

HPLC 和 UV 法对比测定蚊不叮霜中 VB₁ 的含量

朱家航¹, 李艳², 朱金芳¹, 梁嘉培¹, 巴俄江·努哈依甫¹

(1. 新疆农业大学, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆银朵兰维药股份有限公司, 乌鲁木齐 830000)

摘要:【目的】对比研究高效液相色谱法(HPLC)和紫外可见分光光度法(UV)测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 含量。为高效、快速、准确测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 的含量奠定基础。【方法】UV 法的检测波长为 246 nm, 采用百分吸收系数法计算维生素 B₁ 的含量; HPLC 法检测波长为 267 nm, 色谱柱选用 C18 柱。【结果】UV 法在 7.47~14.94 μg/mL 范围内线性关系良好($r=0.9993$), 精密密度实验 RSD=0.30%, 重复性实验 RSD=1.04%, 平均回收率 105.13%, RSD=1.72%, 样品在处理 30 min 内稳定(RSD=0.91%); HPLC 法在 4.85~11.31 μg/mL 范围内线性关系良好($r=0.9999$), 精密密度实验 RSD=0.28%, 重复性实验 RSD=0.90%, 平均回收率 101.77%, RSD=1.93%, 样品在处理 12 h 内稳定(RSD=0.39%)。【结论】HPLC 法测得三批样品的平均含量分别为 8.39、8.39、8.45 mg/g; UV 法测得三批样品的平均含量分别为 8.73、8.70、8.77 mg/g。UV 法及 HPLC 法的精密密度、重复性均较好, 但 UV 法测得含量及回收率均偏高, 测定准确度不如 HPLC 法, 且 UV 法稳定性较差, 故最终确定采用 HPLC 法测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 的含量。

关键词:蚊不叮霜; 维生素 B₁; HPLC 法; UV 法; 含量测定

中图分类号:S-3

文献标识码:A

文章编号:1001-4330(2020)10-1892-08

0 引言

【研究意义】维生素 B₁ 又称硫胺素, 分子式为 C₁₂H₁₇ClN₄OS·HCl, 属于水溶性维生素 B 族中的一种, 是维持机体正常代谢及功能不可或缺的一类低分子化合物, 对神经系统起到保护作用。其在酸性溶液中很稳定, 在碱性溶液中不稳定, 易被氧化而分解变质, 光、热对其影响较大, 故应置于遮光、凉处保存^[1-2]。建立 UV 和 HPLC 法测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 含量的方法, 对蚊不叮霜中维生素 B₁ 含量测定有实际意义。【前人研究进展】由于分子中存在共轭双键结构, 因此, 在紫外区有吸收峰, 最大吸收波长为 246 nm, 对应的百分吸收系数为 421。李艳霞等^[3]研究发现在 NaOH 介质中, 维生素 B₁ 可将 K₃[Fe(CN)₄] 定量还原为 K₄[Fe(CN)₄] 与 Fe³⁺ 发生反应生成可溶性普鲁士蓝, 由此建立了铁氰化钾分光光度法间

接测定维生素 B₁ 的含量。王瑞勇等^[4]基于在酸性条件下, 柠檬酸钠将氯金酸还原成纳米金后可与维生素 B₁ 发生相互作用, 纳米金发生凝聚, 其最大吸收峰产生了红移, 建立了比色测定法测定维生素 B₁ 的含量, 成功定量分析了片剂和注射液中的维生素 B₁。李丹凤^[5]采用 HPLC 法同时测定了三维葡磷钙咀嚼片中 VB₁ 和 VB₂ 的含量。吕惠卿^[6]建立了高效液相色谱-荧光检测法测定了复合维 B 片中 VB₁ 的含量, 简便、快速、准确。韩宇等^[7]以二极管阵列检测器(DAD)进行检测同时测定了复方氨基丁酸维 E 胶囊中 VB₁ 和盐酸的含量。维生素 B₁ 的含量测定方法主要有 UV 法^[8]、HPLC 法^[9-14]、核磁共振法^[15]、荧光分析法^[16]、化学发光法^[17] 及毛细管电泳法^[18] 等。《中国药典》2015 版(二部)^[19] 中采用 UV 法测定其测定维生素 B₁ 片剂及注射液中维生素 B₁ 的含量, 简单、可靠。采用 HPLC 法检查其有关物质。

收稿日期(Received): 2020-03-05

基金项目: 新疆“十三五”重大专项“马脂产品加工关键技术研发及产业化”(2017A01002-4-3); 新疆农业大学创新创业训练计划“马油驱蚊霜的研发”(201910758354)

