

黄姜中薯蓣皂甙元的提取及定性定量分析

任凤莲, 刘咏, 禹文峰

(中南大学 化学化工学院, 湖南长沙 410083)

摘要: 对黄姜中提取的薯蓣皂甙元进行红外和紫外可见波谱扫描, 与标准品谱图对比分析, 可知提取出的皂甙元与薯蓣皂甙元标准品有相同的结构。用分光光度法测定黄姜中薯蓣皂甙元的含量, 以香荚兰醛-高氯酸-冰醋酸的加入顺序, 在 80 °C 水浴中加热 15 min, 显色 30 min 后, 在 542 nm 处测定吸收值能达到最佳值, 最后得出皂甙元含量为 2.27%, RSD 为 1.1%, 回收率在 97.2%~98.8% 之间。

关键词: 薯蓣皂甙元; 光谱; 分光光度法。

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)06-0684-03

Qualitative and quantitative analysis of diosgenin distilled from *Dioscorea zingiberensis*

REN Feng-lian, LIU Yong, YU Wen-feng

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: UV-V (ultraviolet-visible) and infrared spectrum analysis of diosgenin were fulfilled and it could be concluded that the diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* has the same structure as standard's. The content of diosgenin was determined by spectrophotometer method. Vanillin, perchloric acid and acetic acid reacted with diosgenin in sequence, then the solution was heated by hot water at 80 °C for 15 min and placed for 30 min. At 542 nm, the content of diosgenin in *D. zingiberensis* was measured to be 2.27%, RSD=1.1%, and the recovery is 97.2%~98.8%.

Key words: diosgenin; spectrum; spectrophotometer

黄姜又名盾叶薯蓣 (*Dioscorea Zingiberensis* C. H. Wright), 为薯蓣科植物盾叶薯蓣的根茎, 主要活性成分为薯蓣皂甙元 (diosgenin), 含量为 3.3%~4.9%, 因含量高, 为合成肾上腺皮质激素类药物的重要原料 (江苏新医学院, 1986)。此外, 黄姜还含有 40% 的淀粉和 50% 的纤维素等成分 (韩应许, 1983), 淀粉可用于酿造工业生产酒精、酵母粉、肌苷粉、葡萄糖等; 纤维素, 可生产羧甲基纤维素。提取皂素的废液, 可提取农用核酸, 是优质肥料。薯蓣皂甙元是合成多种甾体激素和甾体避孕药比较理想的前体, 世界各国生产的甾体激素 60% 以上以它为原料 (宋发军, 2002), 从天然植物中提取的薯蓣皂甙元比合成的薯蓣皂甙元具有低毒, 副作用少等优

点。目前, 对黄姜中薯蓣皂甙元含量测定已有较多文献报道 (陈战国等, 1996; 陶莉, 1991), 但对提取皂甙元的定性及结构分析报道较少, 本文对黄姜中提取的薯蓣皂甙元进行了较系统的光谱定性定量分析, 为薯蓣皂甙元的进一步研究和开发奠定了一定的基础。

1 实验方法与结果

1.1 仪器和试剂

HH-4 数显恒温水浴锅 (郑州杜甫仪器厂), UV-756 紫外可见分光光度计 (上海第三分析仪器厂), 红外光谱仪 AVATAR360 (美国 Nicolet 公司); 黄姜根茎 (湖南浏阳黄姜培植基地, 2 年生, 11

收稿日期: 2006-02-28 修回日期: 2006-08-20

作者简介: 任凤莲 (1946-), 女, 河南叶县人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然植物研究开发。

月份采集);薯蓣皂甙元标准溶液(0.25 g/L):准确称取标准皂甙元 25.00 mg(浏阳金字公司提供),用少量石油醚溶解并定容到 100 mL;香荚兰醛冰醋酸溶液(W=5%);无水乙醇、石油醚、冰醋酸、高氯酸等均为分析纯。

