

## • 药材与资源 •

## 国槐不同组织器官中多成分分析及抗氧化活性研究

王计瑞<sup>1,2</sup>, 谭 均<sup>1,2</sup>, 李隆云<sup>1,2\*</sup>, 徐 进<sup>1,2</sup>, 宋旭红<sup>1,2</sup>, 赵真真<sup>1,2,3</sup>, 王云红<sup>1</sup>

1. 重庆市中药研究院 重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心 中药资源学重点实验室, 重庆 400065

2. 中国中医科学院 中药资源中心 重庆分中心, 重庆 400065

3. 西南大学药学院, 重庆 400716

**摘要:**目的 通过对国槐 *Sophora japonica* 不同组织器官进行综合评价, 为其资源合理利用提供依据。方法 采用高效液相色谱 (HPLC) 法、电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES) 法、比色法检测样品中芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素、重金属含量以及  $\text{Fe}^{3+}$  还原能力、DPPH 自由基 (DPPH $\cdot$ )、ABTS 自由基 (ABTS $^{+\cdot}$ ) 清除能力和总抗氧化能力 (FRAP)。运用 SPSS 20.0 软件对结果进行聚类分析和主成分分析。结果 国槐不同组织器官中 4 种黄酮类成分总含量为花蕾 > 花 > 花轴 > 叶 > 枝条; 抗氧化能力依次为花蕾 > 花 > 花轴 > 叶 > 枝条, 与黄酮类成分总量呈正相关。花和花蕾中 5 种重金属含量均符合《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》, 部分叶、花轴和枝条中 Cd 超标。聚类分析将花和花蕾聚为一类, 花轴、叶和枝条聚为另一类; 主成分分析将 8 个变量提取为 2 个主成分 (PC1 和 PC2), 不同组织器官间 PC1 值有明显差异, 不同批次间表现在 PC2 值上有差异。结论 国槐花及花蕾中重金属含量低, 黄酮类成分含量高, 抗氧化活性强, 品质优良; 花轴及叶也含有较高的黄酮类成分及较强的抗氧化能力, 具有进一步开发利用的价值。

**关键词:** 国槐; 不同组织器官; 黄酮类成分; 重金属; 抗氧化活性

中图分类号: R282.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)17-4513-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.17.020

## Multi-component and antioxidant activities analysis in different parts of *Sophora japonica*

WANG Ji-rui<sup>1,2</sup>, TAN Jun<sup>1,2</sup>, LI Long-yun<sup>1,2</sup>, XU Jin<sup>1,2</sup>, SONG Xu-hong<sup>1,2</sup>, ZHAO Zhen-zhen<sup>1,2,3</sup>,  
WANG Yun-hong<sup>1</sup>

1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Chongqing key Laboratory of Chinese Medicine Resources, Chongqing 400065, China

2. Chongqing Sub-Center of National Resources Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Chongqing 400065, China

3. College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400716, China

**Abstract: Objective** To provide a basis for the rational use of *Sophora japonica* resources through comprehensive evaluation of different tissues and organs. **Methods** The contents of rutin, narcissin, quercetin, isorhamnetin and heavy metals in the samples were detected by HPLC and ICP-OES. The  $\text{Fe}^{3+}$  reducing ability, DPPH free radical (DPPH $\cdot$ ), ABTS free radical (ABTS $^{+\cdot}$ ) scavenging ability and total antioxidant capacity (FRAP) were detected by colorimetry. Then, cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA) were conducted by software of SPSS 20.0. **Results** The total contents of four flavonoids in different tissues and organs of *S. japonica* were arranged as follows: flower buds > flowers > flower axis > leaves > branches. The order of antioxidant capacities was as follows: flower buds > flowers > flower axis > leaves > branches, which were positively correlated with the total contents of four flavonoids. The contents of five heavy metal elements in flowers and flower buds were within the limitation of the *Green standards of medicinal plants and preparations for foreign trade and economy*, while the Cd element in some leaves, flower axis and branches was beyond the standard. Flowers and flower buds were clustered into one type by CA, while flower axis, leaves and branches were

收稿日期: 2020-01-09

基金项目: 重庆市科研机构绩效激励引导专项 (cstc2018jxjl-jbky120011); 国家中药材产业技术体系 (CARS-21); 重庆市现代山地特色高效农业技术体系 (2018 [5] 号); 重庆市林业重点科技攻关项目 (2016-14); 重庆市技术创新与应用示范专项 (cstc2018jcsx-msybx0234)

作者简介: 王计瑞 (1991—), 男, 研究实习生, 硕士, 研究方向为中药物质基础与质量评价。E-mail: wangjiruizy@163.com

\*通信作者 李隆云 (1964—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为中药材种植与质量评价。E-mail: lilongyun8@163.com

clustered into another category. The two principal components (PC1 and PC2) were extracted from the eight variables by PCA, PC1 showed significant differences among different tissues and organs, and PC2 values showed large differences among batches. **Conclusion** The flowers and flower buds of *S. japonica* showed an excellent qualities, including safe doses of heavy metals, rich flavonoids and outstanding antioxidant activities. In addition, the flower axis and leaves also contained high flavonoids and exhibited strong antioxidant activities, which had the value of further development and utilization.

