

苯酚-硫酸法测定乌梅多糖的含量

张璐,翁立冬,刘莉,刘强*
(南方医科大学中医药学院,广州 510515)

[摘要] 目的:建立乌梅药材中多糖的含量测定方法。方法:采用苯酚-硫酸显色法测定乌梅药材中多糖的含量。结果:样品经苯酚-硫酸显色后于 488 nm 处测定吸收度,在此波长处溶液的吸光度与葡萄糖含量呈良好的线性关系;线性范围0.02 ~ 0.2 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 8$),加样回收率 100.38%,RSD 0.892%;乌梅中多糖含量 2.51%。结论:苯酚-硫酸显色法操作简便,结果准确,为乌梅多糖的进一步研究奠定良好的基础。

[关键词] 乌梅;多糖;苯酚-硫酸法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0107-03

Determination of Content of Polysaccharides in *Prunus Mume* by Phenol-sulfuric Method

ZHANG Lu, WENG Li-dong, LIU li, LIU Qiang*
(College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an analysis method for the determination of the content of polysaccharides from *Prunus mume*. **Method:** Using Phenol-sulfuric Method to determination of the content of polysaccharides for *P. mume*. **Result:** The absorbance was determined at 488 nm. The linear curves was fine between the concentration rang of 0.02 – 0.2 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 8$), the average recovery was 100.38%, the RSD was 0.892%. The content of polysaccharide in *P. mume* was 2.51%. **Conclusion:** Phenol-sulfuric method is a simple operation process with accurate result, laying a foundation for further study on polysaccharides in *P. mume*.

[Key words] *Prunus mume*; polysaccharides; phenol-sulfuric method

乌梅为蔷薇科落叶乔木植物梅 *P. mume* 的近成熟果实,现代研究表明乌梅对蛔虫具有兴奋和刺激蛔虫后退的作用^[1];对多种致病菌有抑制作用,如痢疾杆菌、大肠杆菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌、百日咳杆菌、脑膜炎双球菌等^[2]。乌梅果实中含有多种糖,其中单、双糖主要为蔗糖、果糖、三梨醇糖、葡萄糖等,多糖主要为果胶和粗纤维,且随果实成熟程度增加,单糖增多,而多糖减少。果肉中还原糖含量约为 1.3%^[3]。目前对其化学成分的研究主要集中在有机酸,发现其有机酸主要由水溶性的脂肪酸如枸缘酸、苹果酸、琥珀酸等和脂溶性的三萜酸如熊果酸、齐墩果酸和咖啡酸、绿原酸等芳香酸组成^[4],但对其多糖成分没有相关报道。为了对乌梅多糖进行研究,我们对乌梅的成熟果实进行脱脂、醇、水加热回流的方式提取乌梅中的多糖,并利用苯酚-硫酸法对乌梅多糖含量进行了测定。

1 仪器与试剂

UV-2401PC 紫外-分光光度计(日本,岛津),JA2003 型电子天平(上海,良平仪器仪表有限公司),无水葡萄糖对照品购于中国药品生物制品检定所(批号 10833-200503),所用试剂均为分析纯。乌梅购自广东健和药业有限公司,经南方医科大学中药鉴定室陈兴兴讲师鉴定为蔷薇科的落叶乔木植物

[收稿日期] 20100902(007)

[第一作者] 张璐,实验师,大学本科,研究方向:中药药剂与药物质量标准控制, Tel: 020-61648264, E-mail: ulgnahz@163.com

[通讯作者] * 刘强,教授,博士,研究方向:中药新制剂与新剂型, Tel:020-61648264, E-mail: gzlq2002@163.com.

梅经烟火熏制而成近成熟的果实。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备^[5] 乌梅粉碎过 20 目筛,精密称取药材粉末约 0.5 g,加乙醚 100 mL 加热回流 1 h,静置放冷,弃去乙醚溶液,残渣挥干乙醚,加 80% 乙醇 100 mL 加热回流 1 h,滤过,弃去醇液,药渣挥去醇液后用水 150 mL 加热回流 2 h,趁热过滤,煎液定容至 250 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 105 ℃ 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 25 mg,置 250 mL 量瓶中,加蒸馏水溶解并定容,摇匀,即得 0.1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 测定波长的确定 精密量取溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加入 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5 mL,摇匀,放置 10 min,置 40 ℃ 水浴保温 15 min,取出后冷迅速冷却至室温,定容至 10 mL,在 400 ~ 600 nm 用紫外分光光度计行全波长扫描,结果供试品溶液与对照品溶液在 490 nm 处有最大吸收峰,故确定 490 nm 为测定波长。

2.4 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,各加入 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5 mL,摇匀,放置 10 min,置 40 ℃ 水浴保温 15 min,取出后冷迅速冷却至室温,定容至 10 mL。精密量取蒸馏水 1 mL 同上述操作,作为空白对照。按紫外分光光度法在 490 nm 处测定吸光度。以吸收度(A)对浓度(C)作线性回归计算,得回归方程 $Y = 3.371\ 6X + 0.133\ 9$ ($r = 0.999\ 8$)。结果表明葡萄糖溶液在 0.02 ~ 0.2 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.5 精密度实验 精密量取对照品溶液 5 份,每份 0.60 mL,按 2.4 项下方法测定吸收度,结果 RSD 0.187% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性实验 精密量取供试品溶液 1 mL,按 2.4 项下方法显色后,于 490 nm 每隔 30min 测定一次,连续 4 h 考察其稳定性。结果 RSD 0.211% ($n = 5$),表明样品至少在 4 h 内保持稳定不变。