1.2 薯蓣皂甙元的提取

选择生长期两年的黄姜根部,清洗,80 °C 下干燥,粉碎,过 60 目筛,准确称取 50 g,用去离子水浸润湿透发酵 24 h,加 1 mol/L 的硫酸溶液 200 mL 煮沸水解,然后用滤纸过滤,用蒸馏水洗去水解出的糖和多余的酸,直至中性,烘干滤渣,将干燥后的残渣置于索氏提取器的滤纸筒中,在底部烧瓶中加入 1 g 干燥的活性炭及 150 mL 石油醚,在 80 °C 的水浴中加热提取,使提取脱色一次完成,最后定容到 250 mL 容量瓶,进行定量定性分析(王元兰等,2002)。

1.3 薯蓣皂甙元的红外光谱分析

取一定量的薯蓣皂甙元提取液,水浴挥发掉石油醚,加无水乙醇溶解,用 AVATAR360 型红外光谱仪对处理后的薯蓣皂甙元样品溶液(a)和标准溶液(b)进行红外扫描,得红外光谱图。

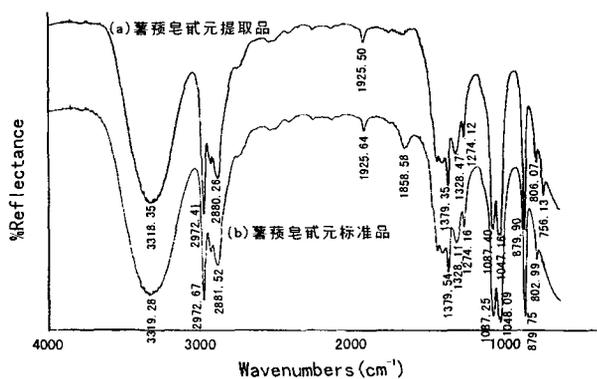


图 1 薯蓣皂甙元红外光谱

Fig. 1 Infrared spectrum of diosgenin

从图 1 的 IR 光谱中看出,薯蓣皂甙元提取液与薯蓣皂甙元标准品在几乎相同的波长处具有吸收峰,说明提取的薯蓣皂甙元与标准品具有相同的结构。

1.4 薯蓣皂甙元的紫外可见光谱扫描

取一定量的薯蓣皂甙元提取液(a)和标准液(b)于 10 mL 比色管中,水浴挥发掉溶剂,加入新配置的 5% 的香荚兰醛溶液 0.20 mL,高氯酸 0.80 mL,在 80 °C 水浴中加热 15 min,冰水冷却,加冰醋酸使其定容。放置 30 min 后,用 756MC 分光光度计以 0~5.000 为横坐标,从 190~700 nm 扫描,而后以 0~3.000 为横坐标,从 400~650 nm 扫描,如图 2。

从图 2 的 UV 扫描光谱中可以看出,显色后薯蓣皂甙元提取品与薯蓣皂甙元标准品在几乎相同的波长处具有吸收峰,可作为定性分析依据。

1.5 分光光度法测定薯蓣皂甙元含量

1.5.1 实验方法 移取一定量薯蓣皂甙元标准液于 10 mL 比色管中,水浴挥发掉溶剂。分别加入新配置的 5% 的香荚兰醛溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,水浴加热,冰水冷却,加冰醋酸定容。放置一定时间后,用 722 型分光光度计在一定波长处测定其吸光度。