**Key words:** *Sophora japonica* L.; different tissues and organs; flavonoids; heavy metal elements; antioxidant activities

国槐 *Sophora japonica* L. 又名槐树、豆槐、护房树、中国槐等, 为豆科多年生落叶乔木, 在国内广泛分布, 北方多以野生品或行道树为主, 南方多以栽培品为主。根据《本草纲目》中记载, 槐一身是宝, 花、花蕾、果实、种子、叶、枝、木皮、根白皮及树脂胶均可入药用<sup>[1]</sup>, 其花蕾、花及果实亦被《中国药典》所收录<sup>[2]</sup>。众所周知, 槐花和槐米中含有大量的黄酮类成分, 如芦丁、水仙苷、槲皮素、染料木素、异鼠李素等, 尤其以芦丁的含量最高, 因而常被用作提取芦丁的主要原料<sup>[3-4]</sup>。另外, 根据文献报道, 作为同一植物的不同组织器官, 槐叶、槐枝、枝皮中也含有黄酮类<sup>[5-7]</sup>及挥发性成分<sup>[8-9]</sup>, 具有潜在的开发利用价值。

国槐的花期较短, 南方栽培品的花期主要集中在 7 月下旬至 8 月中旬。槐花在成熟过程中, 黄酮苷类成分含量降低的比较快<sup>[10]</sup>。因此, 为保证采收效率及药材质量, 在生产基地中, 采收槐米时常将整个花枝折下, 于阴凉处将槐叶与花序分离, 然后再进行杀青、烘干和脱粒等操作。由于种植国槐的主要经济价值依附于槐米及槐花, 在加工过程中产生的大量叶、花轴、枝条等常被当做“废料”而丢弃, 造成了资源浪费。当前, 中药资源消耗极大、资源总量日趋减少, 逐渐难以满足日益增长的社会需求。药材采收和加工过程中产生的非药用部位数量庞大, 其资源价值尚未充分暴露。通过对这些副产物进行资源开发, “量才而用”, 能够在一定程度上缓解中药资源紧缺的状况。因此, 本实验利用现代分析技术对 4 批国槐不同组织器官中多种化学成分、重金属元素进行检测, 并结合体外抗氧化活性试验做综合评价, 以期为国槐资源的合理利用提供数据参考。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

国槐来源于重庆市北碚区东阳镇西山坪街道国槐种植基地内, 经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为国槐 *Sophora japonica* L. 栽培品。样品采集于 2018 年 8 月, 共 4 个批次 (编号 1~4)。每个

批次分别取花、花蕾、叶、花轴、枝条 5 个不同部位, 60 °C 鼓风干燥后, 粉碎, 密封, 4 °C 下贮藏。

### 1.2 试剂

对照品芦丁 (批号 XS5K-V6YM, 质量分数 ≥ 91.9%)、水仙苷 (批号 8KNS-SUZC, 质量分数 ≥ 93.1%)、槲皮素 (批号 CNQ4-GCS6, 质量分数 ≥ 99.1%)、异鼠李素 (批号 8893-C997, 质量分数 ≥ 99.8%) 均购自中国食品药品检定研究院; Cu (批号 211125059)、Cd (批号 212085110)、Pb (批号 213065079)、As (批号 213015085)、Hg (批号 213105088) 标准溶液购自美国 AccuStandard 公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2'-联氮-2-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS) 购自美国 sigma-Aldrich 公司; 2,4,6-三吡啶基三嗪 (TPTZ) 购自北京索莱宝科技有限公司; 乙腈 (色谱纯)、甲醇 (色谱纯)、冰醋酸 (色谱纯) 购自美国 Tedia 公司; 其他试剂均为优级纯或分析纯; 水为超纯水。

### 1.3 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪 (DAD 检测器, 美国 Agilent 公司); Infinte M200 PRO 型酶标仪 (北京五洲东方科技发展有限公司); Optima 8000 DV 型电感耦合等离子体发射光谱仪 (美国 Perkin Elmer 公司); CEM-MARS6 高通量密闭消解仪 (美国 CEM 公司); BHW-09C 型恒温加热器 (上海博通化学科技有限公司); 氢化物发生器、旋流雾室 (美国 Elemental Scientific Inc 公司); SC-FAST II 型自动进样器 (美国 Elemental Scientific 公司); Milli-Q Integral 5 型纯水仪 (美国 Millipore 公司); CPA 225-D 十万分之一天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); BSA 124-S 万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); KQ-400 DE 型数控超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 黄酮类成分含量测定

芦丁、水仙苷、槲皮素和异鼠李素含量测定参照课题组之前的建立的提取方法和 HPLC 方法进行

提取和检测<sup>[11]</sup>。

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取对照品适量，加甲醇配制成质量浓度分别为芦丁 1 083.0 μg/mL、水仙苷 158.0 μg/mL、槲皮素 117.6 μg/mL 和异鼠李素 9.2 μg/mL 的混合对照品溶液，再将混合对照品溶液等比稀释成梯度质量浓度的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 分别取不同批次国槐花、花蕾、叶、花轴、枝条的干燥粉末 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加甲醇 50 mL，称定质量，超声处理（功率 400 W，频率 40 kHz）30 min，取出放冷，称定质量，用甲醇补足减失质量，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取滤液即得。

**2.1.3 色谱条件** 色谱柱：Inertsil<sup>®</sup> ODS-3（250 mm×4.6 mm，5 μm）。流动相为乙腈（A）-1%醋酸水溶液（B），梯度洗脱：0~5 min，5% A；5~10 min，5%~20% A；10~20 min，20% A；20~30 min，20%~32% A；30~45 min，32%~35% A；45~50 min，35%~5% A；50~55 min，5% A。体积流量 1.0 mL/min，检测波长 257 nm，柱温 30 ℃，进样量 10 μL。色谱图见图 1。

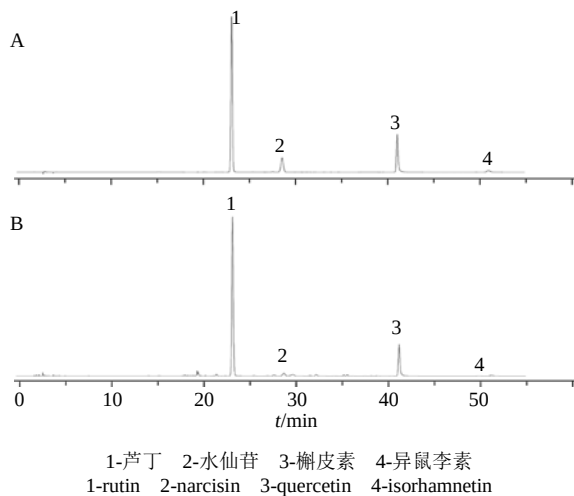


图 1 对照品 (A) 和国槐花蕾 (B) 色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance (A) and flower buds of *S. japonica* (B)

