

# HPLC 法测定天然胡萝卜素胶丸中 $\beta$ -胡萝卜素的含量

天津市长征医院(300021) 王学艳\* 侯向明 崔彪

**摘要** 采用 HPLC 定量测定天然胡萝卜素胶丸中  $\beta$ -胡萝卜素的含量。该法用硅胶预柱对样品进行前处理,以 ODS 柱为分析柱,以甲醇-乙腈(90:10)(pH3.0)为流动相,检测波长为 450 nm。实验表明,该方法线性良好,平均回收率为 99.2%

**关键词** 天然胡萝卜素胶丸  $\beta$ -胡萝卜素  $\alpha$ -胡萝卜素 HPLC 定量测定

近十年来, $\beta$ -胡萝卜素以其优良的着色能力及防癌、抗癌、抗衰老等药用保健特性<sup>[1]</sup>得到人们的关注。美国药典 XX I ~ XX III 版均收录了  $\beta$ -胡萝卜素胶囊。我国近年也研制成功了  $\beta$ -胡萝卜素制剂,如天然  $\beta$ -胡萝卜素口服液、天然  $\beta$ -胡萝卜素胶丸等。国内外药品标准<sup>[2,3]</sup>及文献<sup>[4]</sup>均用比色法测定  $\beta$ -胡萝卜素的含量。

天然胡萝卜素胶丸和天然  $\beta$ -胡萝卜素口服液是由盐藻中提取的天然  $\beta$ -胡萝卜素加适宜的赋形剂制成的制剂。目前,国内从盐藻中提取  $\beta$ -胡萝卜素通常使用的技术只能得到主要含全反式  $\beta$ -胡萝卜素(约含 70%),还含有少量的 9-顺式- $\beta$ -胡萝卜素(约含 8%)和  $\alpha$ -胡萝卜素(约含 6%)等其它胡萝卜素异构体的混合物<sup>[5]</sup>,所以,用上述检测方法测得的结果有可能是总胡萝卜素。HPLC 法的分析结果也证实了这一点。据报道<sup>[6]</sup>, $\beta$ 型胡萝卜素的维生素 A 样作用是  $\alpha$ 型、 $\gamma$ 型的 2 倍。因此,有效地控制该制剂的质量,对充分发挥其临床效用是极为重要的。

我们力求用 HPLC 法对胡萝卜素的异构体进行分离,以便有效地测定  $\beta$ -胡萝卜素的含量。实验证明,本文建立的方法简便、灵敏、快速。

## 1 仪器与试剂

LC-6A 高效液相色谱仪,SPD 6AV 紫外可见光检测器; $\alpha$ -、 $\beta$ -胡萝卜素对照品为 SIG-

MA 公司制,天然胡萝卜素胶丸由天津市肿瘤医院提供;其它试剂均为分析纯;预柱硅胶为青岛海洋化工厂制(100~200 目)。

## 2 色谱条件

岛津 ODS 预柱(10 $\mu$ ),50 mm $\times$ 4.6 mm i. d.;岛津 CLC-ODS,250 mm $\times$ 4.6 mm i. d.,5 $\mu$  分析柱。流动相:甲醇-乙腈(90:10),柱温 35 $^{\circ}$ C,流速:1 mL/min,检测波长 450nm,进样量 20  $\mu$ L。

## 3 实验方法

### 3.1 样品预处理方法的确定

3.1.1 预柱的制备:取 1 支 100 mm $\times$ 10 mm i. d. 底部为垂熔滤板的玻璃柱,内装 2g 硅胶,用氯仿冲洗柱床,使柱床平衡后,备用。

3.1.2 处理方法:由盐藻中提取的天然  $\beta$ -胡萝卜素成分复杂,对 HPLC 测定有一定的影响。为此,须对其进行预处理。取胶丸内容物(约含  $\beta$ -胡萝卜素 20 mg),用氯仿充分洗涤胶丸皮,将洗液定量转移至 100 mL 棕色量瓶中,用氯仿定容至刻度,精密取 5.0 mL,用氯仿稀释至 10 mL 制备成浓度为 100  $\mu$ g/mL 的溶液(A)。精密取 1.0 mL 溶液(A),加到硅胶预柱中,用氯仿洗脱。最后,定容到 10 mL,得到溶液(B)。用 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜过滤,取续滤液,在上述色谱条件下进行 HPLC 测定。

