

## 芳樟无性系叶精油及芳樟醇含量变异分析

张国防, 于静波, 冯娟

(福建农林大学, 福建福州 350002)

**Analysis on content variation of essential oil and linalool from leaf of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* clones** ZHANG Guo-fang, YU Jing-bo, FENG Juan (Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(2): 117-118

**Abstract:** Essential oil content and linalool relative content in leaf of excellent individual of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Fujita. clones and their variation states were compared. The result shows that essential oil content of the maternal plant is 1.78% and its linalool relative content is 97.56%. Average content of essential oil in leaf of the first and the second generation clones of tissue culture and their cutting clone is 1.65%, 1.60% and 1.58% with CV values of 9.09%, 7.50% and 7.59%, respectively, and average relative content of linalool in these clones is 94.32%, 94.52% and 94.60% with CV values of 0.60%, 0.73% and 0.73%, respectively. There is some difference in essential oil content and linalool relative content between the first generation clone of tissue culture and the maternal plant, but the difference is small. Essential oil content and linalool relative content among these clones have no significant difference and those are stable within clones, indicating the clonal progeny can keep their parent's good traits.

**关键词:** 芳樟; 无性系; 精油; 芳樟醇; 变异; 稳定性

**Key words:** *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Fujita.; clone; essential oil; linalool; variation; stability

中图分类号: Q946.85; S792.23.01 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)02-0117-02

芳樟(*Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Fujita.)个体自然结果率极低,甚至只开花不结实,而其群体结果率却较高<sup>[1]</sup>。通过自然授粉繁殖的芳樟子代叶精油类型(主要成分)存在分离现象,如叶精油主含芳樟醇的母株,可产生叶精油主含樟脑和桉叶油素的有性后代,且后代个体间芳樟醇含量差异大<sup>[2]</sup>。而以此为原料提取的精油实为杂樟油,提纯难度大,市场价格受到严重影响,因此利用无性系收割枝叶方式进行芳樟香料林产业化开发受到广泛重视<sup>[3]</sup>。精油为植物次生代谢物,其含量及组成受遗传和环境因子双重控制<sup>[4-6]</sup>,因而,使芳樟优良无性系叶精油及其主成分保留母株的优良特性并保持稳定,是实现芳樟产业化开发的关键。作者对优良芳樟组培和扦插无性系叶精油及芳樟醇含量进行了测定,并分析其变异状况,以期芳樟产业化开发提供实验数据。

### 1 材料和方法

供试芳樟母株为本课题组经多年选育的优良芳樟型单株,经组培获得组培1代无性系,2006年在福建厦门坂头农田基地建立组培无性系采穗圃,在该采穗圃中随机抽取样株进行组培和扦插繁殖,获得组培2代和扦插后代无性系,2007年建立组培2代和扦插后代无性系采穗圃。均采用相同的立地

和经营管理措施。

于2010年7月22日上午采集母树及无性系叶片,各无性系随机选取30株,分别在东、西、南、北4个方向和上、中、下3个部位各采集20g鲜叶,混合后每株取鲜叶100g。用BC-R203B型旋转蒸发器(上海贝凯生物化工设备有限公司)、SHB-III循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)和HX-1050恒温循环器(北京博医康实验仪器有限公司)进行精油蒸馏,用GC-2014气相色谱仪(岛津公司)和GC/MS(Varian的Saturn 2000R 3800气相色谱仪、Saturn 2000质谱检测器和CP-Sil8 CB石英毛细管柱)分析精油含量及组成<sup>[7]</sup>。

### 2 结果和分析

芳樟无性系叶精油含量和芳樟醇相对含量及变异状况见表1。各无性系都能保持母株的特性,即叶精油主成分为芳樟醇。母株叶精油含量1.78%,芳樟醇相对含量97.56%。组培1代叶精油含量1.40%~2.00%,平均值为1.65%;芳樟醇相对含量93.22%~95.32%,平均值为94.32%。组培2代叶精油含量1.40%~1.90%,平均值为1.60%;芳樟醇相对含量93.56%~96.01%,平均值为94.52%。扦插后代叶精油含量1.40%~1.90%,平均值为1.58%;芳樟醇相对含量93.20%~

