

石子林, 李军乔, 王雅琼, 等. 密花香薷总皂苷提取工艺优化及其生物活性[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(1): 185-191.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.01.024

密花香薷总皂苷提取工艺优化及其生物活性

石子林^{1,2,3}, 李军乔^{1,2,3}, 王雅琼^{1,2,3}, 金占林^{1,2,3}

(1. 青海民族大学青藏高原藏药研究中心, 青海 西宁 810000; 2. 青海省特色经济植物高值化利用重点实验室, 青海 西宁 810000; 3. 青海民族大学生态环境与资源学院, 青海 西宁 810000)

摘要: 使用响应面法优化密花香薷总皂苷提取工艺并探究其抗氧化活性及抑菌活性。以密花香薷总皂苷提取率为评估指标, 以液料比、乙醇体积分数、提取时间和提取温度为因素, 在单因素试验基础上, 结合响应面法优化密花香薷总皂苷提取工艺; 采用 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)及 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除法测定密花香薷总皂苷的抗氧化活性; 并使用金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及酵母菌进行抑菌试验测定其抑菌活性。结果表明, 最佳提取工艺条件为: 液料比 20:1 (体积质量比), 乙醇体积分数 62%, 提取时间 125 min, 提取温度 69 ℃, 在此提取工艺下, 提取率为 1.19%。密花香薷总皂苷对 ABTS 自由基、DPPH 自由基的半抑制质量浓度(IC_{50})分别为 0.74 mg/ml、0.56 mg/ml。密花香薷总皂苷对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及酵母菌均有抑制作用, 在质量浓度为 1.0 mg/ml 时对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑制作用强于对酵母菌的抑制作用。说明, 采用响应面法得到的密花香薷总皂苷的最佳提取工艺简便可行, 且提取的总皂苷具有较好的抗氧化活性及抑菌活性。

关键词: 密花香薷; 皂苷; 响应面法; 提取工艺; 抗氧化活性; 抑菌活性

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)01-0185-07

Optimization on the extraction process of total saponins from the *Elsholtzia densa* Benth. and its biological activity

SHI Zi-lin^{1,2,3}, LI Jun-qiao^{1,2,3}, WANG Ya-qiong^{1,2,3}, JIN Zhan-lin^{1,2,3}

(1. Tibetan Plateau Juema Research Centre, Qinghai University for Nationalities, Xining 810000, China; 2. Qinghai Provincial Key Laboratory of High-value Utilization of Characteristic Economic Plants, Xining 810000, China; 3. College of Ecological Environment and Resources, Qinghai University for Nationalities, Xining 810000, China)

Abstract: Response surface methodology was used to optimize the extraction process of total saponins from *Elsholtzia densa* Benth. and explore its antioxidant and antibacterial activities. Taking liquid-solid ratio, ethanol concentration, extraction time and extraction temperature as factors, extraction rate of total saponins from *Elsholtzia densa* Benth. as evaluation index, the extraction process was optimized by response surface methodology on the basis of single factor test. The antioxidant activity of total saponins was determined by 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals scavenging methods. In addition, the antibacterial activity was tested by *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and yeast. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: liquid-solid ratio 20 ml/g, ethanol concentration 62%, extraction time 125 min, extraction temperature 69 ℃. Under the above conditions, the yield was 1.19%. The half-inhibiting concentrations of ABTS and DPPH for the total saponins were 0.74 mg/ml and 0.56 mg/ml, respectively. The total saponins from *Elsholtzia densa* Benth. had inhibitory effects on,

收稿日期: 2020-05-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660425); 2019 年度青海省“高端创新人才千人计划培养拔尖人才”项目; 青海省自然科学基金项目(2019-ZJ-978Q); 青海民族大学 2019 年度校级理工自然科学项目(2019XJG08)

作者简介: 石子林(1996-), 男, 湖北黄石人, 硕士研究生, 研究方向为药用植物开发与利用。(E-mail) 2424632465@qq.com

通讯作者: 李军乔, (E-mail) ljqlily2002@126.com

reus, *Escherichia coli* and yeast. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: liquid-solid ratio 20 ml/g, ethanol concentration 62%, extraction time 125 min, extraction temperature 69 ℃. Under the above conditions, the yield was 1.19%. The half-inhibiting concentrations of ABTS and DPPH for the total saponins were 0.74 mg/ml and 0.56 mg/ml, respectively. The total saponins from *Elsholtzia densa* Benth. had inhibitory effects on,

and yeast. Moreover, the inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was stronger at the concentration of 1.0 mg/ml. In conclusion, the optimum extraction process of total saponins from *Elsholtzia densa* Benth. by response surface methodology is convenient and feasible, and the total saponins have good antioxidant and antibacterial activity.

