

鱼腥草挥发油化学成分分析

吴艳霞

(鞍山市农业广播电视学校, 辽宁 鞍山 114006)

摘要:为更好地开发利用鱼腥草挥发油,采用同时蒸馏-萃取的方法,从鱼腥草中提取挥发油,同时利用 GC/MS 方法对提取的挥发性成分进行了鉴定。结果表明:共鉴定了 22 种化学成分,主要有甲基正壬酮(23.56%)、癸酸(15.65%)、4-松油醇(13.97%)、乙酸龙脑酯(9.95%)和乙酸香叶酯(4.56%)等,鉴定的挥发性成分占总挥发油的 92.19%。

关键词:鱼腥草;挥发油;GC/MS;化学成分;分析

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)04-0105-02

鱼腥草 (*Houttuynia cordata*) 又名蕺菜、臭菜、侧耳根,为三白草科多年生草本植物蕺菜的干燥水上部分,产于我国长江流域以南各省。鱼腥草味辛,性微寒,入药具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋的作用,在我国传统医学中具有较为广泛的应用。临床广泛用于治疗肺炎、咯血、上呼吸道感染、慢性支气管炎、感冒发烧、肾病综合征、鼻炎、化脓性中耳炎及流行性腮腺炎等^[1-4]。此外鱼腥草还含有丰富的营养成分,主要有维生素、糖、脂肪和蛋白质等,是一类营养价值高的食品^[5]。

该文用蒸馏-萃取法提取鱼腥草中挥发性物质,用 GC/MS 法从鱼腥草挥发油中分离并确定出 22 种化学成分,用峰面积归一化法通过化学工作站数据处理系统,得出各化学成分在挥发油中的相对百分含量,为鱼腥草的生产和应用提供了可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为鱼腥草样品。试验所用仪器及试剂有气质联用仪 HP6890/5973(美国惠普公司)、旋转蒸馏蒸发器(上海申科机械研究所)、同时蒸馏-萃取装置(自制)及乙醚(分析纯)和无水硫酸钠(分析纯)。

1.2 方法

1.2.1 鱼腥草挥发油的提取 取 100 g 鱼腥草剪碎后置 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 200 mL 去

离子水浸泡,用水蒸汽蒸馏 6 h,馏出液用乙醚连续萃取 3 次,然后用活化过的无水硫酸钠脱水,再用旋转蒸馏器除去乙醚,得到鱼腥草的挥发性成分。

1.2.2 鱼腥草挥发油的分离及鉴定 气相色谱柱为 HP-530 m×0.25 mm×0.33 μm 弹性石英毛细管柱;载气为 He 气;载气流量 1 mL·min⁻¹;进样口温度为 230℃;分流比为 20:1;进样量为 0.2 μL;程序升温 60℃(5℃·min⁻¹)→200℃。

质谱条件:离子源为 EI 源,离子源温度为 230℃;接口温度为 230℃;四极杆温度为 150℃;倍增器电压为 1 345 V;发射电流 34.6 μA;扫描范围 20~500 AMu;电离电压为 70 eV;溶剂延迟 4 min。

按气相色谱和质谱条件对鱼腥草挥发油进行分离鉴定,以 G1701BA 化学工作站检索 Nist98 标准质谱图库并结合有关文献人工检索确定其化学组成,定量采用峰面积归一化法确定各组成在挥发油中的相对百分含量。

2 结果与分析

鱼腥草挥发油的化学成分及相对百分含量见表 1。

用同时蒸馏萃取法从鱼腥草中鉴定出了 22 种化学成分,占挥发油 92.19%。

鉴定的主要成分有甲基正壬酮(23.56%)、癸酸(15.65%)、4-松油醇(13.97%)、乙酸龙脑酯(9.95%)和乙酸香叶酯(4.56%)等。这些化学成分具有杀菌和消炎等作用,鱼腥草在临床上和药理方面的疗效与其挥发性化学成分的作用相一致。

收稿日期:2013-12-16

作者简介:吴艳霞(1967-),女,学士,高级讲师,从事农业化学及相关学科的教育、教学工作。E-mail: aswuyanxia@163.com。

表 1 鱼腥草中挥发油化学成分及百分含量

Table 1 Chemical constituents and content of volatile oil from *Houttuynia volatile*

