。枸杞在青海省的分布面积非常广<sup>[1]</sup>。大量研究表明, 沙棘果实含有丰富的营养成分和生物活性成分, 在抗疲劳、抗衰老、抗血管硬化、抗辐射、促进新陈代谢、抗坏血病等方面具有显著功效, 已经成为国内外医药界、保健食品、化妆品等重点关注的可食性植物资源。青藏高原是沙棘的起源地, 青海是沙棘的重要分布区, 沙棘资源具有分布广、品种多的特点<sup>[2]</sup>。前期对白刺、沙棘、枸杞水溶性维生素的研究主要集中在果实、果汁中的 VC 含量测定<sup>[3-8]</sup>, 对利用这三种植物果实开发出来的果粉产品的 VC、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>、VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸等水溶性维生素含量的比较研究, 未见公开报道。水溶性维生素是人体生命活动中不可缺少的营养物质, 测定方法主要有高效液相色谱法、荧光猝灭法、紫外分光光度法、高效液相色谱-串联质谱法等<sup>[9-13]</sup>。本实验利用反相高效液相色谱法, 一次提取、分离可同时测定 7 种水溶性维生素的含量, 通过测定 3 种通过喷雾干燥工艺制备的植物果粉样品的水溶性维生素含量和比较分析, 为这 3 种植物资源的深度开发利用提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

白刺果粉 1、2、3 号, 枸杞果粉 1、2、3 号, 沙棘果粉 1、2、3、4 号(其中 1、2 号为青海沙棘产品, 3、4 号为西藏沙棘产品)由中国科学院西北高原生物研究所、青海康普生物科技股份有限公司提供。

VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>、VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸、VC 对照品 美国 Fluka 公司; 甲醇(色谱纯) 美国 Fisher 公司; 乙醇、冰乙酸、盐酸、EDTA、庚烷磺酸钠、三乙胺(均为优级纯) 国药集团化学试剂有限公司; Milli-Q Gradient 超纯水 美国 Millipore 公司。

Alliance 2695 高效液相色谱仪、2487 紫外检测器、Empower 色谱管理系统 美国 Waters 公司; KQ5200B 型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; Allegra 64R 离心机 德国 Beckman Coulter 公司; CP225D 电子分析天平 德国 Sartorius 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

准确称取 VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>、VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸对照品适量, 其中 VB<sub>1</sub>、VB<sub>12</sub> 用乙醇-水溶液(1:4, V/V) 溶解; VB<sub>2</sub> 用冰乙酸溶解在沸水浴 80~100 煮沸 30min、冷却; VB<sub>6</sub> 用 0.1mol/L 盐酸溶液溶解; 烟酸用 pH3.2 冰乙酸-三乙胺-水混合溶液溶解; 叶酸用 0.1mol/L

碳酸钠溶液溶解, 用超纯水定容、混合均匀。以上各溶液质量浓度分别为 1056、148.5、1159、576.2、1245、324.2 μg/mL, 在 0~5 冰箱中储存备用。VC 标准溶液用超纯水溶解, 质量浓度为 6418 μg/mL, 现用现配。使用时以流动相稀释、混合成一定质量浓度的混合标准中间液。所有操作均在避光条件下完成。

#### 1.2.2 样品提取液和供试样品溶液的制备

在已装入约 700mL 超纯水的 1000mL 容量瓶中, 加入 50mg EDTA, 待全部溶解后, 再加入 25mL 冰乙酸、5mL 三乙胺, 用超纯水定容至刻度、摇匀。取 820mL 上述溶液与 180mL 甲醇混合均匀即得样品提取液。

称取 0.5~1.0g(精确至 0.0001g)果粉试样于 100mL 棕色容量瓶中, 加入提取液 60mL, 在超声波水浴中室温超声提取 30min, 用提取液定容至刻度, 混合均匀, 10000r/min 离心 5min, 取上清液经微孔膜(0.22 μm)过滤, 滤液供 HPLC 分析。所有操作均在避光条件下完成。