Key words: *Elsholtzia densa* Benth.; saponins; response surface methodology; extraction process; antioxidant activity; antibacterial activity

密花香薷 (*Elsholtzia densa* Benth.) 为唇形科 (Labiatae) 香薷属 (*Elsholtzia*) 植物^[1], 一年生草本, 广泛分布于青海、四川、甘肃、西藏等海拔 2 800~4 100 m 的高山、林缘、草甸等环境中^[2]。密花香薷是中国的一种重要的野生草本蜜源植物、芳香植物, 具有较高的药用价值^[3], 可全草入药, 具有治疗夏季感冒、发热无汗等功效^[4]。

密花香薷在田间分布广泛且常被当做恶性杂草, 综合开发利用密花香薷, 既可使其变废为宝, 又大大减少除草剂使用, 保护环境。包锦渊等^[5]研究发现, 密花香薷体内含有皂苷、黄酮、多糖、有机酸、蒽醌等活性成分。密花香薷具有较为发达的蜜腺^[6], 目前对于其挥发性成分的研究较为充分, Zhou 等^[7]用水蒸气蒸馏法提取密花香薷中的挥发油成分并进行 GC-MS 分析, 结果表明密花香薷挥发油中主要成分有 4-吡啶醇以及麝香草酚, 且密花香薷挥发油具有潜在的杀螨活性。石子林等^[8]用水提醇沉法对密花香薷多糖进行提取, 优化工艺后最佳工艺下密花香薷多糖提取率为 1.88%。目前尚未发现对密花香薷总皂苷的研究。

植物皂苷由糖和皂苷元组成, 是一种天然的活性物质, 其具有抗菌^[9]、抗氧化^[10]、抗肿瘤、抗疲劳^[11]以及降血糖^[12]等多种作用。王晓娟等^[13]对土家族药物扣子七中的三萜皂苷进行研究, 得出其抗肿瘤活性与齐墩果烷型皂苷密切相关。本试验采用单因素试验结合响应面法对密花香薷总皂苷进行提取工艺优化, 并对所提取的总皂苷进行抗氧化以及抗菌活性研究, 为今后密花香薷总皂苷的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

密花香薷于 2019 年 6 月采自青海省西宁市湟源县牧场村蕨麻种植基地, 经青海民族大学生态环境与资源学院李军乔教授鉴定为唇形科香薷属植物密花香薷。齐墩果酸标准品、1,1-二苯基-2-三硝基苯

(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 均购自上海源叶生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98\%$, 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及酵母菌均购自上海鲁威科技有限公司, 其余试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

仪表恒温水浴锅 (龙口市电炉制造厂产品)、EPED-20TH 实验室级超纯水器 (南京易普易达科技发展有限公司产品)、UV-5500 型紫外-可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司产品)

1.3 材料预处理

将采摘的密花香薷全草自然风干至恒质量, 粉碎, 过 60 目筛, 采用液料比 10:1 (体积质量比) 的石油醚回流脱脂, 抽滤后取滤渣, 风干, 备用。

1.4 试验方法

称取 1 g 密花香薷粉末, 以一定浓度的乙醇做溶剂, 按一定比例的液料比, 在一定温度下提取一定时间后, 抽滤, 取滤液, 旋干滤液后, 用 10.0 ml 的乙醇定容, 取 0.2 ml 定容后的滤液, 在 80 ℃ 水浴下挥发掉溶剂, 加 0.2 ml 5% 香草醛-冰醋酸溶液, 再加 0.8 ml 高氯酸溶液, 70 ℃ 水浴 10 min 后加冰醋酸定容至 10.0 ml, 之后于 550 nm 波长下测其吸光度。

