

青钱柳采后加工及提取方法对青钱柳总皂苷含量的影响

蒋向辉, 苑 静, 祝军委, 胡秀虹, 彭 义

(凯里学院 化学与材料工程学院, 贵州 凯里 556011)

摘 要:以青钱柳为试材,采用直接烘干、烫后烘干、边搓边烘、烫后边搓边烘4种方法,分别在不同温度下烘干后测定药材中总皂苷含量;以药材粉碎与否、料液比、提取时间、提取次数为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验方法进行不同提取方法对青钱柳总皂苷的含量的影响分析,研究采后加工及提取方法对青钱柳总皂苷含量的影响。结果表明:不同采后加工方法得到的青钱柳总皂苷含量为2.59%~6.52%,在100℃和80℃下边搓边烘处理的青钱柳药材总皂苷含量最高;料液比和粉碎程度是影响青钱柳总皂苷提取率的关键因素,当样品过40目筛后,样品与甲醇比为1:20时提取率最低(仅为33.48%)。该研究认为,80℃边搓边烘的青钱柳总皂苷传统加工工艺可加速药材的干燥,且保留了较多的皂苷成分,高强度粉碎和合适的料液比能有效提高青钱柳总皂苷的提取率。

关键词:青钱柳;总皂苷;采后加工;提取方法

中图分类号:S 792.159 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)23-0120-04

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja] 属胡桃科青钱柳属植物,又名甜茶树、青钱李、摇钱树等,广泛分布于湖南、贵州、湖北、四川、江西、江苏、浙江、安

徽、福建、台湾等地海拔420~2 500 m的山区、溪谷或石灰岩地,是我国特有的单属植物,是国家重点保护的濒危植物之一,其具有药用、用材和观赏等多种价值^[1-2]。近年来,对青钱柳的研究主要集中在繁殖和药用成分的研究与利用上。研究表明,青钱柳提取液具有降血压、降血脂、降血糖、增强机体免疫、抗衰老、抗疲劳、抗氧化、抗肿瘤等多种重要的生物活性和广泛的药理作用^[3-4]。迄今为止已从青钱柳中提取、分离并鉴定的生物活性物质已达50多种,其中包括黄酮类、酚酸类、三萜类、皂苷

第一作者简介:蒋向辉(1974-),男,博士,副教授,现主要从事药用植物成分等研究工作。E-mail:jxfei789@163.com.

基金项目:贵州省材料物理与化学特色重点学科建设基金资助项目(黔教高发[2011]208);贵州省特色重点实验室建设基金资助项目(黔财教[2012]225)。

收稿日期:2014-09-22

Effect of Different Storage Temperatures on Postharvest Physiology and Shelf Life of Jingbai Pear Fruit

QI Xiur-dong¹, WEI Jian-mei²

(1. Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao, Hebei 066004; 2. Environmental Management College of China, Qinhuangdao, Hebei 066004)

Abstract: Taking Jingbai pear as material, the physiological change of Jingbai pear fruit under different storage temperatures during fruit ripening were studied, in order to study the effects of storage temperatures on postharvest physiology and shelf life. The results showed that ripening processes were not completed at 0℃. The fruits could complete ripening at 6℃, shelf life of the fruits prolong for a month than the other treatments, but the fruit quality became poor. The fruits showed normal ripening process and had the special flavor quality at 12℃ and 20℃, the starting of ripening at 12℃ delay three days than at 20℃, the shelf life at 12℃ prolonged about six to nine days.

Keywords: storage temperature; Jingbai pear fruit; postharvest physiology; shelf life

等多种化合物,其中青钱柳皂苷是一类重要的生物活性物质,具有明显的降血糖、降血脂、抗氧化活性和抑癌作用^[5-6],开发前景广阔。有关中药材皂苷的提取方法与工艺已有多个报道^[7],但对青钱柳皂苷的提取分离方法的比较研究少有报道,特别是采后加工方面的研究尚鲜见报道。为了提高青钱柳药材的质量,最大程度的发挥其保健及临床的功效,现针对采后加工与提取方法对青钱柳总皂苷的影响进行了比较研究,旨在确定青钱柳皂苷最佳的采后加工方法和提取工艺,为青钱柳皂苷的开发利用提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物为青钱柳,于2013年9月采自湖南通道县木脚乡龙底青钱柳茶业生产合作社青钱柳种植基地。

