

梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉活性成分及金属元素的含量测定

牛娟¹, 武燕², 何华², 吴玉连², 刘健³(1.甘肃中医药大学定西校区药学部, 甘肃 定西 743000; 2.武威市石羊河林业总厂, 甘肃 民勤 733000; 3.兰州大学第一医院, 兰州 730030)

摘要: 目的 研究梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉药典指标成分及金属元素的含量差异。方法 分别应用 HPLC 和空气-乙炔火焰原子吸收光谱法进行活性成分及金属元素测试, 并利用 SPSS 统计分析软件进行数据处理。结果 野生样品中毛蕊花糖苷的平均含量(2.58±0.45)%高于梭梭人工接种品(1.13±0.37)%, 差异有统计学意义($P<0.05$), 两者松果菊苷含量无显著差异。此外野生样品中金属元素 Na、K、Ca 含量高于梭梭人工接种品, 且差异有统计学意义($P<0.05$), 其余元素差异不显著。结论 梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉的成分含量具有一定的差异性。

关键词: 肉苁蓉; 人工接种; 野生; 成分差异

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)05-0671-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.008

引用本文: 牛娟, 武燕, 何华, 等. 梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉活性成分及金属元素的含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 671-673.

Comparative Study on the Effective Components and Contents of Metallic Elements of Manual Cultivation *Cistanche Deserticola* Parasitized by *Haloxylon Amodendron* and Wild *Cistanche Deserticola*

NIU Juan¹, WU Yan², HE Hua², WU Yulian², LIU Jian³(1.Department of Pharmacy in Dingxi of Gansu Traditional Chinese Medicine University, Dingxi 743000, China; 2.Shiyang River Forestry Company of Wuwei, Minqin 733300, China; 3.The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the differences of the effective components contents and metallic elements between manual cultivation *Cistanche deserticola* parasitized by *Haloxylon ammodendron* and wild *Cistanche deserticola*. **METHODS** HPLC and atomic absorption spectrometry with air-acetylene flame methods were used to determine the content of effective components and metallic elements, and these results were analyzed by SPSS statistical analysis software. **RESULTS** The content of acteoside (2.58±0.45)% in wild samples was significantly higher than that in manual cultivated samples (1.13±0.37)% ($P<0.05$), the content of echinacoside had no significant difference between manual cultivation and wild samples. Moreover, the content of metallic elements Na, K, Ca in the wild samples were significantly higher than those in the cultivated samples ($P<0.05$). **CONCLUSION** Wild and manual cultivated samples have differences in the contents of components.

KEY WORDS: *Cistanche deserticola*; manual cultivation; wild; components difference

肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 为列当科肉苁蓉属多年生根寄生植物, 是我国西北荒漠半荒漠地区珍贵的植物资源, 有“沙漠人参”的美誉, 主产于内蒙古、宁夏、新疆、甘肃、青海地区。由于生存环境恶劣、野生资源稀少、自然寄生率极低以及人为过度采挖等因素影响, 导致肉苁蓉处于濒危境地^[1]。目前, 主要采用人工栽培技术对肉苁蓉资源进行保护及开发利用, 即通过人工手段将肉苁蓉种子置于梭梭植株根系附近, 使它们形成自然寄生而生长繁殖。

肉苁蓉主要药效和药典规定检测成分是毛蕊花糖苷和松果菊苷, 此外还含有 Fe、Mn、Cu、Na、Ca、K 等丰富的金属元素, 金属元素与中药

发挥防病治病健身等功效的关系密切^[2-3]。武威市石羊河林业总场地处民勤干旱荒漠区, 目前人工梭梭林保存面积上万公顷, 梭梭人工接种肉苁蓉栽培技术已经相对完善^[4], 因此有必要对该地区梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉有效成分及金属元素的差异进行比较, 明确栽培与野生肉苁蓉药材的品质特性, 为当地肉苁蓉的规范种植和开发利用提供理论基础。

1 材料与仪器

梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉 9 月份采自甘肃民勤石羊河分厂栽培基地及附近沙漠地带, 经兰州大学第一医院刘健教授鉴定为肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 的干燥带鳞叶的肉

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(1506RJYA039)