作者简介: 朱家航(1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向为新疆药食两用特色资源的开发与利用, (E-mail) 609353547@qq.com

通信作者: 朱金芳(1976-), 女, 新疆乌鲁木齐人, 副教授, 博士, 研究方向为食药天然产物, (E-mail) zjf7619@126.com

【本研究切入点】近年来,针对于维生素 B₁ 的测定多集中于 UV 法和 HPLC 法,就 2 种方法测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 的含量进行对比,【拟解决的关键问题】研究对比 UV 法和 HPLC 法测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 的含量,为蚊不叮霜中维生素 B₁ 含量测定方法的确定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

高效液相色谱仪(LC-20,日本岛津公司);紫外分光光度计(UV2550,日本岛津公司);紫外-可见分光光度计(T6 新世纪,北京普析通用仪器有限责任公司);电子天平(AL204-IC,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);pH 计(pHS-3C,上海仪电科学仪器股份有限公司);电热恒温水浴锅(W201,上海申生科技有限公司);高速冷冻离心机(SF-GL-16A,上海非恰尔分析仪器有限公司);真空抽滤泵(VP50,武汉集思仪器设备有限公司)。

1.1.2 试剂

蚊不叮霜(自制,规格 10 g : 80 mg,批号 20181225-1,20181225-2,20181225-3);维生素 B₁ 对照品(购于中国食品药品检定研究院,纯度 97.9%);甲醇、乙腈、庚烷磺酸钠、磷酸、三乙胺为色谱纯,盐酸为分析纯,水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 UV 法测定 VB₁ 含量

1.2.1.1 溶液的配制

(1) 供试品溶液

精密称取蚊不叮霜 1 g(约相当于维生素 B₁ 8 mg)于 50 mL 碘量瓶中,加入盐酸溶液约 40 mL,70℃ 水浴加热并不断振摇 10 min 后,再置冰水浴(0℃)中冷却 20 min,过滤至 100 mL 容量瓶中,按上述步骤用盐酸溶液重复提取膏体部分 2 次,每次约 30 mL,将 3 次提取液合并至 100 mL 容量瓶中定容,摇匀。精密吸取 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用盐酸溶液稀释至刻度,即得。

(2) 阴性对照溶液

精密称取不含维生素 B₁ 的蚊不叮霜阴性对照样品 1 g,按“1.2.1.1”项下,供试品溶液的配制方法制备。

(3) 对照品储备液

精密称取适量干燥至恒重的维生素 B₁ 对照品 25 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加入盐酸溶液约 70 mL 摇匀溶解维生素 B₁,加入盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,制成 0.25 mg/mL 的对照品储备液,并将其放入冰箱中冷藏。

(4) 对照品溶液

精密吸取对照品储备液 5 mL,置于 100 mL 容量瓶中,用盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,制成 12.45 μg/mL 的对照品溶液。

(5) 盐酸溶液

盐酸溶液(0.1 mol/L):量取浓盐酸溶液 9 mL,用水稀释并定容至 1 000 mL,摇匀。

1.2.1.2 检测波长

取适量的对照品溶液和阴性对照溶液,在 200~800 nm 波长范围内进行波长扫描。

1.2.1.3 线性关系

精密吸取对照品储备液 0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60 mL,分别用盐酸溶液配置成 7.47、8.72、9.96、11.21、12.45、13.70、14.94 μg/mL 系列浓度后,测定。

1.2.1.4 精密度

取对照品溶液适量,以溶剂为空白,在 246 nm 处测定吸光度值,连续测定 6 次,记录吸光度值。

1.2.1.5 重复性

分别精密称取同一批号蚊不叮霜(批号 20181225-1)6 份,按“1.3.1.1”项下,供试品溶液配制方法配制,在 246 nm 波长处测定维生素 B₁ 的吸光度,采用百分吸收系数法按 C₁₂H₁₇ClN₄OS·HCl 的百分吸收系数(E_{1cm}^{1%})为 421,计算维生素 B₁ 的含量。计算公式如下:

$$C = \frac{A}{100E_{1cm}^{1\%}l} \text{ 含量}(\%) = \frac{C \times D}{W} \times 100\%$$

C—供试品溶液的浓度(g/mL);A—吸光度值;E:吸收系数;l—比色皿液层厚度(cm);D—稀释倍数;W—供试品的取样量(g)。

1.2.1.6 加标回收率

分别精密称取 6 份已知含量的供试品(批号 20181225-1),每份约 0.5 g,分别精密加入维生素 B₁ 对照品储备溶液 17 mL,按“1.2.1.1”项下,供试品溶液配制方法配制,测定。

