

4)为展开剂,展开,取出晾干,喷以0.5%茚三酮乙醇液,于90℃烘20min,确定斑点的位置,供试品与对照品在同位置上显相同的一个紫红色斑点,而阴性对照品无此斑点。

对盐酸麻黄碱对照品斑点,供试品相应斑点及麻黄空白对应处分别进行扫描,样品与对照品在520nm处最大吸收峰一致,而阴性对照品在此波长处无吸收,故可采用薄层扫描法进行含量测定,520nm为测定波长,狭缝1.2×1.2mm,线性化参数 $S_x=3$ 。

3.3 标准曲线的制备:准确吸取盐酸麻黄碱对照品溶液(1.998mg/ml)1,2,3,4,5 μ l分别点于同一块上述薄层板上,依上述条件展开后扫描测定,以点样量为横座标,斑点面积积分为纵座标,作图得一直线,回归方程为 $Y=-2536+2136X$, $r=0.9992$,说明点样量在1.998~9.990 μ g之间与斑点面积积分值呈线性关系。

3.4 稳定性考察:对盐酸麻黄碱某一斑点,间隔20min测定1次,共测定4次,其面积积分值的变异系数RSD=1.97%,说明盐酸麻黄碱至少在1h内稳定性良好。

3.5 精密度考察:同板精密度考察:吸取相同量的盐酸麻黄碱对照品溶液点于同一薄层板上,共点5个斑点,按上述方法展开,扫描。5个斑点的面积积分值的变异系数RSD=1.47%。

不同板精密度考察:同一供试品溶液同法在4块薄层板上进行测定,含量的变异系数RSD=1.87%。

3.6 回收率试验:精密吸取盐酸麻黄碱对照品液,加入2.5g已知含量的样品中,同上述法处理,分别测定回收率,5次加样回收率分别为96.44%,99.43%,97.23%,101.14%,95.30%,平均回收率97.91%,变异系数RSD=2.41%。

3.7 样品测定:吸取盐酸麻黄碱对照品溶液1 μ l和3 μ l,供试品溶液3 μ l交叉点于同一薄层板上,依上述方法展开,扫描,以外标两点法计算含量。3批样品的含量测定结果见表。

表 宁嗽冲剂中盐酸麻黄碱含量

批号	含量(mg/g)			平均值(mg/g)
940110	0.477	0.469	0.464	0.470
940218	0.393	0.374	0.382	0.383
940222	0.431	0.438	0.427	0.432

4 讨论

宁嗽冲剂中含有较多糖,成分复杂,经多种提取方法比较,确定了将样品加水溶解、碱化,以乙醚-乙醇混合溶媒提取麻黄碱,可达到去除干扰杂质的目的。

中药中糖的比色法测定研究

北京中医药大学 中药化学教研室 王晓强 郭亚健
分析化学教研室 (100029) 闫汝南

摘要 研究了常见十几种单糖对酚-硫酸试剂、蒽酮试剂和吡啶试剂的显色灵敏度,并对实验条件做了讨论,为比色法测定中药中糖含量时对照品及实验条件的选择提供了参考。

关键词 糖 比色法 蒽酮比色法 吡啶比色法 酚-硫酸比色法

目前应用比色法测定中药中糖含量常用的3种方法为酚-硫酸法^[1,2]、蒽酮法^[3,4]、吡啶法^[5]。由于中药中所含的糖多为非单一成分,而且同一糖对不同显色剂的灵敏度不同,不同糖对同一显色剂的灵敏度也不同,所以,盲目选择糖对照品会使测定结果偏高或偏低。本文对常见的十几种单糖对3种常用显色剂显色灵敏度和吸收做了研究,并对实验

条件和对照品选择做了讨论。

1 仪器与试剂

仪器:日立-2000型分光光度计;上海751型紫外-可见分光光度计;滴流混悬器。

试剂:所用试剂均为分析纯

测试样品:D-果糖、D-甘露糖、D-山梨糖、D-葡萄糖、D-半乳糖、L-鼠李糖、D-木糖、L-

阿拉伯糖、D-核糖、D-去氧核糖、D-山梨糖醇、D-甘露糖醇(Merk, 色谱对照品); D-葡萄糖醛酸(Sigma); D-半乳糖醛酸(Baker, "Baker" grade)。

