

薄层扫描测定花粉中维生素B₂、C的含量

陈玉英 姜翀* 杨清华 于如嘏

(分析化学教研室)

摘要 花粉中具有多种维生素，如脂溶性维生素A、E及水溶性维生素B₁、B₂及C等。本文对水溶性维生素用硅胶HF₂₅₄薄层板以氯仿-冰醋酸-乙醇(95%)-水(53:20:25:2)为展开剂进行了分离分析。并在CS-910双波长薄层扫描仪上对维生素C及B₂进行了定量测定，获得良好的线性关系及精度。回收率：维生素C 98.15% (CV<1%)，维生素B₂ 100.8% (CV<1%)。

关键词 维生素C、B₂，花粉，薄层扫描

花粉中具有多种维生素及人体所必须的多种营养成分，近年来被广泛采用做成多种营养保健剂。文献报道花粉中维生素C的含量测定采用2,4-二硝基苯肼法，维生素B₁、B₂采用荧光分光光度法^[2]。本文采用薄层扫描法，对水溶性维生素测定作了改进。

实验部分

一、仪器和药品

标准对照液 精密称取维生素C、维生素B₁、B₂及B₆适量。维生素B₂溶于0.9%的NaCl溶液，其余分别溶于水醇溶液，配成一定浓度；破壳全花粉、花粉精试样（本院制药厂提供）。薄层扫描仪 日本岛津CS-910。

二、花粉提取、分离及鉴定

(一) 提取 精密称取破壳全花粉适量，准确加入一定体积的生理盐水，使成一定浓度，电磁搅拌提取2h，过滤，弃去初滤液，取续滤液为样品溶液。

(二) 分离及鉴定 用微量注射器吸取各水溶性维生素对照液及样品液适量，点于硅胶HF₂₅₄薄层上。于氯仿-冰醋酸-95%乙醇-水(53:20:25:2)展开剂中，暗处饱和10min，上行法展开约18cm。在紫外分析仪($\lambda=253.7$ nm)下观察图谱(见图1)。

从图1可见花粉中水溶性维生素能得到良好的分离。

三、维生素B₂、C的薄层扫描定量

(一) 线性试验 精密吸取对照液维生素B₂(0.2 μ g/ μ l)2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 μ l,

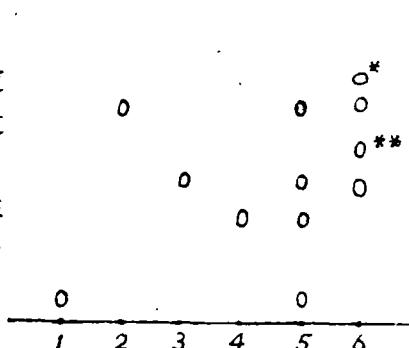


图1 维生素色谱图

- 1. V_{B1}, 2. V_{B2}, 3. V_C, 4. V_{E6}, 5. V_{B1}, V_{B2}, V_{B6} 及 V_C混合物, 6. 花粉样品液

维生素C ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$) $1.00, 3.00, 5.00, 7.00, 9.00\mu\text{l}$ 分别点样, 展开。操作同“分离鉴定”项下。

扫描仪上扫描。仪器参数: $V_c \quad \lambda_s = 235\text{nm} \quad \lambda_r = 400\text{nm}$ 灵敏度 $\times 1$
 $V_{B_2} \quad \lambda_s = 445\text{nm} \quad \lambda_r = 700\text{nm}$ 灵敏度 $\times 10$

