

魔芋总生物碱量的测定

杨晓帆^① 王红 王芳 肖朝萍

(中国科学院成都有机化学有限公司 成都市一环路南二段 16 号 610041)

摘要 用酸性染料比色法测定魔芋总生物碱量, 以盐酸金刚烷胺计, 在 $2-10\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。设计正交试验选择总生物碱的最佳提取条件为: 料液比 1:12, 乙醇浓度 85%, 索氏提取 4h。

关键词 魔芋; 总生物碱量; 正交试验

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)01-0153-04

1 引言

魔芋(*Amorphophallus Konjac*)又名^[1], 为天南星科魔芋属多年生草本植物, 其块茎入药。全球有 130 多种, 主要分布在亚洲, 非洲的热带地区。传统医学文献记载魔芋有化痰, 散结, 治闭经, 疗疮、丹毒, 治烫伤等功效。现代的《中药大辞典》也认为魔芋可用于治疗咳嗽、疝气、跌打损伤等。经文献查阅^[1-4], 魔芋中的生物碱主要为咪唑类和酰胺类, 在魔芋的药效方面发挥着很大的作用。魔芋中总生物碱含量测定时多采用重量法。重量法是将魔芋的氯仿萃取物干燥称重即得, 氯仿萃取物除含生物碱外还含有其他较多的脂溶性成分, 因此, 重量法不能准确反映生物碱的真实含量。目前, 全面介绍魔芋中总生物碱提取及检测方法研究的文章未见报道, 所以本文采用酸性染料比色法测定魔芋中总生物碱。考虑料液比, 溶剂和时间 3 个因素设计正交试验, 寻找魔芋生物碱的最佳提取条件, 为魔芋中生物碱的深入研究提供实验依据^[5-7]。

2 实验部分

2.1 材料、仪器与试剂

新鲜魔芋(四川崇州市产); 魔芋精粉(巴西进口)。

UV-2401PC 型紫外检测器(日本岛津公司)。

盐酸金刚烷胺(药品级 $\geq 99\%$, 辽宁宏泰药业有限公司); 95%乙醇(AR, 广东光华化学厂有限公司); 氯仿(AR, 广东光华化学厂有限公司); 10%碳酸钠溶液(上海虹光化工厂); pH=4.5 的邻苯二甲酸氢钾-氢氧化钠缓冲液; 邻苯二甲酸氢钾(中国计量科学研究院检定合格); 氢氧化钠(重庆市璧山再制试剂研制厂); 0.04%溴甲酚绿溶液。

2.2 测定方法

2.2.1 标储液的配制及校准曲线的绘制

盐酸金刚烷胺标储液的配制(AMT): 准确称取 5mg 盐酸金刚烷胺于 100mL 容量瓶中, 用氯仿

① 联系人, 手机: (0) 13982268311; E-mail: yangxiaofansky@126.com

作者简介: 杨晓帆(1988—), 女(回族), 安徽省亳州市人, 在读研究生, 主要从事天然植物研究工作。

收稿日期: 2010-05-06; 接受日期: 2010-05-24

稀释定容,得 50 μ g/mL 标储液。

校准曲线的绘制: 分别准确移取 AMT 标储液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL 于 10mL 容量瓶中, 用氯仿稀释至刻度, 即得 2、4、6、8、10 μ g/mL 的待测溶液。分别将待测液转入分液漏斗中, 加入 5mL 邻苯二甲酸氢钾-氢氧化钠缓冲液、2mL 溴甲酚绿, 摇匀, 静置 30min, 取氯仿层液在 20—40min 内于 420nm 处测紫外吸收。以 10mL 氯仿液进行上述操作, 为空白对照。以标样浓度 (x) 与所得吸光度 (y) 作图, 得到的线性回归方程: $y=0.0299x-0.0072, r^2=0.9997$ 。表明魔芋生物碱(以盐酸金刚烷胺计)在 2—10 μ g/mL 范围内线性关系良好。

