

高效液相色谱法测定猕猴桃中 V_C 含量

杨玉琼 (毕节学院, 贵州毕节 551700)

摘要 [目的]建立猕猴桃中 V_C 的高效液相色谱测定法。[方法]以甲醇-0.5% 磷酸(8:75)为流动相,用 Supelco C8 柱(25 cm×4.6 mm, 5 μm)进行分离,于波长 258 nm 处检测。[结果]线性范围为 0.324~5.120 μg (r=0.998),回收率为 99.87%,RSD 为 1.8%。[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,适于猕猴桃中 V_C 含量的质量控制。

关键词 猕猴桃;V_C;HPLC

中图分类号 0657.7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)22-10359-02

Study on Determination of Vitamin C in Kiwifru by HPLC

YANG Yu-qiong (Bijie University, Bijie, Guizhou 551700)

Abstract [Objective] HPLC of V_C in kiwifru was established. [Method] An Supelco C8 column(25 cm×4.6 mm, 5 μm) was used for separation, with methanol-0.5% phosphoric acid (8:75) as mobile phase and detected at 258 nm. [Result] The linear range was 0.324-5.120 μg (r=0.998), and average recovery was 99.87%, and RSD was 1.8%. [Conclusion] The results of determination were stable and simple. It can be used to simultaneously determine vitamin C in kiwifru.

Key words Kiwifru;V_C;HPLC

猕猴桃又叫藤梨、阳桃、猕猴桃梨,其性味甘酸而寒,有解热、止渴、通淋、健胃的功效^[1],尤其是 V_C 的含量远超出一般水果,被誉为“V_C 之王”^[2]。V_C 的化学成分为 L-抗坏血酸,由于其具有很强的还原性,因此在质量检验标准中均采用氧化还原滴定法进行含量测定^[3]。由于测定方法和观察方法影响,含量波动较大。因此,笔者提出用高效液相色谱法(HPLC)测定猕猴桃中 V_C 含量。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂 HP1100 高效液相色谱仪附紫外检测器(Agilent Technologies Co. Ltd, USA);V_C 标准品(购自 Sigma 公司);乙腈、甲醇(色谱纯);无水乙醇、乙醚(分析纯)。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件。色谱柱:Supelco C8 柱(25 cm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.5% 磷酸(8:75);流速:1.0 ml/min;检测波长:258 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μl。在此色谱条件下,理论塔板数按 V_C 峰计算均在 6 000 以上,能够到达基线分离。

1.2.2 对照品溶液的配制。精密称取 V_C 对照品 0.01 g,置

于 25 ml 棕色容量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 V_C 对照品储备液。精密吸取对照品储备液 1 ml 于 25 ml 棕色容量瓶中,加入甲醇并稀释至刻度,摇匀,即得 V_C 对照品溶液(每 1 ml 中含 V_C 16 μg)。

1.2.3 样品处理。称取适量新鲜去皮猕猴桃于匀浆机磨成浆状后移入 500 ml 容量瓶中,用甲醇洗涤匀浆机,洗液也转移至容量瓶。加适量甲醇,充分摇匀,超声辅助提取,静止几分钟后,过滤(弃去最初流出的溶液)。精密吸取续滤液 1 ml 于 25 ml 棕色容量瓶中,加入甲醇并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液,即得。

1.2.4 标准曲线的绘制。分别取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 ml 0.4 mg/ml V_C 标准储备液置 10 ml 容量瓶中,用甲醇稀释成 20、40、80、120、160 μg/ml 不同浓度的混合标准系列,各进样 20 μl 进行 HPLC 测定,以 V_C 标准溶液浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线或进行线性回归。

1.2.5 样品的测定。按照样品处理方法和色谱条件,测定相应猕猴桃 V_C 的含量。



注:A 为土大黄苷标准品;B 为样品;峰 1 为 V_C。

Note: A. Rhapontin standard; B. Standard; Peak 1. V_C.

图1 高效液相色谱图

Fig.1 HPLC

2 结果与分析

2.1 色谱条件选择 采用岛津紫外扫描仪对 V_C 标准溶液进行波长扫描,最大吸收波长为 258 nm(图 2)。流动相的选

作者简介 杨玉琼(1964-),女,贵州毕节人,副教授,从事化学教育、化学分析方面的研究工作。

收稿日期 2009-05-31

择参考其他试验方法,分别采用:甲醇-0.015 mol/L 醋酸钠(5:95)^[4],流动相:甲醇-0.1 磷酸(5:95)^[5]作为流动相,考虑到V_c本身化学结构的影响,最终选择甲醇-0.5%磷酸(8:75)作为流动相,分离效果比较好。

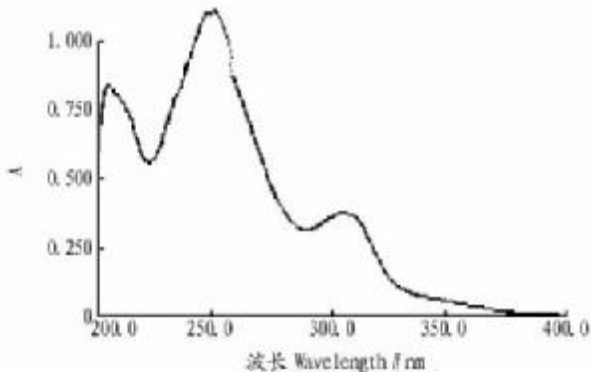


图2 紫外扫描图谱

Fig.2 UV scanning map

2.2 线性范围 按照上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标作标准曲线,得回归方程为: $Y = 0.21 + 2.467.32X$, $r = 0.998$ 。结果表明,进样量在0.324~5.120 μg范围峰面积与进样量呈良好线性关系。