狭缝: 1.25×1.25 , 纸速: $20\text{mm}/\text{min}$, 线性参数 $S_x = 3$

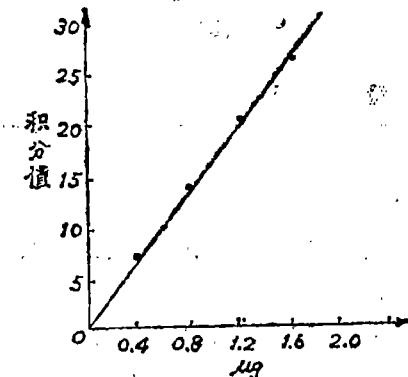


图2 维生素B₂的标准曲线

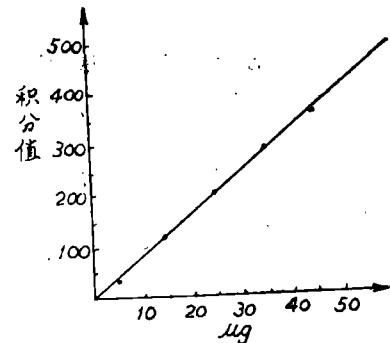


图3 维生素C的标准曲线

回归方程 $V_{B_2} \quad y(\times 10^{-3}) = 0.0174x + 0.00240 \quad r = 0.998;$

$V_c \quad y(\times 10^{-3}) = 0.00800x - 0.00530$

$r = 0.998$

(二) 稳定性试验 对展开后的维生素B₂ 及维生素C色斑定时进行扫描, 测定其稳定性。稳定性曲线图4: 结果表明: (1)维生素B₂ 在展开后3h内积分值无明显变化。(2)维生素C在30min内无变化。以后随时间延长积分值下降。

(三) 回收率试验 精密称取维生素B₂ 及维生素C适量, 加入样品溶液中, 使成一定浓度。

取该液 $15\mu\text{l}$ 和相同样液。取对照液维生素C ($5.006\text{mg}/\text{ml}$) $5\mu\text{l}$ 及维生素B₂ ($0.1941\text{mg}/\text{ml}$) $5\mu\text{l}$ 。操作同“提取分离”项。计算回收率, 结果见表1。

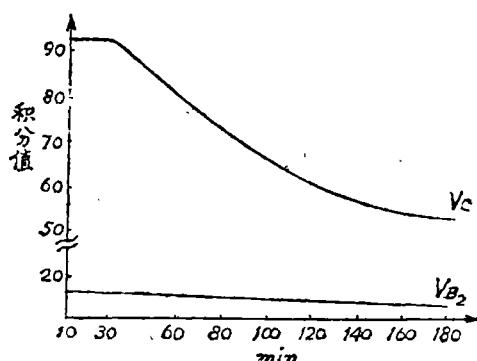


图4 维生素B₂, C的稳定性曲线

表1 回收率试验

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均值	CV (%)
破壳全 V _{B₂}	100.4	100.7	100.7	100.1	100.4	100.4	—	—	—	100.5	0.2
花粉(%) V _C	96.3	96.3	97.00	95.10	97.00	97.00	98.80	98.80	98.40	97.2	1.3
花粉精 V _{B₂}	100.7	101.0	101.4	101.0	101.0	101.0	—	—	—	101.0	0.2
(%) V _C	99.5	99.5	99.5	98.4	98.9	98.9	—	—	—	99.1	0.5

(四) 灵敏度及最低检测限的测定 精密吸取维生素C ($5.006\text{mg}/\text{ml}$) $4\mu\text{l}$ 及维生素B₂ ($0.194\text{mg}/\text{ml}$) $4\mu\text{l}$, 分别点样, 展开。操作同“分离鉴定”项下。最后将薄层板进行线性扫描, 条件同线性试验。

结果 V_{B_2} 灵敏度(s)31mm/ μ g, 检测限0.1 μ g; V_C 灵敏度2.7mm/ μ g, 检测限1.2 μ g。

(五) 含量测定(外标一点法) 在同一块薄层板上间隔地点上样品液及对照液维生素B₂(0.194mg/ml)2 μ l及维生素C(5.01mg/ml)4 μ l。操作同“分离鉴定”项下。根据斑点吸收度的积分值, 计算样品中维生素C及维生素B₂的含量。

$$\text{含量 (mg/100g)} = \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{标}}} \times \frac{C_{\text{标}} \times V_{\text{标}}}{C_{\text{样}} \times V_{\text{样}}} \times 100$$

