

药物分析与质量

文章编号: 1001-8255(2000)09-405-03

水溶性维生素的毛细管电泳测定

叶飞云¹, 张君倩¹, 严健², 王小如², 曾海虹¹

(1. 厦门市药品检验所, 福建厦门 361012; 2. 厦门大学化学系, 福建厦门 361005)

摘要: 建立了高效毛细管电泳同时测定水溶性维生素制剂中的维生素 B₁ 维生素 B₂ 维生素 B₆ 维生素 B₁₂ 维生素 C 烟酸、烟酰胺等的方法。缓冲液为 0.02 mol/L 的硼酸溶液, 毛细管为 50 μ m \times 50 cm, 检测波长为 190 nm(适用于维生素 B₁ 维生素 B₆ 维生素 B₁₂ 烟酸、烟酰胺)和 265 nm(适用于维生素 B₂ 维生素 C), 分离度高, 方法简便。

关键词: 毛细管电泳; 测定; 维生素 B₁; 维生素 B₂; 维生素 B₆; 维生素 B₁₂; 维生素 C; 烟酸; 烟酰胺

中图分类号: R977.2, O657.8 **文献标识码:** A

高效毛细管电泳 (HPCE) 作为新的色谱技术之一发展非常迅速, 其分离效率可达百万理论塔板数, 检测灵敏度可达十个分子的水平, 这是目前任何分析技术所难以比拟的。多种水溶性维生素的分离测定, 在药品及食品分析中有重要价值。目前分离方法主要以 HPLC^[1] 为主, 我们应用 HPCE 对多种水溶性维生素药品中维生素 B₁(1)、维生素 B₂(2)、维生素 B₆(3)、维生素 B₁₂(4)、维生素 C(5)、烟酸(6)、烟酰胺(7)等进行了分析。此方法不仅可用于复方维生素类药物制剂的分析, 还可扩展至成分多、含量低的保健药品、保健食品的分析。

1 仪器与试剂

HP3DCE型高效毛细管电泳仪(美国惠普); 1 2 3 4 5 6 7(厦门建发制药股份公司提供, 药用规格), 所用试剂均为分析纯

2 实验方法与结果

2.1 实验条件

电压: 28 kV(恒电压操作); 毛细管温度: 30 $^{\circ}$ C; 毛细管: 内径 50 μ m 长度 50 cm 有效长度 48 cm; 检测器: 实时 UV/VIS 二极管阵列检测器 (190~600 nm); 检测波长 190 nm(适用于 1 3 4 6 7)和 265 nm(适用于 2 5); 光源: 氙灯; 进样方式: 5 MPa 3.75 s; 迁移缓冲液: 0.02 mol/L 的硼酸溶液; 工作方式: 每次用 0.1 mmol/L NaOH 液冲洗毛细管 2

min, 再用迁移缓冲液洗毛细管 2 min; 每完成一个样品分析均更新电极室瓶中的迁移缓冲液。

2.2 线性实验

分别取 1 2 3 4 5 6 7 对照品适量, 精密称定, 加 0.5% 醋酸溶解, 稀释成浓度分别为 5 10 15 20 25 μ g/ml 的对照品溶液。取对照品溶液按上述实验条件进行 CE 分析 ($n=5$), 以浓度 C (μ g/ml) 对峰面积进行线性回归, 得出各自的回归方程如下:

1	$A=0.7334C+1.5534$	$r=0.9963$
2	$A=8.6956C+8.0861$	$r=0.9999$
3	$A=25.1067C+66.0909$	$r=0.9982$
4	$A=1.0646C-2.0824$	$r=0.9885$
5	$A=0.5720C+0.8728$	$r=0.9835$
6	$A=34.4376C+147.8166$	$r=0.9980$
7	$A=37.4658C+3.9564$	$r=0.9983$

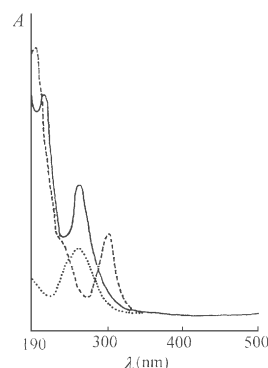


图 1 各维生素的光谱扫描图 (190~500 nm)

