

微波辅助法提取景天三七中齐墩果酸的工艺研究

杨艳俊, 王 一 洋

(吉林化工学院 化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022)

摘 要:以景天三七为试材,以齐墩果酸含量为指标,运用微波辅助法进行正交实验,研究微波辅助法提取景天三七中齐墩果酸的最佳工艺条件。结果表明:微波辅助法提取的最佳工艺条件为乙醇浓度 70%,微波温度 70℃,微波时间 5 min,料液比 1:20 g/mL,齐墩果酸的提取率最高,为 1.663%。该试验结果表明,齐墩果酸正交提取工艺的研究结果可靠,结果稳定,可用于景天三七中齐墩果酸的提取。

关键词:景天三七;齐墩果酸;微波辅助萃取法;正交实验;提取工艺

中图分类号:S 567.23⁺6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0152-04

景天三七(*Sedum aizoon* L.)属景天科景天属植物,又名养心草、费菜、土三七等,在我国东北、华北、华南、东南等地均有分布。景天三七最早记载于《救荒本草》,因其为景天科植物,功效类同三七,故而得名^[1]。景天三七具有养血安神、散瘀止血、解毒消肿等功效^[2],可用于治疗吐血、衄血、咯血、便血、尿血、崩漏、紫癜、外伤出血、跌打损伤等病症。药理研究表明,景天三七通过提高血小板数量和聚集能力,能够达到临床止血作用^[3],景天三七片与其它止血药物配合使用,治疗消化道溃疡出血,可以缩短出血完全停止时间,提高治疗的有效率,而且对于血小板数量的提高也有帮助^[4]。景天三七还具有平肝养心的功效,尤其对心脏病有特效,被称为“心脏病患者的救星”^[5]。景天三七有较好的体外抗氧化活性^[6]及景天三七醇提物有体外抗菌作用^[7-8]。近代研究还表明,景天三七的化学成分较多。李卫林等^[9]从景天三七提取物中分离得到β-谷甾醇、二十六烷酸、没食子酸、槲皮素、胡萝卜苷等多种化合物。张晶晶等^[10]对景天三七茎叶的化学成分进行研究,分离出山奈酚、槲皮素、杨梅素、木犀草素、对羟基苯酚、没食子酸、没食子酸甲酯、谷甾醇。景天三七还含有生物碱、齐墩果酸、熊果酸和熊果苷^[11]。其中齐墩果酸为五环三萜类化合物,具多种生物活性,有护肝降酶、降脂降糖、抗突变、抗癌及增强免疫等作用^[12]。由于齐墩果酸结构复杂,很难人工合成,多从天然产物中提取制得。景天三七在我国资源丰富,具有很大的开发和利用价值,值得加强资源开发和综合利用。该试验对景天三七中齐墩果酸提取工艺进行优化,以期对景天三七的综合利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

景天三七生药为市售;齐墩果酸(≥98%,西安开来生物工程有限公司),冰乙酸、无水乙醇、乙酸乙酯、高氯酸、香草醛均为分析纯。

紫外可见分光光度计(T6 新世纪,上海精密科学仪器有限公司),旋转蒸发仪(RE-52A,上海亚荣生化仪器厂),电热恒温鼓风干燥箱(DNG-9076A,上海精宏实验设备有限公司),常压微波辅助合成/萃取反应仪(MAS-II,上海新仪器微波化学科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 单因素试验 料液比对景天三七中齐墩果酸提取率的影响:称取 5 份 2.0 g 景天三七粉末,料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL,乙醇体积分数为 70%、微波功率 300 W、微波温度 60℃、微波作用时间 3 min,取 0.3 mL 上层清液测定其中齐墩果酸的含量。提取完成后减压抽滤,取滤液用提取溶剂定容 100 mL。取出 0.3 mL 提取液于 10 mL 具塞试管中。于 80℃水浴中挥去溶剂,加入 0.20 mL 5%香草醛-冰乙酸溶液,再精确加入高氯酸 0.8 mL,摇匀。置于 60℃水浴条件下加热 15 min,取出后立即用流水冷却 2 min,再加入乙酸乙酯 4 mL,摇匀,静置,测吸光度,计算提取率。乙醇浓度对景天三七中齐墩果酸提取的影响:称取 5 份 2.0 g 景天三七粉末,乙醇浓度分别为 50%、60%、70%、80%、90%。微波温度为 60℃,微波作用时间为 3 min,微波功率为 300 W,料液比为 1:20 g/mL,取 0.3 mL 提取液测定其中齐墩果酸的含量。微波温度对景天三七中齐墩果酸提取的影响:称取 5 份 2.0 g 景天三七生药粉末,微波提取温度分别为 50、60、70、80、90℃。乙醇浓度为 70%,微波时间为 3 min,微波功率为 300 W。料液