**2.1.4 标准曲线的绘制** 分别精密吸取梯度质量浓度的混合对照品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪，按“2.1.3”项下色谱条件进行检测，记录峰面积。以各对照品峰面积为纵坐标（Y），质量浓度为横坐标（X），做标准曲线。芦丁的线性方程为  $Y=17.244X+47.221$ ， $r=0.9998$ ；水仙苷的线性方程为  $Y=17.594X+9.507$ ， $r=0.9998$ ；槲皮素的线性方程为  $Y=91.035X-5.843$ ， $r=0.9999$ ；异鼠李素的线性

方程为  $Y=67.341X+0.407$ ， $r=0.9999$ 。表明芦丁在 4.2~1 083.0 μg/mL、水仙苷在 0.62~158.00 μg/mL、槲皮素在 0.46~117.60 μg/mL、异鼠李素在 0.14~9.20 μg/mL 内线性关系良好。

## 2.2 重金属元素检测

**2.2.1 供试品溶液的制备** 分别取不同批次国槐花、花蕾、叶、花轴、枝条的干燥粉末 0.2 g，精密称定。采用微波消解法消解样品：置耐压高温微波消解罐中，加入硝酸 5 mL，于恒温加热器中 100 ℃ 预消解 20 min，放至室温，加盖密封，放入微波消解仪中按相应程序进行消解<sup>[12]</sup>。消解完全后，放冷，将消解液转入 10 mL 量瓶中，用少量 2% 硝酸洗涤消解罐 3 次，将洗液合并至量瓶中，并用 2% 硝酸定容，摇匀，过滤待测。

**2.2.2 测定方法** 参照崔广林等<sup>[12]</sup>的方法，采用 ICP-OES 对 Cd、Pb、Cu 进行检测，用氢化物法对 As、Hg 进行检测，采用外标法计算样品中 5 种重金属的含量。检测条件：高频入射功率 1.3 kW，等离子体气流 15 L/min，辅助气流 0.2 L/min，雾化气流 0.55 L/min，体积流量 0.44 mL/min；采用轴向观测模式，Cd、Pb、Cu 采集时间 45 s，As、Hg 采集时间 70 s。

## 2.3 抗氧化活性检测

**2.3.1  $Fe^{3+}$  还原能力测定<sup>[13]</sup>** 将 1 mL 供试品甲醇溶液（生药质量浓度为 2 mg/mL）与 2 mL 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液（pH 6.6）混匀后再加入 2 mL 0.03 mol/L  $K_3Fe(CN)_6$  溶液，混匀。在 50 ℃ 下孵育 20 min 后，加入 0.2 mL 0.6 mol/L 的三氯乙酸溶液，混匀，1 000 r/min 离心 10 min。取上清液 35 μL 与 115 μL 超纯水和 100 mL 0.006 mol/L 的  $FeCl_3$  溶液置于 96 孔板中，混匀，在 700 nm 处检测吸光度（A 值），每个样品重复检测 3 次。以 BHA 溶液（600 μg/mL）作为阳性对照，以甲醇作为空白对照。 $Fe^{3+}$  还原能力（A）计算公式为  $A=A_1-A_0$ ，式中  $A_1$  为试验组 A 值， $A_0$  为空白对照组 A 值；A 值越大表明样品的还原能力越强。

**2.3.2 DPPH·清除能力测定<sup>[14]</sup>** 将 50 μL 供试品甲醇溶液（生药质量浓度为 2 mg/mL）加入到 3.95 mL DPPH（0.1 mmol/L）溶液中，剧烈震荡，避光室温孵育 30 min。取 200 μL 混合液置于 96 孔板中，在 517 nm 处检测 A 值，每个样品重复检测 3 次。以 VC 溶液（600 μg/mL）作为阳性对照，以甲醇作为空白对照。

DPPH 自由基清除能力 =  $(1 - A_1/A_0)$

$A_1$  为试验组 A 值,  $A_0$  为空白对照组 A 值

**2.3.3 ABTS<sup>•+</sup>清除能力测定<sup>[15]</sup>** 将 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液按体积比 1:1 混合, 在黑暗环境中室温放置 14 h, 生成 ABTS<sup>•+</sup>自由基储备液。分析前将上述储备溶液用 95%乙醇稀释至在 734 nm 处 A 值为  $0.70 \pm 0.02$ 。将 0.1 mL 质量浓度为  $0 \sim 346.4 \mu\text{g/mL}$  的维生素 E (Trolox) 溶液与 3.9 mL 底物溶液混合, 孵育 6 min, 取 200  $\mu\text{L}$  混合液置于 96 孔板中, 在 734 nm 处检测 A 值。以质量浓度为横坐标、A 值为纵坐标做回归曲线, 得到线性方程及范围。将 0.1 mL 供试品甲醇溶液 (生药质量浓度为 2 mg/mL) 替代 Trolox 溶液进行反应并检测, 结果带入线性方程, ABTS<sup>•+</sup>自由基清除能力以 Trolox 抗氧化能力当量 (TEAC) 表示。

**2.3.4 FRAP 测定<sup>[16]</sup>** 将 0.3 mol/L 乙酸钠缓冲溶液、20 mmol/L  $\text{FeCl}_3$  和 10 mmol/L TPTZ 溶液 (溶剂为 40 mmol/L 的 HCl 溶液) 按体积比为 10:1:1 混合, 得到 FRAP 工作液, 放置在 37 °C 水浴中保温。精密移取不同浓度 ( $1 \sim 10 \text{ mmol/L}$ ) 的  $\text{FeSO}_4 \cdot$

