

苦楝皮、果、叶提取物苦楝素含量分析



CHEN Han

陈 涵¹, 刘月蓉^{1*}, 牟大庆², 叶李艺³, 王宏涛³

(1. 福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012; 2. 三明市林业局, 福建 三明 365000;
3. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘 要: 分析比较了乙醇浸提法所得苦楝皮、果、叶提取物的含量, 结果表明, 乙醇浸提方法的最佳条件为: 液固比 20:1 (mL:g), 提取时间 5 h, 提取次数 2 次。测定了福建 6 个种源和全国 17 个种源苦楝皮、叶、果中苦楝素的含量, 并对优质种源进行了筛选, 得到苦楝素含量高于平均值 1.3 倍的

优良单株, 为苦楝的良种选择及定向培育提供了依据。

关键词: 苦楝; 苦楝素; 提取

中图分类号: TQ351; TQ91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2009)S0-0174-05

Study on Content of Toosendanin in Extracts from Bark, Fruit and Leaves of *Melia azedarach*

CHEN Han¹, LIU Yue-rong¹, MU Da-qing², YE Li-yi³, WANG Hong-tao³

(1. Fujian Academy of Forestry Sciences, Fuzhou 350012, China;
2. Sanmin City Forestry Bureau, Sanming 365000, China; 3. Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Contents of toosendanin in extracts from bark, fruit and leaves of *Melia azedarach* under different process conditions and methods were studied. The optimum conditions of ethanol extraction were as follows: ratio of liquor to material 20:1, extraction time 5 h for twice. The research measured toosendanin contents in bark, fruit and leaves of 17 domestic *M. azedarach* provenances, to select excellent provenances, and gained excellent plants with toosendanin content of 1.3 times more than the average. This study provided basis for selection of improved varieties and directive breeding.

Key words: *Melia azedarach*; toosendanin; extraction

从植物界中寻找杀虫活性物质成为 20 世纪中叶以来的热门研究课题, 其中对印楝和苦楝 (*Melia azedarach* Linn.) 等几种楝属植物杀虫特性的研究成果最为引人注目, 已对楝属植物提取物的化学成分及结构、毒理、作用范围、加工及使用等方面作了广泛研究^[1-2]。综合国内外的研究, 楝属植物中主要化学成分有: 四环三萜类化合物、甾醇类、有机酸类、内酯类、酚、酮、醇及其它类化合物等几十种成分, 其中四环三萜类化合物类、酮类、醇类为杀虫的有效成分, 具有杀虫范围广, 作用机制特殊, 对环境、人畜较安全等特点, 可作为新型的生物杀虫剂用于生产实践^[3-4]。国内的相关研究很多还停留在提取分离所得产物的成分作用范围、毒理研究方面, 在杀虫物质的提取仍停留在水提、有机溶剂提取等方面的研究上^[5]。所得粗提取物中有效成分的含量较低, 有机溶剂残留较多, 且不同提取方法所得成分差异较大, 对于提取分离工艺过程的研究较少, 在有效杀虫活性成分的进一步分离浓缩方面, 开展的研究也非常少, 特别是在苦楝的良种选择及定向培育方面的研究尚未见到有相关的报道, 因而影响了楝属植物农药的开发应用^[6]。本研究针对这方面的不足对不同种源苦楝皮、果、叶提取物苦楝素含量比较分析, 以作为苦楝的良种选择及定向培育方面的依据。

