

蒽酮-硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量

阮鸣 (南京晓庄学院生命科学系药用菌物研究所, 江苏南京 211171)

摘要 用蒽酮-硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量。研究确定了蒽酮-硫酸法测定芝芪菌质中多糖含量的最佳检测条件,并测定了3批芝芪菌质的多糖含量。研究得出,当加入6.0 ml 0.050%的硫酸蒽酮溶液,在水浴中加热20 min,冷却20 min时,芝芪菌质中多糖含量测定条件最优;3批芝芪菌质多糖的平均含量为0.991 3%。

关键词 芝芪菌质;多糖;蒽酮-硫酸法;含量测定

中图分类号 Q946.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)26-11424-02

Determination of Polysaccharide Content in Zhiqi Fungal Substance by Anthrone-sulfuric Acid Method

RUAN Ming (Institute of Medicinal Fungi, Department of Life Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171)

Abstract Anthrone-sulfuric acid method was used to determine the content of polysaccharide in Zhiqi fungal substance. The optimal determination conditions for polysaccharide content in Zhiqi fungal substance by anthrone-sulfuric acid method were studied. And the polysaccharide contents in three batches of Zhiqi fungal substance were detected. The determination condition was the optimal when adding 6 ml of 0.05% anthrone-sulfuric acid, heating for 20 min and cooling for 20 min. The average content of polysaccharide in three batches of Zhiqi fungal substance was 0.991 3%.

Key words Zhiqi fungal substance; Polysaccharide; Anthrone-sulfuric acid method; Content determination

芝芪菌质是应用药用真菌新型固体发酵工程技术——中药生物技术研制而成的新型饲料添加剂,是将灵芝接种于由药性基质(黄芪药渣)和营养基质(廉价的农副产品)组成的“全性基质”中,在一定条件下进行固体双向发酵得到的产物,不仅可显著促进鸡体生长,更有预防禽流感的显著作用^[1]。多糖是芝芪菌质的有效成分之一,因此,检测多糖含量是控制芝芪菌质质量的方法之一。笔者采用蒽酮-硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量^[2]。

1 材料与方法

1.1 试材 芝芪菌质由南京晓庄学院生命科学系药用菌物研究所张李阳教授提供。

1.2 仪器与试剂 756PC型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司生产),RE-52AA旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂生产),SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂生产),KQ-250B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司生产),16 000 r/min TGL-16G型台式离心机(上海安亭离心机厂生产),GZX-9070MBE电热恒温鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),HANGPING FA2004N电子天平(上海精密仪器有限公司)。所用试剂均为分析纯。

1.3 多糖溶液的制备和测定 取芝芪菌质约30 g,精密称定,以20倍、15倍沸水提取2次,每次1.0 h,合并提取液,过滤,滤液经旋转蒸发器浓缩至一倍体积,用95%的乙醇沉淀溶液至乙醇浓度为85%,放置过夜,离心过滤,弃取上清液,所得沉淀相继用乙醇、丙酮、乙醚洗涤,得多糖粗制品。取多糖粗制品,超声使溶解,转移至100 ml容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀、离心,精密量取离心液2.5~5.0 ml至25 ml容量瓶中,加水定容,摇匀。取溶液0.3~0.5 ml,置10 ml具塞试管中,加水至2.0 ml,精密加入硫酸蒽酮溶液,摇匀,置水浴中加热,取出,放入冰浴中冷却,以相应的试剂为空白,在625 nm波长处测定吸收值。

2 结果与分析

2.1 多糖含量测定条件的优选

2.1.1 硫酸-蒽酮溶液浓度的优选。取7份0.5 ml多糖溶液,加水1.5 ml,分别加入6.0 ml浓度为0.025、0.050、0.100、0.200、0.300、0.400、0.500的硫酸-蒽酮,混匀,置水浴中加热15 min,冰水冷却15 min,在625 nm处测吸光值(图1)。

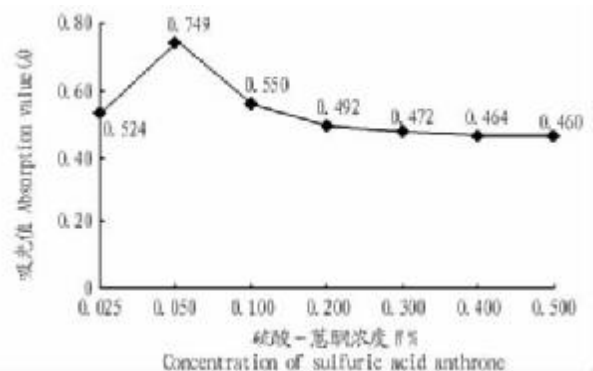


图1 硫酸-蒽酮浓度的优选

Fig.1 Optimization of the concentration of sulfuric acid anthrone

图1结果显示,在其他检测条件相同情况下,硫酸-蒽酮溶液浓度为0.050%时吸光值最高,因此选择0.050%为硫酸-蒽酮溶液最佳反应浓度。

2.1.2 硫酸-蒽酮溶液用量的优选。取6份0.4 ml多糖溶液,加水1.6 ml,分别加入浓度为0.050%的硫酸-蒽酮3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 ml,摇匀,置水浴中加热15 min,取出,冰水冷却15 min,在625 nm波长下测吸光值(图2)。

图2结果显示:在硫酸-蒽酮溶液浓度为0.05%和其他检测条件相同时,硫酸-蒽酮溶液的用量为6.0 ml时的吸光值最高。

2.1.3 加热时间的优选。取4份0.3 ml的多糖溶液,加水1.7 ml,加0.050%的硫酸-蒽酮6.0 ml,摇匀,水浴加热分别为10、15、20、25 min,取出后冰水冷却15 min,置625 nm波长下测吸光值(图3)。

