

磷钼钨三元杂多酸光度法 测定药物中的抗坏血酸

陈玉銮* 肖景娴** 周祝敏

(南京化工学院应用化学系 南京 210009)

摘要 研究了抗坏血酸与磷钼钨三元杂多酸的显色反应,提出了借磷钼钨杂多蓝测定抗坏血酸的分光光度法。最大吸收波长为 730 nm, 抗坏血酸在 0.08 ~ 10 mg/L 范围内线性良好。回归方程为 $A = 1.05 \times 10^4 C + 0.017$, 线性相关系数 $r = 0.9995$, 表观摩尔吸光系数 $\epsilon_{730} = 1.05 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 方法检出限为 0.04 mg/L, 回收率为 94 ~ 102%, 相对标准偏差 $\leq 1.5\%$ ($n=8$)。本方法由于钨钼的混合配位增强了氧化能力,较之二元杂多酸的方法,省去了水浴加热等操作,只需在室温下反应 30 min,吸光值至少可稳定 6 h。过量的黄色杂多酸可加入适量的氢氧化钠溶液分解,从而获得色泽纯正的高灵敏度显色体系。

关键词 磷钼钨三元杂多酸, 抗坏血酸, 分光光度计测定

1 引言

抗坏血酸又称维生素 C (Vc), 广泛存在于药物和各种食品中, 对调节人体机能有着极其重要的作用。因此, 对于它的测定, 一直是个十分热门的研究课题。测定抗坏血酸的经典方法是碘量法。近十多年来, 各种仪器分析方法发展迅速, 尤其在光度分析、电化学分析以及高效液相色谱分析方面, 为适应各种体系的测定提供了许多灵敏度高、选择性好的方法。近年来, 国内外学者利用杂多酸作为显色剂测定抗坏血酸的方法也进行了很多研究。1989 年, Muralikrishna 等人^[1]利用抗坏血酸还原磷钨钼杂多黄的特性, 建立了测定抗坏血酸的方法; 与此同时, 笔者之一^[2]提出了借磷钼二元杂多蓝测定抗坏血酸的方法; Thorburn Burns 等人^[3]报道了磷钨钼杂多酸还原流动注射分光光度法测定 Vc; 最近也有文献报道利用硅钼杂多蓝光度法测定抗坏血酸^[4]。但是, 这些方法大都需要较长时间的水浴加热, 这不仅使操作较为麻烦, 而且还往往降低了方法的选择性。在加热的条件下, 许多糖类及其它具有微弱还原性的杂质都会对方法产生干扰。为此, 本文研究了室温下抗坏血酸与磷钼钨三元杂多酸的反应, 并于反应后的溶液中加入适量的 NaOH 分解除去过量的杂多黄, 从而得到色泽纯正的显色体系, 建立了无需加热而直接测定抗坏血酸的分光光度法, 提高了方法的选择性。

* 通讯联系人。

** 九三届毕业生, 现在上海石油化工研究院工作。

收稿日期: 1995-05-02; 收到修改稿日期: 1995-06-19。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

752 型紫外光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂), PU 8800 UV/vis 分光光度计 (英国 Pye Unicam), 回流装置及其它常规玻璃仪器。

磷钼钨三元杂多酸显色剂: 本文所选用的三元杂多酸显色体系为福林试剂, 制备方法见参考文献^[5-7]。在 250 mL 圆底烧瓶中加入 25 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、6 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 100 mL 水, 加入 15 mL 85% 浓磷酸和 25 mL 浓盐酸, 加热回流 9 h。冷却后加 50 mL 水并滴入溴水至溶液呈微黄色。将溶液煮沸 10 min 以驱除多余溴, 冷却后加水定容至 250 mL。稀释 10 倍得操作试剂, 可长久保存。

抗坏血酸标准溶液: 先将分析纯抗坏血酸 (>99.7%) 配成浓度为 5.00 g/L 的贮备液, 存放于冰箱中可稳定一周; 将此贮备液准确稀释 50 倍后得 0.100 g/L 的标准溶液。配制用水为新鲜蒸馏水, 标准溶液用时现配。