2.2.2 稳定性

取显色后的氯仿液放置 10、20、30、40、50、60min 后测吸光度, 见表 1, 从表 1 可知, 样品在 20—40min 内显色稳定。

表 1 稳定性试验

时间 (min)	10	20	30	40	50	60
吸光度 A	0.1129	0.1124	0.1124	0.1124	0.1121	0.1118

2.2.3 重复性

取适量魔芋提取液, 平行取 5 份显色测定, 吸光度分别为 0.1255、0.1251、0.1254、0.1256、0.1250, RSD 为 0.21%。

2.2.4 加标回收实验

取已知总生物碱含量不同的样品液, 加入同样的 AMT 标储液, 依上述方法测定, 平均回收率为 99.4%, 见表 2。

表 2 回收率结果

样品量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
51.33	20	71.29	99.8	99.4
72.52	20	92.21	98.5	
44.43	20	64.42	100	

2.3 魔芋中生物碱提取的方法优化

取 4g 新鲜魔芋 2 份, 用 100mL 95% 乙醇提取 4h, 分别采用回流法和索氏提取法, 得生物碱含量为: 回流法 0.037%, 索氏提取法 0.091%, 实验表明索氏提取法效果较好。

取 4g 新鲜魔芋 3 份, 依次用 100mL 75%、85%、95% 乙醇索氏提取 4h, 生物碱提取率分别为 0.056%、0.089%、0.091%。由此得 85%—95% 乙醇提取效果较好, 85% 乙醇提取效果明显优于 75% 乙醇, 与 95% 乙醇效果相差不大, 因此实验用浓度 85% 左右的乙醇。

根据一般植物中有效成分的提取方法, 考虑乙醇浓度、料液比和时间 3 个因素设计正交试验, 选择最佳提取条件, 实验结果见表 3。

结果表明 $A_2B_2C_3$ 条件最佳, 但观察试验 5, 其条件即为 $A_2B_2C_3$, 所得结果不是最高。所有试验中试验 6 所得结果最高, 与试验 5 相比其改变的条件为料液比和提取时间。对试验 5 进一步优化, 以 $A_2B_2C_1$ 和 $A_2B_3C_3$ 为条件再次进行对比试验, 所得结果分别为 0.0913% 和 0.0939%。因此选用 $A_2B_3C_3$ 即 120mL 85% 乙醇索氏提取 4h 提取魔芋中的总生物碱为最佳条件。

2.4 魔芋总生物碱的测定

将新鲜魔芋切成小块状, 取 10.0642g, 直接称取魔芋精粉 10.0091g, 按照 2.3 中最佳提取条件提取, 浓缩乙醇提取液, 用 10% 碳酸钠溶液调节 pH 至 10, 用氯仿萃取, 用氯仿定容至 50mL, 取氯

仿液于分液漏斗, 按 2.2.1 中显色方法测定。测得鲜魔芋中总生物碱含量为 0.0939% (新鲜魔芋含水量为 80.81%), 魔芋精粉中总生物碱含量为 0.0128%。

表 3 正交试验

试验号	因素			
	溶剂 A (乙醇浓度, %)	料液比 B	时间 C (h)	得率 (%)
1	80	1 : 8	2	0.0720
2	80	1 : 10	3	0.0765
3	80	1 : 12	4	0.0638
4	85	1 : 8	3	0.0522
5	85	1 : 10	4	0.0858
6	85	1 : 12	2	0.0909
7	90	1 : 8	4	0.0747
8	90	1 : 10	2	0.0494
9	90	1 : 12	3	0.0468
$\bar{x}_{1j}$	0.0708	0.0663	0.0708	
$\bar{x}_{2j}$	0.0763	0.0706	0.0585	
$\bar{x}_{3j}$	0.0570	0.0672	0.0748	
R_j	0.0193	0.0043	0.0163	
较优水平	2	2	3	
因素主次	1	3	2	

