

决明子生芽转化有机铬的效果研究

张 玲^{a,b} 孙兆峰^b 夏作理^{①b}

^a 山东大学医学院基础医学部生理研究室 济南市 250012)

^b 泰山医学院生命科学研究所以 山东省泰安市迎胜东路 2 号 271000)

摘 要 利用透析方法将不同时间点收获的富铬决明子芽中的有机铬和无机铬分开,用石墨炉原子吸收分光光度法测定富铬决明子芽中的总铬含量和无机铬含量,计算出各时间点收获的决明子芽的有机铬转化率。探讨决明子生芽转化有机铬的效果。培育时间对决明子芽有机铬转化率有一定影响,在本实验条件下,72h 是培育富铬决明子的适宜时间段。

关键词 决明子, 铬, 有机铬转化率。

中图分类号:O657.31 文献标识码:A 文章编号:1004-8138(2007)06-1119-03

1 前言

铬是人体必需的微量营养元素之一,在人体内具有多种生物学功能,如 Cr^{3+} 是葡萄糖耐量因子的活性中心^[1]。国内外的大量研究证实, Cr^{3+} 是正常糖和脂肪代谢必需的微量元素,对胰岛素的结构、功能及靶组织状态均有明显影响,人体铬缺乏和 2 型糖尿病密切相关^[2]。目前用于防治疾病和作为饲料添加剂的主要是无机铬。有机铬和无机铬相比,生物活性提高,毒性降低,故人们越来越重视有机铬的补充。决明子具有很强的耐铬和富铬能力,通过决明子生芽能够将大量的无机铬富集到决明子芽中,因此,有必要进一步研究决明子转化有机铬的效能。

2 实验部分

2.1 材料

透析袋(MWCO: 200 Daltons, 美国 Sigma 公司)。
分析仪器选用日本日立公司 Z2000 石墨炉原子吸收分光光度计。
磁力搅拌器,奥立龙 868 型 pH 计(美国热电公司)、通风厨、恒温可调电热板、电热恒温水浴锅。
硝酸、高氯酸(国产优级纯)、去离子水为美国 Millipore 公司生产的超纯水机制备,铬标准液为(GSB04-1723-2004,北京有色金属研究总院),其他试剂均为国产分析纯。
富铬决明子由本实验室自制。

① 联系人,电话: (0538) 6225275 转 8517; 手机: (0) 1531548699; 传真: (0538) 6222706(传真); E-mail: sunkaixuan0101@sohu.com
作者简介: 张玲(1966—),女,河南省灵宝市人,博士后,主要从事糖尿病预防和治疗药物的研发。
收稿日期: 2007-06-15; 接受日期: 2007-09-17

2.2 方法

2.2.1 测定原理和方法

参照万益群等^[3]方法并根据本仪器的条件进行适当调整。石墨炉原子吸收分光光度计测定铬的工作条件: 波长 359.3nm; 光谱通带 1.3nm, 灯电流 7.5mA, 灯电压 294V, 塞曼背景校正。氩气为石墨炉工作保护气体。将铬标准溶液(1mg/mL) 用 1% 稀硝酸稀释成 10ng/mL 和 100ng/mL 两个浓度的工作溶液, 用石墨炉原子吸收分光光度计测定 0、2、4、6、8、10、20、40、60、100ng/mL 时的吸光度值, 以铬浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制校准曲线。然后将样品进行消化、1% 稀硝酸溶解定容, 最后按照测定标准溶液同样的方法进行测定, 根据校准曲线计算出样品中铬含量。

2.2.2 样品总铬含量的测定

用电子天平准确称取 0.1g 的决明子芽粉, 置于 50mL 的锥型瓶内, 加入 5mL 混合酸(HNO_3 : HClO_4 = 4:1), 并放置防爆玻璃珠 3—5 个, 上端放一小玻璃漏斗, 在通风橱中用恒温可调电热板 130℃ 加热消化样品, 待溶液呈无色为止, 将消化好的样品溶液移入离心管中, 用 1% 的稀硝酸定容。用石墨炉原子吸收分光光度计测定出样品中总铬含量。

2.2.3 样品有机铬和无机铬的分离

透析袋法, 精确称取 1g 粉碎过筛的决明子芽粉, 加 10 倍体积 pH8.6 的 Tris-HCl 缓冲液(含 10% 甘油、20mmol/L $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 静置 4℃ 冰箱中 24h, 用超声波破碎、搅拌提取 2h。然后装入事先处理好的透析袋内, 扎紧上端, 于蒸馏水中透析, 期间不断换水, 每次换水时, 收集透析外液, 并编号, 然后用石墨炉原子吸收分光光度计测定其中铬含量, 直至外液中检测不到铬时, 停止透析。

