

不同部位长白楸木皂苷物质含量及其工艺研究

武晓林¹, 陈建强¹, 李敏¹, 刘哲², 于毅扉³

(1. 吉林农业科技学院 中药学院 吉林 吉林 132101; 2. 吉林医药学院, 吉林 吉林 132101; 3. 长白山职业技术学院, 吉林 白山 134300)

摘要:以长白楸木为试材,采用超声提取长白楸木的根、茎、叶、芽中皂苷类物质,利用紫外-可见分光光度计测定皂苷类物质的含量,通过单因素试验和正交实验考察了提取时间、料液比、乙醇浓度对皂苷类物质提取率的影响,确定了最佳提取条件。结果表明:料液比对皂苷类物质的提取有显著性影响;料液比为 1:20 g/mL、乙醇浓度 65%、提取时间 20 min,为长白楸木中皂苷类成分超声提取的最佳条件,此条件下测得长白楸木中皂苷类物质含量最高的为根,含量为 16 461.3465 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词:长白楸木;皂苷;超声提取;紫外分光光度法;最佳工艺

中图分类号:Q 945 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)11-0150-04

长白楸木(*Aralia continentalis* Kitag.)为五加科植物长白楸木的根及根茎。楸木属(*Aralia* L.)植物皂苷具有抗氧化、强壮、降血糖、降血脂、抗癌等活性^[1-4],是很重要的活性成分。研究人员对该属植物皂苷活性单体的结构研究较多^[5-6],但关于其不同部位皂苷含量研究报道较少,制约了其在药品方面的深加工利用。该试验以长白楸木根、茎、叶、芽为原料采用超声提取方法,研究提取过程中提取液浓度、料液比、提取时间对提取量的影响,优化皂苷提取工艺及最佳提取部位。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜长白楸木植株于 2013 年采集自吉林市左家山区。

齐墩果酸标准品(上海金穗生物技术有限公司,纯度 $\geq 98\%$),香草醛、甲醇、无水乙醇、浓硫酸均为分析纯。

电热鼓风干燥箱(上海源长实验仪器设备厂, DHG-9035A);恒温水浴锅(北京东方精锐科技发展有限公司 HW·SY2-p8);玻璃仪器气流烘干(上海豫康科技仪器有限公司);电子天平(梅特勒, AL204);紫外可见分光光度计(UV-1700);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, KQ-700V);粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂, FW-100)。

1.2 试验方法

1.2.1 长白楸木植株的处理 取 1 株新鲜的长白楸木植株,洗净后将其根、茎、叶、芽分批收集随后放入烘箱以 70℃烘干 6 h,烘干后取出分别粉碎并过 80 目筛,装袋备用。

1.2.2 长白楸木提取方法 精密称取 2.00 g 长白楸木根、茎、叶、芽粉末,放于磨口锥形瓶中,加入配置好的乙醇溶液,置于超声仪中超声提取。提取后将锥形瓶取出,放置冷却至室温后过滤,将滤液用同一量筒测量并记录体积后备用。

1.2.3 提取液处理 取 2.5 mL 提取液加乙醇稀释至 50 mL,再取该稀释液 1 mL 至小烧杯中,挥干,加入 8%香草醛乙醇溶液 0.5 mL,72%硫酸溶液 5 mL 摇匀后恒温水浴中于 60℃加热 10 min,取出试管,置冰水浴中冷却 15 min,于 540 nm 波长处测吸光度值,随行试剂空白。

1.2.4 对照品溶液的制备及标准曲线 精密称取齐墩果酸 4.05 mg 与 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度摇匀。精取该溶液 20、40、60、80、100、120 μL ,分别置于试管中,挥干溶剂,加入 8%香草醛乙醇溶液 0.5 mL,

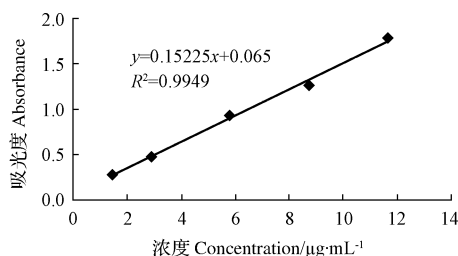


图 1 齐墩果酸标准曲线

Fig. 1 Oleanolic acid standard curve

第一作者简介:武晓林(1984-),女,吉林白山人,硕士,助教,现主要从事中药鉴定学与中药栽培等研究工作。E-mail: wuxiaolin2003@163.com.