3.1.3 样品预处理后的回收率考查:精密量取溶液(B)适量,用环己烷配制成每 1 mL 含

\* Address: Wang Xueyan, Changzheng Hospital of Tianjin, Tianjin

王学艳,女,1983年毕业于天津医学专科学校药学系(现天津第二医学院),现为天津长征医院药剂科主管药师。主要从事外用制剂的开发,主管检测,在国内刊物上共发表论文 6 篇。

2~2.5 $\mu\text{g}$   $\beta$ -胡萝卜素的溶液(C),按文献的方法测定 $\beta$ -胡萝卜素的含量。另精密量取溶液(A)适量,用环己烷配制测定溶液(C),直接测定 $\beta$ -胡萝卜素的含量,并计算回收率。重复测定5次,平均回收率为99.2%。

3.2 标准曲线的制备:由于该制剂成分复杂,故采用外加对照品法进行标准曲线的制备。

取经氯仿适当稀释的天然胡萝卜素胶丸的内容物,配制外加 $\beta$ -胡萝卜素对照品的标准系列溶液2、5、8、11、14、20、60、100、140和180( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),分别精密量取1mL,在与“3.1.2”相同的操作条件下,进行色谱分析(1);另取同上述经适当稀释后的胶丸内容物(浓度与上述的一致),按上述方法处理后,进行色谱分析(2)。以 $\beta$ -胡萝卜素的浓度C对其相应的(1)-(2)的峰面积A做回归方程,结果, $\beta$ -胡萝卜素的含量在2~14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时呈现很好的线性关系。得到方程: $A = -1052.23 + 2064.37C$ ,相关系数 $r = 0.9999$ 。

3.3 相对回收率试验:取经氯仿适当稀释的天然胡萝卜素胶丸的内容物,加标准溶液,使含外加 $\beta$ -胡萝卜素的浓度为2、5、8、11、14( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),同时,加入适量的 $\alpha$ -胡萝卜素对照品,使其含量为 $\beta$ -胡萝卜素的6%,按上述方法对样品进行处理后,进行色谱分析;另取同上述经适当稀释后的胶丸内容物(浓度与上述的一致),按上述方法处理后,进行色谱分析。将测得的峰面积差代入标准曲线的线性方程中,求得相应的浓度后,计算相对回收率。测得的 $\beta$ -胡萝卜素回收率为99.2%,各个浓度点重复4次试验,RSD为0.76%,批间RSD为1.2%。

3.4 精密度试验:取同一份样品,依法平行操作,测定5次,结果RSD=0.92%。

3.5 样品测定:取天然胡萝卜素胶丸10粒中的内容物,用氯仿充分洗涤胶丸皮,将洗液定量转移至100 mL棕色量瓶中,用氯仿定容到刻度,精密量取5 mL,置50 mL棕色量瓶中,用氯仿定容到刻度,摇匀,得到溶液

(A)。然后,按“3.1.2”和“3.2”项下的方法进行的操作求得标准曲线。同法配制溶液(B),在上述色谱条件下,测定其峰面积,将峰面积值代入标准曲线中,求得 $\beta$ -胡萝卜素的浓度,经过一系列的计算,即可求得该制剂含 $\beta$ -胡萝卜素为标示量的百分数。重复操作5次,结果见表1。色谱图见图1。将溶液(B)的浓度加大10倍,依法测定,按归一化法测得3批含 $\alpha$ -胡萝卜素的量约为1.6%,二个未知物的含量总计约为2%。

表1 样品分析结果

批号	含量(%)	RSD(%)
A	95.8	0.72
B	94.9	0.61
C	95.2	0.65

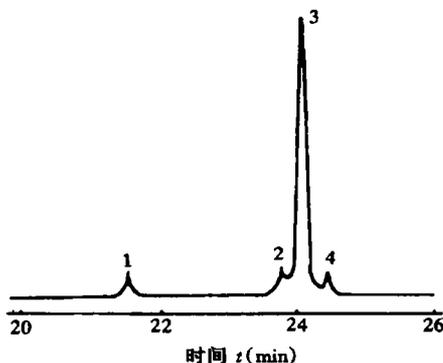


图1 样品的HPLC图

1- $\alpha$ -胡萝卜素 2-未知物  
3- $\beta$ -胡萝卜素 4-未知物

3.6 方法稳定性试验:在样品处理后0、2、4和8h时,测定批号为A的样品。结果含量分别为95.8%、95.4%、94.8%和93.7%。因此,应在样品处理后的4h内进行HPLC分析。

