

苦丁茶中总皂苷含量的测定^{*}

谢惜媚¹, 陆慧宁², 邓芹英¹

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州510275;

2. 中山大学分析测试中心, 广东 广州510275)

摘要:建立了苦丁茶(*Ilex kudincha* C. J. Tseng)总皂苷F含量的测定方法。以苦丁茶皂苷F作对照品, $\varphi=8\%$ 香草醛无水乙醇溶液和 $\varphi=77\%$ 硫酸溶液为显色剂, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温反应10 min, 分光光度法测定苦丁茶总皂苷的含量。最大吸收波长534 nm, 在 $6\sim 36\text{ }\mu\text{g/mL}$ 范围内浓度与吸光度线性关系良好, 相关系数 $r=0.999\ 5$ 。平均回收率为97.17%, $\text{RSD}=1.69\%$ 。测定了苦丁茶不同产品的总皂苷含量, 结果表明方法简便, 重现性好。该法可作为苦丁茶质量检测的方法之一。

关键词:苦丁茶(*Ilex kudincha* C. J. Tseng); 总皂苷; 分光光度法; 含量测定

中图分类号: O621.15; Q949.754.6 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579(2002)06-0120-02

冬青科植物苦丁茶(*Ilex kudincha* C. J. Tseng), 在中国南部及西南部已有相当大的种植面积, 并作为保健品行销于市面。苦丁茶具有清热解毒、杀菌消炎、消食化痰、除烦止渴等功效。文献报道苦丁茶具有明显的抗氧化作用^[1]、降血压作用^[2]和降血脂作用^[3]。

董文彦等^[3]认为苦丁茶的降血脂成分除了与普通茶叶的相同之处, 可能主要是其中的三萜皂苷类。苦丁茶的主要化学成分为三萜皂苷, 欧阳明安等及 Keiiche Nishimura 等^[4-8]已从苦丁茶叶中分离鉴定了20多种三萜皂苷化学成分。苦丁茶中总皂苷的含量测定, 还未见文献报道。建立苦丁茶总皂苷测定方法对鉴定苦丁茶质量好坏、真假有重要意义。从苦丁茶叶中分离提纯了数种皂苷组分, 其中皂苷F是含量最大的组分。对照品经薄层色谱鉴定为纯化合物, NMR、MS 鉴定分子式为 $\text{C}_{59}\text{H}_{96}\text{O}_{26}$, 相对分子质量为1 221, 从文献[8]及本文分离鉴定的结果表明, 苦丁茶皂苷中较高含量成分的相对分子质量分别为1 070, 1 074, 1 088, 1 221 和1 237, 平均相对分子质量与皂苷F较为接近。因此以皂苷F作为对照品, 采用分光光度法测定了苦丁茶总皂苷含量^[9], 方法简便, 测定速度快, 重现性良好。

1 仪器和试剂

UV-240紫外分光光度计(日本岛津); 724可见分光光度计(上海分析仪器厂); 超声波振荡器; 恒温水浴锅; 所用试剂均为分析纯; 苦丁茶叶及茶粉由海南省澄迈县万昌苦丁茶场提供; 粗提物及对照品苦丁茶皂苷由本课题组提取分离得到。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 准确称取真空干燥至恒质量的对照品苦丁茶皂苷F 9.0 mg, 置于50 mL容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 备用。

2.2 样品溶液的制备 准确称取约1.0 g苦丁茶叶干粉(过40目筛, $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘4 h, 同一样品平行称取3份), 于100 mL具塞三角瓶中, 加入甲醇50 mL, 放置过夜, 超声振荡提取30 min, 收集提取液, 残渣再加甲醇25 mL超声提取30 min, 重复2次, 合并提取液, 减压回收甲醇, 产物加25 mL蒸馏水溶解, 乙醚脱脂($5\times 15\text{ mL}$), 水层用水饱和的正丁醇萃取至无色($5\times 20\text{ mL}$), 合并正丁醇提取液, 用少量水洗2次, 合并水层, 用正丁醇洗1次, 并入前正丁醇提取液中, 减压蒸馏至干, 加甲醇溶解并定容至250 mL。

2.3 吸收光谱的测定 分别吸取对照品皂苷F溶液0.8 mL及样品溶液0.8 mL, 挥干溶剂, 准确加入新配制的 $\varphi=8\%$ 香草醛无水乙醇溶液1.0 mL和 $\varphi=77\%$ 硫酸溶液5.0 mL, 摇匀。混合物在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中加热, 然后放置冰水浴中冷却15 min, 室温放置10 min, 以空白作参比, 在波长400~700 nm范围扫描得吸收光谱。皂苷F及样品都在534 nm波长处有最大吸收, 故选择534 nm作为测定波长。

2.4 稳定性试验 准确吸取样品液1.0 mL, 按“吸收光谱的测定”相同试验条件, 于534 nm波长每隔5 min测定其吸光度, 实验结果表明在30 min内吸光度没有明显的变化, 因此在30 min内完成测定稳定性良好。

