

# 卷叶黄精总皂苷含量测定方法及提取工艺研究

王冬梅<sup>1</sup>, 朱 玮<sup>2</sup>, 张存莉<sup>1</sup>, 张天拯<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**对分布于秦岭的卷叶黄精(*Polygonatum cirrhifolium*)总皂苷含量测定方法及提取工艺进行了研究,结果表明,①黄精总皂苷含量测定采用香草醛—高氯酸比色法,在波长 545 nm 有最大吸收峰,在  $1.25\sim7.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内呈良好的线性关系。卷叶黄精总皂苷测定重现性较好,变异系数(RSD)为 4.05%,平均回收率为 96.40%,但测定工作要在 30 min 内完成。②各因素对卷叶黄精总皂苷的提取率影响不同,影响最大的是温度,其次是料液比和时间。最佳提取工艺为,在温度 60℃下,用 80%乙醇提取 2 次,每次提取时间为 1.5 h,料液比为 1:15。

**关键词:**卷叶黄精;皂苷;含量测定;提取分离工艺

**中图分类号:**S759.82

**文献标识码:**A

**文章编号:**1001-7461(2006)03-0107-04

## Content Determination and Extraction of Steroids Saponins from the Root of *Polygonatum cirrhifolium*

WANG Dong-mei<sup>1</sup>, ZHU Wei<sup>2</sup>, ZHANG Cun-li<sup>1</sup>, ZHANG Tian-zheng<sup>1</sup>

万方数据

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The content determination and extraction of steroids saponins from the root of *Polygonatum cirrhifolium* were studied. The results are as follows: ①when the methods of vanillin-perchloric acid was applied to determine the content of steroids saponins at 545 nm, the linear range was  $0.126\sim0.642$ , the result was accurate, RSD was 4.05%. The average reclaim-ratio was 99.01%. ②The principal influencing factors influencing the extraction were temperature, the ratio of material to solvent and time. The best technological parameters for extracting steroids saponins were: temperature 60℃, solvent: 80% ethanol, time: 1.5 h; times of extraction: 2; rate of material to solvent: 1:15.

**Key words:** *Polygonatum cirrhifolium*; steroids saponins; content determination; extraction

黄精皂苷主要包括薯蓣皂苷元、毛地黄糖苷、菝葜皂苷元等,是百合科黄精属植物中的主要成分<sup>[1]</sup>。药理研究表明,这些皂苷均具有显著的生理活性。如从湖北黄精(*Polygonatum zanlanscianense*)中提取出 2 种具抗白血病活性的皂苷,分别为甲基原薯蓣素和薯蓣素<sup>[2]</sup>。从滇黄精(*P. kingianum*)中分离到的具抗 HIV 活性的 4 个新的皂苷化合物<sup>[3]</sup>;玉竹(*P. odoratum*)中的 POD-Ⅰ 为首次分离得到的(25R)构

型的纯品,有诱导集落刺激因子(CFS)的作用,POD-Ⅲ 能协同 ConA 和 Lps 对淋巴细胞转化有促进作用,SG-100 能在不改变胰岛素分泌的情况下,有效地促进外用胰岛素的敏感性而抑制高血糖等<sup>[4,5]</sup>。

为了更好的开发利用黄精皂苷类成分,开发出具有降血脂、抗肿瘤、抗 HIV 活性的药物,作者在对分布于秦岭的卷叶黄精化学成分进行系统预试的基础上,对其皂苷的含量测定方法及提取工艺进行了

收稿日期:2005-08-29 修回日期:2005-09-27

基金项目:西北农林科技大学科研专项基金(04 ZM027)

作者简介:王冬梅(1970-),女,陕西西安人,讲师,在读博士,主要从事天然产物化学的教学科研工作。

研究,以期为卷叶黄精的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

卷叶黄精(*Polygonatum cirrhifolium*)采自秦岭太白山厚畛子。将其根块去杂,70℃下烘干,粉碎,备用。

1.2 仪器和试剂

仪器 UV-1700 紫外可见分光光度计(日本岛津研究所)、旋转蒸发器 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂)、SHZ-D 循环水式真空泵(河南巩义市英峪豫华仪器厂)、电热恒热水浴锅 HH. S11-2(北京长安科学仪器厂)。

试剂 薯蓣皂苷元标准品(中国药品生物制品检定所);5%香草醛溶液(500 mg 香草醛溶于 10 mL 冰醋酸,新鲜配制)、高氯酸,其他化学试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线制备<sup>[6]</sup> 回归方程: $A=42.5C+0.0154$  其中, $A$  为吸光度,  $C$  为浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $r=0.9991$ ,波长为 545 nm。

