

表 1 有机菌肥对白术白绢病的抑制效果

处理	接种株数	病株数	发病率 (%)	防效率 (%)	小区平均产量 (kg/20 m <sup>2</sup> )	产量 (kg/hm <sup>2</sup> )	比对照 (%)
R <sub>1</sub>	540	39	7.2	77.6	12.6	6 300	72.6
R <sub>2</sub>	540	131	24.3	24.5	8.8	4 400	20.6
R <sub>3</sub>	540	146	27.0	16.2	8.5	4 250	16.4
R <sub>4</sub>	540	162	30.0	6.8	8.0	4 000	9.6
CK	540	174	32.2	-	7.3	3 650	-

术根部病害有明显的防治作用,这对有机肥的开发无疑将产生积极的影响,与其他肥料中配入杀菌剂不同,有机菌肥中的抗病作用来自有机物分解菌(哈茨木霉)本身。由于施用有机菌肥不会污染环境,而且还具有改良土壤的作用,因此,是一种值得推广的肥种。

参考文献

- 1 王慧中,赵培洁,王冀平,等. 中国环境科学,2000,20(2):180
- 2 徐同,钟静萍,李德葆,等. 植物病理学报,1993,23(1):63
- 3 Besnard O, Davet P. Agronomie, 1993, 13(5):413
- 4 Khan T A, Saxena S K. International J Nematology, 1997, 7(1):85
- 5 Shimizu Y, Hayashi T, Kawada T, et al. Mokuzai Gakkaishi, 1997, 43(2):121
- 6 Shivana M B, Meera M S, Kageyama K, et al. Mycoscience, 1996, 37(2):163

(1999-08-24 收稿)

2 次作追肥根部施入。4 月 15 日开始第一次追肥,5 月 10 日进行第二次追肥。9 月 30 日根据小区株存活数和死亡数统计防治效果,最后验收统计产量。为了保证试验的可信度,本试验采用白绢病菌核(萌发率为 100%)人工接种方法,每株接种菌核 2 粒。

2 结果与讨论

从表 1 可知,在抗病性方面,有机菌肥(R<sub>1</sub>)对白术白绢病菌有较强的抑制作用,防治效果高达 77.6%,而施用菌肥基质(R<sub>4</sub>)的防效仅为 6.8%;从小区产量来看,施用有机菌肥(R<sub>1</sub>)组的产量为 6 300 kg/hm<sup>2</sup>,而施用菌肥基质(R<sub>4</sub>)组的产量仅为 4 000 kg/hm<sup>2</sup>。以上结果表明,有机菌肥中的哈茨木霉不但对白术白绢病有拮抗作用,同时还能促进白术生长,提高产量。这与国外的报道相吻合<sup>[3]</sup>。从表 1 还可看出,与 CK 相比,常规施肥(R<sub>2</sub>)和施尿素(R<sub>3</sub>)也能表现出对白绢病有一定的抑制作用,防效分别为 24.5% 和 16.2%。三元复合肥和尿素本身未见有防治白绢病的报道,这可能是由于本试验的 CK 组不施肥,长势弱,而施用三元复合肥和尿素的植株相对长势强,造成了发病的差异。

综上所述,多效有机菌肥作为一种新型肥种,除了保持传统有机肥肥效稳定持久的特色外,还对白

## 高效毛细管电泳法用于不同居群大青叶药材的鉴别

第二军医大学药学院(上海 200433) 王寅\* 乔传卓 尹茶

摘要 以高效毛细管电泳法对不同居群大青叶药材的理化特征差异进行研究,结果表明异地栽培的不同居群大青叶药材酸性提取部位的化学成分及含量有显著差别,依据电泳图谱中特征峰的迁移时间和峰面积,能有效地鉴别不同居群大青叶药材。

关键词 高效毛细管电泳法 大青叶 鉴别

### Distinguishing *Isatis indigotica* from Different Medicinal Herbs of Different Habitat by HPCE

School of Pharmacy, Second Military Medical University (Shanghai 200433) Wang Yin, Qiao Chuanzhuo and Yin Cha

Abstract The physical and chemical features of *Isatis indigotica* Fortune from different habitat were characterized with HPCE. The results showed that their acid extract portions varies considerably in chemical compositions. Thus, with migration time and area of characteristic peak in the capillary electrophorogram, *I. indigotica* from different habitat could be distinguished.