2 测定方法

2.1 显色液配制: 6%重蒸苯酚水溶液; 0.15%吡啶乙醇溶液; 0.2%蒽酮浓硫酸溶液。

2.2 糖对照品溶液配制: 精密称取糖对照品 2.0 ± 0.05mg (为净糖量, 不含结晶水), 置 10ml 容量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 即得。

2.3 显色条件: a) 酚-硫酸法: 精密量取糖对照品溶液 1ml, 置 10ml 具塞试管中, 精密加入 1ml 苯酚试液, 将试管置冰浴中精密加入 5ml 浓硫酸, 以滴流混悬器快速混匀, 于 70℃ 水浴中加热 10min 后立即用冷水冷却至室温, 在 490nm 波长处测定吸收度。b) 蒽酮法: 精密量取糖对照品溶液 1ml 置预

先放入冰浴中的试管内, 精密加入 4ml 蒽酮试液, 快速混匀, 置 70℃ 水浴中加热 10min 后取出立即以冷水冷却至室温, 在 625nm 波长处测定吸收度。

c) 吡啶法: 精密量取糖对照品溶液 1ml 置 10ml 具塞试管中, 精密加入 6ml 浓硫酸, 置沸水浴中加热 20min, 冷却至室温, 精密加入 0.2ml 吡啶试液, 室温放置 2h 后测定吸收曲线及相应波长处吸收度。

2.4 稳定性试验: 精密量取果糖、山梨糖、葡萄糖醛酸溶液各 1ml 分别置 3 支试管中, 分别加入相应量蒽酮、苯酚、吡啶试液, 按显色条件项下分别显色并隔一定时间测定吸收度, 结果表明在考察时间内 3 种方法都基本稳定。其测定结果和吸收曲线如下。

2.5 最低检出量测定方法: 取上述糖对照品溶液, 以蒸馏水定量稀释至以上述显色及测定方法测得

表 1 稳定性试验结果(透光率%)

时间(min)	0	10	20	30	40	50	60	70	100	12h	RSD%
蒽酮法	71.3	70.9	70.2	70.2	70.0	70.0	70.0	70.0			0.63
苯酚法	4.5	4.5		4.5			4.5			4.6	0.88
吡啶法	16.3	16.3	16.3		16.8		17.1	17.2	18.1		3.6

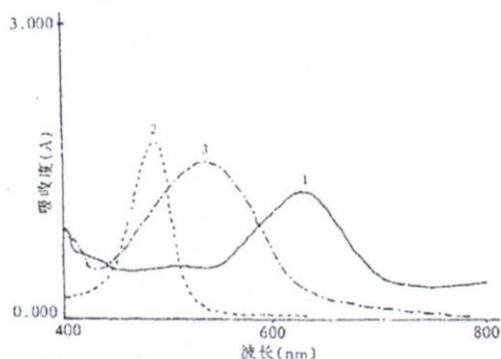


图 3 糖 3 种方法吸收曲线

1-果糖蒽酮法 2-山梨糖酚-硫酸法
3-葡萄糖醛酸吡啶法

透光率最大, 算出此时溶液中各糖的含量, 即为各种糖在不同显色方法下的最低检出量, 结果见表 2。

3 测定结果及结论

结果见表 2, 3。

4 结论

4.1 蒽酮试剂和各种类型单糖反应, 其 λ_{max} 为 623nm, 其显色灵敏度由大到小顺序为六碳酮糖、五碳醛糖、六碳醛糖、糖醛酸、糖醇(如表 2 所示)。

4.2 酚-硫酸试剂和各种类型单糖反应, 其 λ_{max} 为 490, 显色灵敏度以六碳酮糖最高; 六碳醛糖、五碳

醛糖、甲基五碳糖、糖醛酸次之; 糖醇灵敏度最低(如表 2 所示)。

4.3 不同种类单糖与吡啶试剂反应所产生的吸收不完全相同, 其中以糖醛酸反应最为灵敏, 吸收最强, 其 λ_{max} 为 530 ± 2nm (如表 3 所示), 此方法最适合于糖醛酸的比色测定。