1.5 标准曲线的制备

取 5 mg 齐墩果酸标准品溶于 50.0 ml 乙醇中得 0.1 mg/ml 的齐墩果酸标准品溶液。分别吸取 0.2 ml、0.4 ml、0.6 ml、0.8 ml、1.0 ml 标准品溶液于试管中, 80 ℃ 水浴挥发掉试管内溶剂, 按方法 1.4 中的方法显色后测其吸光度 (A)。以纯水为空白对照, 以吸光度 (A) 为纵坐标, 质量浓度 (x) 为横坐标, 回归方程为: $Y = 34.2000x + 0.0608$ ($R^2 = 0.9995$), 在 0.002 mg/ml 至 0.010 mg/ml 范围内线性关系良好。

1.6 密花香薷总皂苷得率的测定

密花香薷总皂苷得率 = (密花香薷总皂苷质量 / 密花香薷粉末质量) $\times 100\%$

1.7 密花香薷总皂苷提取单因素试验

按方法 1.4 的试验方法, 研究液料比、乙醇体积分数、提取时间以及提取温度 4 个因素对密花香

薷总皂苷提取率的影响。

1.7.1 液料比 称取 2 g 密花香薷粉末,固定乙醇浓度 70%,提取时间 90 min,温度 70 ℃,考察不同液料比(体积质量比)(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1)对密花香薷总皂苷提取率的影响。

1.7.2 乙醇体积分数 称取 2 g 密花香薷粉末,固定液料比 20:1(体积质量比),提取时间 90 min,提取温度 70 ℃,考察不同乙醇体积分数(50%、60%、70%、80%、90%)对密花香薷总皂苷提取率的影响。

1.7.3 提取时间 称取 2 g 密花香薷粉末,固定液料比 20:1(体积质量比),乙醇体积分数 60%,提取温度 70 ℃,考察不同提取时间(30 min、60 min、90 min、120 min、150 min)对密花香薷总皂苷提取率的影响。

1.7.4 提取温度 称取 2 g 密花香薷粉末,固定液料比 20:1(体积质量比),乙醇体积分数 60%,提取时间 120 min,考察不同提取温度(50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃)对密花香薷总皂苷提取率的影响。

1.8 密花香薷总皂苷提取工艺的响应面优化

在上述单因素试验的基础上,以乙醇体积分数(A)、提取时间(B)、提取温度(C)为自变量,以密花香薷总皂苷提取率(Y)为响应值,应用 Box-Behnken 响应面法试验设计原理,采取 3 因素 3 水平试验来选取最佳提取工艺。试验因素水平见表 1。

表 1 响应面法各试验因素水平

Table 1 Analytical factors and levels for response surface methodology (RSM)

水平	乙醇体积分数 (%)	提取时间 (min)	提取温度 (℃)
-1	50	90	60
0	60	120	70
1	70	150	80

1.9 密花香薷总皂苷抗氧化性试验

1.9.1 ABTS 自由基清除试验 将最佳条件下提取的密花香薷总皂苷配制成质量浓度为 0.2 mg/ml、0.4 mg/ml、0.6 mg/ml、0.8 mg/ml、1.0 mg/ml、1.2 mg/ml、1.4 mg/ml、1.6 mg/ml 的总皂苷溶液。将 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液与 7.00 mmol/L ABTS 溶液等体积混合后避光静置过夜,再用纯水将其稀释成 $\lambda_{734}=0.70\pm0.02$,得到 ABTS^{•+} 工作液。精密吸取各质量浓度的密花香薷总皂苷溶液 0.1 ml 于试管中,滴加 3.9 ml 工作液,摇匀,避光静置反应 30

min 后于 734 nm 波长处测其吸光度,得样品组的清除率(A_1)。空白组 A_0 用 0.1 ml 超纯水代替总皂苷溶液,对照组 A_2 则用 3.9 ml 无水乙醇代替 ABTS^{•+} 工作液。以 V_c 为阳性对照,平行试验 3 次,取平均值。清除率公式如下:

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

1.9.2 DPPH 自由基清除试验 将最佳条件下提取的密花香薷总皂苷配制成质量浓度为 0.2 mg/ml、0.4 mg/ml、0.6 mg/ml、0.8 mg/ml、1.0 mg/ml、1.2 mg/ml、1.4 mg/ml、1.6 mg/ml 的总皂苷溶液。配制 40 $\mu\text{g/ml}$ 的 DPPH 溶液,分别精密吸取各质量浓度的密花香薷总皂苷溶液 0.1 ml 于 1.0 ml 试管中,滴加 0.1 ml DPPH 溶液,作为样品组 A_1 ,空白组 A_0 用 0.1 ml 超纯水代替总皂苷溶液,对照组 A_2 则用 0.1 ml 无水乙醇代替 DPPH 溶液。以 V_c 为阳性对照,平行试验 3 次,取平均值。

