

高效液相色谱法测定维生素C片中V_C含量

陈再洁 郑建明 王 智

(江苏天瑞信息技术有限公司, 苏州, 215300)

摘要 目的: 建立维生素C片中V_C的高效液相色谱测定法(HPLC)。方法: 以甲醇-0.015mol/L 醋酸钠(体积比5:95)为流动相, 用Exformma C₁₈柱(4.6×250mm, 5μm)进行分离, 于波长254nm处检测。结果: 线性范围为37.6~601.6ng ($r=0.9999, n=7$), 平均回收率为99.51%, RSD为0.53% ($n=9$)。结论: 用该方法测定V_C含量, 结果稳定, 重现性好, 可操作性强, 适于维生素C片的质量控制。

关键词 维生素C片 V_C HPLC

1 前言

维生素C片为维生素类非处方药品, 由维生素C、淀粉、糊精、羟丙纤维素、亚硫酸氢钠、柠檬酸、硬脂酸镁等组成, 用于预防坏血病, 日常V_C的补充, V_C缺乏症的治疗, 是家庭常备药。国内用HPLC法测定药品^[1-3]、水果^[4]、饮料^[5]、食品^[6]和蔬菜^[7]中V_C含量的研究较多, 但对维生素C片中V_C的含量测定尚未见报道, 目前我国药典规定^[8]用碘液滴定法测定V_C含量。但通过大量的实验数据表明, 用碘滴定法测定V_C含量波动较大。分析其原因可能有: 1) 供试品溶液中可能存在的还原剂消耗碘液而造成误差; 2) 人为影响因素, 如颜色的判断, 操作速度的快慢等; 3) 淀粉指示剂需现用现配, 操作繁琐, 且滴定用的三氧化二砷为剧毒试剂, 存在一定的安全隐患。为此, 本文提出用高效液相色谱法(HPLC)测定维生素C片中V_C含量。实验表明, HPLC法简便, 快速, 准确, 灵敏度高, 适应性好, 回收率高。

2 实验部分

2.1 仪器

LC310 高效液相色谱仪(包括LC-P100 高压恒流泵、LC-UV100 紫外检测器、LC-C0100 柱温箱、LC-WS310 液相色谱工作站), 为江苏天瑞公司产品, 电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司), 超声波清洗器(张家港神科超声电子有限公司), 紫外分光光度计(上海精密仪器仪表有限公

司), 精密酸度计(上海精科科学仪器有限公司), 超纯水机(南京易普易达发展有限公司)。

2.2 试剂

醋酸铵、醋酸钠、醋酸、磷酸二氢钾均为分析纯; 甲醇、乙腈为色谱纯(美国Tedia公司); 水为超纯水(自制)。维生素C对照品(购自中国药品生物制品检定所), 供含量测定用, 批号: 100425-200301。维生素C片(购自市场)。

2.3 色谱条件

色谱柱: Exformma C₁₈柱(4.6mm×250mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.015mol/L 醋酸钠(体积比5:95), 使用前用孔径为0.45μm的微孔滤膜过滤, 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254nm; 柱温: 30℃; 进样量: 20μL。在此色谱条件下, 理论塔板数按维生素C峰计算均在6000以上, 能够到达基线分离。

2.4 对照品溶液的配制

精密称取维生素C对照品0.0188g, 置于50mL棕色容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得维生素C对照品储备液。精密吸取对照品储备液2mL于50mL棕色容量瓶中, 加入流动相并稀释至刻度, 摇匀, 即得维生素C对照品溶液(每1mL中含维生素C 15.04μg)。

2.5 供试品溶液的制备

取10片维生素C片, 研匀。精密称取0.02g于50mL棕色容量瓶中, 精密加入流动相25mL, 超声5分钟, 过滤, 精密吸取续滤液1mL于25mL棕色容量瓶中, 加入流动相并稀释至刻度, 摇匀, 用0.45μm滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

作者简介: 陈再洁, 女, 1984年出生, 本科, 2006年毕业于遵义医学院药理学系, 一直从事药物质量标准研究等。

2.6 阴性对照品溶液的制备

除维生素C以外,按本品处方辅料比例称取淀粉、糊精、羟丙纤维素、亚硫酸氢钠、柠檬酸、硬脂酸镁等适量,依照工艺制成阴性模拟制剂,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