Key words HPCE *Isatis indigotica* identification of medicinal material

大青叶是常用中药材,其性味苦寒,具清热解毒、凉血消斑的功效,《中华人民共和国药典》1995

\* Address: Wang Yin, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai  
国家自然科学基金资助项目,编号 NSFC 39670878;上海市科委星火计划项目,编号 98XH 0208

年版(一部)规定其植物来源为十字花科菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥叶<sup>[1]</sup>。菘蓝在全国各地广泛栽种,种内变异和生态环境的差异导致不同居群大青叶药材的品质有显著差别<sup>[2,3]</sup>。为探讨菘蓝种质资源因素对大青叶药材质量的影响,将各地不同居群大青叶移栽于上海市崇明岛同一块试验田,考察在相同生态环境下不同居群大青叶药材在药理作用及活性成分含量上的差异,并依据理化及性状特征对其进行鉴别研究。

由于同种植物药材的形态性状区别不明显,内部组织构造特征也非常相似,加之在采收加工后,药材均呈皱缩卷曲状,有的还破碎不完整,依据常规的药材性状特征及显微特征对不同居群大青叶药材难以鉴别。

文献报道从菘蓝中分离的几种酸性成分具有体外抗内毒素活性<sup>[4]</sup>,能较好地反映药材清热解毒功

效。通过比较测定不同居群大青叶酸性提取部位的化学成分及其含量,可对药材质量作出评判。

高效毛细管电泳法(HPCE),具有高效、快速、低耗、样品预处理简单、操作简便等优点<sup>[5]</sup>。以药材化学成分的 HPCE 特征性指纹图谱作为依据鉴别中药材已有报道<sup>[6,7]</sup>,其结果与传统的扫描电镜和显微鉴别的结果一致。

本研究采用 HPCE 中常用的毛细管区带电泳(CZE)分离模式,以大青叶药材的酸性提取部位为分析对象,对异地栽培的不同居群大青叶进行鉴别研究。

## 1 仪器和材料

Water Capillary Ion Analyzer, 熔融石英毛细管柱 60 cm × 75 μm (河北永年光导纤维厂),所用试剂均为分析纯。异地栽培的不同居群大青叶药材,经作者鉴定为 *Isatis indigotica* Fort., 见表 1。

表 1 不同居群大青叶的 HPCE 图谱数据

样品来源	出峰数	各峰的相对迁移时间(相对峰面积)
安徽阜阳	2	1.157(0.331), 2.682(5.503)
安徽亳州	2	1.155(0.248), 2.769(8.010)
安徽泗县	3	1.179(0.182), 1.945(0.354), 2.500(3.084)
安徽临泉	2	1.160(0.286), 2.834(4.064)
江苏射阳	2	1.203(0.308), 2.910(2.967)
江苏泰兴	1	1.188(0.390)
河南禹州	5	1.159(0.070), 1.189(0.089), 1.396(0.078), 1.698(0.187), 2.543(3.020)
山西太谷	6	1.146(0.449), 1.174(0.199), 1.581(0.640), 1.671(0.589), 1.821(0.482), 2.482(3.084)
陕西咸阳	8	1.161(0.176), 1.169(0.057), 1.191(0.024), 1.614(0.253), 1.713(0.271), 1.984(0.293), 2.570(2.770), 2.648(0.369)
内蒙赤峰	5	1.152(0.516), 1.696(0.691), 1.853(0.341), 2.553(3.602), 2.636(0.992)
河北邢台	5	1.151(0.354), 1.181(0.164), 1.688(0.596), 2.383(0.924), 2.508(2.179)
河北安国	5	1.103(0.095), 1.157(0.227), 1.185(0.129), 2.385(0.629), 2.524(4.114)
辽宁沈阳	3	1.175(0.109), 1.475(0.138), 2.477(2.237)

