

不同种源鱼腥草产量和质量评价

蓝云龙

浙江省丽水市林业科学院, 浙江 丽水 323000

摘要: 目的 研究不同种源鱼腥草种质资源的主要有效成分甲基正壬酮、黄酮类成分量及产量变化规律, 综合多因素评价鱼腥草种源质量, 为鱼腥草优良品种选育及高产栽培技术提供基础。方法 测定 23 个种源的鱼腥草中的甲基正壬酮和黄酮类成分量, 并对种源与产量的变异关系进行分析。结果 不同种源鱼腥草甲基正壬酮、黄酮类成分的量及产量存在显著差异。不同种源鱼腥草挥发油类物质除与形态特征存在显著相关性外, 还有地理变异规律, 总量呈从西到东、从南到北逐渐增加的经、纬双向变异。而黄酮类成分除少数呈经向变异外其他均无明显的地理变异规律。结论 通过对 23 个鱼腥草种源主要有效成分挥发油类物质、黄酮类成分以及产量等因素研究结果, 黄酮类成分总量以植株较矮的鱼腥草为优, 其中以浙江长兴种源最高, 浙江嵊州种源次之。

关键词: 鱼腥草; 甲基正壬酮; 黄酮类; 产量; 品种选育

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)06-1195-04

Quality evaluation on yield and quality of *Houttuynia cordata* from different sources

LAN Yun-long

Lishui Institute of Forestry Sciences, Lishui 323000, China

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb.; methyl-*n*-nonyl ketone; flavonoids; yield; breeding

鱼腥草为三白草科 (Saururaceae) 蓼菜属 *Houttuynia* Thunb. 蓼菜 *Houttuynia cordata* Thunb., 因其鲜草揉碎后, 散发出强烈的鱼腥味, 故名鱼腥草, 又称侧耳根、折耳菜等。在北方一些地区鱼腥草主要作为中药使用, 在长江以南地区鱼腥草不仅是一种味辛、性凉、清热解毒、消痈排脓、利尿通淋的中药^[1-2], 还可作为野生蔬菜。鱼腥草已经被国家卫生部正式确定为“既是药品, 又是食品”的极具开发潜力的植物资源之一^[3]。近年来, 随着鱼腥草大规模的人工栽培, 人们先后对其生长发育^[4]、形态^[5]、产量^[6]等进行了相关研究, 但多数仅限于部分产地和居群的研究^[7-8]。本实验首次系统地对 23 个种源的鱼腥草中主要有效成分甲基正壬酮、黄酮类成分量及产量变化规律进行分析, 综合多因素评价鱼腥草种源质量, 为鱼腥草优良品种选育及高产栽培技术的开发提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

鱼腥草 *Houttuynia cordata* Thunb. 包括江西、贵

州、福建、云南、浙江、河南、湖南、广西、重庆、四川、安徽 11 个省 23 个种源, 共 24 份样品, 见表 1。2006 年 10 月种植于浙江省临安市浙江农林大学药材试验基地和浙江省丽水市林业科学研究院鱼腥草中试基地, 由浙江农林大学天然药物研发中心斯金平教

表 1 样品来源

Table 1 Sources of samples

编号	种源	编号	种源
1	江西永丰	13	浙江嘉善
2	贵州贵阳	14	四川西昌
3	福建沙县	15	浙江开化
4	云南会泽 1	16	安徽绩溪
5	云南会泽 2	17	浙江永康
6	贵州安顺	18	浙江泰顺
7	浙江莲都	19	浙江嵊州
8	河南正阳	20	浙江长兴
9	浙江庆元	21	浙江松阳
10	湖南长沙	22	浙江缙云
11	广西柳州	23	浙江云和
12	重庆开县	24	浙江青田

收稿日期: 2012-02-15

基金项目: 浙江省科技计划项目(2005C32052)

