

# 羊胎盘活细胞素微量元素和氨基酸组成的分析

陆晖<sup>1</sup>, 闫晓梅<sup>2</sup>, 张双全<sup>2</sup>

(1. 扬州大学医学院, 扬州 225001)

(2. 南京师范大学生命科学学院, 南京 210097)

[摘要] 通过 ICP 和 HPLC 对羊胎盘活细胞素的微量元素和氨基酸组成进行了定量分析, 证明它含有 14 种微量元素, 其中 8 种是人体必需的微量元素; 含有 16 种氨基酸, 其中必需氨基酸 7 种, 约占总氨基酸的 33.5%。表明羊胎盘活细胞素的有效成分种类齐全, 含量高, 具有良好的营养价值, 值得进一步开发应用。

[关键词] 羊胎盘活细胞素, 微量元素, 氨基酸

[中图分类号] Q593; [文献标识码] A; [文章编号] 1001-4616(2001)01-0079-04

## 0 引言

胎盘(Placenta)又名“紫河车”, 为常用中药<sup>[1]</sup>。现代医学生物学研究表明: 胎盘含有多种免疫球蛋白、活性肽等生物活性物质及氨基酸、矿物质等成分(统称活细胞素), 是一种机体免疫功能的调节剂和营养、美容保健品<sup>[2]</sup>。我们以正常健康的普通绵羊足月产仔胎盘为原料, 将其活细胞素进行提纯, 制成白色冻干粉。实验证明, 它能有效地提高小鼠机体免疫功能, 使小鼠耐受力增强, 并改善其消化系统功能, 的确是一种理想的免疫调节剂。本文进一步分析了羊胎盘活细胞素的微量元素和氨基酸组成, 证实它含有大量的有效成分, 能充分补充人体所需的营养, 是一种得天独厚的营养保健资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 待测样品

羊胎盘活细胞素由本室自行分离纯化。

### 1.2 试剂

硝酸、高氯酸(上海试剂一厂 AR 级), 邻-苯二甲醛(*o*-phthalaldehyde, OPA), 9-芴甲氧羰基(9-fluorenylmethyloxycarbonyl, Fmoc), 3-巯基丙醇(美国 Sigma 公司)。

### 1.3 仪器

美国 J-A Mark III 1100 真空型 63 通道电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP), 美国 HP 1050 型高压液相色谱仪(HPLC)。

### 1.4 微量元素组成分析

#### 1.4.1 样品制备

准确称取样品 0.010 72 g 置于 25 mL 小烧杯中, 加 1 mL HNO<sub>3</sub>, 滴 3 滴 HClO<sub>4</sub>, 待白烟赶尽至

收稿日期 2000-07-18

作者简介: 陆晖, 1966—, 女, 硕士, 扬州大学医学院讲师, 主要从事细胞周期方面的教学与研究。

通讯联系人: 张双全, 1952—, 南京师范大学生命科学学院教授, 主要从事分子免疫学方面的教学与研究。

万方数据

白色样品析出,用 2% HNO<sub>3</sub> 提取定容至 10 mL,送 ICP 检测.

1.4.2 ICP 工作条件

发生器输出功率为 1.1 kW,石英可折式灯具,固定正交型雾化器,氩气纯度为 99.99%,压强为  $1.57 \times 10^5$  Pa,冷却气 18 L/min,等离子气 0.6 L/min,载气 0.3 L/min,样品提升量 1.6 mL/min,观察高度 14.5 cm,积分时间 10 s,2 次曝光时间间隔 1 s,取平均值.

1.5 氨基酸组成分析

1.5.1 FMOC 柱前衍生

准确称取样品 0.5 mg,酸解,先用 OPA 衍生一级氨基酸,在室温下只需 30 s,继之用 FMOC 衍生二级氨基酸,室温大约 2 min.我们用 3-巯基异丙醇代替  $\beta$ -巯基乙醇,使异吲哚衍生物疏水性降低,使出峰时间在 14.5 min 之内,过量的 FMOC 及其分解产物的出峰时间在最后被洗脱出的二级氨基酸之后,不干扰分析结果.样品最终定容至 10 mL,离心后取样 10  $\mu$ L 上色谱柱.

