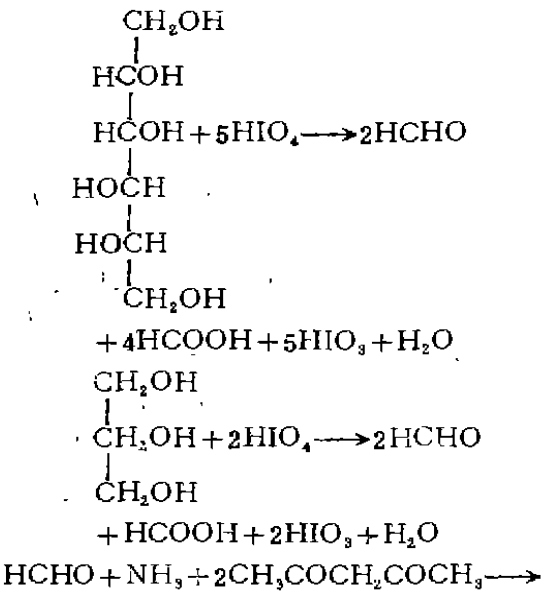
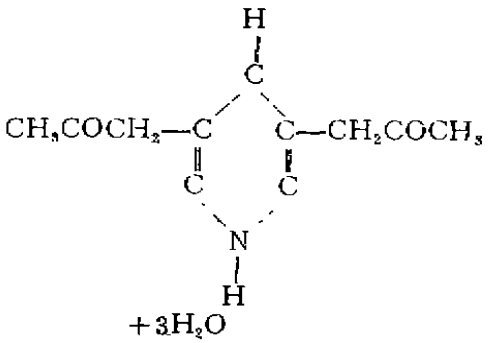
维普资讯 http://www.cqvip.com

血清中甘露醇及甘油的比色测定法

第一医院临床药理研究室 何海霞 朱治本

甘露醇是广泛应用于降低颅内压的有效药物。近年来静脉滴注甘油降低颅内压，用以治疗急性中风也取得了较为满意的结果。但对甘露醇、甘油在血中的浓度及药物动力学参数未见系统研究。本文以曾经泽等[1]的人血浆中甘露醇浓度比色测定法为基础，对反应最佳条件进行了研究，并加以改进，不仅可用于测定血中甘露醇浓度，也适用于测定山梨醇及甘油的血液度。其基本原理是用三氯醋酸沉淀血清中的蛋白质，上清液中加高碘酸溶液使甘露醇、山梨醇或甘油定量氧化为甲醛，过剩的高碘酸用硫代硫酸钠还原，然后加Nash试剂（即乙酰丙酮试剂）与甲醛反应显黄色，于412nm测定吸收值。颜色的深浅在一定范围内与血清中甘露醇、山梨醇或甘油的浓度成正比。甘露醇及甘油与高碘酸的反应分别如下：[2]





（黄色）

本法简便、快速、无需昂贵仪器，一般实验室均能采用。

仪器和试剂

一、仪器岛津uv-120型分光光度计

二、试剂（均为分析纯）

1. 10%三氯醋酸溶液
2. 0.05M高碘酸溶液
3. 0.1M硫代硫酸钠溶液
4. Nash试剂：将25g乙酸铵加蒸馏水溶解并稀释至100ml，用乙酸或氨水调至pH6，临用前加乙酰丙酮（使含量达0.3%）。
5. 甘露醇储备液，精密称取经105℃烘至恒重的甘露醇100mg，在100ml容量瓶中用蒸馏水配成1mg/ml的甘露醇储备液，冰箱保存。

实验和结果

1. **Nash试剂的用量** 将甘露醇储备液用蒸馏水稀释成125μg/ml的工作浓度。取0.5ml，加三氯醋酸0.5ml，高碘酸溶液1ml，室温放置10min。加硫代硫酸钠溶液2ml，

