

苜蓿皂苷研究进展

陈燕绘¹,周 岩^{1*},陈亚东¹,郝薇薇¹,魏琦超¹,连 杰²,白红霞¹
(1.河南科技学院 生命科技学院/现代生物育种河南省协同创新中心,河南 新乡 453003;
2.河南省华隆生物技术有限公司,河南 新乡 453003)

摘要: 苜蓿是当今世界分布最广泛的栽培牧草,其富含皂苷、叶蛋白、多糖和类黄酮等多种生物活性成分,在生物制药及畜牧业生产中有着广泛的应用,具有重要的研究价值。其中皂苷是苜蓿中重要的生物及药理活性物质,也是苜蓿的主要次生代谢产物之一,具有抑菌、抗氧化、降低胆固醇以及调节脂类代谢等多种功能。介绍了不同地区不同苜蓿品种植株在各部位和不同生长期皂苷含量的变化情况及现阶段苜蓿皂苷的主要提取技术,并对其生物学功能和应用的研究进展作了综述,为苜蓿皂苷的进一步研究、开发和利用提供参考。

关键词: 苜蓿皂苷;提取技术;生物学功能;应用

中图分类号: S688.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)07-0011-06

Advances in Alfalfa Saponin Research

CHEN Yanhui¹,ZHOU Yan^{1*},CHEN Yadong¹,HAO Weiwei¹,WEI Qichao¹,LIAN Jie²,BAI Hongxia¹
(1. School of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology/Henan
Province Collaborative Innovation Center of Modern Biological Breeding, Xinxiang 453003, China;
2. Henan Hualong Biological Technology Co., Ltd., Xinxiang 453003, China)

Abstract: Alfalfa is the world's most widely distributed planting forage grass, which is rich in saponins, leaf proteins, polysaccharides, flavonoids and other bioactive ingredients. It has been widely used in the production of bio-pharmaceutical and animal husbandry, and has important research value. Alfalfa saponin is an important biological and pharmacological substance, and it is also one of the major secondary metabolites of alfalfa, and has multiple functions such as antibacterial, antioxidant, reducing cholesterol and regulating lipid metabolism. This paper introduced the change of saponin content of different parts of alfalfa varieties under different growth period, the current extraction technology of alfalfa saponins and the research progress of its biological functions and applications, to provide a reference for the further study, exploitation and applications of alfalfa saponins.

Key words: alfalfa saponin; extraction technology; function of biology; application

苜蓿是一种高产且优质的豆科1年生或多年生草本开花植物,其种类繁多、营养丰富、消化率高,是当今世界分布最广泛的栽培牧草,以“牧草之王”著称,其中多以紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)被熟知^[1-2]。在我国苜蓿已有2 000多年的栽培历史,2011年全国苜蓿保留种植面积377.47万hm²,主要产区在东北、西北、华北和江淮流域^[3-4]。苜蓿可以充分利用河滩、渠旁、沟坡和林间等地种植,不仅是畜禽优质饲草来源,还可以改善土壤、保护环境和用于医药生产等^[5-6]。

研究^[7]表明,苜蓿中含多种生物活性成分,如皂苷、类黄酮、叶蛋白、多糖和膳食纤维等,具有很高

收稿日期:2014-12-20
基金项目:河南省基础与前沿技术研究计划项目(112300410014)
作者简介:陈燕绘(1990-),女,河南新乡人,在读硕士研究生,研究方向:作物遗传育种。E-mail:380953648@qq.com
* 通讯作者:周 岩(1962-),女,河南新乡人,教授,博士,主要从事植物分子生物学研究。E-mail:yanzhou68@126.com