3 结果与讨论

3.1 干扰试验

按上述色谱条件,分别吸取流动相、阴性对照品溶液、对照品溶液、供试品溶液各 $20\mu\text{L}$ 进样测定。由结果可以看出,维生素C片中其它成分对测定无干扰。

3.2 检测限和定量限

按信噪比 $S/N=3$,实验得出检测限为 2.4ng ;按信噪比 $S/N=10$,实验得出定量限为 7.2ng 。

3.3 线性关系考察

精密吸取对照品储备液 $0.5, 1.0, 1.5, 2.0\text{mL}$ 于 50mL 棕色容量瓶中,精密吸取 $4.0, 6.0, 8.0\text{mL}$ 于 25mL 棕色容量瓶中,分别加入流动相并稀释至刻度,摇匀。吸取上述溶液,分别进样 $20\mu\text{L}$,以浓度 $X(\text{ng})$ 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,得回归方程: $Y = 945.47X - 106.69$, $r = 0.9999$,线性范围为 $37.6 \sim 601.6\text{ng}$ 。

3.4 精密度考察

精密吸取 $C = 15.04\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液 $20\mu\text{L}$,连续进样6次,测得其 $RSD = 0.213\%$,表明方法精密度良好。

3.5 稳定性考察

按3.3项方法处理一份样品,分别在样品放置 $0, 1, 2, 4, 6, 8, 10\text{h}$ 时精密吸取 $20\mu\text{L}$ 进样测定,计算出维生素C的平均峰面积为 147263 , $RSD = 0.35\%$ 。说明供试品溶液在 10h 内是稳定的。

3.6 重复性考察

取同一样品6份,分别按3.3项方法处理并进行测定,测得其含量的 $RSD = 0.51\%$ 。

3.7 加样回收率考察

精密称取已知含量的供试品适量(约相当于维生素C 10mg)9份,分别置于 50mL 棕色容量瓶中,分为3组,每组3份,每组分别加入维生素C对照品 $2, 10, 50\text{mg}$,按3.3项方法处理,分别吸取 $20\mu\text{L}$ 进样测定。计算其平均回收率为: 99.51% , $RSD =$

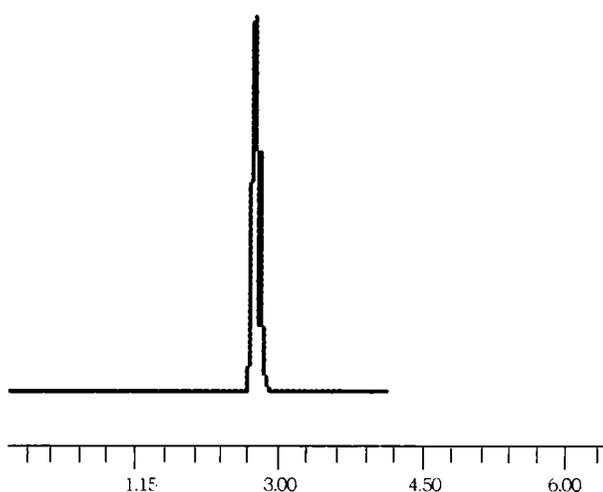
0.53% ($n = 9$)。

3.8 样品测定

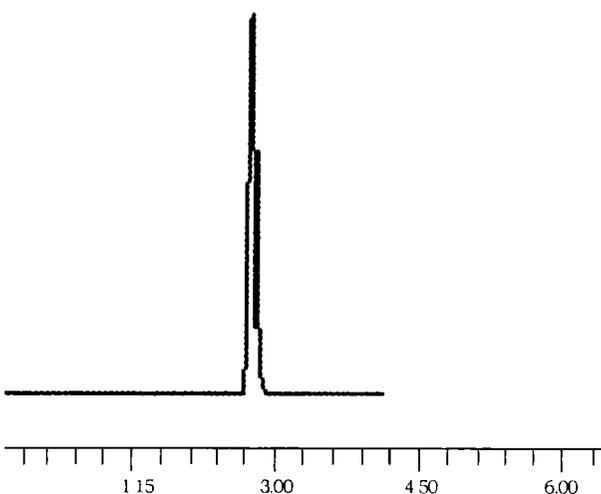
选取相同厂家不同批号的样品,按上述测定方法测定 V_C 含量,结果见表1。图1为维生素C的对照品溶液(a)和供试品溶液(b)的HPLC图。结果表明,该方法测定结果稳定,重现性好。

表1 样品测定结果(标示量%)

