

## 黄瓜子生品及炮制品多糖的含量比较分析

赵佳丽<sup>1</sup>, 张怀<sup>1</sup>, 孙建中<sup>1</sup>, 李峰<sup>1</sup>, 贾天柱<sup>1, 2\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 建立黄瓜子多糖含量测定的方法, 并对黄瓜子生品及炮制品的多糖含量进行比较研究。方法: 以精制黄瓜子多糖测得黄瓜子多糖对葡萄糖的换算因子, 采用苯酚-硫酸法测定黄瓜子生品及炮制品粗多糖的含量。结果: 黄瓜子生品的多糖含量为 5.056 4%, 炒黄瓜子的多糖含量为 5.203 2%。结论: 炮制后黄瓜子多糖含量增加。

[关键词] 黄瓜子; 多糖; 炮制; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0053-03

## Content Determination of Polysaccharides in Cucumber seed and its processed product

ZHAO Jia-li, ZHANG Huai, SUN Jian-zhong, LI Feng, JIA Tian-zhu\*

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600 China;

2. Liaoning Engineering Research Center of Chinese Medicine Processing, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method to determine and compare the content of polysaccharides in cucumber seed and its processed product. **Method:** The content of the polysaccharides was determined by phenol-sulfuric acid colorimetry with a conversion factor for glucose from polysaccharides. **Result:** The contents of polysaccharides in crude and fried Cucumber seeds are 5.056 4%, and 5.203 2%, respectively. **Conclusion:** The content of polysaccharides of cucumber seed was increased after processed.

**[Key words]** Cucumber seed; polysaccharide; processing; content determination

黄瓜子是葫芦科甜瓜属植物黄瓜 *Cucumis sativus* L. 的干燥成熟种子, 异名哈利苏。黄瓜子具有续筋接骨, 祛风, 消痰的功效。主治骨折筋伤, 风湿痹痛, 老年痰喘<sup>[1]</sup>。据文献报道, 黄瓜多糖具有抗氧化活性<sup>[2]</sup>。但有关黄瓜子及其炮制品中多糖的含量测定, 尚未见有国内外文献报道。所以研究黄瓜子多糖对黄瓜子药用价值具有重要意义。本实验采用苯酚-硫酸法对黄瓜子生品及炮制品的多糖进行含量测定, 并比较炮制前后多糖含量变化。为进

一步研究黄瓜子的作用提供科学依据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** METTLER AE240 型 1/10 万分析天平 (瑞士 METTLER), FA1004B 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司), 101 型电热鼓风干燥箱 (北京市永光明医疗仪器厂), HH-4 型恒温水浴锅 (国华电器有限公司), RE-52A 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂), 日本日立 U-3010 紫外分光光度计, SHZ-D 循环水式真空泵 (上海予华仪器有限公司)。

**1.2 药材** 黄瓜子购于安徽省亳州药材公司, 经辽宁中医药大学鉴定教研室翟延君教授鉴定为葫芦科甜瓜属植物黄瓜 *C. sativus* L. 的干燥成熟种子。

**1.3 试剂** D-无水葡萄糖对照品, 由中国药品生物制品检定所提供, 批号 110833-200503。苯酚, 浓硫酸、乙醇、丙酮、乙醚均为分析纯。水为纯净水。

[收稿日期] 20100524(008)

[第一作者] 赵佳丽, 硕士, 主要从事中药炮制及中药质量标准研究工作; Tel: 0411-87586115, E-mail: zjl2426@163.com

[通讯作者] \* 贾天柱, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制原理研究, E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

## 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 生品:取黄瓜子粉碎,过40目筛即得。清炒品:以温度计测量锅底温度,待温度上升至120℃,取黄瓜子置铁锅中,保持120℃条件下炒制2 min至深黄色,放凉,粉碎,过40目筛即得。

### 2.2 黄瓜子多糖含量测定

**2.2.1 多糖的提取与精制** 称取黄瓜子粉末30 g,加10倍量90%乙醇于90℃水浴中回流3次,每次2 h,抽滤。药渣置通风处晾干,加入10倍量水,加热回流3次,每次2 h,抽滤,合并滤液,减压浓缩至60 mL,取出,Servage法除蛋白<sup>[3]</sup>(氯仿-正丁醇,4:1),用95%乙醇调至醇浓度达到80%,4℃静置过夜,抽滤,沉淀分别以无水乙醇,丙酮,乙醚洗涤,抽滤,60℃烘干至恒重,得精制的白色粉末状黄瓜子粗多糖。精制的黄瓜子多糖水溶液遇碘不显蓝色,菲林反应为阴性,且在250~300 nm无明显吸收峰。