1.3.2 卷叶黄精总皂苷供试溶液的制备 称取卷叶黄精 80%乙醇提取物 200 mg,用  $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶液溶解,定量转移至三角瓶中,加  $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶液至 50 mL,加热回流水解 2 h,放冷,用石油醚(60~90℃)萃取 5 次,每次 30 mL,合并石油醚液,水洗至中性,回收石油醚至干,加氯仿适量溶解,定量转移至 50 mL 量瓶中,用氯仿定容至刻度,摇匀,备用。

1.3.3 重现性试验 平行取卷叶黄精皂苷供试溶液 5 份,测定其皂苷含量, $S=1.61 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,变异系数  $RSD<5\%$ ,符合要求,该方法重现性好。

1.3.4 回收率试验 平行取 4 份供试液,分别加入薯蓣皂苷元标准品,进行回收率试验(表 1)。可以看出,该方法测定的平均回收率为 96.40%

1.3.5 皂苷提取工艺 将卷叶黄精根粗粉,在 60℃烘箱中鼓风烘干,直至恒重。冷却后用四分法取样,每份 2 g,置于 250 mL 的圆底烧瓶中,采用不同的试验设计方案进行提取,然后测定其总皂苷含量。试验处理及数据测定均为 3 次重复,最后用平均值表示结果。

表 1 回收率试验

Table 1 Reclaim test

样品编号	皂苷量/mg	加入薯蓣皂苷元标准品量/mg	理论值/mg	测定值/mg	回收率/%	平均回收率/%
1	0.106	0.038	0.144	0.127	88.19	96.40
2	0.106	0.050	0.156	0.149	95.51	
3	0.106	0.062	0.168	0.174	103.57	
4	0.106	0.075	0.181	0.178	98.34	

1.3.6 稳定性试验 取卷叶黄精皂苷供试溶液依法显色后,在不同的时间测定其吸收度,结果在 30 min 内变化不大(表 2),测定工作要在半小时内完成。

表 2 稳定性试验

Table 2 Stability test

时间/min	10	20	30	40	50	60
吸收度	0.336	0.335	0.334	0.330	0.330	0.329

2 结果与分析

2.1 不同浓度的乙醇对黄精皂苷提取效果的影响

由图 1 可见,80%乙醇提取时,黄精皂苷含量最高,可能卷叶黄精中所含的皂苷类化合物既有极性

较大的皂苷,也有极性较小的皂苷或皂苷元,因此溶剂极性太大或太小均不利于总皂苷的提取。

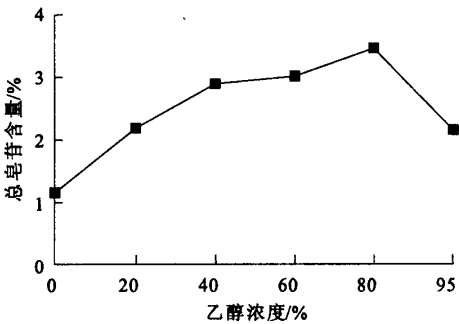


图 1 不同浓度的乙醇对黄精皂苷提取效果的影响

Fig 1 Effects of different concentration of ethanol on the extraction of steroid saponins

2.2 温度对黄精皂苷提取效果的影响

从图 2 可知,在 30~60℃ 区间内,黄精皂苷的提取率不断上升,60℃ 时为最高,可达 3.77%,随后皂苷提取率反而下降。可能是高温下,用乙醇提取时,植物中的某些酸性物质会引起皂苷结构的变化,导致含量降低。因此提取温度为 60℃ 较宜。

2.3 时间对黄精皂苷提取效果的影响

从图 3 可以看出,随着浸提时间的延长,黄精总皂苷的提取率不断升高,尤其是 1.5 h,其提取率增长幅度最大,提取时间达 1.5 h 后,增加浸提时间对浸提效果影响不大,总皂苷的提取率呈缓慢上升趋势。1.5 h 处理与 1 h 处理的总皂苷提取率差异极显著,极差达 0.80%。因此,提取时间达 1.5 h 后已基本达到渗透平衡,如果再延长提取时间,效果不大。