序号 No.	化合物名称 Names	分子式 Molecular formula	分子量 molecular weight	相对含量/% Relative content
1	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.39
2	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.45
3	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	136	2.65
4	4-异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	134	0.99
5	柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.81
6	γ -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.32
7	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.69
8	4-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	13.97
9	异松油稀	C ₁₀ H ₁₆	136	0.52
10	α -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.82
11	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	142	0.08
12	壬醇	C ₉ H ₂₀ O	144	0.79
13	乙酸龙脑酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	9.95
14	甲基正壬酮	C ₁₁ H ₂₂ O	170	23.56
15	茨烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.72
16	乙酸橙花酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.81
17	乙酸香叶酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	4.56
18	β -丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.90
19	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	15.65
20	月桂酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.51
21	金合欢醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.09
22	氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.96

3 结论与讨论

刘香等^[6]的研究表明,人工栽培鱼腥草主要成分是甲基正壬酮、 β -蒎烯、乙酸龙脑酯、乙酸香叶酯和月桂烯等;野生鱼腥草的主要成分是 β -蒎烯、甲基正壬酮、 α -蒎烯、柠檬烯和乙酸龙脑酯等。该研究中,鱼腥草中挥发油的总含量基本一致,但主要成分有一定的差异。可能与产地、挥发油提取方法及采收季节和存储时间有关。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:

化学工业出版社,2000:180.

[2] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005:155.

[3] 天然. 佳蔬良药“鱼腥草”[J]. 蔬菜,2000(6):32-33.

[4] 吴卫. 鱼腥草的研究进展[J]. 中草药,2001,32(4):367-368.

[5] 李式军,刘凤生. 珍稀名优蔬菜 80 种[M]. 北京:中国农业出版社,1995:257-260.

[6] 刘香,李德,廖桂兰,等. 人工栽培和黔产野生鱼腥草中挥发油成分的研究[J]. 贵阳医学院学报,1997,22(4):361.

Analysis of Chemical Constituents of Volatile Oil from *Houttuynia cordata*

WU Yan-xia

(Anshan Agricultural Broadcasting and Television School, Anshan, Liaoning 114006)

Abstract: In order to develop and use the *Houttuynia cordata* better, the method of simultaneous distillation extraction was used to extract the volatile oil from *Houttuynia cordata*, the GC/MS method was used to extract the volatile components which were identified. The result showed that 22 chemical constituents were identified, including methyl nonyl ketone (23.56%), capric acid (15.65%), 4-terpineol (13.97%), terpineol bornyl acetate (9.95%) and geranyl acetate (4.56%) mainly, the volatile constituents accounted for 92.19% of total volatile.

Key words: *Houttuynia cordata*; volatile oil; GC/MS; chemical constituents; analysis

紫萼玉簪皂苷的提取

曹 岩,刘树英,汪思远,刘继阳,孙叶迎,刘 昕,刘洪章

(吉林农业大学 生命科学院,吉林 长春 130118)

摘要:为探讨紫萼玉簪皂苷提取的最优条件,采用单因素和正交试验(乙醇浓度、料液比、温度及超声时间)方法,研究最适紫萼玉簪皂苷提取条件。结果表明:最佳提取条件为乙醇浓度 60%,料液比 1:15,温度 70℃,超声时间 50 min。

关键词:紫萼玉簪;皂苷;单因素试验;正交试验

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)04-0107-04

玉簪属(*Hosta*)植物为百合科,多年生宿根草本花卉,药用价值和观赏价值都很高^[1-2]。其原产地主要有中国、韩国和日本。在亚洲温带和亚热带地区分布比较广泛。该属共有 3 个亚属 10 个组 43 个原始种,在我国有包含玉簪(*Hosta plantaginea*)、紫萼玉簪(*Hosta ventricosa*)、东北玉簪(*Hosta ensata*)和白粉玉簪(*Hosta albofarinosa*) 4 个原始种的玉簪属植物,而这些均属于我国原产^[3]。

紫萼玉簪(*Hosta ventricosa*)又称紫萼、紫玉簪。在中国的华东和西南等地区分布广泛,同时少量分布在东北南部地区。具有重要的观赏价值和绿化功能。除此之外,紫萼玉簪的全草对于跌打损伤,蛇咬伤以及胃病有辅助治疗的功效。