收稿日期: 2011-09-20

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2010J01064)

作者简介: 张国防(1966—),男,福建莆田人,博士,教授,主要从事森林培育和经济林栽培方面的研究。

95.65%, 平均值为 94.60%。各无性系内单株间叶精油含量及其芳樟醇相对含量较稳定, 叶精油含量的变异系数分别为 9.09%、7.50% 和 7.59%, 芳樟醇相对含量的变异系数分别仅为 0.60%、0.73% 和 0.73%。

表 1 芳樟无性系叶精油含量和芳樟醇相对含量及变异状况比较

Table 1 Comparison of essential oil content and linalool relative content in leaf of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Fujita. clones and their variation states

无性系 Clone	株数 Number	精油含量 Essential oil content				芳樟醇相对含量 Linalool relative content			
		平均值/% Average	方差 Variance	标准差 SE	变异系数/% CV	平均值/% Average	方差 Variance	标准差 SE	变异系数/% CV
母株 Maternal plant	1	1.78				97.56			
组培 1 代 First generation of tissue culture	30	1.65	0.02	0.15	9.09	94.32	0.33	0.57	0.60
组培 2 代 Second generation of tissue culture	30	1.60	0.01	0.12	7.50	94.52	0.47	0.69	0.73
扦插后代 Cutting clone	30	1.58	0.02	0.12	7.59	94.60	0.48	0.69	0.73

母株与组培 1 代叶精油含量和芳樟醇相对含量的  $t$  值分别为 4.72 和 31.00, 双侧  $P < 0.05$ , 可认为母株与其组培 1 代 2 个指标的差异达到显著水平, 其原因与环境因素差异有关。由表 1 可见: 母株与其组培 1 代 2 个指标的差异幅度较小, 且组培 1 代 2 个指标都比较稳定, 叶精油含量均在 1.40% 以上, 芳樟醇相对含量均在 93% 以上, 变异系数分别仅为 9.09% 和 0.60%, 说明无性系后代能够保持母株的优良性状。

在同样的立地条件下, 组培 1 代和组培 2 代叶精油含量和芳樟醇相对含量的  $t$  值分别为 1.44 和 -1.22, 对应的双侧  $P$  值分别为 0.16 和 0.23; 组培 1 代与扦插后代 2 个指标的  $t$  值分别为 1.92 和 -1.73, 对应的双侧  $P$  值分别为 0.06 和 0.09; 组培 2 代与扦插后代 2 个指标的  $t$  值分别为 0.59 和 -0.47, 对应的双侧  $P$  值分别为 0.56 和 0.64。所有对应双侧  $P$  值均大于 0.05, 表明组培 1 代、组培 2 代和扦插后代间叶精油含量和芳樟醇相对含量无显著差异, 进一步说明通过多代无性繁殖仍能保持芳樟母株的优良性状。

### 3 结论和讨论

以叶精油含量 1.78%、芳樟醇相对含量 97.56% 的优良芳樟型芳樟母株进行组培, 获得的无性系在栽植 3 a 后叶精油含量及芳樟醇相对含量与母株差异很小; 组培 1 代无性系均为芳樟醇型, 叶精油含量和芳樟醇相对含量均较为稳定, 变异系数分别仅为 9.09% 和 0.60%。可见组培 1 代无性系完全能够保持其母株的化学型特性和优良品质。

由组培 1 代无性系组培和扦插后获得的无性系在栽植 2 a 后叶精油含量及芳樟醇相对含量与组培 1 代无显著差异, 无性系间叶精油含量及芳樟醇相对含量较为稳定、变异小。

组培 1 代、组培 2 代及扦插后代无性系的叶精油含量为 1.40% ~ 2.00%, 但变异系数都在 10% 以内; 而芳樟醇相对含量的变异系数均小于 0.8%, 说明立地条件对叶精油含量的影响大于对芳樟醇相对含量的影响。