1.10 密花香薷总皂苷抑菌活性试验

1.10.1 培养基的制备 LB 液体培养基:蛋白胨 6 g/L、氯化钠 6 g/L、牛肉膏 3 g/L,再用 2 mol/L 的氢氧化钠调节 pH 为 7.1,用超纯水定容至 500 ml,在 125 ℃ 下灭菌 30 min。向 LB 液体培养基中加入 2% 的琼脂制成 LB 固体培养基。

马铃薯葡萄糖肉汤(PDB)培养基:称 100 g 去皮后的土豆,切碎后加水 500 ml,放入锅中煮沸 25 min,用纱布趁热将其过滤,弃除滤渣,将滤液补水至 500 ml,加 10 g 葡萄糖,在 115 ℃ 下灭菌 30 min。

1.10.2 抑菌活性试验 以金黄色葡萄球菌、酵母菌、大肠杆菌 3 种菌为指示菌,将活化后的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌种接入到 LB 液体培养基中,于 35 ℃ 的恒温振荡培养箱中培养 24 h,将活化后的酵母菌菌种接种到 PDB 培养基中,于 30 ℃ 的恒温振荡培养箱中培养 24 h,用移液枪分别吸取 0.2 ml 细菌含量为 1.0×10^7 CFU/ml 的 2 种细菌菌悬液于 LB 固体培养基中,吸取 0.2 ml 细菌含量为 1.0×10^7 CFU/ml 的酵母菌菌悬液于 PDB 培养基中,涂抹均匀后打孔,吸取 0.1 ml 质量浓度为 1.0 mg/ml 的密花香薷总皂苷提取液于孔中,放置恒温培养箱中培养 24 h 后,测定其抑菌圈直径。

2 结果与分析

2.1 密花香薷总皂苷提取工艺单因素试验

2.1.1 液料比 如图 1A 所示,密花香薷总皂苷提取

率随着液料比的增大呈现先增大再减小的趋势,这可能是因为液料比过高,旋蒸时间过长,导致总皂苷有所损失。当液料比为 20:1(体积质量比)时,提取率达到最大值,此时的提取率为 0.87%。因此,选择密花香薷总皂苷提取工艺的最佳液料比为 20:1(体积质量比)。

2.1.2 乙醇体积分数 如图 1B 所示,密花香薷总皂苷提取率随着乙醇体积分数的增大呈现先增大再减小的趋势,当乙醇体积分数为 60%时,提取率达到最大值,此时的提取率为 0.95%。因此,选择密花香薷总皂苷提取工艺的最佳乙醇体积分数为 60%。

2.1.3 提取时间 如图 1C 所示,密花香薷总皂苷提取率随着提取时间的增加呈现先增大再减小的趋势,可能是因为提取时间过长,导致提取出的总皂苷又被水解。当提取时间为 120 min 时,提取率达到最大值,此时的提取率为 1.17%。因此,选择密花香薷总皂苷提取工艺的最佳提取时间为 120 min。

2.1.4 提取温度 如图 1D 所示,密花香薷总皂苷提取率随着提取温度的增大呈现先增大再减小的趋势,这可能是由于温度过高,导致提取出的总皂苷被分解。当提取温度为 70 ℃时,提取率达到最大值,此时的提取率为 1.19%。因此,选择密花香薷总皂苷提取工艺的最佳提取温度为 70 ℃。