1.5.2 色谱条件

色谱柱: C<sub>18</sub> 4.6  $\times$  200 mm 5  $\mu$ m 柱,流动相: A: 20 mmol/L 乙酸钠, 0.018% 三乙醇胺, 0.3% 四氢呋喃 (pH7.2), B: 100 mmol/L 乙酸钠:乙腈:甲醇 (1:2:2),梯度洗脱: 0 min 时 A 为 100%, 0 ~ 23 min B 由 0% 上升至 60%, 24 min 时 B 为 100%, 25 min 时 B 为 0%;流速: 1 mL/min;柱温: 40  $^{\circ}$ C;二极管阵列检测器检测一级氨基酸,检测  $\lambda$  228 nm,参比  $\lambda$  390 nm,检测二极氨基酸,检测  $\lambda$  262 nm,参比  $\lambda$  324 nm.

2 结果与讨论

2.1 元素分析

微量元素分析表明,羊胎盘活细胞素共含 14 种微量元素.除 Na 外,含量较高的微量元素有 K、Ca、P、Mg、Si 等,其中, Ca 含量最高,在每克羊胎盘活细胞素中的含量达 4 mg.目前,被认为动物必需的微量元素有 15 种: Fe、I、Cu、Mg、Mn、Zn、Co、Se、Mo、Cr、Sn、F、Li、V<sup>[3]</sup>,而羊胎盘活细胞素就占了 7 种.此外,羊胎盘活细胞素所含有的 Al、Ba、P、Si 等微量元素与动物的生命活动密切相关,是动物生理代谢所必需的微量元素<sup>[4]</sup>.特别需要指出的是,在羊胎盘活细胞素中不含有 Pb 等有害金属离子,这一点非常重要,为以后临床上的推广应用提供了有利的应用依据.元素分析测定中测得的 Na 含量偏高,这可能与生理盐水作溶剂,透析时未彻底除去有关.

2.2 氨基酸分析

根据图 1 和图 2 的结果,将待测样品与标准样品作比较,进行定量分析,计算出每克待测样品中各种游离氨基酸的含量及每种游离氨基酸占总氨基酸的质量份数.见表 2.

在羊胎盘活细胞素的水解产物中,共检出 16 种常见的氨基酸,其中 Glu 含量最高,约占氨基酸总量的 16.07%,16 种氨基酸中有 8 种人体必需氨基酸,分别为: Pro、Lys、Leu、Ile、Met、Val、His、Thr,约占氨基酸总量的 33.50%.因此,我们认为羊胎盘活细胞素中含有多种人体必需氨

表 1 每克羊胎盘活细胞素中微量元素的含量

检测元素	含量/mg	检测元素	含量/mg
Al	0.140	Mn	0.004
Ba	0.012	Mo	0.003
Ca	4.000	Na	32.000
Cu	0.038	P	1.200
Fe	0.038	Si	0.390
K	1.200	Sr	0.016
Mg	0.730	Zn	0.059

Be、Co、Cr、Li、Ni、Pb、Ti、V 未检出

\* 未检出表示样品稀释 900 倍之后,该元素含量低于本仪器检出限.

氨基酸,且含量较高,具有极好的营养价值.在氨基酸测定过程中,Trip在酸解时被破坏,Gln、Asn可能水解成Glu、Asp,Cys未被检测到.根据刘月新等人的报道<sup>[5]</sup>,人的胎盘因子的游离氨基酸中共含有17种氨基酸,其中Ala含量最高,占氨基酸总量的18.8%,必需氨基酸7种,约占氨基酸总量的35.7%.羊胎盘活细胞素的氨基酸成分及必需氨基酸含量与此相似.并且,羊胎盘与人的相比,来源更方便,更可靠(羊对肝炎具免疫性),成本更低,各种生物学功能更加全面完善,更值得在临床上大规模推广和应用,是一种免疫调节剂和保健美容产品.有关羊胎盘活细胞素的研究文献极少,我们初步从它的微量元素和氨基酸组成来论证其营养价值,为进一步开发和研制羊胎盘产品这一诱人的课题奠定了理论基础.