作者简介: 牛娟, 女, 硕士生, 讲师 Tel: 18993211007 E-mail: 346331228@qq.com

质茎; CFU-202 型原子吸收分光光度计(北京分析仪器厂); Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent); 毛蕊花糖苷和松果菊苷(中国药品生物制品检定所, 批号: 111530-201208, 纯度 $\geq 99.5\%$); Fe、Mn、Cu、Na、Ca、K、Zn、Mg 各元素的系列标准溶液(GSB G62017-90, 国家钢铁材料测试中心); 甲醇、高氯酸及浓硝酸等试剂为色谱纯; 水为二次重蒸水。

2 方法

2.1 毛蕊花糖苷和松果菊苷定量分析

肉苁蓉的药典规定指标成分测定依据中国药典 2015 年版第一部中的操作进行: 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇为流动相 A, 0.1% 甲酸溶液为流动相 B, 梯度洗脱: 0~17 min, 26.5%A, 17~20 min, 26.5% \rightarrow 29.5%A, 20~27 min, 29.5%A, 检测波长为 330 nm^[5]。

2.2 金属元素的测定

2.2.1 样品前处理 将样品用蒸馏水洗 3 次, 去离子水洗 3 次, 烘干, 粉碎。精密称取样品约 0.5 g, 置于三角烧瓶中, 加入混合酸(浓硝酸: 高氯酸=4: 1)约 5 mL 过夜, 加热消化至溶液透明, 冷却, 加入少量去离子水, 继续加热至瓶内液体挥干。冷却后用去离子水少量多次洗涤, 转移至 10 mL 量瓶中, 加去离子水至刻度, 摇匀, 即得样品, 同时做空白对照^[6]。

2.2.2 检测波长确定 采用空气-乙炔火焰法, Fe、Mn、Cu、Na、Ca、K、Zn 和 Mg 的测定波长分别为 250.1, 281.0, 250.1, 250.1, 420.3, 775.2, 217.5, 285.6 nm。

2.2.3 线性关系考察 分别配制 Fe、Mn、Cu、Na、Ca、K、Zn、Mg 元素系列标准溶液, 在设定的工作条件下测定吸光度, 结果各元素浓度(C)与吸光度(A)均呈良好的线性关系, 相关系数 r 均 >0.999 , 见表 1。

2.2.4 仪器精密度和加样回收率测定 取同一样品连续进样 5 次, 依次测定上述金属元素的吸光度值, 计算相对标准偏差, 结果各元素的 RSD 均 $<1.0\%$, 表明仪器精密度良好; 为验证方法的可靠性, 采用标准加入法进行回收实验, 测得各元素的平均回收率均在 97.2%~103.5%之间。将处理好的样品在相应的检测波长下测定吸光度值, 并依据标准曲线测定含量。

表 1 测定元素的浓度范围和线性回归方程

Tab. 1 Linear range and linear equations of minerals in determination

元素	标准溶液浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$					回归方程	r
	1	2	3	4	5		
Fe	10	20	30	40	50	$A=0.0401C+0.0012$	0.9997
Mn	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	$A=0.2048C+0.0007$	0.9998
Cu	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	$A=0.2205C+0.0008$	0.9994
Na	10	20	30	40	50	$A=0.0380C+0.0010$	0.9998
Ca	20	40	60	80	100	$A=0.0040C+0.0078$	0.9998
K	10	20	30	40	50	$A=0.0526C-0.0010$	0.9997
Zn	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	$A=0.1580C+0.0015$	0.9998
Mg	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	$A=0.0038C+0.0009$	0.9995

2.3 统计学处理

数据用 SPSS 18.0 统计软件处理, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 两者毛蕊花糖苷和松果菊苷含量差异

野生样品中毛蕊花糖苷含量为(2.58 \pm 0.45)%, 松果菊苷的含量为(1.24 \pm 0.46)%, 梭梭人工接种品毛蕊花糖苷的含量为(1.13 \pm 0.37)%, 松果菊苷的含量为(0.96 \pm 0.58)%; 对梭梭人工接种肉苁蓉与野生肉苁蓉中活性成分的测定结果分别进行单因子方差分析统计, 结果表明, 野生样品中毛蕊花糖苷的平均含量高于梭梭人工接种品, 差异有统计学意义($P<0.05$), 两者松果菊苷含量无显著差异。色谱图见图 1。