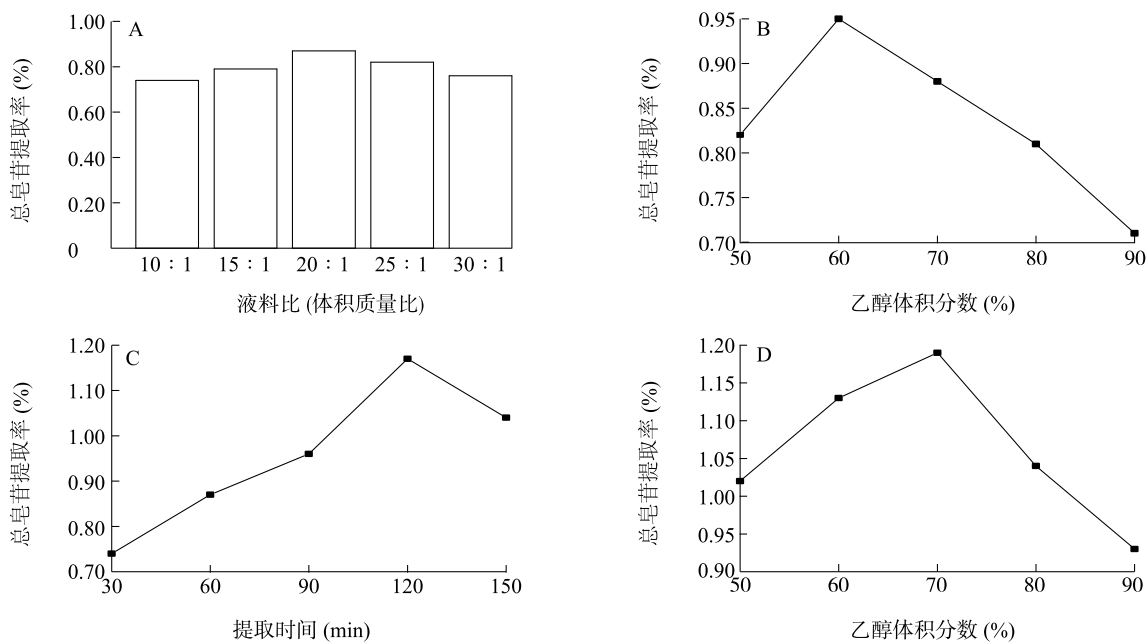


图 1 液料比(A)、乙醇体积分数(B)、提取时间(C)和提取温度(D)对密花香薷总皂苷提取率的影响

Fig.1 Effects of liquid-solid ratio(A), ethanol concentration(B), extraction time(C) and extraction temperature(D) on the yield of total saponins

2.2 响应面法优化密花香薷总皂苷提取工艺试验

选取上述单因素试验中对密花香薷总皂苷提取率影响较大的 3 个因素:乙醇体积分数(A)、提取时间(B)、提取温度(C),以密花香薷总皂苷提取率(Y)为响应值,利用 Box-Behnken 响应面法试验设计原理,进行试验设计,试验设计方案及结果如表 2 所示,利用 Design-Expert8.0.6 软件对表 2 结果进行回归统计分析,所得回归方程如下:

$$Y = -10.389800 + 0.175675A + 0.048608B + 0.091100C + 0.000008AB - 0.000050AC - 0.000067BC - 0.001403A^2 - 0.000178B^2 - 0.000578C^2$$

为了检验此回归方程的可靠性,进一步分析各因素对密花香薷总皂苷提取率的影响,对此回归方程进行方差分析。由表 3 可知,该模型 $F=40.3055$, $P<0.01$ (差异极显著),表明差异具有统计学意义;失拟项的 $P=0.5713>0.05$ (差异不显著),表明差异无统计学意义;上述模型的 P 值及失拟项的 P 值说明该方程对试验结果具有良好的拟合性,试验误差比较小。该方程的 $R^2=0.9811$,说明此模型对本实验结果具有较好的拟合性; $R_{adj}^2=0.9567$ 说明该模型可解释 95.67%的响应值变化。

模型中的一次项 A 和 B,二次项 A^2 、 B^2 和 C^2 均

小于 0.05,说明乙醇体积分数、提取时间以及乙醇体积分数、提取时间、提取温度的二次项对总皂苷提取率具有显著影响;而提取温度以及三因素的交互项显著性较差,表明该试验因素对响应值不是简单的线性关系,而是一种非线性关系。由表 3 的 F 值大小可推断三因素对密花香薷总皂苷提取率影响的强弱, F 值越大,说明影响越强,越小则越弱。因此,各因素对密花香薷总皂苷提取率影响的强弱为:提取时间>乙醇体积分数>提取温度。

