

准确度分析 分别吸取 1mg/ml 尼古丁

表 2 尼古丁标准液测定结果

	取尼古丁量 (mg)	测得 Cu 量 (ug)	测得尼古丁量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	变异系数 (%)
间接法	1	195	0.994	99.4	99.7	0.20
	2	391	1.994	99.6		
	3	586	2.988	99.6		
	4	783	3.932	99.8		
	5	980	4.996	99.8		
直接法	1	195	0.994	99.4	99.5	0.13
	2	390	1.988	99.4		
	3	586	2.988	99.6		
	4	782	3.988	99.7		
	5	976	4.976	99.5		

标准液 1.00ml、2.00ml、3.00ml、4.00ml、5.00ml 各准确加入 0.2 mg/ml Cu<sup>2+</sup> 标准液 6ml, 以下操作同实验部分的实验方法, 测得结果见表 2。

由上结果可知, 用直接法和间接法测定尼古丁的结果均能保证纯样品的测定, 结果基本稳定。

样品测定 分别取 3 种不同含量的样品, 依本法测定尼古丁含量, 结果如表 3。

由以上样品测定结果说明, 对于常量及微量的尼古丁的测定, 基于多次测定的平均值结果也是好的。

(参考文献略)

表 3 样品测定结果

方 法	测 得 含 量 (%)					平 均 值 (%)	标 准 偏 差 (%)	变 异 系 数 (%)
	1	2	3	4	5			
间接法								
样品 I	12.9	12.5	13.1	12.6	12.4	12.7	0.29	2.30
样品 II	45.5	45.9	45.7	45.6	45.3	45.6	0.22	0.50
样品 III	0.231	0.218	0.231	0.258	0.242	0.236	0.0149	6.33
直接法								
样品 I	12.8	12.3	12.3	12.6	12.4	12.4	0.27	2.20
样品 II	45.1	45.6	45.4	45.9	45.7	45.5	0.31	0.60
样品 III	0.224	0.224	0.218	0.224	0.221	0.222	0.00003	1.21

## 多阶半微分吸附溶出伏安法直接测定尿中核黄素

海军医学专科学校(南京 210049) 李吉学 李新岗 朱忠和 史志伦

核黄素 (Vit. B<sub>2</sub>) 是构成脱氢酶的主要成分, 对红细胞的生成有重要作用, 是人体不可缺少的营养成分。有关核黄素的测定有荧光法和分光光度法<sup>[1]</sup>, 高效液相色谱法<sup>[2]</sup>, 极谱/伏安法<sup>[3~6]</sup>。其中有些方法灵敏度不

高<sup>[1~3]</sup>(0.1~0.5 μg·mL<sup>-1</sup>数量级), 有的富集时间长<sup>[4]</sup>(30~45 min)。虽有的文献<sup>[5,6]</sup>采用差示脉冲极谱法和差示脉冲伏安法大大提高了灵敏度, 但所用仪器复杂价高。故在此基础上, 作者用国产微机化极谱仪和多阶半微分吸附

溶出伏安法建立了核黄素简便、快速和高灵敏的分析方法,富集 180S 的检测下限达  $2.5 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $0.1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 线性范围为  $7.5 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用于人尿核黄素的测定, 变异系数为 9.1% ( $n=7$ ), 回收率为 101.7~104.0%, 与分光光度法对照基本一致。

## 实验部分

### (一) 仪器与试剂

JP<sub>3</sub>-1 型(微机化)示波极谱仪及打印机(山东电讯七厂); 三电极系统: JM-01 型悬汞电极(江苏电分析仪器厂)、饱和甘汞电极和铂丝电极分别用作工作电极、参比电极和辅助电极; 电子交流稳压电源。

核黄素储备液: 精密称取核黄素(纯度为 97.5~102.0%, 上海化学试剂采购供应站分装厂) 18.82mg, 用亚沸水溶解配成 500mL  $1.000 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的核黄素溶液, 盛棕色瓶中放冰箱备用。

NaOH 标准溶液: 称 4.0g NaOH (分析纯, 南京化学试剂厂) 用亚沸水配成 1000mL 溶液; 经标定后, 再稀释成  $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 底液。

亚沸水: 普通蒸馏水经石英亚沸蒸馏器蒸馏制得。亚沸水用于整个实验中。

### (二) 实验方法

取一定量核黄素标准液于电解池中, 加入 20mL  $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 底液, 放入三电极系统, 通 N<sub>2</sub> 5min, 于 -0.200V (vs. SCE) 富集 30~120s (取决于核黄素浓度), 静止 31s, 然后以  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的电位扫描速度由 -0.200V 扫描至 -1.000V, 记录 2.5 次微分溶出伏安曲线, 测量 -0.66V 处的峰高。用标准加入法测定尿样并由打印机打印分析结果。

