

黄绿蜜环菌有效成分的定性分析

白世俊, 包锦渊

(青海民族大学 化学与生命科学学院, 青海 西宁 810007)

摘要:采用水提取法、醇提取法和石油醚提取法对黄绿蜜环菌的化学成分进行了提取。结果表明:黄绿蜜环菌中含有较丰富的蛋白质、氨基酸、糖类、生物碱和少量有机酸、黄酮、强心苷、甾体三萜类、苷类、皂苷,而挥发油、香豆素萜类、鞣质、酚类极少。通过定性分析黄绿蜜环菌的有效成分,为充分利用其营养价值、药用价值和经济价值提供了重要的参考依据。

关键词:黄绿蜜环菌;有效成分;定性分析

中图分类号:S 646.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0161-03

黄绿蜜环菌(*Armillaria luteo-virens* (Alb. et Schw. :Fr.) Sacc.)属担子菌亚门(Basidiomycotina)层菌纲(Hymenomycetes)口蘑目(Tricholomatales)口蘑科(Tcholomataceae)蜜环菌属(*Armillaria*)名贵野生药食兼用真菌^[1],俗称黄蘑菇、金蘑菇、黄环菌、草原白蘑菇等。子实体中等大,菌盖厚,肉质,扁半球形至平展,硫黄色,干后近白色,具纤毛状鳞片,边缘内卷。菌肉白色,菌褶近似菌盖色,菌柄柱形,内实,菌环以下具黄色鳞片,基部往往膨大。黄绿蜜环菌是世界稀有珍品,营养丰富、味道鲜美,食用有抑制肿瘤生长,防癌之功效。同时由于该菌铁、磷含量高,有利于抗衰老,具有护肤、延年益寿、美容等作用。黄绿蜜环菌还含有丰富的蛋白质、矿物质、氨基酸和多种维生素,是理想的补血疗养食品和能量代谢、增强肌肤抵抗力的防病保健食品。特别是“硒”的含量很高,是癌症的克星。目前尚无人工栽培,一般生长在海拔3 000~5 000 m的高原草地,产量很少,采集十分困难,绝大部分在山上自生自灭。我国黄绿蜜环菌的主要盛产区是青海祁连县、四川石渠县、甘肃民乐县、西藏昌都、云南中甸等地区^[2]。年产总量大约500多t,尤其是青海的祁连县和四川的石渠县产量很大、质量最优。现通过定性分析黄绿蜜环菌的有效成分,为充分利用其营养价值、药用价值和经济价值提供了重要的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黄绿蜜环菌(*Armillaria luteo-virens*)为野生黄绿蜜环菌,采于青海祁连县,并经青海民族大学李军乔

博士鉴定。黄绿蜜环菌子实体阴干粉碎后,过80目筛备用。试验仪器有R-205旋转蒸发仪(上海申顺生物科技有限公司、SHB-III S循环水式真空泵(郑州长城科工贸有限公司)、回流装置、HH-4数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)、FA1604N电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 定性分析方法 采用水提取法、醇提取法和石油醚提取法对黄绿蜜环菌的化学成分进行了提取,并做了较全面的鉴定试验。

1.2.2 检验试剂的配置 双缩脲试剂:甲液:40% NaOH,乙液:1% CuSO₄,应用前等量混合。茚三酮试剂:0.1 g茚三酮加入到50 mL蒸馏水中。Molish反应试剂:0.5 g α-萘酚加入到50 mL乙醇中。Felling反应试剂:甲液:硫酸铜结晶0.623 g溶于10 mL蒸馏水中,乙液:酒石酸钾钠结晶3.462 g,NaOH 1 g溶于10 mL蒸馏水中,应用前等量混合。三氯化铁试剂:0.5 g三氯化铁溶于50 mL乙醇中。明胶实验试剂:1 g明胶,10 g NaCl溶于100 mL蒸馏水中。溴酚蓝试剂:0.5 g溴酚蓝溶于50 mL蒸馏水中。三氯化铝试剂:0.5 g三氯化铝溶于50 mL乙醇中。三氯化铁-冰醋酸试剂:甲液:10%三氯化铁水溶液(5 mL)与100 mL冰醋酸混合,乙液:浓硫酸,应用时先加甲液,后缓缓加入乙液。硅钨酸试剂:1 g硅钨酸溶于20 mL蒸馏水中,加少量盐酸,调至pH=2。开环-闭环试剂:甲液:1% NaOH,乙液:2% HCl,应用前等量混合^[3]。Kedde试剂:甲液:2% 3,5-二硝基苯甲酸甲醇液,乙液:1 mol/L KOH 甲醇溶液。盐酸镁粉试剂:先加少量镁粉,之后在加入浓盐酸。醋肝-浓硫酸试剂:先加醋肝溶解,再加入醋肝-浓硫酸(按20:1的比例配置)。苦味酸试剂:0.5 g苦味酸溶于50 mL蒸馏水中^[4]。碘化铋钾试剂:0.1 g碘化铋钾溶于100 mL乙醇中。