UV-240 紫外分光光度计(日本岛津);KQ5200B 型数控超声波清洗器(上海沪粤明科学仪器广州分公司);SSW-420BS 型电热恒温水浴锅(上海博迅实验仪器有限公司);索氏提取器、RE-52AA 型旋转蒸发器(上海君拓生物科技有限公司);DKZ-2 电热恒温振荡水槽(上海百典仪器设备有限公司);EPPENDORF 5415D 型高速离心机(德国 EPPENDORF 公司);电子分析天平(梅特勒托利多仪器上海有限公司)。试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 采后加工试验 采集生长多年的青钱柳当年新叶,参照李聪等^[8]的方法,分别采用直接烘干、烫后烘干、边搓边烘、烫后边搓边烘等4种方式,将样品不同温度下烘干后备用。①直接烘干:将新鲜叶片分别在室温(25℃)晾干,60、80、100℃ 3个不同的温度下烘干;②烫后烘干:先将新鲜叶片在沸水中浸烫6 min,捞出后分别在60、80、100℃ 3个不同的温度下烘干;③边搓边烘:先将新鲜叶片分别放在60、80、100℃烘箱内烘软,然后取出用双手揉搓,再放回原烘箱内烘一段时间(时间长短根据温度及叶片干燥程度不同而不同),取出,用双手揉搓,如此反复3~5次,直至烘干;④烫后边搓边烘:先将新鲜叶片在沸水中浸烫6 min,然后分别放入60、80、100℃烘箱内烘软,反复搓烘(同方法③)。

1.2.2 不同提取方法比较试验 ①振荡提取法:精密称取青钱柳叶粉末3份,每份5.00 g,分别放入250 mL锥形瓶中,加入150 mL甲醇,放于恒温振荡水槽中振荡提取3次,每次50 min,温度为60℃,然后过滤,合并3次的提取液。②索氏提取法:精密称取青钱柳粉末叶3份,每份5.00 g,分别放于滤纸包中,于索氏提取器中加入150 mL甲醇,水浴加热至60℃,提取至溶液颜色变淡。③超声波提取法:精密称取青钱柳叶粉末3份,每份5.00 g,分别放入250 mL锥形瓶中,加入150 mL甲醇,在超声波提取器中超声提取3次,每次50 min,温度

为60℃。分别将采用以上方法的提取液在回收甲醇后再加蒸馏水溶解、过滤,将滤液转移至100 mL容量瓶中,加蒸馏水稀释至一定刻度、摇匀。准确吸取10 mL、用水饱和的正丁醇分3次萃取,萃取液用正丁醇饱和的水洗涤、减压回收正丁醇、残渣用甲醇溶解,并用25 mL容量瓶定溶,备用。

1.2.3 索氏提取条件试验 样品按传统青钱柳加工工艺(边搓边烘)加工,以不同粉碎强度(A)、提取物料比(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素(表1),进行 $L_9(3^4)$ 正交实验。总皂苷的提取参照祝琳等^[9]的方法,精密称取青钱柳叶干样品5.00 g,粉碎过不同目的筛子,分别置索氏提取器中用石油醚(60~90℃)脱脂至无色,待药渣石油醚挥发后,再置索氏提取器中用甲醇提取、提取液回收甲醇后加蒸馏水溶解、过滤并转移至100 mL容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度、摇匀。准确吸取10 mL、用水饱和的正丁醇分3次萃取,萃取液用正丁醇饱和的水洗涤、减压回收正丁醇、残渣用甲醇溶解并定溶于25 mL容量瓶中,备用。

表1 索氏提取效率试验因素水平

Table 1 The factor levels of dissolution rate by boiled method

水平 Level	因素 Factor			
	A	B	C	D
	粉碎处理 Smashing	物料比(青钱柳/甲醇) Material-liquid ratio /(g·mL ⁻¹)	提取时间 Extraction time/h	提取次数 Extraction times
1	过40目筛 Over 40 mesh	1:20	2	1
2	过60目筛 Over 60 mesh	1:30	4	2
3	过120目筛 Over 120 mesh	1:40	8	3