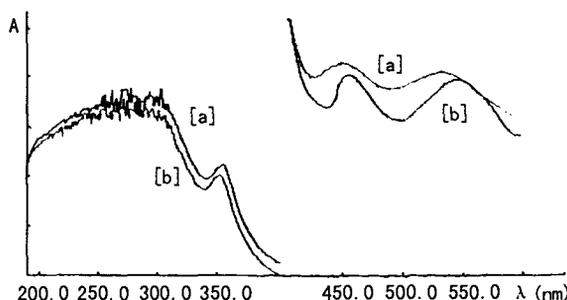


图 2 薯蓣皂甙元紫外可见光谱

Fig. 2 Ultraviolet-visible spectrum of diosgenin

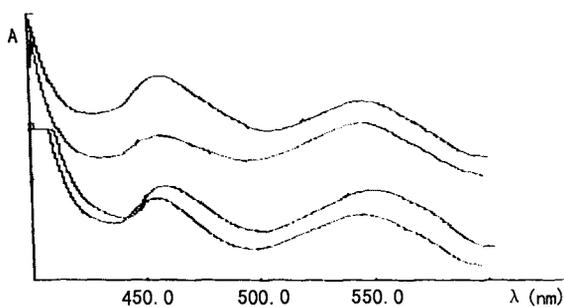


图 3 各浓度的标准皂甙元 400~600 nm 范围扫描图谱

Fig. 3 Spectrum of diosgenin from 400 to 600 nm

1.5.2 实验条件选择 (1)最佳吸收波长选择:准确吸取 0.25 g/L 的皂甙元标准溶液 0.3、0.4、0.5、0.6 mL 于比色管中,按实验方法让其显色,而后在 756MC 型分光光度计上在 400~600 nm 波长范围内进行扫描,扫描图谱如图 3。结果表明,各浓度的皂甙元标准液在 542 nm 处有一特征吸收峰,因此比色分析选择 542 nm 为测量波长。

(2)水浴条件选择:准确移取 5 份皂甙元标液 0.5 mL 于比色管中,按实验方法显色,在 542 nm 波长处测量其在不同水浴温度下的吸光度值(图 2)。结果表明:皂甙元标准液在 70~100 °C 范围内吸光度值变化不大,故本法选用 80 °C。

(3)准确移取 5 份皂甙元标液 0.3 mL 于比色

管中,在加热温度为 80 ± 0.5 °C 条件下,按实验方法显色,测定其在不同水浴时间下皂甙元的吸光值(图3)。结果表明:皂甙元标液在水浴时间为 15 min 时吸光度最大,故选用水浴加热时间为 15 min。

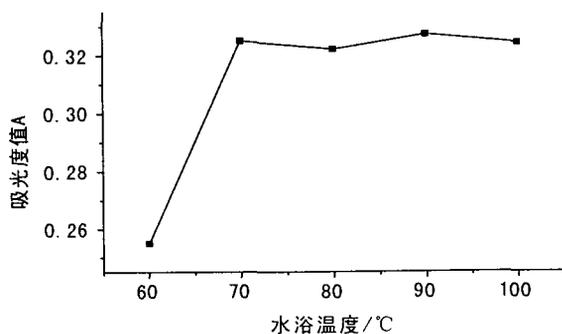


图4 水浴温度对吸光值的影响

Fig. 4 Effect of bath temperature on RSD

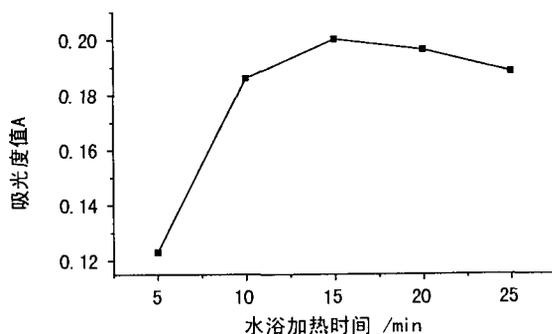


图5 水浴时间对吸光值的影响

Fig. 5 Effect of bath time on RSD

(4)显色时间:准确移取 5 份皂甙元标液 0.3 mL 于比色管中,按实验方法显色,测定其在不同静置显色时间下皂甙元的吸光值(图4)。结果表明:皂甙元标准溶液在显色时间为 30 min 时吸光度最大,因此选用显色时间为 30 min。

(5)显色剂加入次序选择:在实验中我们观察到显色剂的加入次序对吸光值有较大影响。实验表明,在其它条件不变情况下,试剂加入次序为:皂甙元+香荚兰醛+高氯酸+冰醋酸时为最佳。

1.5.3 校准曲线绘制 准确吸取 0.25 g/L 的皂甙元标准溶液 0.0、0.10、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.50、0.60 mL 于磨口具塞试管中,水浴挥发掉溶剂。按照实验方法并在最佳条件下以试剂做参比测其吸光度值,结果如图 5 所示。标准皂甙元在 542 nm 处的吸光度值在 0~15 mg/L 范围内呈良好线性,线性拟合为 $Y = -0.0437 + 0.02564X$ ($R = 0.99614$)。

