

南五味子有效成分提取及其在不同相系中的分布研究

王少杰, 杨敏, 王漫, 于新, 任文彬

(仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)

摘要: 以南五味子总木脂素、多糖为指标, 研究南五味子有效成分的最优提取工艺条件及其在乙醇相和水相中的分布状态, 采用紫外分光光度法和苯酚-硫酸法进行检测。结果表明: 总木脂素最优提取工艺为乙醇浓度 70%、料液比为 1:9、提取 3 次、每次 2 h, 得率可达 9.76 mg/g 生药量; 总多糖最优提取工艺为 70%乙醇、料液比为 1:7、提取 3 次、每次 1.5 h, 得率可达 11.32 mg/g 生药量。结果还表明, 提取物经分离后在乙醇相中总木脂素和多糖含量均明显大于水相中含量。乙醇相中, 总木脂素与多糖含量相当; 水相中, 多糖含量高于总木脂素量。

关键词: 南五味子; 总木脂素; 多糖; 乙醇相; 水相

文章编号: 1673-9078(2013)2-324-327

Extraction of Effective Components from *Schisandra sphenanthera* Rehd. Et Wils and their Distribution State in Different Phase System

WANG Shao-jie, YANG Min, WANG Man, YU Xin, REN Wen-bin

(College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Using total Lignans and Polysaccharide of *Schisandra sphenanthera* Rehd. Et Wils as the indicator, study on the optimal extraction technology conditions of its effective components and distribution in ethanol and water phase. Using UV spectrophotometry and Phenol-Sulfuric acid method for testing, the results showed that the optimal extraction conditions of total lignans were alcohol concentration 70%, liquid ratio 1:9, extraction times 3, and extraction time 2 h, under which the extraction rate reached 9.76 mg/g. The optimal extraction conditions of polysaccharide were alcohol concentration 70%, liquid ratio 1:7, extraction times 3 and extraction time 1.5 h, under which the extraction rate reached 11.32 mg/g. The results also show that, after separation, the extract in ethanol phase was significantly greater than the total Lignans and polysaccharide content in aqueous media content. Total Lignans and polysaccharide content was similar in the ethanol phase. Polysaccharide content was higher than the total lignans content in the water phase.

Key words: *Schisandra sphenanthera* Rehd Et Wils; total lignans; polysaccharide; ethanol phase; water phase

南五味子为木兰科植物华中五味子 (*Schisandra sphenanthera* Rehd. Et Wils) 的干燥成熟果实, 不同于北五味子。主要分布于华中, 西南等地^[1]。南五味子作为常用中药材具有悠久的历史, 是应用面较广、用量较大的中药材品种, 是生产一些保健品的首选药材^[2]。南五味子果实中含有挥发油, 主要成分为柠檬醛、 α -依兰烯、 α -恰米烯、 β -恰米烯和恰米醛等, 对中枢神经系统不但有安定作用, 而且还有抗惊厥作用

收稿日期: 2012-10-15

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010B020312015)

作者简介: 王少杰, 男, 在读研究生

通讯作者: 杨敏 (1967-), 女, 硕士, 副教授, 从事功能食品开发和加工技术方向研究

^[3-4]; 此外还含有三萜类化合物等成分, 其中木脂素和三萜类是南五味子主要的生物活性成分之一^[5-7]。具有保肝护肝、免疫促进、抗衰老、抗肿瘤等保健作用^[8-10]。此外南五味子还含有丰富的蛋白质、脂肪、糖类、有机酸、果胶等食用物质。

由于它对人体多方面的有益作用, 其利用范围愈来愈广, 现已突破原来的药用范畴, 在酿酒、制果汁等方面也已被广泛利用, 是一种应用价值高、开发前景十分广阔的经济植物。南五味子的花、果、叶、茎蔓均有较高的食疗作用, 所含的保健成分较一般水果高, 其幼芽嫩叶具有柠檬香气, 为上市野菜; 也可将其制作成茶叶, 作为日常饮品; 茎叶和种子可提取食用香精、色素, 在食品调料和防腐方面应用广泛。以

南五味子为主要原料研制的高级补酒、饮料和保健品,具有滋补强身、消除疲劳、提高工作效率和延年益寿的功效^[11]。

1 材料与方法

1.1 材料

无水乙醇(分析纯);浓硫酸(分析纯);甲醇(分析纯);变色酸(分析纯);食用酒精(天津市富宇精细化工有限公司生产);南五味子(购于药店)等。

1.2 仪器

紫外可见分光光度计 DU730,上海棱光技术有限公司;旋转蒸发仪 RE-53CII,巩义市予华设备有限公司;离心机 800,江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂等。

