

古尼虫草菌丝体维生素 E 的初步分析

朱振元, 刘年, 詹伟, 陈熙, 刘安军

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 古尼虫草与传统名贵中药冬虫夏草类似, 具有多种活性物质及广泛的药理作用, 是一种重要的虫草属真菌。分别用 30%、50%、80%乙醇溶液和乙酸乙酯作为提取液, 从古尼虫草菌丝体中提取维生素 E, 并用乙酸乙酯萃取的方法进行初步分离, 硅胶薄层层析和紫外分光光度法分析粗产物中的维生素 E。结果表明, 提取物质的总量与提取液的乙醇含量有关, 提取液的有机溶剂比例越高, 提取到维生素 E 量越高, 但提取的维生素 E 的纯度越低。初步确定乙酸乙酯为提取虫草维生素 E 的最适溶剂。

关键词: 虫草; 维生素 E; 分离提取; 紫外分光光度法

中图分类号: TS201.2; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)12-0037-03

Primary Study on the Vitamin E of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk.

ZHU Zhen-yuan, LIU Nian, ZHANG Wei, CHEN Xi, LIU An-jun

(College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. is one of the important species of *Cordyceps spp.*, which has similar constituents and pharmacological activities to the traditional Chinese medicine *Cordyceps sinensis*. In the paper, the extraction and separation of vitamin E from *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. were studied using 30%, 50%, 80% ethanol solution and ethyl acetate. The content of the crude vitamin E was analyzed with thin layer chromatography (TLC) and UV spectrophotometer methods. The results showed that the higher the organic solvent content in the extracting solution, the higher the content of vitamin E and the lower the purity of the vitamin E. Besides, ethyl acetate was shown to be the best organic solvent for the extraction of vitamin E from *Cordyceps gunnii*.

Key words: *Cordyceps gunnii*; vitamin E; extraction; UV-VIS spectrophotometry

虫草是一类十分重要的药用真菌, 是寄生于昆虫体上的真菌与其寄主昆虫形成的虫菌复合体, 隶属于子囊菌门 (*Ascomycota*), 核菌纲 (*Pyrenomycetes*), 麦角菌科 (*Clavicipitaceae*), 虫草属 (*Cordyceps*)。虫草属真菌能够产生多种生物活性物质如多糖、甘露醇、虫草素、维生素、甾类等, 并具有广泛的药理作用, 在肿瘤、自身免疫、炎症、心血管疾病、神经衰退和衰老的治疗中起着重要作用^[1-6]。古尼虫草 (*Cordyceps gunnii*) 和冬虫夏草 (*Cordyceps sinensis*) 同属于虫草属真菌, 在提高机体免疫力、促进睡眠和增强记忆力等方面有重要作用。利用古尼虫草生产出的药品、保健食品已陆续上市, 它以全面提高人体免疫力, 抗癌, 抗衰老, 抗氧化等生理功能而备受消费者青睐^[7-10]。国内外文献报道虫草中含有多种维生素, 但对维生素成分的分析研究还很少。本文对古尼虫草发酵菌丝体中的维生素 E 进行了初步的分离分析。

收稿日期: 2007-08-11

基金项目: 天津科技大学基金 (No. 0200060); 人事部中国博士后科学基金 (No. 20060400709) 资助

作者简介: 朱振元, 博士, 副教授, 从事食品生物技术教学与科研工作

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料

维生素 E 标样 (胶囊, 规格 0.1 g), 中新药业天津第六中药厂生产。古尼虫草 (*Cordyceps gunnii*) 菌丝粉, 贵州大学真菌资源研究所梁宗琦教授提供。

1.1.2 试剂

高效硅胶板 G254 (厚度 0.25 mm), Merck 公司; 乙酸乙酯、甲醇、正丁醇等试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器

DF-II 集热式磁力加热搅拌器, 山东鄄城嘉德仪器厂; 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 紫外可见分光光度计 (SP-2102UV 型), 上海光谱仪器有限公司; SHB-III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 虫草中维生素 E 粗品的提取制备

取虫草菌丝粉 40 g, 用 30%乙醇溶液 400 mL 浸泡 24 h, 50 °C 搅拌加热 2 h, 布氏漏斗抽滤, 收集滤

液。重复2次,合并浸提液,旋转蒸发至油状,用乙酸乙酯萃取3次,合并乙酸乙酯萃取液,旋转蒸发至油状,干燥恒重,得样品A。

分别用50%、80%乙醇溶液作浸提剂,同上述操作过程,分别得样品B、C。

取虫草菌丝粉40g,用乙酸乙酯溶液400mL浸泡24h,50℃搅拌加热2h,布氏漏斗抽滤,收集滤液。重复2次,合并浸提液,旋转蒸发至油状,干燥恒重,得样品D。

1.2.2 虫草维生素E粗品的薄层分析

分别取四种样品和维生素E标准品少量置于1.5mL离心管中,用展开剂环己烷-乙醚(8:2, v/v)溶解。间隔1cm在高效硅胶板上点样,在玻璃层析缸中展开,展开到距离硅胶板上边缘1cm时停止,紫外灯下观察,计算Rf值。