作者简介: 蓝云龙, 高级工程师, 从事药用植物研究。E-mail: 98lyl@163.com

授鉴定。2007~2011 年, 进行 2 次移扩栽培, 进行种源田间试验。

甲基正壬酮(批号 110834-200502)、槲皮苷(批号 111538-200504)、槲皮素(批号 100081200406)购于中国药品生物制品检定所; 金丝桃苷对照品(批号 1086-050214) 购于中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 质量分数大于 98%。

1.2 甲基正壬酮的测定

1.2.1 采样及样品预处理 鱼腥草在生长旺季采收挥发油得率较高, 因此于 2007 年 7 月每个种源随机采集鱼腥草全草若干株, 分别用蒸馏水洗净, 晾干, 准确称取 60 g 后切碎。每个样品从采样到提取的预处理时间均控制在 1 h 内。

1.2.2 气相色谱条件 Agilent6890N 气相色谱仪, FID 检测器; 程序升温: 60 °C→95 °C→100 °C→210 °C; 进样口温度 150 °C, 检测器温度 230 °C, 体积流量 3 mL/min; 载气 N₂; 40 mL/min; 空气 400 mL/min; 不分流恒流进样 1 μL。在此条件下, 样品中的甲基正壬酮可达到良好的分离。

1.2.3 对照品溶液的制备 取甲基正壬酮对照品 80.06 mg, 用无水乙醇定容于 100 mL 量瓶中, 得 0.800 6 mg/mL 对照品溶液。

1.2.4 供试品溶液的制备 分别将 24 份样品切碎的鱼腥草样品 60 g, 放入 500 mL 烧瓶中, 按物料比 1:5 加入 300 mL 蒸馏水, 振摇后, 连接好挥发油提取器, 恒温加热。待煮沸时计时, 蒸馏提取 4 h, 冷却 30 min, 收集挥发油, 再用醋酸乙酯定容至 1 mL。

1.2.5 标准曲线的绘制 取适量对照品溶液分别用醋酸乙酯配制成 0.080 06、0.160 12、0.800 6、1.601 2、2.401 8、3.202 4 mg/mL 对照品溶液, 分别以 1 μL 注入气相色谱仪, 以对照品质量浓度为纵坐标(Y), 以色谱峰面积为横坐标(X) 得到线性回归方程为 $Y=0.0014X-0.1008$, $r=0.9995$, 线性范围 0.080 06~3.202 4 mg/mL。

1.2.6 稳定性试验 取 20 号样品的供试品溶液, 在“1.2.2”项测定条件下, 分别在 0、2、7、7.5、9、12、13 h 进样, 结果甲基正壬酮峰面积的 RSD 为 2.32%。

1.2.7 精密度试验 取对照品溶液, 在“1.2.2”项条件下, 连续测定 5 次, 结果甲基正壬酮的峰面积 RSD 为 1.15%。

1.2.8 重复性试验 取 20 号样品 6 份, 按“1.2.4”

项下方法制备供试品溶液, 在所建立的测定条件下测定, 甲基正壬酮质量分数的 RSD 为 1.99%。

1.2.9 样品测定 将按照上述方法收集定容的 24 份样品挥发油溶液各 1 mL, 分别取 400 μL, 用醋酸乙酯稀释至 5 mL, 以 1 μL 注入气相色谱仪, 每份样品重复进样 3 次, 按标准曲线计算其量。

1.3 黄酮类成分的测定

1.3.1 HPLC 色谱条件 Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B), 采用改良的梯度洗脱条件^[6]; 体积流量为 0.6 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 360 nm。

1.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称取金丝桃苷、槲皮苷、槲皮素对照品, 用 80%甲醇溶解, 分别配制成 1.20、1.65、0.03 mg/mL 的溶液, 取一定量混合, 得到混合对照品溶液, 其中金丝桃苷为 0.40 mg/mL, 槲皮苷为 0.55 mg/mL, 槲皮素为 0.01 mg/mL。