## 2 方法

2.1 样品处理:将大青叶药材烘干,粉碎,过 60 目筛,称取 10 g,加 100 mL 70% 的乙醇液,超声提取 1 h,过滤,加少量蒸馏水,回收乙醇至无醇味;以 1 mol/L HCl 调 pH 值为 1,以乙醚萃取多次,合并乙醚液,以无水  $N_2SO_4$  脱水,过滤,回收乙醚,残留物以甲醇溶解并定容至 10 mL 进样。

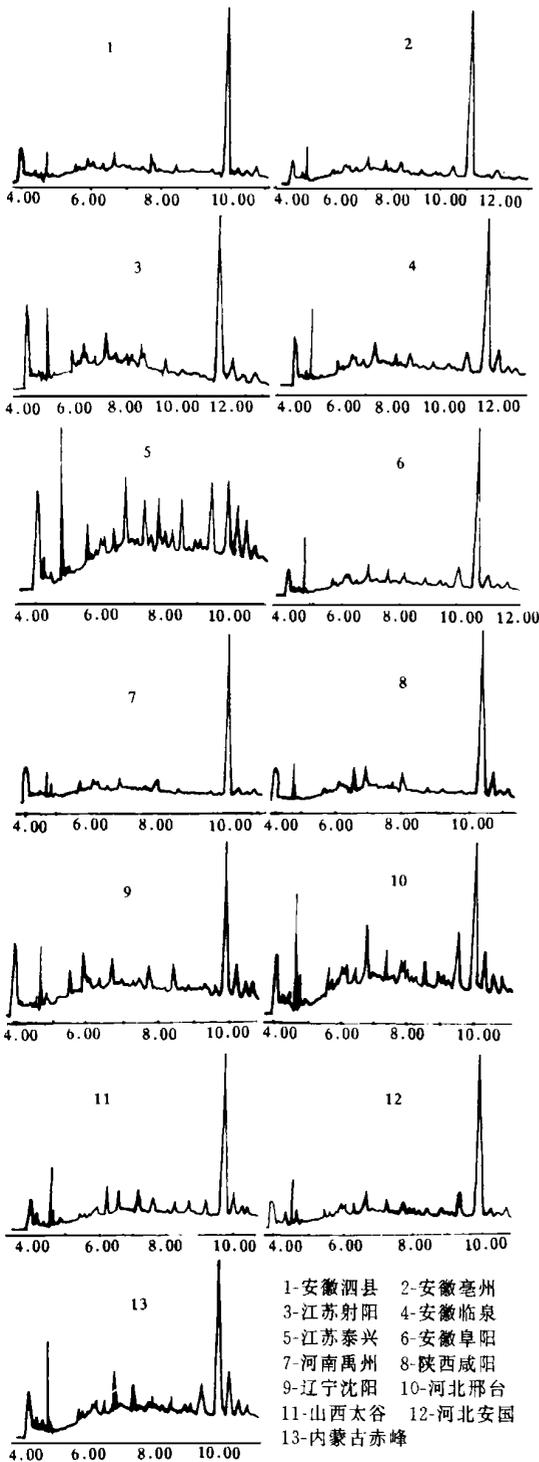
2.2 电泳工作条件:对 pH 值、工作电压、缓冲液离子强度、改性剂等影响因素进行了考察:发现 pH 值小时,各组分峰重叠, pH 值过大,迁移时间延长;电压增加使迁移时间减少,柱效提高,利于组分分离,过高则产生大量焦耳热,使柱效下降;适当提高缓冲液的离子强度,利于组分的分离;并综合考虑分离度、分析时间等因素,确定了电泳工作条件:缓冲液为 25 mmol/L  $Na_2B_4O_7-NaOH$  (pH 9.3),检测波长 214 nm,工作电压 22 kV,温度 25℃,所有样品以