第一作者简介:白世俊(1970-),男,青海西宁人,本科,副教授,现主要从事生态经济与环境保护等研究工作。

责任作者:包锦渊(1958-),男,甘肃定西州人,本科,教授,现主要从事植物化学方面的研究工作。

收稿日期:2011-12-02

2 结果与分析

2.1 水浸取成分分析

取黄绿蜜环菌粗粉 5 g 加蒸馏水 60 mL, 在 50~60℃ 的水浴上加热 1 h, 过滤, 滤液按表 1 所列项目进行试验。

表 1 水浸液中的成分检查

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
糖	* Molish 反应试剂	两液界面处有	两液界面处有紫色环	+
	* Felling 反应试剂	紫红色环	经过滤, 滤纸上有砖	+
有机酸	ΔPH 试纸反应	棕红色沉淀	红色沉淀	+
	Δ 溴酚蓝试剂	呈酸性	pH=6.2~6.4	+
酚类	Δ 三氯化铁试剂	氨熏后有黄色斑点	氨熏后有浅黄色斑点	-
鞣质	* 明胶实验试剂	呈绿、蓝或暗紫色	金黄色	-
氨基酸	Δ 茚三酮试剂	出现白色沉淀或浑浊	无现象	+
蛋白质	* 双缩脲试剂	呈蓝、紫色	呈蓝色	+
苷类或多糖	* 加 6 mol/L HCl	呈紫、红色	呈紫红色沉淀	+
	酸化, 加热煮沸数分钟, 冷后观察	有絮状沉淀	有絮状沉淀	+
皂苷	* 泡沫实验			+
生物碱		在试管中剧烈振荡,	有气泡	
	* 碘化铋钾试剂	10 min 后观察,		+
	* 硅钨酸试剂	有气泡有红色沉淀	有桔红色沉淀	+
		淡黄色或白色沉淀	变浑浊	

注: * 表示在试管中反应, Δ 表示在滤纸或点滴板上反应。下同。

2.2 乙醇提取液成分分析

取黄绿蜜环菌粗粉 5 g, 加 60 mL 的 95% 乙醇, 在水浴上加热回流 1 h, 过滤, 滤液留 2 mL 做 I 项试验(表 2); 其余浓缩成浸膏, 浸膏分为二部分, 一部分加少量 2% HCl 过滤, 分出酸液, 做 II 项试验(表 3), 附于滤纸上的残渣再加少量乙醇溶解, 做 III 项试验(表 4); 另一部分浸膏以少量的乙酸乙酯溶解, 溶液置分液漏斗中加适量 5% NaOH 振荡, 使酚性物质及有机酸等转入下层 NaOH 水溶液中, 剩下的乙酸乙酯为中性部分, 用蒸馏水洗至中性即可备用, 取乙酸乙酯液 2~3 mL, 以 1~2 mL 乙醇溶解做 IV 项试验(表 5)。

表 2 I 项试验

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
酚类	Δ 三氯化铁试剂	呈绿、蓝或暗紫色	暗紫色	+
鞣质	Δ 三氯化铁试剂	呈绿、蓝或暗紫色	暗紫色	+
有机酸	Δ 溴酚蓝试剂	氨熏后有黄色斑点	氨熏后有浅黄色斑点	+

