

论著

保健食品及营养素补充剂中维生素 C 稳定性研究

刘平¹,李强²,金庆中¹,罗仁才¹

(1. 北京市疾病预防控制中心,北京 100013; 2. 北京市保健品、化妆品技术审评中心,北京 100053)

摘要:目的 严格按照保健食品卫生学稳定性实验的要求,将不同剂型的样品保存于人工气候箱中,并考察其所含维生素 C 的稳定性。方法 采用《中华人民共和国药典》2010 年版二部维生素 C 的测定方法:碘量法,并用自动电位滴定仪进行测定。测定样品在保温 1、2、3 个月时的维生素 C 含量,计算衰减率并绘制衰减曲线。结果 样品中维生素 C 衰减率为 -7.29% ~ 94.26% (衰减率在 $\pm 10\%$ 以内可认为是实验误差)。结论 绝大多数保健食品与营养素补充剂在 37 °C、相对湿度 75% 的条件下储存 3 个月后,所含的维生素 C 都会有不同程度的衰减,特别是添加了微量元素补充剂的保健食品,铁离子和钙离子可明显降低其维生素 C 的含量,而锌离子对维生素 C 稳定性的影响较小。比较而言,在各种剂型的保健食品与营养素补充剂中,样品成分及包装是影响维生素 C 稳定性的主要因素。

关键词:维生素 C;稳定性;碘量法;介质;影响因素

中图分类号:TS207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2011)02-0137-05

The stability of vitamin C in health food and nutrition supplements

Liu Ping, Li Qiang, Jin Qingzhong, Luo Rencai

(Centers for Disease Control and Prevention of Beijing, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To study the stability of vitamin C in health food and nutrition supplements at different dosages and forms. **Methods** The study was conducted in an artificial climate box based strictly on the requirement for hygienic stability of health food. Iodometric analysis with an automatic electric potential titrimeter was used according to the method in *Chinese Pharmacopoeia* (version two, 2010). **Results** The content of vitamin C in samples was determined once a month for three months. The declining ratio of vitamin C was from -7.29% to 94.26% and the declining curves were drawn. **Conclusion** The contents of vitamin C in most health foods and nutrition supplements have declined at different levels after preservation for 3 months under the temperature of 37 °C and the humidity of 75%, especially in health food added with trace elements. The stability of vitamin C in health food and nutrition supplements can be significantly influenced by iron and calcium, while the influence of zinc is little. Ingredients and packing methods of samples are the main factors for the stability of vitamin C.

Key words: Vitamin C; stability; iodometric analysis; medium; influence factors

我国保健食品和营养素补充剂审批实行行政许可制度,在审批中,维生素 C 的稳定性便是产品是否稳定及确定保存期限的重要指标。目前维生素 C (包括其他功效成分) 的稳定性检测是采用人工气候箱(温度 37 °C,相对湿度 75% RH)保存的方法,以推断产品在保质期内是否稳定。根据维生素 C 在不同产品中的存在形式,我国官方检测维生素 C 含量的方法主要有碘量法、2,6-二氯酚法、荧光法及高效液相色谱法。由于该实验耗时较长,我国在保健食品审批时没有要求进行放置实验,而是采

取保温加速实验,再加上保健食品和营养素补充剂的基质复杂等因素,目前只有药品及部分食品中维生素 C 稳定性的文献报道^[1-8],而用自动电位滴定法监测保健食品与营养素补充剂中维生素 C 稳定性的研究还未见报道。

本文主要针对药典及国标检测方法中影响保健食品和营养素补充剂常见剂型维生素 C 稳定性的因素进行探讨,并采用自动电位滴定仪进行测定,消除了含铁样品蓝灰色对碘量法终点判断的干扰,使测定结果更加准确,为有关机构对保健食品的技术审评提供更加系统的科学依据,同时也为保健食品及营养素补充剂的合理配方、生产工艺和保存方法提供参考。

收稿日期:2010-09-06

作者简介:刘平 女 硕士 主管技师

通信作者:罗仁才 男 主任技师

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

自动电位滴定仪 (Metrohm 800, 瑞士万通公司), 超声波清洗器 (KQ-100DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司), 粉碎机 (IKA A11 basic, 广州 IKA 公司)。

