

# 云南大白口蘑子实体中秋水仙碱含量的 TLC 法测定研究

刘 鸿 高<sup>1</sup>, 王 元 忠<sup>2</sup>

(1. 云南农业大学, 云南 昆明 650201; 2. 云南省农业科学院 药用植物研究所, 云南 昆明 650223)

**摘 要:**采用超声法提取云南大白口 蘑子实体中的秋水仙碱,并用薄层扫描法来测定其含量。结果表明: $\lambda=352\text{ nm}$ ,秋水仙碱线性范围为  $0.08\sim0.94\text{ }\mu\text{g}$ ,相关系数为 0.9994,平均回收率为 99.65%, $RSD=3.98\%$ ;该法准确、简便、快速、重复性好,适用于优质单株的高通量筛选。

**关键词:**薄层扫描法;大白口蘑;子实体;秋水仙碱含量

中图分类号:S 646.1<sup>+</sup>1 文献标识码:A 文章编号:1001—0009(2010)24—0193—02

云南大白口蘑 (*Tricholoma giganteum* Massee) 属于口蘑科白蘑属真菌<sup>[1]</sup>。据报道大白口蘑栽培子实体中氰化物含量为  $86\sim283\text{ mg/g}$ ,自然生境中野生子实体中氰化物的含量低于  $1.0\text{ mg/g}$ ,且以单质形式存在<sup>[2]</sup>。但是经过轻微的处理,如超过  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  的烘干,烹饪和油炸能破坏产氰组织。目前食用大白口蘑未见中毒或其它报道,因此子实体中的氰化物对消费者的健康不会产生影响<sup>[3]</sup>。未熟透的金针菇中含有秋水仙碱,人食用后容易因氧化而产生有毒的秋水仙碱,对胃肠黏膜和呼吸道黏膜有强烈的刺激作用。一般在食用  $0.5\sim4\text{ h}$  内,会出现咽干、恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状,如大量食用还会引起发热、水电解质平衡紊乱、便血、尿血等严重症状<sup>[4]</sup>。为探究云南大白口蘑子实体中秋水仙碱含量,现采用超声法提取,薄层扫描法进行测定。

第一作者简介:刘鸿高(1974),男,云南武定人,副教授,现主要从事资源真菌开发与利用研究。

基金项目:教育部科学技术研究重点资助项目(209118);云南省自然科学基金资助项目(2008CD128)。

收稿日期:2010—10—15

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

从云南普洱南屏镇整碗村慈竹丛中地上采集到的丛重  $45\text{ kg}$  野生大白口蘑子实体和人工栽培获得子实体。供试材料经  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘干后,用植物粉碎机粉碎,过 100 目筛备用。

### 1.2 仪器和试剂

薄层扫描仪 TLC SCANNER 3(瑞士卡玛公司),带 winCATS 软件和半自动点样仪,超声波清洗器(上海 BRANSON, SB2200),微型旋涡混合仪(上海泸西分析仪器厂, WH-2);秋水仙碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 110788-200968)、甲醇、三氯甲烷、乙醇均为分析纯,硅胶 GF254 板(青岛海洋化工厂)。

### 1.3 秋水仙碱的提取

精密称取样品  $0.3000\text{ g}$ (12 份),置于  $10\text{ mL}$  具塞管中,加 75%乙醇  $3.0\text{ mL}$ ,超声提取  $30\text{ min}$ ,倒入离心管中以  $5\text{ }000\text{ r/min}$  离心  $5\text{ min}$ ,取上清液,备用。

### 1.4 TLC 色谱条件

展开剂:三氯甲烷—甲醇( $9.0:0.5$ );采用单波长荧光线性扫描法, $\lambda=352\text{ nm}$ 。

## Breeding New Strain of *Pleurotus eryngii* Suitable for Cultivation in Industry by Hybridization

ZHOU Yun<sup>1</sup>, ZHU Jing<sup>1</sup>, ZHENG Xue-ping<sup>2</sup>, WU Jin-nan<sup>1</sup>, YAO Lu-ye<sup>1</sup>, JI Hong<sup>1</sup>

(1. College of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500; 2. Kunshan City Zhengxing Edible Fungi Company Limited, Kunshan, Jiangsu 215321)

**Abstract:** Using the method of hook hanging and improved ejection, the good character of *Pleurotus* were concentrate expressed by cross-breeding methods of single spore collect, hyphal fusion, esterase isozyme analysis to smooth type (S type) and rough (R type), acquired good crossbred. The results showed that the use the methods of interspecific hybridization breeding of mushroom by the mononuclear mycelium was feasible; hybrids  $S6\times R84$  showed good production traits than male parent, after production of adaptive domestication, most likely a good trait variety of new resources for industrial production.