收稿日期: 2009-06-04

基金项目: 福建省科技厅重点科技攻关项目(2005N043); 国家林业局南方山地用材林培育重点实验室共同资助

作者简介: 陈 涵(1969-), 男, 福建永泰人, 高级工程师, 主要从事林产工业的研究

* 通讯作者: 刘月蓉, 教授级高工, 主要从事植物材料化学及利用的研究; E-mail: lyuerong@sohu.com。

1 实验

1.1 原料、试剂和仪器

原料:苦楝的树皮、树叶和果实,晒干后经粉碎过筛得到 0.85、0.425、0.25 mm 原料颗粒备用。采集时间 2006 年 9~11 月,地点为福建省福安、寿宁、霞浦、三明、沙县。试剂:95% 乙醇、无水乙醇、沸点 60~90 °C 的石油醚等均为 AR 级,二氧化碳为食品级,甲醇(规格:色谱淋洗剂)。仪器:NETZSCH DSC 204 型差示扫描量热仪; Nicolet Avatar 360 E. S. P 型 红外光谱仪; Fimmigan LCQ 型 HPLC-MS 液质联用仪; PerkinElmer Lambda35 型 UV 紫外分光光度计。

1.2 提取方法

1.2.1 有机溶剂浸提法 在室温条件下,取一定量的苦楝皮、叶、果粉末,以 95% 乙醇-原料,即液固比 20:1 (mL:g,下同)浸提 48 h 后用布氏漏斗过滤,收集滤液。滤饼继续用 95% 乙醇分别浸提 24 和 12 h,收集滤液。合并所得提取液,经液质联用色谱仪分析其苦楝素含量,与苦楝粉末质量之比,得出苦楝原料中主要杀虫活性成分的浸提得率。

1.2.2 有机溶剂浸提最佳条件测定 采用乙醇浸提法提取苦楝素,通过实验分别考察液固比即乙醇溶剂与苦楝原料之比、提取时间及提取次数等参数对苦楝素得率的影响。

1.3 苦楝素含量测定法

采用有机溶剂乙醇浸提法提取苦楝不同部位的原料中的苦楝素,所得提取液用液质联用色谱仪分析其苦楝素含量,经计算得出苦楝原料中主要杀虫活性成分的含量。

1.3.1 熔点测定条件 据文献报道,苦楝素的熔点在含有一分子结晶水时为 178~180 °C,无水结晶熔点为 238~240 °C,利用差示扫描量热法(DSC)测苦楝素的熔点分别为 186.9、236.4 °C,温度范围:34~300 °C;升温速率:20 °C/min;苦楝素 5.900 mg;坩埚 10.000 mg。

1.3.2 红外吸收光谱条件 采用 KBr 压片法测定红外吸收光谱,苦楝素的红外光谱图见图 1。

1.3.3 液质联用色谱条件 溶剂:甲醇;离子源电压 3.5 kV;离子源电流 8.5 μ A;鞘气 30 mL;毛细管电压 14 V;毛细管温度 170 °C;流动相甲醇流速 0.2 mL/min;离子源:电喷雾 ESI。

1.3.4 紫外吸收光谱条件 溶剂为无水乙醇,波长范围 190~500 nm,吸光度量程 0~3,夹缝 1 nm,扫描速率 200 nm/min,尺度扩张 20 nm/cm。

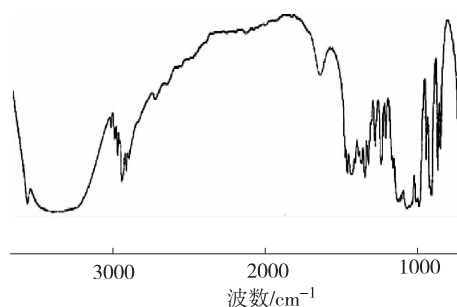


图 1 苦楝素的红外光谱图

Fig. 1 IR spectral of toosendanin crystal

2 结果与分析

2.1 乙醇浸提法的最佳工艺条件选择

实验结果表明:苦楝素的提取率随液固比的增大而提高,当液固比达到 20:1 时,苦楝素提取率接近最大值,因此,不必要再增大液固比,以免造成溶剂的浪费;采用液固比为 20:1 的实验条件考察提取时间对苦楝素提取率的影响,苦楝素的提取率随提取时间的增加而提高,当提取时间提高到 5 h 后,苦楝素的提取率达到最高值;采用液固比为 20:1,提取时间 5 h 的实验条件,考察提取次数对苦楝素提取率的影响,可得第一次提取的提取率为 80%,第二次提取的提取率为 15%,因此,两次提取即可得总提取率的 95%,没有必要进行 3 次以上的多次提取。乙醇浸提法最佳工艺条件为:液固比 20:1、提取时间 5 h、提取次数 2 次。