— 6, 7 — 3 5

收稿日期: 1999-04-14

基金项目: 福建省卫生厅青年科研基金课题 (9601)

作者简介: 叶飞云 (1962), 男, 主任药师, 药物分析专业

Tel 0592-5611283

E-mail yefy@126.com

2.3 迁移时间与光谱图

分别取上述对照品溶液按上述实验条件进行 CE 分析,测定 7 个维生素的迁移时间,见表 1 在进行 CE 分析时,应用毛细管电泳仪的二极管阵列检测器对每一成分在 190~ 500 nm 范围进行光谱扫描,光谱图见图 1 图 2 各成分的迁移时间及 190~ 500 nm 的光谱图可用于成分鉴别

在本实验条件下,2 5 的最大吸收波长为 265 nm,其余成分最大吸收波长均为 190 nm CE 实验条件对不同成分选择不同的检测波长,以获得最大的灵敏度

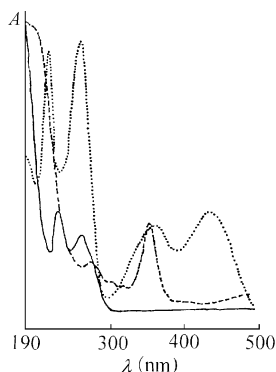


图 2 各维生素的光谱扫描图 (190~ 500 nm)

— 1 — 4 2

2.4 回收率试验

配制分别含 1 2 3 4 5 6 7 各约为 15 μg/ml 的溶液,按上述实验条件进行 CE 分析,测定回收率。7 种维生素的回收率在 85% ~ 115% 之间, RSD < 5% (n= 4)。

2.5 样品溶液测定

取含 1 2 3 4 5 6 7 各约为 1 mg/ml 的水溶液适量,用 0.5% 醋酸稀释成约 13 μg/ml 的样品溶

液,按上述实验条件进行 CE 检测,结果见表 1,谱图见图 3

表 1 迁移时间,最大吸收波长及样品测定结果

成分	迁移时间 (min)	最大吸收波长 (nm)	样品测定 (mg/ml)
1	2.4	190	1.02
7	3.1	190	1.02
2	4.0	265	1.01
4	4.4	190	1.09
3	4.6	190	0.94
5	5.4	265	0.89
6	6.0	190	1.02

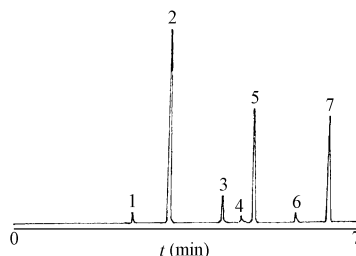


图 3 样品溶液 CE 谱图

1- 1 2- 7 3- 2 4- 4 5- 3 6- 5 7- 6

2.6 讨论

CE 分离分析水溶性维生素药物具有其它分离分析手段无法比拟的优势。其分离效果好,大部分成分的分离效率可达数十万的塔板数,均达基线分离。且分析周期短,一个样品的分析全过程仅需十分钟,消耗的样品试剂少,样品进样量极微(数 nl),试剂消耗成本远远低于 HPLC,样品预处理简单,对色谱仪器的损害、污染少。

参考文献:

[1] 李悦,杨祉凡.口服液中微量水溶性维生素的 HPLC 测定 [J].中国医药工业杂志,1996,27(5): 229-231.

Simultaneous Determination of Water-Soluble Vitamins with Capillary Electrophoresis

YE Fei-Yun¹, ZHANG Jun-Qian¹, YAN Jian², WANG Xiao-Ru², ZENG Hai-Hong¹

(1. Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012;

2. Dept. of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)

ABSTRACT A simple, rapid and efficient method for the simultaneous assay of vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, vitamin C, nicotinic acid and nicotinamide by capillary electrophoresis has been established. The experimental conditions were as follows: the electrophoretic medium was composed of 0.02 mol/L boric acid solution, uncoated capillary used was 50 cm × 50 μm i.d. and detection was carried out at 190 nm (to vitamin B1, vitamin B6, vitamin B12, nicotinic acid and nicotinamide) and 265 nm (to

vitamin B₂, vitamin C).