维生素 C 纯品 (SUPELCO); 6% 冰醋酸溶液, 6% 草酸溶液 (北京化学试剂公司, 分析纯); 碘标准溶液 (北京市疾病预防控制中心环境卫生所, 0.100 0 mol/L); 除特殊说明, 所有实验用水均为超纯水, 试剂为分析纯。

1.2 样品前处理

用粉碎机将样品研细, 精密称取适量置 100 ml 量瓶中, 分别加入新沸过的冷超纯水 100 ml 与 6% 稀醋酸 10 ml, 待样品充分溶解后上机测定。

1.3 测定条件

采用《中华人民共和国药典》2010 年版二部维生素 C 的测定方法: 碘量法, 并采用自动电位滴定仪进行测定。滴定模式: 动态 DET U 滴定模式; (1) 仪器参数: 开始条件: 信号漂移: 关, 预加体积: 0 ml; (2) 滴定参数: 信号漂移: 30 mV/min, 加液增加量: 最小增加量: 10 μ l, 最大增加量: 关; (3) 停止条件: 停止体积: 15 ml, 停止等当点: 5, 到达等当点后加的体积: 3 ml; (4) 电位评估: 无窗口评估: 等当点识别标准: 5, 等当点识别: 最大。

1.4 结果计算

维生素 C 含量的计算:

$$\text{维生素 C 含量} = 8.806 \times V/m$$

式中 V 为到达滴定终点时消耗碘标准溶液的体积, 单位 ml; m 为取样量, 单位 g。

维生素 C 衰减率的计算:

$$\text{维生素 C 衰减率} \% = (\text{当月测定值} - \text{原始值}) / \text{原始值} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 样品成分对维生素 C 稳定性的影响

维生素 C 是无色无臭的片状结晶体, 有酸味, 易溶于水, 不溶于脂溶剂, 具有很强的还原性, 极不稳定, 容易被空气中的氧所氧化, 易受温度、pH 值、酶、紫外线以及糖、盐等影响, 微量重金属离子存在 (如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等) 更能促进其氧化分解^[1-5]。

目前, 常见的保健食品和营养素补充剂的剂型有: 片剂、胶囊、冲剂和口服液 4 类, 根据实验将片剂分为只补充维生素 C 和补充多种元素、矿物质的片剂, 胶囊分为油状内容物胶囊和粉末状内容物胶囊, 冲剂分为粉状冲剂和泡腾冲剂。随机抽取北京市场 14 种常见维生素 C 补品, 按上述保存条件和方法测定维生素 C 含量并计算衰减率。结果见表 1。

比较而言, 样品的成分对维生素 C 的稳定性影响较大。对于只含维生素 C 和辅料 (如淀粉等) 的样品 (样品 1、2), 由于制剂组分单一, 影响维生素 C 稳定性的因素较少, 维生素 C 含量基本不变。对于含有多种微量元素和矿物质的样品, 以补充维生素为主的样品 (样品 3、4), 维生素 C 衰减较少, 以补充矿物质为主的样品, 尤其是补充铁、钙元素的样品 (样品 5、12), 维生素 C 衰减迅速, 其中钙 (样品 12) 对维生素 C 稳定性的影响较大, 在保存 1 个月后即可衰减 70.73%, 随后其衰减率保持稳定, 铁 (样品 5) 对维生素 C 稳定性的影响相对钙而言比较缓慢, 随着保存时间的持续, 其对维生素 C 的影响性呈线性逐渐增强, 但补锌样品 (样品 4) 中维生素 C 衰减不明显, 含钙、铁、锌样品的衰减曲线见图 1。

表 1 不同剂型维生素 C 样品的稳定性

Table 1 The stability of vitamin C in samples with different dosage form

剂型	样品编号	衰减率 (%)			
		保存 1 个月	保存 2 个月	保存 3 个月	
片剂	只补充维生素 C	1	1.58	5.49	7.83
		2	0.85	0.58	-0.86
	补充多种元素和矿物质	3	4.59	8.28	11.35
		4	2.36	-1.50	6.49
		5	17.26	26.54	41.67
胶囊	油状内容物胶囊	6	4.72	7.49	24.20
		7	17.60	18.30	20.43
	粉末状内容物胶囊	8	16.75	34.12	40.59
		9	4.38	6.79	10.01
		10	5.13	1.59	14.90
冲剂	粉状冲剂	11	0.98	3.23	0.83
		12	70.73	67.67	65.86
	泡腾冲剂	13	-1.79	6.87	0.91
口服液	/	14	26.41	17.59	24.75