## 4 讨论

4.1 流动相的选择:我们研究了甲醇同氯仿、乙腈的不同比例对分离结果的影响。结果见表2。

表2 甲醇同氯仿、乙腈的不同比例对分离结果的影响:

序号	流动相	Rt( $\alpha$ -)(min)	Rt( $\beta$ -)(min)	Rs( $\alpha$ -, $\beta$ -)
1	甲醇-氯仿 90:10	13.082	13.923	1.5
2	甲醇-氯仿 95:5	18.780	20.246	2.3
3	甲醇	30.042	33.643	4.5
4	甲醇-乙腈 90:10	21.604	24.089	5.1

流动相 1 时,在  $\beta$ -胡萝卜素的前端峰沿处出现一个小峰;流动相 2 时,在  $\beta$ -胡萝卜素的后端峰沿处出现一个小峰;流动相 3 时,在  $\beta$ -胡萝卜素 后端峰沿处各出现一个小峰;流动相 4 时,在  $\beta$ -胡萝卜素的前后端峰沿处各出现一个小峰,但后面的小峰与  $\beta$ -胡萝卜素的峰接近基线分离,故本试验选择流动相为甲醇-乙腈=90:10。第 2 号和第 4 号峰估计为其他胡萝卜素异构体,由于缺少对照品无法对它们进行定性。

4.2 对本方法的评价:本文建立的方法简

便、灵敏、快速,可较准确地测定  $\beta$ -胡萝卜素的含量。该法同样适用于其他含  $\beta$ -胡萝卜素制剂的含量测定。

#### 参考文献

- 1 Mathews-Roth M M. Pure Appl Chem, 1985, 57: 717
- 2 美国药典 XX Ⅲ 版. 185
- 3 沪 Q/ws-1-2149-94
- 4 何庆元,等. 中国药科大学学报, 1996, 27(5): 310
- 5 袁 生,等. 药物生物技术, 1996, 3(1): 35
- 6 姜文侯,等. 食品发酵工业, 1994, 3: 65

(1997-07-11 收稿)

### Quantitative Analysis of $\beta$ - Carotene in Natural Carotene Capsules by HPLC

Wang Xueyan, Hou Xiangming, Cui Biao (Tianjin Chang zheng Hospital, Tianjin 300021)

**Abstract** An HPLC method was used for the quantitative determination of  $\beta$ - carotene in natural cartene capsules. The sample was pretreated with a silica gel column, and then determined on a ODS column, with a mobile phase of methanol-acetonitrile (90:10) (pH 3.0), and detected at 450nm. The linearity was very good. The average recovery was 99.2%.

**Key words** natural carotone capsules  $\beta$ -carotene HPLC

## 金乌香冲剂中槟榔碱定量方法研究

徐州市医学科学研究所(221006) 秦孟根\*

徐州市中医药研究所 刘大跃

**摘 要** 对金乌香冲剂中槟榔碱进行了酸性染料比色法定量方法研究,结果表明在 pH=5.0 时,槟榔碱可与溴甲酚绿生成稳定呈色离子对,在槟榔碱浓度范围 1.65  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~10.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  内线性关系良好,  $r=0.9992$ , 平均回收率 99.7%,  $\text{RSD}=2.1\%$  ( $n=5$ )。

**关键词** 槟榔碱 溴甲酚绿 酸性染料比色法

金乌香冲剂为我所自制纯中药制剂,对胸膈痞闷及胃脘疼痛等症有效,为控制产品质量,对其主要有效成分槟榔碱(arecoline)进行了定量方法研究,本法设备简单、结果准确、重现性好。

### 1 仪器试剂、样品、对照品

UV-160-A 紫外分光光度计(日本、岛

津), PHS-25 型酸度计(上海雷磁仪器厂),所有试剂为市售 AR 级,金乌香冲剂为本所自制,氢溴酸槟榔碱对照品由中国药科大学提供(E. M. K 分装,含量达 99.9%)。

### 2 溶液制备

2.1 供试品溶液制备:精密称取冲剂颗粒 5 份各 2.5 g 分别置于带塞三角磨口瓶中,加

\* Address: Qin Menggen, Xuzhou Institute of Medical Science, Xuzhou