## 结 果

### (一) 实验条件的选择

#### 1. 底液浓度的选择

试验不同浓度的 NaOH 底液对核黄素溶

出峰的影响。结果, 选择  $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 作底液溶出峰最高。

其条件是,  $2.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  核黄素, 富集时间 60 秒, 富集电位 -0.2000V, 扫描速度  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$   $50.4 \mu\text{A}$ , 2.5 次微分。

#### 2. 微分档次选择

在同一条件下, 电积时间 30 秒, 试验了常规、0.5 次、1.5 次和 2.5 次微分档记录溶出伏安曲线。以 2.5 次微分曲线峰形最好且灵敏度高。

#### 3. 富集电位选择

在 -0.050~ -0.400V 范围内, 试验富集电位对溶出峰的影响。结果, 富集电位在 -0.100 至 -0.200V 之间溶出峰较高。用 -0.200V 作富集电位所得曲线, 待测峰附近无其它峰出现, 故选 -0.200V 作富集电位。

#### 4. 扫描速度选择

实验发现, 当扫描速度小于  $200 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  时, 峰电流随扫描速度增加而线性增大。当扫描速度大于  $200 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  以后, 峰形变差。本实验选用  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的扫描速度。

#### 5. 富集时间的影响

富集时间对溶出峰的影响如图 1 所示。可见, 对  $2.5 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  核黄素溶液, 溶出峰高在 15~180s 之间与富集时间呈线性关系。条件同实验条件 2。

#### 6. 汞滴大小的影响

适当增大汞滴可使溶出峰高增大, 灵敏度提高; 但汞滴太大会使汞滴不稳定。本实验采用中等大小汞滴 (4mg)。

### (二) 线性范围

采用上述最佳实验条件, 本法测定核黄素的线性范围为  $7.5 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 其中  $10^{-8} \sim 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围的标准曲线及回归方程见图 2。

### (三) 精密度实验

对同一尿样在 10h 内进行了 7 次测定, 见表 1。可见变异系数为 9.1%。

表 1 精密度试验

测定 尿液核黄素浓度 ( $\times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )					变异系数 (%)
次数	测定值	平均值	标准偏差		
	10.60 12.14 12.12				
7	14.06 13.09 12.50 11.38	12.27	1.12	9.1	

(四) 回收率试验

取 19.50mL 底液, 加入 0.50mL 某 8 小时尿样作回收率实验, 结果见表 2。平均回收率为 102.8%。

表 2 回收率试验

测定 核黄素浓度 ( $\times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )		回收率 (%)	
次数	加入值		
	测得值	$\bar{X} \pm S, D$	
5	3.00	3.05	101.7 $\pm$ 5.4
3	1.00	1.04	104.0 $\pm$ 6.2