第一作者简介:杨艳俊(1974-),女,硕士,助教,现主要从事天然产物有效成分的提取和精制等工作。E-mail:532101728@qq.com.

收稿日期:2013-12-10

比为 1:20 g/mL, 取 0.3 mL 提取液测定其中齐墩果酸的含量。微波时间对景天三七中齐墩果酸提取的影响: 称取 5 份 2.0 g 景天三七生药粉末, 微波时间分别为 1、3、5、7、9 min。乙醇浓度为 70%, 微波温度为 70℃, 微波功率为 300 W, 料液比为 1:20 g/mL, 取 0.3 mL 提取液测定齐墩果酸的含量。

1.2.2 正交实验 在单因素试验的基础上, 为综合考察微波提取法的工艺参数, 选择料液比、乙醇浓度、微波温度、微波时间作为考察因素, 以测得的景天三七中齐墩果酸提取率作为考察指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交实验, 因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

水平	因素			
	A 乙醇浓度/%	B 料液比/g·mL ⁻¹	C 微波温度/℃	D 微波时间/min
1	60	1:10	60	3
2	70	1:20	70	5
3	80	1:30	80	7

1.2.3 景天三七中齐墩果酸含量测定方法 最大波长的确定: 精密称取齐墩果酸标准品 10 mg, 以无水乙醇为溶剂, 定容于 50 mL 容量瓶中, 即得 0.2 mg/mL 的齐墩果酸标准溶液。吸取齐墩果酸标准溶液 0.5 mL 置于具塞试管中, 加热蒸发溶剂后, 加 5% 香草醛-冰醋酸 0.2 mL, 高氯酸 0.8 mL。然后在 60℃ 水浴中加热 15 min, 取出并用冰水冷却 2 min。再加乙酸乙酯 4 mL^[13-14], 摇匀, 以未加对照品的空白试剂作参比, 于波长 400~600 nm 处测定吸收谱, 得最大吸收波长为 560 nm。标准曲线绘制: 分别称取齐墩果酸溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 分别置于具塞试管中, 编号 1、2、3、4、5、6。加热蒸发溶剂后, 加 5% 香草醛-冰醋酸 0.2 mL, 高氯酸 0.8 mL。然后在 60℃ 水浴中加热 15 min, 取出并用冰水冷却 2 min。再加乙酸乙酯 4 mL, 摇匀, 以未加对照品的试剂空白作参比。在波长 560 nm 处测定吸光度。以齐墩果酸溶液浓度作为横坐标, 吸光度值作为纵坐标, 可得线性回归方程: $y=0.0340x+0.0083$, $R^2=0.9995$ 。该试验结果表明, 齐墩果酸在 4~24 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好的线性关系。

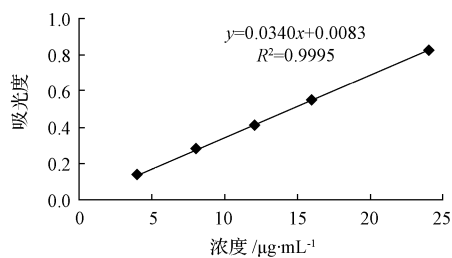


图 1 齐墩果酸标准曲线

1.2.4 验证试验 重现性试验: 取供试品溶液 5 份, 试验方法同 1.2.3, 于 560 nm 波长处测定吸光度, 结果

RSD 为 1.02%, 符合试验要求。稳定性试验: 将同一待测供试品溶液, 试验方法同 1.2.3, 分别于 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 进行测定, 结果 RSD 为 0.85%, 表明供试品溶液中总黄酮在测定 4.0 h 内可保持稳定。精密度试验: 将同一待测供试品溶液, 试验方法同 1.2.3, 于 560 nm 波长处测溶液吸光度 5 次, 结果 RSD 为 0.00%, 符合试验要求。加样回收率试验: 采用加样回收法, 精密称取已知含量的样品 5 份, 分别加入精密称定的对照品适量, 试验方法同 1.2.3, 测定吸光度并计算回收率, 结果平均回收率为 102.26%, RSD 为 1.47%, 符合试验要求。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