注: / 只有一种分类。

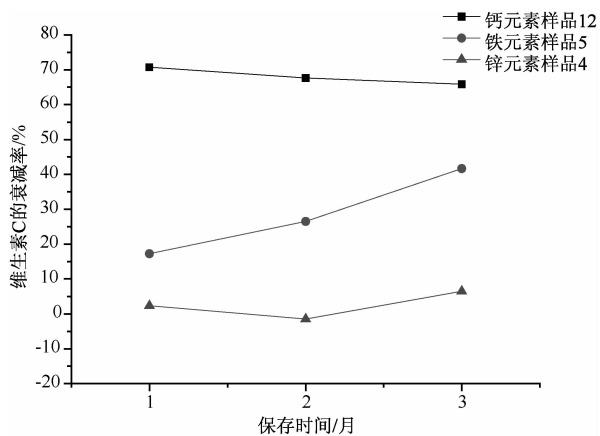


图1 钙、铁、锌对维生素 C 稳定性的影响
Figure 1 Influence of Ca, Fe, Zn on the stability of vitamin C

综上所述,样品中的钙、铁对维生素 C 稳定性影响最为明显。由于没有成分相同而剂型不同的样品,因此,对于剂型是否对维生素 C 的稳定性有所影响以及其影响程度,有待做进一步研究。

2.2 包装方式对维生素 C 稳定性的影响

为了考察样品包装方式对维生素 C 稳定性的影响,将打开包装的样品和粉碎的样品同样放入人工气候箱内,进行卫生学、稳定性实验,并与原装样品进行比较,其结果见表 2。

表 2 保存 3 个月后的原装样品、破包装样品和粉碎样品中维生素 C 的衰减率

Table 2 The declining ratio of vitamin C in samples stored for 3 months in original pack, broken pack or crushed pieces (%)

样品编号	衰减率		
	原装	破包装	粉碎
1	7.83	28.05	27.90
2	-0.86	4.25	15.84
3	11.35	73.56	83.99
4	6.49	10.32	7.32
5	41.67	69.89	82.15
6	24.20	39.81	94.26
7	3.43	17.02	88.19
8	40.59	49.44	55.37
9	10.01	82.57	83.22
10	14.90	75.36	86.41
11	0.83	9.73	15.21
12	65.86	74.28	72.78
13	0.90	-1.68	2.65
14	24.75	40.68	62.11
中位数	10.68	34.37	77.46

由表 2 可见,不同包装的样品在恒温恒湿(温度 37.5℃;湿度 75%)条件下保存 3 个月后,所含的维生素 C 均出现不同程度的衰减,以原装方式保存的样品中维生素 C 衰减率 14 种样品的中位数为 10.68%;以破包装方式保存的样品中维生素 C 的

衰减率中位数为 34.37%;以粉碎方式保存的样品中维生素 C 的衰减率中位数为 77.46%。由此可见,各保健食品与营养素补充剂在原包装的条件下最为稳定,而在粉碎的条件下最不稳定。其主要原因可能是原包装的密闭性较好,内环境比较稳定,能够隔绝空气中的氧等,使保健食品与营养素补充剂中维生素 C 保持稳定;而在粉碎条件下,保健食品与营养素补充剂中的维生素 C 完全暴露于各种影响因素下,导致其中的维生素 C 含量急剧下降。

2.3 不同介质对不同浓度维生素 C 稳定性的影响

目前我国官方检定维生素 C 的方法中主要涉及 3 种检测介质:醋酸溶液、草酸溶液和水,为了考察这 3 种介质对维生素 C 稳定性的影响,用维生素 C 纯品进行了实验。称取一定量的维生素 C 标准品,分别溶解在纯水、6% 醋酸、6% 草酸介质中,测定保温前的维生素 C 含量,将标准溶液在人工干燥箱中保存 3 个月,测定每种介质中维生素 C 每个月的衰减率。为了考察浓度对维生素 C 稳定性的影响,将维生素 C 纯品配成高、中、低 3 个浓度,分别为 100、50、10mg/ml,分别进行上述介质实验。结果见表 3。

