

基于 eHPLC -LIF 联用技术研究维生素 B₂ 光解反应

1. 背景介绍

维生素 B₂ 又称核黄素，是一种人体必需的水溶性维生素。在人体内主要以两种衍生物黄素单核苷酸 (FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 的形式存在，作为重要的氧化还原酶的辅基参与生物氧化反应及糖、蛋白质等的代谢。维生素 B₂ 因其结构中含有异咯嗪环，稳定性较差，遇光容易分解。目前对于药物稳定性的研究，包括维生素 B₂ 的光稳定性研究，通常是在固定离子强度的情况下进行的。然而，离子强度对药物稳定性及光解反应的速率有较大的影响。考察维生素 B₂ 在不同离子强度条件下的光照稳定性，首先需要建立维生素 B₂ 及降解产物的分析方法。目前，维生素 B₂ 多采用紫外-可见分光光度法、高效液相色谱法、荧光比色法等。UV 和 HPLC 的灵敏度欠佳，荧光分光光度法灵敏度高，但无法测定分解反应产生的有关物质。而高效微流电动液相色谱系统与激光诱导荧光检测器 (eHPLC -LIF) 微分离平台具有分离效率高和灵敏度高的优点，适于考察维生素 B₂ 溶液光解反应的速率与离子强度之间的关系。

2. 测试条件

仪器:	TriSep®-3000 高效微流电动液相色谱系统，配备 LIF 检测器
色谱柱:	Globalsil® C18 色谱柱 (150mm×100μm, 1.8μm)

3. 测试结果

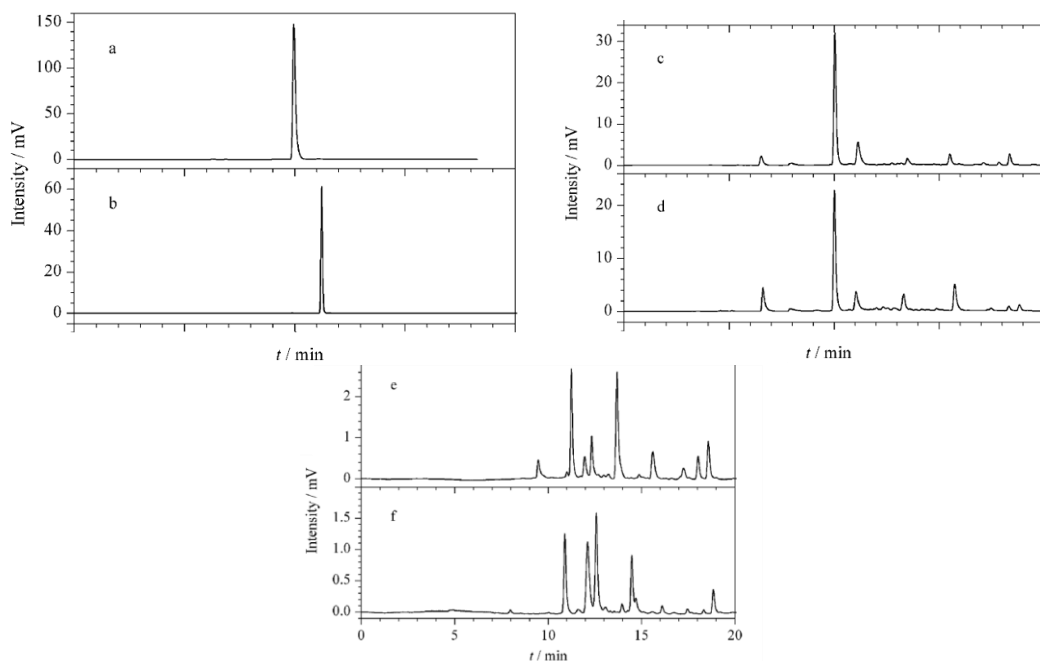


图 1 维生素 B₂、光黄素光解后的 eHPLC-LIF 谱图

注：(a)维生素B₂标准液；(b)光黄素标准液；(c)水溶液中的维生素B₂暴光 2h；(d)PBS中的维生素B₂暴光 2h；(e)水溶液中的维生素B₂暴光24h；(f)PBS 中维生素B₂暴光24h

4.结论

基于 eHPLC -LIF 平台，建立了维生素 B₂ 及其荧光性分解产物的分析方法，实现了维生素 B₂ 及多种光降解产物的分析。

5.配置列表

仪器配置	TriSep ®-3000 高效微流电动液相色谱系统（配二元梯度泵、柱温箱、LIF 检测器、高压电源、自动进样器、微流控、控制器）
	Clarity Lite 色谱工作站

