

研究简报

测定珍珠粉总卟啉成分的荧光光谱法

DETERMINATION OF TOTAL PORPHYRIN CONTENT IN PEARL POWDER BY SPECTROFLUOROMETER

陈依军 金冬梅

Chen Yijun and Jin Dongmei

(苏州市水产研究所)

(Aquatic Research Institute of Suzhou)

关键词 荧光光谱法, 珍珠粉, 总卟啉成分含量

KEYWORDS spectrofluorometric determination, pearl powder, total porphyrin compounds

珍珠是传统名贵中药,具有镇心安神、养阴熄风、清热解毒、明目去翳等功效⁽¹⁾。自八十年代以来,国内有多家单位进行了珍珠综合利用的研究,取得了一定的进展(门摩西,1989年)。实验研究证实珍珠粉能明显抑制小鼠自发活动,抑制家兔大脑皮层的活动,并显著改变脑内单胺类神经递质的含量,具有中枢抑制作用⁽²⁾。此外,作者(1988年)观察到珍珠粉能明显延长家蚕和小鼠寿命,降低小鼠心肌和脑组织脂褐质含量,具有一定的抗衰老作用。作者(1988年)首次从珍珠粉中分离得到卟啉类化合物,化学发光分析实验表明,珍珠粉卟啉类化合物能明显抑制黄嘌呤—黄嘌呤氧化酶实验体系中所产生的自由基(O₂⁻),由此推测珍珠卟啉类化合物是珍珠粉中的主要有效成分以及它可能是通过抑制机体内自由基反应而起作用。但迄今有关珍珠粉卟啉类化合物的含量测定方法尚未见报道。本文采用荧光光谱法测定珍珠粉中总卟啉成分的含量,并对该方法的稳定性和影响因素进行了实验观察。

材料和 方法

1. 仪器和供试品

(1) 仪器 岛津 RF-510 型荧光分光光度计,930 型荧光光度计(上海第三分析仪器厂)。

(2) 对照品 硫酸奎宁,由中国药科大学陈连植教授赠送。含量 99.95%,其荧光光谱的最大吸收波长为 Ex 350nm/Em450nm(南京药学院等,1979)。

(3) 样品 珍珠粉,由本所珍珠实验厂提供,系人工养殖的三角帆蚌(*Hyriopsis cumigii* Lea.)珍珠经粉碎而成,白色粉末(250目),药用级,批号为 880510。

(4) 测定温度 20±1°C。

2. 样品溶液的制备

准确称取珍珠粉 5.0g,制成样品水溶液 50ml,pH 为 6.8。

3. 样品溶液荧光光谱测定

取样品溶液 5ml,于 RF-510 型荧光分光光度计进行扫描,增益 20/10,狭缝 10nm,扫描速度 100

收稿年月:1989年10月;1990年1月修改。

(1) 钱曾年等,1985。全国第二届神经药理学学术会议论文摘要汇编,87。南宁。

nm/min, 纸速 20mm/min。测定样品溶液的最大荧光吸收波长。

4. 标准曲线的绘制

精密称取硫酸奎宁 1.00mg, 置 100ml 容量瓶中, 用 0.1N 硫酸溶液溶解至刻度, 即成 10 μ g/ml 贮备液。精密吸取贮备液 0.5、1.5、2.5、5.0、10.0ml, 分别置 10ml 容量瓶中, 用 0.1N 硫酸溶液稀释至刻度, 于 930 型荧光光度计, 在 Ex340nm/Em420nm 波长处测定荧光强度, 同时用 0.1N 硫酸溶液作空白校正。

5. 样品含量测定

取提取后 1 小时内的样品溶液, 于 930 型荧光光度计, 在 Ex340nm/Em420nm 波长处测定荧光强度, 灵敏度 $\times 2$ 。0.1N 硫酸溶液作空白, 以 1 μ g/ml 硫酸奎宁标准溶液调节仪器荧光强度至 50。样品含量以每克珍珠粉中所含相当于标准溶液荧光强度的荧光物质微克数计算。