表 3 不同介质对不同浓度维生素 C 稳定性的影响

Table 1 Different media on the stability of standard vitamin C at different concentrations

标准品浓度 (mg/ml)	介质	衰减率 (%)		
		1 个月	2 个月	3 个月
10	水	-7.29	22.77	83.18
	醋酸	10.54	39.13	89.66
	草酸	3.49	26.73	81.87
50	水	22.86	42.72	88.52
	醋酸	11.55	24.73	52.69
	草酸	35.61	53.20	76.87
100	水	16.46	28.46	47.39
	醋酸	18.83	29.74	51.25
	草酸	34.03	54.27	75.30

根据上表分别计算标准品浓度一定时和介质一定时维生素 C 标准品的衰减率,计算结果见图 2、图 3。

由图 2 可知,当维生素 C 纯品浓度为低浓度(10 mg/ml)时,维生素 C 标准品在 3 种介质中都不稳定,其衰减率均在 80%~90% 范围内;当维生素 C 纯品浓度为中等浓度(50 mg/ml)时,维生素 C 标准品在醋酸介质中相对比较稳定,3 个月时其衰减率为 52.69%;当维生素 C 纯品浓度为高浓度(100 mg/ml)时,维生素 C 标准品在醋酸和水两种介质中都相对比较稳定,3 个月时其衰减率分别为 51.25% 和 47.39%。

由图 3 可见,以水作为介质时,高浓度维生素 C 标准品的稳定性较好,其第 3 个月的衰减率为

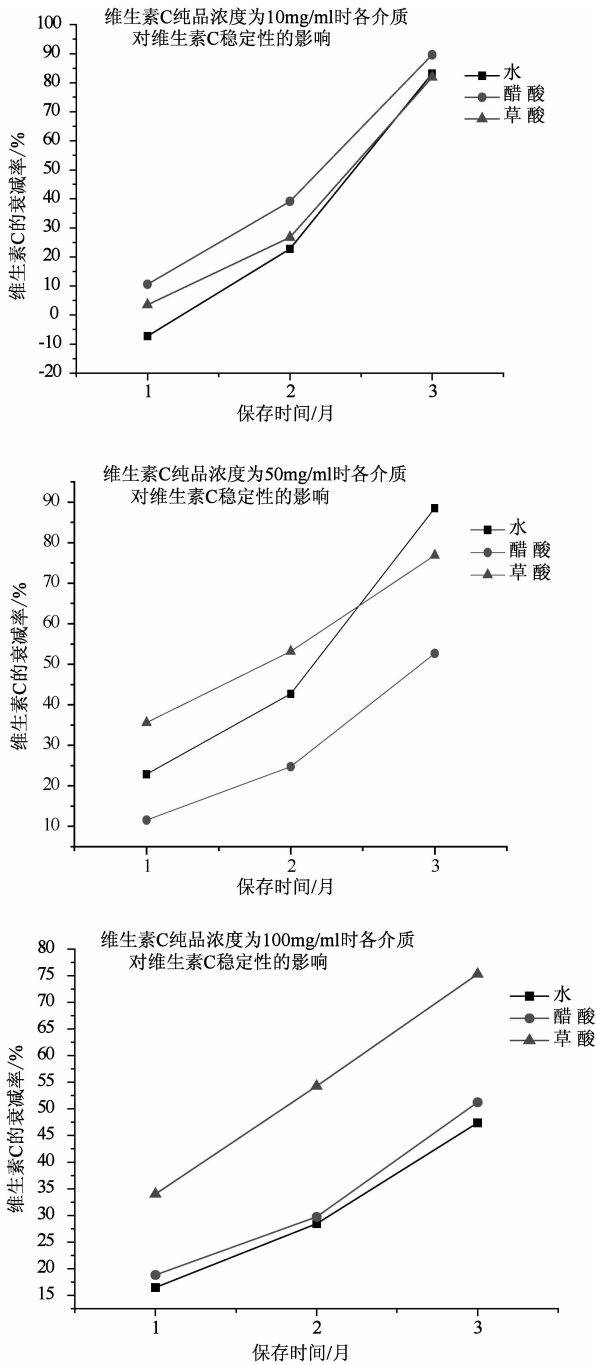


图2 介质对维生素C标准品稳定性的影响
Figure 2 Influence of media on the stability of standard vitamin C

