

# CPA 分光算法同时测定多种维生素的研究

周其镇 殷龙彪 曾前东

(华东化工学院化学系, 上海)

**提要** 本文在矩阵法的基础上, 研究了四组分紫外分光同时测定, 采用 CPA 分光算法对 VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> 及烟酰胺混合组分同时定量, 以 BASIC 语言编制计算程序, 试样回收率在 95~105% 之间, 均方根偏差为 3.58%, 为多种维生素同时测定提供简便、准确的方法。同时, 对影响定量精度的测定误差与计算误差进行了较为详细的讨论。

**关键词** 紫外分光光度法; 维生素 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>; 烟酰胺

近年来, 随化学计量的发展, 多组分体系分光光度法有较快进展<sup>(1)</sup>, 曾有用线性规划分析稀土元素<sup>(2)</sup>; 用矩阵法同时测定铅、铁、钛的混合物<sup>(3)</sup>; 用最小二乘法测定铜、镍<sup>(4)</sup>等无机多组分体系分析的报道。在有机多组分体系分析中 Brown 等<sup>(5~7)</sup>发表了多篇关于红外光谱计算分析的报道。随着复合维生素制剂及高营养食品的出现, 要求能够简捷, 准确同时测定多种维生素的方法。而目前采用的分析方法基本上是先经分离后对主要维生素组分应用化学分析方法及分光光度法测定<sup>(8)</sup>, 但操作繁, 耗时长。曾有高效液相色谱同时测定多种维生素的报道<sup>(9,10)</sup>, 但因高效液相色谱仪器价格贵, 流动相有机溶剂消耗大, 不易推广; 而应用紫外分光算法同时测定多种维生素未见报道。本文在矩阵法的基础上研究了复合维生素 B 片剂中, 四组分紫外分光光度法, 采用 CPA 分光算法以 BASIC 编制程序计算 VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> 及烟酰胺混合组分; 取得较满意结果, 为复合制剂及多种维生素同时测定, 提供快速有效方法。

## 原 理

依据 Lambert-Beer 定律, 在测定波长下使用一定长度比色皿时吸收度  $a$  与浓度  $c$  成正比。

$$a = k \cdot c \tag{1}$$

式中  $k$  为吸收系数。

多组分体系中各组分的吸收度在同一波长下具有加和性。

$$a_{\text{总}} = k_1c_1 + k_2c_2 + k_3c_3 \dots \tag{2}$$

扩展到多组分, 多波长位置及多组不同配比的混合试样时用矩阵表达式:

$$\begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \dots & a_{1d} \\ a_{21} & a_{22} & \dots & a_{2d} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \dots & a_{md} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k_{11} & k_{12} & \dots & k_{1n} \\ k_{21} & k_{22} & \dots & k_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ k_{m1} & k_{m2} & \dots & k_{mn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & \dots & c_{1d} \\ c_{21} & c_{22} & \dots & c_{2d} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ c_{n1} & c_{n2} & \dots & c_{nd} \end{bmatrix} \tag{3}$$

即  $A = KC$

式中  $A$ : 混合试样的吸收度矩阵( $m \times d$ );  $C$ : 混合试样浓度矩阵( $n \times d$ );  $K$ : 吸收系数矩阵( $m \times n$ );  $n$ : 样品组分数;  $m$ : 测定波长位置数;  $d$ : 混合试样组数。

$K$  值可由标准混合物各组分浓度  $\bar{C}$  及混合吸收度  $\bar{A}$  求得:

$$K = \bar{A} \bar{C}^T (\bar{C} \bar{C}^T)^{-1} \quad (5)$$

由此可得混合未知样品浓度:

$$C = (K^T K)^{-1} K^T A \quad \text{称为 AKC 法} \quad (6)$$

Brown<sup>(6)</sup> 对此法变形为反推吸收定律形式如下:

$$C = PA \quad (7)$$

写为矩阵表达式:

$$\begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & \cdots & C_{1d} \\ C_{21} & C_{22} & \cdots & C_{2d} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ C_{n1} & C_{n2} & \cdots & C_{nd} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_{11} & P_{12} & \cdots & P_{1m} \\ P_{21} & P_{22} & \cdots & P_{2m} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ P_{n1} & P_{n2} & \cdots & P_{nm} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1d} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2d} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \cdots & a_{md} \end{bmatrix} \quad (8)$$

$$\text{即 } C = PA \quad (9)$$

式中  $P$  为比例常数矩阵可用混合标准溶液求得:

$$P = \bar{C} \bar{A}^T (\bar{A} \bar{A}^T)^{-1} \quad (10)$$

由已知  $P$  矩阵代入式(9)即可求得各组分浓度, 此法称为 CPA 法。

本文应用复合维生素 B 的紫外吸收光谱, 在 AKC 法的基础上, 进一步用 CPA 法加以处理, 获得更简捷准确的分析方法。

本文均方根偏差按下式计算:

$$\text{均方根偏差} = \left\{ \left[ \sum_{i=1}^d \sum_{j=1}^n \left( \frac{C_{\text{计算值}} - C_{\text{实际值}}}{C_{\text{实际值}}} \right)^2 \right] / n \times d \right\}^{\frac{1}{2}}$$

## 实验部分

### 一. 仪器及试剂

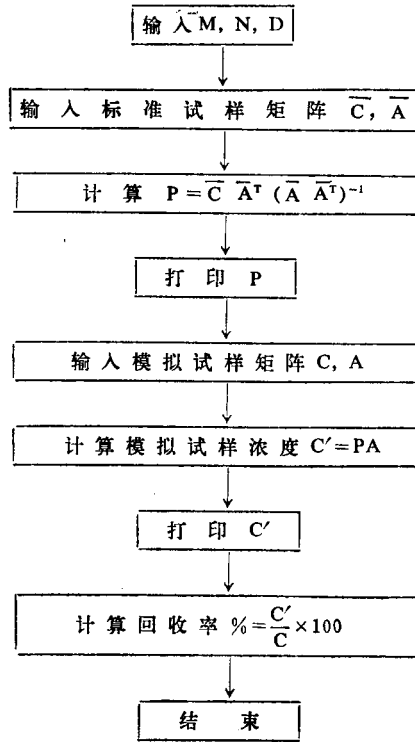
730 分光光度计 (上海分析仪器厂); PG-065 型微型电脑 (中山大学); 维生素 B<sub>1</sub> (上海制药二厂); 维生素 B<sub>2</sub> (天津河北制药厂); 维生素 B<sub>6</sub> (上海制药八厂); 烟酰胺 (北京制药二厂)。

### 二. 分析方法

精确称取维生素 B<sub>1</sub> (简称 VB<sub>1</sub>), 维生素 B<sub>2</sub> (简称 VB<sub>2</sub>), 维生素 B<sub>6</sub> (简称 VB<sub>6</sub>) 及烟酰胺 (简称“烟”) 各 10 mg, 分别加入醋酸-醋酸钠缓冲溶液并加温溶解, 稀释至 100 ml, 配制成 0.1 mg/ml 原液。再从原液中用移液管精确量取 0.5~4 ml (相当于 0.05~0.4 mg 样品), 置于 25 ml 容量瓶中用纯水稀释至刻度, 制成不同配比标准混合液及模拟混合液, 放置 5 min, 分别在不同波长下测定混合组分的吸收度。

根据上述计算原理, 以 BASIC 语言编制的计算程序, 通过 PG-065 微电脑处理实验数据, 立即取得欲测混合物中各组分的含量。

计算机计算框图如下:



### 结 果

根据六组由 VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub>, 烟酰胺所组成的四组分混合模拟试样测定结果, 试样回收率在 95~105% 之间, 均方根偏差为 3.58%, 符合微量分析的基本要求, 见表 1。

Tab 1. Result of the artificial samples of VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> and niacinamide(NA)