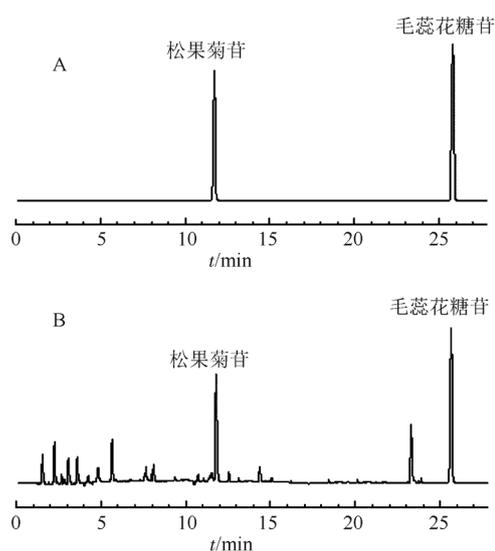


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-肉苁蓉样品。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-reference; B-sample of *Cistanche deserticola*.

3.2 两者金属元素含量差异

野生和人工样品均含有丰富的矿质元素 Na、Ca、K、Fe 等, 野生样品的 Na、Ca、K 含量明显

高于梭梭人工接种品, 且差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。其余 Fe、Mn、Cu、Zn、Mg 含量差异无统计学意义。结果见表 2。

表 2 人工种植样品和野生肉苁蓉样品的金属元素含量($n=5$)

样品	Fe($\times 10^4$)	Mn($\times 10^2$)	Cu($\times 10^2$)	Na($\times 10^4$)	Ca($\times 10^5$)	K($\times 10^4$)	Zn($\times 10^2$)	Mg($\times 10^3$)
野生	6.82	4.35	7.93	1.65 ¹⁾	5.48 ¹⁾	6.16 ¹⁾	3.10	7.25
人工	1.59	4.80	5.45	0.27	0.42	0.35	2.68	4.02

注: 与人工肉苁蓉相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with manual cultivated *Cistanche deserticola*, ¹⁾ $P<0.05$.

4 讨论

肉苁蓉目前野生资源濒临枯竭, 市场需求量却与日俱增, 主要靠人工种植以满足国内外市场需求。植物的生物学特性和环境条件决定了它对元素的吸收和积累, 栽培与野生肉苁蓉在生长环境等方面有一定的差异^[1]。因此有必要对二者有效成分及金属元素含量进行分析, 明确栽培与野生肉苁蓉药材的成分差异与品质特性, 为肉苁蓉的规范种植和繁育提供理论依据。本实验应用 HPLC 和空气-乙炔火焰原子吸收光谱法进行活性成分及金属元素测试, 发现野生样品中毛蕊花糖苷的平均含量显著高于梭梭人工接种品, 两者松果菊苷含量无显著差异。此外, 野生样品中金属元素 Na、K、Ca 含量显著高于梭梭人工接种品, 其余元素差异不显著。因此野生与梭梭人工接种肉苁蓉的有效成分及一些金属元素含量具有一定的差异性。本研究为名贵濒危中药资源肉苁蓉的合理栽培与开发利用提供了一定的信息基础。

REFERENCES

- [1] HUANG Y, GUO D F, LUO X, et al. Detection of inorganic elements in parasitic plants and their hosts [J]. Spectrosc Spec Anal(光谱学与光谱分析), 2011, 31(4): 1030-1032.
- [2] ZHU Y X, GUO Y H. Determination of mineral elements in cistanche and its extracives by ICP-AES [J]. Spectrosc Spec Anal(光谱学与光谱分析), 2013, 33(3): 813-816.
- [3] CAI H, BAO Z, JIANG Y, et al. Quantitative analysis of three active constituents in crude drug of *Cistanche deserticola* influenced by different factors [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(22): 3223-3229.
- [4] SONG D X. Cultivation technique of artificial inoculating *Cistanche deserticola* in haloxylon ammodendron in Minqin desert area [J]. J Gansu Forest Sci Technol(甘肃林业科技), 2010, 35(2): 60-62.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2015: 135.
- [6] LI C, QIANG Z Z, WANG Y, et al. Study on quality evaluation of Hedysari Radix from different producing areas in Gansu province based on the contents of 12 trace elements [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志), 2016, 23(6): 92-98.

收稿日期: 2016-08-26

(本文责编: 曹粤锋)