

提取植物叶中水杨酸最佳条件的探讨

黄永鑫, 王洋, 阎秀峰*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040

在测定植物中游离态水杨酸(salicylic acid, SA)和结合态 SA 的方法中, 高效液相色谱被认为是一种精密度高、重复性好的方法(李兆亮等 1997; 徐幼平等 1997)。结合态 SA 一般采用测定其水解后 SA 含量的方法测定, 但由于 SA 易升华, 植物组织中 SA 提取的回收率总是很低。虽然有法可以减少提取液浓缩过程中 SA 的升华和提高回收率(Verberne 等 2002), 但从总体上说, 迄今对其提取条件尚少系统研究。为此, 本文以喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)叶片为材料, 在 Verberne 等(2002)方法的基础上, 对提取 SA 过程中的温度、超声时间、提取溶剂及其适宜浓度作了探讨。结果如下。

1. 提取 SA 的溶剂一般采用挥发性高和有毒的甲醇。我们分别以甲醇和乙醇(按原方法浓度)为溶剂超声提取(500 W, 40 kHz)的结果表明, 乙醇的效果优于甲醇(表 1)。

表 1 乙醇和甲醇溶剂提取效果的比较

溶剂	游离态 SA 含量 / ng·g ⁻¹ (FW)	结合态 SA 含量 / ng·g ⁻¹ (FW)
甲醇	28.35±1.82 ^a	151.00±4.48 ^a
乙醇	36.02±3.70 ^b	204.92±22.03 ^b

不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

2. 进一步以 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 乙醇和无水乙醇提取的结果表明, 不同浓度乙醇对游离态 SA 含量影响不大, 结合态 SA 含量则有随乙醇浓度升高而增加的趋势, 浓度在 60%~80% 之间时增加的幅度最大, 90% 后变化不大(图 1)。随着乙醇浓度的增加, 随后的真空浓缩过程可以缩短, 因此认为以用无水乙醇为提取溶剂较适宜。

3. 以无水乙醇为提取溶剂, 分别超声 1、3、5、7、9、13、17、21 和 30 min 的结果表明, 提取时间主要影响结合态 SA 的提取, 而对游离态 SA 则无影响(图 2), 据此认为提取时间以 9 min 为

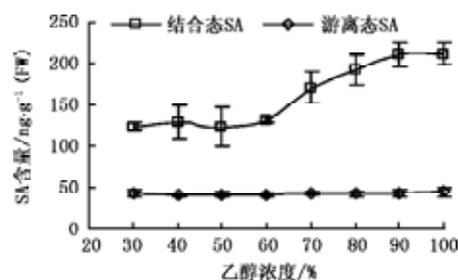


图 1 不同浓度乙醇对 SA 提取的影响

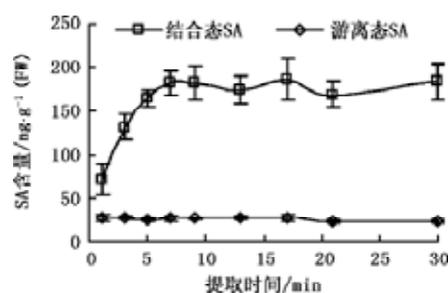


图 2 提取时间对 SA 提取的影响

最佳。

4. 称取 4 份喜树叶粉, 每份 0.5 g, 分别加入 SA 标准溶液(1 μg·mL⁻¹) 60 μL, 在确定的最佳提取条件下, 测得加标提取回收率为 94.5%。在同样的方法条件下, 测得拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)的加标回收率分别为 92.7% 和 95.1%。

参考文献

- 李兆亮, 原永兵, 李冬梅(1997). 薄层层析和高效液相层析技术结合测定植物叶片水杨酸含量. 植物生理学通讯, 33 (2): 130~132
- 徐幼平, 马志超, 蔡新忠(1997). 反相高效液相色谱测定番茄组织中的水杨酸. 植物生理学通讯, 33 (1): 49~52
- Verberne MC, Brouwer N, Delbianco F, Linthorst HJM, Bol JF, Verpoorte K (2002). Method for the extraction of the volatile compound salicylic acid from tobacco leaf material. Phytochem Anal, 13: 45~50

收稿 2007-02-02 修定 2007-04-19
资助 国家自然科学基金(30670325 和 30070086)。
* 通讯作者(E-mail: xfyang@mail.hl.cn; Tel: 0451-82190052)。