47.39%,中、低浓度维生素C标准品的稳定性相对较差,其第3个月的衰减率分别为88.52%和83.18%;以醋酸作为介质时,中等浓度和高浓度维生素C标准品溶液都较稳定,3个月时其衰减率分别为52.69%和51.25%,而低浓度维生素C标准品则衰减较多,3个月时其衰减率为89.66%;以草酸作为介质时,高中低浓度维生素C标准品均不稳定。

3 结论

随着中国经济的快速发展,人民生活水平逐渐

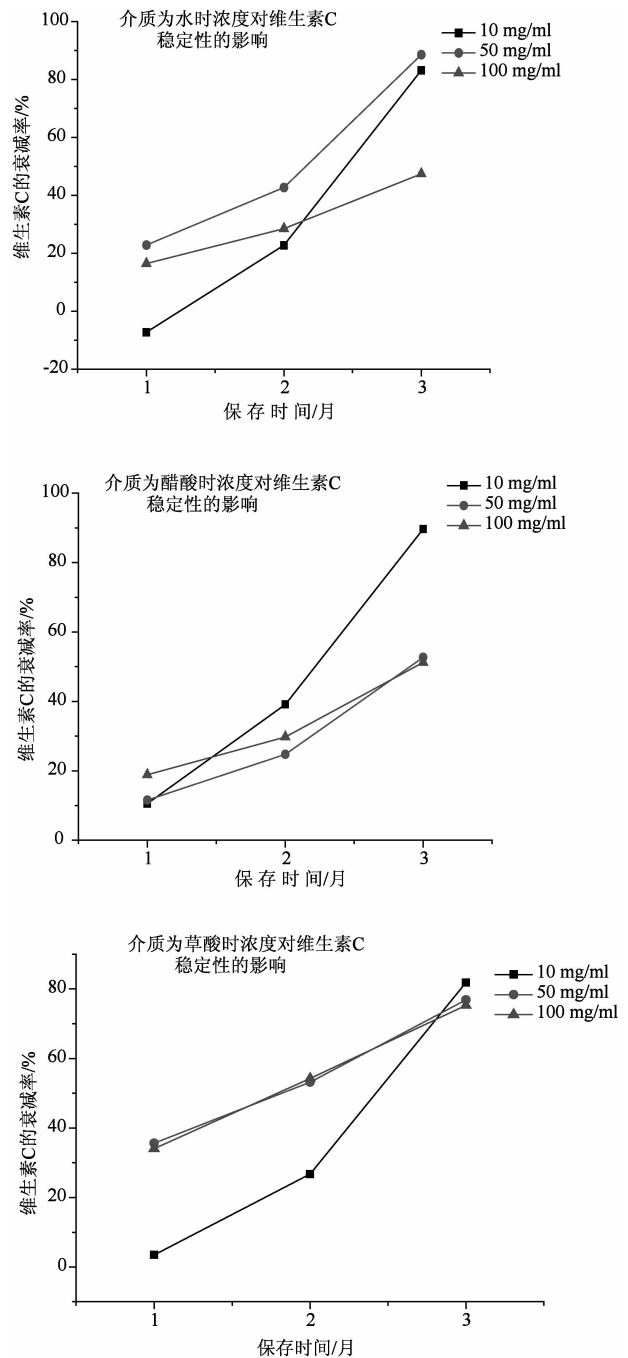


图3 浓度对维生素C标准品稳定性的影响
Figure 3 Influence of concentration on the stability of standard vitamin C

提高,人们对自身健康有了更高的要求,作为促进健康的重要方法之一食用保健品和营养素补充剂逐渐被人们重视和采用,尤其近些年来,形形色色的保健品和营养素补充剂层出不穷,维生素C是许多保健食品和营养素补充剂的主要基础成分之一,对维生素C在保温加速试验中的稳定性进行研究,对于了解维生素C在保质期中的稳定情况即此类产品的审评具有重要意义,同时,对于研制、生产、储存这些产品提供相应的研究依据。