$7\text{H}_2\text{O}$  溶液 20  $\mu\text{L}$ , 加入 3 mL FRAP 工作液, 混匀后 37 °C 反应 40 min, 取 200  $\mu\text{L}$  混合液置于 96 孔板中, 在 593 nm 处检测 A 值。以浓度为横坐标、A 值为纵坐标做回归曲线, 得到线性方程及范围。将 20  $\mu\text{L}$  供试品甲醇溶液 (生药质量浓度为 2 mg/mL) 替代  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  溶液进行反应并检测, 结果带入线性方程, 总抗氧化能力用 FARP 表示。

## 2.4 化学计量学分析

采用 SPSS 20.0 软件对结果进行单因素方差分析、聚类分析和主成分分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 国槐不同部位中黄酮类含量

国槐花、花蕾、叶、花轴、枝条中芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素和总量结果见表 1。结果表明, 国槐中 4 种黄酮类成分总量分布情况依次为花蕾 > 花 > 花轴 > 叶片 > 枝条, 各组织器官间均有显著性差异, 其中花蕾、花、花轴中黄酮类成分总量比叶和枝条的高出 1 个数量级, 黄酮类成分极为丰富。在国槐各组织器官中, 芦丁的含量均明显高于其他黄酮类成分, 是最主要的黄酮类成分。花蕾和花中芦丁质量分数分别高达 37.441%、26.019%, 花

表 1 国槐不同部位中黄酮类化学成分含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Chemical components contents of flavonoids in different tissues and organs of *S. japonica* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 批次 | 部位 | 芦丁/%                 | 水仙苷/%               | 槲皮素/%               | 异鼠李素/%              | 总量/%                 |
|----|----|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| 1  | 花  | $23.255 \pm 0.378^b$ | $0.860 \pm 0.007^b$ | $0.223 \pm 0.011^b$ | $0.017 \pm 0.001^b$ | $24.424 \pm 0.404^b$ |
|    | 花蕾 | $36.827 \pm 0.620^a$ | $1.140 \pm 0.019^a$ | $0.291 \pm 0.021^a$ | $0.019 \pm 0.001^a$ | $38.204 \pm 0.607^a$ |
|    | 叶  | $2.471 \pm 0.300^d$  | $0.028 \pm 0.007^d$ | $0.117 \pm 0.004^c$ | $0.013 \pm 0.001^c$ | $2.633 \pm 0.306^d$  |
|    | 花轴 | $13.270 \pm 0.196^c$ | $0.211 \pm 0.015^c$ | $0.015 \pm 0.002^d$ | —                   | $13.496 \pm 0.207^c$ |
|    | 枝条 | $0.972 \pm 0.184^e$  | $0.011 \pm 0.001^d$ | —                   | —                   | $0.984 \pm 0.185^e$  |
| 2  | 花  | $26.019 \pm 0.329^b$ | $0.693 \pm 0.010^b$ | $0.324 \pm 0.019^b$ | $0.017 \pm 0.001^a$ | $27.119 \pm 0.348^b$ |
|    | 花蕾 | $37.441 \pm 0.496^a$ | $0.972 \pm 0.098^a$ | $0.414 \pm 0.023^a$ | $0.015 \pm 0.000^b$ | $38.841 \pm 0.564^a$ |
|    | 叶  | $2.826 \pm 0.057^d$  | $0.012 \pm 0.002^d$ | $0.125 \pm 0.005^c$ | —                   | $2.964 \pm 0.056^d$  |
|    | 花轴 | $17.014 \pm 0.290^c$ | $0.199 \pm 0.006^c$ | $0.011 \pm 0.000^d$ | —                   | $17.224 \pm 0.296^c$ |
|    | 枝条 | $1.703 \pm 0.215^d$  | $0.010 \pm 0.000^e$ | —                   | —                   | $1.713 \pm 0.215^d$  |
| 3  | 花  | $18.382 \pm 0.042^b$ | $0.809 \pm 0.010^b$ | $0.536 \pm 0.007^a$ | $0.032 \pm 0.001^b$ | $19.760 \pm 0.054^b$ |
|    | 花蕾 | $29.444 \pm 0.781^a$ | $1.104 \pm 0.026^a$ | $0.544 \pm 0.013^a$ | $0.036 \pm 0.002^a$ | $31.128 \pm 0.822^a$ |
|    | 叶  | $2.007 \pm 0.078^d$  | $0.021 \pm 0.004^d$ | $0.142 \pm 0.006^b$ | $0.016 \pm 0.000^c$ | $2.185 \pm 0.085^d$  |
|    | 花轴 | $12.176 \pm 0.277^c$ | $0.158 \pm 0.005^c$ | $0.017 \pm 0.001^c$ | —                   | $12.351 \pm 0.282^c$ |
|    | 枝条 | $0.533 \pm 0.087^e$  | —                   | —                   | —                   | $0.533 \pm 0.087^e$  |
| 4  | 花  | $23.326 \pm 0.419^b$ | $0.485 \pm 0.011^b$ | $0.141 \pm 0.002^c$ | —                   | $23.952 \pm 0.428^b$ |
|    | 花蕾 | $34.727 \pm 0.587^a$ | $1.193 \pm 0.006^a$ | $0.389 \pm 0.008^a$ | $0.019 \pm 0.002^a$ | $36.263 \pm 0.567^a$ |
|    | 叶  | $2.691 \pm 0.138^d$  | $0.011 \pm 0.003^d$ | $0.171 \pm 0.005^b$ | $0.014 \pm 0.001^b$ | $2.887 \pm 0.144^d$  |
|    | 花轴 | $15.481 \pm 0.614^c$ | $0.156 \pm 0.006^c$ | $0.013 \pm 0.000^d$ | —                   | $15.650 \pm 0.618^c$ |
|    | 枝条 | $0.932 \pm 0.346^d$  | —                   | —                   | —                   | $0.932 \pm 0.346^d$  |