No.	VB <sub>1</sub>			VB <sub>2</sub>			VB <sub>6</sub>			NA		
	Cc	Cm	R%	Cc	Cm	R%	Cc	Cm	R%	Cc	Cm	R%
1	4.7	4.5	104	1.9	2.0	95	3.8	4.0	95	14.3	15.0	95
2	5.2	5.0	104	2.0	2.0	100	3.9	4.0	98	15.5	15.0	103
3	4.2	4.0	105	2.1	2.0	105	4.2	4.0	105	13.7	15.0	98
4	3.1	3.0	103	1.5	1.5	100	3.1	3.0	103	10.4	10.0	104
5	4.8	5.0	96	2.4	2.5	96	5.2	5.0	104	16.2	16.0	101
6	4.1	4.0	103	2.4	2.5	96	5.0	5.0	100	14.9	15.0	99

Cc: Calculated concentration (μg/ml); Cm: Real concentration (μg/ml); R: Recovery; standard deviation = 3.58%.

### 讨 论

一. 溶剂的选择及溶解温度 VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> 及烟酰胺等四组分均为水溶性维生素, 其中 VB<sub>2</sub> 溶解度较小, 需在加温条件下溶解, 为了防止维生素受热分解, 我们控制加热温度不超过制药工艺温度(80°C), 同时加入醋酸-醋酸钠缓冲溶液, 使维生素保持在弱酸性溶液中增强稳定性。

二. 测量时间 对 VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> 及烟酰胺四组分在紫外吸收度的稳定性试验中, 测定 0.5h,

1 h, 5 h, 24 h 时的吸收度相对偏差分别为 0.5%, 0.6%, 1%, 2%。表明测定时间  $\leq 0.5$  h 时, 吸收度相对偏差符合测试仪器精度。因此在一般测定时间内试样吸收度是稳定的。

**三. 标准混合物组数** 我们曾对分析误差与标准混合物组数作了初步探讨, 在同样测定波长下, 均方根偏差随标准混合物组数增加而减少, 当标准混合物组数  $d \geq 7$  时均方根偏差变化较小。可见增加标准混合物组数对提高精度是有利的。但过多标准混合物组数, 对提高精度影响甚微。试验中取  $d=7$  为最佳。

**四. 测定波长位置选择** 在四组分的紫外分光吸收曲线中, 各组分灵敏度较高的波长段在 259 ~ 271 nm 之间, 我们用不同组合波长分别测定混合物吸收度并计算均方根偏差进行比较, 在 265 nm 及 271 nm 下测定结果定量精度最高。

**五. 测定波长位置数** 试验中, 计算了波长位置数 2, 3, 4, 5 个的均方根偏差分别为 3.58%, 5.23%, 5.34%, 7.79%。发现波长位置数在 2, 3, 4 个时均方根偏差较小, 当波长位置数  $\geq 5$  时则偏差增加, 定量精度下降, 我们认为测定波长位置数增加, 对提高仪器测量精度有利, 但在 CPA 矩阵算法中  $P = \bar{C} \bar{A}^T (\bar{A} \bar{A}^T)^{-1}$  其中  $(\bar{A} \bar{A}^T)^{-1}$  相当于  $(m \times m)$  的方阵, 当测定波长位置数  $m$  增加时, 则逆矩阵  $(\bar{A} \bar{A}^T)^{-1}$  维数增大, 由于矩阵求逆中产生变异使微小差异放大, 从而使定量精度下降。因此, CPA 矩阵法计算中不宜选用过多的波长位置数。

