

药品中葡萄糖含量检测方法分析

车灿梅

(广西梧州制药(集团)股份有限公司, 广西 梧州 530011)

摘要 在药品检测中,葡萄糖含量是重要的检测项目,对葡萄糖含量的检测方法与手段是多种多样的,不同的检测方法都有其运用范围,也有其运用优势。制药企业在生产过程中需要抽检葡萄糖含量,常见的检测方法包括旋光法、自动还原糖法、DNS方法。由于葡萄糖在不同类型的药品中有多种类型的存在形式,有些是液态存在的,有些是固态存在的,不同性质的药品其葡萄糖含量和纯度之间的差异也是比较大的。因此,本文认为有必要研究如何在药品检测过程中检测葡萄糖的含量,找到科学的检测方法与手段并做好鉴定,提高药品出产质量,维护社会大众的用药健康。

关键词 药品;葡萄糖含量;检测方法

中图分类号:R97

文献标识码:A

文章编号:2097-3365(2024)04-0094-03

葡萄糖是一种碳水化合物,其重要性是不言而喻的。葡萄糖产量较大,运用范围较广,是一种常见的单糖,也叫做右旋糖,它广泛存在于生物体内用以维持人体的基本生理功能。无论是药品行业、食品行业还是科学研究领域,葡萄糖含量的测定都是基础技术,也是重要的工作环节,有关工作人员需要结合不同的药品性质选择合适的检测方法。如果葡萄糖含量过多,可能会引发人体中枢神经紊乱,引发糖尿病、视网膜病症和其他神经系统方面的疾病。在方法的选择过程中要考虑到成本和经济因素,有些方法虽然准确性较高,但是耗费的成本较多,只适合实验室使用,不适合大规模投入样品检测,具体方法种类和步骤的筛选需要根据实际情况来决定。

1 DNS 检测法

使用DNS检测药品中葡萄糖含量可以采用直接滴定的形式。有些双糖和多糖不具有自动还原的特性,可以加入酸水解法展开还原处理,把多糖还原成单糖再进行成分的测定。在DNS方法使用的过程中,要科学地计算还原糖和总糖的数量,还原糖一般会储存在碱性环境中,在加热之后可以产生氧化还原反应并产生多种衍生物。例如在果3,5-二硝基水杨酸发生还原反应之后会变硬、变热,完成还原糖的供热效果,之后会形成3-氨基-5-硝基水杨酸,这种产物颜色和之前相较有了一定的变化。在某种程度上,还原糖的含量会影响到其产物颜色的深浅,二者之间的关系可

以依照朗伯比尔定律来测算,在使用DNS测定方法的时候,如果出现其他有色物质说明样品含量较高,增加了吸光度^[1]。有些学者经过研究可以发现,葡萄糖和磷钼杂多酸之间会产生化学反应,并进而产生有色衍生物,由此可以判定葡萄糖质量浓度和吸光度之间存在关系,这种关系是线性的,当然这样的检测方法经常被运用在注射液的检测中。在碱性环境和条件之下,利用DNS方法可以检测药品中少量的葡萄糖含量,葡萄糖本身具有较强的还原性,形成Ag元素之后可以把三价铁还原成二价铁离子,如果使用介质的酸碱度保持在5以下,那么二价铁可以和邻菲罗啉直接产生化学反应,络合物的颜色是橘红色。

2 试剂检测法

试剂检测法的别称是费林试剂法,费林试剂较为常见,属于氧化剂的一种,它的主要成分是甲液和乙液,在采用费林试剂法展开葡萄糖含量的测定时需要将甲液和乙液混合在一起形成氢氧化铜,这种化学物质会产生络合物酒石酸钾铜。采用次甲基蓝进行滴定的过程中,如果颜色变成蓝色并溶于溶液,发生氧化还原反应后会变成透明无色状态^[2]。菲林试剂法可以采用还原糖展开滴定,使用还原糖的时候可以使其中的铜离子发生还原反应,还原反应发生之后再次使用甲基蓝变成无色透明状的液体,这时滴定工作就可以结束。由此可见,在检测过程中,使用费林试剂法会使溶液的颜色发生改变。在药品加工生产过程中,很多工作

人员会采用费林试剂法进行葡萄糖含量的测定,这种方式较为标准,也能够达到行业要求。除了药品企业外,很多食品生产企业或发酵行业也会采用费林试剂法来检测葡萄糖的含量,利用手工滴定的形式测定葡萄糖还原糖的百分比。目前费林试剂法在世界药品加工产业的使用历史已经超过了 70 年,它的优势是显著的,操作起来较为便捷,步骤简单,可以人工来完成,但其缺点也不容忽视,那就是容易受到外界变量的影响,工作人员调配试剂的实际浓度、滴定过程的加样量、手工摇动的速度、力度以及手掌的温度都有可能对准确性造成负面干扰。除此之外,可以采用全自动还原糖测定仪的方法进行检测,它的检测原理和费林试剂的方法是相同的,这种方法从某种程度上来说是依照费林试剂的原理进行了改进和加工,对光电转换设置展开联合应用。在具体试剂滴定的过程中可以检测透光率的具体数值,其使用根据应当是电压变化曲线,要对检测仪器展开系统控制,确定滴定的终点。在还原糖达到滴定终点时要展开全自动控制,从而使还原糖的含量被测定出来,这种方式测定过程较为简单,并且能够改进费林试剂由于手工滴定造成的不稳定因素。

