

胡代花,张嘉昕,韩 豪,等. 3种天然抗氧化剂对维生素D₂稳定性的保护作用[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):363-366.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.105

3种天然抗氧化剂对维生素D₂稳定性的保护作用

胡代花¹,张嘉昕¹,韩 豪²,王永吉¹

(1. 陕西理工学院维生素D生理与应用研究所,陕西汉中 723000; 2. 陕西理工学院生物科学与工程学院,陕西汉中 723000)

摘要:应用超高效液相色谱,分别测定白藜芦醇、茶多酚及大豆异黄酮与维生素D₂在1:1、1:10、10:1这3种质量比例混合下,放置10、26、36 d后样品中维生素D₂稳定性变化。结果表明,以1:1、1:10、10:1质量比例添加的3种天然抗氧化剂均对维生素D₂稳定性具有一定的保护作用,且随着放置时间的延长,对维生素D₂的稳定性保护作用愈明显。其中以1:10质量比例添加对维生素D₂的稳定性保护作用最佳,添加3种天然抗氧化剂36 d后维生素D₂的存留率均在84%以上,与空白对照相比分别增加72.72%、68.08%、75.32%。茶多酚、大豆异黄酮及白藜芦醇3种天然抗氧化剂均对维生素D₂具有较好的稳定性保护作用,其中以1:10质量比例混合时效果较佳。

关键词:维生素D₂;稳定性;茶多酚;白藜芦醇;大豆异黄酮;天然抗氧化剂

中图分类号: R927.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0363-03

维生素D₂,别称钙化醇或麦角骨化醇,是维生素D家族的重要一员,能调节钙磷的代谢,促进骨骼的健康,在临床上用于预防和治疗佝偻病、骨质疏松及甲状旁腺功能低下等疾病^[1-3]。由于维生素D₂性质不稳定,遇光、热、氧等易降解而失效^[4-6],导致体内生物利用度降低,难以保证常规制剂质量稳定性,从而限制了它在药品、食品、保健食品等领域的广泛应用。目前常用 β -环糊精包被或微囊化技术提高维生素D₂及其制剂产品的稳定性^[7-9]。

茶多酚、大豆异黄酮及白藜芦醇是源于我国优势资源的3种天然抗氧化剂,具有较好的抗氧化性,并显示良好的抗衰老、抗肿瘤等生物活性,在药品、保健食品、化妆品等中具有广阔的应用前景^[10-16];另一方面,超高效液相色谱作为一种高效分析技术,其高分辨度、高分析效率、低溶剂消耗在色谱分析中具有显著优势,并在食品质量安全等分析检测中广泛应用^[17-21]。笔者所在的课题组前期建立了乙醇直接提取、超高效液相色谱分离的方法测定维生素D,方法简便、快捷、灵敏,准确度高,分析总周期大大缩短,适合批量化分析检测,并用建立的方法对几种市售维生素D保健食品和药品进行了测定,取得较满意的结果^[22]。

为考察茶多酚、大豆异黄酮及白藜芦醇3种天然抗氧化剂对维生素D₂稳定性的影响,本研究应用超高效液相色谱法分别测定白藜芦醇、茶多酚及大豆异黄酮与维生素D₂在1:1、10:1、1:10这3种质量比例混合下,在4℃冷藏干燥条件下放置10、26、36 d后混合样品中维生素D₂的稳定性变化,分析白藜芦醇、茶多酚及大豆异黄酮对维生素D₂稳定性

保护作用,最终旨在寻找天然维生素D₂抗氧化稳定剂,为维生素D₂相关产品及制剂的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

超高效液相色谱-质谱联用仪(Waters ACQUITY-UP-LC-TQD);Sartorius万分之一电子天平(BSA224S-CW);低速离心机(Eppendorf 5810 R);超声波清洗仪(KQ-500E);240 mm玻璃干燥器;电热恒温水浴锅(HWSY21-K);冰箱(海尔BCD-278TAJ)。

1.2 试剂

维生素D₂(分析纯,上海晶纯有限公司),维生素D₂标准品(SUPELCO,100 mg),无水乙醇为分析纯,白藜芦醇(98%,陕西森弗生物技术有限公司),茶多酚(98%,陕西森弗生物技术有限公司),大豆异黄酮(98%,陕西森弗生物技术有限公司),变色硅胶(2.0~5.6 mm,山东青岛裕宝精细化工有限公司)。

