维普资讯 http://www.cqvip.com

抗坏血酸的分光光度测定法

第一医院临床药理研究室 周 蓓 朱治本

提 要 本文报道用1，10-菲咯啉铁（Ⅱ）为显色剂测定抗坏血酸的方法。该法的原理是抗坏血酸与铁（Ⅲ）和1，10-菲咯啉的混合物作用形成菲咯啉离子，在510nm检测。此法用于药物制剂及食品工业测定V_c 结果显示本法简便、快速、灵敏

关键词 抗坏血酸；分光光度法

中图分类法 O657.32；Q564

抗坏血酸的含量测定有多种方法，如2，6-二氯吲哚酚测定法[1]、旋光法[2]、2，4-二硝基苯肼比色法[3]、荧光法[4]、高压液相色谱法[5]等。本文参考Besada[6]方法，并作了改进，如显色剂的用量、待测溶液体积等方面，使应用更广、更为简便，省时。该法具有快速、灵敏、准确度较好，不需昂贵仪器之特点，可用于测定药物制剂、水果、饮料中的抗坏血酸含量。

仪器和试剂

1. 岛津UV-120型或721型分光光度计。
2. 抗坏血酸标准溶液（新鲜配制）：20mg/L。
3. 1，10-菲咯啉铁（Ⅱ）显色剂：将0.198g 1，10-菲咯啉单水物，1mol/L盐酸2ml和0.16g硫酸铁铵混合，用蒸馏水稀释至100ml。

实验方法与结果

1. 抗坏血酸浓度与吸收度的关系

精密吸取标准溶液0.4、0.8、1.6、2.4、3.2ml于试管中，各加1，10-菲咯啉铁（Ⅱ）试剂0.5ml，混匀，放置1min。用蒸馏水稀释至10ml，同时作空白试验，在波长510nm处测定吸收度。结果见表1。浓度与吸收度在0.8～6.4μg/ml范围内线性关系良好，$r=0.9999$ $b=0.1272$ $a=0.0085$ 回归方程$Y=0.0085+0.1272C$。

2. 显色剂的用量选择：

取试管数支，各加抗坏血酸标准液3.2ml。分别加显色剂0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8ml，混匀，放置1min，加水至10ml（平行做两份），并同时分别作空白对照，结果见表2。

由表2可见，显色剂用量最好在0.4～0.6ml因此采用0.5ml显色剂。

样品测定

1. 抗坏血酸片剂含量均匀度测定：

取同一厂家、同一批号的抗坏血酸10片，分别加水溶解，过滤，加水至100ml，再稀释50倍。取1.6ml试液，加1，10-菲咯啉铁（Ⅱ）试剂0.5ml，混匀，放置1min，用蒸馏水稀释至10ml，同时作空白试验，在波长510nm处测定吸收度，结果见表3。

按中国药典附录[7]“含量均匀度检查法”规定，该片剂含量均匀度检查合格。

表1 不同浓度抗坏血酸的吸收度（n=3）

抗坏血酸(μg/ml)	0.8	1.6	3.2	4.8	6.4
Ā	0.1105	0.212	0.416	0.620	0.822
SD(±)	0.00087	0.00029	0.0015	0.0015	0.00058
CV(%)	0.79	0.14	0.36	0.24	0.07

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 显色剂用量与吸收度的关系

编号	1	2	3	4	5	6
显色剂(ml)	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8
$\bar{A}(n=2)$	0.737	0.8.5	0.819	0.819	0.819	0.816

表3 片剂均匀度检查（规格：100mg/片）（n=2）

片号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{X}$
含量(mg/片)	95.35	95.60	95.84	96.03	97.38	93.31	94.43	94.56	94.61	99.34	95.705

表4 注射液中抗坏血酸含量 (n=2)

厂名	批号	规格	实测含量(mg)	标示量(%)
宜昌制药厂	880505	2ml:500mg	475.2	95.04
湖北制药厂	880504	2ml:500mg	493.6	98.72
南通制药厂	880315	2ml:500mg	466.88	93.38
重庆西南制药厂	880419	2ml:500mg	493.00	98.60
湖南制药厂	880409	2ml:250mg	242.50	97.00
武汉制药厂	871002	2ml:250mg	242.81	97.12

