

酸浆果实中多糖的提取及含量测定

韩阳花, 高莉, 刘丽艳, 阿不都拉·阿巴斯*
(新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要: 从酸浆果实中分离提取出了多糖, 并应用分光光度法对酸浆果实中的多糖含量进行了测定。经蒽酮—硫酸显色, 于 580nm 处测定, 其多糖的含量为 5.22%, RSD=1.35% (n=3)。研究结果表明, 此测定方法简便, 样品溶液在 4h 内显色稳定, 重现性较好, 平均回收率为 98.9%±1.40%, RSD=1.42% (n=3)。

关键词: 酸浆果实; 多糖; 蒽酮—硫酸法; 含量测定

Extraction and Determination of Polysaccharides in Fruit of *Physalis*

HAN Yang-hua, GAO Li, LIU Li-yan, ABDULLA Abbas
(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: Polysaccharides from fruit of *Physalis* was isolated and determined by spectrophotometry. The content of polysaccharide measured by anthrone-H₂SO₄ colorimetry under 580nm, was 5.22% with 1.35% of RSD (n=3). The results showed that the method used in this paper was simple, and the colour of the treated samples was stable in 4h, while the average recovery value for the polysaccharide measured was 98.9%±1.40% with 1.42% of RSD (n=3).

Key words *Physalis* fruit; polysaccharides; anthrone-sulfuric acid method; determination

中图分类号: 0623.59

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0154-03

酸浆 (*Physalis alkekengi* L. var. *francheti* (Mast.) Makino), 俗称红姑娘, 挂金灯, 天泡果等, 为茄科酸浆属多年生草本, 圆球形浆果, 外有膨大的花萼包裹^[1]。酸浆果具有药食两用性, 它不但含有丰富的蛋白质、脂肪、微量元素, 还具有多种活性成分, 如植物甾醇、黄酮、甙类及多糖等。

酸浆首载于《神农本草经》, 列为中品, 性味苦、寒, 归肺经; 具清凉、消肿、利尿、止咳、

化痰之功效。现代医学认为酸浆有抗乙肝病毒, 治疗上呼吸道感染及糖尿病的作用。国外常用酸浆做抗癌的草药, 民间也有用其治疗膀胱癌、食管癌之验方^[2, 3]。

多糖是由多个相同的单糖基以糖苷键相连而形成的高聚物。自然界分布极广, 60 年代以来, 人们逐渐发现多糖具有生物活性功能, 如免疫调节功能、抗病毒、抗肿瘤、降血脂、降血糖等^[4]。

目前, 对酸浆的研究主要集中在植物甾醇上, 而

收稿日期: 2005-04-05

*通讯作者

基金项目: 新疆科委自然科学基金资助项目 (2003-09)

作者简介: 韩阳花 (1979-), 女, 硕士研究生, 研究方向为资源植物有效成分分析。

在热浸提取繁枝蜈蚣藻可溶性多糖的过程中, 温度是影响多糖提取率的最关键因素, 多糖提取的最佳工艺条件为料液比 1:60, 温度 100℃, 时间 4h。此时, 繁枝蜈蚣藻中可溶性多糖的提取率 (相对于繁枝蜈蚣藻被提取的干重) 为 22.527%, 而且不含蛋白、核酸, 有利于繁枝蜈蚣藻多糖的开发利用。

参考文献:

- [1] 陈鸿英, 朱永智, 等. 朝鲜淫羊藿多糖的含量测定[J]. 中草药, 2003, 34(9): 810-811.
- [2] 李巧云, 居红芳, 等. 五味子多糖提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 105-109.
- [3] 于鹏展, 张虹, 等. 正交实验法优选孔石莼 (*Ulvan Pertusa*) 多糖的提取工艺[J]. 中成药, 2004, 26(1): 16-18.
- [4] 翟春. 普通念珠藻中多糖的提取、分离、纯化和初步结构分析的研究[D]. 广西大学, 2000.