维生素D₂标准储备液(100 μ g/mL):准确称取0.010 0 g维生素D₂于100 mL容量瓶中,用乙醇溶解并定容至刻度;维生素D₂标准使用液:准确吸取维生素D₂标准储备液10 mL于100 mL容量瓶中,用乙醇定容至刻度,该溶液浓度为10.0 μ g/mL。

1.3 样品处理

将维生素D₂与白藜芦醇、茶多酚、大豆异黄酮3种抗氧化剂分别按照质量比1:10、1:1、10:1各称取9份,置于5 mL塑料离心管中(样品称取质量见表1),加入2 mL无水乙醇,40℃超声30 min,置于恒温水浴锅中60℃挥干溶剂,所得样品在冰箱4℃下置于24 mm干燥器中干燥保存(干燥器中加入变色硅胶)。分别于10、26、36 d后取出各处理3个重复样品,在5 mL离心管中加入2 mL乙醇,40℃超声30 min,离心10 min(3 500 r/min),残渣继续加入2 mL乙醇,40℃超声30 min,离心10 min(3 500 r/min)。合并上清液,离心10 min(3 500 r/min)。依次将1:10样品溶液稀释20倍,

收稿日期:2015-12-31

基金项目:陕西省自然科学基金(编号:2014JQ2083);陕西省2011陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心项目[编号:QBX-T-Z(P)-15-15];陕西省汉中市科技局项目(编号:2013FZ24)。

作者简介:胡代花(1983—),女,陕西安康人,博士,讲师,主要从事维生素D类保健食品研发。Tel:(0916)2641716;E-mail: hudaiahua007@163.com。

1 : 1 样品溶液稀释 100 倍,10 : 1 样品溶液稀释 200 倍,维生素 D₂ 空白对照溶液稀释 100 倍后,吸取上清液过 0.45 μm 膜,滤液直接进色谱系统分析。整个过程避光操作。每个处理 3 次重复。

表 1 维生素 D₂ 与 3 种天然抗氧化剂以不同质量比例混合称取质量

质量比 (维生素 D ₂ : 抗氧化剂)	维生素 D ₂ 质量 (mg)	抗氧化剂质量 (mg)
1 : 10	5	50
1 : 1	27.5	27.5
10 : 1	50	5
空白对照	20	0

1.4 标准曲线的绘制

准确移取维生素 D₂ 标准贮备液及标准使用液,用乙醇稀释定容,分别配制 1.0、10、50、100、500 ng/mL,1、10、20、40、60、80、100 μg/mL 不同浓度标准维生素 D₂ 溶液;以上每个浓度的溶液分别进样 5 μL,以紫外 264 nm 处的吸收峰面积对浓度作曲线进行拟合。获得标准曲线方程为 $y = 292.23x - 140.65$ ($r^2 = 0.9998$),线性范围为 0.50 ~ 100.00 μg/mL。

1.5 色谱条件

ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm),柱温 30 ℃,流速 0.3 mL/min,进样 5 μL。流动相为 0.5% (体积分数) 甲酸水溶液与乙腈梯度洗脱,乙腈梯度为 92% (0 ~ 6 min) - 100% (6 ~ 7 min) - 92% (7 ~ 8 min);检测波长 264 nm。

1.6 数据处理与分析

试验数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,采用 Tukey's HSD 进行方差分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 未添加天然抗氧化剂维生素 D₂ 稳定性

未添加天然抗氧化剂的维生素 D₂ 稳定性较差,经处理后在 4 ℃ 冷藏干燥保存条件下,造成维生素 D₂ 大量损失,10、26、36 d 的存留率分别为 88.21%、68.32%、50.00%,且在 0.05 水平差异显著,其中维生素 D₂ 在保存 26、36 d 的损失率高达 31.68%、50.00% (表 2 至表 4)。