2.2 苦楝素含量的测定

2.2.1 不同部位苦楝素含量 在福建省 6 个县区采集 6 个种源 15 株苦楝树的皮、叶、果样品,对其苦楝素含量(质量分数,下同)进行测定,结果见表 1。

表1 苦楝皮、果、叶不同部位苦楝素含量

Table 1 Contents of toosendanin in bark, fruit and leaves of *M. azedarach*

%

序号 No.	6个种源单株号 provenances	树叶 leaves	树皮 bark	果实 fruit
1	福安 10 [#] Fu'an 10 [#]	0.263	0.064	0.298
2	福安 6 [#] Fu'an 6 [#]	0.218	0.600	0.292
3	福安 9 [#] Fu'an 9 [#]	0.191	0.514	0.225
	平均 average	0.224	0.393	0.272
4	寿宁 11 [#] Shouning 11 [#]	0.222	0.262	0.275
5	寿宁 5 [#] Shouning 5 [#]	0.212	0.235	0.474
6	寿宁 9 [#] Shouning 9 [#]	0.198	0.237	0.229
	平均 average	0.211	0.245	0.362
7	霞浦 5 [#] Xiapu 5 [#]	0.252	0.251	0.644
8	霞浦 12 [#] Xiapu 12 [#]	0.298	0.205	0.165
	平均 average	0.275	0.228	0.405
9	梅烈 7 [#] Meilie 7 [#]	0.183	0.280	0.222
10	梅烈 9 [#] Meilie 9 [#]	0.184	0.198	0.247
	平均 average	0.184	0.239	0.235
11	三元 1 [#] Sanyuan 1 [#]	0.208	0.204	0.335
12	三元 2 [#] Sanyuan 2 [#]	0.225	0.243	0.267
13	三元 6 [#] Sanyuan 6 [#]	0.244	0.156	0.487
	平均 average	0.226	0.201	0.363
14	沙县 1 [#] Shaxian 1 [#]	0.213	0.203	0.188
15	沙县 2 [#] Shaxian 2 [#]	0.191	0.196	0.246
	平均 average	0.202	0.200	0.217

2.2.2 不同种源苦楝的树皮和树叶中苦楝素含量对比分析 全国17个种源苦楝的树皮和树叶中苦楝素含量测定结果见表2。

表2 17个苦楝种源皮、叶中的苦楝素含量

Table 2 Contents of toosendanin in bark and leaves of *M. azedarach* provenances growing in China

%

种源 provenances	树皮 bark	树叶 leaves	平均 average
广西南宁 Nanning, Guangxi	0.509		0.255
福建宁德 Ningde, Fujian	0.432	0.206	0.319
海南昌江 Changjiang, Hainan	0.391	0.279	0.335
广西龙泉 Longquan, Guangxi	0.352	0.195	0.274
四川绵阳 Mianyang, Sichuan	0.319	0.735	0.527
福建龙岩 Longyan, Fujian	0.273	0.684	0.479
浙江金华 Jinhua, Zhejiang	0.246	0.190	0.218
福建三明 Sanming, Fujian	0.245	0.323	0.284
福建漳州 Zhangzhou, Fujian	0.230	0.078	0.154
福建泉州 Quanzhou, Fujian	0.214	0.190	0.202
云南保山 Baoshan, Yunnan	0.199	0.299	0.249
福建厦门 Xiamen, Fujian	0.193	0.143	0.168
湖南浏阳 Liuyang, Hunan	0.179	0.292	0.236
福建莆田 Putian, Fujian	0.173	0.140	0.157
福建福州 Fuzhou, Fujian	0.147	0.168	0.158
福建南平 Nanping, Fujian	0.136	0.191	0.164
江西庐山 Lushan, Jiangxi	0	0.148	0.074