^{*} 收稿日期: 2002-06-25

作者简介: 谢惜媚(1962年生), 女, 工程师; 通讯联系人: 邓芹英; E-mail: ceslglk@zsu.edu.cn

2.5 标准曲线的制备 准确吸取对照品溶液各 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 mL (ρ (皂苷 F) ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$): 6, 12, 18, 24, 30, 36) 分别置于 10 mL 比色管中, 挥干溶剂, 准确加入新配制的 $\varphi=8\%$ 香草醛无水乙醇溶液 1.0 mL 和 $\varphi=77\%$ 硫酸溶液 5.0 mL, 摇匀。在 60 °C 恒温水浴中加热 10 min, 取出放置冰水浴中冷却 15 min, 再室温平衡 10 min, 以空白作参比, 在 534 nm 波长处测定其吸光度分别为 0.099, 0.192, 0.273, 0.357, 0.448, 0.525。计算得回归方程为 $y = 2.366\ 7x + 0.017\ 5$, 相关系数 $r = 0.999\ 5$ 。实验结果表明皂苷测定量在 6~36 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}$ 范围内浓度与吸光度之间线性关系良好。

2.6 样品的测定 准确吸取样品溶液适当量, 按“标准曲线制备”相同步骤测定总皂苷的含量。分别测定了苦丁茶嫩叶、老叶、茶粉及粗提产物(表 1)。

表 1 苦 茶样品测定结果($n=3$)
Tab 1 The contents of total saponins in *Ilex kudincha*

样品名称	ρ (皂苷) /%				RSD /%
	1	2	3	平均	
嫩叶	18.06	17.76	18.73	18.18	0.50
老叶	9.33	9.21	8.52	9.02	0.62
茶粉	18.27	18.90	20.18	19.12	1.38
粗提物	33.68	33.30	32.77	33.25	0.65

2.7 回收率的测定 准确称取一定量已知总皂苷含量的样品, 加入一定量的皂苷 F 对照品, 按样品溶液的制备和测定相同步骤分别进行试验, 计算得回收率结果见表 2。

3 结 论

(1) 皂苷 F 的相对分子质量与苦丁茶总皂苷平均相对分子质量接近, 因此采用皂苷 F 作为对照品是合理、可行的。在测定过程中, 测定液显色后 30 min 内吸收值稳定, 线性范围 6~36 $\text{mg} \cdot \text{mL}$ ($r = 0.999\ 5$); 平均回收率为 97.17%, $\text{RSD} = 1.69\%$ (n

$= 5$)。测定方法简便、准确、灵敏、重现性好。
(2) 测定结果显示不同品质的苦丁茶样品所含总皂苷量有很大区别, 嫩叶的含量几乎是老叶的 2 倍。因此本测定方法是鉴定苦丁茶品质, 控制苦丁茶质量的切实可行的方法。

表 2 回收率测定结果^{b)}
Tab 2 Results of percent recovery tests

序号	m (原样) mg	加入标准品 质量/mg	测得值 mg	回收率 /%
1	0.143 2	0.053 6	0.195 6	99.39
2	0.169 7	0.080 4	0.241 2	96.44
3	0.118 1	0.036 0	0.148 5	96.37
4	0.106 2	0.018 0	0.120 6	97.10
5	0.121 5	0.036 0	0.152 1	96.57

1) $n=5$; 回收率平均值为 97.17%, RSD 为 1.69%

参考文献:

[1] 杨彪, 龙盛京, 覃振江, 等. 苦丁茶提取物抗氧化作用的研究[J]. 广西民族学院学报(自然科学版), 2000, 6(2): 108—110.
[2] 陈一, 李双开, 谢唐贵, 等. 苦丁茶冬青叶的降血压作用研究[J]. 中草药, 1994, 17(3): 37—40.
[3] 董文彦, 郑颖, 刘晓兵, 等. 苦丁茶降血脂作用的研究[J]. 北京联合大学学报, 1994(1): 24—29.
[4] 欧阳明安, 汪汉卿, 杨崇仁, 等. 新三萜及其皂苷化学结构的 NMR 研究[J]. 波谱学杂志, 1996, 13(3): 231—237.
[5] OUYANG M A, YANG C R, CHEN Z L, et al. Triterpenes and triterpenoid glycosides from the leaves of *Ilex kudincha* [J]. Phytochemistry, 1996, 41: 871—877.
[6] OUYANG M A, WANG H Q, CHEN Z L, et al. Triterpenoid glycosides from *Ilex kudincha* [J]. Phytochemistry, 1996, 43: 443—445.
[7] 欧阳明安, 汪汉卿, 苏军华, 等. 苦丁茶化学成分的结构研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(3): 19—23.
[8] KEIICHI N, TOSICIO M, HIROSHI N. Triterpenoid saponins from *Ilex kudincha* [J]. J Nat Prod, 1999, 62: 1128—1133.
[9] 沙世炎, 徐礼桑, 严敏如, 等. 中草药有效成分分析法(下册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 5—7.

Determination of the Content of Total Saponins in *Ilex kudincha*

XIE Xi mei¹, LU Hui ning², DEN Qin ying¹

(1.School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen(Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China;
2.Instrumentation Analysis and Research Center, Sun Yat sen(Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: An accurate method for determination of the content of total saponins in *Ilex kudincha* C. J. Tseng was reported. The Saponin F isolated from *Ilex kudincha* was as the control sample. The samples analyzed were first reacted with the solution of 5% vanillin in ethanol and 77% sulfuric acid at 60 °C for 10 min. Then, the contents of total saponins in *Ilex kudincha* samples were determined by spectrophotometry at 534 nm. The calibration curve was linear in range of 6~36 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}$. The average recovery and relative standard deviation were 97.17% and 1.69% respectively. The method is simple, accurate and reproducible and can be used for quality control of *Ilex kudincha*.

Key words: *Ilex kudincha* C. J. Tseng; total saponins; spectrophotometry; quantitative analysis
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>