1.5.4 黄姜中薯蓣皂甙元的测定 准确移取样品溶液 0.1、0.15、0.2 mL 于磨口具塞试管中,水浴挥发

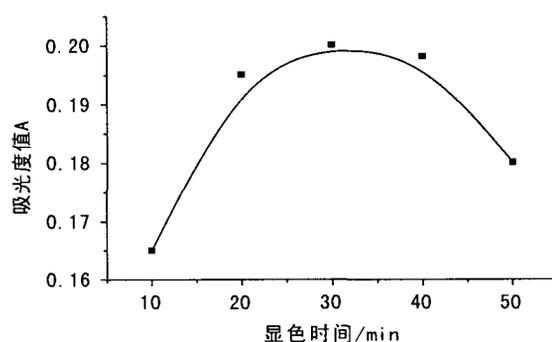


图6 显色时间对吸光度的影响

Fig. 6 Effect of emerging time on RSD

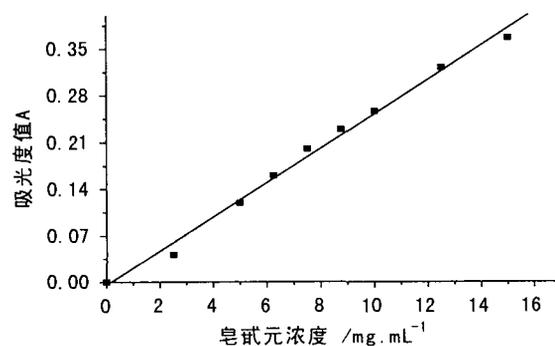


图7 薯蓣皂甙元光度法的工作曲线

Fig. 7 Working curve of diosgenin

掉溶剂。按照实验方法所示以试剂做参比测其吸光度值,得出皂甙元含量为:2.30%、2.25%、2.27%,平均含量为:2.273%,相对标准偏差为 1.1%。

1.5.5 回收实验 准确吸取薯蓣皂甙元提取液 0.1 mL 共 3 份,分别加入 0.25 g/L 的薯蓣皂甙元标准溶液 0.1、0.2、0.3 mL,按实验方法测定,计算加标回收率。结果见表 1。

表 1 回收实验

Table 1 Recovery experiment

试样量 Sample(μg)	加标量 Added(μg)	回收量 Found(μg)	回收率 Recovery(%)
46.1	25	69.1	97.2
46.1	50	93.5	97.3
46.1	75	119.7	98.8

3 结论

(1)盾叶薯蓣是世界上薯蓣属植物中皂甙元含量较高的种类,为我国所特有,从中提取及应用皂甙元,具有很大的开发和利用潜力,本文较相关文献,提取方法更加简便易行,有效改进了皂甙元提取工艺。

(下转第 642 页 Continue on page 642)

松、马尾松所占比例最大,主要与林种有关,但随着其他树种迅速生长,对森林生物量的贡献越来越大。

(4)根据潭江生物量的增长情况,探讨森林生态系统对流域经济开发的补偿作用,经济开发活动的碳释放与森林生态系统的碳存贮之间的相互关系是值得进一步研究的课题,定量研究流域的可持续性与生态系统安全也是我们下一步研究的重点与难点。

参考文献:

- Cao HL(曹洪麟),Ren H(任海),Peng SL(彭少麟). 1998. The community structure and energy characteristics of *Pinus elliottii* artificial forest in Heshan(鹤山湿地松人工林的群落结构与能量特征)[J]. *Guihaia*(广西植物),18(1):24-28.
- Fang JY(方精云). 2000. Forest biomass carbon pool of middle and high latitudes in the north hemisphere is probably much smaller than present estimates(北半球中高纬度的森林碳库可能远小于目前的估算)[J]. *Acta Phytoecol Sin*(植物生态学报),24(5):635-638.
- Fang JY(方精云),Chen AP(陈安平). 2001. Dynamic forest biomass carbon pools in China and their significance(中国森林植被碳库的动态变化及其意义)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报),43(9):967-973.
- Lin KM(林开敏),Luo FP(罗发潘),Zheng YS(郑郁善),et al. 1995. Study on conservation capacity of water in Masson pine community among closed forest(封山育林的马尾松群落水源涵养功能研究)[J]. *J Fujian Coll For*(福建林学院学报),15(3):262-266.
- Lin XL(林秀兰). 2002. Study on physical chemical characteristics and selection for utilization model of *Acacia auriculi-formis* plantation(大叶相思人工林木材理化特性及利用方式的研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学),38(5):21-127.
- Mo JM(莫江明),Peng SL(彭少麟),Sandra Brown, et al. 2004. Response of biomass production to human impacts in a pine forest in subtropical China(鼎湖山马尾松林群落生物量生产对人为干扰的响应)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),

24(2):193-200.