**Key words:** *Pleurotus eryngii*; monospore—hybridization; hybrid; esterase—isoenzyme electrophoresis

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察

精密吸取秋水仙碱对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 GF254 TLC 板, 展开扫描, 测定各斑点的峰面积。秋水仙碱在 0.08~0.94  $\mu\text{g}$  范围内呈线性关系, 线性回归方程为:  $Y=7.705X+7916.640$ ,  $r=0.9994$ (图 1)。

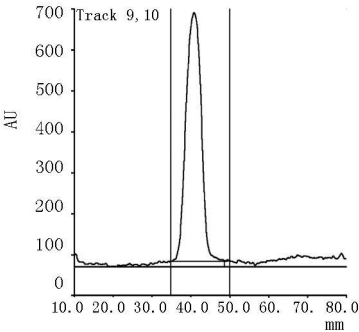


图1 秋水仙碱对照品 TLC 色谱图

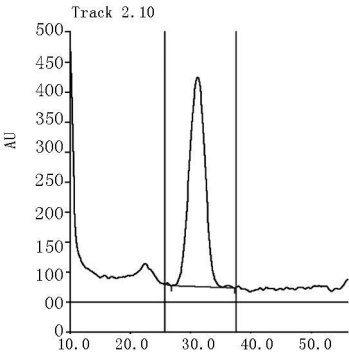


图2 大白口蘑子实体 TLC 色谱图

2.2 精密度

精密吸取 12 个对照品溶液各 4.0  $\mu\text{L}$  于同一薄层板上依次展开, 扫描测定, 结果为: 峰面积  $RSD=2.06\%$  ( $n=12$ )。

2.3 重复性

取同一批样品 12 份, 按供试品溶液制备方法, 测定结果为: 峰面积  $RSD=3.01\%$  ( $n=12$ )。

2.4 回收率

精密吸取秋水仙碱对照品溶液各 1.0 mL, 分别置 12 支具塞管中, 水浴加热挥干乙醇, 按供试品溶液制备方法, 点样、展开、晾干、扫描, 平均回收率为 99.65%,  $RSD=3.98\%$  ( $n=12$ )。

2.5 稳定性

点秋水仙碱对照品溶液 4.0  $\mu\text{L}$  于硅胶 GF254 薄层板上, 展开、晾干, 每隔 5 min 扫描 1 次, 持续 1 h, 峰面积  $RSD=1.56\%$  ( $n=12$ )。

2.6 秋水仙碱含量测定

按 1.3 处理样品, 点样展开后进行薄层扫描测定, 按标准曲线法计算各样品中秋水仙碱含量, 结果见表 1 (大白口蘑子实体 TLC 色谱图见图 2)。

表 1 云南大白口蘑子实体中秋水仙碱含量

g · (100g) <sup>-1</sup> DW	
大白口蘑(干重)	秋水仙碱
野生子实体	0.36±0.012
栽培子实体	0.11±0.014

3 结论

采用索氏抽提 8 h、热回流 4 h 和超声 30 min 等方法对云南大白口蘑子实体中秋水仙碱进行提取。结果表明, 超声提取 30 min, 用时短、提取率最高。

采用 55%、65%、75%、85%、95% 乙醇进行超声提取, 结果表明, 随乙醇浓度的增加提取率呈先增加后下降的趋势, 因此选 75% 乙醇作提取剂为宜。

从表 1 可知, 野生子实体中秋水仙碱含量明显高于栽培子实体, 通过该方法测定其含量, 对开发利用该物种资源有重要的理论价值和实用意义。

参考文献

[1] Chang S T, Mao X L. Hong Kong Mushrooms [M]. Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong Press, 1995: 79-80.  
[2] Shindo T, Ushiyama H, Kan K, et al. Study on content of cyanide in basidiomycetes and the effect of cooking [J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 1999, 40(1): 29-35.  
[3] Stijve T D, Meijer AAR. Hydrocyanic acid in mushrooms, with special reference to wild-growing and cultivated edible species [J]. Nestle Research Center, Nestec Ltd., Lausanne Switz., 1999, 95(9): 366-373.  
[4] 王德芳. 鲜金针菇有毒 [J]. 老同志之友, 2010(2): 56

Determination of the Colchicine in *Tricholoma giganteum* Massee Fruit Body from Yunnan by TLC

LIU Hong-gao<sup>1</sup>, WANG Yuan-zhong<sup>2</sup>

(1. Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201; 2. Institute of Medicinal Plant, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650223)

**Abstract:** To determine the content of colchicines in the *Tricholoma giganteum* Massee fruit body from Yunnan, the sample was extracted by supersonic method, and measured by TLC,  $\lambda=352\text{ nm}$ ; the calibration curve was linear in the range of 0.08~0.94  $\mu\text{g}$ , correlation coefficient was 0.9994, the average recovery was 99.65%,  $RSD=3.98\%$ ; this method was accurate, simple and rapid, the result was satisfactory, it was suited to select the quality of single plant.

**Key words:** TLC; *Tricholoma giganteum* Massee; fruit body; colchicines