

催化反应液中氨基葡萄糖酸的光度法测定

邹路易¹,肖静静²,顾文秀²,李 炜²,夏文水³

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 利用氨基葡萄糖酸在强酸性(pH 1.5)条件下形成内酯,并与羟胺碱-三氯化铁显色体系生成红棕色络合物,建立了氨基葡萄糖酸的分光光度检测方法,给出了线性方程。检测波长为500 nm,在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5}$ mol/mL范围内呈现良好的线性关系,平均加标回收率为99.28%,相对标准偏差 $\leq 4.91\%$ 。该方法操作简单、结果稳定、选择性和灵敏度良好,能成功应用于实际样品的检测。

关键词: 氨基葡萄糖酸;分光光度法;羟胺碱-三氯化铁

中图分类号: TS247

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2011)11-0093-03

New method for photometric determination of D-glucosaminic acid in catalytic reaction solution

ZOU Lu-yi¹, XIAO Jing-jing², GU Wen-xiu², LI Wei², XIA Wen-shui³

(1. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. School of Chemical & Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

3. School of Food, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Based on the ability of D-glucosaminic acid to form the corresponding lactone at pH 1.5 which can react with hydroxylamine base-ferric trichloride color system to form a red-brown complex, the spectrophotometric detection method is established. The maximum absorbance of the complex is at 500 nm. The corresponding linear equation is $A = 0.0926C + 0.018$, $R^2 = 0.9901$, $\varepsilon = 4.683 \times 10^4$ L/(cm·mol). The linear range is $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5}$ mol/mL and the average recovery 99.28%, $RSD \leq 4.91\%$. The selectivity and sensitivity of this method are satisfactory and the results are stable. This method can be successfully applied to the detection of actual sample.

Key words: D-glucosaminic acid; spectrophotometry; hydroxylamine base-ferric trichloride

氨基葡萄糖酸(2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖酸)结构如图1所示,自然存在于动植物组织和体液中,其代谢对于生物体内循环而言极为重要^[1-4]。具有多种重要的生理学用途,可生物降解络合配体,可口服化学抗癌剂的功能性配体^[5-7],治疗糖尿病的糖基肽的功能性糖基化配体^[8-9],功能性美容成分^[10],功能性食品甜味剂和添加剂等。另外,它也是一种重要的手性源,可作为多种氨基酸和糖苷酶抑制剂的不对称合成的起始化合物^[11-12]。除此之外,最近的研究表明:氨基葡萄糖酸还是 *Rhizobium leguminosarum* 脂多糖的重要组分^[13],因此氨基葡萄糖酸开始引起人们的广泛关注^[14]。探索氨基葡萄糖酸的高效合成新方法及其机理在理论研究和生产上均很有必要,笔者所在课题组已采用活性炭负载的Pd-Bi双金属催化剂(Pd-Bi/C)成功合成了氨基葡萄糖酸,并初步探索了其络合性质^[15-16]。为促进该方法的工业化,有必要建立仪器简单、操作方便、

准确度较高、价格低廉的检测方法,以对生产过程进行监测和指导。而糖类化合物因不具备灵敏的紫外或荧光生色团,测定困难,通常需要衍生化等复杂的操作和昂贵的仪器,不适用生产线上常规监测操作。本文考察了氨基葡萄糖酸与羟胺碱-三氯化铁显色体系,优化了显色条件,建立了氨基葡萄糖酸的光度测定方法。该方法操作简单、结果稳定、选择性和灵敏度良好,可以成功地用于由氨基葡萄糖酸盐制备氨基葡萄糖酸的催化反应液中氨基葡萄糖酸体积摩尔含量的测定。

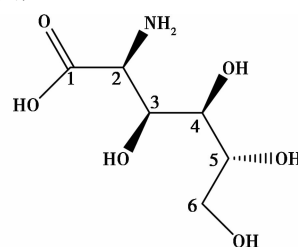


图1 氨基葡萄糖酸的结构式

收稿日期:2011-08-01

基金项目:食品科学与技术国家重点实验室目标导向课题(SKLF-MB-200805);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JUSRP11106)