压差法进样,10 cm,5 s。

2.3 方法考察:在确定的电泳工作条件下,对大青叶药材 HPCE 图谱中的定性定量指标(迁移时间与峰面积)进行重现性和稳定性考察。对同一个大青叶样品重复进样 5 次,迁移时间 RSD 为 0.64% ~ 2.16%,峰面积 RSD 为 0.34% ~ 2.76%;将大青叶样品液避光冷藏,分别在不同时间进样,3 d 内电泳图谱无明显变化,迁移时间 RSD 为 0.94% ~ 3.21%,峰面积 RSD 为 1.25% ~ 4.04%。基本满足定性要求。

## 3 结果

不同居群大青叶药材的 HPCE 图谱见图 1。以峰宽 10 s,峰面积 1 000 为阈值,对各个峰进行积分,以 4 min 处的峰为基准( $t_R = 1.00$ ,面积计为 1.00),计算其它峰的相对迁移时间及相对峰面积。各峰的相对迁移时间和相对峰面积数据见表 1。



1-安徽泗县 2-安徽亳州  
3-江苏射阳 4-安徽临泉  
5-江苏泰兴 6-安徽阜阳  
7-河南禹州 8-陕西咸阳  
9-辽宁沈阳 10-河北邢台  
11-山西太谷 12-河北安国  
13-内蒙赤峰

图 1 异地栽培的不同居群大青叶酸性成分的 HPLC 图谱

从电泳图谱及 HPCE 数据表中可以看出,不同居群大青叶的酸性提取部位的化学成分及其含量差别较大。

来源于安徽阜阳、亳州、临泉,河北安国的大青叶药材,相对迁移时间  $t_R$  在 2.5~2.8 min 间的峰的相对面积值较大。以标准品进样确证此为邻氨基苯甲酸样品峰,邻氨基苯甲酸在大青叶药材酸性提取部位中含量最高<sup>[2]</sup>,其含量与大青叶的抗内毒素活性有较好的相关性。此处相对峰面积值较大表明药材中邻氨基苯甲酸含量较高,药理实验结果显示其体外抗内毒素作用比其他来源的大青叶药材要强。原因可能是上述地区为菘蓝主产区,栽培历史悠久,长期的人工选育致使品种改良的结果。

来源于江苏泰兴大青叶的电泳图谱与其他居群的明显不同,  $t_R$  在 2.5~2.8 min 间的峰面积值未达阈值,其相对峰面积不能计算,表明药材中邻氨基苯甲酸含量偏低,药理实验也证实其体外抗内毒素作用较差。

根据 3.8~11.5 min 区间内的特征性图谱及这些峰的定性差数,可以有效地鉴别不同居群大青叶。HPCE 法具有分辨力强、重现性好、速度快等特点,为大青药材的鉴定提供了一种新方法。

高效毛细管电泳结果显示异地栽培的不同居群大青叶药材酸性提取部分的电泳图谱有显著差异。因样品溶液配制过程相同,进样条件相同,保证了加入样品的浓度和体积的一致,故所得电泳图谱的变化反映了大青叶不同居群间的化学成分及含量的差异。在相同生态环境中,不同居群大青叶存在显著的化学变异,表明菘蓝种质资源因素对大青叶药材的品质具有重要影响作用。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典. 一部. 广州: 广东科技出版社, 北京: 化学工业出版社, 1995: 15
- 2 王 寅, 尹 茶, 乔传卓, 等. 第二军医大学学报, 1999, 20(6): 370
- 3 刘 盛, 乔传卓. 中草药, 1999, 30(5): 368
- 4 Wu X Y, Liu Y H, Sheng W Y, et al. Planta Med, 1997, 63: 55
- 5 房杏春. 中国药科大学学报, 1991, 22(4): 249
- 6 胡 平, 罗国安, 王如骥, 等. 药学报, 1997, 32(7): 549
- 7 张朝晖, 范国荣, 徐国钧, 等. 中国中药杂志, 1998, 23(5): 259

(1999-11-04 收稿)

更正: 本刊 6 期 415 页下左倒数第 4 行“大叶清华桂”应为“大叶清化桂”; 417 页 3 鉴定项的结构应加上键号。