维普资讯 http://www.cqvip.com

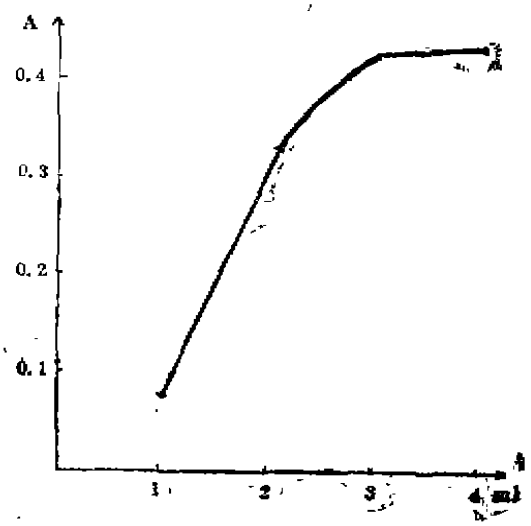


图1 Nash试剂用量对吸收度的影响

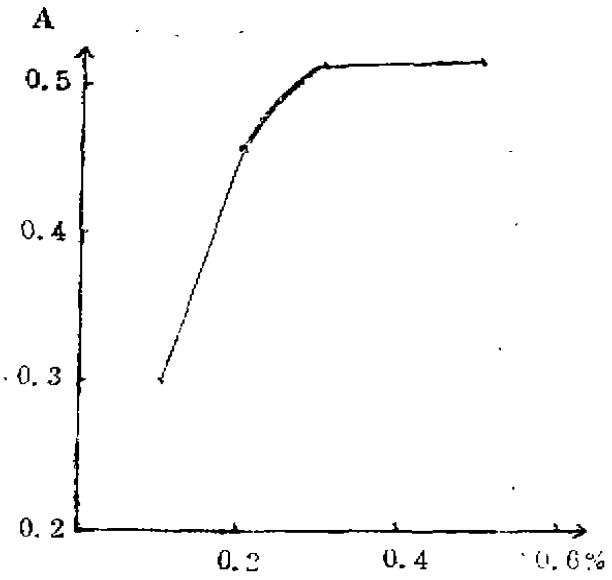


图2 Nash试剂中乙酰丙酮含量对吸收度的影响

各测定管中分别加入1、2、3、4ml的Nash试剂，以同样处理之蒸馏水为空白，于412nm测定吸收度。结果见图1。由图1可知Nash试剂的最适用量为3ml。

2. Nash试剂中乙酰丙酮的含量：甘露醇工作浓度，操作方法同1，但在Nash试剂中分别加入0.1、0.15、0.2、0.3、0.4、0.5%的乙酰丙酮，结果见图2。由图2可知Nash试剂中乙酰丙酮的最适含量为0.3%。

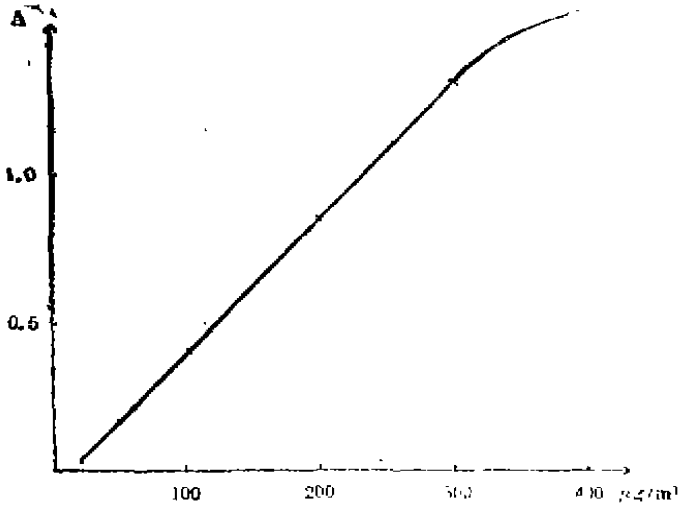


图3 血清甘露醇的标准曲线

($r=0.9999$ $r=0.00456x-0.0505$)