1.2.1.7 稳定性

取同一供试品溶液,室温条件下放置,分别于0、5、10、20、30 min 测定。

1.2.2 HPLC 法测定 VB₁ 含量

1.2.2.1 溶液的制备

(1) 供试品溶液

精密称取蚊不叮霜 1 g(约相当于维生素 B₁ 8 mg)于 50 mL 碘量瓶中,加入盐酸溶液约 40 mL,水浴加热并不断振摇 10 min 后,再置冰水浴中冷却 20 min,过滤至 100 mL 容量瓶中,按上述步骤用盐酸溶液重复提取膏体部分 2 次,每次约 30 mL,将 3 次提取液合并至 100 mL 容量瓶中定容,摇匀。精密吸取 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度。

(2) 对照品储备液

精密称取适量干燥至恒重的维生素 B₁ 对照品 10.1 mg,置于 25 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,配制成 0.404 mg/mL 的储备液。

(3) 对照品溶液

精密吸取对照品储备液 1 mL,置于 50 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,制成 8.08 μg/mL 的对照品溶液。

1.2.2.2 检测波长

取适量的对照品溶液,在 200 ~ 800 nm 波长范围内进行扫描。

1.2.2.3 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C18 柱(150 × 4.6 mm, 5 μm);

流动相: 甲醇 - 乙腈 - 0.02 mol/L 庚烷磺酸钠溶液(含 1% 三乙胺,用磷酸调 pH 值至 5.5) = 9:9:82;

流速: 1.0 mL/min;

检测波长: 267 nm;

进样量: 20 μL;

柱温: 室温;

采用外标法峰面积定量。

1.2.2.4 系统适用性

在上述色谱条件下,取空白溶剂、维生素 B₁ 对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进样。

1.2.2.5 线性关系

精密吸取对照品储备液 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL,用流动相分别配置成 4.85、6.46 μg/mL、

8.08、9.70、11.31 μg/mL 系列浓度测定。

1.2.2.6 精密度

取对照品溶液适量,按上述色谱条件连续测定 6 次,记录峰面积。

1.2.2.7 重复性

分别精密称取同一批号的蚊不叮霜(批号 20181225 - 1)6 份,按“1.2.2.1”项下,供试品溶液制备方法配制,按上述色谱条件测定维生素 B₁ 的峰面积,按外标一点法计算含量。

1.2.2.8 加标回收率

精密称取 6 份已知含量的供试品(批号 20181215 - 1),每份约 0.5 g,分别精密加入维生素 B₁ 对照品储备液 10 mL,按“1.2.2.1”项下配制方法,按上述色谱条件测定。

1.2.2.9 稳定性

取同一供试品溶液,于室温下放置 0、2、4、6、8、12 h,按上述色谱条件测定。

1.2.3 三批样品含量

三批样品(批号 20181225 - 1、20181225 - 2、20181225 - 3)分别进行 HPLC 法和 UV 法的测定。

2 结果与分析

2.1 UV 法测定维生素 B₁ 含量

2.1.1 检测波长的选择

研究表明,在 246 nm 处有最大吸收,维生素 B₁ 阴性对照溶液 200 ~ 800 nm 结果为在 246 nm 处无吸收,表明在 246 nm 处测定维生素 B₁ 有最大吸收且其他成分无干扰。选定 246 nm 为测定波长。图 1,图 2

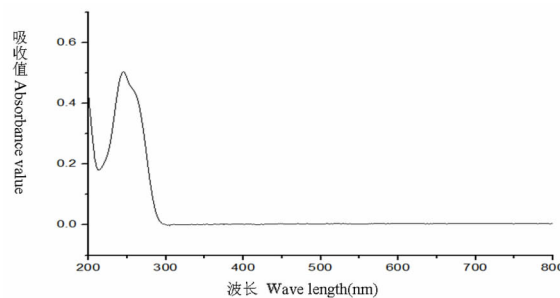


图 1 维生素 B₁ 对照品溶液全波

Fig.1 Full - wave scan of vitamin B₁ reference solution

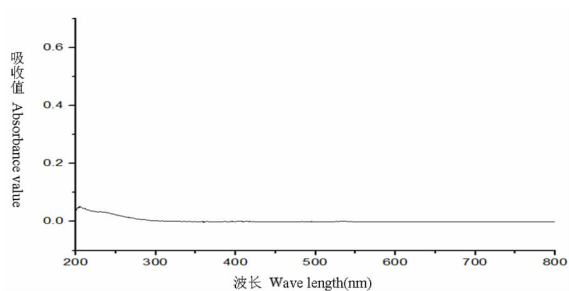


图2 阴性对照溶液全波
Fig. 2 Full - wave scan of negative solution

2.1.2 线性关系

以浓度(C)为横坐标,吸光度值(A)为纵坐标,进行线性回归。维生素 B₁ 对照品线性回归方程为 $A = 0.0459C - 0.0634$, $r = 0.9993$ 。说明维生素 B₁ 在 7.47 ~ 14.94 μg/mL 范围内,线性关系良好。图3