表 2 不同糖对蒽酮法, 酚-硫酸法的最低检出量测定结果(单位: μg)

糖名称	蒽酮法	酚-硫酸法
六碳酮糖	D-果糖	0.394
	D-山梨糖	0.426
	D-葡萄糖	10.5
六碳醛糖	D-半乳糖	10.8
	D-甘露糖	4.56
甲基五碳糖	L-鼠李糖	2.30
	D-木糖	1.60
五碳醛糖	L-阿拉伯糖	4.00
	D-核糖	4.00
	D-去氧核糖	*
糖醛酸	D-半乳糖醛酸	26.8
	D-葡萄糖醛酸	21.3
糖醇	D-山梨糖醇	120
	D-甘露糖醇	22.6

* 去氧核糖蒽酮法显色与其它糖色调不一致, 为红色

表3 不同糖味唑法比色测定结果(糖溶液浓度均为0.2mg/ml)

糖名称		λ_{nm} (ABS)			
六碳酮糖	D-果糖		542(0.437)	439(0.389)	
	D-山梨糖		542(0.298)	436(0.244)	
六碳醛糖	D-葡萄糖	741(0.010)	542(0.211)	437.5(0.188)	
	D-半乳糖		541(0.190)	432(0.199)	
	D-甘露糖		542(0.096)	438(0.114)	
甲基五碳糖	L-鼠李糖	744(0.029)		412(0.087)	
五碳醛糖	D-木糖		527(0.102)	421.5(0.134)	
	L-阿拉伯糖		527(0.109)	421.5(0.196)	
	D-核糖		526(0.127)	419(0.194)	
	D-去氧核糖	741(0.027)	472(0.170)	379(0.098)	
糖醛酸	D-半乳糖醛酸		529(1.184)	400(0.402)	
	D-葡萄糖醛酸		532(0.274)	407(0.141)	
糖醇	D-山梨糖醇	745(0.013)	585(0.015)	404(0.037)	379(0.036)
	D-甘露糖醇	741(0.027)		472(0.170)	379(0.098)

5 讨论

5.1 近年来研究发现,许多中药如人参、黄芪等的多糖类成分多具有抗癌、增强免疫等生理活性,所以,对中药中糖类成分的分析方法研究显得越来越重要。中药中所含的糖多为单糖、双糖、多糖及其混合物,而且多糖多为杂多糖,所以,采用比色法测定其中总糖含量或某一类糖含量有着简便、快速、成本低、易于推广等优点。本文研究的3种显色剂均可与单糖、双糖、及多糖反应,进行比色测定。因此,在选择灵敏度高的单糖为对照品,测定结果会偏低;选择低灵敏度的糖做对照品,结果会偏高,所以,在具体测定时,糖的对照品的选择可考虑两方面的因素:样品中所含糖的种类及显色灵敏度;样品中各种单糖的含量或含量比例。

5.2 文献^[6]报道不同类型的糖与蒽酮试剂的反应速度不同。六碳醛糖水浴加热5~10min达到最大吸收强度,12min内无明显褪色,六碳酮糖水浴加

热0.5~2min达最大吸收,接着加热慢慢褪色;五碳糖加热1~2min达最大吸收,4min后褪色显著,所以具体实验条件可根据所含糖种类与含量有所区别。

5.3 新配制的蒽酮试剂用于比色会产生不一致结果,所以配后4h~9d使用较好,蒽酮的最佳浓度为0.05%~0.02%^[7,8]。

致谢:魏璐雪教授给予许多指导和建议。

参考文献

- 1 姚燕,等. 中草药,1989,20(2):13
- 2 倪慧,等. 中成药,1993,15(1):39
- 3 黄驰,等. 中成药,1993,15(1):13
- 4 张永恒,等. 中草药,1987,18(9):13
- 5 李向高,等. 中药通报,1987,12(6):40
- 6 Leonore H K. Anal Chem, 1952,24:1576
- 7 Frederick J, et al. Anal Chem, 1949,21:950