在组培 1 代的 4 000 株无性系中, 有 3 株产生了一定的变

异: 平均单株鲜质量 (7 kg) 比其他单株 (4.07 kg) 高 1.7 倍; 部分单株叶型与枫香 (*Liquidambar formosana* Hance) 叶型类似; 叶精油含量为 1.40% ~ 1.50%, 平均为 1.43%; 芳樟醇相对含量为 89.60% ~ 93.28%, 平均为 91.37%。叶精油含量与普通株之间有差异, 但芳樟醇相对含量与普通株间则没有差异。由于变异株样本数太少且具有生物量特别大的特性, 因此, 应对变异株进行进一步的无性繁殖。

总之, 通过无性繁殖能够保持芳樟醇型芳樟母株的优良特性。通过芳樟不同生化型优良单株的选育, 利用无性繁殖建立单一生化型原料林, 实现芳樟叶精油不同生化型定向培育, 是加快芳樟非木质利用产业化开发的重要而有效途径。

### 参考文献:

- [1] 李 飞. 中国芳樟精油资源与开发利用[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 36-56.
- [2] 程必强, 喻学俭. 细毛樟的繁殖方法与精油变异[J]. 云南植物研究, 1993, 15(1): 78-82.
- [3] 张国防. 工业原料林营建中的若干问题[J]. 林业科技开发, 2004, 18(3): 7-10.
- [4] DAVIET L, SCHALK M. Biotechnology in plant essential oil production: progress and perspective in metabolic engineering of the terpene pathway[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2010, 25(3): 123-127.
- [5] RIOS-ESTEPA R, LANGE I, LEE J M, et al. Mathematical modeling-guided evaluation of biochemical, developmental, environmental, and genotypic determinants of essential oil composition and yield in peppermint leaves[J]. Plant Physiology, 2010, 152(4): 2105-2119.
- [6] GANJEWALA D, LUTHRA R. Essential oil biosynthesis and regulation in the genus *Cymbopogon* [J]. Natural Product Communications, 2010, 5(1): 163-172.
- [7] 张国防, 陈存及. 福建樟树叶油的化学成分及其含量分析[J]. 植物资源与环境学报, 2006, 15(4): 69-70.

(责任编辑: 惠 红)

# 艾叶多糖提取率影响因素分析及提取条件优化

李宏睿<sup>a</sup>, 王新<sup>a</sup>, 张文波<sup>b,①</sup>, 颜贤仔<sup>a</sup>

(江西农业大学; a. 食品科学与工程学院, b. 动物科学与技术学院, 江西 南昌 330045)

**Analysis of influence factors on extraction rate of polysaccharide from *Artemisia argyi* leaves and optimization of extraction condition** LI Hong-rui<sup>a</sup>, WANG Xin<sup>a</sup>, ZHANG Wen-bo<sup>b,①</sup>, YAN Xian-zai<sup>a</sup> (Jiangxi Agricultural University; a. College of Food Science and Engineering, b. College of Animal Science and Technology, Nanchang 330045, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(2): 119-120

**Abstract:** Taking drying powder of *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. leaves as materials, single factor experiments about ultrasonic treatment time, solid-liquid ratio (mass-volume ratio), water bath temperature and extraction time which may affect on polysaccharide extraction rate were detected. And on this basis, four factors were optimized by  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment design. The results show that according to influence on extraction rate of polysaccharide, the order of four factors from high to low is extraction time, solid-liquid ratio, ultrasonic treatment time, water bath temperature. The optimal extraction condition is solid-liquid ratio 1:40, ultrasonic treatment time 20 min, water bath temperature 80 °C, extraction time 2.0 h. Under the optimal condition, the extraction rate of polysaccharide from *A. argyi* leaves is the highest with a value of 12.2%.

**关键词:** 艾叶; 多糖; 提取率; 影响因素; 正交实验

**Key words:** *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. leaf; polysaccharide; extraction rate; influence factor; orthogonal experiment

中图分类号: Q946.3; R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)02-0119-02

艾叶是菊科(Compositae)植物艾(*Artemisia argyi* Lévl. et Vant.)的干燥叶,为常用中药材之一,药用历史悠久,具有苦燥辛散、理气血、温经脉、逐寒湿、止冷痛等功效,为重要的妇科用药,可用于治疗脘腹冷痛、经寒不调、宫冷不孕等证。此外,利用艾叶预防瘟疫已有悠久的历史。现代药理研究表明:艾叶是一种广谱抗菌抗病毒中药,对多种病毒和细菌有抑制和杀伤作用,对呼吸系统疾病以及心血管等慢性疾病有一定的防治作用<sup>[1-3]</sup>。因此,将艾叶中的有效成分分别提取和纯化并加以分析以及功能检测,具有深远意义。