的饲用价值和药用价值。其中皂苷是苜蓿中重要的生物及药理活性物质,不仅能提高苜蓿自身的抗病虫害性,作为饲料还具有降低胆固醇、调节脂类代谢、抗癌、抗氧化和提高机体免疫力等作用。苜蓿属植物中皂苷类有 60 种左右,在植株的各个部位均有不等含量的分布^[8-9]。苜蓿皂苷(alfalfa saponin)是由三萜类同系物的羟基或糖分子环状半缩醛上的羟基脱水缩合而成的环状缩醛物,均为齐墩果烷(oleanane)型五环三萜烯类化合物,第 3 位均为 β 构型的羟基或苷化,第 28 位多连接羧基并且常苷化,第 23、24 位多羟基化或羧基化,糖部分主要为葡萄糖、葡萄糖醛酸、阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、芹菜糖、半乳糖等,且苜蓿皂苷多为白色无定形粉末,只有少数为结晶^[10-11]。介绍了不同地区不同苜蓿品种植株在不同部位和生长期皂苷含量的变化情况及现阶段苜蓿皂苷的主要提取技术,综述了苜蓿皂苷生物学功能和应用的研究进展,旨在为苜蓿皂苷的深入研究和利用提供参考。

1 苜蓿皂苷的含量

苜蓿的根、茎、叶、花和种子中都含有一定量的苜蓿皂苷,但是在品种、部位和生长期的影响下,苜蓿皂苷含量则有一定的变化。Nowacka 等^[12]用高效液相色谱法测得苜蓿根部皂苷含量比地上部分略高,分别占干物质的 2.43% 和 1.49%。徐琅等^[13]采用比色法对江苏地区所种植的紫花苜蓿、天蓝苜蓿和南苜蓿不同部位的皂苷含量进行测定,结果发现,在根中皂苷的平均含量达到 1.335%,明显大于叶(0.655%)和茎(0.596%)。金鑫^[14]通过对南苜蓿、天蓝苜蓿、紫花苜蓿根、茎、叶中的皂苷含量研究发现,紫花苜蓿根中皂苷含量略高于其他 2 种苜蓿;叶中皂苷含量与茎中皂苷含量无明显差异。晏石娟等^[15]采用分光光度法对甘肃地区栽培的 25 个苜蓿品种进行皂苷含量测定,结果发现,所有苜蓿品种中叶片的皂苷含量均高于茎,其中 4 种苜蓿茎和叶的皂苷含量随着生长发育时期的推进而升高,且在盛花期达到最高,但此时花的皂苷含量明显高于叶,茎秆中的含量则是最低。

魏晓玲^[16]通过对内蒙古地区种植的紫花苜蓿、黄花苜蓿和草原 2 号苜蓿的研究发现,从返青期到初花期,植株总皂苷含量表现为紫花苜蓿 > 草原 2 号苜蓿 > 黄花苜蓿,并且紫花苜蓿与黄花苜蓿差异达极显著水平;但在盛花期和结荚期,草原 2 号苜蓿的总皂苷含量则最高,结荚期的草原 2 号苜蓿和紫花苜蓿植株总皂苷含量显著大于其他生育时期的植

株总皂苷含量;在成熟期,黄花苜蓿的总皂苷含量则是最高。总的来说,苜蓿中皂苷的含量高低受苜蓿品种、部位和生长时期的影响。

2 苜蓿皂苷的分离提取

报道的苜蓿皂苷分离提取方法很多,大多是根据皂苷类物质极性较大,并且具有吸湿性,易溶于水、甲醇、热乙醇等物理特性^[17],采用溶剂提取法,即选用对所需活性成分溶解度大、对不需要溶出成分溶解度小的溶剂,将所需有效成分分离出来的方法。在对传统皂苷提取工艺改进后,近年来出现了超声波提取技术、微波辅助萃取法、大孔吸附树脂法、有机溶剂沉淀法、超临界萃取以及膜技术等。

2.1 超声波提取技术

超声波提取技术主要是运用压电换能器产生的快速机械振动波,来减少目标萃取物与样品基体之间的作用力,从而实现固液萃取分离。也就是利用超声波产生的强烈振动、高加速度、强烈空化效应和搅拌作用等,加速原料中有效成分进入溶剂。