(五) 样品测定及对照试验

采集 3 例 8h 尿样(晚 22:00 排空尿液, 收集 22:00~6:00 时的尿于棕色瓶中)。

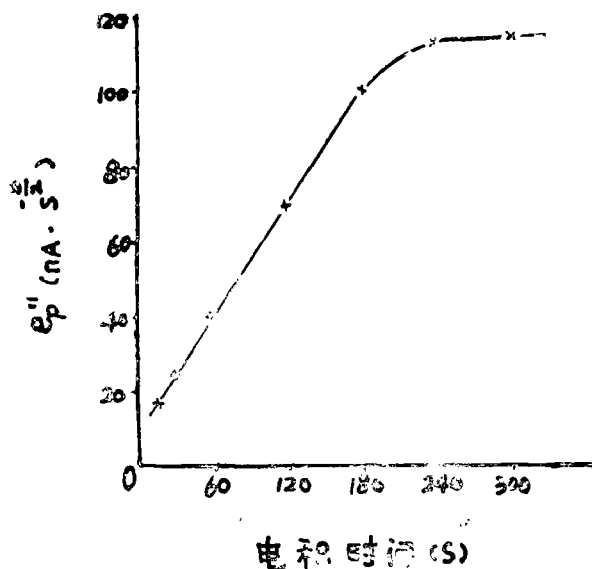


图 1 富集时间对峰高  $I_p$  的影响

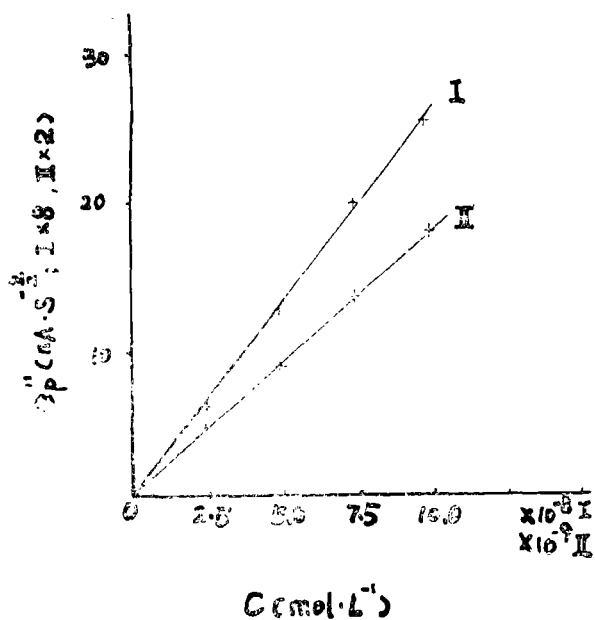


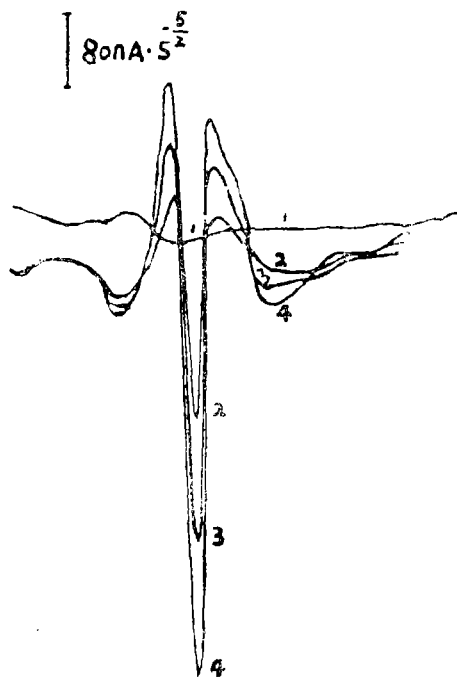
图 2 标准曲线

I. 富集 60s,  $50.2 \mu\text{A}$

$Y = -0.1400 + 0.2560x, r = 0.999205$

II. 富集 120s,  $50.2 \mu\text{A}$

$Y = 0.0400 + 0.1752x, r = 0.999802$



## 图 3 尿样稀释液的标准加伏安图

1.  $0.005\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 底液
2.  $1+0.5\text{mL}$  尿样
3.  $2+2.5\times 10^{-7}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{VB}_2$
4.  $2+5.0\times 10^{-7}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{VB}_2$

$50.8\mu\text{A}$ , 富集 30s, 其它条件同前

取  $0.5\text{mL}$  尿样于  $19.50\text{mL}$  底液中, 按照实验方法用标准加入法测定核黄素含量 (见图 3)。同时用分光光度法作对照实验。结果见表 3。

表 3 对照实验

编 号	性 别	年 龄	尿液总体 积(mL)	尿液核黄素浓度( $\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}, \bar{X} \pm S, D$ ) <sup>*</sup>	
				本 法	分光光度法
1	男	32	460	$9.69 \pm 0.78(5)^{**}$	$9.55 \pm 0.29(3)$
2	男	31	357	$9.92 \pm 0.81(3)$	$10.10 \pm 0.20(3)$
3	男	22	325	$11.46 \pm 0.80(3)$	$10.98 \pm 0.23(3)$

\*  $1 \times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} = 0.3764\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  核黄素。

\*\*括号内数字为测定次数。

## 结 束 语

本文在强碱性底液体系建立了痕量核黄素的检测方法, 选择性好、灵敏度高、简便快速。适用于微量样品的含量测定及临床药物检测工作, 对研究核黄素的营养、药理及其代谢有重要意义。

## 参 考 文 献

[1] 聶洪勇等编著. 维生素及其分析法. 上海科学技术

术文献出版社, 1987.140

[2] 徐佩佩等. 药物分析杂志, 1985, 5(4): 218

[3] 余忆云. 分析化学, 1989, 17(4): 321

[4] 张静, 刘书田. 药物分析杂志, 1991, 11(3): 131

[5] J. Lindquist and S.M. Farroda *Analyst*, 1976, 100: 377

[6] J. Wang, et al. *Anal Chem.* 1985, 57: 158

(上接第 75 页)

净化达到 100 级, 楼内各室的空气、洁净度、温(湿)度、空调静压值等各项技术指标符合(GMP)要求。净化区顶棚有技术夹层, 将送风、回风、水管和电线均安装在夹层内。采光和取暖均安装在参观廊中。有利于洁净区的洗消。

## 3. 确保了制剂的质量

灭菌制剂达到了一般区、控制区、洁净区严格划分, 人流物流通道分开。传递窗采用冰箱式磁性封条。普通制剂达到内服与外用, 配制与分装操作的要求。引进了国内先进

的大输液生产线, 改变了原设备落后的状况。大大降低了劳动强度。采用二层常压过滤灌装, 节约了设备和不必要的环节。该制剂楼布局紧凑合理, 坚固耐用, 舒适明亮, 美观大方。达到了制剂操作程序化、规范化, 并实现了制剂报批报备微机化。

在军区卫生部首批验收中驻军医院是首家颁发了生产许可证。通过一年的生产实践, 效果良好, 现场会之间, 受到了国家卫生部和军区的高度评价。