作者简介:邹路易(1964-),男,大学,副教授,研究方向为环境污染治理技术;顾文秀(1973-),女,博士,副教授,从事应用化学方面研究,通讯

联系人,0510-85917090, guwenxiu@yahoo.com.cn。

1 实验部分

1.1 实验仪器及主要试剂

1.1.1 仪器

722 光栅分光光度计(上海分析仪器厂);TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);ZD-2 型自动电位滴定仪、复合电极 65-1(A)型(上海精密科学仪器有限公司);KQ2200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.1.2 试剂

氨基葡萄糖酸储液的配制:称取适量氨基葡萄糖酸(东京化成工业株式会社,AR),配制 0.1 mol/L 的贮液,取相应的量配制成所需标准溶液,并用 4 mol/L 的 HCl 调 pH 至 1.5;羟胺碱试剂:将 4 mol/L 的盐酸羟胺(国药集团化学试剂有限公司,AR)和 4 mol/L 的氢氧化钠(国药集团化学试剂有限公司,AR)等体积混合,并用适量以上溶液调节 pH 至 8(此溶液 4 h 内稳定);三氯化铁溶液:用 0.1 mol/L 的 HCl 配制 0.37 mol/L 的三氯化铁溶液;氨基葡萄糖酸盐溶液:称取适量氨基葡萄糖酸盐(国药集团化学试剂有限公司,AR),配制 0.1 mol/L 贮液。实验所用水均为二次去离子水。

1.2 实验方法

取 1 mL 含 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5}$ mol 氨基葡萄糖酸的试样(pH = 1.5),将试样置于 10 mL 带磨口塞的试管中,在沸水浴中加热 30 min,冷却至室温,然后顺次加入 2 mL 羟胺碱试剂,1 mL 4 mol/L 盐酸和 1 mL 三氯化铁试剂。放置 15 min 后,用 1 cm 比色皿以空白试液为对照,测相应的吸收光谱或在 500 nm 波长处测定吸光度。

2 结果与讨论

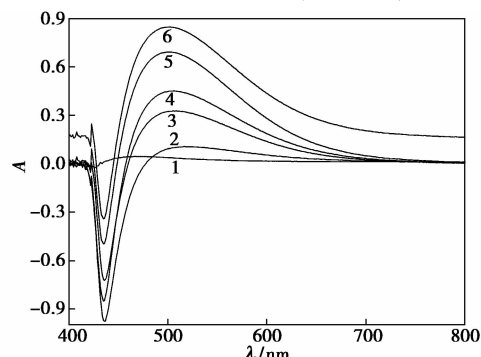
2.1 吸收光谱测定和标准曲线的绘制

按 1.2 的方法测系列标准溶液的吸收光谱,另取 1 mL 含 9.0×10^{-5} mol 氨基葡萄糖酸盐的试样(pH = 1.5),同上法测其吸收光谱,结果如图 2 所示。氨基葡萄糖酸的羟胺碱-三氯化铁体系的最大吸收波长在 500 nm 附近,而氨基葡萄糖酸盐在相同条件下不影响氨基葡萄糖的测定。本实验选用 500 nm 为工作波长,绘制氨基葡萄糖酸的标准曲线,结果如图 3 所示。在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5}$ mol/mL 标样范围内,在 500 nm 处,吸光度均与氨基葡萄糖酸的体积摩尔含量有较好的线性关系,线性

方程为:

$$A = 0.0926C + 0.018, R^2 = 0.9901,$$

$$\varepsilon = 4.683 \times 10^4 \text{ L}/(\text{cm} \cdot \text{mol})$$



- 1—c(氨基葡萄糖酸盐): 9.0×10^{-5} mol/mL;
 2—c(氨基葡萄糖): 1.0×10^{-5} mol/mL;
 3—c(氨基葡萄糖): 3.0×10^{-5} mol/mL;
 4—c(氨基葡萄糖): 5.0×10^{-5} mol/mL;
 5—c(氨基葡萄糖): 7.0×10^{-5} mol/mL;
 6—c(氨基葡萄糖): 9.0×10^{-5} mol/mL