基金项目:吉林农业科技学院校内青年基金资助项目(2012133)。

收稿日期:2014-01-24

72%硫酸溶液 5 mL。摇匀后置恒温水浴中于 60℃加热 10 min,取出试管,置冰水浴中冷却 15 min,分别于波长 540 nm 处测吸光度值,随行试剂空白^[8]。以吸光度与溶质质量进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.15225X + 0.065$, $R^2 = 0.9949$ 。

1.2.5 皂苷含量的测定 按照文献[7]的方法进行测定。

1.2.6 单因素试验 料液比对长白楸木皂苷物质提取的影响:在乙醇浓度为 75%,提取时间 10 min 的条件下,进行不同料液比的单因素试验。提取时间对长白楸木皂苷物质提取的影响:在乙醇浓度为 75%,料液比 1:20 g/mL 的条件下,进行不同提取时间的单因素试验。乙醇浓度对长白楸木皂苷物质提取的影响:在温度为料液比 1:20 g/mL,提取时间为 10 min 的条件下,进行不同乙醇浓度的单因素试验。

1.2.7 正交实验 在单因素试验基础上,设计正交实验,考察料液比、乙醇浓度和提取时间对长白楸木皂苷提取的影响正交实验因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experimental

水平 Level	因素 Factor		
	A 料液比 ratio/g · mL ⁻¹	B 时间 Time/min	C 乙醇浓度 Ethanol concentration/%
1	1:15	10	60
2	1:20	15	65
3	1:25	20	70

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对长白楸木皂苷物质提取的影响 由图 2 可以看出,随着料液比的增加,长白楸木皂苷的提取率逐渐增加,当料液比为 1:25 g/mL 时,提取率达到最大,当料液比为 1:25~1:30 g/mL 时趋势变化较平缓,料液比 1:25 g/mL 为其拐点,故选择料液比 1:20、1:25、1:30 g/mL 进行正交实验。

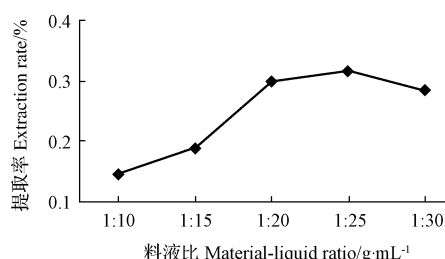


图 2 料液比对提取率的影响

Fig. 2 Effect of ratio of material to liquid on extraction rate

2.1.2 提取时间对长白楸木皂苷物质提取的影响 由图 3 可以看出,随着提取时间的增加,长白楸木皂苷的提取率逐渐增大,但随着有效成分的溶出,增加趋于平

缓,可见提取时间对提取率的影响较小。故选用 15、20、25 min 进行正交实验。

2.1.3 乙醇浓度对长白楸木皂苷物质提取的影响 提取溶剂的选择主要依据溶剂的极性和被提取目标成分所含活性基团的种类和数目及其共存杂质的极性大小来判断。由图 4 可以看出,用浓度为 65%的乙醇作提取溶剂时长白楸木皂苷物质的含量最高,随着乙醇浓度的增加,长白楸木皂苷物质反而下降。皂苷由皂苷元与糖构成,为水溶性物质,极性较大,故随着乙醇浓度的增加,提取液的极性降低,导致长白楸木皂苷物质提取率下降。因此选择乙醇浓度 60%、65%、70%进行正交实验。

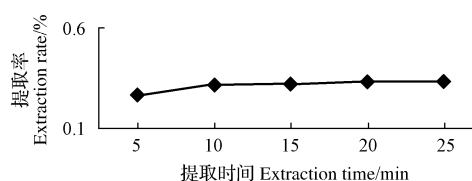


图 3 提取时间对提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on extraction rate

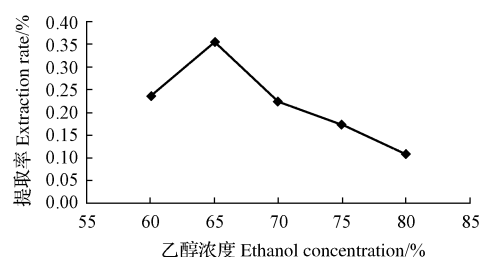


图 4 乙醇浓度对提取率的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on extraction rate

2.2 正交实验结果

对结果进行直观分析,以提取率为考察指标,由表中极差 R 的大小可知,各个因素对该指标的影响次序为 $A > C > B$,即料液比 $>$ 乙醇浓度 $>$ 提取时间(表 2)。由表 2 可得提取时间对应的极差 R 最小,即对提取率的影响最小。对于饱和正交表的方差分析时忽略其影响最小的因素,对结果进行分析。所以忽略时间的影响,以料液比为指标,对结果进行方差分析。通过表 3 方差分析可以得到, A 因素、 B 因素、 C 因素均无显著影响。对于时间的选择,综合考虑其对提取率的影响趋势,最终选定为 20 min。最优的提取条件为 $A_2B_3C_2$,即料液比为 1:20 g/mL、乙醇浓度 65%、提取时间 20 min。

