

Determination and Analysis of Total Alkaloids and Total Saponins Fruit of *E.oxycarpa* Schlecht for Xinjiang, China

Qeysar·Mementimin Tikin Gulshan·Abdusadir Mahiber·Eziz

Bio-geography Department of Khotan Teachers Normal College, Khotan, Xinjiang, 848000, China

Abstract

Objective: Analysis and quantitative study on total alkaloids of *Elaeagnus oxycarpa* and total saponins by using ethanol extraction method. **Methods:** By ultrasonic reflux extraction with 75% ethanol and 95% ethanol extract of *Elaeagnus oxycarpa* fruit in alkaloids and saponins, and determination of their contents. **Results:** The extraction rate of alkaloids and saponins was greater than of 75% ethanol. The determination of alkaloids and saponins with ethanol extract of *Elaeagnus oxycarpa* fruit in 75% when they were 5.173 and 2.163 (mg/100ml). **Conclusion:** The extraction of alkaloids and saponins with increasing ethanol concentration decreased; do anti-oxidation, concentration and sample volume of samples is of great importance, the best solvent extraction of alkaloids and saponins concentration of 75% ethanol.

Keywords

Elaeagnus oxycarpa Schlecht; alkaloids; saponins; content; determination

中国新疆尖果沙枣果实中总生物碱和总皂苷的含量测定及其分析

开赛尔·买买提明特肯 古丽仙·阿布萨迪尔 玛依拜尔·艾则孜

新疆和田师范专科学校生地学院, 中国·新疆 和田 848000

摘要

目的: 通过乙醇提取法分析和定量研究采用乙醇提取法对尖果沙枣的总皂苷的含量。**方法:** 采用 75% 乙醇和 95% 乙醇回流加热-超声提取法提取沙枣果实中的生物碱和皂苷, 测定其含量。**结果:** 75% 乙醇对生物碱和皂苷的提取率较高。当用 75% 乙醇提取物测定生物碱和皂苷时, 生物碱和皂苷的含量分别为 5.173 (mg/100ml) 和 2.163。**结论:** 生物碱和皂苷的提取率随乙醇浓度的增加而降低。当进行抗氧化时, 样品的浓度和取样量是重要的。最佳生物碱和总皂苷提取溶剂为 75% 乙醇。

关键词

尖果沙枣; 生物碱; 皂苷; 含量; 测定

1 尖果沙枣和甾醇的简介

1.1 尖果沙枣的简介

尖果沙枣 (*Elaeagnus oxycarpa* Schlecht) 是一种多年生灌木或落叶乔木属的落叶小树^[1], 广泛分布于中国北纬 34°。西北地区的沙漠和半沙漠地区以中国新疆南部塔里木河中下游为中心^[2], 它不仅具有具有高经济价值的多年生木本植物, 而且由于侧根的发育, 其根瘤可以得到改善。土壤肥力, 往往形成一个优良的生态树种密集簇^[3]。

【基金项目】 论文是我校 2016-2018 年的课题“新疆尖果沙枣有效成分提取及其活性研究” (项目编号: 1076515147) 的部分成果。

1.2 生物碱和总皂苷的简介

生物碱 (Alkaloids) 是一类含氮的基本有机化合物, 主要分布于植物, 但有些也存在于动物中, 具有碱性。它们大多数具有复杂的环状结构, 氮含在环中并具有显着的生物活性。它是中草药中重要的有效成分之一。它具有光学活性。它是中草药中重要的有效成分之一。生物碱的大多数分子结构属于仲胺, 叔胺或季胺, 少数是伯胺^[4]。

皂苷 (saponin), 昵称碱皂、皂苷、皂素、皂甙、皂角苷或皂草苷。它是一种糖苷, 其糖苷配基是三萜类化合物或螺旋甾烷类化合物, 主要分布在陆地的高等植物中。它们种类繁多, 成分复杂, 难以结晶, 大多为无色或白色无定形粉末, 大多数皂苷具有苦味和辛辣味。皂苷是极高性的, 通常可溶

