

天花粉多糖的微波提取及含量测定

王 莉, 鲁建江, 顾承志, 成玉怀(石河子大学医学院药理学系, 石河子 832002)

摘要: 目的: 从天花粉中提取多糖, 并测定其含量。方法: 运用微波技术用水提醇沉法提取天花粉多糖, 用酚-硫酸比色法测定多糖含量。结果: 测得天花粉中多糖含量 18.3012%, 平均回收率为 98.86%, $RSD = 1.68\%$ ($n = 5$)。结论: 首次运用微波技术从天花粉中提取出多糖, 反应速度大大加快, 收率提高。

关键词: 微波技术; 天花粉; 多糖; 提取; 含量测定

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2001)03-0168-02

Microwave technique extraction and content determinations of polysaccharide of *Snakegourd Root*

WANG Li, LU Jian jiang, GU Cheng zhi, CHEN Yu huai (Department of pharmacy, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To extract and determine content polysaccharides of *Snakegourd* root. **METHODS:** Using microwave technique, polysaccharides of *Snakegourd* root were obtained by hotwater extraction and ethanol precipitation, and content was determined with phenol-vitriolic colorimetry. **RESULTS:** The polysaccharides content of *Snakegourd* root was 18.3012%, Recovery rate was 98.86%. **CONCLUSION:** The polysaccharides of *Snakegourd* root has been obtained for the first time by microwave technique.

KEY WORDS: microwave technique; *Snakegourd* root; polysaccharide; extraction; determination

天花粉为葫芦科植物栝楼的根 (*Snakegourd* root), 多年生草本。我国许多地区都有分布, 主产于山东、河南等地。又名栝楼根、白药、瑞雪、天瓜粉、花粉、栝楼粉等。根含栝楼根多糖 A、B、C、D、E, 具有降血糖作用, 根茎含具有抗癌和免疫活性的多糖。天花粉具有致流产和抗早孕作用, 抗癌作用, 天花粉蛋白同时具有免疫刺激和免疫抑制两种作用^[1]。

微波技术的应用, 近年来得到很大发展。微波具有穿透力强、选择性高、加热效率高等特点。微波辐射 (MWI) 可以大大加快反应速度 (最高达 1240 倍), 反应时间以分、秒计^[2]。微波技术应用于植物细胞破壁, 有效地提高了收率^[3], 亦取得了令人可喜的进展。

本实验运用微波技术对天花粉用石油醚、乙醚除去脂溶性杂质, 用 80% 乙醇提取除去所含单糖、低聚糖及苷类等干扰性成分后, 再运用微波技术用水提醇沉法制得天花粉粗多糖, 并采用酚-硫酸比色法对其多糖含量进行测定^[4], 取得了令人满意的结果。

1 仪器、试剂及样品

UV-2401 PC 紫外分光光度计 (日本岛津), MCL-3 型连续微波反应器 (四川大学无线电系), 索氏提取器。(+) 葡萄糖 (AR) 105℃ 干燥恒重, 苯酚 (AR), 硫酸 (AR)。天花粉: 采自本校药园, 秋季挖根, 洗净晾干, 破碎后备用。

2 标准曲线的绘制

2.1 标准葡萄糖溶液的配制

精密称取干燥恒重的葡萄糖 25.2mg, 加适量水溶解, 转移至 250ml 容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 配成浓度为 100.8μg/ml 标准葡萄糖溶液备用。

2.2 5% 苯酚试剂的配制

取苯酚 100g, 加铝片 0.1g 和 NaHCO₃ 0.05g, 蒸馏, 收集 182℃ 馏份, 称取 7.5g, 加水 150ml 溶解, 置棕色瓶内放冰箱备用。

2.3 标准曲线绘制

精密量取葡萄糖标准溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7ml 置干燥试管中, 分别加水使成 1.0ml, 再分别加入 5% 苯酚溶液 1.6ml, 摇匀, 然后加浓 H₂SO₄ 7.0ml, 充分摇匀, 室温放置 25min, 在 400~600nm 处测定其最大吸光度, 同时做一空白。结果见表 1。