表 2 Box-Behnken 响应面试验设计及结果

Table 2 Design and results of Box-Behnken experiment

序号	各因素水平			总皂苷提取率(%)
	乙醇体积分数	提取时间	提取温度	
1	-1	-1	0	0.81
2	1	-1	0	0.89
3	-1	1	0	0.92
4	1	1	0	1.01
5	-1	0	-1	0.97
6	1	0	-1	1.09
7	-1	0	1	0.94
8	1	0	1	1.04
9	0	-1	-1	0.92
10	0	1	-1	1.05
11	0	-1	1	0.97
12	0	1	1	1.02
13	0	0	0	1.23
14	0	0	0	1.24
15	0	0	0	1.21
16	0	0	0	1.17
17	0	0	0	1.19

为了更直观地看出各因素对密花香薷总皂苷提取率的影响,绘制了三维响应面图,响应面图坡度越陡峭,则说明试验因素对密花香薷总皂苷提取率的影响越大。

图 2 显示,当乙醇体积分数在 50%~62%,提取时间在 90~125 min 时,密花香薷总皂苷提取率随着乙醇浓度及提取时间的增大而逐渐增大,之后则逐渐降低,且提取时间曲面较乙醇体积分数曲面更为陡峭,说明提取时间较乙醇体积分数对密花香薷总皂苷提取率影响更为显著。

表 3 回归方程模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值
模型	0.267 139	9	0.029 682	40.305 500	< 0.000 1
A	0.019 013	1	0.019 013	25.817 170	0.001 4
B	0.021 013	1	0.021 013	28.532 980	0.001 1
C	0.000 450	1	0.000 450	0.611 057	0.460 0
AB	0.000 025	1	0.000 025	0.033 948	0.859 0
AC	0.000 010	1	0.000 010	0.135 790	0.723 4
BC	0.001 600	1	0.001 600	2.172 648	0.184 0
A^2	0.082 821	1	0.082 821	112.463 500	< 0.000 1
B^2	0.108 127	1	0.108 127	146.825 600	< 0.000 1
C^2	0.014 042	1	0.014 042	19.068 200	0.003 3
残差	0.005 155	7	0.000 736		
失拟差	0.001 875	3	0.000 625	0.762 195	0.571 3
残误差	0.003 280	4	0.000 820		

A :乙醇体积分数; B :提取时间; C :提取温度。 $P<0.01$ 表明差异极显著; $P<0.05$ 表明差异显著。

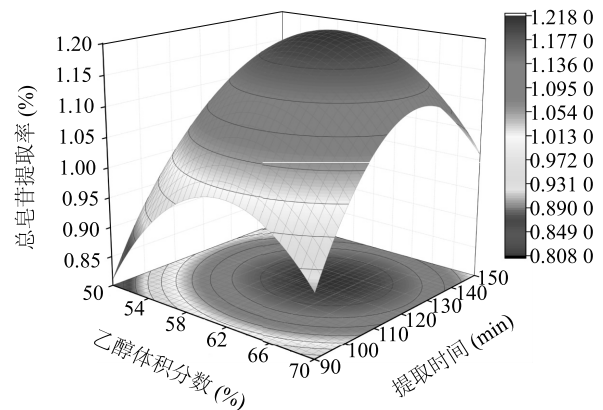


图 2 总皂苷提取率随乙醇体积分数及提取时间变化的响应面图

Fig.2 Response surface plot of total saponins extraction rate with ethanol concentration and extraction time

图 3 显示,当乙醇体积分数在 50%~62%,提取温度在 60~70 ℃时,密花香薷总皂苷提取率随着乙醇浓度及提取温度的增大而逐渐增大,之后则逐渐降低,且乙醇体积分数曲面较提取温度曲面更为陡峭,说明乙醇体积分数较提取温度对密花香薷总皂苷提取率影响更为显著。

图 4 显示,当提取时间在 90~125 min,提取温度在 60~70 ℃时,密花香薷总皂苷提取率随提取时间及提取温度的增大而逐渐增大,之后则逐渐降低,且提取时间曲面较提取温度曲面更为陡峭,说明提取时间较提取温度对密花香薷总皂苷提取率影响更为显著。

