

长白山区野生泥胡菜中总黄酮及微量元素的分析研究

王艳梅¹, 王继龙², 张 秋³, 贺凤成²

(1. 农业部参茸产品质量监督检验测试中心, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学 中药材学院
吉林 长春 130118 3. 鲅鱼圈出入境检验检疫局 辽宁 营口 115007)

摘 要:采用加速溶剂萃取法提取、紫外分光光度法测定长白山野生泥胡菜中的总黄酮含量,用原子吸收分光光度法对泥胡菜中的 K、Ca、Na、Mg、Cu、Zn、Fe、Mn 8 种元素含量进行分析测定。结果表明:长白山泥胡菜中含有较高的总黄酮和丰富的微量元素。试验结果为野生泥胡菜资源的开发利用奠定了科学的理论依据。

关键词:长白山;泥胡菜;总黄酮;微量元素

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2009)11—0219—03

微量元素是构成人体组织的重要成分,可维持神经和肌肉的兴奋性、细胞膜的通透性以及细胞正常的功能,同时也是酶的辅基、激素、维生素、蛋白质和核酸的构成成分和激活剂,是参与体内多种物质代谢和生理生化的重要物质基础^[1]。天然植物生长不仅需要必需的营养元素,而且还有选择地吸收和富集某些人体所必需的且有益的微量元素,这些元素是临床中起防病治病的物质基础之一^[2]。黄酮类化合物是植物中非常重要的一类天然化合物,具有降血脂、抗血栓、抗氧化等多种生理活性。

泥胡菜(*Hemisteptia lyrata* Bunge)为菊科泥胡菜属植物,广泛分布于我国各地,为 2 a 生草本植物,具有清热解毒、消肿祛瘀、去腐生肌等功效,临床上用其口服或外用治疗痔漏、痈肿、疔疮、外伤出血和骨折等^[3]。四川民间把泥胡菜用来治疗白内障,疗效较好^[4]。为了深入开发长白山野生泥胡菜资源,该试验应用加速溶剂萃取提取并采用紫外分光光度法对泥胡菜总黄酮进行测定,用原子分光光度法测定 K、Na、Ca、Mg、Cu、Zn、Fe、Mn 8 种元素。

1 材料与方法

1.1 样品与试剂

样品采自长白山临江地区,由吉林农业大学胡全德教授鉴定为菊科植物泥胡菜(*Hemisteptia lyrata* Bunge)。样品用纯净水充分洗净,阴干后粉碎过 0.28 mm 筛置于干燥器中备用。

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所),无水乙

醇、NaNO₃、AlON₃(分析纯),HNO₃、HClO₄(优级纯,北京化工厂),杭州产娃哈哈纯净水,K、Na、Ca、Mg、Cu 等元素标准储备液(国家标准物质中心)。

1.2 仪器

岛津 AA-6300 型原子吸收分光光度计,Cu、Zn、Fe、Mn 等空心阴极灯(岛津);戴安 ASE-300 型加速溶剂萃取仪,经单因素试验及正交试验确定其提取参数条件为:乙醇浓度 80%,提取温度 120℃,提取时间 10 min,冲洗溶剂量为 50%,循环次数为 2 次;DU7500 分光光度计,样品检测波长 510 nm;1712MP8 电子天平。

1.3 样品处理

微量元素:将样品粉碎后准确称取 0.5000 g 于消化瓶中,加入 20 mL 的 HNO₃ : HClO₄ = 4 : 1,上端放一曲径漏斗,静止 10 h 后进行消化。消化器逐渐升温至 205℃,消化管内红棕色气体冒完后加热至白烟散尽,溶液接近无色,将消化管取下冷却,加入 2~3 mL 纯净水,继续加热,除去余酸,冷却后用纯净水定容到 50 mL 容量瓶中,混匀,待测。

总黄酮:称取 2.000 g 样品,置于 ASE-300 萃取池中,萃取池底部加入过滤膜后关闭萃取池门,按 1.2 设置提取条件,进行提取。提取结束后将提取液定容至 100 mL,待测。