基金项目 南京晓庄学院青年专项(2006NXY30)。

作者简介 阮鸣(1979-),女,安徽六安人,硕士,讲师,从事中药化学方面的教研工作。

收稿日期 2007-11-12

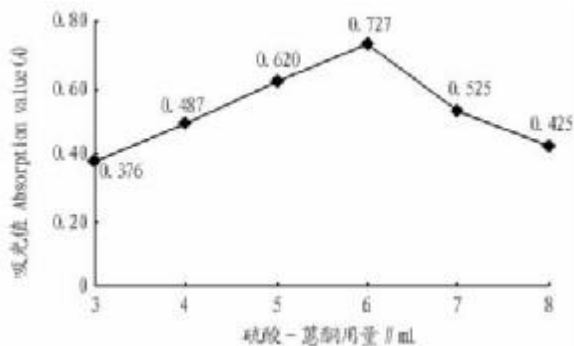


图2 硫酸-蒽酮用量的优选

Fig.2 Optimization of the addition amount of sulfuric acid-anthrone

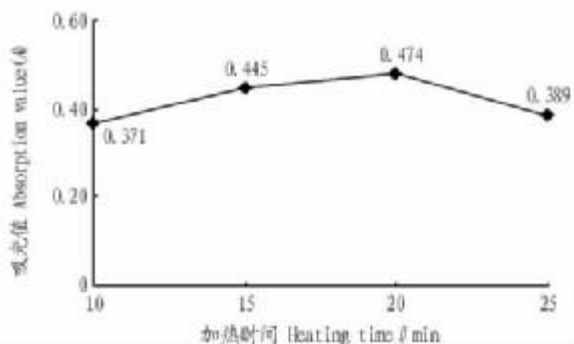


图3 加热反应时间的优选

Fig.3 Optimization of heating reaction time

图3结果表明,在其他条件相同的情况下,加热时间为20 min时吸光值最高。

2.1.4 冷却时间的优选。取5份0.3 ml的多糖溶液,加水1.7 ml,加0.050%的硫酸-蒽酮6.0 ml,水浴加热20 min,取出后分别用冰水冷却5、10、15、20、25 min,置625 nm波长下测吸光值(图4)。

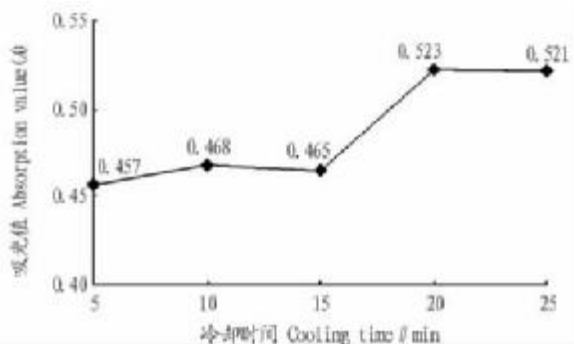


图4 冰水冷却时间的优选

Fig.4 Optimization of cooling time by ice water

图4结果表明,在其他条件相同的情况下,冰水冷却时间为20 min时吸光值最高。

2.2 芝芪菌质中多糖含量测定

2.2.1 葡萄糖标准曲线绘制。分别精密吸取0.106 mg/ml葡萄糖溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml,置10 ml具塞试管中,加水至2.0 ml,精密加入0.050%硫酸-蒽酮溶液6.0 ml,摇匀,置水浴中加热20 min,取出,放入冰浴中冷却20 min。以相应的试剂为空白,在625 nm波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,对照品溶液质量为横坐标,绘制标准曲线,得 $y = 4.2638x + 0.0196$, $r = 0.9996$ 。

2.2.2 多糖含量测定。取3批芝芪菌质,每批平行取2份样品,分别制成多糖粗制品,超声使溶解,转移至100 ml容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,离心,精密量取离心液5 ml至25 ml容量瓶中,加水定容,摇匀。取溶液0.5 ml,置10 ml具塞试管中,加水至2.0 ml,按标准曲线绘制方法进行测定,并根据标准曲线,计算多糖含量。

表1 3批芝芪菌质的多糖含量测定

Table 1 Determination of polysaccharide contents in three batches of Zhiqi fungal substance

样品号 Sample No.	称样量/mg Sample weight	吸光值(A) Absorption value	含量/% Content	平均含量/% Average content
I-1	10 547.5	0.451	0.959 3	0.991 3
I-2	10 278.5	0.443	0.966 1	
II-1	10 344.8	0.426	0.921 4	
II-2	10 666.2	0.442	0.928 8	
III-1	10 317.2	0.496	1.083 0	
III-2	10 777.5	0.520	1.088 9	

3 讨论

在试验过程中,硫酸-蒽酮溶液必须现配现用,并放入到棕色瓶中保存,1 d有效。

多糖样品测定时,试管中加入硫酸-蒽酮溶液后,由于放热反应,试管温度急剧升高,试管要先用自来水冲洗才可以放入到冰水中冷却,以免试管因骤冷而破裂。同理,试管加热20 min后也要用自来水冷却才可放入到冰水中。

检测条件不同,空白溶液的配制亦不同。如优选硫酸-蒽酮溶液浓度时,需配制与样品溶液相对应的7种空白溶液。

参考文献

- [1] 张李阳,周业飞,张敦林.药用真菌发酵及其产物对AA肉鸡免疫功能及生长的影响[J].畜牧与兽医,2005,37(6):9-12.
- [2] 王黎明,夏文水.蒽酮-硫酸法测定茶多糖含量的研究[J].食品科学,2005,26(7):185-188.