0.1 mol/L NaOH 溶液。试剂均为 A·R 级。

2.2 实验方法

2.2.1 标准曲线绘制 于 5 只已加入 3.0 mL 磷钼钨三元杂多酸显色剂操作液的 50 mL 容量瓶中, 分别加入 0.10 g/L 抗坏血酸标准液 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL, 摇匀。5 min 后, 再加入 0.1 mol/L NaOH 溶液各 3.0 mL, 用新鲜蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 静置 30 min, 在波长为 730 nm 处测定吸光值 (用 1 cm 比色皿, 试剂空白作参比), 以抗坏血酸加入量为横坐标, 吸光度为纵坐标作工作曲线。

2.2.2 试样测定 取 10 粒维生素 C 药片, 研细后准确称取 50 mg, 在烧杯中用蒸馏水充分溶解后, 用中速滤纸过滤, 滤液置于 250 mL 容量瓶中, 定容摇匀。准确移取 2.00 mL 试液按照 2.2.1 的条件显色并测定, 从工作曲线计算 Vc 含量。

3 结果与讨论

3.1 测定波长的选择

对已显色稳定的杂多蓝溶液在 PU 8800 紫外可见分光光度计上从 400 ~ 900 nm, 分别以试剂空白、 H_2O 作参比, 扫描得到吸收曲线, 同时测得不同参比条件下的吸收曲线, 由图 1

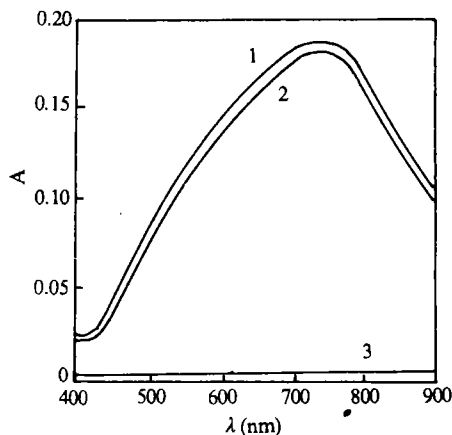


图 1 吸收光谱

1. 含 0.20 mg 抗坏血酸的显色体系 (水作参比)
2. 含 0.20 mg 抗坏血酸的显色体系 (试剂空白作参比)
3. 试剂空白 (水作参比)

Fig. 1 Absorption spectra of color system

1. containing 0.20 mg ascorbic acid (against water)
2. containing 0.20 mg ascorbic acid (against blank)
3. reagent blank (against water)

可见，体系在 730 nm 处有最大吸光值，试剂空白在整个范围内几乎无吸收，因此可以用水或试剂空白作参比。

3.2 显色剂用量的影响

仅改变显色剂操作液的用量，测定吸光值 A。作 A 与显色剂用量的关系曲线得图 2。由图 2 可见,选取显色剂用量为 3.00 mL 时，方法具有最高的灵敏度。

3.3 酸度条件的影响

合成出的显色试剂为 P-Mo-W 三元杂多酸，其中 Mo:W=1:3，显色试剂主要成分为 $\text{PMoW}_9\text{O}_{40}^{3-}$ ，俗称磷钼钨三元杂多黄，外观呈黄色。用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节酸度，可以有效地分解过剩的磷钼钨杂多黄，而使溶液呈现单纯的蓝色。同时，空白溶液用同样量的 NaOH 溶液调节后，在测定波长处几乎无吸收，因而可以用蒸馏水替代试剂空白作参比。吸光度 A 与加入 0.1 mol/L NaOH 体积的关系如图 3。当 $V_{\text{NaOH}} < 3.0 \text{ mL}$ 时，吸光值

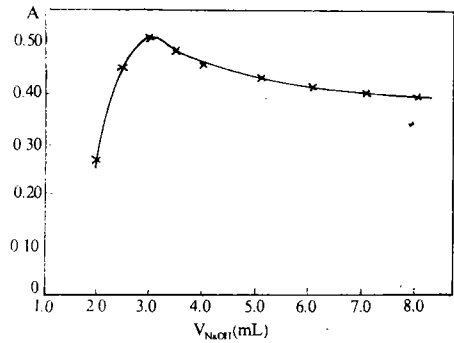


图3 NaOH 溶液加入量对吸光值的影响
Fig.3 Effect of sodium hydroxide solution volume on absorbance