表1 葡萄糖溶液吸收的标准曲线

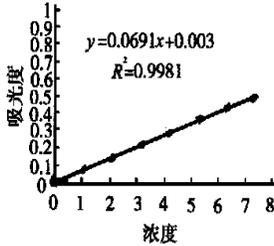
	葡萄糖标准液(ml)							
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
浓度(μg/ml)	0.00	1.05	2.10	3.15	4.20	5.25	6.30	7.35
吸光度值A	0.0000	0.0735	0.1458	0.2235	0.2945	0.3798	0.4420	0.4973

将上述实验数据做回归处理得回归方程:

$$A = 0.0691 C + 3 \times 10^{-3}$$

$$R^2 = 0.9981$$

$$r = 0.99905$$



3 多糖的提取及精制

晾干的天花粉破碎后,称取100g,置500ml烧瓶中,将此烧瓶放入MCL-3型连续微波反应器中,依次用250ml石油醚(60~90℃)、乙醚和80%乙醇回流提取,调整功率560W、500W、400W、350W,反应时间20min。残渣挥去溶剂后,再放入MCL-3型连续微波反应器中,继续以水回流提取20min,调整功率630W、600W、560W、450W。减压浓缩至一半体积,加入0.1%活性炭,脱色,过滤,滤液加入95%乙醇使溶液含醇80%,静置过夜,过滤,残渣用乙醚、无水乙醇反复洗涤,得天花粉多糖。60℃烘干备用。

4 换算因素测定

精确称取60℃干燥恒重的天花粉多糖20mg,水溶解后定容到100ml容量瓶中,摇匀,作为多糖储备液。

精确量取多糖储备液0.2ml,加水至1ml,按测定标准曲线同样的方法测其吸光度值。按下式计算换算因素: $f = W / CD$

式中:W为多糖重量(μg),C为多糖液中葡萄糖的浓度(μg/ml),D为多糖的稀释因素。

测得 $f = 4.3305$ 。

5 样品测定

精确称取天花粉粉末0.2g,用80%乙醇浸泡过夜,再于MCL-3型连续微波反应器中用80%乙醇回流20min,调整功率560W、500W、400W、350W。残渣挥去溶剂后,再放入MCL-3型连续微波反应器中,继续以水回流提取20min,调整功率630W、600W、560W、450W。反复洗至250ml容量瓶中,定容,摇匀成为样品液。测定时,精确吸取样品液

1ml,按测定标准曲线同样方法测其吸光度值,按下式计算多糖含量:

$$\text{多糖含量}\% = Cdf / W \times 100$$

式中:C为样品溶液的葡萄糖浓度(μg/ml),D为样品溶液的稀释因素,f为换算因素,W为样品的重量(μg),测得结果为18.3012%。

6 回收率测定

精确称取天花粉粉末0.15g,精确加入天花粉多糖7mg,再于MCL-3型连续微波反应器中用80%乙醇回流20min,调整功率560W、500W、400W、350W。残渣挥去溶剂后,再放入MCL-3型连续微波反应器中,继续以水回流提取20min,调整功率630W、600W、560W、450W。反复洗至250ml容量瓶中定容。摇匀后,精确移取1ml,按测定标准曲线同样方法测其吸光度值,按样品测定同样的方法进行提取和测定。计算多糖含量,平均回收率为98.86%,RSD=1.68%(n=5)。

7 讨论

多糖广泛存在于自然界,是多种中草药的有效成分之一,具有多种生物活性,是理想的免疫增强剂,它能促进T细胞、B细胞、NK细胞、MΦ细胞等免疫细胞的功能,还能促进白介素、干扰素、肿瘤坏死因子等细胞因子的产生。目前对多糖的研究方兴未艾,多糖的作用机理以及生物功能与结构的关系的研究不断深入,而且不断有新的多糖物质被发现。微波技术应用于植物细胞破壁,大大地加快了反应速度,有效地提高了收率。我们首次运用微波技术从天花粉中提取出天花粉多糖,并对其含量进行了测定,反应时间缩短了12倍,多糖含量由常规方法的收率0.8409%提高到18.3012%。天花粉多糖的结构组成和生理活性有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中华本草编委会.中华本草[M](第十四卷).上海:上海科学技术出版社,1999.587.
- [2] 曾昭钧,李香文.微波有机化学进展[J].沈阳药科大学学报,1999,10:304.
- [3] 张代佳,刘传斌,修志龙,等.微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J].中草药,2000,31(9):附5.
- [4] 周静,李艳,薛梅,等.酸浆果多糖的提取及含量测定[J].数理医药学杂志,2000,13(3):242.