表5 食品中抗坏血酸的测定及回收率

样品名称		添加抗坏血酸量(μg)	实测数据(μg) 添加前	添加后	回收率(%)	样品中抗坏血酸含量
广柑	1	19.21	31.51	49.86	95.52	47.26
	2	19.21	31.51	49.31	92.66	(mg/100ml)
桔子	1	19.41	24.40	42.16	91.51	
	2	19.41	24.40	42.56	93.56	36.60
	3	19.41	24.40	42.56	93.56	(mg/100ml)
葡萄	1	31.06	10.02	37.76	89.31	
	2	31.06	10.02	37.76	89.31	7.52
香橙喀喱粉	1	32.00	14.50	43.50	90.63	(mg/100ml)
	2	32.00	14.50	43.89	91.84	22.67
	3	32.00	14.50	43.81	91.59	(mg/100g)

2. 抗坏血酸注射液含量测定：

取不同厂家、不同批号的注射液，将其稀释至含量2mg/L。按上项从"取1.6ml"开始操作。结果见表4。

结果表明，所测抗坏血酸注射液的含量，均在标示量合格范围内（90%～110%）。

3. 水果、食品中抗坏血酸的测定及其回收率。

（1）广柑、桔子去皮，研碎，取汁，离心3min（1.5万r/min），取上清液1ml，加水2ml（为样品液）。取0.2ml该样品液，按上"1"项从"加1,10-菲咯啉铁（Ⅱ）"操作。结果见表5。

（2）将香橙喀喱粉2g，加水溶解，过滤，加水至50ml(为样品液)。按上"1"项从"取1.6ml"操作。结果见表5。

（3）将洗净、晾干的新鲜葡萄，去皮、研碎，取汁，离心3min（1.5万r/min）。取上清液1ml，加水2ml（为样品液）。取0.4ml，按上"1"项从"加1,10-菲咯啉铁（Ⅱ）"操作。结果见表5。

维普资讯 http://www.cqvip.com

讨　论

1. 本法测定抗坏血酸的依据是：抗坏血酸被1，10-菲咯啉铁（Ⅲ）中的Fe（Ⅲ）氧化为脱氢抗坏血酸，Fe（Ⅲ）还原为Fe（Ⅱ），从而比色测定Fe（Ⅱ）与1,10-菲咯啉的显色配合物。

2. 比色测定抗坏血酸具有简便、快速、微量、经济之优点，可作为片剂均匀度检查的方法。能广泛用于医院、药厂、食品工业及农业等。

3. 据文献[6]，虽然本法测定抗坏血酸无专一性，但由于操作时间短，又在室温条件下进行氧化还原，使得测定选择性大为提高。因此，十倍量的下列物质对测定无干扰、烟酸、烟酰胺、尿素、硫脲、葡萄糖、甘露醇、谷氨酸、柠檬酸、Ca^{++}、Cu^{++}，并可用于多种维生素制剂中抗坏血酸测定。

4. Besada[6]认为，分析中所用显色剂能稳定数周，反应所生成的菲咯啉铁（Ⅱ）至少可稳定24h。

参 考 文 献

[1] 周维书. 药学通报1987; 9:549

[2] 刘世全. 药学通报1985; 8:468

[3] 刘正中, 等. 眼科进展1985; 4:30

[4] 夏贤明. 营养学报1985; 4:303

[5] Buinguyen MH. J Chromatog 1980; 196:163

[6] Besada A. Talanta 1987; 34:731

[7] 中国药典 人民卫生出版社 二部. 附录 1985. 45

(收稿日期1990-06-20)

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ASCORBIC ACID

Zhou Bei, et al

(Department of Clinical Pharmacology, The First Hospital)

This paper describes a method for determination of ascorbic acid with 1, 10-Phenanthroline-iron (III) as a colour reagent. It involves formation of ferroin when ascorbic acid reacts with a mixture of iron (III) and 1,10-Phenanthroline, and measurement of the absorbance at 510nm. This method has been applied to assay of pharmaceutical preparation and food indurstry of Vitamin C. The results show that this method is simple, rapid and sensitive

KEY WORDS spectrophotometric method; ascorbic acid