黄酮类、甾体皂苷类和苄基苯乙胺生物碱类等成为玉簪属植物中重要的化学成分^[4]。玉簪属植物中活性成分的重要类别之一是甾体皂苷。现已试验鉴定的 25 个甾体皂苷是从该属中分离出来的^[5-10],是一种大分子天然有机化合物,而这种化合物极性较强,不容易结晶,但易溶于水和醇,在自然界中分布广泛。

该试验对紫萼玉簪皂苷提取条件进行优化,并对所提粗苷进行检验,为紫萼玉簪成分研究提供条件。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为紫萼玉簪,采自吉林农业大学,叶部晒干,粉碎过 30 目筛。试剂为无水乙醇、石油醚、无水乙醚、正丁醇,均为分析纯。水饱和正丁醇溶液:在 150 mL 的分液漏斗中加入 20 mL 水和 100 mL 正丁醇,振摇 3 min 后,静置分层。去下层后,上层则为水饱和正丁醇。

仪器与设备为粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)、T6 新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)、WD-9415B 型超声波清洗器(北京市六一仪器厂)、RE-52C 旋转蒸发器、SHB-III 循环水式真空泵(上海豫康科技仪器设备有限公司)和电子天平等。

1.2 方法

1.2.1 玉簪皂苷的提取及鉴定 使用电子天平称取样品 100 g,按照正交表最适条件的料液比、乙醇浓度、超声温度、超声时间,使用超声波清洗器进行提取,过滤并旋转蒸发至无醇味。用蒸馏水溶解残渣,以无水乙醚萃取至醚层无色(上层为醚层),弃醚液,水层用水饱和正丁醇萃取(重复多次),回收正丁醇水浴浓缩至干,保存备用。取试验中制备的玉簪浸膏,进行甾体皂苷定性检测试验,用来检测提取物是否含有皂苷。定性试验为泡沫试验、三氯化锑-氯仿饱和溶液反应以及 Liebermann 反应^[11]。

(1)泡沫试验:取玉簪浸膏,加入 3 mL 水溶解,置于 10 mL 比色管中剧烈振摇,有蜂窝状泡沫产生,并持续达 15 min 以上不消失。同时做空白对照,产生的泡沫在 1 min 内消失。

(2)三氯化锑-氯仿饱和溶液反应:将玉簪浸

收稿日期:2013-12-09

基金项目:吉林省科技厅资助项目(20100254)

第一作者简介:曹岩(1986-),男,吉林省长春市人,在读硕士,从事天然药物产物化学研究。E-mail:14818792@qq.com。

通讯作者:刘洪章(1957-),男,博士,教授,博士研究生导师,从事植物资源研究。E-mail:lh2999@126.com。

膏加氯仿溶解,然后加入五氯化锑的氯仿溶液,颜色呈紫蓝色,同时做空白对照试验,无此变化现象。

(3) Liebermann 反应:将玉簪浸膏加醋酐 3 mL 溶解,然后滴 1 滴浓硫酸,摇匀,颜色变化为:黄→红→绿,放置 24 h 后绿色褪去。同时做空白对照试验,无此变化现象。

1.2.2 标准曲线 首先准确称取 100 mg 薯蓣皂苷标准品,然后用 60% 的乙醇溶解并定容至 100 mL。分别量取标准溶液 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35 和 0.40 mL,再用 60% 的乙醇定容至 10 mL,使其浓度分别为:0.010、0.015、0.020、0.025、0.030、0.035 和 0.040 mg·mL⁻¹。在波长 268 nm 下,以 60% 乙醇为空白,用紫外分光光度计分别测 OD 值,绘制成标准曲线^[12]。

1.2.3 单因素试验 使用电子天平准确称取 0.5 g 紫萼玉簪粉末,分别从 4 个因素:料液比、乙醇浓度、超声温度、超声时间进行单因素试验,通过测得的 OD 值与标准曲线的比较,确定最佳的提取条件。

(1) 乙醇浓度试验:分别称取 6 份 0.5 g 玉簪粉末,加入浓度为 20% 的乙醇 10 mL、浓度为 30% 的乙醇 10 mL、浓度为 40% 的乙醇 10 mL、浓度为 50% 的乙醇 10 mL、浓度为 60% 的乙醇 10 mL、浓度为 70% 的乙醇 10 mL,在 50℃,100 W 超声功率下处理 20 min,过滤,稀释,并测每组的 OD 值,重复 3 次,取平均值,并将 OD 的平均值代入标准曲线,并以此为基础换算成提取率。