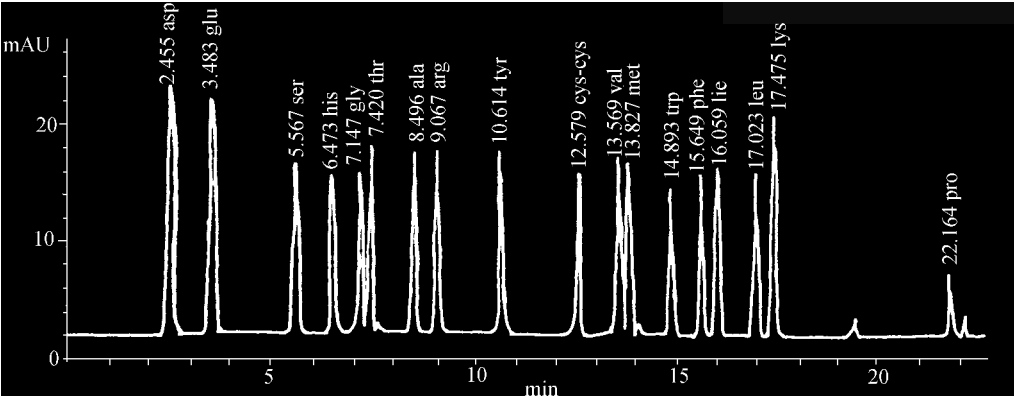


图1 标准氨基酸样品的洗脱峰线图(采用外标法)

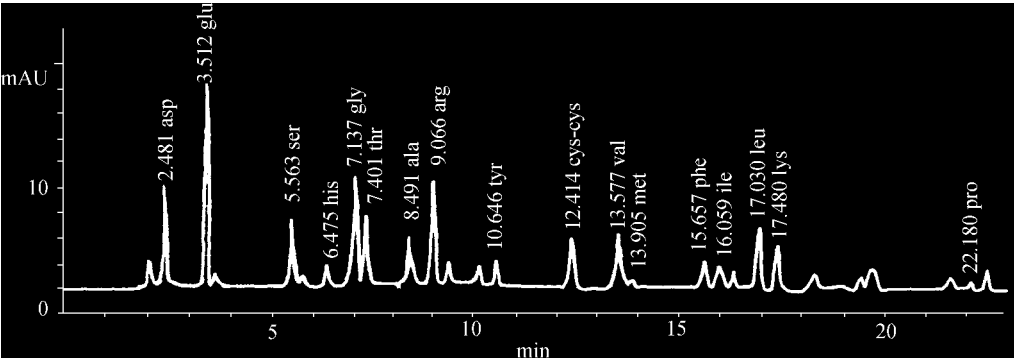


图2 羊胎盘活细胞素氨基酸样品的洗脱峰线图(采用外标法)

表2 每克羊胎盘活细胞素中游离氨基酸的含量

检测氨基酸	含量/mg	质量份数/%	检测氨基酸	含量/mg	质量份数/%
Asp	0.580	9.157	Tyr	0.024	3.757
Glu	0.102	16.072	Val	0.038	5.968
Ser	0.039	6.220	Met	0.005	0.726
His	0.023	3.600	Phe	0.030	4.736
Gly	0.051	7.989	Ile	0.018	2.905
Thr	0.050	7.925	Leu	0.044	6.883
Ala	0.023	4.010	Lys	0.028	4.357
Arg	0.089	13.988	Pro	0.011	1.705

[ 参考文献 ]

- [ 1 ] 陆晖,张双全,孙飙.胎盘活性因子对机体机能的影响与应用——兼谈胎盘活性因子在运动训练中的推广作用[J].南京体育学院学报,1999,13(3):51—52.
- [ 2 ] 李黎.胎盘活性因子基础研究及临床应用进展[J].医学研究通讯,1993,22(6):10—12.
- [ 3 ] 钱东生,姚姝恒.胎盘口服液药效学实验研究[J].南通医学院学报,1995,15(3):384—386.
- [ 4 ] Menu E,Holzman R S.Immunoactive production of human placenta[J].Immunol,1989,119—341.
- [ 5 ] 刘月新,王勋楚,段茂芳.一种新的免疫调节剂——胎盘因子的制备与研究[J].中国免疫学杂志,1985,1(5):51—53.

## Composition Analyses of Microelements and Amino Acids in Sheep Placenta Living Cell Extract

Lu Hui<sup>1</sup>, Yan Xiaomei<sup>2</sup>, Zhang Shuangquan<sup>2</sup>

(1. Medicine Shool of Yangzhou University, Yangzhou, 225001, PRC)

(2. Life Science School of Nanjing Normal University, Nanjing, 210097, PRC)

**Abstract** The composition of microelements and amino acids in Sheep Placenta Living Cell Extract was analyzed by ICP and HPLC. The study showed that it contains 14 kinds of minor elements which include 8 human necessary ones, and 16 kinds of amino acids, 7 of which are human necessary, occupying 33.50% of total amino acids. All of these indicated that the effective composition of Sheep Placenta Living Cell Extract is comprehensive and its concentration is high. Sheep Placenta Living Cell Extract has good nutritive value and is worth of exploiting.

**Key words** Sheep Placenta Living Cell Extract; microelement; amino acid

[ 责任编辑 孙德泉 ]