1.3.3 供试品溶液的制备 称取鱼腥草样品 1.000 g 置入平底烧瓶中, 加入 50 mL 70%乙醇, 85 °C 冷凝回流 30 min, 抽滤, 重复提取 3 次, 滤液减压蒸干, 残渣用 80%甲醇溶解, 定容至 10 mL, 作为供试品溶液。进样前经有机微孔滤膜(0.22 μm) 滤过, 进样量为 5 μL。

1.3.4 标准曲线的绘制 分别精密称取金丝桃苷、槲皮苷和槲皮素对照品, 配制成金丝桃苷分别为 0.200 1、0.400 2、2.001、4.002、6.003、8.004 mg/mL, 槲皮苷质量浓度分别为 0.100 1、0.200 2、1.001、2.002、3.003、4.004 mg/mL, 槲皮素质量浓度分别为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.150、0.200 5 mg/mL 的对照品溶液, 分别以 5 μL 注入液相色谱仪, 按所建立的色谱条件进行测定。结果以质量浓度为纵坐标(Y), 色谱峰峰面积为横坐标(X) 进行线性回归, 得到 3 个对照品的线性回归方程, 金丝桃苷为 $Y=8\times 10^4X+0.0128$, $r=0.9999$, 线性范围为 0.300~1.500 mg/mL; 槲皮苷为 $Y=8\times 10^4X+0.0032$, $r=0.9989$, 线性范围为 0.190~0.950 mg/mL; 槲皮素为 $Y=8\times 10^3X+0.0017$, $r=0.9993$, 线性范围为 0.006~0.020 mg/mL。

1.3.5 稳定性试验 取 20 号供试品溶液, 在所建立的测定条件下, 分别在 0、1、2、3、4 d 进样, 结果金丝桃苷峰面积 RSD 为 1.62%, 槲皮苷峰面积 RSD 为 1.42%, 槲皮素峰面积 RSD 为 2.66%。

1.3.6 精密度试验 取 20 号供试品溶液, 在“1.3.1”

项条件下,连续测定 5 次,结果金丝桃苷峰面积 RSD 为 1.10%, 槲皮苷峰面积 RSD 为 1.09%, 槲皮素峰面积 RSD 为 0.47%。

1.3.7 重复性试验 称取 20 号供试品溶液 5 份各 1.000 g, 按“1.3.3”项方法制备供试品溶液, 在所建立的测定条件下测定, 结果金丝桃苷质量分数 RSD 为 2.97%, 槲皮苷质量分数 RSD 为 1.62%, 槲皮素质量分数 RSD 为 2.89%。

1.3.8 加样回收率试验 取已测定的 20 号样品 6 份, 分别加入等量对照品溶液, 在所建立的测定条件下测定, 计算回收率, 结果金丝桃苷平均回收率为 100.1%, RSD 为 2.26%; 槲皮苷平均回收率为 98.9%, RSD 为 1.38%; 槲皮素平均回收率为 98.6%, RSD 为 2.48%。

1.3.9 黄酮类成分的测定 分别精密吸取混合对照品溶液和各供试品溶液 5 μ L 进样, 重复测定 3 次, 取平均值, 按标准曲线法计算, 混合对照品溶液和供试品溶液色谱图见图 1。

1.3.10 HPLC 图谱分析 以槲皮苷峰为参照峰, 计算每份样品色谱图中各色谱峰的相对保留时间, 根据相对保留时间进行种源间色谱峰的匹配, 其中不同样品中共有的相对保留时间一致的峰为共有峰, 并选择有意义的非共有峰。

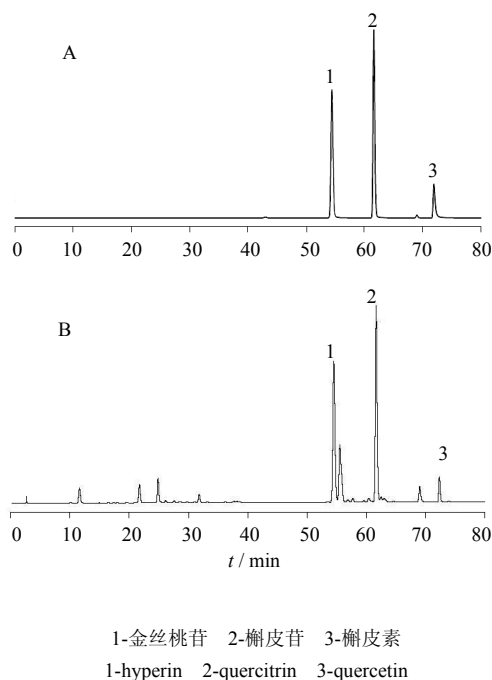


图 1 混合对照品 (A) 和鱼腥草样品 (B) HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *H. cordata* (B)