2.2 以 1 : 1 质量比例添加 3 种天然抗氧化剂对维生素 D₂ 稳定性影响

以 1 : 1 质量比例添加的 3 种天然抗氧化剂均对维生素 D₂ 稳定性具有一定的保护作用,且随着放置时间的延长,对维生素 D₂ 稳定性的保护作用愈明显。保存 10 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 90% 以上,且三者之间在 5% 水平无显著差异,三者与空白对照也无显著差异。保存 26 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 73% 以上,且三者 5% 水平无显著差异,其中添加茶多酚后维生素 D₂ 的存留率与空白对照保存 26 d 的存留率差异显著,而添加大豆异黄酮和白藜芦醇后维生素 D₂ 的存留率与空白对照的存留率均无显著差异。保存 36 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 72% 以上,三者之间在 5% 水平无显著差异,但是均与空白对照保存 36 d 的存留率差异显著,其中添加茶多酚后

36 d 维生素 D₂ 存留率与空白对照相比增加了 58% (表 2)。

对于茶多酚而言,保存 10 d 和 26 d 的存留率无显著差异,保存 10 d 和 36 d 的存留率差异显著,保存 26 d 和 36 d 的存留率也无显著差异;对于大豆异黄酮和白藜芦醇而言,保存 10 d 和 26、36 d 的存留率差异显著,保存 26 d 与 36 d 的存留率无显著差异 (表 2)。

表 2 3 种天然抗氧化剂以 1 : 1 质量比例添加对维生素 D₂ 稳定性的影响 ($\bar{x}, n = 3$)

抗氧化剂	保存时间 (d)	维生素 D ₂ 浓度 (μg/mL)	维生素 D ₂ 含量 (mg)	维生素 D ₂ 存留率 (%)	相对于 对照 (%)
空白对照	10	16.76	17.64	88.21ab	100.00
	26	12.98	13.66	68.32d	100.00
	36	9.50	10.00	50.00e	100.00
茶多酚	10	24.24	25.52	92.67a	105.06
	26	22.02	23.18	84.33abc	123.43
	36	20.62	21.71	79.00bcd	158.00
大豆异黄酮	10	24.05	25.32	92.33a	104.67
	26	20.44	21.52	78.33bcd	114.65
	36	18.85	19.84	72.33d	144.66
白藜芦醇	10	23.64	24.88	90.47a	102.58
	26	19.18	20.19	73.42cd	107.46
	36	18.92	19.92	72.44d	144.88

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

2.3 以 1 : 10 质量比例添加 3 种天然抗氧化剂对维生素 D₂ 稳定性影响

以 1 : 10 质量比例添加的 3 种天然抗氧化剂均对维生素 D₂ 稳定性具有一定的保护作用,且随着放置时间的延长,对维生素 D₂ 的稳定性保护作用愈明显。保存 10 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 94% 以上,且三者之间在 5% 水平无显著差异,三者与空白对照保存 10 d 维生素 D₂ 的存留率也无显著差异。保存 26 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 91% 以上,比同期空白对照均高了 34% 以上,且三者 5% 水平无显著差异,并与空白对照保存 10 d 维生素 D₂ 的存留率无显著差异,但是均与空白对照保存 26 d 维生素 D₂ 的存留率差异显著。保存 36 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 84% 以上,分别比同期空白对照提高了 72.72%、68.08% 和 75.32%,三者同比在 5% 水平均无显著差异。其中添加白藜芦醇保存 36 d 的存留率与添加大豆异黄酮和茶多酚保存 10、26 d 的存留率以及空白对照保存 10 d 的存留率均无显著差异,而与空白对照保存 26、36 d 的存留率差异显著 (表 3)。

对于茶多酚和大豆异黄酮而言,保存 10 d 和 26 d 的存留率无显著差异,保存 10 d 和 36 d 的存留率差异显著,而保存 26 d 和 36 d 的存留率无显著差异;对于白藜芦醇而言,保存 10、26、36 d 的存留率均在 5% 水平无显著差异 (表 3)。

2.4 以 10 : 1 质量比例添加 3 种天然抗氧化剂对维生素 D₂ 稳定性影响

以 10 : 1 质量比例添加的 3 种天然抗氧化剂均对维生素 D₂ 稳定性具有一定的保护作用,且随着放置时间的延长,对维生素 D₂ 的稳定性保护作用愈明显。保存 10 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率在 89% 以

表 3 3 种天然抗氧化剂以 1 : 10 质量比例添加
对维生素 D₂ 稳定性的影响 ($\bar{x}, n = 3$)