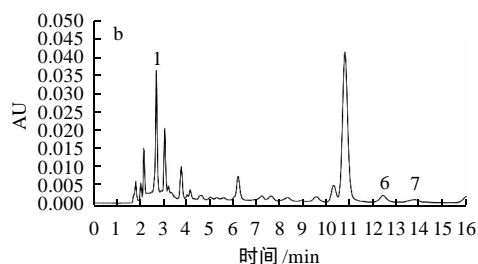
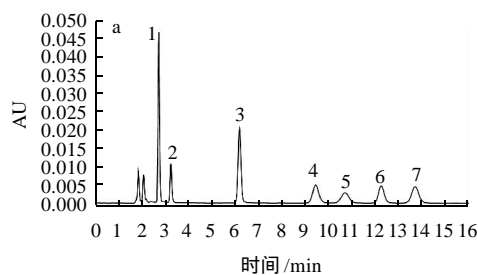
#### 1.2.3 HPLC 分析条件

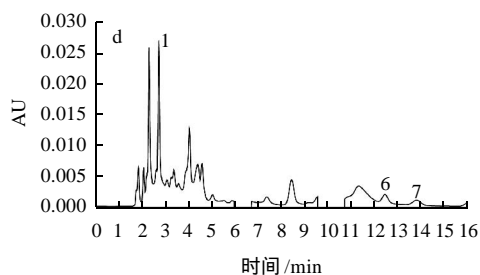
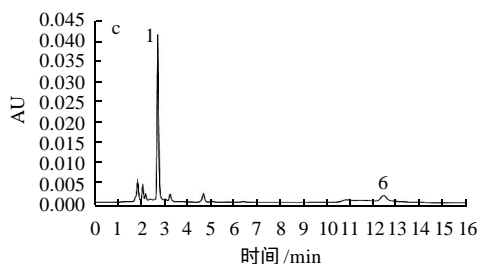
色谱柱: Waters Symmetry C<sub>18</sub> 柱(250mm × 4.6mm, 5 μm); 柱温: 30 ; 流动相流速: 1.0mL/min; 检测器: 双通道紫外检测器, VB<sub>12</sub> 测定波长为 360nm, 其余测定波长为 280nm; 进样体积: 10 μL。

流动相: 在已装入约 700mL 超纯水的 1000mL 容量瓶中, 加入 50mg EDTA、1.1g 庚烷磺酸钠待全部溶解后, 加入 25mL 冰乙酸、5mL 三乙胺, 用超纯水定容至刻度摇匀, 调节 pH3.40 左右, 过 0.22 μm 滤膜。取 820mL 上述溶液与 180mL 甲醇混合, 超声脱气即得。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性关系和检出限





a. 水溶性维生素混合标准; b. 白刺; c. 沙棘; d. 枸杞。峰依次是: 1.VC; 2.烟酸; 3.VB<sub>6</sub>; 4.叶酸; 5.VB<sub>12</sub>; 6.VB<sub>1</sub>; 7.VB<sub>2</sub>。

图1 果粉中7种维生素对照品色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of mixed standards of 7 water-soluble vitamins and fruit powders of *Nitraria*, wolfberry and seabuckthorn

表1 7种水溶性维生素线性测定结果和检出限

Table 1 Regression equation, correlation coefficient and limit of determination of 7 water-soluble vitamins by the analytical method

维生素	质量浓度范围/( $\mu\text{g/mL}$ )	线性回归方程	相关系数 $r$	检出限/( $\mu\text{g/L}$ )
VC	2.50 ~ 125.20	$y=0.006509+0.005687x$	0.9996	11.3
烟酸	0.99 ~ 49.81	$y=0.08232+0.001918x$	0.9995	39.1
VB <sub>6</sub>	0.46 ~ 23.18	$y=0.002316+0.0001418x$	0.9997	8.1
叶酸	0.13 ~ 6.48	$y=0.002675+0.0002239x$	0.9998	9.4
VB <sub>12</sub>	0.46 ~ 23.05	$y=0.001672+0.009898x$	0.9997	153.7
VB <sub>1</sub>	0.42 ~ 21.12	$y=0.08134+0.007278x$	0.9997	33.7
VB <sub>2</sub>	0.12 ~ 5.94	$y=0.0001120+0.0003084x$	0.9996	9.9