薛春放等^[18]采用超声波辅助技术对苜蓿皂苷进行醇提法提取,使用大孔吸附树脂对其富集纯化,结果表明,在乙醇含量为 70%、超声时间为 60 min、溶剂比例为 1:10 时,提取效果最佳。李波等^[19]发现,对苜蓿总皂苷类物质提取量的影响程度由大到小依次为超声时间、物料比、超声功率、超声温度;最佳的提取条件是物料比 1:20、超声时间 30 min、超声功率 80 W、超声温度 20 ℃。张亮^[20]利用响应面法优化了超声波提取苜蓿皂苷的工艺条件,发现最优条件为超声功率 403 W、超声时间 22 min、超声温度 43 ℃、乙醇含量 75%、固液比 1:51。

超声波提取技术具有提取时间短、提取效率高和适用范围广等优点,从而成为高效、节能、环保式提取的现代高新技术手段,目前主要应用于各种中药材和动、植物中有效成分的提取^[21]。虽然超声处理在某些情况下快速高效,但会形成局部高温;由于 1 次只能处理 1 个样品,所以即使提取的速度很快,样品的输出量也很低,纯度也较低。

2.2 微波辅助萃取法

微波辅助萃取法是微波和传统的溶剂提取法相结合的萃取方法,其基本原理为在微波场中运用吸收微波能力的差异,使得细胞内不同结构的化合物被微波选择性加热,致使细胞破裂,胞内物质自由流出,从而使被提取物质分离出来进入萃取剂中。

李波^[22]、贾秀峰等^[23]分别采用了微波提取法和索式提取法提取苜蓿皂苷类物质,结果发现,微波

提取法无论在溶剂用量、能量消耗还是提取时间上都比索氏提取法具有明显的优势,并且确定了微波提取的最佳时间为 3 min。

微波辅助萃取法能简便分离原混合物,操作容易、萃取时间短,有利于节约成本,对皂苷的提取率最高^[24]。但和传统方法相比,溶质溶于有机溶剂后不易被分离出来;且对于热敏性物质,微波加热容易导致其变性或者失活,因此一般适用于热稳定性的物质;对物料的吸水性要求较高,以免细胞不能吸收足够的微波使自身击破,产物也就不易释放出来;另外微波提取对组分的选择性较差,对提取设备的要求也较高。

2.3 大孔吸附树脂分离法

大孔吸附树脂是 20 世纪发展起来的一种不溶于酸、碱及各种有机溶剂的新型非离子型有机高分子聚合物,其不仅具有较大的比表面积,而且还有较好的大孔网状结构,主要通过从溶液中有选择性地物理吸附有机物质,达到分离提纯的目的。

许舒雯等^[25]以 D101 大孔吸附树脂纯化苜蓿皂苷,分别用 4 个柱体积的 25% 乙醇洗脱杂质、4 个柱体积的 60% 乙醇以 1 BV/h 速度一次洗脱,收集 60% 乙醇洗脱液部分,减压浓缩,干燥后得苜蓿皂苷,纯化前固形物苜蓿皂苷含量为 0.37%,纯化后固形物中苜蓿皂苷含量为 5.8%,精制度达到 15.68 倍,此纯化苜蓿皂苷的工艺条件可取得较好的效果。徐琅^[26]在对紫花苜蓿总皂苷的分离纯化工工艺研究试验中,运用并确定 D101 大孔树脂纯化苜蓿皂苷的工艺参数,纯化后的苜蓿皂苷含量从原液中的 0.57% 增加至 36.68%,回收率达到 73.5%。王蓓花等^[27]的研究表明,中等极性的 AB-8 树脂对苜蓿皂苷具有最大的吸附量,且当苜蓿粗提取物量和 AB-8 树脂量为 1:1 时,树脂的吸附量达到最大,可见 AB-8 大孔吸附树脂可用于苜蓿皂苷的大规模制备。

大孔吸附树脂法物理化学稳定性高、工艺简便、条件温和,且树脂可反复使用,在我国医药领域中应用最为广泛,是提取、分离、纯化中草药中水溶性有效成分的一种快速有效方法。但大孔吸附树脂技术在工业化过程中尚存在一些不足之处,如有机残留物较高,预处理难度较大;树脂的强度差,使用过程中易破碎,使用寿命短;易受流速和溶质浓度的影响,分离效果差,操作技术要求高等。