2.2.4 透析外液中的铬含量之和为样品的无机铬含量

样品中的有机铬含量等于样品的总铬含量减去无机铬含量。

3 结果与讨论

3.1 富铬决明子中总铬含量和有机铬含量的测定

富铬决明子中总铬含量和有机铬含量的测定结果见表 1。样品为作者制备的铬含量不同的富铬决明子芽粉, 富铬决明子芽的制备过程中, 培养液中三氯化铬浓度为 1200mg/L, 1、2、3、4、5 分别为 0、24、48、72、96h 5 个时间点收获的决明子芽(0h 表示用浓度为 1200mg/L 的三氯化铬水溶液浸泡过夜开始出芽的时间点; 24、48、72、96h 分别表示出芽后的时间段)。

表 1 不同时间点收获的决明子芽中铬含量和 有机铬转化率				
				($\mu\text{g/g}$)
样品	总铬含量	无机铬含量	有机铬含量	有机铬转化率(%)
1	148.68	56.0875	92.5925	62.28
2	340.56	104.991	235.569	69.17
3	126	35.587	90.413	71.76
4	987.48	150.160	837.319	84.79
5	356.4	123.339	233.060	65.39

3.2 富铬决明子芽中有机铬和无机铬分离方法的讨论

如何测定中药样品中有机铬的含量, 是目前亟待解决的问题。本实验是利用透析的方法, 使决明子细胞完全破碎后, 选择一种适宜规格的透析袋, 只允许未被决明子中的有机质同化或结合的小分子无机铬通过, 而与决明子中的蛋白质、多糖、脂类或氨基酸等生物大分子结合的有机铬不能通过。透析过程中不断换水, 使内液中的无机铬不断通过透析膜转移到透析外液中, 并分别收集透析

外液进行铬含量的测定,当透析外液中检测不到铬时,表明已透析完全。在本实验条件下,换 5 次水,每次用水 500mL 基本透析完全。透析方法成功的关键是选择合适规格的透析袋。

3.3 富铬决明子芽中无机铬含量测定方法的讨论

随着透析次数的增多,透析外液中的铬含量越来越少,只有选择灵敏度相当高的测定方法才能准确测定其中的铬含量。石墨炉原子吸收分光光度法具有灵敏度高、需要样品量少、分析速度快、稳定性好等优点而被广泛用于微量元素的测定中。在本实验条件下,校准曲线的相关系数为 0.9969;检出限为 1.19 $\mu\text{g/L}$;重复测定空白溶解液 10 次,RSD 均小于 1%,表明仪器精密度较好,满足实验要求。

3.4 培育时间对决明子有机铬转化率的影响

从表 1 可看出,随着培育时间延长,决明子芽中铬的有机转化率逐渐增加,当培育时间到 72 h,决明子芽的有机铬转化率达最高;培育时间继续延长,决明子芽的有机铬转化率反而下降,实验结果表明,培育富铬决明子的适宜时间是 72h。

4 结 论

通过决明子生芽的自然生长过程能够将环境中的无机铬转化为有机铬,有必要进一步探讨决明子中有机铬的存在形式,从而为富铬决明子药理作用的研究奠定基础。

参考文献

[1] 傅明,马书林,毕燕芳等.生物活性铬的研究进展[J].中国药学杂志,2004,39(10):732—734.
[2] 胡永杰,崔汝兰.铬与糖尿病[J].中国疗养医学,2004,13(6):349.
[3] 万益群,柳英霞,郭岚等.原子吸收光谱法测定当归补血汤中重金属含量[J].南昌大学学报(理科版),2006,30(4):365—367.

Effect of Organic Chromium Transformation by Semen Cassiae Budding

ZHANG Ling^{a,b} SUN Zhao-Feng^b XIA Zuo-Li^b
a(Physiological Laboratory, Department of Preclinical Medicine, Medical College of Shandong University,
Jinan 250012, P. R. China)
b(Research Institute of Basal Medicine, Taishan Medical University, Taian, Shandong 271000, P. R. China)

Abstract Separating organic and inorganic chromium in semen cassiae sprouts harvested in different time period with dialysis bag. The total chromium and inorganic chromium content were determined by graphite atomic absorption spectrophotometer and calculated. The organic chromium transformation efficiency was influenced by culturing period, and 72 hours was the suitable time period which culturing Cr semen cassiae.

Key words Semen Cassiae, Chromium, Organic Chromium Transformation Efficiency.