3. 线性范围与最低检测限：将甘露醇标准液加入血清中，分别配成40—800μg/ml的血清样品。各取0.5ml，加三氯醋酸0.6ml，混匀。离心3min。取上清液0.5ml，加高碘酸1ml。室温放置10min。加硫代硫酸钠溶液2ml，及含0.3%乙酰丙酮的Nash试剂3ml。以不含甘露醇的血清，同样操作，作空白试验，于412nm测定吸收度。结果见图3。从图3可知甘露醇的线性范围是20—300μg/ml；最低检测限为25μg/ml($\bar{A}=0.09$)。

4. 精密度试验：配制浓度为250μg/ml的甘露醇血清样品。取0.5ml，同3操作。其结果为日内$\bar{x}\pm SD=0.462\pm0.011$(n=10)，$CV=2.4\%$；日间$\bar{x}\pm SD=0.466\pm0.019$ (n=5)，$CV=4.02\%$。

5. 回收率：对三种不同浓度的血清甘露醇溶液进行回收率试验，结果见表1。

6. 干扰试验：于125μg/ml的甘露醇溶液0.25ml中，分别加入等量的10mg/ml的葡萄糖溶液或维生素C溶液。测定结果表明，葡萄糖对甘露醇的测定成正干扰。因此在测定样品时，要以同一个体不含甘露醇的血清为对照，以消除血糖的干扰。维生素C对甘露醇的测定无干扰。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 甘露醇的回收率

μg/ml	25	125	1000
$\bar{X}$(%)	104.43	96.02	96.69
SD	6.47	2.65	5.42
CV(%)	6.20	2.76	5.66

7. 本法测定甘露醇、山梨醇及甘油三者结果的比较：通过实验发现，本法测定山梨醇的结果与甘露醇相似，故不多述。现将甘露醇与甘油的方法学参数进行比较，见表2。

表2 甘露醇与甘油的比较

名 称	Mannitol	Glycerol
线性范围	20—300μg/ml	10—150μg/ml
最低检测限	25μg/ml	12.5μg/ml
批内误差	SD=0.11 CV=2.4%	SD=0.085 CV=1.77%
批间误差	SD=0.47 CV=4.02%	SD=0.094 CV=2.21%
平均回收率	98.71%	87.96%

讨 论

实验结果表明本法的精密度和准确度均能达到实验要求，采用本法对10只家兔iv推注甘露醇（1g/kg），10只家兔iv推注甘油（0.5g/kg），5例志愿者iv滴注20%甘露250ml（相当于50g甘露醇）后不同时间的血药浓度进行了测定（结果见表3），并将所得数据用微机处理后作药代动力学分析，取得了满意的结果。

值得注意的是，本法测定甘油的浓度只需甘露醇的一半即能得到相似的吸收度。这是因为1分子甘露醇与1分子甘油均能生成2分子的甲醛，而甘露醇与甘油的克分子重量比为2:1，所以1克甘露醇相当于1/2克甘油。

表3 人体iv滴注甘露醇后不同时间内甘露醇的血浓度

编 号	性 别	采血时间及 Mannitol(mg/ml) 0	5′	15	30′	1h	2h	4h	8h
1	女	5.17	4.28	3.67	3.13	2.75	1.92	0.92	0.25
2	女	5.78	4.55	3.93	3.27	3.20	1.70	0.75	0.20
3	女	6.65	5.22	4.40	3.63	3.20	2.13	0.86	0.20
4	男	4.75	4.43	3.90	3.15	2.94	1.90	0.79	0.28
5	男	4.14	3.58	3.16	2.66	2.47	1.92	0.75	0.20
$\bar{X}$		5.30	4.41	3.81	3.15	2.93	1.91	0.81	0.23
SD		0.96	0.59	0.45	0.32	0.33	0.15	0.073	0.037
CV(%)		18.20	13.32	11.82	10.04	11.40	7.96	8.98	16.44

[1] 曾经泽，等. 华西医科大学学报，1988；19(3)：286

[2] 中国预防医学中心卫生研究所编. 大气污染监测方法 北京化学工业出版社 1984：569