1.2.4 总皂苷含量测定 对照品溶液:精密称取青钱柳苷I对照品50 mg,用甲醇溶解,并定容至25 mL容量瓶中,并稀释成1 mL含0.5 mg的溶液,即得。条件的选择:精密吸取对照品溶液0.5 mL,以5%香草醛-冰醋酸溶液和高氯酸为显色剂,显色后,用可见紫外分光光度计在200~600 nm范围内测定吸收度,确定最大吸收峰波长。标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL,置容量瓶中,分别加入0.5 mL 5%香草醛-冰醋酸溶液,1.2 mL高氯酸,60℃水浴加热30 min,冷却再加冰醋酸至10 mL,同法制得空白溶液,置于最大吸收峰波长处测定吸光度,以样品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制成标准曲线,得出标准曲线的回归方程。

1.2.5 方法学考察 专属性与重复性:精密量取溶剂甲醇、对照品溶液和供试品溶液各1 mL,按“1.2.4”项下方法显色,在200~600 nm波长范围内进行扫描。检测溶剂甲醇对测定是否有干扰。精密称取药材粉末约2 g共6份,按“1.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“1.2.4”项下方法测定,考察相对标准偏差RSD。精密度:精密量取对照品溶液和供试品溶液各1 mL,按“1.2.4”项下

方法显色,分别放置 0、10、20、30、40、50 min 和 1、2、3、4、5 h,测定吸光度,计算含量,考察 RSD。回收试验:精密称取已知含量的青钱柳样品粉末 1.0 g 共 9 份,按高、中、低 3 个浓度水平分别加入对照品溶液 5、10、15 mL,再用甲醇补足到 60 mL,按“1.2.3”项下制备供试品溶液,再按“1.2.4”项下的方法进行测定,计算回收率。

1.3 项目测定

采用 2010 版《中国药典》附录 IX H 第一法进行水分测定,以扣除水分的净干物质重量计算青钱柳药材中总皂苷的含量。以提取率最高的总皂苷含量为基准,计算不同方法总皂苷的提取率。

1.4 数据分析

采用 SPSS 12.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同加工方法干燥效果比较

在 100℃下直接烘干需要 6 h,烫后烘干需要 4 h、边搓边烘需要 3 h,烫后边搓边烘需要 3 h,在 80℃下采用上述 4 种方法干燥所需时间依次为 36、30、26、22 h;在 60℃下所需时间分为 6、5、3、3 d;室温下放置 20 d 仍呈现青黑色,折干率为 82%,20 d 后放入 60℃烘箱干燥后进行测定。烫、搓处理可明显缩短干燥所需的时间。

2.2 采后加工对青钱柳总皂苷含量的影响

由表 2 可知,经 Duncan 多重比较可知,青钱柳经不同方法加工后,总皂苷含量差异有统计学意义。经边搓边烘 100℃和 80℃处理的青钱柳总皂苷含量最高,分别为 6.52% 和 6.45%;在 60℃下直接烘干的样品总皂苷含量最低,仅为 2.59%。同一温度下采用边搓边烘处理方法的青钱柳总皂苷含量明显高于其它 3 种加工方法;对在边搓边烘处理中不同温度的差异比较发现,经过 80℃和 100℃处理的青钱柳总皂苷含量无显著性差异,但比在 60℃下处理的样品总皂苷含量明显要高。

表 2 不同加工方法处理后青钱柳总皂苷含量

不同处理 Different treatment	100℃	80℃	60℃	25℃
直接烘干 Direct drying	4.85±0.37b	4.55±0.33b	2.59±0.46b	2.82±0.31
烫后烘干 Drying after drying	5.68±0.55b	5.76±0.32a	3.34±0.67b	
边搓边烘 Twist while drying	6.52±0.41a	6.45±0.35a	4.21±0.44a	
烫后边搓边烘 Twist while drying after scald	5.70±0.23ab	5.98±0.54b	4.54±0.61a	

注:同列不同小写字母表示 5%显著性差异,下同;室温放置 20 d 后放入 60℃烘箱直接烘干,无另 3 种加工处理。

Note: Values followed by different lowercase letters show significant difference at 5% level, the same below; 60℃ direct drying after 20 days under 25℃, without the other processing.