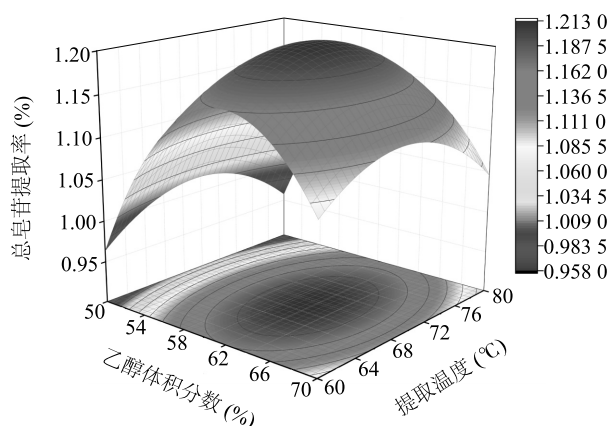


图 3 总皂苷提取率随乙醇体积分数及提取温度变化的响应面图

Fig.3 Response surface plot of total saponins extraction rate with ethanol concentration and extraction temperature

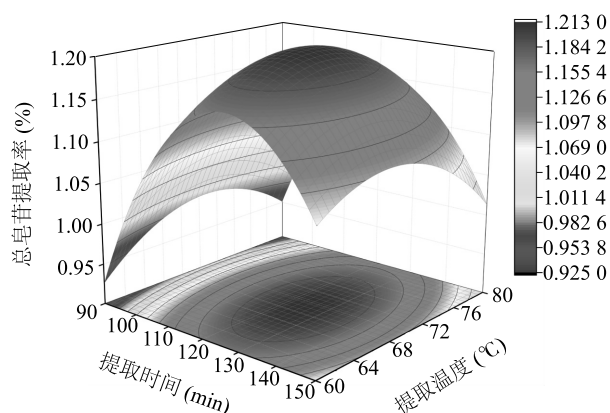


图 4 总皂苷提取率随提取时间及提取温度变化的响应面图

Fig.4 Response surface plot of total saponins extraction rate with extraction time and extraction temperature

综上所述,三因素对密花香薷总皂苷提取率的影响大小为:提取时间>乙醇体积分数>提取温度,与表 3 结论一致。

经响应面法优化之后,得到的最佳提取工艺为:乙醇体积分数:61.77%、提取时间 125.02 min、提取温度 68.99 °C、液料比 20:1 (体积质量比),此时密花香薷总皂苷提取率为 1.22%。考虑到实际操作的可性,选取乙醇体积分数 62.00%、提取时间 125.00 min、提取温度 69.00 °C、液料比 20:1 (体积质量比),平行试验 3 次,此时密花香薷总皂苷提取率为 1.19%。与回归方程的预测值 1.21% 相近,进一步证明了该回归方程

模型的可行性以及该提取工艺的稳定性。

2.3 密花香薷总皂苷抗氧化性

2.3.1 ABTS 自由基清除率 由图 5 可知,密花香薷总皂苷具有清除 ABTS 自由基的能力,且清除率随着密花香薷总皂苷质量浓度的增加而增加,当密花香薷总皂苷质量浓度达到 1.20 mg/ml 时,ABTS 自由基清除率达到 71.54%,之后随着密花香薷总皂苷质量浓度增加,清除率趋于平缓。此时,密花香薷总皂苷对 ABTS 自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 为 0.74 mg/ml。

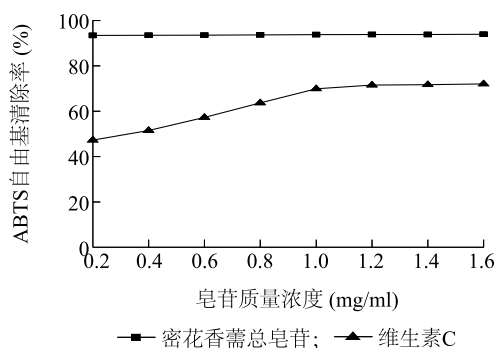


图 5 密花香薷总皂苷和阳性对照品 V_c 清除 ABTS 自由基能力

Fig.5 Scavenging effects of total saponins and V_c to ABTS free radical

2.3.2 DPPH 自由基清除率 由图 6 可知,密花香薷总皂苷具有清除 DPPH 自由基的能力,且清除率随着密花香薷总皂苷质量浓度增加而增加,当密花香薷总皂苷质量浓度达到 1.0 mg/ml 时,DPPH 自由基清除率达 61.25%,之后随着密花香薷总皂苷质量浓度增加,清除率趋于平缓。此时,密花香薷总皂苷对 DPPH 自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 为 0.56 mg/ml。