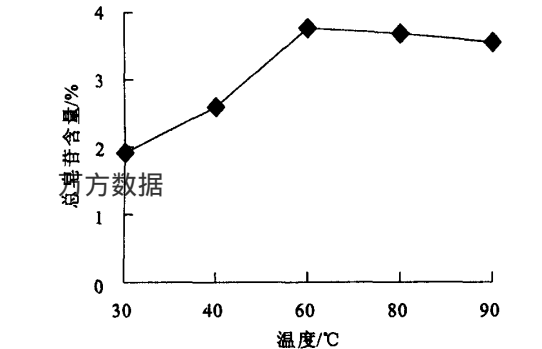


图 2 温度对黄精皂苷提取效果的影响

Fig. 2 Effects of different temperature on the extraction of steroids saponins

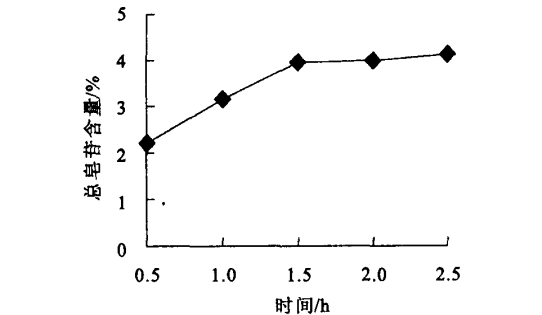


图 3 提取时间对黄精皂苷提取效果的影响

Fig. 3 Effects of different time on the extraction of steroids saponins

2.4 提取次数对黄精皂苷提取效果的影响

一般来说,反复多次提取有利于植物中天然产物的溶出,但从工作量、生产成本等多种因素考虑,必须确定一个较为合理的提取次数。研究认为,若进行多次提取,提取次数不宜超过 4 次<sup>[7]</sup>。本文在其他

影响因素一致条件下,考察了不同提取次数对黄精皂苷提取效果的影响(图 4)。可以看出,随着提取次数的增加,黄精皂苷提取率呈上升趋势。提取次数为 2 次时,上升趋势缓慢,考虑到减少操作环节和节约成本,提取次数应为 2 次较适宜。

2.5 料液比对皂苷含量影响

由图 5 可以看出,随着溶剂用量的增加,黄精皂苷的提取率逐渐升高,到 15 倍量以后,增长幅度缓慢。15 倍量与 20 倍、25 倍量的提取率极差较小,分别为 0.13% 和 0.26%,与 10 倍的提取率极差较大,为 0.99%。综合溶剂用量和回收溶剂的成本两方面因素考虑,实际操作时,料液比应选择 1:15。

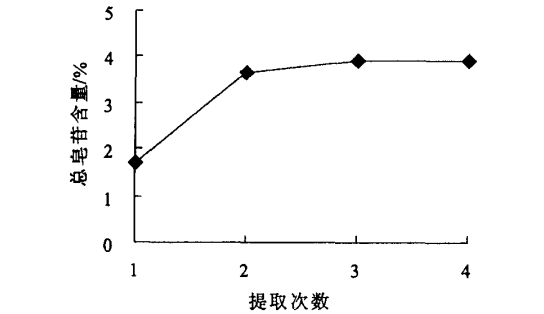


图 4 提取次数对黄精皂苷提取效果的影响

Fig. 4 Effects of different times on the extraction of steroids saponins

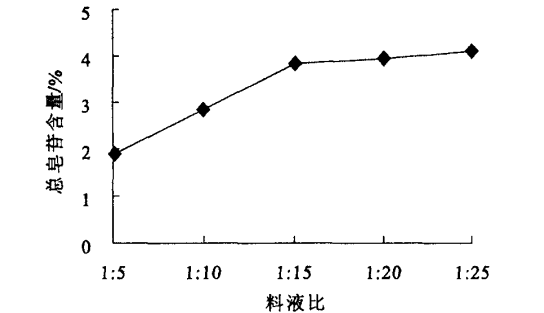


图 5 料液比对黄精皂苷提取效果的影响

Fig. 5 Effects of different ratio of solvent to material on the extraction of steroids saponins

2.6 提取条件的优化

在溶剂为 80% 乙醇,提取次数为 2 次的基础上,设置多指标、多因素 L<sup>9</sup>(3<sup>4</sup>) 正交试验(表 3)。从正交试验的结果可以看出,各因素对卷叶黄精总皂苷的提取率影响不同,各处理组合极差顺序为 R<sub>C</sub>>R<sub>A</sub>>R<sub>B</sub>,即影响最大的是温度,其次是料液比和时间。从表 3 可以看出,最优提取方案应为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即温度为 60℃,提取时间为 1.5 h,料液比为 1:15。