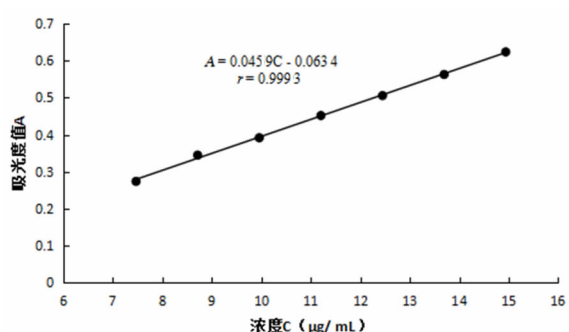


图3 维生素 B₁ 标准曲线
Fig. 3 Vitamin B₁ standard curve

2.1.3 精密度

维生素 B₁ 含量 RSD = 0.30%, 仪器精密度良好。表1

表1 精密度 (n = 6)

Table 1 Precision test results (n = 6)

测定次数 Number of measurements	吸光度 Absorbance	平均吸光度 Average absorbance	RSD (%)
1	0.506		
2	0.506		
3	0.505	0.505	0.30
4	0.505		
5	0.504		
6	0.502		

2.1.4 重复性试验

通过计算得出平均含量为 8.72 mg/g, RSD = 1.04% (n = 6), 表明该方法重复性较好。表2

表2 重复性

Table 2 Repeatability test result (n = 6)

水平 Level	含量 Content (mg/g)	平均含量 Average content (mg/g)	RSD (%)
1	8.61		
2	8.82		
3	8.75	8.72	1.04
4	8.73		
5	8.62		
6	8.81		

2.1.5 加标回收率试验

测得平均回收率为 105.13%, RSD = 1.72%, 表明回收率良好, 准确度高。表3

表3 加标回收率

Table 3 Test results of recovery rate with standard addition (n = 6)

样品	样品量 Sample size (mg)	加入量 (Addition) (mg)	测得量 Measured (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Recovery rate (%)	RSD (%)
1	4.35	4.16	8.79	106.73		
2	4.34	4.16	8.81	107.45		
3	4.36	4.16	8.69	104.09	105.13	1.72
4	4.34	4.16	8.66	103.85		
5	4.35	4.16	8.64	103.13		
6	4.36	4.16	8.75	105.53		

2.1.6 稳定性

稳定性试验结果 RSD = 0.91%, 供试品溶液

在室温放置 30 min 稳定性良好。表4

表 4 稳定性

Table 4 Stability test result

时间 (min) Time (min)	吸光度 Absorbance	平均吸光度 Average absorbance	RSD (%)
0	0.377		
5	0.375		
10	0.373	0.373	0.91
20	0.372		
30	0.368		