2.4 密花香薷总皂苷抑菌性

密花香薷总皂苷对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、酵母菌的抑菌圈直径大小分别为 2.74 cm、2.97 cm、1.27 cm,说明质量浓度为 1.0 mg/ml 的密花香薷总皂苷溶液对细菌以及真菌均有一定的抑制作用。

3 结论

本试验采用乙醇回流法对密花香薷总皂苷进行提取,用单因素试验结合响应面法对提取工艺进

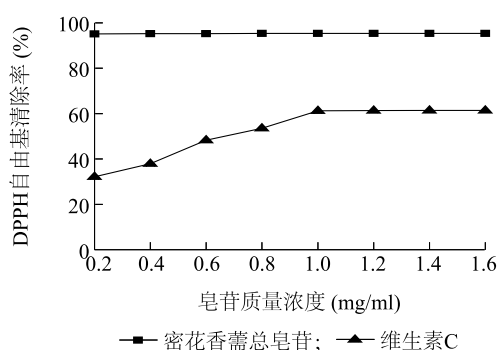


图6 密花香薷总皂苷和阳性对照品V_C清除DPPH自由基能力

Fig.6 Scavenging effects of total saponins and V_C to DPPH free radical

行了优化,所得的最佳工艺为:乙醇体积分数62.00%、提取时间125.00 min、提取温度69.00℃、液料比20:1(体积质量比),此时的提取率为1.19%。试验的实测值与模型的预测值差异较小,说明该方法具有较好的稳定性;采用ABTS自由基清除法、DPPH自由基清除法对密花香薷总皂苷的抗氧化活性进行评估,以维生素C为对照,结果表明密花香薷总皂苷具有较好的抗氧化活性,测定皂苷类物质的抗氧化活性方法较多,本试验选择的DPPH、ABTS自由基清除法操作较为简便,所得数据较为直观因而在测定活性成分的抗氧化性上被广泛采用;以细菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌)和真菌(酵母菌)对密花香薷总皂苷的提取液进行了抑菌活性测定,结果表明密花香薷总皂苷提取液对3种菌均有较明显的抑菌活性。

皂苷类物质具有多种药理活性,而目前对密花香薷总皂苷的研究较少,仅对密花香薷总皂苷进行了定性研究,本研究对青海西宁地区的密花香薷进行定量研究,并初步测定了所提取总皂苷的抗氧化活性及抑菌活性,为之后对密花香薷总皂苷的深入研究提供了试验依据。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第66卷[M].北京:科学出版社,1977:332.
- [2] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M].西宁:青海人民出版社,1991:227-229.
- [3] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志(下)[M].西宁:青海人民出版社,1997:487-488.
- [4] 张继,王振恒,姚健,等. 密花香薷挥发油成分的分析研究[J].草业学报,2005,14(1):112-116.
- [5] 包锦渊,李军乔,张璐璐,等. 密花香薷有效成分的定性分析[J].北方园艺,2011,33(1):202-204.
- [6] 姜彦成,邓彦斌,杨箴,等. 密花香薷花蜜腺的解剖学研究[J].西北植物学报,1996,16(3):239-244.
- [7] ZHOU Y, LIAO F, WENG J, et al. Composition and acaricidal activity of essential oil from *Elsholtzia densa Benth* against *Sarcoptes scabiei* mites *in vitro*[J]. Veterinärmedizin, 2019, 64:178-183.
- [8] 石子林,李军乔,王雅琼,等.密花香薷多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品科技,2020,45(2):231-236.
- [9] 曹茜茜. 人参皂苷的抗龋保护作用初探[D].武汉:武汉大学,2018.
- [10] 黄煦杰,朱雅琴,冯杨洪,等. 鹰嘴豆总皂苷制备及体外降血糖与抗氧化活性评价[J].食品科技,2019,44(12):253-259.
- [11] 王学芳,任红贤,封颖璐. 人参皂苷单体的抗疲劳作用研究进展[J].解放军医药杂志,2019,31(12):114-116.
- [12] 王忠萍,张静,陈运中. 苦瓜总皂苷的响应面法提取条件及降血糖活性的研究[J].时珍国医国药,2019,30(12):2845-2848.
- [13] 王晓娟,谢谦,刘杨,等. 土家族药物扣子七中三萜皂苷成分及抗肿瘤活性研究[J].中草药,2020,51(7):1831-1838.

(责任编辑:陈海霞)