注: $\bar{x}_{1j}$ ——1 水平和平均值; $\bar{x}_{2j}$ ——2 水平和平均值; $\bar{x}_{3j}$ ——3 水平和平均值; R_j ——极差。

3 结果与讨论

3.1 方法的选择

一般采用重量法测总生物碱量, 结果偏高。本实验方法能较准确反映总生物碱量。比色测定时, 应注意避光放置。操作时也可在静置 30min, 取 5mL 氯仿液后加碱液, 于 620nm 处测定吸光度。如此所得线性方程的 $r^2=0.9978$, 比不加碱液, 在 420nm 处测紫外吸收的线性方程的 $r^2=0.9997$ 差。为减少影响因素, 降低误差, 舍弃了加碱液这步操作。

3.2 条件的选择

采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计, 结果表明 $A_2B_2C_3$ 条件最佳, 乙醇浓度为主要因素, 在正交试验的基础上进一步优化试验后, 选用 $A_2B_3C_3$ 为提取条件, 即料液比 1 : 12, 乙醇浓度 85%, 索氏提取 4h, 所得总生物碱量为 0.0939%。本方法操作简单, 结果可靠。

3.3 检测结果比较

新鲜魔芋(含大量水份)中总生物碱的含量比魔芋精粉(干样)中总生物碱的含量高 7 倍多, 这证实了人们长期经验: 魔芋不能生吃, 必须处理后才能吃。人们要利用生物碱的药用价值, 最好用新鲜的魔芋, 可减少用量, 提高药效。

参考文献

[1] 管晓晴. 中药魔芋的开发和利用[J]. 南京中医学院学报, 1995, 11(1): 38—39.

[2] 隆有庆, 刘佩瑛. 魔芋主要品质成分测定法研究[J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(6): 614—617.

[3] 崔熙, 翟守道, 李亮. 魔芋属药用植物中的无机成分分析[J]. 药学情报通讯, 1989, 7(3): 69—70.

[4] 吴雪卿, 朱卫丰. 魔芋药用研究刍议[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(8): 631—632.

[5] 龙德清, 杨峰. 魔芋生物碱的开发应用[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(1): 101—104.

[6] 王照利, 吴万兴. 魔芋中总生物碱提取试验初报[J]. 陕西农林业科技, 1999, (增刊): 94—95.

[7] 丁亚平, 杨道麒, 吴庆生. 安徽霍山 3 种石斛总生物碱的测定及其分布规律研究[J]. 安徽农业大学学报, 1994, 21(4): 503—506.

©1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

Determination of Total Alkaloid from *Amorphophallus Konjac*

YANG Xiao-Fan WANG Hong WANG Fang XIAO Chao-Ping
(Chengdu Organic Chemicals CO. LTD CAS, Chengdu 610041, P. R. China)

Abstract The total alkaloid of *amorphophallus konjac* was determined by colorimetric method with amantadini hydrochloridum as standard. The relationship between the absorbance and the concentration of AMT was linear in the range of 2—10 μ g/mL. The optimal extraction conditions of total alkaloid from *amorphophallus konjac* were studied by orthogonal test. The optimal extraction conditions were as follows: material-liquid ratio of 1 : 12, alcohol concentration of 85%, Soxhlet's extraction time of 4h.