“—”表示在当前浓度下未检出; 不同字母表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )

“—” represents that be undetected; different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

轴中质量分数最高为 17.014%，叶和枝条中含量则相对较低，最高分别为 2.826%、1.703%。此外，花、花蕾、叶、花轴中还含有一定量的水仙苷、槲皮素及异鼠李素，而在该条件下枝条中则多数未检出。

### 3.2 重金属元素含量

通过 ICP-OES 测定国槐各部位中 5 种重金属元素含量。由表 2 可知，4 批国槐不同组织器官中除 Cd 以外的其他 4 种重金属元素均符合《药用植

物及制剂进出口绿色行业标准》（以下简称“行业标准”）<sup>[17]</sup>，第 1 批和第 2 批叶、花轴以及第 2 批枝条中 Cd 含量超出行业标准。各个组织器官对不同重金属元素的富集程度有显著性差异，叶中富集的 As、Pb、Cd 显著高于其他组织器官，花轴和枝条对 Cd 的富集也显著高于花及花蕾，而花及花蕾中富集的 Cu 则显著高于其他组织器官。Hg 在以上各组织器官中均未检出。

表 2 国槐不同组织中重金属元素含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Heavy metal elements contents in different tissues and organs of *S. japonica* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 批次   | 器官 | As/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | Hg/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | Pb/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | Cd/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | Cu/(mg·kg <sup>-1</sup> ) |
|------|----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1    | 花  | 0.083±0.029 <sup>cd</sup> | —                         | —                         | 0.133±0.029 <sup>c</sup>  | 12.817±0.548 <sup>a</sup> |
|      | 花蕾 | 0.033±0.029 <sup>d</sup>  | —                         | —                         | 0.100±0.000 <sup>c</sup>  | 9.133±0.464 <sup>b</sup>  |
|      | 叶  | 0.967±0.029 <sup>a</sup>  | —                         | 0.850±0.132               | 0.417±0.029 <sup>a</sup>  | 6.233±0.378 <sup>cd</sup> |
|      | 花轴 | 0.383±0.029 <sup>b</sup>  | —                         | —                         | 0.317±0.076 <sup>b</sup>  | 6.750±1.702 <sup>c</sup>  |
|      | 枝条 | 0.117±0.029 <sup>c</sup>  | —                         | —                         | 0.267±0.029 <sup>b</sup>  | 4.733±0.153 <sup>d</sup>  |
| 2    | 花  | 0.150±0.050 <sup>c</sup>  | —                         | —                         | 0.267±0.029 <sup>b</sup>  | 9.700±1.026 <sup>a</sup>  |
|      | 花蕾 | 0.100±0.000 <sup>c</sup>  | —                         | —                         | 0.250±0.000 <sup>b</sup>  | 8.783±0.846 <sup>a</sup>  |
|      | 叶  | 0.933±0.029 <sup>a</sup>  | —                         | 1.067±0.225 <sup>a</sup>  | 0.333±0.029 <sup>a</sup>  | 3.950±0.132 <sup>b</sup>  |
|      | 花轴 | 0.133±0.029 <sup>c</sup>  | —                         | 0.333±0.176 <sup>b</sup>  | 0.350±0.000 <sup>a</sup>  | 4.250±0.397 <sup>b</sup>  |
|      | 枝条 | 0.467±0.029 <sup>b</sup>  | —                         | 0.250±0.200 <sup>bc</sup> | 0.333±0.029 <sup>a</sup>  | 3.283±0.318 <sup>b</sup>  |
| 3    | 花  | 0.150±0.000 <sup>b</sup>  | —                         | —                         | 0.050±0.000 <sup>c</sup>  | 7.500±0.436 <sup>a</sup>  |
|      | 花蕾 | 0.150±0.000 <sup>b</sup>  | —                         | —                         | 0.050±0.000 <sup>c</sup>  | 7.133±0.679 <sup>a</sup>  |
|      | 叶  | 0.933±0.029 <sup>a</sup>  | —                         | 0.533±0.301 <sup>a</sup>  | 0.167±0.058 <sup>ab</sup> | 3.917±0.208 <sup>c</sup>  |
|      | 花轴 | 0.100±0.000 <sup>bc</sup> | —                         | 0.017±0.029 <sup>b</sup>  | 0.117±0.029 <sup>b</sup>  | 5.517±0.247 <sup>b</sup>  |
|      | 枝条 | 0.083±0.058 <sup>c</sup>  | —                         | —                         | 0.217±0.029 <sup>a</sup>  | 3.950±0.409 <sup>c</sup>  |
| 4    | 花  | 0.267±0.029 <sup>b</sup>  | —                         | —                         | 0.133±0.058 <sup>bc</sup> | 7.017±0.530 <sup>a</sup>  |
|      | 花蕾 | 0.150±0.050 <sup>bc</sup> | —                         | —                         | 0.100±0.000 <sup>c</sup>  | 6.733±0.586 <sup>a</sup>  |
|      | 叶  | 1.083±0.153 <sup>a</sup>  | —                         | 0.700±0.180               | 0.200±0.000 <sup>a</sup>  | 3.200±0.132 <sup>bc</sup> |
|      | 花轴 | 0.267±0.029 <sup>b</sup>  | —                         | —                         | 0.133±0.029 <sup>bc</sup> | 3.717±0.407 <sup>b</sup>  |
|      | 枝条 | 0.100±0.000 <sup>c</sup>  | —                         | —                         | 0.167±0.029 <sup>ab</sup> | 2.667±0.076 <sup>c</sup>  |
| 行业标准 | —  | ≤2.0                      | ≤0.2                      | ≤5.0                      | ≤0.3                      | ≤20                       |

“—”表示在当前浓度下未检出；不同字母表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )

“—” represents that be undetected, different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