**六. 测定组分数** 在 AKC 矩阵法中,  $K = \bar{A} \bar{C}^T (\bar{C} \bar{C}^T)^{-1}$ ,  $C = (K^T K)^{-1} K^T A$ , 经二次矩阵求逆运算才得到结果, 二次求逆方阵 [即  $(\bar{C} \bar{C}^T)^{-1}$ ,  $(K^T K)^{-1}$ ] 的维数都相当于  $(n \times n)$ , 当组分数  $n$  增加时, 则求逆方阵维数增加, 由矩阵求逆变异而引起的误差放大, 对定量精度影响较大。而在 CPA 法中  $P = \bar{C} \bar{A}^T (\bar{A} \bar{A}^T)^{-1}$ ,  $C = PA$  只须一次矩阵求逆运算即可求得结果。这样由求逆变异引起的误差放大<sup>(11)</sup>对定量精度影响较小。同时  $(\bar{A} \bar{A}^T)^{-1}$  求逆方阵维数取决于  $(m \times n)$ , 即求逆矩阵维数与波长位置数  $m$  有关, 而与组分数  $n$  无关。由此可推论在较多组分同时测定时, 应用 CPA 法比 AKC 法更为适宜。

总之, 应用本法测定多种维生素时, 只需配制一定数目的标准混合试样, 在合适的波长位置及波长位置数下, 测定吸收度, 借助于 BASIC 计算程序应用微型电脑即可求得比例常数  $P$ , 随后, 测得未知试样的吸收度, 输入微电脑, 即可同时得到  $VB_1, VB_2, VB_6$  及烟酰胺的含量, 为工业生产同时测定维生素提供一种新方法。

## 参 考 文 献

1. 王保宁. 分光光度同时测定无机多组分体系. 分析化学 1984;3:229
2. 何锡文, 等. 用线性规划研究混合物的吸收光谱, 同上 1979;7:179.
3. 飯田康夫, 他. 吸光光度法による多成份同時測定におけるデータ解析法及び検量法. 分析化学(日) 1983;32:401.
4. 张济新、周其镇. 混合物组分分光光度测定的数学处理. 华东化工学院学报 1984;3:413.
5. Brown CW, et al. Matrix representation and criteria for selecting analytical wavelengths for multicomponent spectroscopic analysis. *Anal Chem* 1982;54:1472.
6. Mark AM, et al. Nonlinear multicomponent analysis by infra-red spectrophotometry. *Ibid* 1983;55:1694.
7. Harold JK, et al. Multiple analytical frequencies and standards for the least-square spectrometric analysis of serum lipids. *Ibid* 1983;55:1703.
8. 中华人民共和国药典. 1985 年版. 二部. 北京: 人民卫生出版社, 1985:562~570.
9. Goldberg AP, et al. Retention-optimization strategy for high performance liquid chromatographic ion-pair separation of samples containing basic compounds. *J Chromatogr* 1984;316:241.
10. Kutnink MA, et al. Simultaneous determination of ascorbic acid, iso-ascorbic acid and uric acid in hu-

man plasma by high performance liquid chromatography with amperometric detection. *J Liq Chromatogr* 1985; 8: 31.

11. Stewart GW. 矩阵运算引论 (中译本). 上海, 上海科技出版社, 1980: 161~167.

## SIMULTANEOUS DETERMINATION OF MULTI-COMPONENT VITAMINS BY CPA SPECTROSCOPIC COMPUTING ANALYSIS

ZHOU Qi-Zhen, YIN Long-Biao and ZENG Chian-Dong

(Department of Chemistry, East China University of Chemical Technology, Shanghai)

**ABSTRACT** The development of complex high nutrition foods, such as vitamin B complex, and pharmaceuticals demands simple, rapid and effective methods to determine the multi-component vitamins simultaneously.

In this paper, based on the matrix method, an ultra-violet spectroscopic method was developed to determine the four components in VB complex. Using CPA spectroscopic computing method, VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VB<sub>6</sub> and niacinamide could be analyzed simultaneously. A BASIC computer program was developed. In this method, the recoveries of the vitamins were 95~105% and the standard deviation was 3.58%. Therefore, a new way was pointed out for the simultaneous analysis of multi-component vitamins.

Also included were the examination of the main factors that affect the precision of quantitation and errors in measurement and computation.

**Key words** Ultra-violet spectrophotometry; Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>; Niacinamide