2.3 精密度试验 对同一浓度对照品溶液,分别进样5次,每次20 μl,测得V_c含量,计算相对标准偏差RSD为0.2%,表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验 取同一批号的供试品,按供试品溶液制备项下操作,平行制备5份,按色谱条件测定百分含量,V_c的平均含量为10.81 μg/g,RSD为1.23%,说明该样品成分测定的重复性较好。

2.5 重复性试验 取同一批号的供试品,按供试品溶液制备项下操作,平行制备5份,按色谱条件测定百分含量,V_c的平均含量为10.81 μg/g,RSD为1.23%,说明该样品成分测定的重复性较好。

2.6 回收率试验 准确称取已知含量的猕猴桃5份,各0.5 g,分别准确加入对照品1.0 mg,按样品溶液的制备项下操作,在上述液相条件下进行HPLC分析。每个样品测定3次,根据峰面积计算平均回收率,其结果为99.87%,RSD为

1.8%。结果表明,回收率符合测定要求。

2.7 样品的含量测定 取3批样品,按上述供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,依上述色谱条件测定含量,分别进样20 μl,记录色谱图。由表1可知,猕猴桃V_c平均含量为10.81 μg/g。

表1 样品中V_c的含量

Table 1 V_c Contents of samples

组别	样品含量//μg/g	RSD//%
Groups	Samples contents	
1	10.83	0.10
2	10.80	0.13
3	10.81	0.11

3 结论与讨论

3.1 色谱条件的选择 试验表明,流动相中磷酸的含量对V_c的影响较大,V_c在中性和弱酸性条件下稳定,经试验确定试验中磷酸体积比。对V_c对照品溶液进行了紫外全波长扫描结果显示,V_c在258 nm处有最大吸收,故检测波长定为258 nm。

3.2 提取溶液的选择 V_c具有亲水性,分别采用不同浓度的甲醇提取,其含量测定结果差异显著,提取效果及稳定性均好,其中75%甲醇提取率最高,因此,用75%甲醇为提取溶剂,并辅助超声提取。

3.3 方法的耐用性 固定流动相和检测波长,试验中通过改变柱温、流速、色谱柱部分色谱条件测定维生素C的含量,测定结果均相同,表明该方法耐用性好。该方法简便、准确,可作为猕猴桃的定量质控标准。

参考文献

- [1] 马清温,万鹏,孙震晓,等. 山东药用植物[M]. 济南:山东科技出版社,1998:140.
- [2] 余纲哲. 食品资源化学[M]. 汕头:汕头大学出版社,1996:122-125.
- [3] 凌育赵,刘经亮. 猕猴桃果酱中维生素C测定方法的比较研究[J]. 中国调味品,2009(2):101-102.
- [4] 陈再浩,郑建明,王智. 高效液相色谱法测定维生素C片中V_c含量[J]. 分析仪器,2008(6):37-38.
- [5] 李文玉,李虎将. HPLC法测定维生素C制剂[J]. 中国药事,2008,22(9):810.

(上接第10334页)

平的重要因素。统计分析方法的正确运用已日益引起广大科学工作者的重视。目前仍有一些科研人员在试验设计和数据收集与整理、资料的分析与表达、结果的解释与陈述方面存在不少漏洞,从而影响了论文的质量。从目前国内发表的研究论文来看,这种情况并不少见。笔者以优化试验为例,对一些常见的统计学错误进行了归纳总结和整理,希望能够对广大科研工作者提供一些帮助。

参考文献

- [1] 明道绪. 生物统计附实验设计[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [2] 李永红. 医学论文中常见的统计学错误与处理[J]. 海峡预防医学杂志,2007,13(1):94-95.
- [3] 胡良平,高辉. 《中西医结合学报》2006年第1期论文中统计学应用错

误辨析[J]. 中西医结合学报,2008,6(1):98-106.

- [4] 吴青. 医学论文中常见的统计学错误分析[J]. 山东医学高等专科学校学报,2008,30(4):298-300.
- [5] 潘发明,夏果,廖芳芳,等. 临床科研论文中常见的统计学错误分析(二)[J]. 安徽医药,2008,12(6):576-577.
- [6] 杨盛,侯红萍. 高效降解纤维素混合菌的筛选及其产酶条件的研究[J]. 中国酿造,2008(21):20-23.
- [7] 韩晶,李宝坤,李开雄. 嗜热β-葡聚糖酶产生菌的筛选及其培养基优化研究[J]. 中国酿造,2008(21):33-36.
- [8] 刘月华,施云芬,周兆梅. 凝集型酵母聚凝体分离的研究[J]. 中国酿造,2008(21):41-43.
- [9] 方积乾. 医学统计学与电脑实验[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001.
- [10] 刘沛. 回归诊断是多元回归资料再开发的有力工具[J]. 中国卫生统计,1993,10(3):39-40.
- [11] 程新,魏赛金,江莉,等. 统计软件R及其在《生物统计学》实验教学中的应用[J]. 统计教育,2008(4):29-31.