绝大多数保健食品与营养素补充剂在温度

37 ℃、相对湿度 75% 的条件下储存 3 个月后,所含的维生素 C 都会有不同程度的衰减,特别是添加了微量元素铁、钙的保健食品和营养素补充剂,铁离子和钙离子可明显降低保健食品与营养素补充剂中维生素 C 的稳定性,而锌离子对维生素 C 稳定性的影响较小。在检测样品中维生素 C 含量时,选用醋酸溶液作为提取剂比较有利于样品中维生素 C 的稳定,而采用草酸溶液和水作为提取剂时,应在提取后尽快检测,避免因长时间放置造成维生素 C 分解,从而影响检测结果。比较而言,除了影响维生素 C 稳定性的外界因素以外,在各种剂型的保健食品与营养素补充剂中,样品成分及包装是影响维生素 C 稳定性的主要因素。但由于本实验样品数量及时间的限制,以及不清楚样品中的维生素 C 原料是否采用微囊技术等原因,本实验中的一些结果可能有所偏差。

参考文献

[1] 张冬梅,汪振立,罗六保,等. 对新鲜果蔬中维生素 C 的测定

结果影响因素研究[J]. 江西化工,2010(1):73-76.

- [2] 刘海兴,刘凤芹,于爱民,等. 维生素 C 稳定性及其与牛血清白蛋白亲和作用的研究[J]. 分析科学学报,2007,23(1):82-84.
- [3] 牛会芬,张宪志,徐学增. 包材对维生素 C 钠的稳定性影响研究[J]. 河北化工,2007,30(2):19-20.
- [4] 张爽,张华,赵思奇. 维生素 C 稳定性紫外分光光度测定法的建立[J]. 黑龙江医药,2008,21(1):26-27.
- [5] 丁健桦,饶火瑜,王兴祥. HPLC 法初步研究维生素 C 的稳定性[J]. 食品工业,2004,25(1):44-45.
- [6] TAI A, GOHDA E. Determination of ascorbic acid and its related compounds in foods and beverages by hydrophilic interaction liquid chromatography [J]. Chromatography B, 2007, 853: 214-220.
- [7] TORREGROSA F, ESTEVE M J, FRL' GOLA A, et al. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. [J]. J Food Engineering, 2006,73:339-345.
- [8] OZKAN M, KIRCA A, CEMEROGLU B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices[J]. Food Chem, 2004(88):591-597.

论著

多层电泳槽在彗星试验中的应用

张馨¹,李万湖²,刘玉梅¹,雍凌¹,李宁¹,张文众¹

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050;

2. 山东省肿瘤医院,山东 济南 250017)

摘要:目的 本研究拟通过彗星试验来验证多层电泳槽的实用性,从而推进彗星试验的规范化。方法 从 10 只 SD 大鼠中分别提取淋巴细胞,各制作 6 张彗星试验载玻片,其中每只动物的一半载玻片用 30% H₂O₂ 处理作为阳性组,另一半未处理的作为阴性组;分别用单层电泳和多层电泳开展彗星试验,并分析彗星试验结果。结果 30% H₂O₂ 导致淋巴细胞 DNA 损伤;单层电泳和多层电泳的阳性组相比差异有显著性;多层电泳的不同层之间差异无显著性。结论 彗星试验同时进行电泳比单次电泳更有可比性;多层电泳槽能提高彗星试验单次电泳的样品数量,有利于彗星试验的规范化。

关键词:彗星试验;多层电泳槽;淋巴细胞;DNA 断裂;检测

中图分类号:O648.17; R331.144 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2011)02-0141-03

Application of multilayer electrophoresis tank in comet assay

Zhang Xin, Li Wanhu, Liu Yumei, Yong Ling, Li Ning, Zhang Wenzhong

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective In order to standardize the comet assay, a multilayer electrophoresis tank was invented and

收稿日期:2010-06-17

基金项目:国家“十五”科技攻关重大项目(2006BAK02A07)

作者简介:张馨 女 副主任技师 E-mail:zxhang331@yahoo.com.cn

通信作者:张文众 男 副研究员 研究方向为分子毒理学 E-mail:zhangwz2002@sina.com