由图 2 可知, 齐墩果酸含量随着料液比的增大呈先增大后减少趋势, 主要原因是溶液体积增大时, 齐墩果酸溶解的更多。溶剂含量过大则对微波能的吸收增加, 导致细胞液对微波能吸收减少, 细胞壁的破裂不完全, 齐墩果酸不能从细胞中充分溶出, 从而使其含量出现下降趋势。在料液比为 1:20 g/mL 时, 齐墩果酸提取率达到最大值 1.078%, 提取齐墩果酸的最佳料液比为 1:20 g/mL。

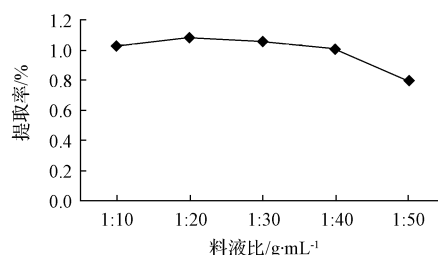


图 2 料液比对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

2.1.2 乙醇浓度对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

由图 3 可知, 乙醇浓度对齐墩果酸提取效果影响较大。随着乙醇浓度的升高, 齐墩果酸得率逐渐增加, 当乙醇浓度为 70% 时, 其提取率达到最大值 1.080%, 再进一步提高乙醇浓度时, 齐墩果酸的提取率开始降低。其原因是乙醇极性随乙醇浓度的增大而增大, 乙醇对细胞的破坏作用比水强, 微波作用下表现更明显。当溶液的

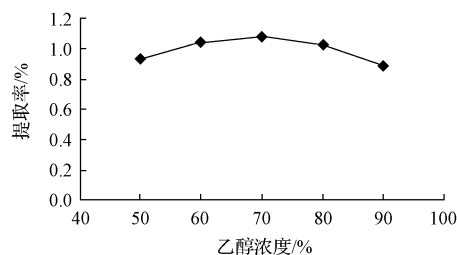


图 3 乙醇浓度对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

浓度太小,可能会溶出药品中一些亲水性物质,而溶液浓度太大,会使一些如色素、脂肪等亲醇性物质提取出,从而影响齐墩果酸得率。并且由于容器并非密闭,在微波作用时,乙醇浓度高容易挥发,反而使含量降低。乙醇浓度为 70% 时,齐墩果酸提取率最高。

2.1.3 微波温度对景天三七中齐墩果酸提取率的影响 由图 4 可知,当微波温度为 70℃ 时,齐墩果酸提取率达到最大,表明此时齐墩果酸已基本溶出。随着微波温度的升高,提取率先增加后减小。这是因为微波温度过高,乙醇不断蒸发,齐墩果酸溶解性变差,导致齐墩果酸的提取率降低。所以微波温度为 70℃ 时,齐墩果酸提取率最高。

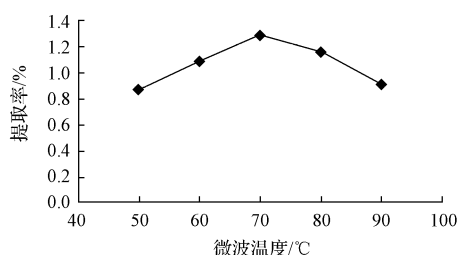


图 4 微波温度对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

2.1.4 微波时间对景天三七中齐墩果酸提取率的影响 由图 5 可知,在微波时间 5 min 时,提取率达到最大。微波时间过长会造成溶出物过多,也可能使齐墩果酸结构破坏或齐墩果酸与溶出物作用,影响齐墩果酸的提取率。