用流动相稀释 1.2.1 节中配制的混合标准中间液, 配制 5 个梯度标准工作溶液(1、2、3、4、5 号), 以保留时间定性、色谱峰面积定量, 按照 1.2.3 节的分析条件进行 HPLC 分析, 7 种维生素对照品色谱图和测定结果分别见图 1、表 1。从图 1 可知, 各维生素分离度良好, 分析时间较短。从表 1 可知, 回归方程相关系数( $r$ )均大于 0.999, 表明 7 种水溶性维生素在表中所述质量浓度范围内线性关系良好[各维生素检出限以 3 倍信噪比( $R_{SN}=3$ )计算]。

### 2.2 方法精密度和回收率

取 4 号标准工作溶液, 按照 1.2.3 节的分析条件, 连续进样 6 次, VC、烟酸、VB<sub>6</sub>、叶酸、VB<sub>12</sub>、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub> 的色谱峰面积分别为 0.72%、2.1%、0.69%、0.83%、0.34%、1.2%、1.2%, 说明本方法精密度良好。

为了研究方法的可靠性, 以沙棘果粉 1 号、白刺果粉 1 号、枸杞果粉 1 号, 分别添加 3 个浓度水平的混

合标准溶液, 每水平 2 个平行样, 按照 1.2.2 节供试品溶液制备方法进行处理, 按照 1.2.3 节仪器条件进行测定, 平均回收率结果见表 2。结果显示, 7 种水溶性维生素在沙棘、白刺和枸杞果粉中的平均回收率在 88.0% ~ 113.4% 范围内, 变异系数在 1.1% ~ 9.0% 之间, 符合实验要求。

表2 沙棘、白刺和枸杞果粉中7种水溶性维生素的回收率( $n=6$ )  
Table 2 Spike recovery for 7 water-soluble vitamins ( $n=6$ )

维生素	沙棘果粉		白刺果粉		枸杞果粉	
	回收率/%	色谱峰面积/%	回收率/%	色谱峰面积/%	回收率/%	色谱峰面积/%
VC	105.3	1.1	92.7	2.1	113.4	4.9
烟酸	96.7	3.2	92.5	6.5	101.2	2.5
VB <sub>6</sub>	97.8	2.0	107.4	4.2	88.0	5.5
叶酸	107.0	4.2	93.4	9.0	96.6	8.4
VB <sub>12</sub>	112.2	3.5	98.8	1.4	106.4	8.0
VB <sub>1</sub>	101.6	6.2	104.6	1.6	104.6	2.6
VB <sub>2</sub>	88.7	7.2	98.3	2.9	103.1	3.3

### 2.3 实际样品的检测

按照 1.2.2 节中样品前处理方法和 1.2.3 节中仪器条件, 以保留时间定性、色谱峰面积定量、外标法测试了 3 个白刺果粉、3 个枸杞果粉、4 个沙棘果粉样品中的水溶性维生素含量, 结果见表 3。3 种果粉中 VC、VB<sub>1</sub> 均检出, 而 VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸均没有检出; 白刺果粉、枸杞果粉检出 VB<sub>2</sub>, 而沙棘果粉未检出。

表3 3种果粉水溶性维生素含量测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Contents of water-soluble vitamins in fruit powders of *Nitraria*, seabuckthorn and wolfberry ( $\bar{x} \pm s$ ) determined by the analytical method

样品	含量/(mg/kg)			
	VC	VB <sub>1</sub>	VB <sub>2</sub>	
白刺果粉	1	1468.5 $\pm$ 24.6	42.3 $\pm$ 0.4	12.4 $\pm$ 0.3
	2	1435.1 $\pm$ 16.5	44.6 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 0.4
	3	1448.8 $\pm$ 22.6	43.9 $\pm$ 0.7	13.0 $\pm$ 0.5
沙棘果粉	1	18266.4 $\pm$ 201.1	8.5 $\pm$ 0.2	ND
	2	18183.9 $\pm$ 327.2	8.1 $\pm$ 0.1	ND
	3	16407.9 $\pm$ 776.0	8.1 $\pm$ 0.1	ND
	4	16231.6 $\pm$ 334.9	8.2 $\pm$ 0.1	ND
枸杞果粉	1	89.1 $\pm$ 0.2	56.5 $\pm$ 1.1	10.7 $\pm$ 0.6
	2	91.9 $\pm$ 1.5	55.6 $\pm$ 1.0	9.7 $\pm$ 0.3
	3	83.4 $\pm$ 0.5	52.3 $\pm$ 0.3	11.3 $\pm$ 0.5