(2) 料液比试验:称取 6 份 0.5 g 玉簪粉末,第 1 份按照料液比 1:10 加入 50% 乙醇、第 2 份按照料液比 1:15 加入 50% 乙醇、第 3 份按照料液比 1:20 加入 50% 乙醇、第 4 份按照料液比 1:25 加入 50% 乙醇、第 5 份按照料液比 1:30 加入 50% 乙醇、第 6 份按照料液比 1:35 加入 50% 乙醇,在温度为 50℃,超声功率 100 W 的条件下处理 20 min,在经过过滤,稀释后,测出每组的 OD 值,并将此过程重复 3 次,取 3 次的平均值,并将最后算出的 OD 平均值代入标准曲线换算成提取率。

(3) 温度试验:称取 0.5 g 玉簪粉末,加入 50% 乙醇 10 mL,在 20℃,超声功率 100 W 的条件下处理 20 min,并经过滤、稀释后测出 OD 值。重复 3 次后取平均值,并将其代入标准曲线换算成提取率。再分别取 5 份 0.5 g 玉簪粉末,在 30、40、50、60、70、80℃ 下,保证其它条件步骤不变,算出平均 OD 值并代入标准曲线换算成提取率。

(4) 超声时间试验:首先,称取 0.5 g 玉簪粉末,加入 50% 乙醇 10 mL,在 50℃、超声功率 100 W 的条件下处理 10 min,经过过滤,稀释后测出 OD 值,重复 3 次后取平均值,并将该平均值代入标准曲线换算成提取率。之后分别称取 0.5 g 玉簪粉末,在其它条件步骤不变的前提下分别处理 20、30、40、50、60 min,将所得的平均值分别代入标准曲线换算成提取率。

1.2.4 正交试验 利用 L₁₆(4⁵) 正交表,采取单因素的方式进行正交试验,对提取紫萼玉簪甾体皂苷的条件进行优化(见表 1)。

表 1 正交试验因素及水平

Table 1 Factors and levels of the extraction from steroidal saponins

水平 Level	A 乙醇浓度/% Ethanol concentration	B 料液比 Ratio of solid to liquid	C 超声温度/℃ Temperature	D 超声时间/min Extraction time
1	40	1:15	60	30
2	50	1:20	70	40
3	60	1:25	80	50

2 结果与分析

2.1 标准曲线

薯蓣皂苷标准曲线见图 1。回归方程为:

$Y = 25.571X - 0.044$, 相关系数 $R^2 = 0.9996$ 。

皂苷得率(mg·g⁻¹) = (c×v)/10w

其中,c 为由薯蓣皂苷标准曲线测得的皂苷浓度(mg·mL⁻¹),v:皂苷溶液体积(mL),w:紫萼玉簪样品质量(g)。

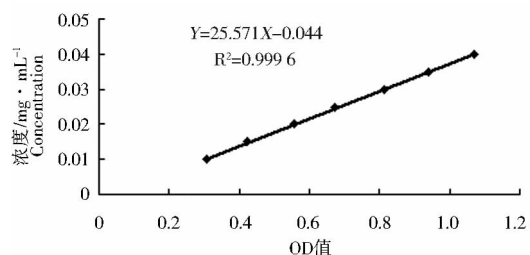


图 1 薯蓣皂苷标准曲线

Fig. 1 The standard curve of saponin

2.2 单因素试验结果

2.2.1 乙醇浓度对玉簪皂苷提取率的影响 从图 2 坐标曲线可以看出,乙醇浓度在 40%~50% 时,提取率明呈现出递增趋势,当浓度达到 50% 时提取率最高,所以再选取 40%、50%、60% 乙醇浓度的溶液作正交试验的平行数据,进行进一步优化。

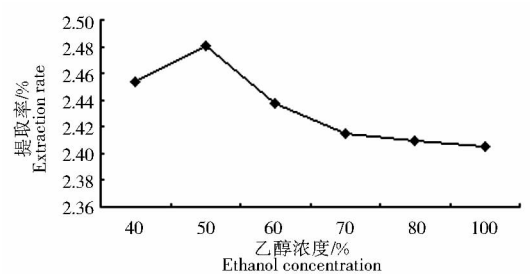


图 2 不同乙醇浓度对提取率的影响
Fig. 2 The effect of different ethanol concentration on extraction rate