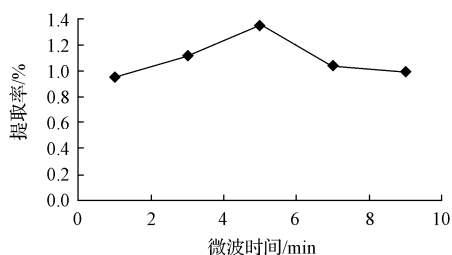


图 5 微波时间对景天三七中齐墩果酸提取率的影响

2.2 正交实验结果

正交实验结果表明,影响景天三七齐墩果酸提取率的因素依次为乙醇浓度>料液比>微波时间>微波温度,据此得出景天三七齐墩果酸的最佳提取条件为 $A_1B_2C_3D_2$,即乙醇浓度 60%、料液比为 1:20 g/mL、微波温度 80℃、微波时间 5 min。在此工艺条件下,景天三七齐墩果酸的提取率为 1.663%。

2.3 验证试验

采用紫外可见分光光度法进行定量分析,经过验证试验发现乙醇浓度为 60%,料液比为 1:20 g/mL、微波温度为 80℃,微波时间为 5 min 时,齐墩果酸的提取率达到 1.663%。

表 2 正交实验结果

序号	A 乙醇浓度 /%	B 料液比 /g·mL ⁻¹	C 微波温度 /℃	D 微波时间 /min	提取率 /%
1	1(60)	1(1:10)	1(60)	1(3)	1.230
2	1	2(1:20)	2(70)	2(5)	1.623
3	1	3(1:30)	3(80)	3(7)	1.259
4	2(70)	1	2	3	1.095
5	2	2	3	1	1.453
6	2	3	1	2	1.235
7	3(80)	1	3	2	0.977
8	3	2	1	3	0.891
9	3	3	2	1	0.879
K1	4.121	3.322	3.356	3.562	
K2	3.783	3.976	3.606	3.864	
K3	2.767	3.373	3.709	3.245	
R	1.354	0.654	0.353	0.619	
最优水平	A_1	B_2	C_3	D_2	

3 结论

选择影响景天三七中齐墩果酸提取的主要因素为料液比、乙醇浓度、微波温度、微波时间进行研究。通过单因素试验和正交实验可知,4 个因素对提取效果影响从大到小依次为乙醇浓度>料液比>微波时间>微波温度。最优条件的组合为 $A_1B_2C_3D_2$,即乙醇浓度为 60%,料液比为 1:20 g/mL、微波温度为 80℃,微波时间为 5 min。在此工艺条件下,景天三七齐墩果酸的提取率最高,为 1.663%。

参考文献

- [1] 李丹,罗方军,雷国莲. 三七与景天三七化学成分的对比较实验研究[J]. 陕西中医学院学报,2007,30(1):49-51.
- [2] 车苏容,郭素华,竺叶青. 景天三七的药学研究进展[J]. 福建中医药,2004,35(3):51-53.
- [3] 刘克芹,尹卫东,郑文芝,等. 景天三七对阿司匹林大鼠血小板及凝血功能影响的实验研究[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(6):407-410.
- [4] 徐莉清. 景天三七片治疗消化道溃疡出血的临床评价[J]. 海南医学,2012,23(1):32-33.
- [5] 郭素华,黄建福,郑连梅,等. 养心草及其制剂的研究[J]. 福建中医学院学报,2001,11(4):35-38.
- [6] 李园园,王俊霞,曹乃峰,等. 河南产景天三七抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(2):337-340.
- [7] 张彦霞,乔海霞,单永强,等. 景天三七醇提物体外抗菌作用的研究[J]. 河北北方学院学报(自然科学版),2011,27(5):78-80.
- [8] 张彦霞,续雪红,乔海霞,等. 景天三七对多重耐药铜绿假单胞菌的抑菌作用[J]. 河北北方学院学报(自然科学版),2012,28(4):76-78.
- [9] 李卫林,荆云,罗秋燕,等. 景天三七的化学成分研究[J]. 新乡医学院学报,2008,25(6):558-561.
- [10] 张晶晶,王晶,薛娇,等. 费菜茎叶的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2010,27(8):635-638.
- [11] 刘晔峰,马峥嵘,吴晓琴. 养心草的有效成分及功能性化合物研究进展[J]. 中华中医药杂志,2012,27(8):2135-2138.
- [12] 王奇,芦柏霞. 齐墩果酸的研究进展[J]. 中国药房,2008(9):711-712.
- [13] 马雄,陶亮亮,刘柯彤. 超声波辅助提取石榴皮中齐墩果酸的工艺研究[J]. 化工科技市场,2010,33(9):19-22.
- [14] 唐前,罗燕英,黄连冬,等. 金花茶组植物化学成分的定量分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):769-771.