对酸浆果多糖的研究非常的少。本试验参考多种植物的多糖提取精制工艺,制备出了精制酸浆果多糖,为其多糖的进一步研究提供了技术平台。同时,采用蒽酮-硫酸比色法对酸浆果多糖的含量进行了测定,该方法测得的吸光度可以作为酸浆果多糖提取率高低的指标。

1 材料与方法

1.1 材料

722 型分光光度计; LAC-164 电子天平; HH-S 电子恒温水浴锅; SHZ-D 循环水式真空泵; RE-52A 旋转蒸发仪; 101A-1 型干燥箱; 离心机。

蒽酮、浓硫酸、葡萄糖、无水乙醇、丙酮、乙醚、氯仿、正丁醇 以上试剂均为分析纯。

酸浆产于伊犁山坡,九月购于乌鲁木齐,自然风干。

1.2 方法

1.2.1 酸浆果多糖的提取与精制^[5]

将以干燥的酸浆果剪碎,称取 15g,置于索氏提取器中,加石油醚(沸腾 60~90℃)150ml,90℃水浴脱脂 4h,将溶剂挥干,再加乙醚 150ml,再次脱脂 4h,将材料取出,挥干溶剂,加入 80% 乙醇 200ml,以回流装置 90℃回流提取 2h,重复提取一次,滤纸过滤,滤渣挥干溶剂,加 400ml 蒸馏水,沸水浴回流提取 2h,滤纸过滤,再以 200ml 蒸馏水重复提取一次,两次滤液合并,真空浓缩(60℃,真空度 0.095MPa)至 40ml,Sevage 法除蛋白,反复进行至无蛋白层,加入无水乙醇使乙醇浓度达到 80%,于 4℃冰箱中过夜,离心(4000r/min,10min),多糖沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚各洗两次,60℃干燥至恒重,即得精制酸浆果多糖。称重,备用。

1.2.2 标准曲线的绘制

1.2.2.1 标准溶液的配制^[5]

称取 105℃干燥至恒重的葡萄糖标准品 1g,置于 100ml 容量瓶中,加蒸馏水定容至刻度,移取 1ml 该标准液于 100ml 的容量瓶中,加蒸馏水定容,配成 100μg/ml 的标准溶液,然后分别移取 1、2、3、4、5、7、9ml 标准溶液,置于 10ml 容量瓶中定容,配成系列标准溶液。

1.2.2.2 蒽酮-硫酸试液的配制^[6]

称取 0.2g 蒽酮,加入 100ml 浓硫酸,置于棕色瓶,混合摇匀置于冰箱中(现配现用)。

1.2.2.3 测定波长的选择^[6]

移取葡萄糖标准溶液 1ml(浓度为 100μg/ml)于具塞试管中,迅速摇匀,置于冰水浴中,迅速加入新配的 0.2% 蒽酮-硫酸溶液 4ml,摇匀,在沸水浴中煮 7min,取

出,自来水迅速冷却至室温,放置 10min 后,在 500~700nm 扫描,测定各个波段的吸光度,以确定吸收峰(以同样的方法处理的水为空白对照)。测定的结果如图 1,故以下 A 值均在 580nm 下测定。

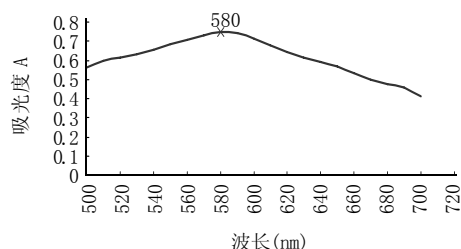


图 1 蒽酮-硫酸法测定葡萄糖标准液的吸收峰

Fig.1 Absorption curve of standard sample by anthrone-sulfuric acid method

1.2.2.4 标准曲线的制备

按照 1.2.2.3 的方法处理系列标准溶液,在 580nm 下,测定吸光度,以葡萄糖浓度(C)对吸光度(A)作回归处理,得回归方程: $A=0.0363C-0.0034$, $r=0.9992$ (葡萄糖浓度单位为 μg/ml)。

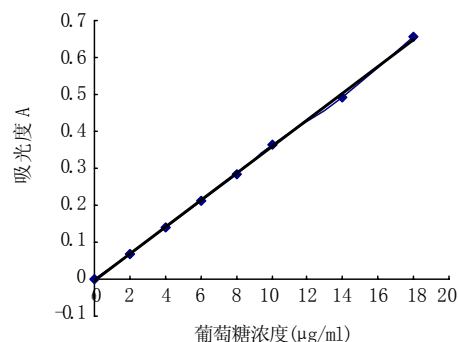


图 2 葡萄糖标准曲线

Fig.2 Standard curve of glucose sample

1.2.3 换算因子的测定

称取干燥恒重的精制酸浆果多糖 30mg,置于 250ml 的容量瓶中,加入蒸馏水定容(可以稍微加热助溶多糖),制得酸浆果多糖贮备液。按照 1.2.2.3 的方法测定酸浆果多糖贮备液的吸光度(A),由回归方程求出酸浆果多糖贮备液中葡萄糖浓度,按下式计算换算因子。