图2 工作曲线系统吸收图谱

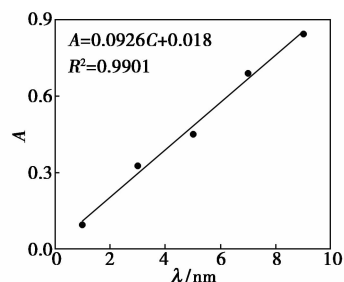


图3 氨基葡萄糖酸的工作曲线图

2.2 显色后放置时间对测定结果的影响

当氨基葡萄糖酸样品按 1.2 实验方法显色后,放置不同的时间,测定对吸光度的影响。结果表明,放置的前 15 min,由于有气泡产生,影响了吸光度测量的稳定性,15 min 后气泡基本消失,吸光度保持稳定。但 1 h 后,吸光度逐渐减小,结果见表 1。因此,合适的测定时间为样品显色后 15 ~ 60 min 这段时间。

表1 氨基葡萄糖酸(5.0×10^{-5} mol/mL)显色后放置时间对吸光度的影响

放置时间/min	0	10	15	20	30	40
吸光度	0.392	0.380	0.364	0.365	0.364	0.365
放置时间/min	50	60	70	80	90	
吸光度	0.365	0.363	0.352	0.348	0.346	

2.3 反应液中共存反应物的影响

本文研究了在 3.0×10^{-5} mol/mL 氨基葡萄糖

酸标准溶液中,加入不同量的氨基葡萄糖盐酸盐,测定氨基葡萄糖酸的吸光度。从表 2 可知,少于或等于氨基葡萄糖酸 3 倍量的氨基葡萄糖盐酸盐对测定结果没有影响。

表 2 氨基葡萄糖盐酸盐对氨基葡萄糖酸测定的影响

混合试样					
氨基葡萄糖酸/mol·mL ⁻¹	3.0 × 10 ⁻⁵	3.0 × 10 ⁻⁵	3.0 × 10 ⁻⁵	3.0 × 10 ⁻⁵	3.0 × 10 ⁻⁵
氨基葡萄糖盐酸盐/mol·mL ⁻¹	—	3.0 × 10 ⁻⁵	6.0 × 10 ⁻⁵	9.0 × 10 ⁻⁵	12.0 × 10 ⁻⁵
吸光度	0.251	0.249	0.248	0.251	0.265

2.4 催化反应液中氨基葡萄糖酸的测定

以氨基葡萄糖盐酸盐作为反应物,将 Pd-Bi/C 催化氧化法所得 5 批氨基葡萄糖酸反应液进行适当的稀释,取稀释液 1 mL,然后按照 1.2 所述的实验方法显色,在 500 nm 下测相应的吸光度,并测定回收率,结果见表 3。由结果可知,此方法能成功应用于实际样品的检测,平均加标回收率为 99.28%,相对标准偏差 ≤ 4.91%。

表 3 反应液中氨基葡萄糖酸的测定结果及回收率 (n = 5)

反应批号	氨基葡萄糖酸产率/%	RSD/%	加标回收率/%	平均加标回收率/%
1	75.2	4.85	97.14	99.28
2	70.0	2.75	98.81	
3	72.3	1.29	99.24	
4	73.5	3.48	99.35	
5	71.3	4.91	101.84	

3 结论

氨基葡萄糖酸在强酸性条件下,可形成内酯,并能与羟胺碱-三氯化铁体系反应生成红棕色络合物,由此建立了氨基葡萄糖酸的光度测定新方法。该方法操作简单、结果稳定、选择性和灵敏度良好,能成功应用于催化反应液实际样品的检测。

参考文献

- [1] Imanaga Y. Metabolism of d-glucosamine: III. Enzymic degradation of d-glucosaminic acid [J]. Journal of Biochemistry, 1958, 45 (8): 647.
- [2] Merrick JM, Roseman S. Glucosamine metabolism VI. glucosaminic

acid dehydrase [J]. Journal of Biological Chemistry, 1960, 235 (5): 1274 - 1280.