不同基肥处理对温室番茄产量与品质的影响

陆 兵, 吴 雯 雯

(南通农业职业技术学院 生物工程系, 江苏 南通 226007)

摘 要:以“佳粉 18 号”番茄为试材,研究了不同基肥施入水平与施入深度对大棚番茄产量、干物质积累量以及不同生育时期番茄果实品质的影响。结果表明:番茄产量随着基肥施入总量的增加而增加,但基肥施入总量较高时果实品质较差,其中表层与底层土壤均施入 N 1 200 kg/hm²、K 600 kg/hm²、P 600 kg/hm² 的基肥水平下番茄产量最高,但果实品质最差;在基肥总量相同的情况下,表层与底层均施肥处理的番茄产量、品质与根系活力要高于仅表层的基肥处理,其中产量与生物量积累分别提高了 14.13%与 13.53%。试验结果表明,分别在表层与底层土壤施入 N 600 kg/hm²、K 300 kg/hm²、P 300 kg/hm² 的基肥水平更有利于在维持较高的番茄产量水平下提高番茄果实的品质。

关键词:基肥;产量;品质;根系活力;温室番茄

中图分类号:S 641.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0155-04

随着生活水平的提高,消费者对蔬菜品质的要求越来越高,而菜农则更注重蔬菜的产量。为了保证蔬菜的周年供应,城郊蔬菜种植一般以设施大棚为主,相比于传统的露地种植,其水分、养分与环境更加可控,如何在提高蔬菜产量的同时提高蔬菜品质已成为大棚蔬菜种植者最关注的问题^[1-2]。番茄目前已成为栽培面积最大的设施果菜种类之一,在传统的设施番茄栽培中,种植者为了获得更高的蔬菜产量与效益,在管理上,往往采用大水大肥的方式,但高强度的种植与施肥,常导致土

壤、水环境质量持续下降,这不仅大幅度地降低了蔬菜的品质,而且抑制了蔬菜种植的可持续发展^[3-4]。因此如何通过合理灌溉施肥来保证番茄产量的同时提高番茄的品质已成为种植者主要考虑的问题之一。目前很多学者在大棚番茄施肥种类与水平上进行了诸多研究,合理的 NPK 肥以及有机肥配比能显著促进番茄的生长以及提高其产量与品质^[5-6]。但是,目前关于基肥施肥水平与施入深度对番茄产量与品质的影响的研究较少^[7]。而大棚土壤长期种植蔬菜,基肥施肥不仅影响当茬蔬菜生产,而且对后茬蔬菜种植也有较大的影响^[8]。因此,该试验以大棚番茄为研究对象,研究了不同基肥施肥深度以及施肥量对番茄产量、品质、生物量的积累以及根系活力的影响,以期为大棚番茄合理基肥调控提供理论依据。

第一作者简介:陆兵(1975-),男,硕士,讲师,现主要从事园艺植物栽培技术等研究工作。E-mail:Lubing276@163.com

基金项目:江苏省南通市“植物有害生物监测与综合治理实验室”科技平台建设计划资助项目(CP12011002)。

收稿日期:2014-01-16

Study on Extraction Technology of Oleanolic Acid From *Sedum aizoon* L.

YANG Yan-jun, WANG Yi-yang

(College of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin, Jilin 132022)

Abstract: Taking *Sedum aizoon* L. as material, with oleanolic acid content as index, microwave-assisted method by the orthogonal design was used, the optimum extraction technology of oleanolic acid from *Sedum aizoon* L. were studied. The results showed that the optimum technological conditions of microwave-assisted extraction method were: 70% ethanol concentration, 70°C microwave temperature, microwave 5 min, 1:20 g/mL material-solution ratio the extraction rate of oleanolic acid was 1.663%. The procedure is reliable, and the results are in line. The technology can be used for extraction of oleanolic acid from *Sedum aizoon* L.

Key words: *Sedum aizoon* L.; oleanolic acid; microwave-assisted method; orthogonal experiment; extraction technology