结果见表2。

表2 样品中维生素C及维生素B₂的含量(mg/100g)

测定次数		1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均值	CV (%)
840320	V_C	264	264	274	271	271	271	265	274	265	269	1.6
全花粉	V_{B_2}	14.7	14.7	14.7	14.6	14.7	14.6	14.6	14.6	14.6	14.7	0.2
850415	V_C	285	274	274	291	281	281	274	275	275	279	2.2
全花粉	V_{B_2}	15.7	15.7	15.7	15.7	15.7	15.6	15.6	15.7	15.7	15.7	0.1
花粉精	V_C	245	245	245	247	248	241	241	242	245	244	0.9
	V_{B_2}	7.28	7.51	7.51	7.39	7.28	7.39	7.39	7.39	7.39	7.39	1.1

讨 论

1. 花粉中水溶性维生素的含量随花粉的来源、采集的时间不同含量各异, 即使同一批花粉其破壳率不同含量亦有差异。
2. 由于维生素B₂在0.9%NaCl溶液中有良好的溶解度^[3], 本文采用生理盐水作提取液。对其它水溶性维生素的萃取及R_f值均无影响。
3. 维生素C及B₂遇光不稳定, 故整个层析过程要在避光下进行, 并控制一定的扫描时间。

参 考 文 献

1. 高增荣.药物分析杂志 1983 3(1):26
2. 黄伟坤, 李士宁.食品科学 1984 (4):43
3. 顾学裘.药物制剂注解.第一版.北京: 人民卫生出版社, 1965:286

DETERMINATION OF VITAMIN B₂ AND C IN POLLEN BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

Chen Yuying¹, Jiang Chong², Yang Qinghua¹ and Yu Rugu¹

Abstract

The water soluble vitamins B₂,C in pollen were separated on silica gel HF₂₅₄ plate by using CHCl₃-EtOH(95%)-HAc-H₂O (53:20:25:2) as developing solvent. Determination of vitamin B₂ and C in pollen was performed by reflection mode and Zigzag scanning with CS-910 Shimadzu TLC scanner. (TLCS) Conditions of determination were: vitamin C at 250nm (400nm as reference wavelength), vitamin B₂ at 444nm (700nm as reference wavelength). The recoveries of vitamin B₂ and C were 100.8% (CV<1%), 98.15% (CV<1%) respectively.

Key words Vitamin B₂, Vitamin C, Pollen, TLCS

1. Department of Analytical Chemistry

2. Student of 1985

千金藤啶碱对大鼠脑内单胺代谢的影响 刘国卿, 谢林, 袁惠南(药理学教研室)

药学学报 1986 21(5):336

千金藤啶碱(SPD)为异喹啉类生物碱,具有广泛的药理活性。鉴于某些异喹啉类生物碱对单胺递质代谢有明显作用,本文研究了SPD对大鼠脑内单胺代谢的影响。SPD在剂量为15~120mg/kg时,能增加大鼠纹状体和边缘区的多巴胺代谢物二羟苯乙酸(DOPAC)及高香草酸(HVA)(+150~300%),并有剂量相关关系。此作用在给药后1h达峰值,至4h两者含量开始恢复,但与对照组仍有明显差异。SPD能中度地影响纹状体中的DA及边缘区NA和DA水平,约降低20~50%。DA转换率的升高支持了SPD为DA受体阻断剂,但因DA和NA的下降,故不能排除药物对单胺递质的贮存、释放或摄取的影响。SPD对纹状体内5-羟吲哚醋酸(5-HIAA)含量亦有明显升高,但升高值远低于药物对DA代谢物的作用。本文对DA、HVA、DOPAL、5-HIAA等采用高效液相色谱、电化学检测器进行测定。

(史东方)