1.2.3 虫草维生素E粗品的含量测定

维生素E测定方法的研究进展迅速,目前的分析方法已多达十几种,各方法均有其自身的优缺点、灵敏度、检测限等。本实验采用紫外可见分光光度计法测定维生素E的含量,在混合物中不经过分离,直接测定维生素E的含量,方法简便,分析时间短^[11-13]。

1.2.3.1 维生素E标准曲线绘制

称取维生素E标准品100mg,置于50mL容量瓶中,用正己烷溶解并稀释至刻度,作为标品备用液。精密吸取标品备用液1mL,置25mL容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,作为标品溶液。分别吸取标品溶液0.5mL,1.0mL,1.5mL,2.0mL,2.5mL分别置于25mL容量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀。以无水乙醇为空白,在285nm波长处测定吸光度^[12]。

1.2.3.2 虫草维生素E粗品的含量测定

溶液A:取0.0180g的样品A置于25mL容量瓶中用无水乙醇溶解并稀释到刻度,取5mL置于25mL容量瓶中用无水乙醇稀释到刻度。

溶液B:取0.0186g的样品B置于25mL容量瓶中用无水乙醇溶解并稀释到刻度,取5mL置于25mL容量瓶中用无水乙醇稀释到刻度。

溶液C:取0.0190g样品C置于25mL容量瓶中用无水乙醇溶解并稀释到刻度。

溶液D:取0.0192g样品D置于25mL容量瓶中用无水乙醇溶解并稀释到刻度。

无水乙醇为空白,在285nm波长处测定4种溶液的吸光度。

根据标准曲线计算粗产物中维生素E含量。

1.2.3.3 回收率测定

待测溶液:取0.0188g的样品B置于25mL容量瓶中用无水乙醇稀释到刻度,取5mL置于25mL容量瓶中用无水乙醇稀释到刻度。

标准溶液:配制80μg/mL维生素E标准溶液。

取4mL的待测溶液(3份),分别加入2mL、3mL、4mL的标准溶液,以无水乙醇为空白,在285nm波长处测定吸光度。

$$\text{回收率} = \frac{\text{测得量} - \text{样品中含量}}{\text{加入标准品量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 硅胶薄层层析

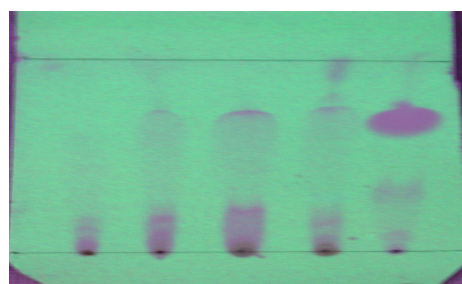


图1 维生素E粗品硅胶薄层层析

注:从左到右分别为样品A、B、C、D和维生素E标准品。

如图1所示,4种样品中都含有维生素E。样品A取量太少,显色不明显。样品B、C、D及标准品的Rf值为0.7(环己烷-乙醚,8:2, V:V)。

2.2 维生素E标准曲线

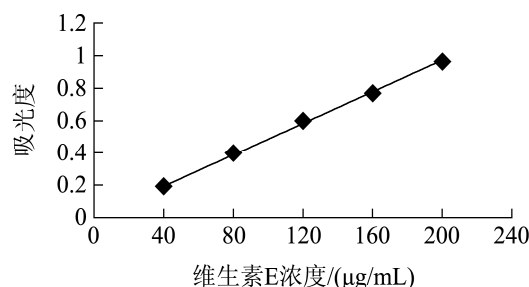


图2 维生素E标准曲线

回归方程: $A=0.0048C+0.0073$, $R^2=0.9984$; 其中:A—吸光度; C—维生素E浓度。

表明维生素E浓度在40μg/mL~200μg/mL之间呈良好的线形关系。

2.3 维生素E含量结果

由表1得出,用不同提取液提取的维生素E的含量和纯度有明显差异。提取液的极性越低,得到维生素E粗产物越多,但维生素E的纯度越低,而虫草维生素E产率越高。因此非极性溶剂提取虫草中维生素E效果较好。本实验用乙酸乙酯提取,测得虫草菌丝体中的维生素E含量为32.4mg/100g。