2.2.2 料液比对玉簪皂苷提取率的影响 从图 3 坐标曲线可以看出,在料液比 1:20 时,提取率达到最大值。所以选择料液比为 1:15、1:20、1:25 的溶液作正交试验的平行数据,进行进一步优化。

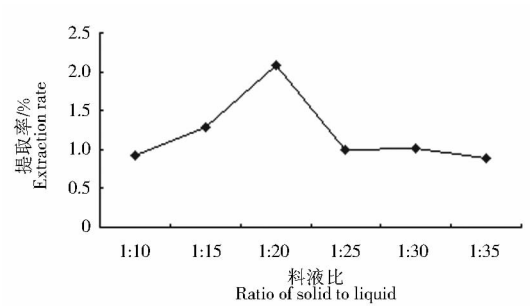


图 3 不同料液比对提取率的影响
Fig. 3 The effect on extraction rate of different ratio of solid to liquid

2.2.3 温度对玉簪皂苷提取率的影响 由图 4 坐标曲线可知,从 60~70℃,提取率明显升高,在

70℃达到最大值,所以选取温度为 60、70 与 80℃ 作正交试验的平行数据,进行进一步优化。

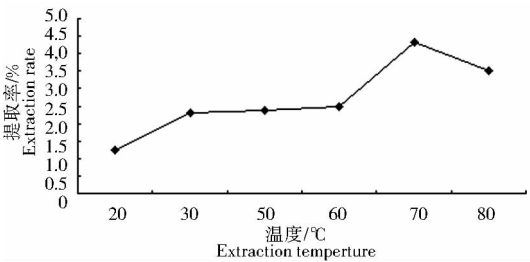


图 4 不同温度对玉簪皂苷的提取率的影响
Fig. 4 The effect of temperature on extraction rate

2.2.4 超声时间对玉簪皂苷提取的影响 由图 5 坐标曲线可以可知,从 20~40 min 这一范围内,提取率明显升高,40 min 达到最大值。选取超声时间为 30、40 与 50 min 作正交试验的平行数据,进行进一步优化。

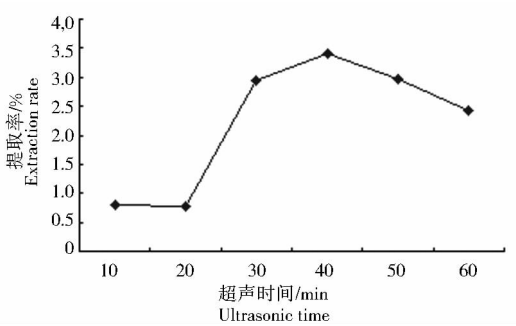


图 5 不同超声时间对玉簪皂苷提取率的影响
Fig. 5 The effect of ultrasonic time on extraction rate

2.2.5 正交试验结果 从各因素的极差值(R) 的对比可以看出(见表 2),影响紫萼玉簪皂苷提取率的因素顺序为 B>D>A>C,根据正交试验表的得率与实际操作情况相结合,最终确定最佳玉簪皂苷提取条件为: A2(乙醇浓度 60%)、B1(料液比 1:15)、C2(温度 70℃)、D3(超声时间 50 min)。

表 2 正交设计测得的玉簪皂苷提取率
Table 2 The results of orthogonal test

编号 No.	A 乙醇浓度/% Ethanol concentration	B 料液比 Solid to liquid ratio	C 超声温度/℃ Temperature	D 超声时间/min Time	提取率/% Extraction rate
1	1	1	1	1	3.81
2	1	2	2	2	3.39
3	1	3	3	3	2.66
4	2	1	3	2	4.29
5	2	2	1	3	4.06
6	2	3	2	1	2.77
7	3	1	2	3	4.72

续表 2

Continuing Table 2

编号 No.	A 乙醇浓度/% Ethanol concentration	B 料液比 Solid to liquid ratio	C 超声温度/℃ Temperature	D 超声时间/min Time	提取率/% Extraction rate
8	3	2	1	3	2.84
9	3	3	2	1	2.83
K1	3.287	4.273	3.567	3.140	
K2	3.707	3.430	3.627	3.503	
K3	3.463	2.753	3.263	3.813	
R	0.420	1.520	0.364	0.673	