2.7 重复性实验 精密称取乌梅药材粉末约 0.5 g,共 5 份,按 2.1 项下的制备方法,再按 2.4 项下方法测定吸收度,结果 RSD 0.197% ($n = 5$),表明本法有较好的重复性。

2.8 加样回收率实验 精密量取已知含量的 2.1 项下供试品溶液 1.0 mL,共 6 份,精密加入 20,40,

80 μg 的葡萄糖对照品,使其溶解,按 2.4 项下方法测定吸收度,结果平均回收率为 100.38%,RSD = 0.892%,见表 1。

表 1 乌梅中葡萄糖加样回收率试验结果($n = 3 \times 2$)

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD %
0.020 0	0.060 2	101.0	100.38	0.892
0.020 0	0.059 8	99.0		
0.040 0	0.080 3	100.8		
0.040 0	0.080 4	101.0		
0.080 0	0.120 8	101.0		
0.080 0	0.119 6	99.5		

注:取样量均为 1.0 mL。

2.9 样品测定 精密称取乌梅药材粉末约 0.5 g,共 3 份,按 2.1 项下的制备方法提取。精密吸取上述乌梅多糖提取液,葡萄糖标准品溶液及蒸馏水各 2.0 mL。按 2.4 项下方法测定吸收度。供试品多糖的含量根据下列公式计算(以葡萄糖量计算),结果分别为 2.52%,2.49%,2.53%,RSD 0.83%。

多糖含量(g·L⁻¹) = A 样品/A 对照品 × 葡萄糖对照品质量浓度 × 稀释倍数

3 讨论

乌梅通过脱脂和 80% 乙醇提取,除去单糖和低聚糖后,在经过水提可得到多糖,使测定结果更加准确反应乌梅中多糖的含量。苯酚-硫酸法较为稳定,而且不同的多糖和单糖显色反应后显示不同的最大吸收峰,是较为理想的多糖测定方法^[6]。多糖在浓硫酸作用下,先水解成单糖,并迅速脱水生成糖醛衍生物,与苯酚反应生成橙黄色液体,在一定浓度范围内,其颜色深浅和吸光度符合朗伯-比耳定律。此溶液在适当波长处有特征吸收。进一步通过稳定性、精密度、重复性和加样回收率等方法学实验说明该方法不仅准确可靠,简便快速,正确率和精密度高,而且重现性好,颜色稳定,可作为中药乌梅中多糖含量的测定方法。

实验过程中发现 5% 苯酚溶液易被氧化,实验时应现配现用。测定多糖含量应注意加入苯酚试液和硫酸后要充分混匀,振摇时间和放置时间均要严格控制,否则会影响测定结果。

制备标准曲线时,葡萄糖浓度不应过高,加入浓硫酸不应过多,否则容易碳化。测定样品时应在 1 h 内完成,时间过长,样品的稳定性降低,影响测定数值的准确性。

电感耦合等离子体质谱法测定冰硼散中硼、汞含量

王春丽
(郑州市骨科医院药剂科, 郑州 450052)

[摘要] 目的:建立了冰硼散中硼、汞的含量测定方法。方法:电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS),样品经微波消解,以铋(Bi)、铍(Be)为在线内标,调节仪器测定参数,确定仪器最佳工作条件;配制各元素系列标准溶液,将试剂空白、标准系列、样品溶液分别引入仪器同时测定;加样回收率试验验证方法的准确度。结果:汞在 0~60 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,平均回收率 99.7%;硼在 0~80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,平均回收率 99.4%。结论:研究所建立的方法具有简便、快速、准确、灵敏度高的优点,可用于冰硼散的质量控制。

[关键词] 电感耦合等离子体质谱法;微波消解;冰硼散;汞;硼

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0109-03

Determination of Boron and Mercury in Bingpeng San

WANG Chun-li

(Pharmacy Department of Zhengzhou Orthopaedic Hospital, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of boron and mercury in Bingpengsan. **Method:** The samples were digested by microwave. Boron and mercury in Bingpengsan were directly analyzed by ICP-MS. Bi and Be were selected as the internal standard, and the instrument parameters were adjusted to the optimum working conditions. Serial standard solutions were prepared. The reagent blank, standard series and the sample solutions were added to equipment and detected. The accuracy of the method was validated by recovery rate. **Result:** Mercury was linear in the range of 0 – 60 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; the average recovery was 99.7%. Boron was linear in the range of 0 – 80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; the average recovery was 99.4%. **Conclusion:** This method is convenient, quick, accurate and highly sensitive. The method can be used for the quality control of Bingpengsan.

[Key words] ICP-MS; microwave digestion; Bingpengsan; mercury; boron

[收稿日期] 20100611(005)

[第一作者] 王春丽,本科,副主任中药师,研究方向:临床药学,E-mail:cyx1963@163.com

[参考文献]

[1] 陈林,陈鸿平,刘友平,等. 乌梅不同部位药理作用研究[J]. 中国药房,2007,18(27):2089.

[2] 卢祖庆,毛秀红,季申,等. 乌梅干浸膏的质量标准研究[J]. 儿科药理学杂志,2008,14(3):36.

[3] 张飞,李劲松. 乌梅的研究进展[J]. 海峡药学, 2006, 04:21.

[4] 范成杰,刘友平,陈鸿平,等. 乌梅药材中齐墩果酸和熊果酸的高效液相色谱含量测定[J]. 时珍国医国药, 2008,19(8):1843.

[5] 叶玉娣. 不同等级枸杞中枸杞多糖的含量测定与比较[J]. 浙江中医杂志,2009,44(12):921.

[6] 钟方晓,任海华,李岩,等. 多糖含量测定方法比较[J]. 时珍国医国药,2007,18(8):1916.

[责任编辑 蔡仲德]