2.2 HPLC 法测定维生素 B₁ 含量

2.2.1 检测波长的选择

研究表明,在 267 nm 处有最大吸收,表明在 267 nm 处测定维生素 B₁ 有最大吸收。选定 267 nm 为测定波长。图 4

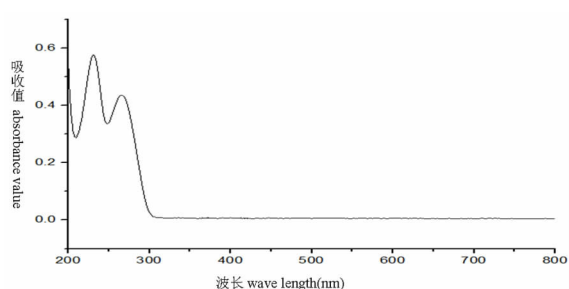


图 4 维生素 B₁ 对照品溶液全波
Fig. 4 Full-wave scan of vitamin B₁ reference solution

2.2.2 线性关系

样品中维生素 B₁ 与其他组分能够分离,理论塔板数 ($n > 3\ 000$),该方法专属性好,其他成分对测定无干扰。图 5 ~ 8

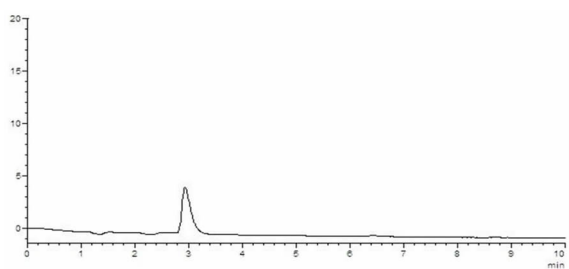


图 5 溶剂空白 HPLC 图谱
Fig. 5 Solvent blank HPLC spectrum

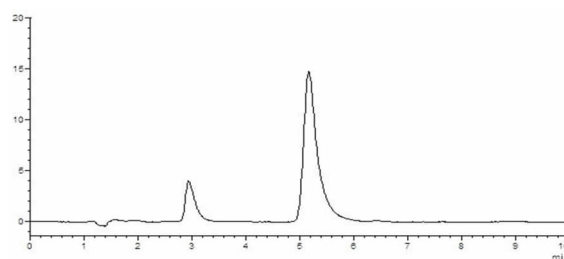


图 6 维生素 B₁ 对照品溶液 HPLC 图谱
Fig. 6 Vitamin B₁ control solution HPLC spectrum

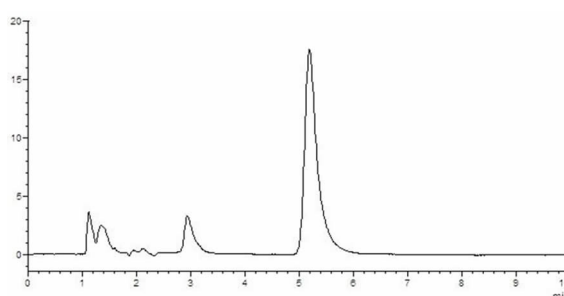


图 7 供试品溶液 HPLC 图谱
Fig. 7 HPLC spectrum of test solution

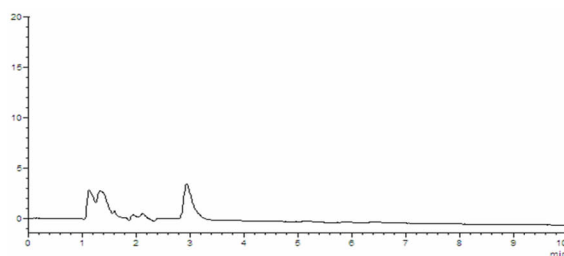


图 8 阴性对照样品溶液 HPLC 图谱
Fig. 8 Negative control sample solution HPLC spectrum

2.2.3 线性关系考察

以浓度 (C) 为横坐标,峰面积 (Are) 为纵坐标,进行线性回归,回归方程为 $A = 31\ 146 C + 4\ 562$, $r = 0.999\ 9$ 。表明维生素 B₁ 在 4.85 ~ 11.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。图 9

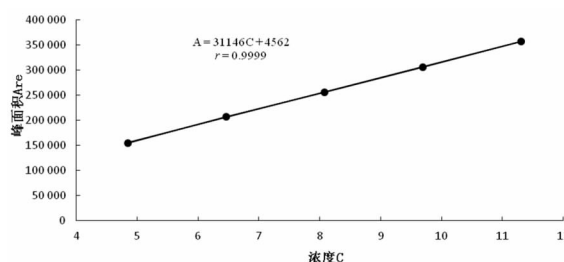


图 9 维生素 B₁ 标准曲线
Fig. 9 Vitamin B₁ standard curve

2.2.4 精密度

维生素 B₁ 峰面积 $RSD = 0.28\%$, 仪器精密度良好。表 5

表 5 精密度实验结果

Table 5 Precision test results (n = 6)

进样次数 Number	峰面积 Peak area	平均峰面积 Average peak area	RSD (%)
1	273 995		
2	273 654		
3	273 867		
4	273 749	273 330	0.28
5	272 563		
6	272 156		

2.2.5 重复性

测得平均含量为 8.39 mg/g, $RSD = 0.90\%$ (n

=6), 该法重复性良好。表 6

表 6 重复性试验结果

Table 6 Repeatability test result (n = 6)

样品号 Sample No	含量 content (mg/g)	平均含量 Average content (mg/g)	RSD (%)
1	8.35		
2	8.45		
3	8.38		
4	8.32	8.39	0.90
5	8.51		
6	8.33		

2.2.6 加标回收率

测得平均回收率为 101.77%, $RSD = 1.93\%$, 回收率良好, 准确度高。表 7

表 7 加标回收率试验结果 (n = 6)

Table 7 Test results of recovery rate with standard addition (n = 6)

样品 Sample	样品量 Sample size (mg)	加入量 (Addition) (mg)	测得量 Measured (mg)	回收率 Percent recovery (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
1	4.21	4.11	8.30	99.57		
2	4.22	4.11	8.42	102.14		
3	4.22	4.11	8.33	100.23		
4	4.22	4.11	8.54	105.09	101.77	1.93
5	4.23	4.11	8.44	102.43		
6	4.20	4.11	8.36	101.18		