1.4 标准曲线的绘制

各元素标准曲线:取元素标准液进行标准曲线绘制(如表 2)。芦丁标准曲线:称取芦丁标准品 5.000 mg,定容于 25 mL 容量瓶中,其浓度为 0.2 mg/mL。分别精密吸取芦丁标准溶液 1.00、2.00、4.00、6.00、8.00 mL 置于 25 mL 容量瓶中,用 30%乙醇溶液补充至 12.5 mL,加入 5%亚硝酸钠溶液 0.75 mL,摇匀,放置 5 min 后,加入 10%硝酸铝溶液 0.75 mL,摇匀,放置 5 min 后,再加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL,摇匀,用 30%乙醇溶液稀

第一作者简介:王艳梅(1967-),女,博士,研究方向为野生动植物保护与利用。E-mail: yanmeimeiw@163.com。
基金项目:科技部攻关资助项目(2005BA741C)。
收稿日期:2009-06-10

释至刻度, 10 min 后用 DU7500 型分光光度计在 510 nm 下进行测定, 以试剂为空白。

表 1 各元素及芦丁标准曲线相关系数

元素	标准溶液浓度	线性回归方程	相关系数
K	0.0, 4.0, 6.0, 8.1, 0.1, 2	$y = 0.532x + 0.067$	0.998
Ca	0.4, 8.16, 20	$y = 0.0295x + 0.0237$	0.9999
Na	0.0, 5.1, 2.3, 4	$y = 0.35778x + 0.022$	0.9991
Mg	0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 7	$y = 0.99887x + 0.0311$	0.9998
Zn	0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.1, 2.1, 6	$y = 0.44751x + 0.0103$	0.9997
Mn	0.2, 4.6, 8.10	$y = 0.15386x + 0.0203$	0.9989
Cu	0.0, 5.1, 0.1, 5.2, 2.5	$y = 0.13994x + 0.0007$	1.0000
Fe	0.2, 4.6, 8.10	$y = 0.05069x + 0.0008$	0.9998
总黄酮	0.8, 16.32, 48.64	$y = 12.721x$	1.0000

2 结果与分析

用火焰原子分光光度法测定样品中各元素含量(见表 2)。按 1.4 中方法对样品中总黄酮进行分析测定, 长白山野生泥胡菜总黄酮含量为 5.84 mg/g (C%: 0.584%)。

表 2 长白山野生泥胡菜各元素含量

各元素	含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
K	21 613.88±77.003
Ca	8 194.239±23.5217
Na	1 560.463±15.2258
Mg	6 814.042±24.0014
Cu	10.67405±0.4001
Mn	106.8304±0.8526
Fe	1 326.035±56.2389
Zn	76.8313±1.1123

试验结果显示, 长白山野生泥胡菜总黄酮含量为 0.584%, 微量元素含量较为丰富, 各元素含量大小依次为: $\text{K} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Na} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu}$ 。

加速溶剂萃取技术是近年来发展起来的一种全新的萃取方法, 已被美国国家环保局批准为 EPA3545 号标准方法^[5]。加速溶剂萃取技术(Accelerated solvent extraction, ASE)是一种在较高的温度和较大的压力下用溶剂萃取固体或半固体的新颖的样品前处理方法, 具有有机溶剂用量少、萃取速度快、样品回收率高等突出优点, 已在环境、食品的农残检测及天然产物有效成分提取等领域得到广泛的应用^[6-10]。该试验通过对乙醇浓度、提取温度、静态萃取时间、冲洗溶剂用量、循环次数等 5 个单因素试验及正交试验确定了泥胡菜中总黄酮乙醇提取的最佳条件为: 乙醇浓度 80%, 提取温度 120℃, 提取时间 10 min, 冲洗溶剂量为 50%, 循环次数为 2 次, 并通过试验数据验证了该工艺的准确性。