3.5 工作曲线、回归方程及最低检出限

试验表明，在上述条件下，当抗坏血酸含量为 0.08 ~ 10 mg/L 区间，吸光值与浓度呈很好的线性 (见图 4)。回归方程为：

$$A = 1.05 \times 10^4 C + 0.017$$

线性相关系数为：

$$\gamma = 0.9995$$

表观摩尔吸光系数为：

$$\varepsilon_{730} = 1.05 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

最低检出限为 0.04 mg/L。

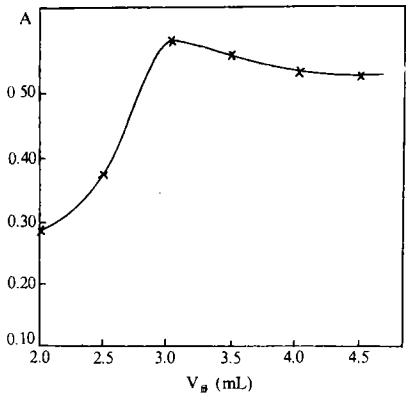


图2 磷钼钨三元杂多酸用量的影响
Fig.2 Effect of tungstomolybdophosphoric acid volume on absorbance

随 NaOH 量增加而迅速增大；而 NaOH 加入量大于 3.0 mL 时，吸光值渐渐下降。这可能是由于杂多蓝较之杂多黄稳定，而碱性较强时杂多蓝也逐渐发生分解所致。所以实验条件选择加入 3.0 mL NaOH 溶液为宜。

3.4 吸光值稳定性的考察

按实验方法配制溶液，观察显色时间对吸光值的影响。结果表明，前 25 min 吸光值上升较快，其后 A 值趋于稳定，并且在 6 h 内变化很小 (约下降 2.5%)，故选择显色 30 min 后进行测定。

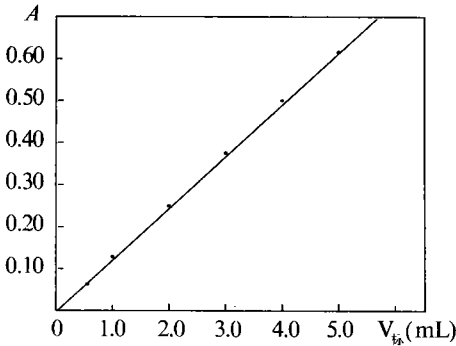


图4 标准曲线
Fig.4 Calibration curve

3. 6 干扰情况

对样品中可能共存的 15 种物质进行了试验, 发现在 50 mL浓度为 4 mg/L Vc 标准溶液中含柠檬酸 (2 mg)、酒石酸 (4 mg)、脲素 (4 mg)、氨基乙酸 (4 mg)、谷氨酸 (4 mg)、乙酸 (4 mg)、乙醇 (4 mg)、Na₂CO₃ (4 mg)、NaHCO₃ (2 mg)、MgSO₄ (1 mg)、KBr (4 mg)、NaCl (6 mg)、葡萄糖 (0.4 mg)、蔗糖 (0.1 mg)、V_{B6} (0.1 mg) 均对测定无影响, 吸光值变化在±0.005 之内。

3. 7 方法回收率及精密度

按实验方法测定两个试样溶液, 并在其中加入标准 Vc 溶液, 做回收率试验, 同时计算相对标准偏差。结果列于表 1。从表 1 可见, 标准回收率为 94%~ 102%, 相对标准偏差 ≤1.5% (n=8), 该方法具有较好的准确度和精密度。