Key Words capillary electrophoresis; determination; vitamin B₁; vitamin B₂; vitamin B₆; vitamin B₁₂; vitamin C; nicotinic acid; nicotinamide

文章编号: 1001-8255(2000)09-407-02

人工牛黄中胆红素的流动注射分光光度法测定

吴韶铭

(浙江省金华市药品检验所, 浙江金华 321000)

摘要: 利用 Cu²⁺ 在碱性条件下催化氧化胆红素并与其氧化产物胆绿素形成蓝色配合物的原理, 建立了流动注射分光光度法测定人工牛黄中胆红素。线性范围 50~ 150 μg/ml (r= 0.9999), 回收率 99.7%, RSD 1.7%。

关键词: 流动注射分析; 人工牛黄; 胆红素; 含量测定

中图分类号: R927.3, R287 **文献标识码:** A

人工牛黄中胆红素(1)的测定在部颁标准 [WS-132(Z-122)-98] 中采用摩尔吸收系数法, 该法的缺点主要有需用氯仿作溶剂以及 1 易被空气中的氧化等。曾有报道^[1]利用 Cu²⁺ 在碱性条件下催化氧化 1 并与其氧化产物胆绿素形成配合物的原理, 建立了间接测定人工牛黄中 1 的分光光度法, 但该方法的影响因素较多。本文利用流动注射分析法 (FIA) 测定人工牛黄中 1 的含量, 方法简捷, 结果满意。

1 仪器与试剂

LZ-1000型组合式流动注射仪 (沈阳肇发自动分析研究所); UV-260型紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司)。

1 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0077-9901); 人工牛黄 (金华生化制药厂, 批号 990701 990702 990703)

2 实验方法与结果

2.1 实验方法

按图 1 连接流路, 启动流动注射分析仪。设置工作参数, 系统条件为: 反应管长 80 cm (∅ 0.7 mm), 采样体积 50 μl, 采样时间 15 s, 注射时间为 10 s, F_c = 3.6 ml/min, F_{CuSO₄} = 2.3 ml/min, F_{缓冲液} = 2.3 ml/min 测定波长: 340 nm

收稿日期: 2000-01-03

基金项目: 浙江省医药卫生优秀青年科技人才专项科研基金项目。

作者简介: 吴韶铭 (1965), 男, 理学硕士, 副主任药师, 主要从事仪器分析。

Tel 0579-2338940

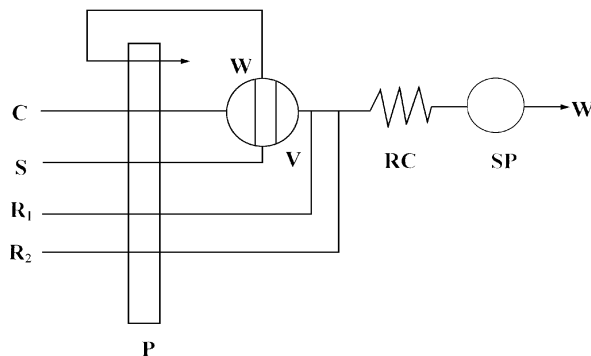


图 1 FIA 测定胆红素流路图

P 蠕动泵, SP 分光光度计, V: 采样阀, RC 反应管, S 样品, R₁: 硫酸铜溶液, R₂: 缓冲液, C 载流, W: 废液。

待输出信号稳定后, 将蒸馏水 (C) 注入流路做空白试验, 然后将 1 系列标准溶液及试样依次注入, 测定最大吸收度。

2.2 影响因素

2.2.1 显色剂浓度: 试验了硫酸铜溶液浓度对测定灵敏度的影响, 结果 Cu²⁺ 浓度在 0.001~ 0.01 mol/L 范围内, 吸收值基本不变, 实验选用 0.005 mol/L。

2.2.2 显色酸碱度: 在 pH7~ 11 范围内进行了显色试验, 结果表明 pH10.0 时灵敏度最高, 故选择 pH10.0 的铵缓冲液。

2.3 线性关系

精密称取 1 对照品 10 mg, 置 10 ml 量瓶中, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 0.50 0.75 1.00 1.25 1.50 ml 分别置 10 ml 量瓶中, 分别加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液稀