2.2.7 稳定性

稳定性实验结果 $RSD = 0.39\%$, 供试品溶液在室温放置 12 h 稳定性良好。表 8

表 8 稳定性

Table 8 Stability test result

时间(h) Time(min)	峰面积 Peak area	平均峰面积 Average peak area	RSD (%)
0	273 617		
2	272 908		
4	273 588		
6	273 545	272 929	0.39
8	273 105		
12	270 811		

2.3 三批样品含量

HPLC 法测得三批样品平均含量分别为 8.39 mg/g、8.39 mg/g、8.45 mg/g; UV 法测得三批样品平均含量分别为 8.73 mg/g、8.70 mg/g、8.77 mg/g。与蚊不叮霜的标示量(8 mg/g)相比, 虽然 UV 法和 HPLC 法测得结果均在合格范围内(标示量的 90% ~ 110%, 即 7.2 ~ 8.8 mg/g), 但 UV 法测得的含量偏高, 准确度较 HPLC 法差。表 9

表 9 三批样品含量

Table 9 Comparison of content determination results of three batches of samples

样品 Sample	UV			HPLC		
	含量 Content (mg/g)	平均含量 Average content(mg/g)	RSD (%)	含量 Content (mg/g)	平均含量 Average content(mg/g)	RSD (%)
20181225 - 1	8.61	8.73	1.22	8.35	8.39	0.64
	8.82			8.45		
	8.75			8.38		
20181225 - 2	8.81	8.70	1.16	8.45	8.39	0.76
	8.63			8.32		
	8.65			8.39		
20181225 - 3	8.88	8.77	1.64	8.51	8.45	0.65
	8.81			8.43		
	8.60			8.40		

3 讨论

参考《中国药典》2015 版(二部)^[19]中维生素 B₁ 有关物质检查的 HPLC 条件,将 HPLC 流动性确定为甲醇-乙腈-0.02 mol/L 庚烷磺酸钠溶液(含 1% 三乙胺,用磷酸调 pH 值至 5.5)。经测定,在此流动相条件下,色谱峰峰形良好,柱效、分离度均达到要求,故选定该流动相为本次实验所用流动相。

UV 法的优点为操作简单、用时少、对仪器设备的要求不高^[1,8],其缺点是易受样品中辅料等其他物质的干扰,使测得结果偏大;而 HPLC 法具有较好的分离效果,能够排除其他成分的干扰,测定准确性高^[5,7,10]。研究通过对比 UV 法和 HPLC 法在测定蚊不叮霜中精密密度、重复性、回收率及测定样品含量的准确度,最终确定 HPLC 测定蚊不叮霜中维生素 B₁ 含量的方法较优。

4 结论

UV 法及 HPLC 法的精密密度、重复性均较好,UV 法测得三批平均含量分别为 8.73、8.70 和 8.77 mg/g,平均回收率 105.13%;HPLC 法测得平均含量分别为 8.39、8.39 和 8.45 mg/g,平均回收率为 101.77%,对比得出 UV 法较 HPLC 法测得三批平均含量分及回收率均偏高,故测定准确度不如 HPLC 法,且 UV 法稳定性较差,只能在室温下 30 min 稳定,HPLC 法稳定性可以在室温 12 h 稳定,确定专属性和稳定性均较高 HPLC 法测

定蚊不叮霜中维生素 B₁ 的含量。

参考文献(References)