3 苜蓿皂苷的生物学功能及应用

苜蓿皂苷具有降低胆固醇、调节脂类代谢、消炎

抑菌、杀虫等多种功能。

3.1 降低胆固醇,调节脂类代谢

研究^[28]表明,皂苷主要是通过调节脂类物质的代谢,影响胆固醇的合成、吸收以及排泄,抑制脂质过氧化等的产生,从而控制血脂的升高,继而降低心血管类疾病的发生与发展。Malinow 等^[29-30]通过对小鼠饲喂苜蓿皂苷发现,苜蓿皂苷可以抑制小鼠肠道对胆固醇类物质的吸收。Yu 等^[31]的研究也表明,通过对小鼠饲喂苜蓿皂苷,发现高血脂症小鼠肝脏中的甘油三酯酶活性、脂蛋白脂酶以及相应 mRNA 的表达量都得到一定增强。王成章等^[32]在对照组日粮的基础上分别添加 0.25%、0.50%、1.00% 的苜蓿皂苷,结果表明,在饲料中添加一定量的苜蓿皂苷不仅可以使血清中甘油三酯的含量明显降低,并且随着皂苷含量的不断增加,其血清中谷胱甘肽过氧化物酶的活性也得到不断增强,有利于降低血清、肝脏和肌肉中的胆固醇含量,调节仔猪的血脂代谢。

Jiang 等^[33]在番鸭饲料中添加 9% 的苜蓿草粉,发现其不仅能够使血清中的低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白、总胆固醇、总甘油三酯和游离脂肪酸的含量得到降低,并且可以降低番鸭的腹脂率,改善其胴体性状。刘大林等^[34]把 320 只京海黄鸡随机平均分为 4 组,对照组饲喂基础日粮,试验组在基础日粮中分别添加 0.03%、0.06% 和 0.09% 苜蓿皂苷,进行 112 d 的饲养试验后发现,添加苜蓿皂苷能在一定程度上改善肉色,显著降低失水率和剪切力,提高肌肉 pH 值、水分含量和粗蛋白含量;同时还能显著降低脂肪及胆固醇含量,且在其日粮中添加 0.06% 的苜蓿皂苷更为合理。

目前,虽然苜蓿皂苷影响胆固醇吸收的具体作用机制还不清楚,但长期的研究观察发现,皂苷主要是在动物腔肠中通过与胆固醇结合形成不溶于水的复合物,使胆固醇的排泄得到增加,减少了胆固醇在肠道内的吸收,从而起到降低血清中胆固醇含量的作用^[16,35-37]。

3.2 抗氧化和抑菌作用

机体新陈代谢产生的自由基如超氧阴离子、过氧化物和氢氧自由基等均可对机体造成损伤,进而影响其生产性能的充分发挥,有研究表明,苜蓿皂苷对消除体内自由基、增强其抗氧化功能具有重大意义。

武志敏^[38]选择 54 头三江白猪,采用 3×3 (甜菜碱×苜蓿皂苷)二因子三水平试验设计,在玉米-豆粕型日粮基础上添加不同水平的甜菜碱(0、

800、1 000 mg/kg) 与 苜蓿皂苷 (0、1 500、2 500 mg/kg), 经过 28 d 的试验期后, 与对照组相比, 在肠道微生物方面, 苜蓿皂苷对沙门氏菌和大肠杆菌有显著的抑制作用, 在一定程度上降低了仔猪的腹泻率。王彦华等^[39]采用单因子完全随机试验, 在基础饲料中添加 0、7.0%、14.0%、21.0% 的苜蓿草粉和 0.3% 的苜蓿皂苷, 依次标记为对照组、试验 I 组、试验 II 组、试验 III 组、试验 IV 组, 经过 10 d 的预试期和 37 d 的正试期试验发现, 添加苜蓿草粉或苜蓿皂苷有显著促进肝脏超氧化物歧化酶活性、眼肌超氧化物歧化酶活性和谷胱甘肽过氧化物酶活性的作用, 其中试验 II、III、IV 组上述 3 项指标均显著或极显著高于对照组, 说明添加苜蓿草粉或 0.3% 的苜蓿皂苷于肥育猪饲料中, 可以对其抗氧化性能和生长性能起到一定的改善作用。