3 结论与讨论

张璐等^[13]在百合总皂苷提取工艺中对酶解时间、酶解 pH、酶添加量、超声时间等 4 个因素进行研究,将超声提取法与酶解法结合起来,提取过程在相对较低的温度下进行。相对该试验超声温度较低,超声效果有所提高,但是影响因素相对不易控制,试验结果不够稳定。徐金等^[14]对白粉玉簪甾体皂苷提取方法进行研究,而该试验对紫萼玉簪的提取条件进行优化,提取结果进行鉴定,对玉簪进一步研究具有借鉴作用。

该试验选择超声提取法,相对回流提取法,简化了操作、缩短了提取时间、提高了样品的提取率。在超声提取皂苷方法中,受影响的因素有很多,如乙醇浓度、料液比、超声温度、超声时间等。不同产地,不同品种的玉簪所适合的最适条件也有所不同。经过该试验的研究,初步确定紫萼玉簪皂苷提取的最适条件为:乙醇浓度 60%,料液比 1:15,温度 70℃,超声时间 50 min。在最适条件下,对样品进行提取,通过此方法提取的皂苷提取率为 4.72%,在下一步的试验中,将进一步研究紫萼玉簪皂苷生物活性及其药用价值。

参考文献:

- [1] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,1977:115-116.
- [2] 孙惠民,王志彦. 园林中重要的阴生花卉——晶索素雅玉簪花[J]. 河北林业科技,2005,8(4):121-121.
- [3] 余树勋,康晓静,余晓东. 玉簪花[M]. 北京:中国建工出版社,2003:2-5.

- [4] Wang Y H,Zhang Z K,Yang F M,et al. Benzyl-phenethylamine alkaloid from *Hosta plantaginea* with inhibitory activity tobacco mosaic virus and acetyl-cholinesterase[J]. J Nat Prod,2007,70(9):1458-1461.
- [5] 张金花,解红霞,薛培凤,等. 蒙药玉簪花中的甾体化合物[J]. 中国药理学杂志,2010,45(5):335-337.
- [6] Mimaki Y,Kuroda M,Kameyama A,et al. Saponins from the rhizomes of *Hosta sieboldii* and their cytostatic activity on HL-60 cells[J]. Phytochemistry,1998,48:1361-1369.
- [7] Mimaki Y,Kanmoto T,Kuroda M,et al. Steroidal saponins from *Hosta longipes* and their inhibitory activity on tumor promoter-induced phospholipids metabolism of HeLa cells[J]. Phytochemistry,1996,42(4):1065-1070.
- [8] Mimaki Y,Kameyama A,Kuroda M,et al. Steroidal glycosides from the underground parts of *Hosta plantaginea* var: japonica and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells[J]. phytochemistry,1997,44(2):305-310.
- [9] Mimaki Y,Kanmoto T,Kuroda M,et al. Steroidal saponins from the underground parts of *Hosta longipes* and their inhibitory activity on tumor promoter-induced phospholipids metabolism [J]. Chem. Pharm. Brll., 1995, 43 (7): 1190-1196.
- [10] 怡悦. 紫玉簪中 F-吉托皂苷刺激中性白细胞样细胞的活性[J]. 国外医学·中医中药分册,2004,26(1):39.
- [11] 吴晓斌,任凤莲,邱昌桂,等. 百合皂苷的提取、纯化及其鉴定[J]. 广州化学,2005(2):36-40.
- [12] 王昌利,张振光,杨景亮,等. 超声提高薯蓣皂苷得率的实验研究[J]. 中成药,1994(4):7-7.
- [13] 张璐,时伟,张金玲,等. 超声酶法提取百合总皂苷的研究[J]. 饮料工业,2012,15(6):20-21.
- [14] 徐金,李晓东,刘洪章,等. 白粉玉簪甾体皂苷提取方法研究[J]. 北方园艺,2012(1):60-62.

Study on Ultrasonic Extraction of Steroidal Saponins from *Hosta albofarinosa*

CAO Yan, LIU Shu-yin, WANG Si-yuan, LIU Ji-yang, SUN Ye-ying, LIU Xin, LIU Hong-zhang
(College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: In order to investigate the best extraction conditions of the *Hosta albofarinosa*, the single factor and orthogonal experiments method were conducted including ethanol concentration, solid-liquid ratio, temperature and ultrasonic time, and the best conditions were achieved. The results showed that the optimum conditions of ultrasonic extraction was that ethanol concentration was 60%, solid to liquid ratio was 1:15, extraction temperature was 70℃ and ultrasonic time was 50 min.

Key words: *Hosta albofarinosa*; steroidal saponin; single-factor experiment; orthogonal test