注: ND 为未检出。

对比分析发现, 3 种果粉的 VC、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub> 含量存在一定的差异。VC 含量丰富, 其高低顺序为沙棘果粉 > 白刺果粉 > 枸杞果粉; VB<sub>1</sub> 含量高低顺序为枸杞果粉 > 白刺果粉 > 沙棘果粉; VB<sub>2</sub> 含量高低顺序为白刺果粉 > 枸杞果粉。经  $t$  检验, 沙棘果粉、白刺果粉、枸杞果粉的

VC、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>含量均存在显著或极显著差异( $P < 0.05$ )。可以看出,生长在同一区域的不同植物所含的维生素含量差异显著;青海沙棘果粉和西藏沙棘果粉VC含量也存在一定差异,这可能与沙棘的生境有关,虽同属青藏高原植物,但由于海拔不同,温度、湿度、光照、土壤等均存在差异,导致出现果粉VC含量存在一定差异。

### 3 结论

利用反相高效液相色谱法,一次提取、分离可同时测定7种水溶性维生素的含量,线性关系良好,加标回收率在88.0%~113.4%范围内,方法简单、快速、可靠,对采用喷雾干燥工艺制备的青藏高原沙棘、白刺、枸杞果粉样品进行了分析测定。结果表明,3种果粉的VC、VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>含量差异显著,VC含量高低顺序为沙棘果粉>白刺果粉>枸杞果粉;VB<sub>1</sub>含量高低顺序为枸杞果粉>白刺果粉>沙棘果粉,VB<sub>2</sub>含量高低顺序为白刺果粉>枸杞果粉,而沙棘果粉未检出VB<sub>2</sub>。沙棘、白刺果粉VC含量丰富,分别高达 $(18266.4 \pm 201.1)$ 、 $(1468.5 \pm 24.6)$ mg/kg。3种植物果粉中VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸均没有检出;3种植物果粉可以作为功能食品、药品原料,值得进一步深度开发。

### 参考文献:

- [1] 王洪伦,丁晨旭,李玉林.白刺与枸杞中微量元素含量的对比研究[J].广东微量元素科学,2007,14(4):36-38.
- [2] 李威邦.青海沙棘产业发展前景可期[J].中国林业,2007(9B):29.
- [3] 张颖,张立木,王立秋.不同产地枸杞子中VC含量测定[J].中国医院药学杂志,2004,24(8):500-501.
- [4] 宋欢.高效液相色谱测定浓缩沙棘汁中的VC[J].山西食品工业,2000(4):42-43.
- [5] 张红梅,温中平,田俊学.高效液相色谱法测定沙棘中VC的含量[J].国际沙棘研究与开发,2004,2(3):21-23.
- [6] 陈耀明.枸杞子浓缩汁VC含量测定法[J].第四军医大学学报,1994,15(4):304-305.
- [7] 刘吉毅,张晓梅.沙棘果汁及其制品中VC的测定[J].沙棘,1994,7(3):31-33.
- [8] 和彦苓,许秀举,吴刚.内蒙古地产白刺果中氨基酸和维生素含量分析[J].包头医学院学报,2006,22(4):378-379.
- [9] 成志强,孙成均,黎源倩.反相高效液相色谱法同时测定食品和多维片中8种水溶性维生素[J].分析化学,29(9):1068-1071.
- [10] 蒋晔,刘红菊,郝晓花.反相高效液相色谱法同时测定9种水溶性维生素[J].药物分析杂志,2005,25(3):339-341.
- [11] 任小荣,曾美云,郝志红.荧光猝灭法测定饮料中的VC[J].光谱实验室,2008,25(3):323-326.
- [12] 李冰冰,周晓光,朱洋民.紫外光度法测定药品中抗坏血酸的研究[J].光谱实验室,2005,22(1):152-154.
- [13] 王一红,冯家力,潘振球.液相色谱-串联质谱法分析10种水溶性维生素[J].中国卫生检验杂志,2007,17(7):1160-1162.