2 结果与分析

2.1 不同种源鱼腥草中甲基正壬酮量的差异

通过 24 份鱼腥草样品气相色谱分析中甲基正壬酮的测定, 结果表明不同种源鱼腥草中甲基正壬酮量存在显著差异, 最高的 13 号样品量达到 0.300 3 mg/g, 最低的 3 号样品为 0.014 8 mg/g, 两者相差 20.29 倍, 种源间甲基正壬酮量经方差分析达到极显著差异 (表 2)。

2.2 不同种源鱼腥草中金丝桃苷、槲皮苷和槲皮素量的差异

通过 HPLC 分析 23 份鱼腥草种源 24 个样品中金丝桃苷、槲皮苷和槲皮素的量, 结果表明, 金丝桃苷量最高的 13 号样品达到 0.622 4 mg/mL, 最低的 3 号样品为 0.178 6 mg/mL; 槲皮苷量最高的 15 号样品达到 0.789 7 mg/mL, 最低的 7 号样品为 0.319 3 mg/mL; 槲皮素量最高的 5 号样品达到 0.012 3 mg/mL, 最低的 7 号样品为 0.006 8 mg/mL。HPLC 分析结果的表明了金丝桃苷和槲皮苷的量相对较高, 而槲皮素的量很低 (表 2)。

2.3 不同种源鱼腥草产量的差异

2.3.1 不同种源鱼腥草地上部分鲜质量 23 个种源 24 份鱼腥草 7 月和 10 月地上部分鲜质量测定结果见表 2。7 月地上部分鲜质量种源均值为 921 g, 种源间变幅为 425~1 417 g; 10 月地上部分鲜质量种源均值为 553 g, 种源间变幅为 255 g~850 g, 最高的 19 号种源 2 个月份均为最低的 12 号种源的 3.33 倍。

2.3.2 不同种源鱼腥草地下部分鲜质量 23 个种源 24 份鱼腥草 9 月地下部分鲜质量测定结果见表 2。9 月地下部分鲜质量种源均值为 666.0 g, 种源间变幅为 425~1 375 g, 最高的 4 号种源为最低的 19 号种源的 3.24 倍。

3 讨论

3.1 不同种源鱼腥草中主要有效成分甲基正壬酮和黄酮类存在显著差异并具有一定的变异规律

通过对 23 个种 24 份源鱼腥草中甲基正壬酮量的测定及其他主要挥发油类物质 GC 图谱研究和槲皮苷、金丝桃苷、槲皮素量的测定及其他主要黄酮类成分的 HPLC 图谱研究, 结果表明不同种源鱼腥草中挥发油类物质和黄酮类成分存在极显著差异。不同种源鱼腥草挥发油类物质除与形态特征存在显著相关性外, 还存在地理变异规律, 总量呈从西到东、从南到北逐渐增加的经、纬双向变异。而黄酮类成分除少数

表 2 不同种源鱼腥草产量、黄酮类成分及甲基正壬酮量比较

Table 2 Yield, contents of flavonoids, and methyl-*n*-nonyl ketone in *H. cordata* from different sources