表1 维生素E含量表

虫草菌 丝体量/g	提取剂	样品 编号	维生素 E	维生素 E 粗产	虫草菌丝体
			粗产物量 /mg	物中维生素 E 含量(mg/100g)	维生素 E 含 量(mg/100g)
40	30%酒精	A	168.5	860.4	3.6
40	50%酒精	B	303.8	523.2	4.0
40	80%酒精	C	3154.4	195.4	15.4
40	乙酸乙酯	D	6069.8	213.7	32.4

2.4 回收率结果

表2 回收率实验结果

加入维生素 E 粗产物/mL	加入标准 品量/mL	吸光度	回收率 /%	平均回 收率/%
4	2	0.389	101.48	
4	3	0.384	97.75	98.67
4	4	0.382	96.79	

RSD=2.51%，表明紫外分光光度法可以测定维生素 E 含量，此方法简便、可靠，分析快速。

3 小结

虫草中维生素具有重要的临床应用价值及广阔的应用前景，本文对古尼虫草菌丝体中的维生素 E 进行了初步的提取分析，分别用 30%、50%、80%乙醇溶液和乙酸乙酯浸提，结果显示不同提取剂提取的维生素 E 的量和纯度不同，提取剂的极性越低，提取到的维生素 E 粗品的量越高，提取的维生素 E 纯度越低。乙酸乙酯提取的维生素 E 粗品量最高，由此计算出古尼虫草菌丝体中维生素 E 含量为 32.4 mg/100 g。为今后开发虫草中维生素 E 提供了一定的科学依据。

参考文献

[1] 梁宗琦.我国虫草属真菌研究开发的现状及思考[J].食

用菌学报,2001,8(2):53-62

[2] 王尊生,俞永信,袁勤生.虫草属真菌的生物活性成分[J].中草药,2004,35(10): 8-11

[3] 徐飞.我国深层培养虫草菌丝体的药用研究[J].中国药理学杂志,1992,27(4):195-198

[4] Jin W.B., Leonard L.,Jeff C., et al.Antitumor sterols from the mycelia of *Cordyceps sinensis*[J].Phytochemistry,1999, 51: 891-898

[5] 纪莎,施小兵,易骏.冬虫夏草化学成分研究概况[J].福建中医学院学报,1999,(2):46-47

[6] 郭锡勇,郭莉莉,陈芳.代氏虫草与冬虫夏草化学成分的比较[J].中药材,1995,18(8):403-404

[7] 沈齐英.北虫草抗活性氧自由基作用的研究[J].锦州医学院学报,1997,1B(5):11-13

[8] 陈畅,罗珊珊,孙迎节,等.3种虫草抗氧化活性的研究[J].中国生化药物杂志,2004,25(4):212-214

[9] 陈畅,罗珊珊,李彦,等.三种虫草抗氧化活性的化学发光法研究[J].上海中医药杂志,2004,38(7):53-55

[10] 杨俊何,凌耀升.虫草制剂的抗氧化作用[J].广东药学院学报,1997,13(1):35-37

[11] 樊明涛,吴守一,马海乐.维生素E测定方法的研究进展[J].江苏大学学报(自然科学版),2002,23(1):54-58

[12] 吴生齐,王坤.紫外分光光度法测定维生素E胶丸中维生素E的含量[J].宁夏医学杂志,2004,11(26):737

[13] 崔云龙,李民.分光光度法测定维生素E[J].临床检验杂志,1990,8(1):14-16

[14] 许志超,陈莉华,李源,等.血浆中维生素E的分光光度测定法及其萃取溶剂的研究[J].第四军医大学学报,1989, 10(4):244-246

致谢：承蒙贵州大学真菌资源研究所梁宗琦教授提供古尼虫草菌丝粉。

(上接第 36 页)

[6] Shiyi Ou,Yong Wang,Shuze Tang,Caihuan Huang, Michael G.Jackson. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate[J]. Journal of Food Engineering,2005,70: 205-21

[7] Hernandez-Munoz P, Villalobos R., Chiralt A. Effect of cross-linking using aldehydes of properties of glutenin rich films [J]. Food Hydrocolloids, 2004,18:403-411

[8] Chuan-HeTang,YanJiang,Qi-BiaoWen,Xiao-Quan Yang. Effect of transglutaminase treatmentt of the properties of cast fi-

lms of soy protein isolates [J]. Journal of Biotechnology, 20 05, 120:296-307

[9] Laura Fernandez, Marta Cebrian.M et al. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based films [J]. Eur Food Res Technol,2006,24: 31-37

[10] 宋臻善,熊健.超声辐射对大豆分离蛋白膜的性能影响[J].食品工业科技,2007,5:94-97