于水，可溶于热水、稀醇，几乎不溶于亲脂性溶剂，如石油醚，苯和乙醚。皂苷在正丁醇或戊醇水溶液中具有高溶解度，因此正丁醇通常用作从水溶液中分离皂苷的溶剂。皂苷还具有抗菌活性或有价值的生物活性，如解热、镇静和抗癌^[4]。

2 材料和方法

2.1 实验材料

所用样品来自中国新疆和田区墨玉县种植的枣树。

2.2 实验方法

2.2.1 样品预处理

取一定量洗净的分两部分作为样品。第一个样品除去果仁，将果肉于恒温干燥箱中 95105℃下烘烤 2h，烘干后粉碎机中粉碎。第二个样品将果仁在 95105℃下烘干后粉碎机粉碎，80 目过筛。试验前据实验方案取一定量的恒重，备用。

2.2.2 实验方法

取一定量的被洗净的尖果沙枣，取两份作为样品。首先，除去它的坚果，将纸浆在 95 ~ 105℃的恒温干燥箱中烘烤 2h，然后在干燥后在粉碎机中粉碎。其次，将坚果在 95~105℃下干燥，用粉碎机粉碎，并在 80 目筛子下筛分。最后，在测试之前，根据实验方案，将一定量的尖果沙枣果实粉末烘至恒重以供使用。

2.3 实验步骤

2.3.1 提取

(1) 尖果沙枣果实中生物碱的提取

分别采用 75% 和 95% 乙醇作为尖果沙枣果实生物碱提取试剂进行回流加热 - 超声波双提法提取生物碱，最后用紫外分光光度法测定果实中的生物碱含量，确定最佳提取物，溶剂浓度的生物碱。

(2) 不同提取条件对尖果沙枣果实中生物碱提取率的影响

分别用 75% 和 95% 乙醇提取尖果沙枣果实中的生物碱并提取结果，其提取结果如表 1 所示。

表 1 不同乙醇浓度下尖果沙枣果实中生物碱的提取含量

提取方法 extraction method	乙醇加热回流 - 超声提取法 ethanol heating reflux & ultrasonic extraction method	
乙醇浓度	75%	95%
总生物碱质量百分数 (%)	80.15%	49.78%

从表 1 可以看出，使用 75% 浓度的乙醇加热回流 - 超声提取效率更高，提取率高达 80.15%。同时，可以看出乙醇的浓度会影响尖果沙枣果实中生物碱的提取。当乙醇浓度过高时，生物碱的提取率会降低，通过分析提取的游离生物碱是一种碱性化合物，当乙醇浓度过高时，更多的乙醇会与生物碱发生化学相互作用，从而导致游离生物碱的减少。

(3) 从尖果沙枣果实中提取总皂苷

根据一定比例的物料与液体加入不同的乙醇溶液，提取滤液，减压浓缩，准确称取 10g 干燥的尖果沙枣果实。然后加入少量水溶解，加少许石油醚，摇匀，用旋转蒸发器将得到的水相蒸发至干，溶于蒸馏水中，所得溶液用水和饱和正丁醇萃取三次，通过旋转蒸发器蒸发至干燥，测定总皂苷含量以及确定最佳总皂苷提取条件。

沙枣果实粉 → 乙醇浸提 → 过滤 → 减压浓缩 → 加水溶解 → 石油醚萃取 → 用水饱和正丁醇萃取 → 浓缩蒸干 → 备用。

第一步，准确称取 10g 枣果粉，按一定比例的物料加液加乙醇，在一定温度的水浴中提取，提取 3 次，过滤合并的滤液，减压浓缩。

第二步，通过加入少量水并在减压浓缩后加入石油醚得到的水层（上层）用旋转蒸发器蒸发至浓缩。

第三步，然后将所得浓缩物重新溶解在蒸馏水中并用饱和丁醇萃取三次。

第四步，用旋转蒸发器将得到的有机层（上层）蒸发至浓缩，并取出备用。

(4) 不同提取条件对尖果沙枣果实中总皂苷提取含量的影响

分别采用 75% 和 95% 浓度的乙醇对尖果沙枣果实中的总皂苷进行提取，其提取结果如表 2 所示。

表 2 不同乙醇浓度下尖果沙枣果实中总皂苷的提取含量

提取方法 extraction method	乙醇加热回流 - 超声提取法 ethanol heating reflux ultrasonic extraction method	
乙醇浓度	75%	95%
总皂苷含量 (ug/ml)	2.095	0.586