抗氧化剂	保存时间 (d)	维生素 D ₂ 浓度 (μg/mL)	维生素 D ₂ 含量 (mg)	维生素 D ₂ 存留率 (%)	相对于对照 (%)
空白对照	10	16.76	17.64	88.21abc	100.00
	26	12.98	13.66	68.32d	100.00
	36	9.50	10.00	50.00e	100.00
茶多酚	10	22.87	4.81	96.29a	109.16
	26	21.76	4.58	91.62abc	134.10
	36	20.51	4.32	86.36bc	172.72
大豆异黄酮	10	23.10	4.86	97.26a	110.26
	26	21.80	4.59	91.79abc	134.35
	36	19.96	4.20	84.04c	168.08
白藜芦醇	10	22.37	4.71	94.19abc	106.78
	26	22.34	4.70	94.06abc	137.68
	36	20.82	4.38	87.66abc	175.32

上,且三者之间在 5% 水平无显著差异,三者与空白对照保存 10 d 维生素 D₂ 的存留率也无显著差异。保存 26 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 86% 以上,与同期空白对照相比提高了 26% 以上,且三者之间在 5% 水平无显著差异,并与添加 3 种抗氧化剂保存 10 d 以及空白对照保存 10 d 维生素 D₂ 的存留率均无显著差异,但与空白对照保存 26 d 维生素 D₂ 的存留率差异显著。保存 36 d 测定结果表明,添加 3 种天然抗氧化剂后维生素 D₂ 的存留率均在 78% 以上,比同期空白对照分别提高了 62.02%、56.54% 和 65.98%,且三者之间在 5% 水平无显著差异,并与空白对照保存 10 d 维生素 D₂ 的存留率均无显著差异,添加茶多酚及白藜芦醇的存留率与空白对照保存 26、36 d 维生素 D₂ 的存留率均差异显著,而添加大豆异黄酮的存留率与空白对照 26 d 无显著差异,但与空白对照 36 d 维生素 D₂ 的存留率存在显著性差异(表 4)。

对于茶多酚和白藜芦醇而言,保存 10、26 和 36 d 维生素 D₂ 的存留率均在 5% 水平无显著差异;对于大豆异黄酮而言,保存 10 d 和 26 d 的存留率无显著差异,保存 10、26 d 存留率均与 36 d 存留率差异显著(表 4)。

表 4 3 种天然抗氧化剂以 10 : 1 质量比例添加
对维生素 D₂ 稳定性的影响 ($\bar{x}, n = 3$)

抗氧化剂	保存时间 (d)	维生素 D ₂ 浓度 (μg/mL)	维生素 D ₂ 含量 (mg)	维生素 D ₂ 存留率 (%)	相对于对照 (%)
空白对照	10	16.76	17.64	88.21abc	100.00
	26	12.98	13.66	68.32d	100.00
	36	9.50	10.00	50.00e	100.00
茶多酚	10	21.21	44.65	89.31abc	101.25
	26	20.58	43.33	86.65abc	126.83
	36	19.24	40.51	81.01bc	162.02
大豆异黄酮	10	22.10	46.53	93.05a	105.49
	26	21.72	45.73	91.45ab	133.86
	36	18.59	39.14	78.27cd	156.54
白藜芦醇	10	22.46	47.28	94.57a	107.21
	26	20.52	43.20	86.40abc	126.46
	36	19.71	41.49	82.99abc	165.98

3 结论

未添加天然抗氧化剂的维生素 D₂ 稳定性较差,经处理后在 4 ℃ 冷藏干燥保存条件下,造成维生素 D₂ 大量损失,10、26、36 d 的存留率分别为 88.21%、68.32%、50.00%;以 1 : 1、1 : 10、10 : 1 质量比例添加的 3 种天然抗氧化剂均对维生素 D₂ 稳定性具有一定的保护作用,且随着放置时间的延长,其对维生素 D₂ 的稳定性保护作用愈明显。其中以 1 : 10 质量比例添加对维生素 D₂ 的稳定性保护作用最佳,添加 3 种天然抗氧化剂 36 d 后维生素 D₂ 的存留率均超过 84%,与空白对照相比增加了 72.72%、68.08%、75.32%。

参考文献:

[1] Zhao G X, Earl S F, Li C Y. Associations of serum concentrations of 25 - hydroxy vitamin D and parathyroid hormone with surrogate markers of insulin resistance among US adults without physician - diagnosed diabetes: NHANES, 2003—2006 [J]. Diabetes Care, 2010, 33:344 - 347.