2.3 根、茎、叶、芽皂苷含量的测定

按上述正交实验得出的最优条件,即料液比为 1:20 g/mL、乙醇浓度 65%、提取时间 20 min,分别提取并测量长白楸木根、茎、叶、芽皂苷的含量。由表 4 可知,在这个季节采摘的长白楸木植株,用该试验方法测得皂苷类成分含量最高的是根,为 16 461.3465 $\mu\text{g/mL}$,然后

表 2

正交实验结果

Table 2

Results of orthogonal experimental

试验号 Number	A 料液比 Material-liquid ratio /g · mL ⁻¹	B 时间 Time /min	C 乙醇浓度 Ethanol concentration /%	皂苷浓度 Saponin content /μg · mL ⁻¹	提取率 Extraction rate /%
1	1	1	1	0.650	0.2240
2	1	2	2	0.979	0.2587
3	1	3	3	1.839	0.2096
4	2	1	2	1.274	0.3228
5	2	2	3	1.011	0.2753
6	2	3	1	1.550	0.2926
7	3	1	3	1.025	0.1329
8	3	2	1	0.966	0.1531
9	3	3	2	0.650	0.1907
K1	0.231	0.227	0.223		
K2	0.297	0.229	0.257		
K3	0.159	0.231	0.206		
R	0.138	0.004	0.051		

表 3

方差分析

Table 3

Variance analysis table

离差来源 Deviation source	平方和 Square sum	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	显著性 Significance
A	0.029	2	7.250	19.000	
B	0.000	2	0.000	19.000	
C	0.004	2	1.000	19.000	
误差 E	0.03	2			

注: $F_{0.05}(2,2)=19.0$, $F_{0.01}(2,2)=99.0$; $F>F_{0.05}$ 即显著, $F>F_{0.01}$ 即极显著。

表 4

根、茎、叶、芽皂苷的含量

Table 4

Content of root, stem, leaf, bud saponin

部位 Part	茎 Stem	叶 Leaf	芽 Bud	根 Root
含量 Content/μg · mL ⁻¹	6 339.9014	12 811.2972	4 038.7521	16 461.3465

表 5

重复性试验结果

Table 5

Reproducibility test

提取率 Extraction rate/%	平均值 Mean	RSD/%
1	0.2753	
2	0.2438	
3	0.2649	0.262
4	0.2451	1.7025
5	0.2809	

依次是叶、茎和芽。

2.4 重复性试验

取同一批次长白楸木茎粉末用相同条件提取 5 份, 对其总皂苷含量进行测定, 并计算其峰面积的相对标准偏差(RSD)。由表 5 可知, 提取 5 份长白楸木茎总皂苷, 其提取率的相对标准偏差(RSD)为 1.7025%, 表明试验具有良好的重复性。

3 结论与讨论

长白楸木皂苷物质提取工艺过程中, 液料比、乙醇浓度、提取时间对提取结果均有影响。其最佳提取工艺为料液比 1:20 g/mL、乙醇浓度 65%、提取时

间 20 min。通过分析还得到料液比、乙醇浓度以及时间对其提取的影响差异, 料液比的影响作用大于乙醇浓度的影响, 提取时间的影响作用最小。由此最佳工艺测定长白楸木根、茎、叶、芽中皂苷的含量, 结果表明长白楸木根中皂苷含量最为丰富, 其次是叶, 茎和芽中的含量相对较少。

该试验采用了超声提取法, 与其它提取工艺相比, 超声提取法利用超声产生强烈的超声波, 巨大的加速度, 强烈的空化效应和搅拌作用加速溶剂渗入样品中, 促使细胞中皂苷类物质的溶解和转移, 以达到快速提取的效果^[9], 缩短提取时间, 提高提取效率。该试验方法的优化提取工艺比常规浸泡及回流提取法操作更加简便, 对结果进行验证, 在最佳条件下进行 5 次平行试验, 有良好的重复性。

参考文献

- [1] 杨志福, 汤海峰, 贾艳艳, 等. 太白楸木总皂苷对糖尿病小鼠血糖血脂及抗氧化作用的影响[J]. 解放军药学报, 2008, 24(2): 110-113.
- [2] 王忠壮, 万颀, 胡晋红. 楸木属药用植物的药理活性研究[J]. 中国药杂志, 2002, 37(2): 86-90.
- [3] 任美萍, 刘明华, 陈怡, 等. 楸木皂苷抗肿瘤活性研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(10): 2417-2418.
- [4] 李明, 鲁卫星. 龙牙楸木药理研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(20): 3157-3160.
- [5] Ma Z Q, Song S J, Li W, et al. Two new saponins from the bud of *Aralia elata* (Miq.) Seem[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2005, 7(6): 817-821.
- [6] Song S J, Nakamura N, Ma C M, et al. Five saponins from the root bark of *Aralia elata*[J]. Phytochemistry, 2001, 56(5): 491-497.
- [7] 冯颖, 李天来, 范文丽, 等. 长白楸木生物活性成分的初步研究[J]. 江苏农业科学, 2009(5): 256-258.
- [8] 曹先兰, 李珠莲. 刺五加国外实验研究[J]. 中草药, 1980, 11(6): 277-283.
- [9] 张娟, 路金才. 皂苷的提取方法及含量测定研究进展[J]. 中国现代中药, 2006, 8(3): 26-28.