### 3.3 抗氧化活性

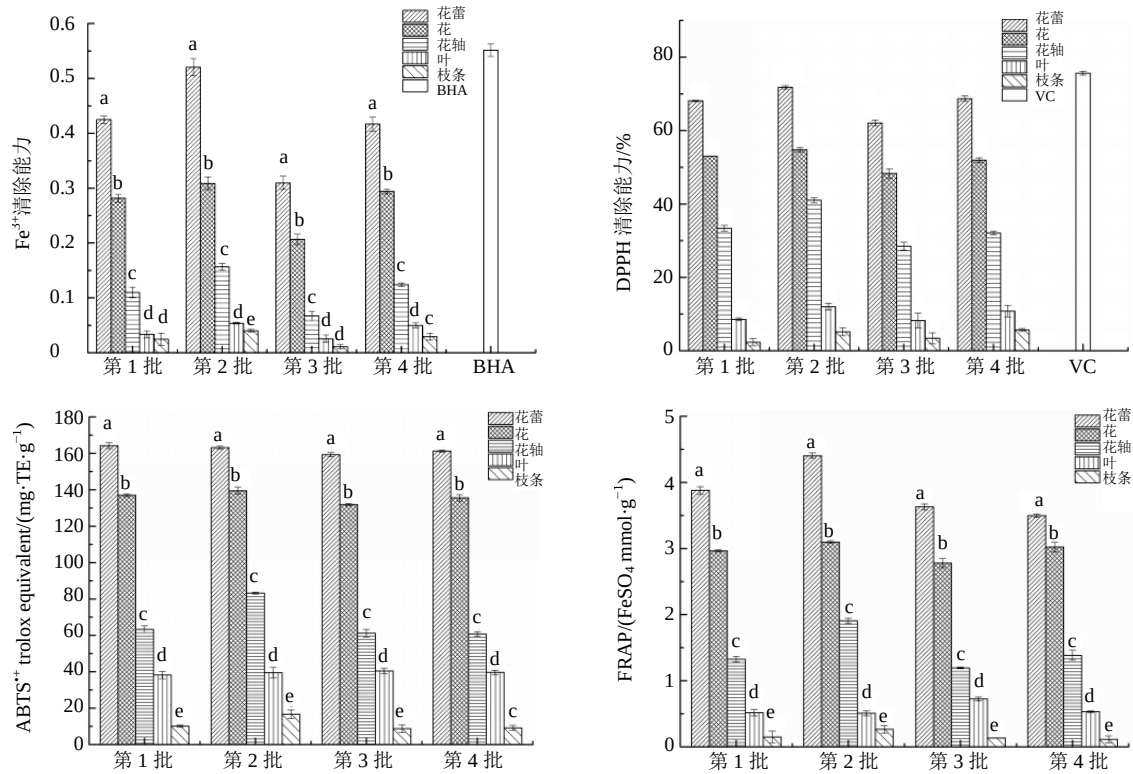
国槐花、花蕾、叶片、花轴、枝条样品的 Fe<sup>3+</sup>还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>•+</sup>清除能力和 FARP 结果见图 1。各批次花蕾样品甲醇提取液对 Fe<sup>3+</sup>还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>•+</sup>清除能力和 FARP 均表现最强，枝条样品甲醇提取液对 4 种抗氧化能力指标作用均最弱。国槐不同组织器官甲醇提取液抗氧化能力依次为花蕾>花>花轴>叶片>枝条，变化趋势与样品中黄酮类成分总量呈正相关。

### 3.4 化学计量学分析

**3.4.1 聚类分析** 运用 SPSS 20.0 软件，以平方欧氏距离作为度量标准，以芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素、Fe<sup>3+</sup>还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>•+</sup>清除能力和 FARP 共 8 个指标为变量，对 20 批样品进行系统聚类分析，可分为 2 大类（3

小类），结果见图 3。第 I 大类包括叶、枝条及花轴，均属于非药典收载部位；第 II 大类包括花和花蕾，属于药典法定药用部位。其中第 I 大类又可分为 2 小类，叶、枝条聚为第 1 小类，花轴聚为第 2 小类，表明同在第 I 大类中，花轴与叶和枝条相比，还存在一定差异。

**3.4.2 主成分分析** 以芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素、Fe<sup>3+</sup>还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>•+</sup>清除能力和 FARP 作为变量，特征值和累积贡献率作为判定依据，运用 SPSS 20.0 软件对国槐不同组织器官样品进行主成分分析（表 3）。根据降维结果，共挑选出 2 个主成分 PC1、PC2，特征值分别为 6.960、0.867。各成分方差贡献值分别为 87.001%、10.833%，累积贡献值可达 97.834%，具有较强的代表性，能够用来评价国槐不同组织



不同字母表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )

Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

图 2 国槐不同组织器官甲醇提取液的抗氧化活性

Fig. 2 Antioxidant activity of methanol extracts from different tissues and organs of *S. japonica* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

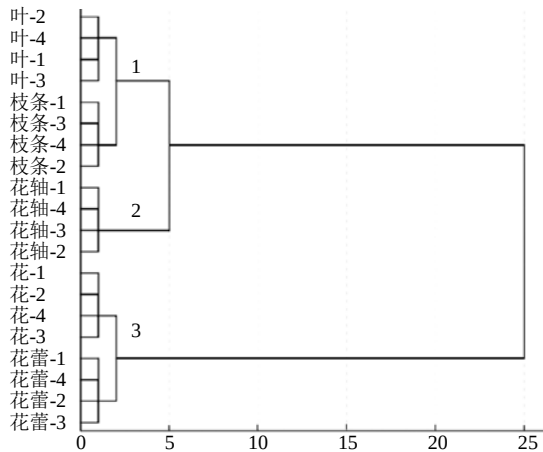


图 3 20 批样品聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram of 20 batches of samples