1.3 试验方法

1.3.1 南五味子有效成分提取工艺流程

南五味子干果→破碎→回流提取→过滤→上清液→离心→减压浓缩→提取物

1.3.2 单因素试验

根据文献,选取乙醇浓度、料液比、药材颗粒、提取时间和提取次数为主要因素,进行单因素试验。在单因素试验中,只以总木脂素为指标。

1.3.2.1 乙醇浓度对南五味子总木脂素得率的影响

分别取 30 g 已捣碎的南五味子,用 10%、25%、55%、70%、95%的乙醇 150 mL 回流提取 1 h,经处理后在 570 nm 处测定其提取物的吸光度,计算其得率。

1.3.2.2 料液比对南五味子总木脂素得率的影响

分别取 30 g 已捣碎的南五味子,用料液比为 1:1、1:4、1:7、1:10、1:13 的 90%的乙醇对南五味子进行回流提取 1.5 h,经处理后在 570 nm 处测定其提取物的吸光度,计算其得率。

1.3.2.3 药材颗粒对南五味子总木脂素得率的影响

分别取约 30 g 南五味子 5 份,2 份进行粉碎(分别过 300 目和 100 目),1 份捣碎(过 20 目)、捣破和 1 份为原药材,用料液比 1:5 的 50%乙醇对南五味子进行回流提取 1 h,经处理后在 570 nm 处测定其提取物的吸光度,计算其得率。

1.3.2.3 提取时间对南五味子总木脂素得率的影响

分别取 30 g 已捣碎的南五味子,用 270 mL 70%的乙醇分别提取 0.5h、1.5h、2.5h、3.5h、4.5h,经处理后在 570 nm 处测定其提取物的吸光度,计算其得率。

1.3.2.4 提取次数对南五味子总木脂素得率的影响

分别取 30 g 已捣碎的南五味子,用 210 mL 90%

的乙醇提取,分别提取 1 次、2 次、3 次,每次 1 h,经处理后在 570 nm 处测定其提取物的吸光度,计算其得率。

1.3.3 正交试验设计

根据单因素实验结果的分析,确定料液比、乙醇浓度、提取时间、提取次数为影响南五味子有效成分提取的主要因素,采样正交表 $L_9(3^4)$ 。见表 1。

表 1 正交因素表

水平	因素			
	A(料液比)	B(乙醇浓度/%)	C(提取时间/h)	D(提取次数)
1	1:5	50	1	1
2	1:7	70	1.5	2
3	1:9	90	2	3

1.3.2 有效成分在乙醇相和水相体系中的分布状态研究

为进一步研究溶剂性质对总木脂素和多糖得率的影响及总木脂素和多糖在不同溶剂相中的分布状态,将提取物分别用无水乙醇和蒸馏水进行分离,具体操作为:将提取物浓缩至稀膏状,用无水乙醇进行溶解,分离上清液,沉淀物用少量蒸馏稀释至稀膏状,上述过程重复三次,合并上清液,浓缩得乙醇相液,最后的蒸馏水稀膏即为水相液。

利用分光光度法测定乙醇相液和水相液中总木脂素和多糖的含量,研究总木脂素和多糖在不同相体系中的分布状况及与正交试验工艺条件的关系。

1.3.3 检测和方法

1.3.3.1 总木脂素含量测定方法

分光光度法^[12]

1.3.3.2 多糖含量测量方法

苯酚-硫酸法

2 结果与讨论

2.1 乙醇浓度对总木脂素得率的影响

表 1 乙醇浓度对总木脂素得率的影响

Table 1 Effect of ethanol concentration on the yield of total lignans

乙醇浓度/%	10	25	40	55	70	95
得率/(mg/g)	1.50	2.21	5.54	11.20	11.56	11.89

由试验所得数据可知,乙醇浓度对总木脂素得率的影响十分明显,且乙醇浓度越高,总木脂素的得率越大,当乙醇浓度为 95%时,得率高达 11.89 mg/g。当乙醇浓度在 40%到 55%处得率有一个突越,在 55%到 95%处的变化趋于平缓差别不很明显。55%到 95%