牧草品种与施肥对干旱区弃耕地土壤理化性质的影响

苏德喜¹, 贾倩民²

(1. 宁夏平罗县林业局, 宁夏 平罗 753400; 2. 西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室, 宁夏 银川 750021)

摘要:以宁夏盐池干旱区弃耕地为研究对象,通过正交设计 $L_{18}(6^1 \times 3^6)$ 进行人工草地建植试验,研究了不同牧草品种、施肥量及秸秆还田量对弃耕地土壤理化性质的影响。结果表明:4个因素中牧草品种对土壤含水量、全盐及 pH 值影响极显著($P < 0.01$),有机肥对土壤含水量、容重、pH 值、全盐及有机质含量的影响极显著($P < 0.01$),秸秆对土壤含水量、容重和全盐的影响显著($P < 0.05$),NPK 对 pH 值的影响显著($P < 0.05$);禾本科牧草改善土壤含水量和容重的效果强于豆科,而提高土壤有机质的效果较弱;提高土壤含水量,降低土壤容重、全盐及 pH 值的最佳方案为圆柱披碱草(*Elymus cylindricus* Franch.) + 有机肥 36 t/hm² + NPK(N 275 kg/hm²、P 225 kg/hm²、K 225 kg/hm²) + 秸秆渣 10 t/hm²;增加土壤有机质含量的最佳方案为黄花草木樨(*Melilotus ofcinalia*) + 有机肥 36 t/hm² + NPK(N 165 kg/hm²、P 135 kg/hm² 和 K 135 kg/hm²) + 秸秆渣 10 t/hm²。

关键词:干旱区;人工草地;施肥;土壤理化性质;弃耕地

中图分类号:S 156.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)11-0153-05

宁夏盐池干旱区降水量少,冬季严寒,春季风蚀严重,土壤养分贫瘠,草地退化加剧,生态环境十分脆弱^[1-2]。近年来,天然草地逐渐被开垦为农田,而该地区地下水含盐量和矿化度较高,加之不合理的灌溉,致使土壤产生次生盐渍化^[3-4],导致大面积土地弃耕。改良

和利用弃耕地,可缓解人口与土地的矛盾,对推动当地的经济、社会 and 可持续发展具有重要意义^[5-6]。近年来,由于长期大量化肥的使用及秸秆的不合理堆放和就地焚烧,使土壤与大气污染加剧,大量资源严重浪费^[7-9]。国内外研究表明,有机肥的养分全面且肥效较长,能增加土壤有机质含量及蓄水保墒能力,改善土壤结构,能为植物提供全面营养,对实现旱地农业的持续增长具有重要意义^[10-12]。另外,秸秆还田也是提高土壤肥力、改善土壤理化性状的有效手段^[13-15],但在牧草选育方面有机肥、化肥、秸秆配合施肥的研究较少,该试验采用正交

第一作者简介:苏德喜(1966-),男,本科,高级工程师,现主要从事林业生态和造林工程等研究工作。E-mail:sudexi001@163.com。
基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2011BAC07B03)。
收稿日期:2014-02-07

Study on the Content of Different Parts and the Technology of *Aralia continentalis* Kitag.

WU Xiao-lin¹, CHEN Jian-qiang¹, LI Min¹, LIU Zhe², YU Yi-fei³

(1. Jilin Agriculture Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101; 2. Jilin Medical College, Jilin, Jilin 132101; 3. Changbaishan Vocational & Technical College, Baishan, Jilin 134300)

Abstract: Taking *Aralia continentalis* Kitag. as material, saponin of root, stem, leaf and bud were extracted by using ultrasonic method, the content of saponins was measured by ultraviolet-Visible Spectrophotometry, and the factors which influence the saponins extraction rate such as extraction time, the ratio of solid to liquid and concentration of ethanol were explored. The conditions of extraction technology of saponins were optimized by single factor experiment and orthogonal tests to confirm the major factors. The results showed that the extraction rate was affected by the ratio of solid to liquid predominantly, and the optimal conditions extraction technology about ultrasonic extraction as follows: the ratio of solid to liquid was 1 : 20 g/mL, the concentration of ethanol was 65% and the extraction time was 20 min. The saponins content of *Aralia continentalis* Kitag. root was the highest to 16 461. 3465 $\mu\text{g/mL}$.

Key words: *Aralia continentalis*; saponin; ultrasonic extraction; Ultraviolet-visible spectrophotom; optimum technology