目前,国内的研究者对于艾叶多糖的提取工艺研究较少<sup>[4-5]</sup>,而超声波辅助提取技术可以作为植物多糖提取的有效辅助技术<sup>[6-7]</sup>。作者以艾叶多糖提取过程中4个因素的单因素预实验结果为基础,采用正交实验方法对艾叶多糖的提取条件进行优化,为艾叶多糖的生理活性与功能研究提供基础资料,并为艾叶资源的充分开发利用奠定研究基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试干燥艾叶购于樟树药城,将干燥艾叶粉碎后过20目

筛,备用。主要仪器有KQ3200DB型数控超声波清洗仪(江苏省昆山市超声仪器有限公司)和RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);所用试剂及药品均为国产分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 艾叶多糖提取的基本流程 准确称取一定量的艾叶粉末,按一定料液比(质量体积比)加入蒸馏水,室温浸泡过夜;使用500 W超声波处理一定时间后,将混合物移入离心管内,置于一定温度的水浴锅内恒温提取一定时间;趁热过滤,滤液减压浓缩后加入约4倍体积的体积分数95%乙醇,摇匀,置于4 °C恒温冰箱内冷藏24 h;4 °C条件下5 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min;沉淀置于60 °C恒温干燥箱内烘干至恒质量,即得艾叶多糖。

1.2.2 单因素预实验 采用上述提取流程对料液比、超声波处理时间、水浴温度和提取时间4个因素进行单因素预实验,均重复3次。在料液比(质量体积比)1:40,超声波处理时间15 min,水浴温度分别为60 °C、70 °C、80 °C、90 °C和100 °C,提取时间为2 h的条件下筛选最优水浴温度。在料液比(质量体积比)1:40,超声波处理时间15 min,筛选的最优水浴温度,提取时间分别为0.5、1.0、1.5、2.0和2.5 h的条件下筛选最优提取时间。在料液比(质量体积比)分别为1:20、1:30、1:40、

收稿日期: 2011-09-21

基金项目: 江西省教育厅资助项目(GJJ1400)

作者简介: 李宏睿(1973—),女,内蒙古赤峰人,硕士,讲师,主要从事食品生物技术与功能性成分提取方面的研究。

①通信作者 E-mail: crystalnucleusli@hotmail.com

1:50 和 1:60, 超声波处理时间 15 min, 以及筛选的最优水浴温度和最优提取时间条件下筛选最优料液比。在筛选的最优料液比, 超声波处理时间分别为 5、10、15、20 和 25 min, 以及筛选的最优水浴温度和最优提取时间条件下筛选最优超声波处理时间。

**1.2.3 正交实验及最优提取条件的验证** 按照上述提取方法, 参照文献[8]并根据单因素预实验结果进行  $L_9(3^4)$  正交实验设计, 设置水浴温度、料液比(质量体积比)、提取时间和超声波处理时间 4 个因素, 其中水浴温度的 3 个水平为 70 ℃、80 ℃ 和 90 ℃; 料液比(质量体积比)的 3 个水平为 1:30、1:40 和 1:50; 提取时间的 3 个水平为 1.0、1.5 和 2.0 h; 超声波处理时间的 3 个水平为 10、15 和 20 min。在正交实验筛选出的优化条件下进行验证实验, 重复 4 次, 以 *RSD* 值小于 5% 为必要条件, 确定优化条件下艾叶多糖的提取率。