从表2中可以看出,在国内17个种源中,无论是皮、叶的苦楝素含量还是皮叶苦楝素含量平均值都排在前5位的有:四川绵阳种源;都排在前7位的还有:福建龙岩、海南昌江、福建宁德;均排在前10位的种源还有福建三明、广西龙泉、福建泉州。可见,在国内收集的17个苦楝种源中,从树皮、树叶中的苦楝素含量测定可以初步筛选出苦楝素含量较高的种源是:四川绵阳、福建龙岩、海南昌江、福建宁德、福建三明和广西龙泉种源共6个,可以在生产上推广应用;而浙江金华和云南保山种源的树皮、树叶中的

苦楝素含量中等,可考虑适当应用。

2.2.3 优良种源果实中苦楝素含量 苦楝优良种源果实中的苦楝素含量测定结果见表3。

表3 福建省苦楝种源果实中的苦楝素平均含量

Table 3 The average content of toosendanin in Fujian *M. azedarach* fruit

种源 provenances	单株数量/株 amount of individual plant	苦楝素/% toosendanin	含量排序 order of content
三元 Sanyuan	10	0.398	1
武平 Wuping	13	0.377	2
沙县 Shaxian	10	0.318	3
寿宁 Shouning	16	0.306	4
福安 Fu'an	12	0.301	5
霞浦 Xiapu	12	0.300	6
梅列 Meilie	10	0.275	7
上杭 Shanghang	10	0.274	8
惠安 Hui'an	2	0.233	9
安溪 Anxi	2	0.227	10
新罗 Xinluo	6	0.207	11

在福建省入选的地区级种源中进一步测定 11 个县级苦楝种源,见表3。共 103 株苦楝单株,苦楝素含量从最低 0.152% 至最高 0.954%,平均为 0.308%,表明单株的苦楝素含量差异较大,含量最高的为平均值的 3 倍多,为高含量优良单株的选择奠定了良好的基础。在 103 株的苦楝单株中,高于平均值的只有 30 株、占 29.1%,高于平均值 1.3 倍的仅有 18 株、占 17.5%,高于平均值 1.5 倍的就更少了,仅有 11 株、占 10.7%,表明高含量苦楝素的优良单株所占的比例较少,也是最为宝贵的有限资源。将苦楝素含量较高的 18 株优良单株列于表4。

表4 果实中苦楝素含量高于平均值 1.3 倍的优良单株

Table 4 The excellent plant with toosendanin content 1.3 times more than average

优良单株 excellent plants	苦楝素/% toosendanin	含量排序 order of content
寿宁 8 [#] Shouning 8 [#]	0.954	1
武平 11 [#] Wuping 11 [#]	0.874	2
武平 14 [#] Wuping 14 [#]	0.770	3
沙县 10 [#] Shaxian 10 [#]	0.762	4
霞浦 5 [#] Xiapu 5 [#]	0.644	5
三元 4 [#] Sanyuan 4 [#]	0.641	6
三元 8 [#] Sanyuan 8 [#]	0.550	7
武平 17 [#] Wuping 17 [#]	0.538	8
三元 6 [#] Sanyuan 6 [#]	0.487	9
福安 4 [#] Fu'an 4 [#]	0.476	10
寿宁 5 [#] Shouning 5 [#]	0.474	11
武平 15 [#] Wuping 15 [#]	0.449	12
三元 7 [#] Sanyuan 7 [#]	0.444	13
三元 9 [#] Sanyuan 9 [#]	0.431	14
霞浦 6 [#] Xiapu 6 [#]	0.422	15
上杭 9 [#] Shanghang 9 [#]	0.418	16
新罗 5 [#] Xinluo 5 [#]	0.411	17
沙县 9 [#] Shaxian 9 [#]	0.404	18