有研究发现, 苜蓿皂苷类物质对分生和游动孢子的生长具有一定的抑制作用, 通过观察苜蓿皂苷对香毛簇霉菌 G 产生较强的破坏作用, 可以说明其有抗真菌的作用^[40-41]。张亮^[20]经研究发现, 苜蓿皂苷对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、青霉、根霉和黑曲霉有抑制作用, 且其抑菌率与提取液的浓度及作用的时间呈正相关; 同时发现皂苷对食物中的细菌和芽孢杆菌也有很好的抑制作用, 具有明显的防腐效果。李波等^[42]研究发现, 苜蓿皂苷提取液对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌 2 种细菌有抑制作用, 且其最低抑制质量浓度分别为 0.024 0 mg/mL 和 0.047 9 mg/mL; 另外皂苷提取液可以清除羟基、DPPH 和超氧阴离子 3 种自由基, 有螯合 Fe^{2+} 的作用, 并且随着皂苷浓度的升高, 其清除能力和螯合能力得到不断增强, 但是同一浓度的皂苷提取液对 DPPH 自由基的清除作用最强。雷彩燕等^[43]发现, 对小麦根用质量浓度为 2.0 mg/mL 的皂苷处理 6 d 后, 对小麦根腐病病原菌和小麦赤霉病病原菌的抑菌活性最强, 分别达 60.15% 和 55.13%; 而在第 8 天则对小麦纹枯病病原菌抑菌活性最强, 达到 66.64%。

3.3 对反刍动物的影响

苜蓿皂苷对反刍动物的影响主要表现在瘤胃的消化发酵方面。Lu 等^[44]将苜蓿皂苷水解后注入绵羊瘤胃中, 发现瘤胃原虫的数量明显减少, 同时苜蓿皂苷对瘤胃中微生物的发酵和营养物质的消化也有抑制作用; 在给绵羊喂食含皂苷的浓缩饲料后发现, 其可增加消化道中的有机物、半纤维素和纤维素的表观消化系数; 同时发现皂苷也能降低液体培养基中瘤胃细菌短链脂肪酸和小分子蛋白质的合成。

丁健等^[45]选用 4 只体况良好、安装永久性瘤胃瘘管的徐淮白山羊, 晨饲后采集瘤胃液, 分离出原虫, 采用体外培养方法进行发酵, 分别添加 0、1%、2% 及 3% 苜蓿皂苷, 体外厌氧培养 24 h 后发现: 对瘤胃原虫培养液添加 1% ~ 3% 的苜蓿皂苷后, 其 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度和 pH 值均无显著变化, 而乙酸、丙酸、丁酸和总挥发性脂肪酸 (TVFA) 浓度则降低, 且乙酸/丙酸有升高的趋势; 2% 和 3% 的苜蓿皂苷使瘤胃原虫培养液中微生物蛋白 (MCP) 浓度极显著降低, 和对照组相比分别降低了 24.5% 和 17.1%, 说明苜蓿皂苷对瘤胃原虫有一定的抑制作用, 并且对原虫发酵产生丙酸的抑制效应大于乙酸。但是魏晓玲^[46]在研究苜蓿总皂苷粗提物对绵羊瘤胃发酵功能的影响上却有不同发现: 添加苜蓿总皂苷后, 绵羊瘤胃 pH 值有所降低, 原虫总数减少, 乙酸/丙酸的比值和干物质的降解率降低, 但 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的浓度和乙酸、丙酸、丁酸以及 TVFA 的含量增加。以上研究结果差异的原因尚不清楚。