2.3 不同提取方法的比较

从表 3 可以看出,在 3 种提取方法中,采用振荡提取法的总皂苷含量最低,平均为 3.76%,采用索氏提取法和超声波提取法的总皂苷平均含量较高,分别为 6.25%和 6.12%,并且这 2 种方法之间差异不显著,而这 2 种提取方法与振荡提取法之间差异显著。因索氏提取中样品总皂苷的平均含量比超声波提取法稍高,因此选择索氏提取法进行进一步的条件优化。

表 3 不同提取方法中总皂苷含量的比较

Table 3 Comparison of total saponin content by different extraction methods

提取方法 Extraction method	提取次数 Extraction times	总皂苷含量 Content of total saponins/%
振荡提取法 Oscillation extraction	3	3.76b
索氏提取法 Soxhlet extraction	3	6.25a
超声波提取法 Ultrasonic extraction	3	6.12a

2.4 索氏提取条件对青钱柳总皂苷的影响

从表 4 可知,4 个因素对于青钱柳总皂苷提取率均有显著影响,由极差分析推测最佳提取条件是 A3B2C1D3,即粉碎后过 120 目筛,青钱柳与甲醇加量比为 1:30,每次提取 2 h,提取 3 次。根据极差值大小可知,物料比对青钱柳总皂苷提取率的影响最为明显,青钱柳与甲醇比为 1:30 的青钱柳总皂苷提取率明显高于 1:20,其次是粉碎程度,经粉碎后过 120 目筛的青钱柳总皂苷提取率明显高于 40 目筛,但粉碎后的青钱柳总皂苷在过 40 目筛后,在青钱柳与甲醇比为 1:20 的情况下,提取 2 h,提取 1 次,提取率最低,仅为 33.48%。该研究结果显示,提取时间、提取次数对提取率的影响相对较小。

表 4 青钱柳总皂苷索氏提取正交实验结果

Table 4 The orthogonal test results of

Cyclocarya paliurus total saponin optimum by Soxhlet extraction

编号 No.	A	B	C	D	总皂苷 Total saponins/%	提取率 Extraction rate/%
1	1	1	1	1	2.25	33.48
2	1	2	2	2	4.91	73.07
3	1	3	3	3	3.28	48.81
4	2	1	2	3	2.47	36.76
5	2	2	3	1	5.56	82.74
6	2	3	1	2	4.26	63.39
7	3	1	3	2	5.39	80.21
8	3	2	1	3	6.72	100
9	3	3	2	1	4.72	70.23
K ₁	3.48	3.37	4.41	4.18		
K ₂	4.80	5.73	4.03	4.85		
K ₃	5.61	4.09	4.74	4.16		
R	2.13	2.36	0.71	0.69		

注:K₁、K₂、K₃ 分别表示总皂苷平均含量在各因素不同水平下的均值,R 为极差。

Note: K₁, K₂, K₃ average content of total saponins in various factors under different levels of average respectively, R for range.

3 结论与讨论

现代药理学试验与临床检验证明,中药材的适时采

收、合理干燥,以及科学加工,都是保证和提高药材质量的重要途径。孙同兴等^[10]研究发现,青钱柳叶表皮细胞外壁的角质层较厚,叶表皮还有许多小乳突、腺毛、盾状鳞片和腺毛表皮毛,可阻止植物体内的水分外逸。研究表明开水浸烫和搓揉的方法可破坏青钱柳表面角质层,加快干燥速度,有助于总皂苷成分保留。边搓边烘的方法比烫后边搓边烘得到的总皂苷含量高,综合考虑生产能耗,80℃边搓边烘为青钱柳最佳处理方法,该研究结果也验证了传统青钱柳加工的科学性。

该研究对采用边搓边烘方法干燥的样品,以粉碎程度、提取时间、提取次数和物料比等为因素进行正交实验,结果表明,粉碎程度、提取时间、提取次数和物料比对提取结果均有显著性影响,极差分析结果表明物料比和粉碎程度是影响总皂苷提取率的关键因素,通过高强度粉碎能使青钱柳叶细胞破坏更充分,大大提高了青钱柳总皂苷快速溶出速率,因此,建议在临床及保健中食用青钱柳时应在粉碎后再水煮效果较好。