换算因子 $f=W/CD$ (式 1)

式中, W 为称取多糖的重量(μg); C 为精制酸浆果多糖贮备液中葡萄糖的浓度(μg/ml); D 为多糖的稀释因素。

1.2.4 样品中酸浆果多糖含量测定

1.2.4.1 样品溶液的制备

称取 20 目酸浆果粉末 1g,加入 80% 的乙醇 50ml 浸泡过夜,过滤,残渣以 80% 的乙醇 50ml 95℃回流提取

表3 回收率测定结果
Table 3 Recovery ratio

取样量(g)	原含量(mg)	加样量(mg)	吸光度 A	测定量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
1.0026	52.34	15.1	0.419	67.52	100.5	98.9±1.40	1.42
1.0008	52.24	14.8	0.414	66.71	97.8		
1.0005	52.23	15.0	0.416	66.99	98.5		

1 h, 趁热滤纸过滤, 同法重复回流提取一次, 滤渣用热乙醇洗涤 2 次, 挥干溶剂, 滤渣连同滤纸置于烧瓶中加 80ml 蒸馏水 100℃ 水浴回流提取 1h, 重复提取一次, 趁热过滤, 少量热蒸馏水洗涤残渣, 于 250ml 的容量瓶中定容, 备用。

1.2.4.2 样品中多糖含量测定

吸取样品贮备液 1ml, 按照 1.2.2.3 的方法测定吸光度(A), 由回归方程计算样品液中葡萄糖浓度(C), 按照下式计算样品中酸浆果多糖的含量:

$$\text{多糖含量}(\%) = \text{CDF} / W \times 100 \quad (\text{式}2)$$

式中 C 为样品贮备液中葡萄糖的浓度(μg/ml); D 为多糖的稀释因素; f 为换算因子; W 为称取多糖的重量(μg)。

1.2.5 重现性试验

称取 3 份 20 目酸浆果粉末各 1g, 按照 1.2.4.1 的方法制取 3 份样品溶液, 分别移取样品溶液 1ml 置于具塞试管中, 按照 1.2.2.3 的方法测定吸光度(A), 计算多糖含量并求取平均值。

1.2.6 稳定性试验^[7]

取样品贮备液 1ml, 按照 1.2.2.3 的方法测定吸光度(A), 每隔 1h 测定 1 次, 连续 4h, 考察生成物颜色的稳定性。

1.2.7 加样回收率测定

称取 3 份 20 目的酸浆果粉末各 1g, 分别加入精制酸浆果多糖 15mg, 按照 1.2.4.1 的方法制备加入多糖后的样品溶液, 按照 1.2.2.3 的方法分别测定三个加样样品溶液的吸光度(A)。计算多糖的回收率。

2 结果与讨论

2.1 实验结果

2.1.1 换算因子 将测得的多糖吸光度(A)代入回归方程 $A = 0.0363 \times C - 0.0034$, 由式 1 计算其换算因子, 结果为 $f = 4.64$ 。

2.1.2 多糖含量及重现性

将三个样品的吸光度(A), 代入回归方程, 按照式 2 计算各个样品中多糖含量。计算结果如表 1 所列。

计算其平均多糖含量为 5.22%, RSD=1.35%。

2.1.3 稳定性

由表 2 可见, 蒽酮-硫酸显色后, 样品溶液在 4 h

表1 重现性实验结果

Table 1 Recurring of polysaccharides

样品号	1	2	3
多糖含量(%)	5.29	5.23	5.15

表2 多糖测定的稳定性结果

Table 2 Stability of polysaccharides

时间(h)	0	1	2	3	4
吸光度	0.325	0.322	0.322	0.320	0.321

内基本稳定。

2.1.4 加样回收率 测定及计算结果见表 3。

2.2 讨论

2.2.1 石油醚、乙醚可以除去酸浆果实中的脂溶性杂质, 包括一些干扰性的色素, 而用 80% 乙醇回流, 则是要除去单糖、双糖、低聚糖、甙类、蛋白质及氨基酸等, 最后在用沸水提取多糖。

2.2.2 经乙醇沉淀后的多糖可以用离心沉淀或者滤纸过滤两种方法来分离, 但由于滤纸表面比较粗糙, 粘在表面的多糖不易洗脱, 多糖得率会降低, 故此处选用离心分离。