从表 2 中可以看出，尖果沙枣果实中的总皂苷用 75% 乙醇提取，总皂苷含量测定为 2.095ug/ml。当使用 95% 乙醇作为提取溶剂时，总皂苷提取物含量相对较低，为 0.586ug/ml。可以看出，乙醇浓度对中华鳖果实中总皂苷的提取也有很大影响。通过实验可以确定，当乙醇浓度为 75% 时，总皂苷的

提取率较高。

2.3.2 测定

(1) 总皂苷的测定方法

第一，标准溶液的制备。在 50ml 容量瓶中准确称取 5.00mg 齐墩果酸对照品，用甲醇溶解，稀释至刻度，得到浓度为 0.100mg/ml 的对照品溶液，并储存于冰箱供以后使用。

第二，样品制备准确称取 0.030g 预先制备的样品，将其溶解在甲醇中，并将其稀释到 100ml 容量瓶中，浓度为 0.030mg/ml。

第三，标准曲线的绘制。可用紫外线可见分光光度法测定总皂苷含量，以尖果沙枣 - 果酸标准品为外标曲线。具体步骤分别为：0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6ml/h 在试管中制备对照溶液，蒸发至溶解，加入 0.4ml 新鲜的 5% 香草醛冰醋酸溶液，1.6ml 高氯酸，在 70℃ 水浴中加热 15 分钟，然后用冰水浴冷却，然后加入 5 毫升冰醋酸，摇匀，静置 10 分钟，测量 540 纳米处的吸光度，浓度 C 为横坐标 (x 轴)，吸光度 A 为纵坐标 (Y 轴)，并列出的方程式。

(2) 样品测定

取 0.3ml 样品放入试管中，干燥并溶剂，加入 0.4ml 新鲜的 5% 香草醛冰醋酸溶液，1.6ml 高氯酸，在 70℃ 水温下加热 15 分钟后，置于冰中用水浴冷却，然后加入 5ml 冰醋酸，充分摇动混合物，静置 10 分钟，在 540nm 波长下测量吸光度。

(3) 皂苷的鉴定

liberman-Burchard 反应：取 5ml 滤液并用乙酸酐溶解，然后滴加 1 滴浓硫酸，摇匀，变色为黄 - 红 - 蓝，表明三萜皂苷。

泡沫实验：水溶液振荡产生大量高度为 2 厘米的蜂窝状气泡，并且在 10 分钟内不会消失。

加入 2ml 尖果沙枣总皂苷水溶液。向泡沫中加入 2 滴 5% HCl 和 5% NaOH 溶液并摇动 1 分钟。两个管的泡沫高度相似，表明它是三萜皂苷。

2.3.3 测定结果

(1) 总生物碱的测定结果

表 3 不同乙醇浓度下尖果沙枣果实中生物碱的提取含量

提取方法 extraction method	乙醇加热回流 - 超声波提取法 ethanol heating reflux and ultrasonic extraction method	
乙醇浓度 (%)	75	95
总生物碱质量 (%)	80.15	49.78

(2) 总生物碱的结果分析

表 4 用比色法测定尖果沙枣果实总生物碱含量

提取方法 extraction method	乙醇加热提取法 (Heating the ethanol extraction)	
乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	75	95
吸光值 A (Absorbance value A)	0.149	0.115
吸光值 B (Absorbance value B)	0.149	0.115
吸光值 C (Absorbance value C)	0.148	0.114
总生物碱的含量 (mg/100mL) The content of total alkaloid	5.173	3.950