由表3的数据中可以看出,在 11 个种源中,苦楝素平均含量在 0.3% 以上的种源有 6 个,分别是三元、武平、沙县、寿宁、福安和霞浦种源,这 6 个种源为优良种源。而且这 6 个种源分别属于福建省的三

明、龙岩和宁德,与全国种源的筛选的结果是一致的。

3 结论

3.1 用乙醇浸提法对苦楝的皮、叶、果不同部位中苦楝素进行提取,并用液质联用仪对其含量进行测定,确定了苦楝素提取的最佳工艺条件为:液固比 20:1、提取时间 5 h、提取次数 2 次。

3.2 测定了福建省 6 个种源和全国 17 个种源苦楝皮、叶、果中苦楝素的含量,并对优质种源进行了筛选,得到苦楝素含量高于平均值 1.3 倍的优良单株,为苦楝的良种选择及定向培育提供了依据。

参考文献:

- [1] 周兆祥. 苦楝的新用途[J]. 林业科技开发, 1991(2): 23-24.
- [2] 王顺华. 苦楝树的综合利用[J]. 湖北化工, 1990(4): 40-41.
- [3] 程玮, 肖啸, 严达伟, 等. 云南苦楝皮成分的分鉴定及其对猪蛔虫成虫及虫卵的离体毒理研究[J]. 山东畜牧兽医, 2008, 29(10): 1-4.
- [4] 翟兴礼, 杨霞. 苦楝果实甲醇提取液对菜青虫、小菜蛾致死活性研究[J]. 河南农业科学, 2008(7): 70-71.
- [5] 王争刚, 路绪旺, 崔鹏. 大孔树脂吸附法提纯苦楝素的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(6): 1080-1083.
- [6] 曾灶昌, 钟超. 苦楝子中有效成分的提取分离及促进胆固醇流出作用研究[J]. 中外医疗, 2008(16): 20-22.

(上接第 173 页)

外果皮炭 < 稻秆炭 < 山核桃外果皮炭, 分别为 351.8、356.7、375.3、392.6 °C。说明坚果外果皮类炭的挥发性可燃物质的含量较高, 更易点燃; 而竹木炭类挥发性可燃物质相对较少, 点燃需要更高的温度与时间。从生物质的最大燃烧速率和可燃性指数来看, 差异不大, 说明其着火后燃烧过程和着火后的反应能力较接近。

3.3 燃尽时的剩余量与残余质量都主要与生物质炭本身的灰分含量相一致。燃尽时的剩余量与残余质量之间的差值, 不同生物质炭差异很大, 最大的是山核桃外果皮炭为 14.91%, 最小的是松木炭为 0.99%, 初步预计跟原材料的燃烧稳定性有一定的相关性。

3.4 热分析结果表明, 松木炭、杉木炭和竹炭是作基炭的较佳材料, 油茶、板栗、山核桃 3 种坚果外果皮炭可作为助燃添加剂。

参考文献:

- [1] MIDILLI A, DANCER I, AY M. Green energy strategies for sustainable development[J]. Energy Policy, 2006(34): 23-33.
- [2] 庄晓伟, 刘志坤, 陈顺伟, 等. 生物质炭复合材料结构与性能的研究进展[J]. 生物质化学工程, 2008, 42(2): 45-49.
- [3] 谢广录, 范卫东, 徐宾, 等. 天然气炭黑燃烧特性的热天平研究[J]. 热能动力工程, 2005, 20(5): 521-526.
- [4] 聂其红, 孙绍增, 李争起, 等. 褐煤混煤燃烧特性的热重分析法研究[J]. 燃烧科学与技术, 2001, 7(1): 72-76.
- [5] 姜秀民, 刘德昌, 郑楚光, 等. 油页岩燃烧性能的热分析研究[J]. 中国电机工程学报, 2001, 21(8): 55-59.
- [6] 徐朝芬, 孙学信. 用 TG-DTG-DSC 研究生物质的燃烧特性[J]. 华中科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 126-128.