

• 工业药学 •

超声提取—HPLC 测定饲料多维预混剂中的V_A含量

姜迅知 (浙江省杭州民生药厂, 杭州 310011)

摘要 采用超声波破坏微囊结构, 正己烷提取, HPLC 测定的方法, 检测饲料多维预混剂中 V_A 微囊的含量, 样品处理过程简单, 测定结果准确, CV = 0.14%, 回收率99.13%。

关键词 超声提取 HPLC 维生素A微囊

1 仪器与试剂 法国 Gilson 高效液相色谱仪, 超声波清洗器。

维生素A醋酸酯标准品(北京卫生部生物制品检定所提供); 甲醇(HPLC 淋洗液)(上海吴泾化工厂); 乙醇(AR 级); 正己烷(AR 级)。

2 实验条件与方法

2.1 仪器性能要求

色谱柱 MICROSORB "SHORT-ONE" (C₁₈, 3 μm, 4.6×100 mm); 预柱 YWG-C₁₈ (20 μm, 4.6×50 mm); 流动相 甲醇。流速1 ml/min; 紫外检测波长328 nm; 检测灵敏度0.95 A.U., 理论塔板数按维生素A醋酸酯计算, 应不低于5000。

2.2 标准液制备

取维生素A醋酸酯标准品适量, 精密称定, 用正己烷配成浓贮备液备用(冰箱放置)。临用前用甲醇稀释成每1 ml含维生素A15IU的溶液, 直接进样。

2.3 供试品溶液的制备与测定

取样品适量(相当于维生素A1.8万 IU), 精密称定, 置50 ml 棕色量瓶中, 加80%乙醇适量, 置超声波清洗器中30 min, 破坏 V_A 微囊结构, 取出冷至室温, 加80%乙醇至刻度, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液3 ml, 加入盛有10% NaCl液2 ml 和正己烷3 ml 的15 ml 具塞刻度试管中, 快速振摇5 min, 静置, 分层, 吸取正己烷层液1 ml, 置25 ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取10 μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图和数据处理结果; 另取标准液, 精密吸取10 μl, 注入液相色谱

仪, 按外标法计算, 即得。

3 结果与讨论

3.1 液相条件测试重现性考察

取维生素A醋酸酯贮备液2 ml, 用甲醇稀释至50 ml, 摇匀, 再取5 ml, 用甲醇稀释至50 ml, 摇匀, 精密吸取10 μl, 注入液相色谱仪, 三次结果的平均值为167330 ± 238.5, 变异系数CV = 0.14%。

3.2 线性范围考察

取维生素A醋酸酯贮备液1 ml, 用甲醇稀释至50 ml, 再分别吸取1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 各稀释至25 ml, 分别进样, 每次进样10 μl, 结果为 $Y = 922 + 10539.5x$, $r = 0.9999$, 线性相关极为显著。

3.3 回收率试验

3.3.1 空白样品试验

空白样品制备, 按预混剂处方量, 去除 V_A 项, 其余量不变, 混合而成。

取空白样品0.5 g, 加80%乙醇适量, 后按样品测试法处理, 进样, 结果见图1。结果表明, 在此分析条件下, 其它成份不干扰 V_A 测定。

3.3.2 标准品回收率试验

取标准品适量, 准确加入空白样品中, 混合均匀, 加80%乙醇适量, 后按样品测试法处理, 进样, 结果为: 回收率均数99.87 ± 0.1, CV = 0.1%。

3.3.3 维生素A微囊回收率试验

取维生素A微囊适量(上海第六制药厂生产, 价40万 IU/g), 准确称定, 加入空白样品中, 混合均

匀,加80%乙醇适量,后按样品测试法处理,进样,结果为:回收率均数 99.13 ± 4.25 , $CV = 4.28\%$,图谱见图2。

3.3.4 维生素A醋酸酯标准品稳定性试验

取贮备液适量,用甲醇稀释成 15IU/ml 的溶液,间隔一段时间后测定,结果表明,用甲醇配成的稀溶液不稳定,效价易下降、放置二周,样品分解(见图3),应现配现用。而在试验的一个月中,每次都用同一贮备液,效价不变,说明维生素A醋酸酯用正己烷配成的浓贮备液在冰箱中放置比较稳定。

综上所述,超声提取——HPLC测定饲料多维预混剂中的维生素A微囊的含量可以达到令人满意的结果,因此可作为一个可靠的快速常规分析方法。

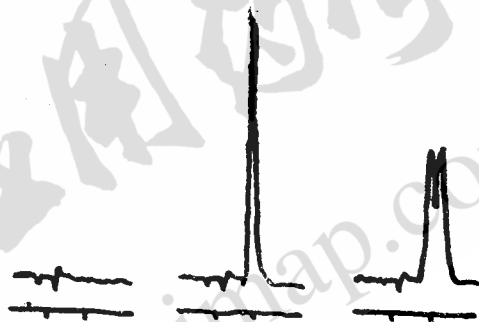


图 1
空白样品HPLC图

图 2
样品HPLC图

图 3
标准液放置二周
的HPLC图

收稿日期: 1994-09-30