器官的质量。主成分载荷矩阵见表 3, 根据各因子载荷矩阵及特征值计算得分系数, 进一步得到 PC1、PC2 方程式分别为  $PC1 = 0.364 BX_1 + 0.371 BX_2 + 0.329 BX_3 + 0.276 BX_4 + 0.362 BX_5 + 0.367 BX_6 + 0.374 BX_7 + 0.373 BX_8$ ;  $PC2 = -0.279 BX_1 + 0.023$

表 3 各成分因子载荷矩阵

Table 3 Factor load matrices of various constituents

| 变量                      | 主成分   |        |
|-------------------------|-------|--------|
|                         | 1     | 2      |
| 芦丁                      | 0.961 | -0.260 |
| 水仙苷                     | 0.980 | 0.021  |
| 槲皮素                     | 0.867 | 0.465  |
| 异鼠李素                    | 0.729 | 0.672  |
| Fe <sup>3+</sup> 还原能力   | 0.956 | -0.232 |
| DPPH <sup>•</sup> 清除能力  | 0.967 | -0.223 |
| ABTS <sup>•+</sup> 清除能力 | 0.987 | -0.086 |
| FARP                    | 0.985 | -0.144 |

$BX_2 + 0.499 BX_3 + 0.722 BX_4 - 0.249 BX_5 - 0.239 BX_6 - 0.092 BX_7 - 0.155 BX_8$ 。其中  $BX_1$ 、 $BX_2$ 、 $BX_3$ 、 $BX_4$ 、 $BX_5$ 、 $BX_6$ 、 $BX_7$ 、 $BX_8$  分别为芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素、Fe<sup>3+</sup>还原能力、DPPH<sup>•</sup>清除能力、ABTS<sup>•+</sup>清除能力和 FARP 的标准化值。分别以 PC1、PC2 作为横、纵坐标作主成分散点图, 结果见图 4。由图 4 可知, 依据 PC1 的变化可将国槐不同组织器官



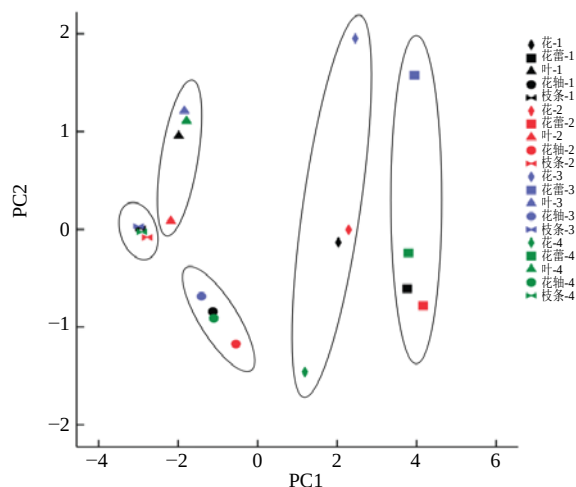


图 4 20 批样品主成分分析散点图

Fig. 4 Scatter diagram of principal component analysis of 20 batches of samples

区分开, PC2 则展现出各组织器官不同批次间的差异。国槐各组织器官在 PC1 轴上从右向左依次被展开, 同一组织部位的 PC1 值较为接近。枝条在 PC2 轴上表现的较为集中, 其他组织器官则表现较为分散, 尤其是花及花蕾的分散程度很大。

#### 4 讨论

近些年, 资源综合利用的思路被越来越多的应用于中药材生产过程中, 旨在将中药材生产过程中产生的“废弃物”根据资源性强弱加以分类, “量材而用”, 以实现中药资源的绿色、节能、可持续发展<sup>[18-19]</sup>。本研究比较了 4 批国槐花、花蕾、叶、花轴、枝条中芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素 4 种黄酮类成分含量及总含量、重金属含量的差异, 并以  $\text{Fe}^{3+}$  还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>·+</sup>清除能力、FARP 为指标对国槐各组织器官的抗氧化活性进行评比。

黄酮类成分主要集中在花器官, 作为同一器官的不同成熟期, 花蕾中黄酮类成分总量均显著高于花中<sup>[20-21]</sup>。研究结果表明, 药用部位中黄酮类成分含量高的植株, 其多数其他组织器官中黄酮类成分含量也高。除了花及花蕾外, 花轴中也含有较高的黄酮类成分并表现出较好的抗氧化活性。其中, 花轴中芦丁的含量约为花中含量的 1/2, 具有极高的开发应用价值。此外, 国槐叶中也含有一定量的黄酮类成分, 其黄酮类成分含量虽不及花轴中多, 但槐叶产量大, 加工方便, 亦可作为青储饲料加以开发利用。枝条中黄酮总量及种类均最低, 这可能是因木质化严重所致, 其利用

价值还有待进一步挖掘。

重金属检测结果表明, 传统药用部位花及花蕾中 5 种重金属元素均符合行业标准要求。由于叶和枝条每年都要脱落或修剪, 花轴、花蕾和花在采摘时每年都要整体折下, 以上各组织器官均为当年新生, 故其重金属含量并非多年累积而形成。其中, 国槐花和花蕾中 Cu 的含量显著高于其他部位的含量, 研究结果与刘思曼等<sup>[22]</sup>对凤仙花不同部位中 Cu 含量的研究结果类似, 表明相较于其他器官, 花器官对 Cu 具有更强的富集能力。此外, 在国槐花器官的不同发育时期, Cu 的含量也有显著差异, 花中的 Cu 含量显著高于花蕾, 马建军等<sup>[23]</sup>研究也发现赤霞珠葡萄在开花期 Cu 含量呈现先降后升的趋势, 可见 Cu 与花器官的生长发育有密切关系。花及花蕾属于国槐的生殖器官, 此部位代谢旺盛, Cu 是因生殖需要而主动吸收还是因代谢活跃而被动累积尚需进一步做深入研究。此外, 花及花蕾中 Cd 含量显著低于叶、花轴和枝条, 表明与其他组织器官相比, 花器官对 Cd 的富集能力相对较弱, 这与彭锐等<sup>[24]</sup>的研究结果一致。第 1 批样品的叶、花轴与第 2 批样品的叶、花轴、枝条中 Cd 含量超出行业标准, 表明这些器官有 Cd 暴露的风险, 在开发利用时应当引起注意, 合理规避。另外, 彭玉龙等<sup>[25]</sup>研究发现重庆主城区(含北碚区)降水中 Cd 的富集因子高, 污染较为严重, 增加了该区域内植物富集 Cd 的背景值, 这可能也是导致本次研究中部分样品 Cd 超标的原因之一。