[2] Artaza J N, Norris K C. Vitamin D reduces the expression of collagen and key profibrotic factors by inducing an antifibrotic phenotype in mesenchymal multipotent cells [J]. Journal of Endocrinology, 2009, 200:207 - 221.

[3] Kamend L, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system; modulation of innate and autoimmunity [J]. Journal of Molecular Medicine, 2010, 88:441 - 450.

[4] Ravinder K, Bhawana S, Sumit A. Vitamin D₂ stability in milk during processing, packaging and storage [J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 56:421 - 426.

[5] Byrdwell W C, Exler J, Gebhardt S E, et al. Liquid chromatography with ultraviolet and dual parallel mass spectrometric detection for analysis of vitamin D in retail fortified orange juice [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24:299 - 306.

[6] Ganesan B, Brothersen C, McMoham D J. Fortification of cheddar cheese with vitamin D does not alter cheese flavour perception [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94:3708 - 3714.

[7] 刘治林, 王 晖, 赖家维, 等. 维生素 D₂ - β - 环糊精包合物的制备研究 [J]. 上海医药, 2001, 22(11):505 - 507.

[8] 李 强, 谭天伟. 维生素 D₂ 微囊的制备与研究 [J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(2):6 - 9.

[9] 彭湘红, 张俐娜, 黄 进, 等. β - 环糊精包合维生素 D₂ 的稳定性及结构研究 [J]. 武汉大学学报:自然科学版, 1999, 45(4):423 - 426.

[10] 赵宝路. 茶多酚的抗氧化作用 [J]. 科学通报, 2002, 47(16):1206 - 1210.

[11] 张晓梦, 倪 艳, 李先荣. 茶多酚的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(2):157 - 160.

[12] 刘志胜, 李里特, 辰已英三. 大豆异黄酮及其生理功能研究进展 [J]. 食品工业科技, 2000, 20(1):78 - 80.

[13] 邵剑钢, 段 奇, 李晓莉, 等. 大豆异黄酮在军用功能食品中的应用 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(1):145 - 147.

[14] 杨 洋, 韦小英, 阮 征. 国内外天然食品抗氧化剂的研究进展 [J]. 食品科学, 2002, 23(10):137 - 140

[15] 夏开元, 戎卫华. 葡萄中的功效成份 - 白藜芦醇、白藜芦醇苷和原花青素 [J]. 食品科学, 2002, 23(8):356 - 359.

[16] 陈红英, 冀雅静, 吴 丹, 等. 白藜芦醇对于小鼠败血症休克的

杨申明, 杨红卫, 王振吉, 等. 微波辅助提取常春油麻藤花总黄酮工艺及其抗氧化性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 366–369.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.106

微波辅助提取常春油麻藤花总黄酮工艺及其抗氧化性

杨申明, 杨红卫, 王振吉, 范树国, 谢正萍

(楚雄师范学院化学与生命科学学院, 云南楚雄 675000)

摘要: 为了优化微波辅助提取常春油麻藤花总黄酮的提取工艺, 并测定其总黄酮的抗氧化性。采用 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 显色法测定总黄酮含量, 通过正交试验 $L_9(3^4)$ 优化其总黄酮的提取工艺参数, 并就总黄酮对 1, 1-苯基-2-苦肟基自由基(DPPH·)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除能力进行初步研究。结果表明: 总黄酮最佳提取工艺参数为乙醇体积分数 75%, 料液比 1 g: 30 mL, 微波时间 3.5 min, 微波功率 200 W, 在此条件下, 总黄酮的平均提取率为 19.77%; 微波辅助提取的常春油麻藤花总黄酮具有较强的抗氧化性, 对 DPPH·、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除作用明显, 且其质量浓度与抗氧化活性呈一定的量效关系。