泥胡菜中含有大量的 K, 属于典型的高 K 低 Na 的野生植物, 在药用上有利于降低血压, 减少心血管疾病,

促进糖类代谢的作用^[11]。丰富的 Ca 元素, 可以加强大脑皮层的抑制过程, 调节兴奋和抑制过程的平衡, 还有消炎、消肿、抗过敏及解毒作用, 并与高血压成负相关^[12]。Mn 是能量、蛋白质和核酸代谢中某些重要酶的组成成分和激活剂, 在厌氧情况下能够充当最终的受氧体, 促进氧化过程, 增加脂肪的利用, 并有延缓衰老的作用, 有助于癌症、精神分裂症和糖尿病的防治^[1]。Cu 能够维持正常的造血机能, 促进骨骼、血管和皮肤的正常结构, 维护中枢神经系统等作用。Zn 参与人体内 300 余种酶和功能蛋白的组成, 对代谢活动起重要的调节作用。Fe 可以提高机体的免疫力, 增加中性粒细胞和大吞噬细胞的吞噬能力, 同时也可使机体的抗感染能力增强^[13-15]。该试验对长白山野生泥胡菜的总黄酮和微量元素进行了准确科学的分析测定, 为泥胡菜资源的进一步价值开发奠定了理论依据, 并为长白山野生植物资源的现代化发展提供了新的思路和方法。

参考文献

[1] 李勇. 营养与食品卫生学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2005: 88-127.

[2] 程存归, 李丹婷, 刘幸海, 等. 杭白菊与野菊花的微量元素比较研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(1): 156-158.

[3] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 3038-3039.

[4] 黄本东, 缪振春. 泥胡菜化学成分研究[J]. 华西药杂志, 1991, 6(1): 1.

[5] USEPA SW-846. Test Methods for Evaluation Solid Waste Method 3545[M]. Washington DC: GPO, 1995.

[6] 李鹏, 万建波, 李绍平, 等. 三七皂苷类成分的加速溶剂提取方法研究[J]. 中国天然药物, 2004, 2(3): 157-161.

[7] 郭秀春, 陈军辉, 郑立, 等. 加速溶剂提取法提取娑罗子中的七叶皂苷[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 683-687.

[8] 陈军辉, 杨佰娟, 李文龙, 等. 加速溶剂萃取技术在中药有效成分分析中的应用[J]. 色谱, 2007, 25(5): 628-632.

[9] 黄琼辉. 几种分离技术在农药残留分析中的应用[J]. 农药科学与管理, 2006, 27(3): 15-18, 49.

[10] 叶明立, 朱岩. ASE 加速溶剂萃取技术在食品、农残方面的分析应用[J]. 现代科学仪器, 2003(1): 35-37.

[11] 王元忠, 李淑斌, 郭华春, 等. 大百合中微量元素测定的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1854-1856.

[12] 范文秀, 李新峰, 荆瑞俊. 南瓜中微量元素测定的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(3): 567-570.

[13] 董顺福, 韩丽琴, 赵文秀, 等. 中药红花总黄酮及微量元素含量的分析研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(1): 225-227.

[14] 吴冬青, 李彩霞, 安红钢, 等. FAAS 法测定二色补血草中不同部位的金属元素[J]. 光谱学与光谱分析, 200, 27(9): 1848-1850.

[15] 额尔登桑, 宝音达来, 斯琴巴特尔. 微波消解 ICP-AES 法测定蒙药查格得日中金属元素及其分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(4): 940-942.

Analysis and Study of Total Flavone and Trace Element in *Hemisteptia lyrata* Bunge of Changbai Mountain

WANG Yan-mei¹, WANG Ji-long², ZHANG Qiu³, HE Feng-cheng²

(1. Ginseng and Antler Products Testing Center of Ministry of Agriculture, Peoples Republic of China, Changchun, Jilin 130118, China; 2. College of Chinese Traditional Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China; 3. Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of Bayuquan, Yingkou Liaoning 115007, China)

半夏愈伤组织的诱导及植株的再生研究

潘 卫 仓¹, 刘 菊 英²

(1. 天水师范学院 生命科学与化学学院, 甘肃 天水 741001; 2. 永登县第二中学 甘肃 永登 730302)

摘 要:以半夏 *Pinellia ternate*(Thunb.) Breit 的块茎为外植体, 接种于附加了 6-BA, NAA, 2,4-D 及其组合的 MS 培养基上, 都能诱导出愈伤组织。结果表明: MS+1.0 mg/L 6-BA+1.5 mg/L NAA 对半夏愈伤组织的诱导率最高, 植株在 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA 中较 MS+1.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA 中更容易再生。

