

两种豆科药材及其混伪品的可溶性蛋白质电泳鉴别

马晓莉¹ 史超群¹ (保定 071000 河北省职工医学院;¹ 保定市药品检验所)

摘要 目的:对赤小豆、决明子及其混伪品进行电泳鉴别,并考察考马斯亮蓝 G-250 的染色效果。方法:可溶性蛋白质凝胶电泳。结果:赤小豆、决明子及其混伪品的电泳图谱存在显著差异。结论:电泳图谱可作为赤小豆、决明子及其混伪品的鉴别依据,考马斯亮蓝 G-250 可用于电泳鉴别。

关键词 赤小豆;决明子;混伪品;电泳鉴别

Electrophoresis identification of two leguminosae Chinese drugs and their adulterants

Ma Xiaoli(Ma XL), Shi Chaoqun(Shi CQ) (Hebei Medical College of Continuing Education, Baoding 071000)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To identify two leguminosae Chinese drugs, semen phaseoli, semen cassiae, and their adulterants by electrophoresis and to study the dyeing effect of coomassie brilliant blue G-250. **METHOD:** Gel electrophoresis of soluble protein was used. **RESULTS:** The electrophoretograms of semen phaseoli, semen cassiae and their adulterants are used different. **CONCLUSION:** The electrophoretograms can be used to differentiate semen phaseoli and semen cassiae from their adulterants. Coomassie brilliant blue G-250 can be used in the electrophoresis identification.

KEY WORDS semen phaseoli, semen cassiae, adulterants, soluble protein, gel electrophoresis

赤小豆为常用中药,系豆科植物赤小豆 *Phaseolus calcaratus* Roxb. 或赤豆 *Phaseolus angularis* Wight 的干燥成熟种子,曾发现某些地区将相思豆 *Abrus precatorius* L. 误作赤小豆用,两者不但在原植物和药材性状上有明显区别,而且性味功能也绝然不同,绝对不能以相思豆混作赤小豆药用,以免发生中毒。决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子,个别地区以圆决明误作决明子使用,其原植物为同属植物望江南 *Cassia occidentalis* L.。本文用非解离型连续聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对赤小豆、决明子及其混伪品进行了鉴别,所得蛋白电泳图谱有显著差异,可作为鉴别依据。同时比较了两种蛋白质染色剂考马斯亮蓝 R-250 和 G-250 的染色效果。

1 实验材料、仪器及药品

1.1 实验材料由作者收集、鉴定。

1.2 仪器 DYY-III2 型稳压稳流电泳仪(北京市六一仪器厂),圆盘电泳槽(北京市六一仪器厂),LD5-10 型离心机(北京医用离心机厂)。

1.3 药品 丙烯酰胺为化学纯,双丙烯酰胺为进口原装,四甲基乙二胺为生化试剂,考马斯亮蓝 R-250 和 G-250 为进口分装,其余药品均为分析纯。

2 实验方法

2.1 试剂的配制及凝胶的制备见文献^[1,2],凝胶浓度为 6.3%。

2.2 样品液的制备 取实验材料 0.5g,加电极缓冲液 5ml 研磨成匀浆,静置 30min,转移至离心管中,按 3000r/min 离心 15min,取上清液 0.5ml 加入 0.05% 溴酚蓝示踪指示剂 1~2 滴,混匀备用。

2.3 电泳 调节电流按 1mA/管进行电泳,2min 后,按 3.5mA/管进行电泳,待示踪指示剂行至距末端 0.5cm 时,关闭电源,全程约 40min。

2.4 染色 考马斯亮蓝 R-250 染色法 将胶条置固定液中固定 10min,再置 90℃ 染色液中染色 10min,最后用洗脱液反复洗脱,至背景清晰为止。考马斯亮蓝 G-250 染色法:将胶条置染色液中,室温条件下染色 30min 即得。

3 结果与讨论

3.1 我们按颜色的深浅,将谱带分为 2 级,色深者为 I 级,色浅者为 II 级。赤小豆、决明子及其混伪品的蛋白电泳图谱(图 1)各不相同,有显著差别,且重现性好,结果稳定,可作为鉴别依据。

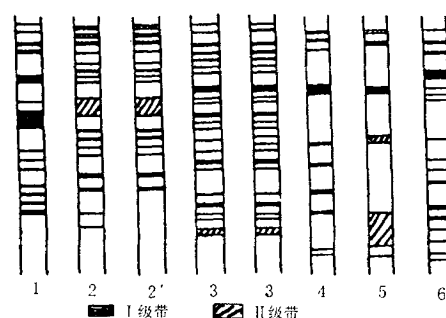


图 1 赤小豆、决明子及其混伪品的电泳图谱

1 - 赤小豆;2,2' - 赤小豆;3,3' - 相思豆;4 - 决明子;5 - 小决明子;6 - 望江南子;1~6 为考马斯亮蓝 G-250 染色所得电泳图谱;2',3' 为考马斯亮蓝 R-250 染色所得电泳图谱

3.2 近年来,中药材的电泳鉴别报道较多,所用的蛋白质染色剂均为考马斯亮蓝 R-250,存在着操作繁琐,实验周期长等缺点,主要是由于用其染色后还需要用 24~48h 的时间反复

脱色,将背景色素洗掉,蛋白质谱带才能显现。我们试用考马斯亮蓝 G 250 染色,实验结果表明,同种实验材料在相同条件下,分别用两种染色剂染色,所得电泳图谱赤豆、决明子、小决明子、望江南完全相同,而赤小豆、相思豆只有一些细带略有差异,因此我们认为用 G 250 和 R 250 染色,所得电泳图谱都能反映出不同材料的特征谱带,均可作为鉴别依据。用考马斯亮蓝 G 250 为蛋白质染色剂,具有操作简便、实验时间短、节省试剂等优点,更具实用性和推广价值。

3.3 目前报道的凝胶电泳鉴别法,多为解离型非连续性凝胶电泳,存在配胶繁琐(须制备分离胶和浓缩胶),电泳时间长(约需 3 ~ 4h)等缺点,而且电泳所分离的是蛋白质的解离产物——多肽,并非药材所含的天然蛋白质。本文选用非解离型连续性聚丙烯酰胺凝胶电泳法,与前法比较有如下特

点:①配胶简便,只需制备分离胶;②电泳时间短,约需 40 min 即可;③电泳过程中所分离的蛋白质是药材中所含的天然蛋白质,具有种的特异性和稳定性,所测得的蛋白质电泳图谱,能更真实的反映出植物种间的差别和联系。

本文所用实验方法将电泳鉴别时间从 30h 以上缩短到 2h 左右,实用性强,值得推广。

参考文献

- 1 夏雷,刘大程.20 味种子与果实类药材的电泳鉴别.中国中药杂志,1990,15(7):11.
- 2 马晓莉,王晶.牵牛子及其伪品的可溶性蛋白质电泳鉴别.中草药,1998,29(6):412.

收稿日期:1999 - 04 - 10