表 3 正交试验结果  
Table 3 Results of orthogonal experiment

试验号	A 固液比	B 提取 时间/h	C 提取 温度/℃	总皂苷 含量/%
1	1:10	0.5 h	40	1.93
2	1:10	1.0 h	60	2.87
3	1:10	1.5 h	80	3.14
4	1:15	0.5 h	80	3.29
5	1:15	1.0 h	40	2.59
6	1:15	1.5 h	60	3.94
7	1:20	0.5 h	60	3.58
8	1:20	1.0 h	80	3.12
9	1:20	1.5 h	40	2.96
K <sub>1</sub>	7.94	8.80	7.48	因素主次 C→A→B
K <sub>2</sub>	9.82	8.58	10.39	
K <sub>3</sub>	9.66	10.04	9.55	
R	1.88	1.46	2.91	

3 结论

通过单因素和正交实验结果可知,各因素对卷叶黄精总皂苷的提取率影响是不均等的,影响最大的是温度,其次是料液比和时间。最佳提取工艺: 万方数据

在温度 60℃下,用 80%乙醇提取 2 次,每次提取时间为 1.5 h,料液比为 1 : 15。

参考文献:

[1] 庞玉新,赵致,袁媛,等.黄精的化学成分及药理作用[J].山地农业生物学报,2003,22(6):547-550.

[2] Wang Z J, Zhou Y Ju, Zhang H. Effects of two saponins extracted from the *Polygonatum zanlanscianense* pamp on the human leukemia (HL—60) cells[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2001,24(2):159-162.

[3] Li X C, Yang C R, Ichikawa M. Steroid saponins from *Polygonatum kingianum*[J]. Phytochemistry, 1992,31(10):3559-3563.

[4] Choi S B, Park S. A steroidal glycoside from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce. improves insulin resistance but does not alter insulin secretion in 90% pancreatectomized rats[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2002,66(10): 2036-2043.

[5] 林厚文,韩公羽,廖时萱.中药玉竹有效成分研究[J].药学报,1994,29(3):215-222.

[6] 陈战国,耿征.薯蓣皂甙元的分光光度法测定[J].分析化学,1996,24(2):227-229.

[7] 马双成,邓少伟.川芎提取、纯化工艺条件的试验研究[J].中国中药杂志,1999,24(4):215-217.

(上接第 106 页)

酸组成和相对含量进行研究,结果表明,臭椿皮蛾幼虫比蛹的脂肪酸组成更为合理,更适于被开发利用。但从总体上评价,两者的脂肪酸组成和相对含量基本接近,都可以作为优质的脂肪酸源。臭椿皮蛾是一种危害极大的经济林害虫,严重影响香椿芽的生产,对其进行开发利用,变害为益,将产生较大的经济效益、社会效益和生态效益。

参考文献:

[1] 张传溪,许文化.资源昆虫[M].上海:上海科技出版社,1990. 1-166.

[2] 何剑中,刘化翠.森林害虫资源的开发与持续利用[J].生态经济,1996(3):39-41.

[3] De Foliart G R. Insects as human Food [J]. Crop Protection, 1992(11):395-399.

[4] Defoliart G R. Ant used as food [J]. The Food Insects

Newsletter,1994,4(1):1-6.

[5] Chen Y, Akre R D. Ant used as food and medicine in China [J]. The food Insect Newsletter,1994,7(2):8-10.

[6] 钱俊青.蚕蛹油脂提取的研究[J].浙江工业大学学报,1996,24(2):166-171.

[7] 李京民,王静平.植物油脂中脂肪酸的分离与鉴定方法[J].中国油脂,1994,19(2):32-37.

[8] 赵德义,徐爱遐,张博勇,等.杜仲籽油与紫苏籽油脂肪酸组成的比较研究[J].西北植物学报,2005,25(1):0191-0193.

[9] Drucker D B, Lee S M. Fatty acid fingerprints of “*Streptococcus milleri*”, *streptococcus mitis*, and related species[J]. Int J Syst Bacteriol, 1981,31(3): 219-225.

[10] 欧阳涟,刘娟娟.蚕蛹油中脂肪酸的气相色谱测定[J].分析检测,2003(3):32-33

[11] 亦茗.解析脂肪酸[J].饮食科学,2005(3):16.

[12] 路萍,赖炳森,颜小林,等.分析蚕蛹油中脂肪酸的成分[J].中国药学杂志,1998,33(3):138-140.