乙醇浓度均适宜。

2.2 料液比对总木脂素得率的影响

表 2 料液比对总木脂素得率的影响

Table 2 Effect of Liquid/solid ratio on the yield of total lignans

料液比	1:1	1:4	1:7	1:10	1:13
得率/(mg/g)	1.97	4.72	5.25	5.11	5.13

料液比对总木脂素得率有影响, 当试验料液比为 1:1 时, 得率明显小于其他料液比所得的得率。而当料液比为 1:4、1:7、1:10、1:13 时, 四者变化不明显, 1:7 时得率最高。

2.3 药材粒度对总木脂素得率的影响

表 3 药材粒度对总木脂素得率的影响

Table 3 Effect of medicinal materials granularity on the yield of total lignans

药材粒度	300 目	100 目	20 目	普通捣碎	原粒
得率/(mg/g)	3.71	3.63	3.55	3.5	3.01

药材粒度对总木脂素得率的影响不大, 在以后试验中只选取普通捣碎处理即可。

2.4 提取时间对总木脂素得率的影响

表 4 提取时间对总木脂素得率的影响

Table 4 Effect of extraction time on the yield of total lignans

提取时间/h	0.5	1.5	2.5	3.5	4.5
得率/(mg/g)	2.31	5.78	5.83	5.90	6.00

由试验数据分析, 提取时间对总木脂素得率的影响较为明显, 当提取时间为 1.5h 时, 得率明显大于提取 0.5 h, 而提取 2.5 h、3.5 h 和 4.5 h 时, 得率虽有提高, 但增加缓慢。综合考虑 1.5h 为最佳提取时间。

2.5 提取次数对总木脂素得率的影响

表 5 提取次数对总木脂素得率的影响

Table 5 Effect of extracton times on the yield of total lignans

提取次数	1	2	3	4	5
得率/(mg/g)	2.11	4.53	6.35	6.32	6.31

提取次数对总木脂素得率的影响明显存在, 提取 1 次、2 次、3 次时得率增加显著, 3 次时, 得率最大, 提取 4 次和 5 次时和 3 次时的得率几乎无明显差别。

2.6 正交试验

表 6 南五味子有效成分提取试验结果

Table 6 The test results of extracting the effective components of *Schisandra sphenanthera* Rehd.Et Wils

编号	因素				总木脂素 /(mg/g)	总多糖 /(mg/g)
	A (料液比)	B (乙醇浓度/%)	C (提取时间/h)	D (提取次数)		
1	1	1	1	1	4.87	3.58
2	1	2	2	2	9.76	8.12
3	1	3	3	3	3.29	3.23
4	2	1	2	3	7.46	9.33
5	2	2	3	1	4.48	9.36
6	2	3	1	2	6.78	5.25
7	3	1	3	2	6.64	7.59
8	3	2	1	3	8.76	11.32
9	3	3	2	1	4.78	4.04

K ₁	17.92	18.97	20.41	14.13		
K ₂	18.72	23.0	22.0	23.18		
K ₃	20.18	14.85	14.41	19.51		
$\overline{K_1}$	5.97	6.32	6.80	4.71		
$\overline{K_2}$	6.24	7.67	7.33	7.73		
$\overline{K_3}$	6.73	4.95	4.80	6.50		
R	0.76	2.72	2.53	3.02		

总木脂素						
主次顺序	D>B>C>A					
最优组合	A ₃ B ₂ C ₂ D ₂					

K ₁	14.93	20.50	20.15	16.98		
K ₂	23.94	28.80	21.49	20.96		
K ₃	22.95	12.52	20.18	23.88		
$\overline{K_1}$	4.98	6.83	6.72	5.66		
$\overline{K_2}$	7.98	9.60	7.16	6.99		
$\overline{K_3}$	7.65	4.17	6.73	7.96		
R	3.00	5.43	0.44	2.30		

总多糖						
主次顺序	B>C>D>A					
最优组合	A ₂ B ₂ C ₂ D ₃					

总木脂素最优提取工艺为: $A_3B_2C_3D_3$, 即 70% 乙醇, 料液比为 1:9, 回流提取 3 次, 每次 2 h。总木脂素含量高约 9.76 mg/g 生药。影响的主次顺序是: 提取次数, 乙醇浓度, 提取时间, 料液比。

总多糖最优提取工艺为: $A_2B_2C_2D_3$, 即 70% 乙醇, 料液比为 1:7, 提取 3 次, 每次 1.5 h。总多糖含量约 11.32 mg/每克生药。影响的主次顺序是: 乙醇浓度, 提取时间, 提取次数, 料液比。