张建刚等^[47]采用和丁健等^[45]相同的试验方法, 但是在各发酵瓶中分别装入 2.00 g 底物后, 又添加人工唾液 80 mL 和瘤胃液 40 mL, 充分混合均匀后放置于 39 °C 恒温水浴摇床上, 经过 24 h 厌氧培养后发现, 在日粮中添加 1% 的苜蓿皂苷时未对木聚糖酶和纤维素酶活性造成不利影响, 但超过 1% 时其活性则出现降低; 添加苜蓿皂苷的多少对纤维二糖苷酶活性和内切葡聚糖酶活性没有产生影响, 但是添加 1% ~ 3% 的苜蓿皂苷使干物质 (DM) 降解率得到极显著地提高。其后的研究又证明, 添加苜蓿皂苷对瘤胃细菌发酵液的 pH 值有降低作用, 且在苜蓿皂苷添加量为 3% 组达到极显著水平; 提高了 TVFA 的浓度, 2% 和 3% 组达到显著水平; 提高 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度, 3% 组达到显著水平, 但 1% ~ 3% 的苜蓿皂苷添加量均未对 MCP 浓度产生显著的影响, 说明添加苜蓿皂苷可以改善瘤胃细菌的发酵性能^[48]。另外, 有研究表明苜蓿皂苷还可使反刍家畜瘤胃产生臌胀病^[49-50]; 具有抗营养作用^[51]。

3.4 在其他方面的作用

Golawska 等^[52]研究发现, 在豌豆蚜虫采食高含量的苜蓿皂苷后, 其对韧皮部汁液摄食期限缩短, 试探期和非试探期周边组织 (叶肉和表皮) 的生长时间延长, 并且发现其生存和繁殖能力有所下降, 从而抑制了其数量的增长。Mazahery-Laghah 等通过对苜蓿皂苷与蚜虫之间关系的研究发现, 随着苜蓿皂苷浓度的增加, 蚜虫的数量逐渐降低^[53-54]。张羽男等^[55]研究发现, 随着紫花苜蓿皂苷浓度的增加, 人

肝癌细胞 SMMC772 细胞活性逐渐降低,细胞凋亡指数逐渐升高,表明紫花苜蓿皂苷具有较为显著的抗肿瘤活性。另外,皂苷还能影响昆虫对甾醇的吸收,抑制小麦幼苗的生长^[9]。某些紫花苜蓿皂苷还可能会抑制一些动物对蛋白质的消化吸收等^[56]。

4 展望

近年来,随着国内外研究以及对苜蓿认识的不断深入,苜蓿的生物活性物质也越来越受到人们的广泛关注。大量研究已经证明了苜蓿皂苷在抗菌、抗氧化、降低胆固醇、调节脂类代谢以及增强机体免疫力等方面发挥独特的作用。鉴于苜蓿皂苷的各种生理特性,不仅可以将其作为天然的新型饲料添加剂应用在畜牧业生产中,更应深入研究苜蓿皂苷的具体作用分子机制,消除其可能产生的不利影响,相信随着科学技术的不断进步以及对苜蓿研究的逐渐深入,其各种生物学活性物质将会得到更充分的开发和应用。

参考文献:

- [1] 李清忠. 紫花苜蓿的饲用价值与病虫害防治[J]. 当代畜禽养殖业, 2013(7): 39-40.
- [2] Samac D A, Austin-Phillips S. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) biological significance of saponins [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2006, 343(5): 301-311.
- [3] 卢欣石. 中国苜蓿产业发展问题[J]. 中国草地学报, 2013, 35(5): 1-5.
- [4] 陈东颖. 紫花苜蓿的综合利用[J]. 江西饲料, 2011(1): 26-29.
- [5] 赵玉华, 郭素红. 紫花苜蓿的生物学特性及栽培管理措施[J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 34(11): 41-42.
- [6] 李文桂, 陈雅棠. 转基因苜蓿的研究进展[J]. 热带医学杂志, 2009, 9(10): 1204-1208.
- [7] 樊文娜, 王成章, 史鹏飞, 等. 苜蓿皂苷的研究进展[J]. 草业科学, 2008, 25(11): 65-69.
- [8] 董晓宁, 赵海福, 赵强国, 等. 国产苜蓿种类与分布及化学成分的研究[J]. 国外畜牧学——猪与禽, 2013, 33(8): 71-75.
- [9] Price K R, Johnson I T, Fenwick G R. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs[J]. *Rev Food Sci Nutre*, 1987, 26(1): 127-135.
- [10] 何春年, 高微微, 佟建明. 苜蓿属植物的皂苷类化学成分[J]. 中国农学通报, 2005, 21(3): 107-108.
- [11] 崔保国, 周玉香, 刘云, 等. 苜蓿皂甙在动物生产中的应用概况[J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 34(7/8): 48-49.
- [12] Nowacka J, Oleszek W. Determination of alfalfa (*Medicago sativa*) saponins by high-performance liquid chromatography [J]. *Agric Food Chem*, 1994, 42: 727-730.
- [13] 徐琅, 宋晓峰, 龚祝南, 等. 3 种苜蓿不同部位皂苷含量的测定研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(28): 15566-15567.
- [14] 金鑫. 南苜蓿、天蓝苜蓿、紫花苜蓿根茎叶中皂苷含量的测定和比较[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(4): 57-60.
- [15] 晏石娟, 张咏梅, 洪绶曾, 等. 不同苜蓿品种中皂苷含量的比较研究[J]. 草原与草坪, 2012, 32(2): 30-34.
- [16] 魏晓玲. 不同品种苜蓿在不同生育期总皂苷含量变化的研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 33(10): 49-50.
- [17] 孙彦, 龙瑞才, 张铁军, 等. 紫花苜蓿皂苷研究进展[J]. 草业学报, 2013, 22(3): 274-283.
- [18] 薛春放, 于国萍. 超声波辅助提取苜蓿皂苷及其纯化研究[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(3): 96-99.
- [19] 李波, 魏广培. 超声波提取苜蓿总皂苷优化工艺的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 187-189.
- [20] 张亮. 新疆紫花苜蓿皂苷的提取、分离及纯化工艺研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2009.
- [21] 张卫红, 吴晓霞, 马空军, 等. 超声波技术强化提取天然产物的研究进展[J]. 现代化工, 2013, 33(7): 26-29.
- [22] 李波. 紫外线诱变处理对苜蓿种子苜蓿皂苷含量的影响研究[J]. 种子, 2008, 27(1): 38-39.
- [23] 贾秀峰, 李波. 微波辅助提取苜蓿皂苷类物质及含量的测定[J]. 黑龙江畜牧兽医: 科技版, 2010(8): 102-104.
- [24] 薛春放. 苜蓿皂苷的提取纯化与生物活性评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [25] 许舒雯, 龚祝南, 丛晓东, 等. 大孔树脂分离纯化苜蓿皂苷工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13): 3176-3177.
- [26] 徐琅. 苜蓿皂苷的分离纯化及结构鉴定[D]. 南京: 南京师范大学, 2008.
- [27] 王蓟花, 周雨凡, 贺伟, 等. 大孔吸附树脂对苜蓿皂苷的吸附和解吸附作用[J]. 天然产物研究与开发, 2011(23): 275-278.
- [28] 王虎根, 周淡宜, 徐水祥, 等. 复方红曲制剂调节血脂作用的实验研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(5): 540-541.
- [29] Malinow M R, McLaughlin P, Papworth L, et al. Effect of alfalfa saponins on intestinal cholesterol absorption in rats[J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1977, 30(12): 2061-2067.
- [30] Malinow M R. Effect of alfalfa meal on shrinkage of cholesterol plaques during cholesterol feeding in monkeys [J]. *Atherosclerosis*, 1978, 30(1): 27-43.
- [31] Yu C H, Xie G, He R R, et al. Effects of a purified sap-