- [1] 吴秀生,张爽,张丽媛,等. 紫外可见分光光度法测定维生素 B₁ 含量[J]. 黑龙江医药,2011,24(2):170-171.
WU Xiusheng, ZHANG Shuang, ZHANG Liyuan, et al. Determination of Content of Vitamin B₁ by UV Spectrophotometry [J]. *Heilongjiang Medicine Journal*, 2011, 24(2): 170-171.
- [2] 徐硕,徐文峰,金鹏飞,等. HPLC 法同时测定复合维生素 B 片中 5 种维生素的含量[J]. 中国药师,2018,21(1):177-180.
XU Shuo, XU Wenfeng, JIN Pengfei, et al. Simultaneous Determination of Five Vitamins in Complex Vitamin B Tablets by HPLC [J]. *China Pharmacist*, 2018, 21(1): 177-180.
- [3] 李艳霞,贾华丽,谢建平,等. 铁氰化钾分光光度法测定药物中维生素 B₁ 含量[J]. 分析科学学报,2014,30(2):294-296.
LI Yanxia, JIA Huali, XIE Jianping, et al. Spectrophotometric Determination of Vitamin B₁ in Medicine with Potassium Ferricyanide [J]. *Journal of Analytical Science*, 2014, 30(2): 294-296.
- [4] 王瑞勇,范淑敏,康小慧,等. 纳米金光度法测定维生素 B₁ [J]. 郑州大学学报(理学版),2014,46(1):83-87.
WANG Ruiyong, FAN Shumin, KANG Xiaohui, et al. Determination of VB₁ by a Colorimetric Method Based on the Aggregation of Gold Nanoparticles [J]. *Zhengzhou Univ. (Nat. Sci. Ed.)*, 2014, 46(1): 83-87.
- [5] 李丹凤. HPLC 法同时测定三维葡磷钙咀嚼片中维生素 B₁、维生素 B₂ 的含量[J]. 中国药房,2015,26(18):2549-2551.
LI Danfeng. Content Determination of Vitamin B₁ and Vitamin B₂ in Trivitamin and Calcium Gluconate, Calcium Hydrogen Phosphate Chewable Tablets by HPLC [J]. *China Pharmacy*, 2015, 26(18): 2549-2551.
- [6] 吕惠卿. 高效液相色谱-荧光检测法测定复合维 B 片中维生素 B₁ 含量[J]. 中国药业,2008,(15):24-25.

- LÜ Huiqing. Determination of Vitamin B₁ in Compound Vitamin B₁ Table by HPLC with Fluorometry[J]. *China Pharmaceuticals*, 2008, (15):24-25.
- [7] 韩宇,金立弟,高旭馨. HPLC 法测定复方氨基丁酸维 E 胶囊中维生素 B₁ 和烟酸的含量[J]. *中国药品标准*,2012,13(4):271-274.
- HAN Yu, JIN Lidi, GAO Xuxin. HPLC Simultaneous Determination of Vitamin B₁ and Nicotinic Acid in Compound Aminobutyric Acid and Vitamin E [J]. *Drug Standards of China*, 2012, 13(4):271-274.
- [8] 高青. 紫外分光光度法测定维生素 B₁ 片含量以及方法验证[J]. *中国医药指南*,2012,10(20):455-457.
- Qing. Ultraviolet spectrophotometry was used to determine the content of vitamin B₁ [J]. *Guide of Chinese*, 2012,10(20):455-457.
- [9] 陈华龙,刘旺培. HPLC 法测定复合维生素 B 片维生素 B₁、维生素 B₂、烟酰胺的含量及含量均匀度[J]. *海峡药学*, 2016, 28(2):63-65.
- Hualong, Wangpei. Determination of Content and Content Uniformity of Vitamin B₁, Vitamin B₂ and Niacinamide in Compound Vitamin B Tablets by [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2016, 28(2):63-65.
- [10] 陈彩云,魏鲜娥,蔡伟江,等. 高效液相色谱法同时测定保健食品中泛酸、烟酰胺、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 的含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(5):1866-1871.
- CHEN Caiyun, WEI Xianer, CAI Weijiang, et al. Determination of pantothenate, nicotinamide, vitamin B₁, vitamin B₂, and vitamin B₆ in healthy food by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2017, 8(5):1866-1871.
- [11] 李彩霞,苏智阳,袁文杰. HPLC 法测定维生素 B 族片中 3 种组分的含量[J]. *海峡药学*, 2017, 29(6):54-57.
- LI Caxia, SU Zhiyang, YUAN Wenjie. Determination of Three Vitamins in Compound Vitamin B Tablets by [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2017, 29(6):54-57.
- [12] 解瑞辉. HPLC 与 UV 法测定维生素 B₁ 注射液中维生素 B₁ 含量的比较[J]. *海峡药学*, 2017, 29(8):47-49.
- XIE Ruihui. Comparison of HPLC and UV for the Determination of Vitamin B₁ in Vitamin B₁ [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2017, 29(8):47-49.
- [13] 刘俊杰,耿春梅,郭曦,等. 人血清水溶性维生素 B₁、B₂、B₆ 和 B₉ 高效液相色谱串联质谱联用技术测定方法的建立和验证[J]. *中国医院药学杂志*, 2017, 37(7):617-620.
- LIU Junjie, GENG Cunmei, GUO Xi, et al. Determinations of four water soluble vitamin B₁, B₂, B₆ and B₉ in human serum by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2017, 37(7):617-620.
- [14] 梁瑞强,王聪,曹进,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中 10 种水溶性维生素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(3):966-974.
- LIANG Ruiqiang, WANG Cong, CAO Jin, et al. Determination of 10 kinds of water-soluble vitamins in food supplements by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(3):966-974.
- [15] 郭强胜,刘明珂,禹珊,等. 定量核磁共振法同时测定复合维生素 B 片中 B₁、B₂、烟酰胺和泛酸钙[J]. *波谱学杂志*, 2016, 33(3):442-451.
- GUO Qiangsheng, LIU Minghe, YU Shao, et al. Simultaneous determination of B₁, B₂, niacinamide and calcium pantothenate in compound vitamin B tablets by quantitative nuclear magnetic resonance [J]. *Chinese Journal of Magnetic Resonance*, 2016, 33(3):442-451.
- [16] 胡丹. 高效液相色谱-荧光检测法测定维生素 B₁ 片的含量[J]. *北方药学*, 2016, 13(5):1-2.
- Dan. Determination of Vitamin B₁ in Vitamin B₁ Tablets by HPLC with Fluorometry [J]. *Journal of North Pharmacy*, 2016, 13(5):1-2.
- [17] 杨凤珍,张薇. 流动注射化学发光法测定药物中维生素 B₁ 的含量[J]. *沧州师范学院学报*, 2016, 32(1):9-12.
- YANG Fengzhen, ZHANG Wei. Determination of vitamin B₁ in drugs by flow injection chemiluminescence [J]. *Journal of Cangzhou Normal University*, 2016(1):9-12.
- [18] 崔悦,左明,樊子勉,等. 毛细管电泳-电化学发光/电化学检测法同时测定维生素 B₁ 和 B₆ [J]. *分析科学学报*, 2015, 31(5):627-632.
- CUI Yue, ZUO Ming, FAN Zimian, et al. Simultaneous determination of vitamin B₁ and vitamin B₆ by capillary electrophoresis-electrochemical luminescence/electrochemical assay [J]. *Journal of Analytical Science*, 2015, 31(5):627-632.
- [19] 中华人民共和国药典(第二部) [M]. 北京:化学工业出版社, 2015. 1231-1232.
- Pharmacopoeia of the people's republic of china (II)* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015. 1231-1232.

