

苯酚 - 硫酸法测定西宁地区地木耳中多糖含量

张唐伟^{1,2}, 李天才^{*1}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 建立地木耳中多糖的含量测定方法。采用苯酚 - 硫酸法, 以葡萄糖为标准品, 在 490nm 测定多糖的含量。葡萄糖在 0.005 ~ 0.045mg/mL 范围内呈良好线性关系, 回归方程 $A = 0.0109 - 0.0033, R^2 = 0.9996$, 平均回收率 99.8%, RSD 为 3.4%。

关键词: 地木耳; 多糖; 苯酚硫酸法; 含量测定

地木耳 (*Nostoc commune vauch*) 俗称地皮菜、地耳、鼻涕肉、地踏菜、地软、地衣、地捡皮等, 为藻类蓝藻纲念珠藻科 (*Nostocaceae*) 念珠藻属植物念珠藻 (*Nostoc commune vauch*) 的藻体。它与发菜 (*N. flagelliforme*)、葛仙米 (*Nostoc sphaeroides kutz*) 为同属植物^[1]。地木耳是世界广生种, 主要分布在石灰石区和喀斯特岩溶地带^[2]。在我国各地几乎都有分布, 资源丰富, 并且生命力极强, 即使休眠几十年, 一遇水又马上恢复生机。地木耳一般在夏秋季雨后采收, 去杂质洗净, 鲜用或晒干^[3]。据研究地木耳含有丰富的蛋白质、多糖、维生素、钙、磷、铁等, 《本草纲目》记载: 地木耳味甘、平、无毒, 明目益气, 补肾。《中国药典》记载: 野生地木耳对补充维生素、蛋白质、清热解毒、凉血明目、夜盲、皮疹赤热等有明显滋补食疗效果。研究表明地木耳多糖具有抗肿瘤、增强免疫和免疫调节、活血化瘀、抗衰老、对机体细胞的保护等药理作用, 具有药物开发及保健食品的极大潜力。本文采用分光光度法测定地木耳多糖的含量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

721 分光光度计 (上海第三分析仪器厂); AR1140 电子天平 (Chaus Corp. Pine Brook, NJ, USA)。

浓硫酸、苯酚、无水乙醇和无水葡萄糖均为市售分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖的提取^[4]

称取地木耳干粉 1.0000g, 用工业乙醇水浴回流提取 2 次, 过滤, 挥干残渣中乙醇, 加入 60 倍体积的水在沸水浴中提取 3 次, 每次 2h, 合并 3 次滤液, 水浴浓缩至适量, 放冷后搅拌下加入 3 倍体积乙醇使沉淀析出, 置 4℃ 冰箱静置过夜, 离心, 沉淀加蒸馏水溶解, 转入 100mL 容量瓶中定容, 作为待测溶液。

1.2.2 标准曲线的制作

吸取葡萄糖标准溶液 (50 μg/mL) 0、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6mL 各加水补至 2.0mL, 然后加入 6% 苯酚 1.0mL 及浓硫酸 5.0mL, 摇匀, 于沸水浴中加热 10min, 冷却, 于 490nm 波长测定吸收值。结果表明在 0.005 ~ 0.045mg/mL 范围内呈良好线性关系, 求得回归方程 $A = 0.0109 - 0.0033, R^2 = 0.9996, n = 4$ 。

1.2.3 样品含量测定^[5]

精密吸取待测液 1mL 置 100mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 再精密吸取 2.0mL, 按 1.2.2 节, 置具塞试管中操作, 测定吸收值。测得样品光吸收值为 0.31, 在标准曲线下求得多糖浓度为 14.07 μg/mL, 地木耳中多糖含量为 14.07%。

1.2.4 稳定性实验

取标准品及样品分别按分析方法操作, 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5h 各测一次光吸收值。结果表明: 吸收值变化很小, 不影响测定。

* 作者简介: 张唐伟 (1987 -), 男, 硕士研究生; E-mail: zhangtangwei04@163.com

1. 2. 5 回收率实验

按 2. 2 节方法操作, 以回归方程计算多糖的回

收率, 得平均回收率为 99. 8%, RSD = 3. 4%。结果如表 1。

表 1 回收率实验

1. 0000g 样品中 多糖的含量 /mg	加入葡萄糖 标准品的 质量 /mg	测得多糖的 含量 /mg	回收率 /%	平均回收 /%	RSD /%
140. 7	33. 1	175. 2	100. 8	99. 8	3. 4
	33. 0	165. 0	95		
	33. 1	174. 5	100. 4		
	33. 2	179. 1	103		

1. 2. 6 精密度试验

分别精密取地木耳多糖供试液 5 份, 每份 2mL, 置干燥具塞试管中, 各加苯酚试剂 1mL 和浓 H₂SO₄ 试剂 5. 0mL, 立即摇匀, 冷却 30min, 于沸水浴中加热 10min, 冷却, 于 490nm 波长测定吸收度值, 结果 RSD 为 2. 6%。

2 讨论

苯酚 - 硫酸法测定多糖含量, 是根据多糖在 H₂SO₄ 的作用下先水解成单糖分子, 并迅速脱水生成糖醛衍生物, 然后与苯酚生成橙黄色化合物, 再以比色法在 490nm 波长处测定吸光度。在测定多糖含量时, 因难以得到相应的多糖对照品, 而常以葡萄糖等单糖作为对照, 测定结果则以单糖来表示

多糖的含量。通过样品含量测定可知, 地木耳中的多糖含量为 14. 07%。

参考文献

- [1] 朱浩然. 中国淡水藻志 (第二卷). 科学出版社
- [2] Potts M, Whitton B A. The Ecology of Cyanobacteria Kluwer Academic Publishers, 2000, 465
- [3] 范群艳, 吴向阳, 仰榴青等. 地木耳的研究进展. 2007, 21 (4): 55
- [4] 范群艳, 吴向阳, 仰榴青. 响应面分析法优化地木耳多糖提取工艺研究. 2007, 17 (3): 236
- [5] 刘立超, 黄洪林, 赖正权等. 苯酚硫酸法测定栀子水溶性多糖含量. 2005, 9 (11): 831