

土茯苓中多糖的含量测定

李 俐 支 玲 (新疆医学院药理学系, 乌鲁木齐 830034)

摘要 采用苯酚—硫酸比色法测定了土茯苓的多糖含量。结果表明: 样品中多糖含量为 30.86%, 平均回收率 102.2%, 变异系数 1.28%。

关键词 土茯苓 多糖 含量测定 比色法

中药土茯苓为百合科植物光叶菝葜(*Smilax glabra*)的根茎, 具解毒、除湿、利关节等功能^[1], 其化学成分主要为黄酮、皂甙等。但笔者发现土茯苓中含有较多的多糖类成分, 而近代研究表明, 多糖具有较多的生理活性, 如增强机体免疫功能及抗癌等多方面的作用。为此, 我们对土茯苓中的多糖进行了含量测定。

1 仪器与药品

721分光光度计(上海第三分析仪器厂); 葡萄糖标准品(生化试剂 上海生化试剂厂); 苯酚试剂: 取苯酚试剂(CP) 100 g, 加铝片 0.1 g 和碳酸氢钠 0.05 g, 蒸馏收集 132°C 馏份。称取此馏份 10 g, 加水 200 ml 溶解, 置棕色瓶内放冰箱中备用; 土茯苓药材购于有关医药公司。

2 土茯苓多糖的提取与精制

称取粉碎的土茯苓 100 g, 经石油醚(60—90°C) 600 ml 回流提取两次, 每次 2 h; 弃提取液, 药渣用乙醚 600 ml 回流提取两次, 每次 2 h; 弃提取液, 药渣用 80% 乙醇 600 ml 浸泡过夜, 回流提取两次, 每次 2 h。弃提取液, 药渣于水浴上烘干溶剂后, 加蒸馏水 500 ml 回流, 提取三次, 每次 2 h。合并提取液, 滴加过氧化氢脱色, 减压浓缩至 300 ml, 用氯仿多次萃取, 以除去蛋白。水层加入 95%

乙醇, 使其含醇量达 80%, 静置, 离心沉淀, 沉淀先后用无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤, 真空干燥, 即得土茯苓多糖。提取收率约 20%。

3 标准曲线的制备

精密称取于 105°C 干燥恒重的葡萄糖 92.2 mg, 置 250 ml 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 3.0 ml、5.0 ml、7.0 ml、9.0 ml、11.0 ml, 分别至于 50 ml 容量瓶中, 以水稀释至刻度, 摇匀, 即得标准液。分别精密吸取上述标准液 2.0 ml, 加苯酚试剂 1.0 ml, 摇匀, 再加浓硫酸 5.0 ml, 摇匀, 放置 5 min 后, 置沸水浴中加热 15 min, 取出冷却至室温。另以蒸馏水 2.0 ml, 加苯酚和浓硫酸试剂, 同上操作, 为空白对照, 于 490 nm 测定吸光度^[2], 得回归方程:

$$C = 0.03630A + 1.6939 \times 10^{-4} \quad (r = 0.9997)$$

4 换算因子的测定

精密称取土茯苓多糖 13.3 mg, 于 100 ml 容量瓶中加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作贮备液。精密吸取多糖贮备液 1.5 ml, 加水 0.5 ml, 按标准曲线项下“加苯酚试剂 1.0 ml, ……”操作, 测定吸光度, 从回归方程中求出此多糖液中葡萄糖的含量, 按下式计算换算因子: $f = W/CD$, W 为多糖重量 (mg), C 为多糖液中葡萄糖的浓度 (mg/ml), D

为多糖的稀释因素。测得 $f = 1.75 (n = 3)$ 。

5 样品溶液的制备

精密称取土茯苓粉末约0.45 g, 用80%乙醇180 ml分三次回流提取, 每次1 h, 趁热过滤, 残渣用80%热乙醇洗涤, 挥干溶剂后连同滤纸一起置于烧瓶中, 用蒸馏水180 ml分三次回流提取, 每次1 h, 合并提取液于250 ml容量瓶中, 以蒸馏水定容至刻度。精密吸取此溶液8.0 ml于50 ml容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 备用。

6 样品测定

精密吸取样品溶液2.0 ml, 按标准曲线项下“加苯酚试剂1.0 ml……”操作, 测定吸收值, 结果见表1。所测得含量略高于提取值。

表1 土茯苓多糖含量测定结果

No	吸收值	含量(mg/g)
1	0.347	310.2
2	0.360	309.7
3	0.343	302.5
4	0.325	308.1
5	0.355	312.6

含量 $X = 308.6$ RSD = 1.23%

7 重现性和稳定性考察

取同一浓度样品6份, 按分析方法操作, 测定吸收值, 6次平均值 $A = 0.350$, RSD = 0.33%。在波长不改变的情况下, 2 h内测定值不变。

8 回收率测定

精密称取土茯苓粉末约0.45 g, 加入浓度为12.862 mg/ml的土茯苓多糖液7.0 ml, 按样品溶液的制备和样品测定方法操作, 计算回收率。结果见表2。符合分析要求。

表2 回收率测定结果

No	样品量(含多糖量) (mg)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)
1	138.9	90.0	229.1	100.3
2	147.3	90.0	238.7	101.5
3	138.9	90.0	231.7	103.0
4	144.8	90.0	238.0	103.6
5	140.0	90.0	232.3	102.6

平均回收率102.2% RSD = 1.28%

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海人民出版社 1977, 896.
- 2 Dubois, Metal. Anal Chem. 1956; 28(3): 350.

收稿日期: 1996-10-15