2.2.3 由于多糖中仍有一些黄色素残留, 所以洗涤时无水乙醇和乙醚可涮洗, 丙酮则要加大用量, 洗涤时间要加长, 最好可以浸泡十几分钟, 尽量除尽色素的干扰。

2.2.4 在加蒽酮-硫酸试剂时, 要靠壁缓缓加入, 否则会使部分多糖碳化, 溶液变黑, 影响测定结果。

2.2.5 除蛋白一定要彻底, 直至无蛋白层产生。因为含有色氨酸的蛋白质对显色反应有一定的干扰。

2.2.6 酸浆果实中多糖含量测定的原理是多糖在强酸作用下水解成单糖, 并迅速脱水生成糖醛或其衍生物, 其与蒽酮缩合产生颜色物质, 显色与糖含量呈线性关系^[8]。由于组成多糖链的单糖种类很多, 各种单糖在浓硫酸下脱水的难易程度, 脱水产物的结构和稳定性以及其与蒽酮互变异构体的显色情况均存在差异, 不同单糖的标准曲线的斜率不同, 所以用葡萄糖做标准曲线会引起系统误差。本实验采用精制酸浆果多糖计算换算因子, 从而避免了用葡萄糖做标准而引起的系统误差。

参考文献:

纤维素酶法提取胡芦巴甾体总皂苷 工艺条件的优化

张黎明, 李霞, 徐玮

(天津科技大学食品科学与生物工程学院, 天津 300222)

摘要: 以甾体皂苷元的提取率为指标, 应用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优化了胡芦巴种子中甾体皂苷的酶法提取工艺, 实验结果表明, 影响酶法提取甾体皂苷的主次因素为: 酶用量 > 提取温度 > 固液比 > 水解时间。纤维素酶处理能显著提高甾体皂苷的提取率, 加酶后甾体皂苷元提取率的平均值为 83.6%, 而未加酶的结果则为 58.4%。酶法提取新工艺能显著提高胡芦巴甾体皂苷的提取率。

关键词: 胡芦巴; 甾体皂苷; 酶处理; 提取工艺

Studies on Extraction Technology of Total Steroidal Saponins from Fenugreek Seeds by Cellulase

ZHANG Li-ming, LI Xia, XU Wei

(School of Food Science and Bioengineering, Tianjin University of Science and Technology,
Tianjin 300222, China)

Abstract: Using enzyme-extracting methods, the optimum extraction conditions of steroidal saponins from the of fenugreek seed flour were investigated by orthogonal design with the extracting rate of steroidal saponin as index. The results showed that the factors affecting extraction efficiency of steroidal saponins were as follows: the enzyme dosage > treatment temperature > ratio of solid to liquid (g/ml) > treatment time. The percentage of extraction of steroidal saponin could be obviously raised by enzymic treatment, the average value was 83.6% for enzyme-extracting method and 58.4% for the same condition without cellulase. The extracting percentage of steroidal saponins from fenugreek seeds could be improved by cellulase treatment.

Key words *Trigonella foenum-graecum* L; steroidal saponins; enzymic treatment; extraction process

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0157-04

胡芦巴(*Trigonella foenum-graecum* L.)为豆科胡芦巴属植物, 以其干燥成熟的种子入药。它具有温肾、祛寒、止痛等功效。常用于肾虚、小腹冷痛、小肠炎

气、寒湿脚气等。胡芦巴在国外民间常作为滋补品和营养品。从胡芦巴种子中分离得到的胡芦巴豆胶(主要是半乳甘露聚糖)可降低非胰岛素依赖型糖尿病患者的血

收稿日期: 2005-04-15

基金项目: 天津市高等学校科技发展基金资助项目(20031210)

作者简介: 张黎明(1963-), 男, 副教授, 博士, 主要从事生物催化剂在天然资源开发中的应用研究。

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第三册)[M]. 北京: 科学出版社.
- [2] 刘勇明编著. 维吾尔药志(下册)[M]. 新疆: 新疆科技卫生出版社, 1999. 918-922.
- [3] 宋立人. 现代中药学大词典(下册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 2311-2314.
- [4] 邓泽元, 等. 决明子水溶性多糖提取的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(1): 72-75.

- [5] 傅博强, 等. 茶叶中多糖含量的测定[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 69-73.
- [6] 李绍平, 等. 蒽酮-硫酸法测定亮菌糖浆中多糖的含量[J]. 中草药, 2002, 33(3): 233-235.
- [7] 尤献民, 等. 老头草中多糖的含量测定[J]. 时珍国药研究, 1997, 8(6): 513.
- [8] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.