批号	碘滴定法	HPLC法
070301	96.64	99.02
070603	105.35	98.67
070904	102.81	99.68



(a)



(b)

图1 维生素C的对照品溶液(a)和供试品溶液(b)HPLC图

3.9 讨论

(1) 波长的选择 取维生素 C 对照品溶液, 在 190nm ~ 400nm 范围内进行波长扫描, 得到光谱扫描图, 结果显示在 254nm 处有最大吸收, V_C 也能达到基线分离, 因此本实验选择 254nm 作为检测波长。

(2) 流动相的选择 考察了乙腈-磷酸二氢钾^[2]、甲醇-醋酸铵-醋酸^[3]、甲醇-醋酸铵、甲醇-磷酸二氢钾^[4]、甲醇-醋酸-水^[9]等系统, 均不能得到满意的色谱峰, 后来选择甲醇-醋酸钠, 并对流动相的比例、柱温和流速进行反复筛选, 最后确定了色谱工作条件。在该条件下进行测定, 得到了良好的峰形、适当的保留时间和较高的理论板数(均符合药典相关规定)。

(3) 样品提取溶剂的选择 在相同条件下, 考察了甲醇、50%甲醇、乙醇、50%乙醇及流动相作为提取溶剂的情况。结果表明, 流动相的提取率最高, 且甲醇、50%甲醇、乙醇、50%乙醇的样品溶液在放置较短时间(约 2h)后, 颜色均有变化, 且峰面积有所下降, 影响了实验结果的准确性, 而用流动相作为溶剂在 10 小时内均无变化, 因此本实验选择流动相作为提取溶剂。

(4) 样品提取时间的选择 在相同条件下, 考

察了样品在进行 1、3、5、8、10min 超声的情况。结果表明, 样品在超声 5min 时提取率最高, 在 8min 和 10min 时均无明显的提高, 因此本实验选择超声 5min 作为样品的提取时间。

参考文献

- 1 刘继平, 李涛, 孙静. 现代中医药杂志, 2006, 26(3): 61-62
- 2 尤卫民, 吴韶铭. 中成药杂志, 2001, 23(8): 565-566
- 3 李春成, 余丽丽, 杨星昊等. 科技通报杂志, 2004, 20(4): 349-354
- 4 贾君. 冷饮与速冻食品工业, 2004, (2): 34-35
- 5 冯德明, 周晓霞. 饮料工业, 2003, (1): 45-48
- 6 李小娟, 杨润. 江苏预防医学, 2004, (1): 63-64
- 7 刘冬英, 方少瑛, 王林静. 食品工业科技, 2004, (3): 129-130
- 8 吴晓娜, 黄承钰, 孙爱民, 杨咏涛. 营养学报, 2002, (3): 82-84
- 9 药典委员会. 中华人民共和国药典(二部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 670

收稿日期: 2008-07-02

HPLC determination of vitamin C in vitamin C tablets. Chen Zaijie, Zheng Jianming, Wang Zhi (Jiangsu Tianrui Information Technology Co., Ltd., Suzhou, 215300)

Objective: To establish a method for the determination of V_C in vitamin C tablets. Methods: An Exformma C_{18} column (4.6mm × 250mm, 5 μ m) was used for separation with MeOH-0.015 mol/L NaAC (5:95, V/V) as mobile phase and detection at 254nm. Results: The linear range was 37.6~601.6ng ($r = 0.9999$, $n = 7$), RSD=0.53% ($n = 9$) and average recovery was 99.03%. Conclusion: The results of determination are stable and have good reproducibility. The method is easy-to-operate and is suitable for quality control of vitamin C tablets.

· 书讯 ·

乳品分析与检验

李春主编

化学工业出版社

2008年3月出版

本书内容包括三大部分: 一是乳品基础知识, 包括乳样的采集、保存和分析与检测中材料, 原料乳和乳制品概况, SPSS 统计分析软件的应用。二是影响原料乳质量因素和现代乳品检测技术。三是乳和乳制品的理化、感官、微生物分析与检验, 包括乳和乳制品感官评价、液态乳制品质量分析检验、固态乳制品质量分析与检验、乳制品生产原辅料成分分析与检验、乳和乳制品微生物分析与检验、乳制品中营养成分分析检测、乳制品中重金属及农药残留分析检验、功能乳制品中活性成分与检验。

读者对象: 食品工程、发酵工程、生化工程等相关专业师生。