该研究样品采自9月份,其总皂苷含量达干重的6.72%,而赵虎^[11]对南京林业大学校园内栽培的青钱柳叶片分不同季节进行总皂苷含量变化研究,发现青钱柳总皂苷含量在4月至9月表现为“低-高-低-高的变化趋势,在5月底和9月底2次达到峰值,分别为2.19%和2.45%,其研究结果与该研究结果有一定的差异,这可能与样品来源及采后加工处理有一定的关系,其样品来自栽培植株,而该次样品来自从野外引种仅1年的植株;

另外,其样品采后是直接置于60℃烘箱内干燥至恒重,而该研究样品是按传统的边搓边烘加工工艺进行处理,这可能是导致2个研究结果有一定差异的原因,还有待今后进一步研究确证。

参考文献

- [1] 方升佐,杨万霞. 青钱柳的开发利用与资源培育[J]. 林业科技开发, 2003,17(1):49-51.
- [2] 夏小华,邱先华,梁永华,等. 神茶原料青钱柳扦插繁殖试验初报[J]. 蚕桑茶叶通讯,1994(2):12-14.
- [3] 王克全,曹莹. 青钱柳化学成分及药理作用的研究进展[J]. 黑龙江医学,2007,32(8):577-578.
- [4] 韩澄,聂少平,黄丹非,等. 青钱柳总皂苷对人胃癌 MGC 803 细胞生长的影响[J]. 天然产物研究与开发,2009(21):952-955.
- [5] 黄明圈,上官新晨,徐明生,等. 青钱柳总皂苷降血脂作用的研究[J]. 江西农业大学学报,2011,33(1):157-161.
- [6] 葛霞,陈婷婷,蔡教英,等. 青钱柳总皂苷抗氧化活性的研究[J]. 中国食品学报,2011,11(5):59-64.
- [7] 郭晓宇,陈建平,汤化琪,等. 中药材皂背提取方法与工艺研究[J]. 内蒙古医科大学学报,2013,35(S1):116-119.
- [8] 李聪,宁丽丹,斯金平,等. 铁皮石斛采后加工及提取方法对多糖的影响[J]. 中国中药,2013,38(4):524-527.
- [9] 祝琳,王雪彦,晁若冰. 比色法测定黄芪中总皂苷的含量[J]. 药物分析志,2009,29(7):1155-1158.
- [10] 孙同兴,徐丽丽. 青钱柳叶的结构鉴定[J]. 中草药,2006,37(2):271-273.
- [11] 赵虎. 青钱柳总皂苷及三萜皂苷元动态变化规律研究[D]. 南京:南京林业大学,2011.

Effect of Post-Harvest Processing and Extraction Methods on Total Saponin Content of *Cyclocarya paliurus*

JIANG Xiang-hui, YUAN Jing, ZHU Jun-wei, HU Xiu-hong, PENG Yi

(College of Chemistry and Materials Engineering, Kaili University, Kaili, Guizhou 556011)

Abstract: Taking *Cyclocarya paliurus* as material, 4 post-harvest processing methods (direct dry, drying after scalding by boiling water, drying while twisting, and drying while twisting after scalding by boiling water) were used to determine the content of total saponin. An orthogonal test $L_9(3^4)$ with crushed degrees, solid-liquid ratio, extraction time and extraction times as factors were designed to analyze the extraction ratio of total saponin in *Cyclocarya paliurus*, and to reveal the content variation of total saponin in *Cyclocarya paliurus* by post-harvest processing and extraction methods. The results showed that the content of total saponin was ranged from 2.59% to 6.52% in different samples processed by different processing methods, the total saponin was the highest in *Cyclocarya paliurus* by drying while twisting at 80℃ and 100℃. Solid-liquid ratio and crushed degrees were the key factor in influencing factors of the extraction yield, after 40 mesh passing sieve and solid-liquid ratio of 1:20, the total saponin was the lowest, the extraction ratio was only 33.48%. Drying while twisting at 80℃ was the best post-harvest processing method, which could help to dry the fresh herbs and improve the accumulation of total saponin, it could effectively increase extracting rate of total saponin content of *Cyclocarya paliurus* under high crushing and appropriate solid-liquid ratio.

Keywords: *Cyclocarya paliurus*; total saponin; post-harvest processing; extraction method