关键词:半夏; 组织培养; 愈伤组织; 生长调节剂

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2009)11—0221—03

半夏 *Pinellia ternate*(Thunb.) Breit 又名半子、三步跳、麻芋头、三兴草等, 为天南星科多年生宿根草本植物, 株高一般为 15~40 cm, 1 a 生或较小株芽为单叶, 2 a 生以上为 3 片小复叶^[1,2]。雌花常生于花序基部, 而雄花则生于上端。花期 6~8 月, 果期 8~9 月^[3], 生育期为 180~210 d^[4]。天水野生半夏多生于山坡, 阴湿的草丛、林下及田间, 夏季易在半阴半阳的环境中生长, 一般土壤含水量在 20%~40% 时生长最为适宜, 家种半夏以甘肃陇南、平凉, 山东菏泽等地为主。

半夏以块茎入药, 具有燥湿化痰, 降逆止呕, 消痞散结等多种功效^[5,7], 近年来, 又发现半夏蛋白有抗早孕, 抗肿瘤^[1,8-12], 抗心律失常, 抗衰老^[13-16], 去皱养颜和提高记忆力的特殊作用^[16-19]。另外, 半夏有一定的毒性, 还可对有毒成分进一步研究, 根据“以毒攻毒”的思路, 开发研制一些植物杀虫剂^[9]。

随着半夏用途的日益扩大, 近年来全国各大药市半夏商品货源偏少, 价格坚挺, 市场呈现购销两旺的局面, 价格从 20 世纪 90 年代的 10 元/kg 到目前的 30 元/kg, 一直在攀升^[9,11,20]。近期, 半夏商品价格又升高了, 统货

收购价为 32~34 元/kg, 优质品达 38~40 元/kg^[21]。有关药市行家预测, 半夏后市将继续走畅价升, 野生资源形式严峻, 由于生态环境遭到破坏, 造成半夏大面积灭绝。肆意采伐树木和开山挖田, 大量使用除草剂掠夺式采挖, 致使半夏雪上加霜。半夏家种繁殖缓慢, 667 m²地用 10~13 mm 的种茎达 100 kg, 而仅产种茎 1 000 kg 左右, 其中 3/4 做商品, 仅有 1/4 做种用, 第 2 年只能用于扩种 333 m², 如此缓慢的发展, 再加产区又不多, 因此商品严重不足。我国对半夏的年需求量达 350 万 kg 以上, 每年出口日本的半夏达 400 t^[20]。田间半夏多采用块茎、株芽等来繁殖, 所以需要大量的种茎, 而目前市场上半夏种茎达 50 元/kg, 这给药农带来严重的经济负担, 再加上产量又低, 田间繁殖致使半夏感染病毒严重, 品质下降, 因此人们的种植积极性不高, 因而半夏的供应越来越少, 但随着全球温度的升高, 肺疾的增多, 国内外对半夏的需求量却越来越大^[9]。

为此, 选用中药半夏正品为材料, 进行组织培养, 以获得优质种苗, 使半夏得以快速繁殖, 为实现半夏的工厂化生产或为大田生产提供支持, 并为开展人工种子的研究作一些铺垫性的工作^[22]。

1 试验材料

半夏块茎采自甘肃省天水。试剂和药品: 2,4-D: 北京化工厂; NAA: 曹扬第二试剂厂; 6-BA: 新华活性材料研究所。

第一作者简介: 潘卫仓(1979-), 男, 甘肃天水人, 在读硕士, 讲师。
E-mail: pwei1999@163.com.
收稿日期: 2009-06-20

Abstract: The power of *Hemisteptia lyrata* Bunge in Changbai Mountain was extracted by ASE, and the content of total flavone was determined by ultraviolet spectrophotometry. The contents of eight trace elements including potassium, sodium, calcium, magnesium, copper, zinc, iron, manganese were determined by flame atomic absorption spectrophotometry. The results showed that there were high total flavone and rich trace elements. Among which were comparatively high potassium, calcium, magnesium, sodium, iron in *Hemisteptia lyrata* Bunge. It provided theoretical basis for the further research on wild *Hemisteptia lyrata* Bunge in Changbai Mountain.

Key words: Changbai mountain; *Hemisteptia lyrata* Bunge; Total flavone; Trace elements