Key words *Amorphophallus Konjac*; Total Alkaloid; Orthogonal Test

拟向作者赠送书刊的通知

——致本刊 2011 年各期每篇论文作者的联系人

各有关联系人同志:

《光电光谱分析》、《邮票上的光谱学和化学史》等书刊是我们编辑出版的两套丛书(外一本),如果你认为对你有参考价值的话,可以赠送你两套又一本,或其中一套或一本(邮资自付,可用邮票支付),有意者可来信告知收件人和详细地址,同时将邮票放在挂号信中寄来。

联系地址:北京市延庆石河营东街 10 号楼 201 室 光谱实验室编辑部 何 霜, 邮政编码: 102100, 电话: (010) 52513126, 电子信箱 (E-mail): gpss@chinajournal.net.cn。

光谱实验室编辑部

这套书刊的内容简介如下:

1 《光电光谱分析》, 共 4 册, 16 开, 1236 页, 净重 1.7kg, 原价 110 元。只收邮资 11 元, 含挂号费。

第 1 册: 光电光谱分析原理, 30 万字。论述了光电光谱分析的特点和应用范围、激发光源、分光系统、接收系统、计算机、定量分析方法、数据处理等。主要执笔者为南开大学翁永和教授。原价每册 20 元。

第 2 册: 光电光谱仪, 70 万字。介绍了国产的和进口的(美、英、日、德、瑞士等国)光电光谱仪的仪器结构, 特点, 功能, 软件, 日常操作等。由各个公司提供材料, 主要执笔者有长城铝业公司金海泉高级工程师、贵阳钢厂李锦光高级工程师、华山机械厂郝庚民高级工程师、天津师范大学高宝岩副教授、本溪钢铁公司张宝森、周玉臣高级工程师、大连耐酸泵厂王春德高级工程师、钢铁研究总院谢荣厚教授等。原价每册 40 元。

第 3 册: 光电光谱分析方法和应用, 65 万字。其中有钢铁分析、有色金属分析、地质物料分析、化工环保试样分析、同位素分析等。主要执笔者由钢铁研究总院韦雅文高级工程师、本溪钢铁公司张宝森、周玉臣高级工程师、沈阳有色金属加工厂梁愚铃高级工程师、河南岩石矿物测试中心陈方伦高级工程师、北京铀矿地质研究所谭世源高级工程师、复旦大学杨之昌教授等。原价每册 35 元。

第 4 册: 附录. 光电光谱分析简明手册, 20 万字。介绍了从事光电光谱分析常用的物理-化学常数, 常用分析线波长, 谱线和背景干扰状况, 试样化学处理方法, 计量单位的换算等。由沈阳有色金属加工厂梁愚铃高级工程师编写, 中国科学院物理研究所赵玉珍研究员等审校。原价每册 15 元。

本书(增刊)比较全面地总结了三十年来我国光电光谱分析工作的经验, 比较集中地反映了各种高新技术和电子计算机在光谱分析中的应用, 是理论与实际密切结合并兼有手册性的著作。

2 《邮票上的光谱学和化学史》, 共 4 册, 16 开, 658 页, 净重 1.4kg, 原价 200 元。只收邮资 10 元, 含挂号费。

1. 邮票上的光谱学和化学史》, 周开亿等编, 科学出版社 1991 年出版, 16 开, 158 页, 附有 67 个国家和地区的彩色邮票(复印件, 下同) 176 枚, 原价每册 10 元。

2. 邮票上的化学、光学和光谱学史》, 周开亿主编, 《光谱实验室》2006 年第 1 期彩色抽印本(收藏本), 16 开, 64 页, 附有 77 个国家和地区的彩色邮票 314 枚, 原价每册 30 元。

3. 邮票上的科学家——佼佼者之路》, 周开亿主编, 《光谱实验室》2007 年第 1 期彩色抽印本(珍藏本), 16 开, 196 页, 附有 91 个国家和地区的彩色邮票 533 枚, 原价每册 70 元。

4. 邮票上的杰出科学家》, 周开亿主编, 《光谱实验室》2008 年第 1 期彩色抽印本(珍藏本), 16 开, 240 页, 附有 104 个国家和地区的彩色邮票 515 枚, 原价每册 90 元。

3 《数理统计在化学、光谱分析中的应用》, 纳利莫夫著, 余生等译, 16 开, 396 页, 净重 270g, 原价每册 10 元。只收邮资 5 元, 含挂号费。