Comparative Determination of Vitamin B₁ in Mosquitoes Repellent Cream by HPLC and UV

ZHU Jiahang¹, LI Yan², ZHU Jinfang¹, LIANG Jiapei¹, Baejiang Nuhuyifu¹

(1. Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Xinjiang Yinduolan Uygur Medicine Limited Co. Ltd., Urumqi 830000, China)

Abstract: **[Objective]** The content of vitamin B₁ in mosquito repellent cream comparatively determine by HPLC and UV spectrophotometry. **[Methods]** The detection wavelength of UV spectrophotometry 246 nm, and the content of vitamin B₁ calculated by the method of percentile absorption coefficient; the detection wavelength of HPLC 267 nm, chromatographic column C18. **[Results]** The results showed that the UV method good linear relationship in the 7.47 ~ 14.94 μg/ml range ($r = 0.999, 3$), RSD of precision experiment 0.30%, RSD of repetitive experiment 1.04%, the average recovery rate was 105.13%, RSD1.72%, and the sample was stabilized within 30 minutes after treatment (RSD = 0.91%); the HPLC method good linear relationship in the 4.85 ~ 11.31 μg/ml range ($r = 0.999, 9$), RSD of precision experiment 0.28%, RSD of repetitive experiment 0.90%, the average recovery rate was 101.77%, RSD1.93%, and the sample was stabilized within 12 hours after treatment (RSD = 0.39%). **[Conclusion]** The average contents of three batches of samples determined by HPLC method were 8.39, 8.39 and 8.45 mg/g, respectively. The average contents of the three batches of samples were 8.73, 8.70 and 8.77 mg/g. The precision and repeatability of UV and HPLC method both good, but the content and recovery of UV method were higher than of labeled amount, the accuracy of determination of UV was not as good as that of HPLC method. Furthermore, the stability of UV method was poor. Therefore, HPLC method more suitable for determining the content of vitamin B₁ in mosquito repellent cream.

Key words: repellent cream; B₁; HPLC; UV; determination

Fund project: Supported by the Major Project of the 13th Five - Year Plan of Xinjiang " R & D and Industrialization of Key Technology of Horse Fat Product Processing" (2017A01002 - 4 - 3); Entrepreneurship Training Program of Xinjiang Agricultural University Innovation " R & D of Horse Oil Mosquito Repellent Cream" (201910758354)

Correspondence author: ZHU Jinfang (1976 -) native place: urumqi, xinjiang, female, associate professor, doctor, research direction: natural products for food and medicine, (E - mail) zjf7619@126.com.