### 1.3 数据处理和分析

艾叶多糖提取率按公式“多糖提取率 = (多糖提取物干质量/艾叶干质量) × 100%”进行计算。用 DPS 6.55 软件对正交实验结果进行分析。

## 2 结果和结论

### 2.1 单因素预实验结果分析

单因素预实验结果表明: 水浴温度在 60 ℃ ~ 100 ℃ 范围内, 低于 80 ℃ 时, 随着温度升高艾叶多糖提取率逐渐提高; 水浴温度高于 80 ℃, 提取率有所下降。在提取时间 0.5 ~ 2.5 h 内, 随提取时间的延长艾叶多糖提取率增加, 但增加趋势比较平缓。料液比(质量体积比)在 1:20 至 1:40 之间, 艾叶多糖提取率逐渐升高; 但料液比在 1:40 至 1:60 之间, 多糖提取率持续下降。超声波处理时间在 5 ~ 25 min 范围内, 在超声波处理时间少于 15 min 的条件下, 处理时间越长多糖提取率越高。

### 2.2 正交实验以及验证实验结果分析

在上述单因素预实验结果的基础上进行正交实验, 影响艾叶多糖提取率的 4 个因素的正交实验结果见表 1。由表 1 可知, 根据 *R* 值判断, 提取时间对艾叶多糖提取率影响最大, 水浴温度的影响最小, 按 *R* 值由大至小 4 个因素依次排序为: 提取时间、料液比(质量体积比)、超声波处理时间、水浴温度。根据 *K* 值推测的最佳提取条件为  $A_2B_2C_3D_3$ , 即: 水浴温度 80 ℃、料液比 1:40、提取时间 2.0 h、超声波处理时间 20 min。

对最佳提取条件进行 4 次验证实验, 结果显示: 采用正交实验筛选出的最佳提取条件获得的艾叶多糖的提取率高于正交实验中的最高处理组(多糖提取率为 11.94%), 达到

**表 1 影响艾叶多糖提取率的 4 个因素的正交实验结果**  
**Table 1 Result of orthogonal experiment of four influence factors on extraction rate of polysaccharide from *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. leaves**

处理组 Treatment group	因素和水平 <sup>1)</sup> Factor and level <sup>1)</sup>				提取率/% Extraction rate
	A	B	C	D	
1	70	1:30	1.0	10	9.90
2	70	1:40	1.5	15	8.32
3	70	1:50	2.0	20	9.98
4	80	1:30	1.5	20	9.72
5	80	1:40	2.0	10	11.94
6	80	1:50	1.0	15	8.70
7	90	1:30	2.0	15	10.12
8	90	1:40	1.0	20	10.70
9	90	1:50	1.5	10	8.10
K1	9.40	9.91	9.77	9.98	
K2	10.12	10.32	8.71	9.05	
K3	9.64	8.93	10.68	10.13	
R	0.72	1.39	1.97	1.08	

<sup>1)</sup> A: 水浴温度 Water bath temperature (℃); B: 料液比(质量体积比) Solid-liquid ratio (mass-volume ratio); C: 提取时间 Extraction time (h); D: 超声波处理时间 Ultrasonic treatment time (min)。

12.2%。说明该最佳提取条件适用于艾叶多糖的提取。本研究结果还表明: 超声波辅助技术对于艾叶多糖的提取有比较明显的促进作用。

### 参考文献:

- [1] 周峰, 秦路平, 连佳芳, 等. 艾叶的化学成分、生物活性和植物资源[J]. 药学实践杂志, 2000, 18(2): 96-98.
- [2] 宋洪涛, 郭涛. 天然药物中的抗氧化剂[J]. 中草药, 1991, 22(7): 331-334.
- [3] 张琳华, 高瑞昶, 许明丽. 桑叶中多糖提取分离工艺的研究[J]. 中草药, 2005, 36(4): 534-547.
- [4] 刘军海, 黄宝旭, 蒋德超. 响应面分析法优化艾叶多糖提取工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 114-118.
- [5] 沈霞, 张艳红, 袁慧慧, 等. 响应面分析法优化艾叶粗多糖提取工艺的研究[J]. 中成药, 2010, 32(1): 48-51.
- [6] 李宏睿, 陶浚, 董兵兵, 等. 超声波辅助提取香菇多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2010, 26(6): 138-140.
- [7] 李宏睿, 袁利兵, 张文波, 等. 大豆多糖提取工艺优化[J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(6): 1146-1151.
- [8] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002: 115-154.

(责任编辑: 佟金凤)