- Peng JY(彭江颖). 2003. Role of vegetation on balance of carbon and oxygen in the Pearl River Delta(珠江三角洲植被对区域碳氧平衡的作用)[J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatsen*(中山大学学报(自然科学版)),42(5):105-108.
- Qin LJ(秦丽杰),Zhang Y(张郁),Cao YQ(曹艳秋),et al. 2002. Study on the biomass and productivity of the forest ecosystem in the Changbai Mountain(长白山北坡森林生态系统的生物生产量及化学能研究)[J]. *J Northeast Normal Univ*(东北师大学报自然科学版),34(1):72-76.
- Sang WG(桑卫国),Su HX(苏宏新),Chen LZ(陈灵芝). 2002. Coupling biomass and energy in warm temperate deciduous broad-leaved Oak (*Quercus liaotungensis*) forest ecosystem(东灵山暖温带落叶阔叶林生物量和能量密度研究)[J]. *Acta Phytoecol Sin*(植物生态学报),26(增刊):88-92.
- Sun WJ(孙文娟),Huang Y(黄耀),Chen ST(陈书涛),et al. 2004. CO₂ emission from soil crop system as influenced by crop growth and tissue N content(作物生长和氮含量对土壤-作物系统 CO₂ 排放的影响)[J]. *Environ Sci*(环境科学),25(3):2-6.
- Wei P(魏平),Wen D Z(温达志),Huang ZL(黄忠良),et al. 1997. The biomass and characteristic of the dead trees in monsoon evergreen broad-leaved forest in Dinghushan(鼎湖山季风常绿阔叶林死木生物量及其特征)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),17(5):505-510.
- Woodwell G M R H, Whittaker W, A Reiners, et al. 1978. The biota and the world carbon budget[J]. *Science*,199:141-146.
- Wu ZF(吴正方),Deng HP(邓慧平). 1996. Responses of broad-leaved *Pinus koraiensis* forests to global climate change(东北阔叶红松林全球气候变化响应研究)[J]. *Acta Geo Sin*(地理学报),51(增刊):81-91.
- Yang QP(杨清培),Li MG(李鸣光),Li RW(李仁伟). 2001. Studies on the dynamic succession of *Pinus massoniana* community in Heishiding Natural Reserve(广东黑石顶自然保护区马尾松群落演替过程中的材积和生物量动态)[J]. *Guihaia*(广西植物),21(4):295-299.

.....

(上接第 686 页 Continue from page 686)

(2)盾叶薯蓣中皂甙元的改进提取方法很多,比如加酶发酵,加压加酸水解,以及用氯仿抽提等,这些方法确实能加大皂甙元的提取率,但是从经济效率以及环境保护出发却出现劣势,现有方法应该说在两者之间找到了一个较好的平衡点。

参考文献:

- 江苏新医学院. 1986. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,6:1 698.
- 陶莉. 1991. 盾叶薯蓣中薯蓣皂甙元的气相色谱测定[J]. *中草药*,22(6):252-253.
- 韩应许. 1983. 天然甾体原料概况[J]. *东药科技*,5:1-17.

- Chen ZG(陈战国),Gen Z(耿征),Liu QG(刘谦光),et al. 1996. Spectrophotometric determination of diosgenin in plants(薯蓣皂甙元的分光光度法测定)[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学),24(2):227-229.
- Song FJ(宋发军). 2002. Research and production status of diosgenin from *Dioscorea* plants of steroidal druggery fountain-head(甾体药物源植物薯蓣属植物中薯蓣皂甙元的研究及生产状况)[J]. *Nat Pro Res Develop*(天然产物研究与开发),14(3):89-93.
- Wang YL(王元兰),Li SF(李水芳),Yang Z(杨志),et al. 2002. A new technology for extracting diosgenin from *Dioscorea zingiberensis*(盾叶薯蓣皂甙元提取工艺研究)[J]. *Economic Fore Res*(经济林研究),20(2):67-68.