6. 加样回收试验

精密吸取已知含量的样品溶液 5.0ml, 分别加不同浓度的硫酸奎宁标准溶液 5.0ml, 混匀。按样品含量测定方法进行测定。

7. pH 对样品溶液荧光强度的影响

将样品溶液用稀酸或稀碱调节不同 pH 值, 按前述方法测定荧光强度。观察不同 pH 情况下样品溶液荧光强度的变化。

8. 放置时间对样品溶液荧光强度的影响

样品溶液提取后经不同时间放置, 按前述方法测定荧光强度。观察不同时间内样品溶液荧光强度的变化。

实验结果

1. 样品溶液的荧光光谱

经荧光扫描, 样品溶液的荧光光谱由图 1 所示。由图中可知, 样品溶液的最大激发波长为 340nm, 最大发射波长为 420nm。

2. 硫酸奎宁标准曲线

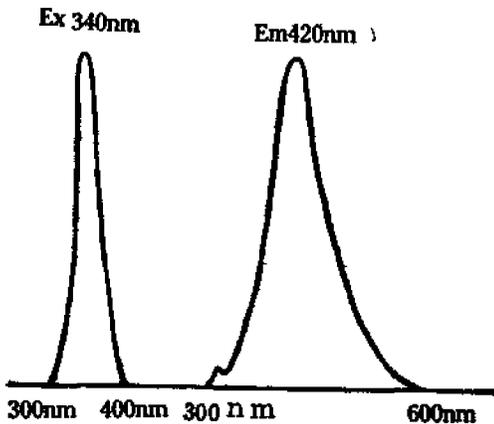


图 1 珍珠粉总卟啉成分荧光光谱图

Fig. 1 The flurometric spectrum of total porphyrin compounds from pearl powder

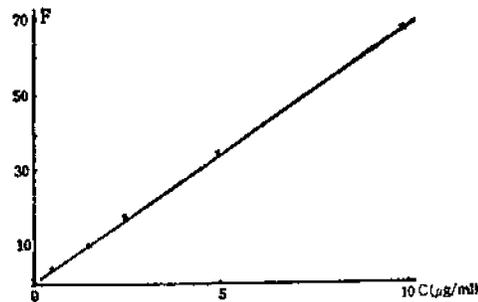


图 2 硫酸奎宁标准曲线

Fig. 2 The standard curve of sulfuric quinine

经对硫酸奎宁标准溶液进行荧光强度测定,得到其标准曲线,见图 2。

根据标准曲线,硫酸奎宁标准溶液在 $0.5\sim 10\mu\text{g/ml}$ 范围内具有线性并符合比尔定律,得回归方程 $F=6.89C+0.30$, $r=0.9996$ 。

3. 样品含量测定

经八次重复试验和测定,结果珍珠粉中总卟啉成分含量平均值为 $8.12\mu\text{g/g}$;标准差 0.16;变异系数 1.97%。

4. 加样回收试验

经四次重复试验和测定,结果平均回收率为 99.93%;标准差 0.69%;变异系数 0.69%。

5. 对样品溶液荧光强度的影响

经重复试验表明,样品溶液的荧光强度随 pH 值的不同而变化。经调节后各 pH 值的样品溶液与样品原液(pH6.8)比较均有显著差异($p<0.001$)。同时,不同 pH 情况下的样品溶液之间也有明显变化。见表所示。

附表 pH 对样品溶液荧光强度的影响

Attached tab. The effect of fluorescent intensity of sample solution on the pH ($n=7$)

序 号	pH 值	荧光强度($\bar{X}\pm\text{SD}$)	变异系数(%)	t 值	p 值
A	1	33.10 ± 1.05	3.17	B 与 A 比较	/
B	4	37.60 ± 1.60	4.26	8.64	<0.001
C	9	44.65 ± 0.80	1.79	D 与 C 比较	/
D	14	47.45 ± 0.60	1.26	5.16	<0.001

6. 放置时间对样品溶液荧光强度的影响

经实验观察,样品溶液在提取后 1 小时时荧光强度达到最高值,然后逐渐下降;2 小时后下降 12.28%;4 小时后下降 25.15%;6 小时后下降 27.48%,此后不再继续下降;观察至 24 小时,其荧光强度值基本保持稳定。

讨 论 和 小 结

1. 本文用荧光最大吸收波长与珍珠粉总卟啉成分相接近的硫酸奎宁作为标准对照溶液,在目前没有标准品和珍珠卟啉类化合物结构尚未确定的情况下,可对珍珠粉总卟啉成分进行定量测定。本法较为稳定,回收率高,可作为珍珠粉总卟啉成分的定量分析方法。

2. 样品溶液的 pH 值对珍珠粉总卟啉成分的荧光强度有较大的影响。根据实验结果,我们建议用提取后的样品原液(pH 近中性)直接进行定量测定。

3. 样品溶液的放置时间对珍珠粉总卟啉成分的荧光强度亦有一定的影响,1 小时时达到峰值,然后逐渐下降,6 小时后基本稳定。因此,在分析过程中,为了节省实验时间,避免误差并反映珍珠粉中总卟啉成分的实际含量,我们认为在提取后 1 小时内测定为好。

4. 有关溶液 pH 值和放置时间会改变样品溶液荧光强度的原因,有待于进一步实验探讨。

参 考 文 献

- [1] 门摩西,1979.淡水珍珠层粉的制取及药用研究。动物学杂志,(1):38~41。
- [2] 陈依军等,1988.珍珠粉抗衰老作用实验研究。老年学杂志,8(2):109~111。
- [3] ——,1988.化学发光分析法研究珍珠卟啉类化合物抗自由基作用。老年学杂志,8(5):298~300。
- [4] 南京药学院等编,1979.分析化学,384.人民卫生出版社(北京)。