国槐各组织器官对  $\text{Fe}^{3+}$  还原能力、DPPH·清除能力、ABTS<sup>·+</sup>清除能力和 FARP4 种抗氧化活性评价指标均表现出相同的差异变化趋势, 除有部分叶和枝条间对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力差异不显著外, 其余各组织器官间的抗氧化活性指标均有显著性差异, 表明国槐不同组织器官间的生物学活性差异巨大。尤其是槐花和槐米, 在药典中同被列在“槐花”项下使用, 但药理活性却存在强弱差异, 在入药使用时应注意剂量的调整。自由基清除能力与黄酮类成分总含量呈正相关, 说明黄酮类成分是国槐中起抗氧化作用的主要成分。这是由于黄酮类成分结构中存在多个酚羟基, 能够提供大量电子, 可将多种自由基转化为稳定结构进而中断其链式反应, 从而起到抗氧化的作用<sup>[26]</sup>。

在槐米及槐花的采收和初加工过程中产生大量的“废弃物”目前尚未得到有效利用, 本研究为

国槐资源的多样化利用提供了理论支撑,可为提高国槐资源利用率,开发其附属价值,创建中药材药用部位与非药用部位同步利用与发展的绿色模式提供研究基础。

#### 参考文献

- [1] 李时珍. 本草纲目(校订本): 下册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Xi J, Luo S W. Pressure-enhanced solid-liquid extraction of rutin from Chinese scholar-tree flower: Kinetic modeling of influential factors [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, 16: 809-816.
- [4] He X R, Bai Y J, Zhao Z F, et al. Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015: 354-356.
- [5] 熊维政, 金燕飞, 姜家书, 等. 国槐槐枝及槐叶中芦丁含量比较 [J]. 中国药业, 2011, 20(18): 22-23.
- [6] 李彩霞, 高海宁, 张喜峰, 等. 超声辅助双水相体系提取国槐叶黄酮 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(18): 1387-1391.
- [7] 王春桃, 唐于平, 周玲, 等. 槐枝皮中黄酮类成分研究 [J]. 江苏中医药, 2008, 40(7): 65-66.
- [8] 张艳焱, 王祥培, 廖海浪, 等. 鲜干槐枝中挥发油化学成分的比较 [J]. 贵州农业科学, 2014, 42(7): 186-189.
- [9] 刁义平, 束晓云, 唐于平. 槐叶化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 89-92.
- [10] Bahchevanska S, Koleva I. A study on the autohydrolysis of rutin to quercetin from *Sophora japonica* Blossoms [J]. *Biotechnol biotec Eq*, 2014, 10: 56-58.
- [11] 谭均, 李隆云, 王计瑞, 等. 不同产地槐米的质量综合评价研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(6): 2166-2174.
- [12] 崔广林, 李隆云, 谭均, 等. 不同产地川佛手中重金属含量测定及安全性评价 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(12): 2491-2498.
- [13] Mao L C, Pan X, Que F, et al. Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers [J]. *Eur Food Res Technol*, 2005, 222(3/4): 236-241.
- [14] Wu Z, Li H, Tu D, et al. Extraction optimization, preliminary characterization, and *in vitro* antioxidant activities of crude polysaccharides from finger citron [J]. *Ind Crop Prod*, 2013, 44: 145-151.
- [15] Zengin G, Llorent M E J, Córdova M L F d, et al. Chemical composition and biological activities of extracts from three *Salvia* species: *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var. *leiocalycina*, and *S. verticillata* subsp. *amasiaca* [J]. *Ind Crop Prod*, 2018, 111: 11-21.
- [16] Davut K, Senayt Ö, Onur S, et al. Antioxidant potential of Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes at two different maturity stages [J]. *Turk J Agric For*, 2016, 40: 542-551.
- [17] 药用植物及制剂进出口绿色行业标准 [S]. 2001.
- [18] 刘杰, 郭盛, 段金鳌, 等. 黄蜀葵花期不同组织器官中多种类型资源性化学成分的分析与利用价值挖掘 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3782-3791.
- [19] Wang J R, Li L Y, Tan J, et al. Variations in the components and antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott extract during flower maturity stages [J]. *Chem Biod*, 2019, 16: e1800504.
- [20] 舒文将, 刘金磊, 邹蓉, 等. 高效液相色谱法测定不同产地和采收期对槐米中芦丁含量的影响 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 709-711.
- [21] 刘杰, 刘培, 郭盛, 等. 掌叶大黄不同组织器官中主要资源性化学成分的分析评价 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 567-572.
- [22] 刘思曼, 王秀峰, 边清泉, 等. 凤仙花植株不同部位微量元素含量的比较分析 [J]. 化学研究与应用, 2010, 22(1): 111-114.
- [23] 马建军, 王同坤, 齐永顺, 等. 赤霞珠葡萄生长期矿质营养元素的含量变化 [J]. 河北科技师范学院学报, 2007, 21(1): 8-12.
- [24] 彭锐, 谭均, 孙年喜, 等. 重庆市中药材重金属富集特性研究 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1290-1294.
- [25] 彭玉龙, 王永敏, 覃蔡清, 等. 重庆主城区降水中重金属的分布特征及其沉降量 [J]. 环境科学, 2014, 35(7): 2490-2496.
- [26] Zha X Q, Wang J H, Yang X F, et al. Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 78: 570-575.