- onin mixture from alfalfa on plasma lipid metabolism in hyperlipidemic mice [J]. *Journal of Health Science*, 2011, 57(5): 401-405.
- [32] 王成章, 王彦华, 史莹华, 等. 苜蓿皂苷对断奶仔猪脂质代谢、抗氧化和免疫的影响[J]. *草业学报*, 2011, 20(4): 210-218.
- [33] Jiang J, Song X, Huang X, *et al.* Effects of alfalfa meal on carcass quality and fat metabolism of muscovy ducks [J]. *British Poultry Science*, 2012, 53(5): 681-688.
- [34] 刘大林, 胡楷崎, 曹喜春, 等. 苜蓿皂甙对京海黄鸡生长性能和肉品质的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2013, 49(21): 53-56.
- [35] 胡常菊. 苜蓿总皂苷对高脂血症小鼠血清血脂水平的影响[J]. *实用中医药杂志*, 2014, 30(5): 385-386.
- [36] 王先科, 史莹华, 王成章, 等. 苜蓿皂苷对高脂血症大鼠胆固醇代谢及其相关基因表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(5): 983-990.
- [37] 袁德地, 史莹华, 王成章, 等. 苜蓿皂苷对 SD 大鼠胆固醇代谢的影响及其分子机理的初步探讨[J]. *草业学报*, 2013, 22(5): 294-301.
- [38] 武志敏. 甜菜碱和苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2010.
- [39] 王彦华, 程宁宁, 郑爱荣, 等. 苜蓿草粉和苜蓿皂苷对肥育猪生长性能和抗氧化性能的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(12): 2981-2988.
- [40] Vasiukova N I, Paseshnichenko V A, Davydova M A, *et al.* Fungitoxic properties of steroid saponins from the rhizomes of deltoid dioscorea [J]. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 1977, 13(2): 172-176.
- [41] Gruiz K. Fung toxic activity of saponins: Practical use and fundamental principles [J]. *Adv Exp Med Biol*, 1996, 404: 527-534.
- [42] 李波, 孙天颖, 于鑫洋, 等. 苜蓿皂苷的抑菌活性和抗氧化特性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(2): 1-3.
- [43] 雷彩燕, 韩卫丽. 苜蓿皂苷对小麦病原真菌抑制作用研究[J]. *种子*, 2014, 33(1): 34-36.
- [44] Lu C D, Jorgensen N A. Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants [J]. *The Journal of Nutrition*, 1987, 117: 919-922.
- [45] 丁健, 张建刚, 王雅倩, 等. 苜蓿皂苷对瘤胃原虫体外发酵特性的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2013, 49(19): 59-64.
- [46] 魏晓玲. 苜蓿总皂苷粗提物的提取工艺及其对绵羊瘤胃发酵功能的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007.
- [47] 张建刚, 李文婷, 夏晨, 等. 苜蓿皂苷对山羊瘤胃体外培养液纤维降解酶活及降解率的影响[J]. *广东饲料*, 2012, 21(1): 24-26.
- [48] 张建刚, 王雅倩, 赵国琦, 等. 苜蓿皂苷对山羊瘤胃细菌发酵的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2012, 48(9): 51-55.
- [49] 王慧中. 牧草及饲料作物毒物学[M]. 兰州: 甘肃民族出版社, 1996: 25-26.
- [50] 蒋健生. 优良牧草和饲料作物中的有毒物质及其影响因素[J]. *四川草原*, 1997(3): 32-37.
- [51] Cheeke P R. Nutritional and physiological implication of saponins; A review [J]. *Canadian Journal of Animal Sciences*, 1971, 51: 621-632.
- [52] Golawska S, Bogumil L, Oleszek W. Effect of low and high-saponin lines of alfalfa on pea aphid [J]. *Insect Physiology*, 2006, 52(7): 737-743.
- [53] Goławska S, Łukasik I, Wójcicka A, *et al.* Relationship between saponin content in alfalfa and aphid development [J]. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 2012, 54(2): 39-46.
- [54] Mazahery-Laghab H, Yazdi-Samadi B, Bagheri M, *et al.* Alfalfa (*Medicago sativa* L.) shoot saponins: Identification and bioactivity by the assessment of aphid feeding [J]. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105(1): 62-70.
- [55] 张羽男, 刘立新, 张强, 等. 紫花苜蓿皂苷抗肿瘤活性研究[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(5): 36-39.
- [56] Small E. Adaptations to herbivory in alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1996, 74: 807-822.