

新疆锁阳多糖的提取及含量测定

刘宏炳 郭卉^a 燕雪花 海力茜·陶尔大洪^{①b}

(新疆医科大学中医学院 乌鲁木齐市新医路 393 号 830011)

^a(新疆医科大学基础医学院 乌鲁木齐市新医路 393 号 830011)

^b(新疆医科大学药学院 乌鲁木齐市新医路 393 号 830011)

摘要 采用分光光度法测定新疆锁阳多糖的含量,以葡萄糖为对照品,以蒽酮-浓硫酸为显色剂,在 625nm 处测定样品溶液的吸光度。在 40.00—200.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,葡萄糖质量浓度与吸光度呈良好线性关系,相关系数 $r=0.9998$,回收率在 96.15%—102.85% 之间,相对标准偏差 RSD 为 2.814% ($n=5$),新疆锁阳多糖含量为 2.39%。本方法操作简单,灵敏度高,可作为锁阳多糖的含量测定方法。

关键词 锁阳;多糖;提取;分光光度法

中图分类号:O657.32

文献标识码:B

文章编号:1004-8138(2011)02-0556-03

1 引言

锁阳(*Cynomorium songaricum* Rupr.)为锁阳科锁阳属多年生肉质寄生草本植物主要分布于土壤缺乏有机质而富含盐分的荒漠地带。锁阳具有补肾壮阳,润肠,强腰、膝等功效。现代研究表明锁阳具有良好的通便、清除羟自由基作用,耐缺氧及抑制血小板凝集,对糖皮质激素具有双向调节作用,对体液免疫也有明显的促进作用^[1]。

由于特殊的地理位置及气候条件新疆锁阳不同于其他地区。通过查文献得知,对新疆锁阳中多糖的提取及含量测定研究未见报道,为了进一步开发锁阳的资源,我们对产于新疆阿克苏的锁阳中多糖的提取及含量测定进行研究。为今后进一步的研发该药提供参考依据。

2 实验部分

2.1 样品来源

样品为锁阳,采于新疆乌鲁木齐。

2.2 仪器与试剂

S54 紫外可见分光光度仪(上海棱光技术有限公司);SK8210HP 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

无水葡萄糖,蒽酮,浓硫酸,95%乙醇,氯仿,正丁醇均为分析纯。

蒽酮-浓硫酸试剂的配制:取蒽酮 50mg,置于 100mL 锥形瓶中,加蒸馏水 25mL,缓慢加入硫酸

① 联系人,电话:(0991)3579820;手机:(0)13999921265;E-mail:willianxliu@sina.com

作者简介:刘宏炳(1980—),男,新疆伊犁哈萨克自治州新源县人,实验师,学士,主要从事中药有效成分提取及化学成分研究工作。

海力茜·陶尔大洪(1963—),女(维吾尔族),新疆伊犁哈萨克自治州伊宁市人,教授,学士,主要从事天然药物化学成分及生物活性研究工作。

75mL, 边加边搅拌, 直至蒽酮溶解, 冷却至室温。临用配制^[2]。

葡萄糖标准贮备液的配制: 准确称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖标准品 200.0mg, 置于小烧杯中, 加蒸馏水溶解并定容至 100mL 容量瓶中, 摇匀, 制成 2.0mg/mL 的葡萄糖标准贮备液。

实验用水为煮沸过的蒸馏水(新疆医科大学动物中心提供)。

2.3 锁阳多糖的提取与精制^[3-5]

取干燥的锁阳 50g 粉碎, 石油醚回流(3 次, 2h/ 次), 药渣挥干, 80% 乙醇回流(3 次, 2h/ 次), 药渣挥干, 加水回流, 提取 3 次, 每次 2h, 过滤, 合并滤液, 浓缩, 加 95% 乙醇至含醇量为 80%, 静置过夜(4℃), 过滤, 分离出沉淀, 加适量水溶解, 加 95% 乙醇至含醇量为 80%, 再静置过夜(4℃), 过滤, 分离出沉淀, 加水溶解, 除蛋白(氯仿: 正丁醇= 5: 1), 直至除净为止, 活性炭 60℃ 保温 30min 脱色, 抽滤, 滤液加 95% 乙醇至含醇量为 80%, 静置过夜。沉淀用无水乙醇, 丙酮, 乙醚反复冲洗, 干燥得锁阳多糖, 密封保存备用。

3 结果与讨论

3.1 校准曲线

分别取 0.20、0.40、0.60、0.80、1.0mL 葡萄糖标准贮备液, 分别加水定容至 10mL 容量瓶中, 制成系列标准溶液, 再分别移取 1mL 已配制好的系列标准溶液于具塞试管中, 各加入 5mL 蒽酮-浓硫酸试剂(立即摇匀); 另取 1mL 蒸馏水于试管中, 同上操作, 作为空白液。加完后一起放入沸水浴中加热 15min^[2], 流水冷却, 室温静置 10min, 于波长 625nm 处测定吸光度, 以吸光度(A)对葡萄糖浓度(C)作回归处理, 得回归方程 $A = 8.445C - 0.0381$, $r = 0.9998$ ($n = 3$)。表明质量浓度在 40.00—200.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈良好线性关系。