表 1 方法回收率及精密度数据
Table 1 Tested recovery and precision

项 目	试 液 1	试 液 2
试液中 Vc 量 (mg/50mL)	0.136	0.161
加入标准 Vc 量 (mg/50 mL)	0.200	0.200
测得总 Vc 量 (mg/50mL)	0.340 0.336 0.338 0.330 0.336 0.331 0.335 0.328	0.363 0.355 0.358 0.360 0.349 0.362 0.352 0.350
回收率 (%)	102 100 101 97.0 100 97.5 99.5 96.0	101 97.0 98.5 99.5 94.0 100.5 95.5 94.5
RSD (%) (n=8)	1.2	1.5

3. 8 片剂维生素 C 的测定

取北京制药厂、江苏国营靖江葡萄糖厂的两种 Vc 药片进行测定, 并与药典中的碘量法^[9]测定结果相对照, 结果见表 2。

表 2 维生素 C 药片测定结果 (Vc%)
Table 2 Determination of ascorbic acid in Vitamin C

生产厂家	批 号	10 片重 (g)	药 典 法				本 文 法			
			单次测定值		均 值		单次测定值		均 值	
北京制药厂	921246	1.1602	80.10	81.00	81.46	80.81	80.8	80.8	81.1	94.1
			80.39	81.09			81.3	81.3		
江苏国营靖	921127	1.0882	88.44	88.51	88.95	88.62	91.0	92.0	92.0	100.1
江葡萄糖厂			88.39	88.79			92.0	93.0		

由所测结果可知, 本法测定值略高于碘量法, 相对误差 ≤3.8%, 每片药片的 Vc 含量落在 100±7 范围内, 符合药典要求。

4 结 论

本文利用三元杂多酸具有比二元杂多酸较强氧化性的特点, 建立了在室温下测定抗坏血酸的磷钼钨三元杂多蓝光度法。通过合适地调节溶液的酸度, 可以有效地消除过量杂多黄对测定的影响, 从而提高了方法的灵敏度和选择性。

本文部分内容曾参加在美国芝加哥举行的第45届匹兹堡分析化学及应用光谱学会议。

参 考 文 献

- [1] Muralikrishna U, Adinarayana Murty J. *Analyst*, 1989, 114 (3): 407.
- [2] 王占文, 陈玉奎. *分析化学*, 1991, 19 (3): 357.
- [3] Thorburn B D, Chimpalee N, Chimpalee D et al. *Anal. Chem. Acta*, 1991, 243 (2): 187.
- [4] 马俊义, 李 耕, 余荣珍. *痕量分析*, 1993, 9 (1/2): 79.
- [5] Rakitzis E T. *Anal. Chim. Acta*, 1975, 78: 495.
- [6] Shukla V K S, Kotate C K, Srivastava K C. *Microchem. J.*, 1979, 24: 124.
- [7] 印天寿, 陈世勇, 于群英等. *分析化学*, 1990, 18 (10): 966.
- [8] 中国药典 (二部), 人民卫生出版社, 北京, 1990: 643.

Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations with Tungstomolybdophosphoric Acid

Chen Yuluan Xiao Jingxian Zhou Zhuming
(Department of Applied Chemistry, Nanjing Institute
of Chemical Technology, Nanjing 210009)

Abstract A simple and sensitive spectrophotometric method is established for the determination of ascorbic acid based on the reaction of ascorbic acid with tungstomolybdophosphorus heteropoly compound. The maximum absorption is at 730 nm. Beer's law is followed in the range of $0.08 - 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ascorbic acid. The apparent molar absorptivity is $1.05 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, and the linear regression equation is $A = 1.05 \times 10^4 C + 0.017$ with a linear correlation coefficient of 0.9995. The detection limit of $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the recovery of 94%–102% and the relative standard deviation of less than 1.5% ($n=8$) were estimated, respectively. Instead of heating, the color reaction can be completed by standing at room temperature for 30 minutes. The absorption of excess tungstomolybdophosphorus heteropoly yellow can be removed by the addition of a certain amount of sodium hydroxide solution, thus the sensitivity and selectivity of the method are improved. The proposed method has been applied to the determination of ascorbic acid content in vitamin C tablets.

Key words Tungstomolybdophosphoric acid, Ascorbic acid, Spectrophotometric determination