- [3] Sinohara H, Asano Y. Amino Sugar Metabolism in the Silkworm, Bombyx mori [J]. Journal of Biochemistry, 1968, 63 (1): 8.
- [4] Tesoriere G, Nicotra C, Vento R. Metabolism of glucosaminic acid in Escherichia coli K 12 [J]. Bollettino Della Societa Italiana Di Biologia Sperimentale, 1969, 45 (3): 175 - 177.
- [5] Junicke H, Arendt Y, Steinborn D. Synthesis and characterization of novel platinum (IV) complexes with functionalized carbohydrates [J]. Inorganica Chimica Acta, 2000, 304 (2): 224 - 229.
- [6] Junicke H, Hart J R, Kisko J, et al. A rhodium (III) complex for high-affinity DNA base-pair mismatch recognition [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003, 100 (7): 3737 - 3742.
- [7] Junicke H, Steinborn D. Synthesis and characterization of trimethylplatinum (IV) complexes with sugar alcohol and amino sugar alcohol ligands—platinum-assisted formation of O-isopropylidene protecting groups and Schiff bases [J]. Inorganica Chimica Acta, 2003, 346 (3): 129 - 136.
- [8] McRae J C. Manufacture of glycosylated insulin for diabetes treatment patent: JP, 07002898 [P]. 1993 - 08 - 19.
- [9] Ou S J, Chen G, Lin Z H, et al. Short Communication Chromium (III) Complexes of D-Glucosaminic Acid and their Effect on Decreasing Blood Sugar in Vivo [J]. Archiv der Pharmazie - Chemistry 2006, 339 (9): 527 - 530.
- [10] Philippe M. Use of carbohydrates for promoting skin exfoliation: WO, 9712597 [P]. 1997 - 04 - 10.
- [11] Park K H. A Stereospecific Synthesis of (+)-2-Epideoxymannojirimycin and (2R, 3R, 4R, 5R)-3, 4, 5-Trihydroxypipercolic Acid [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 1995, 16 (2): 985 - 988.
- [12] Lee J, Kim J, Lee B, et al. Stereospecific synthesis of the (2R, 3S)- and (2R, 3S)-3-amino-2-hydroxy-4-phenylbutanoic acids from D-glucono-d-lactone [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2006, 27 (8): 1211 - 1218.
- [13] Bhat U R, Forsberg L S, Carlson R W. Structure of lipid A component of Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli lipopolysaccharide. Unique nonphosphorylated lipid A containing 2-amino-2-deoxyglucuronate, galacturonate, and glucosamine [J]. Journal of Biological Chemistry, 1994, 269 (20): 14402 - 14410.
- [14] Tominaga M, Nagashima M, Taniguchi I. Controlled-potential electro-synthesis of glucosaminic acid from glucosamine at a gold electrode [J]. Electrochemistry Communications, 2007, 9 (5): 911 - 914.
- [15] Gu W X, Xia W S. A Novel Synthesis of 2 Amino-2 deoxy-D-gluconic Acid and Its Complexation with Cu(II) in Alkaline Medium [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2006, 24 (10): 1458 - 1461.
- [16] Gu W X, Xia W S. Catalytic Synthesis of D-Glucosaminic Acid from D-Glucosamine on Active Charcoal Supported Pd-Bi Catalysts [J]. Journal of Carbohydrate Chemistry, 2006, 25 (4): 297 - 301. ■

《现代化工》欢迎广大作者踊跃投稿,投稿系统: <http://www.chemmedia.com.cn/GOTOWEB/contribute.html>.