**2.2.2 对照品溶液的配制** 取105℃干燥至恒重的无水葡萄糖约11 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加适量水溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得0.1104 g·L<sup>-1</sup>的葡萄糖对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取黄瓜子生品及炮制品粉末各0.5 g,精密称定,置于烧瓶中,加入150 mL 90%乙醇,90℃加热回流1 h,抽滤,用少量热90%乙醇洗涤2次。滤渣在常温下挥干,将滤渣连同滤纸置烧瓶中,加水80 mL,加热回流1 h,趁热滤过,用少量热水洗涤滤器,合并滤液与洗液,放冷,移入100 mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2.4 精制黄瓜子多糖溶液的配制** 精密称取105℃干燥至恒重的黄瓜子粗多糖13.9 mg,置50 mL量瓶中,加蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀,得浓度为0.278 g·L<sup>-1</sup>的黄瓜子粗多糖溶液。

**2.2.5 苯酚-硫酸试液的配制<sup>[4]</sup>** 取苯酚100 g,加铝片0.1 g和碳酸氢钠0.05 g,蒸馏,收集182℃馏分。称取该馏分5 g,置100 mL量瓶中加蒸馏水稀释至刻度,摇匀后,滤过至棕色试剂瓶中,得5%苯酚液,置冰箱中储存备用。

**2.2.6 最大吸收波长的选择<sup>[5]</sup>** 分别取上述对照品溶液、供试品溶液和精制黄瓜子多糖溶液各2 mL,置25 mL具塞试管中,各加入5%苯酚溶液1.0 mL,混匀,再加入浓硫酸6 mL,充分摇匀,另取2.0 mL的蒸馏水同上操作制得空白溶液。在冷水中放置10 min,置70℃水浴中反应5 min,迅速冷却至室

温,于400~800 nm全波长扫描,均在488 nm处有最大吸收,故选择488 nm为测定波长。

**2.2.7 标准曲线的制备** 精密吸取葡萄糖对照品溶液0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL分别置于25 mL具塞刻度试管中,加水至2 mL,各加入5%苯酚溶液1.0 mL,混匀,再加入浓硫酸6 mL,充分摇匀,另取2.0 mL的蒸馏水同上操作制得空白溶液。在冷水中放置10 min,置70℃水浴中反应5 min,迅速冷却至室温,在488 nm波长处测定吸收度值,以葡萄糖浓度C为横坐标,吸光度A为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $A = 12.541C - 0.0039$  ( $r = 0.9996$ ),表明样品在0.01104~0.06624 g·L<sup>-1</sup>线性关系良好。

**2.2.8 换算因子的测定** 取2.2.4项下所制得的黄瓜子粗多糖溶液2.0 mL,按2.2.6项下依法测定吸光度,由回归方程求出此黄瓜子多糖溶液中葡萄糖的浓度,并计算其中葡萄糖的含量。按下式计算换算因子<sup>[6]</sup>f,换算因子平均值为4.94, RSD 0.83%。

$f = m / (C \times D \times V)$ ,式中m为黄瓜子粗多糖的质量(mg),C为黄瓜子粗多糖溶液中葡萄糖浓度(g·L<sup>-1</sup>),D为黄瓜子粗多糖溶液的稀释倍数,V为黄瓜子多糖溶液体积(mL)。