表 3 II 项试验

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
生物碱	* 碘化铋钾试剂	有红色沉淀	有沉淀	+
	* 硅钨酸试剂	淡黄色或白色沉淀	白色絮状沉淀	+
	* 苦味酸试剂	黄色结晶	有黄色结晶	+

2.3 石油醚提取液成分分析

取黄绿蜜环菌粗粉 1 g, 加入 10 mL 石油醚, 放置 2~3 h, 过滤, 滤液置于表面皿上挥发, 残留物按表 6 所

示项目进行试验。

表 4 III 项试验

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
黄酮	Δ 三氯化铁试剂	阳性	阳性	+
	* 盐酸-镁粉试剂	呈橙红至紫红色或紫至蓝色	绿色	+
萘醌	Δ 10% KOH	呈红色	无	-
	Δ 氨熏	蓝色背景黄色斑点	蓝色斑点	-
	* 1% 硼酸	呈浅黄色	白色	-

表 5 IV 项试验

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
香豆素萜类	* 开环-闭环试剂	变浑浊	变浑浊	+
强心苷	Δ Kedde 试剂	红色沉淀	红棕色晶状沉淀	+
	* 苦味酸试剂	黄色结晶	有黄色结晶	+

表 6 石油醚提取液中成分检查

检查项目	试剂名称	正反应指标	试验现象	结论
甾体三萜类	* 醋肝-浓硫酸试剂	颜色由黄-红-紫-青-污绿	颜色由黄-红-紫-青-污绿	+
挥发油	滤纸试验	滤纸上有油斑	有油斑	+

2.4 氰苷的检查

取黄绿蜜环菌粗粉 0.2 g, 置于试管中, 加入 3~5 mL 5% 硫酸溶液, 摇匀混合, 在试管口置 1 条浸过苦味酸钠盐的滤纸条, 然后紧塞试管口(滤纸不要接触溶液), 试管于沸水浴上加热十几分钟, 如纸条显红色表示有氰苷。结果表明, 悬空处呈红色, 表示有氰苷。

3 结论与讨论

经过系统的化学预试试验, 初步判断黄绿蜜环菌中可能含有甾体三萜类、强心苷、生物碱、有机酸、蛋白质、氨基酸、皂苷类、糖类、氰苷、挥发油等成分。但确证工作尚需进行下一步的光谱、色谱、质谱方面的鉴定。

黄绿蜜环菌有很高的营养价值和经济价值, 系统的鉴定其所含的有效成分, 有利于以后的开发利用。对黄绿蜜环菌进行简单的成分确认, 以便之后选择适当的分析方法进行定量分析。

在水提取中, 该方法只用了 1 h 的水浴加热, 成分的提取不是很完全, 使得有的实验现象不明显, 可以改成先进行 24 h 的冷水提取, 再对滤渣进行水浴提取, 这样可以得到更多的有效成分, 以便实验现象清晰。在醇提取中, 该方法分成多个步骤进行定性分析, 使得所要鉴定的成分突出, 便于收集和鉴定。氰苷的检查是该试验较特殊的, 它在一定条件下易被分解成醛(酮)和氢氰酸, 其中氢氰酸的毒性较大, 所以含有氰苷的食物最好不要生吃。

参考文献

- [1] 刁治民, 魏克家, 吴宝锋, 等. 食用菌学[M]. 西宁: 青海人民出版社, 2006.
- [2] 周劲松, 盛海彦, 焦迎春, 等. 青海野生黄绿环菌生态环境及不同生态区菌株间比较[J]. 食用菌, 2007(2):
- [3] 吴立军, 王锋鹏, 易扬华, 等. 天然药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.