70% 乙醇溶液系统中, 总木脂素和总多糖的浸出效果均为最好, 得率均最高。且可根据实验结果推断出总多糖中的糖类以醇溶性为主, 这点与通常认为的多糖大多溶于水不同。

2.7 乙醇相、水相中总木脂素和多糖含量检测结果
表 7 乙醇相、水相中总木脂素和多糖含量检测结果 (mg/g)

Table 7 The content of total lignans and polysaccharide in ethanol and water phase

序号	总木脂素		总多糖	
	醇相	水相	醇相	水相
1	1.80	3.07	1.92	1.66
2	8.40	1.36	6.31	1.81
3	2.69	0.60	2.85	0.38
4	3.62	3.84	4.31	5.08
5	2.70	1.78	5.54	3.82
6	6.51	0.27	5.14	0.11
7	3.89	2.75	3.21	4.38
8	5.17	3.59	6.93	4.39
9	4.78	0	4.04	0
平均值	4.40	1.92	4.48	2.40

从实验结果分析:

乙醇相中的总木脂素含量明显大于水相中总木脂素含量, 可能因为总木脂素中大部分物质是易溶解于乙醇的, 且在乙醇中溶解度大于在水中溶解度, 醇相中总木脂素最多为 8.40 mg/g, 最少为 1.80 mg/g。乙醇相中的总多糖含量也明显大于水相中总多糖含量, 我们推断可能是由于南五味子中醇溶性的多糖比水溶性多糖多的缘故。醇相中多糖最长达 6.93 mg/g, 最少为 1.92 mg/g。乙醇相中无论总木脂素还是多糖都比水相中要多许多。

通过分析还发现, 如果用 95% 乙醇, 提取时间 1.5 h, 提取 1 次, 提取物无法分离出水相提取物, 但此时其乙醇相中的总木脂素和多糖都不是最高的; 而降低乙醇浓度至 70%, 提取 1.5 h, 提取 2 次时, 乙醇相中总木脂素含量可达最高, 总多糖含量也达最高值。这

个结果与前述各自的影响主次顺序的表达一致。

在水相中, 多糖含量大于总木脂素含量。

3 结论

3.1 南五味子总木脂素的提取过程中, 提取次数是影响总木脂素得率的最关键因素, 甚至超过乙醇浓度。总木脂素提取的最佳工艺条件为料液比 1:9, 乙醇浓度为 70%, 回流提取 3 次, 每次 2 h。南五味子总木脂素的得率为 9.76 mg/g 生药量。

3.2 南五味子总多糖的提取过程中, 乙醇浓度是影响总多糖得率的最关键因素。总多糖提取的最佳工艺条件为料液比 1:7, 乙醇浓度为 70%, 回流提取 3 次, 每次 1.5 h。南五味子总多糖的得率为 11.32 mg/g 生药量。

3.3 南五味子提取物的乙醇相物质中不论总木脂素还是总多糖含量都明显高于水相中。

南五味子提取物的水相物质中, 多糖含量大于总木脂素含量。

参考文献

- [1] 杨放,袁军,付平.五味子的研究概况[J].华西药学杂志,2003,18(6):438-440
- [2] 周金黄,王筠默.中药药理学[M].上海:上海科学技术出版社,1985:119-121
- [3] 刘国宇,陈旭.五味子木脂素类化学成分及其含量分析方法的研究现状[J].黑龙江医药,2010,23(02):228-229
- [4] 李晓光,罗焕敏.南五味子属植物化学成分及其活性研究进展[J].中国中药杂志,2008,28(12):20-24
- [5] 刘继永,王英平,刘洪章.五味子化学成分及药理研究进展[J].特产研究,2005,3(05):39-40
- [6] 陈延镛,黎莲娘.北五味子的研究-五味子酯甲和五味子酯乙的化学结构测定[J].化学学报,1976:34-45
- [7] 梁显菊,文静.功能性保健食品五味子的研究进展[J].食品与药品,2009,11(05):70-73
- [8] 刘晓瑞.北五味子抗衰老作用的实验研究[J].中国老年学杂志,2005,25(12):15-16
- [9] 夏继成.南五味子化学成分及其活性研究进展[J].黑龙江科技信息,2012(02):10
- [10] 宋小妹,曹林林,董彬彬.南五味子有效成分的提取研究[J].现代中医药,2003(05):74-75
- [11] 季金美,姜秋风.正交试验法优化五味子中总木脂素的提取工艺[J].青海师范大学学报,2008.20(3):43-44
- [12] 中国药典,2000,中药一部