关键词: 常春油麻藤花; 微波辅助提取; 总黄酮; 抗氧化性

中图分类号: R151.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0366-04

常春油麻藤 (*Mucuna sempervirens* Hemsl) 为蝶形花科 (Papilionaceae) 常春油麻藤属植物, 别称牛马藤、油麻藤子、绵麻藤^[1], 在我国主要分布在四川、贵州和云南等地^[2], 它是一种药食同源植物, 其藤茎、花和种子具有活血、通经活络之功效, 常用于风湿疼痛、四肢麻木、血虚贫血、月经不调等病症, 具有很好的疗效^[1]。常春油麻藤产花量很多, 云南楚雄每年 2—5 月采花炒食、做汤制作蔬菜食用, 风味独特, 是当地很受欢迎的一道特色野菜。因此, 常春油麻藤花在医药和食品工业领域中具有广泛的利用价值。

目前, 国内外对常春油麻藤花的研究主要集中在挥发性成分^[3]、黄酮类结构鉴定、抗氧化活性成分^[4]及抗氧化活性成分提取分离^[5]等方面, 其他有关常春油麻藤花的研究鲜见报道。近年来, 黄酮类化合物越来越多的生物活性被不断发现, 其应用范围正逐步扩大, 但对常春油麻藤花中总黄酮含量

测定及提取工艺的研究未见报道。本研究采用微波辅助提取常春油麻藤花中总黄酮, 用 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 显色法测定总黄酮含量, 通过正交试验 $L_9(3^4)$ 优化提取工艺。同时, 以维生素 C 为对照, 并就所提取的总黄酮对 DPPH·、羟基自由基和超氧阴离子自由基的清除作用进行研究, 旨在为常春油麻藤花的综合利用提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

常春油麻藤花采自云南省楚雄市, 经鉴定为蝶形花科常春油麻藤属植物; 芸香苷标准品由中国药品生物制品检定所生产, 1, 1-苯基-2-苦肟基自由基(DPPH·)由上海蓝季科技发展有限公司生产, 维生素 C 由昆山谱森实验室用品科技有限公司生产, 其他所用化学试剂均为分析纯, 由天津市风船化学试剂厂生产。

主要仪器: UV-2100 型紫外分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; G80F23CN3P-Q5(QO) 型微波炉, 广东格兰仕微波炉电器制造有限公司; SE40ZF 型电子天平, 奥豪斯仪器上海有限公司; HH-S2 型恒温水浴锅, 金坛市大地自动仪器厂; SHZ-III A 型循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; 202-00 型干燥箱, 上海市崇明实验仪器厂。

收稿日期: 2015-12-03

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31300370); 云南省重点建设学科(编号: 05YJJSXK03); 云南省高校科技创新团队支持计划(编号: IRTSTYN)。

作者简介: 杨申明(1976—), 男, 云南双柏人, 实验师, 主要从事天然有机产物化学研究及教学工作。E-mail: ysm@extc.edu.cn。

通信作者: 王振吉, 博士, 副教授, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: wangzj@extc.edu.cn。

保护作用及其作用机制的研究[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(9): 1216–1221.

[17] 宁啸骏, 王丁林, 虞成华, 等. UPLC-MS/MS 同位素内标法测定食品中对位红、苏丹红 I~IV 的研究[J]. 质谱学报, 2009, 30(1): 41–46.

[18] 张月, 林靖凌, 韩丙军, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法测定柑橘中 4 种苯甲酰胺类农药残留[J]. 农药学报, 2014, 16(5): 614–618.

[19] 禹松林, 方慧玲, 张瑞苹, 等. 改良超高效液相色谱串联质谱法测定 25-羟基维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₂[J]. 检验医学, 2015, 30(10): 1021–1026.

[20] Esen B A, Bekir K. Identification, synthesis and characterization of process related impurities of benidipine hydrochloride, stress-testing/stability studies and HPLC/UPLC method validations[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2015, 5: 256–268.

[21] 方慧玲, 禹松林, 韩建华, 等. 中国北方健康人群血清 25 羟基维生素 D₃ 和 25 羟基维生素 D₂ 水平[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2014, 7(3): 199–205.

[22] 胡代花, 张嘉昕, 韩豪, 等. UPLC 法快速测定婴儿维生素 D₃ 滴剂、维生素 D₃ 片、维生素 AD 滴剂及维生素 D₂ 片中维生素 D₃ 和维生素 D₂[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1409–1414.