3 高效液相色谱检测方法

高效液相色谱检测(HPLC)是把试剂分成不同的组别同时注入色谱柱之中,观察流动相和固定相之间的表现状态,区分不同组别的溶解度,检测及渗透作用和吸附作用,并以此来做出数值判断。色谱柱包含不同的组别,每一个组别的移动速度都是不同的,在距离移动后,不同的组别可以实现相互剥离,这一过程中的色谱柱会按照不同的顺序流出。接下来工作人员可以采用信号检测灯或其他检测设备进行检测,确定不同组别的谱峰值,谱峰值的计算需要包括保留时间和保留面积的计算,也可以采用外标法展开定量检测。有些学者把高效液相色谱法运用在药品高果糖浆葡萄糖含量的检测工作中,选择水作为流动相,将水的流速设定为每分钟 1mL,检测时也可以采用外标法或者视差折光方法^[3]。在以上数值的规定范围之内,经过实验可以发现葡萄糖的线性均匀程度比较好,葡萄糖的 R 值是 0.9997,回收率是 99.6%,而果糖的数值则不同,除了葡萄糖之外,蔗糖、麦芽糖和乳糖含量的检测都可以采用高效液相色谱法。具体检测时可以利用水超声波把样品浸泡其中,之后再应用 Hypersil

NH₂ 柱进行分离处理,同样是以水作为流动柱,利用激光蒸发光散射检测仪进行含量对比和检测,计算葡萄糖、蔗糖、麦糖和乳糖的线性范围值。在盐酸氨基葡萄糖胶囊中检测葡萄糖含量依然可以采用高效液相色谱法,具体检测可以选择 Diamonsil TM C8 Column 色谱柱,同时把硫酸铵作为流动相,速度设置在每分钟 0.6mL,波长设置为 200,温度保持在 40℃ 以下。通过分析检测数据可以发现,样本依然存在线性关系,回收率可以超过 99%,将高效液相色谱法运用在氨基葡萄糖的检测过程中,可以联合采用 Waters Carbohydrate 色谱柱,以此为基础,利用蒸发光散射检测仪进行峰值检测,根据峰面成绩进行数值计算和公式分析,做好线性回归比对,进样量保持在 2.0~12ug 之间的时候二者之间存在不错的线性关系,回收率也可以高达 96%。

目前,随着高效液相色谱法本身技术的不断发展,这种方式在更大的范围中得到了推广和使用。离子色谱法是高效液相色谱法其中的一个分支,它的运用较为常见,有关使用仪器和工具设备也处在快速运行与发展阶段。有些学者开辟了创新检测观念,利用高效阴离子做好交换脉冲安培检测,这一检测方式可以同时检测八种单糖和两种以上的糖醛酸,大大提高了检测效率。同时,高效液相色谱法在经过创新后还可以检测多糖水解液的糖含量以及木材半纤维素水解液中的单糖含量,具体检测时可以采用 CarboPacPA20 阴离子作为交换柱,分离柱中含有多种以上的单糖,接下来再采用 2mmol/L 的 NaOH 溶液做好单糖脱洗处理。在脱洗过程中,流速可以设置为每分钟 0.5mL,时间长度要超过 30 分钟,在测定过程中要采用合适的处理环境和处理手段。

4 分光光度检测法

运用分光光度法测定葡萄糖的含量能够达到较高的准确度,其检测的过程如下:首先是要配制溶液,配置显色剂的时候可以选择 3,5-二硝基水杨酸 7g 左右,在其中加入水溶解之后将其放到棕色试剂瓶之中,再取用 80g 左右的氢氧化钠,同样用水溶解后配制成氢氧化钠溶液,转移到含有 3,5-二硝基水杨酸的棕色瓶之中,接下来再加入丙三醇 50g 左右摇晃均匀,放置冷却。配置系列标准溶液的时候需要将葡萄糖放在烘箱中烤干,之后放在干燥器最终保存,以备使用。烘好的葡萄糖选择 10g 左右加入水溶解转至容量瓶;