噻重氮苯基脲对贯叶金丝桃胚性愈伤诱导和分化的影响

汪福源¹, 唐 宁², 宋东杰²

(1. 中国药科大学 高等职业技术学院, 江苏 南京, 211198; 2. 南京晓庄学院 生物化工与环境工程学院, 江苏 南京, 211171)

摘 要:系统研究了不同浓度噻重氮苯基脲(TDZ)对贯叶金丝桃胚性愈伤的诱导和植株再生的影响。结果表明:诱导胚性愈伤的最适外植体为叶柄,诱导率可达100%。在诱导胚性愈伤和分化的最适培养基MS+0.05 mg/L TDZ+0.2 mg/L NAA上,不定芽分化率为55%。第1代培养基上,愈伤增殖迅速,绿色的胚性细胞团数目从原来的单个生长提高为平均5.6个。经2、3代培养,愈伤停止生长,胚性细胞团数量逐渐减少。

关键词:贯叶金丝桃;噻重氮苯基脲(TDZ);愈伤组织;不定芽

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0163-03

贯叶金丝桃(*Hypericum perforatum* L.)属藤黄科多年生草本植物,有疏肝解郁、清热利湿、消肿通乳等功效^[1]。1984年,Suzuki等^[2]首次发现贯叶金丝桃具有抗抑郁作用,疗效显著、副作用小。随着研究的深入,贯叶金丝桃的抗抑郁、抗病毒、抗肿瘤等作用越来越受到人

们的关注^[3]。其提取物是近年来欧美最畅销的植物药之一,美国《草药典》(American Herbal Pharmacopoeia)和德国《DAC》也收载此植物药。现有文献对贯叶金丝桃的研究主要集中在提取工艺、含量测定和药理活性方面,在离体培养再生植株方面报道较少。

噻重氮苯基脲(N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea, Thidiazuron, TDZ)是一种新型高效的生物调节剂,具有细胞分裂素和生长素的双重作用^[4],魏岳荣等^[5]研究发现,0.2 μmol/L TDZ可有效地改善香蕉体细胞

第一作者简介:汪福源(1978-),男,博士,讲师,现主要从事中药生物技术研究工作。

收稿日期:2011-11-23

[4] 梁敬钰,冯锋,叶文才,等.天然药物化学与指导[M].北京:中国医药科技出版社,2003.

[5] 甄汉深,莫绥恒,周燕园,等.青天葵化学成分定性鉴别的试验研究[J].广西中医学院学报,2007;10(1):53-55.

[6] 白洁,王艳英,帕提古丽·马合木提,等.天山花楸全株化学成分定性研究[J].食品科学基础研究,2009,30(3):71-73.

[7] 四川省绵阳市食用菌研究所.黄绿蜜环菌的相关资料及其研究[EB/OL].http://www.chinavivers.com/html/298.html.

[8] 北京中医学院.中药化学[M].上海:上海人民出版社,1976.

[9] 谢平,罗永明.天然药物化学实验技术[M].1版.南昌:江西科技

术出版社,1993.

[10] Weinges K, Schick H, Schilling G, et al. Compisition of an anthocyan concentrate from *Aroniam elanocarpa* Elliot X-ray analysis of tetraacetyl par-rasorboside [J]. Eur J Org Chem, 1998(1):189-192.

[11] Krolikowska M, Kamecki J. Phytochemical analysis of the iflurescence of mountain ash(rowan tree), *Sorbus aucuparia*[J]. RocZChem, 1973, 47(7/8):1375.

[12] 新疆维吾尔自治区卫生厅.新疆中草药[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1975.

Qualitative Analysis on Active Ingredients of *Armillaria luteo-virens*

BAI Shi-jun, BAO Jin-yuan

(College of Chemistry and Life Science, Qinghai Nationality University, Xining, Qinghai 810007)

Abstract: Water extraction, alcohol extraction and petroleum ether extraction were used in qualitative analysis on chemical ingredients of *Armillaria luteo-virens*. The results showed that *Armillaria luteo-virens* was rich in protein, amino acids, sugars, alkaloids and meanwhile a small amount of organic acids, flavone, cardiac glycosides, steroids, triterpenes, glycosides and saponins, yet just very small amount of naphtha, coumarin terpenes, tannins and phenols. The active ingredients of *Armillaria luteo-virens* were analyzed and served as reference of full utilization of its nutritional, medical and economic value.

Key words: *Armillaria luteo-virens*; active ingredients; qualitative analysis