编号	产量 / g			黄酮类成分 / (mg·g ⁻¹)			甲基正壬酮 / (mg·g ⁻¹)
	7 月地上部分	10 月地上部分	9 月地下部分	金丝桃苷	槲皮苷	槲皮素	
1	883	410	683	0.420 1	0.519 9	0.009 1	0.123 7
2	1 208	725	725	0.377 8	0.334 3	0.008 2	0.152 7
3	1 225	733	1 217	0.178 6	0.430 1	0.008 5	0.014 8
4	1 125	675	1 375	0.423 0	0.547 8	0.008 9	0.180 1
5	921	553	666	0.433 8	0.655 7	0.012 3	0.155 0
6	967	580	533	0.502 3	0.730 0	0.012 2	0.226 3
7	875	525	760	0.256 7	0.319 3	0.006 8	0.124 6
8	921	553	666	0.449 9	0.773 9	0.009 2	0.256 8
9	433	260	538	0.443 7	0.503 3	0.009 0	0.204 6
10	825	495	542	0.422 1	0.488 7	0.009 9	0.212 8
11	958	575	650	0.425 3	0.584 1	0.010 2	0.137 3
12	425	255	660	0.385 8	0.548 5	0.008 0	0.191 9
13	1 025	795	693	0.622 4	0.531 7	0.010 1	0.300 3
14	525	255	558	0.371 5	0.681 5	0.008 5	0.099 3
15	733	440	927	0.462 3	0.789 7	0.009 0	0.110 0
16	983	592	577	0.368 0	0.702 3	0.008 4	0.121 7
17	963	578	717	0.345 3	0.472 3	0.010 4	0.206 8
18	1 267	760	570	0.399 0	0.511 6	0.009 9	0.184 3
19	1 417	850	425	0.565 9	0.734 0	0.011 4	0.158 4
20	1 167	700	450	0.596 3	0.727 4	0.012 0	0.173 4
21	883	530	448	0.482 5	0.435 3	0.009 1	0.206 5
22	1 000	602	583	0.482 5	0.502 2	0.009 1	0.168 7
23	500	300	458	0.407 3	0.673 2	0.009 1	0.204 4
24	867	537	558	0.579 0	0.673 2	0.010 2	0.160 3
均值	921	553	666	0.431 3	0.573 8	0.009 6	0.169 8

呈经向变异外其他均无明显的地理变异规律。

3.2 选择适合浙江栽培的鱼腥草优良种源

药用植物优良品种选育, 优质是首选目标, 主要表现在次生代谢产物量的高低与稳定性, 其次是高产。通过对 23 个鱼腥草种源主要有效成分挥发油类物质、黄酮类成分以及产量等因素研究结果, 黄酮类成分总量以植株较矮的鱼腥草为优, 其中以 20 号样品最高, 19 号样品次之。甲基正壬酮量及挥发油类物质总量以植株花果数多、果柄长的 1 号鱼腥草为优, 其中以 13 号样品最高, 18 号样品次之。产量以 19 号样品最高, 18 号样品次之。综合黄酮类成分总量、甲基正壬酮量、挥发油类物质总量及产量因素, 以 20 号 (产量 1 167 g)、19 号 (产量 1 417 g)、13 号 (产量 1 025 g) 为优, 各项指标均高于种源平均值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 黎晓英, 魏 麟, 伍贤进, 等. 中国不同地理居群鱼腥草遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 285-288.
- [3] 《关于进一步规范保健食品原料药管理的通知》[S]. 2002.
- [4] 伍贤进, 胡美忠, 卢红梅, 等. 鱼腥草生长发育规律及适宜采收期的研究 [J]. 作物杂志, 2006, 5: 18-20.
- [5] 蒋向辉, 伍贤进, 魏 麟, 等. 湖南六个鱼腥草品系的形态分类研究 [J]. 种子, 2006, 25(4): 81-84.
- [6] 吴 卫, 郑有良, 马 勇, 等. 鱼腥草不同居群产量和质量分析 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(8): 718-720.
- [7] Stecher G, Bonn G K. *Chromatography* [M]. 6th edition. Holland: Elsevier Science, 2004.
- [8] 蓝云龙, 吴令上, 裘波音, 等. 鱼腥草 RAPD 分子标记的多态性 [J]. 浙江林学院学报, 2008, 25(3): 309-313.