3.2 锁阳多糖含量的测定

准确称取锁阳多糖粉末 0.5g 加入 80% 乙醇 40mL, 回流提取(3 次, 2h/ 次), 趁热抽滤, 残渣用乙醇洗涤, 残渣连同滤纸置于圆底烧瓶中。加水提取, 趁热抽滤, 残渣用热水洗涤, 洗液并入滤液中, 冷却后, 加蒸馏水定容于 100mL 容量瓶中, 再取 5mL 加蒸馏水定容于 25mL 容量瓶中, 摇匀, 得锁阳供试品溶液。吸取 1.0mL 于具塞试管中, 按“校准曲线”项下的操作, 测定 625nm 处的吸光度, 由回归方程计算供试品中多糖的含量, 经计算得样品中多糖平均含量为 2.39% ($n = 5$), 相对标准偏差 RSD 为 1.5% ($n = 5$)。

3.3 稳定性实验

准确移取锁阳多糖供试液 2.0mL, 置于具塞试管中, 按“校准曲线”项下操作, 在 0—8h 内, 每隔 2h 测定吸光度, 连续 5 次考察其稳定性。结果表明溶液在 8h 内稳定, 相对标准偏差 RSD 为 2.22% ($n = 5$)。

表 1 回收率实验结果

序号	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	12.07	20	32.49	102.10	99.20	2.814
2	11.96	20	31.26	96.50		
3	11.82	20	32.39	102.85		
4	12.25	20	31.48	96.15		
5	11.85	20	31.53	98.40		

3.4 回收率实验

准确移取 1.0mL 不同浓度样品溶液 5 份置于具塞试管中, 分别加入葡萄糖标准贮备液 1.0mL, 按“校准曲线”项下操作, 测定吸光度。结果指出, 加样回收率在 96.15%—102.85% 之间, 相对标准偏差 RSD 为 2.814% ($n=5$)。见表 1。

4 结论

(1) 在本试验中, 以空白液作对照, 葡萄糖标准贮备液经蒽酮-浓硫酸显色后, 作全波长扫描, 结果在 625nm 波长处有最大吸收峰, 因此选择 625nm 波长为测定波长。

(2) 蒽酮-浓硫酸法是测定多糖含量的常用方法之一, 糖在浓硫酸作用下, 可经脱水反应生成糠醛或羟甲基糠醛, 生成的糠醛或羟甲基糠醛可与蒽酮反应生成蓝绿色糠醛衍生物, 在一定范围内, 颜色的深浅与糖的含量成正比, 故可用于糖的定量。

(3) 采用分光光度法测定多糖, 蒽酮-浓硫酸为显色剂, 方法简单, 方便, 易于操作。通过精密度、稳定性、回收率实验结果可以看出, 此方法适合锁阳多糖的含量测定。本实验可对锁阳的产品开发提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 张思巨, 张淑运, 扈继萍. 锁阳多糖的研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(6): 409—410.
- [2] 汤灿辉, 彭新君, 文礼章等. 蒽酮-硫酸比色法测定三叶虫茶中总糖的含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(5): 38—40.
- [3] 海力茜, 孙莲, 马合木提. 天山岩黄芪根中多糖的提取及含量测定[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(3): 523—524.
- [4] 赵玉英. 蒙成药哈日阿布日-16 中多糖的组分和糖含量研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(2): 314—316.
- [5] 李娜. 褐蘑菇多糖提取及含量的测定[J]. 光谱实验室, 2009, 26(1): 43—46.

Extraction and Determination of Polysaccharide from *Cynomorium Songaricum* Rupr. of Xinjiang

LIU Hong-Bing GUO Hui^a YAN Xue-Hua HAILIQIAN TaerdaHong^b
 (College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, P. R. China)
^a(College of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, P. R. China)
^b(College of Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, P. R. China)

Abstract Polysaccharide of *Cynomorium songaricum* Rupr. of Xinjiang was determined at 625nm by spectrophotometry with glucose as index, anthrone-sulfuric as reagent. The standard curve was liner in the concentration range of 40.00—200.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with correlation coefficient of $r = 0.9998$. The good recovery was 96.15%—102.85% with relative standard deviation of 2.814%. The contents of polysaccharide from *Cynomorium songaricum* Rupr. of Xinjiang was 2.39%. The method is simple, rapid and reproducible and suitable for analysis of polysaccharide in *Cynomorium songaricum* Rupr.

Key words *Cynomorium Songaricum* Rupr.; Polysaccharide; Extraction; Spectrophotometry

欢迎有敬业精神的同志自荐为本刊编委

本刊编委产生的方式有三种: 自荐、推荐和聘请, 自荐是本刊提倡的方式。凡不计报酬、乐意献身于科技期刊出版事业、基本具有副高级以上技术职称、对本刊有所贡献的同志, 都可以自荐为本刊编委。

自荐者, 请将本人简历发至《光谱实验室》编辑部电子邮箱: gpsy@263.net

《光谱实验室》编辑部