从表 4 可以看出，75% 乙醇加热回流的超声提取方法效率最高；比色法和重量法得到的总生物碱含量分别为 5.173 mg/100 mL 和 80.148%；用 95% 乙醇加热回流 - 超声提取效率低；通过比色法和重量法得到的总生物碱分别为 3.950mg/100mL 和 49.774%。

(3) 总皂苷测定与分析

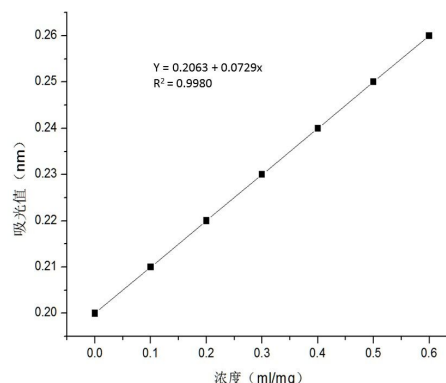


图 1 总皂苷含量的标准曲线

表 5 不同乙醇浓度下尖果沙枣果实中总皂苷的提取含量

提取方法 extraction method	乙醇加热回流 - 超声提取法 ethanol heating reflux, ultrasonic extraction method	
乙醇浓度	75%	95%
总皂苷含量 (ug/ml)	2.095	0.586

从表 3 和图 1 中可以看出，尖果沙枣果实皂苷被加热并与乙醇一起回流。由于超声提取过程中乙醇浓度的差异，提取物中总皂苷的含量不同。用 75% 乙醇提取皂苷，测定总皂苷含量为 2.095μg/ml，而用 95% 乙醇提取的总皂苷含量相对较低，为 0.586μg/ml。可以看出，乙醇浓度对皂苷的提取有很大影响。当乙醇浓度为 75% 时，皂苷的提取率较高。在 540nm 的波长下测量吸光度，在横坐标 (x 轴) 上绘制浓度 C，在纵坐标 (Y 轴) 上绘制吸光度 A，并列出的方程。

$A=0.2063 + 0.0729^{\circ}C$; $R^2=0.9980$ 。

3 结论

影响尖果沙枣果实总生物碱提取的因素顺序为：料液比>超声时间=超声时间>乙醇浓度。当提取总皂苷和生物碱时，最佳提取溶剂乙醇浓度测定为75%，并且发现过量乙醇浓度降低总皂苷和生物碱的相对含量。

参考文献

- [1] 方文培,张泽荣,宋滋圃.中国植物志(第52卷)[M].北京:科学出版社,1983.
- [2] 周建明.新疆的沙枣资源[J].生物学杂志,1991(03):19-20.
- [3] 常兆丰,屠振栋.沙枣资源开发利用研究综述[J].甘肃林业科技,1994(02):38-40.
- [4] 宵崇厚.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1997.
- [5] 陶大勇,李树伟.沙枣化学成分的提取分离及药敏实验[J].中兽医医药杂志.2005(31):10014.
- [6] 姚新兰,吴立军.天然药物化学(第4版)[M].上海:人民卫生出版社,2004.
- [7] 中国科学院上海药物研究所.中草药有效成分提取(第2版)[M].上海:上海技术出版社,1998.
- [8] 王晓荣,魏朔南.沙枣生物学及其主要化学成分的研究[J].陕西农业科学,2010(06):47.
- [9] 石同,魏鸿雅,夏提古力.阿不利孜,等.沙枣成分及药理作用研究进展[J].新疆中药民族药研究所,2011(31):36-39.
- [10] 唐洁.植物多糖生物活性功能的研究进展[J].食品研究开发,2006(05):130-131.
- [11] 朱自强.超临界流体技术原理和应用[M].北京:北京化学工业出版社,2000.
- [12] 中国科学院上海药物研究所.中草药有效成分提取(第2版)[M].上海:上海技术出版社,1998.