其次是要选择测量的波长。用吸量管选取 2mL 左右配置好的浓度溶液, 分别加入 25mL 左右的容量瓶, 再加入 3, 5-二硝基水杨酸溶液, 用蒸馏水稀释到刻度线左右, 摇晃均匀, 采用水浴加热法两分钟, 等待其自然冷却, 实验对照组可以采用未加入葡萄糖溶液的试剂, 每隔 20nm 左右测试吸光度一次^[4]。根据实验可以发现, 最大的吸收波长大致为 500nm 左右, 但是分光光度检测仪最佳的吸收范围在 0.8a 以下, 因此最大吸收波长应当为 540nm。接下来需要确定 DNS 显色试剂量, 显色试剂可以稍稍多添加一些, 但如果加入太多也容易引起副作用, 可以选择 25mL 的容量瓶, 加入 1mL 左右浓度不同的葡萄糖标准溶液隔水加热, 再等到自然冷却。相同条件下不加葡萄糖的溶液作为对照组, 在 540nm 的条件下检测吸光度值。根据实验可以观察到, DNS 显色试剂用量和吸光度数值呈现出正相关的关系, 用量增大吸光度值也会上升。但是 DNS 用量继续加大时, 一旦超过了 1.5mL, 吸光度值就不再上升, 反而趋于平缓, 因此 DNS 的实际用量标准应当确定为 1.5mL 左右。以上工作完成后要进行的是葡萄糖标准工作曲线的绘制, 按照标准曲线回归方程绘制关系图, 根据关系图可以发现, DNS 试剂在反应之后的吸光度值和葡萄糖浓度之间存在线性关系, 有关工作者可以根据标准曲线法来测试不同药品和未知溶液中的葡萄糖。葡萄糖双极产生电化学反应, 这样的方式可以让葡萄糖的转化率被计算出来, 接下来再把电解液进行浓度稀释, 获得最佳条件下的吸光度数据。除此之外, 还要利用葡萄糖标准液和 DNS 试剂展开重复性实验, 当葡萄糖溶液和显色剂反应液浓度相同的时候, 波长 540nm 节点处吸光度标准值偏差较小, 证明此数值具有不错的重复价值, 准确率较高。

5 生物传感器检测法

在使用生物传感器检测的时候, 可以利用葡萄糖氧化酶产生催化反应, 在这一反应过程中, 葡萄糖可以变成过氧化氢, 过氧化氢酶也就是 HRP 可以对双氧化物产生催化作用, 在具体的反应层工作状态中, 还原态电介质可以发生氧化还原, 反应之后工作电压会降低, 氧化碳介质也会随即发生还原电流。这一过程主要是对还原电流展开检测, 检测的数值就可以计算出葡萄糖的浓度。在常用的薄膜金电极的基础之上, 有些学者可以利用氧化还原聚合物展开处理, 氧化还

原聚合物相对于传统的电子转移来说工作效率较高, 也可以根据固定酶结合生物传感器设备对低浓度的葡萄糖进行微量元素检测^[5]。处理固定酶的过程中可以利用光聚合方法和交联方法, 在传感器的支配过程中可以采用交联法将其运用在少量葡萄糖测定中, 稳定性较强, 优势是显著的。也有些学者混合了石墨粉和环氧树脂运用在传感器检测中, 这一端作为阳极, 阴极的配置则选用钛基 $\text{RuO}_2/\text{TiO}_2$ 涂层, 利用浸渍涂膜法提高 GOD 的固定和响应速度, 扩大了线性检测数值的覆盖范围, 检测结果趋向于稳定并且准确性较高。在传感器的设备制备过程中, 如果选用电极材料可以很好地控制成本, 经济性较强, 因此拥有不错的发展前景。

除此之外, 如果把纳米银和金复合颗粒相互混合可以制作成复合固定化酶膜基质, 利用 GOD 进行凝胶法固定处理, 形成葡萄糖生物传感器, 这种生物传感器运用在葡萄糖检测中显著提高了电极响应的流量, 从这里可以看出纳米颗粒效应的作用是显著的。

6 结语

测量药品中葡萄糖的含量有多种方法, 各种检测方法都有自身的相关特征以及优缺点。常用的方法有 DNS 检测法、试剂检测法、高效液相色谱检测法等, 具体使用何种方式需要根据实际情况而定。在葡萄糖含量检测未来发展的过程中, 不仅需要对现在已有的检测方法进行更新完善, 而且还要不断地加强研发力度, 开发出更加高效、经济且精准的检测方法。

参考文献:

- [1] 蒋瑶, 黄兰兰, 鄢思辉, 等. HPLC-ELSD 法测定壳寡糖酸降解液中氨基葡萄糖含量探索 [J]. 广东职业技术教育与研究, 2021(01):182-185.
- [2] 柯军, 叶晓燕, 张海悦, 等. 含糖血液透析液中葡萄糖含量检测方法的探讨 [J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(23): 23-25.
- [3] 杨文峰, 王艳, 纪志成. 基于 RF-GA-BP 神经网络的 N-乙酰氨基葡萄糖含量预测 [J]. 系统仿真学报, 2020, 32(10):2034-2040.
- [4] 蔡艳敏, 宋新力, 衣雪雪, 等. 药用辅料星型乙交酯丙交酯共聚物中葡萄糖含量测定研究 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(06):982-987.
- [5] 李强, 李森洪, 叶伟胜, 等. 茶叶中特异成分 1,2,6-三没食子酰葡萄糖含量变化影响因素及其与没食子酸的关系 [J]. 茶叶通讯, 2020, 47(02):248-254.