**2.2.9 精密度实验** 取同一供试品溶液2.0 mL,照2.2.6项下方法,连续测定6次, RSD 0.15%,结果表明精密度良好。

**2.2.10 重复性实验** 取同一批次粉碎后的黄瓜子6份,按2.2.3项下制备供试品溶液,分别按2.2.6项下依法测定, RSD 1.89%,结果表明重复性良好。

**2.2.11 稳定性实验** 取供试品溶液,按2.2.6项下操作,每隔15 min测定一次,连续测定2 h, RSD 0.78%,结果表明供试品溶液2 h内显色稳定。

**2.2.12 加样回收率实验** 精密吸取已知多糖含量的供试品溶液1.0 mL 6份,分别精密加入葡萄糖标准溶液0.2 mL,按2.2.6项下依法测定,计算多糖平均回收率为99.7%, RSD 1.50%,见表1。

**2.2.13 含量测定** 取黄瓜子生品及炮制品,按2.2.3项下制备供试品溶液,按2.2.6项下依法测定吸光度,从回归方程中求出供试品中葡萄糖的浓度,按下式及计算出多糖含量,结果见表1。

多糖含量(%) =  $C \times D \times f \times 100 / W$ 。C为供试品溶液中葡萄糖的浓度(g·L<sup>-1</sup>),D为样品溶液的稀释倍数,f为换算因子,W为样品质量(mg)。

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验测定结果

No.	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
1	0.017 55	0.022 08	0.039 41	99.01		
2	0.017 55	0.022 08	0.039 25	98.30		
3	0.021 70	0.022 08	0.043 90	100.55	99.70	1.50
4	0.021 70	0.022 08	0.043 63	99.33		
5	0.022 67	0.022 08	0.045 26	102.32		
6	0.022 67	0.022 08	0.044 46	98.68		

表 2 黄瓜子生品及炮制品多糖含量 (n=3) %

药材	多糖含量	平均含量	RSD
生品	5.105 8		
	5.113 9	5.056 4	1.83
清炒品	4.949 6		
	5.194 6		
	5.136 8	5.203 2	1.37
	5.278 2		

### 3 讨论与结论

多糖作为黄瓜子的有效成分之一,生物活性多种,能提高机体的免疫力以及具有抗氧化活性的作用,从实验结果中可以得出,黄瓜子制品中多糖含量比黄瓜子生品中多糖含量有所增加,可见黄瓜子炮制的意义所在。但究竟是炮制过程中由其他成分转

化而来,还是因为炮制后使药材的质地疏松而有利于多糖成分的煎出仍有待进一步研究。

在多糖的含量测定中,多糖组成复杂而难以得到相应的多糖对照品,所以多采用葡萄糖代替对照品,但这只能测得样品中多糖的相对含量,样品中多糖的准确含量必须通过单糖和多糖之间的换算因子计算来获得。本实验对苯酚-硫酸法测定条件进行优化,得出 2 mL 黄瓜子多糖溶液,加 5% 苯酚溶液 1 mL,硫酸 6 mL,70 ℃ 水浴 5 min 显色效果最好。

### [参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 第 5 卷. 上海: 上海科学技术出版社, 1999, 522.

[2] 许平. 黄瓜多糖抗氧化活性研究 [J]. 重庆工商大学学报: 自然科学版, 2009, 26(1): 54.

[3] 屠婕红, 黄佳. 瓜蒌皮中水溶性多糖的提取及含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 281.

[4] 王德才, 李同德, 高丽君. 杭白芷多糖的提取分离及其含量测定 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(4): 283.

[5] 张作法, 金洁, 时连根. 桑枝多糖的含量测定方法 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 462.

[6] 孟江, 周毅生, 廖华卫. 不同产地鱼腥草多糖含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 822.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 52 页)

[4] 徐小玉, 连建伟. 小半夏汤对小鼠胃动素的影响 [J]. 国医论坛, 2002, 17(4): 45.

[5] 张科卫, 梅阳, 吕爱娟, 等. 小半夏汤指纹图谱的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1493.

[6] 张科卫, 吴皓, 崔小兵. HPLC 法测定小半夏汤中 6-姜酚和 6-姜醇 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1579.

[7] 夏云, 李志明, 朱丹妮, 等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究——生脉散复方化学的研究 ( )

[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230.

[8] 冉懋雄. 注射用葡萄糖杂质紫外吸收度与质量关系 [J]. 中国医院药学杂志, 1986, 6(1): 21.

[9] 楚文, 张昌斌, 曹永红, 等. 限制 5-羟甲基糠醛生成条件和探讨 [J]. 人民军医药学专刊, 1998, 14(2): 101.

[10] 饶品昌, 黄道明. 薄层扫描法测定熟地黄中 5-羟甲基糠醛的含量 [J]. 中成药, 1998, 20(8): 20.

[责任编辑 顾雪竹]