

解 鹏,李小平,吴晨奇,等. 湖北贝母中主要生物碱的 HPLC-ELSD 定量分析及安全性评价[J]. 江苏农业科学,2024,52(21):209-214.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.21.027

湖北贝母中主要生物碱的 HPLC-ELSD 定量分析及安全性评价

解 鹏¹,李小平¹,吴晨奇¹,蒋 静¹,杨亚楠¹,席婧超²

(1. 苏州农业职业技术学院,江苏苏州 215008; 2. 南京诺唯赞生物科技股份有限公司,江苏南京 210034)

摘要:采用高效液相色谱仪-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD),对不同产地的湖北贝母中的贝母素甲、贝母素乙、贝母辛 3 种主要生物碱进行含量测定与比较。同时,利用小鼠原代脾淋巴细胞,通过 MTT 比色法进一步评估了这些生物碱的安全性,以期对湖北贝母的临床用药安全提供科学依据。研究结果显示,在不同产地的湖北贝母中,贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的含量存在显著差异。具体来说,HB-1 至 HB-5 这 5 个产地的湖北贝母中,贝母素甲的含量范围为 31.5 ~ 117.4 $\mu\text{g/g}$,贝母素乙的含量则介于 359.3 ~ 1 412.4 $\mu\text{g/g}$ 之间,而贝母辛的含量从 224.3 ~ 967.5 $\mu\text{g/g}$ 不等。其中,HB-2 产地的湖北贝母在 3 种生物碱的含量上均表现出最高水平。进一步的安全性评估显示,贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的半数致死量(CC_{50})分别为 153.24、85.05、62.64 $\mu\text{g/mL}$,值得注意的是,贝母辛显示出最高的细胞毒性,其 CC_{50} 值为 62.64 $\mu\text{g/mL}$ 。总之,HPLC-ELSD 法测定生物碱和 MTT 比色法评估安全性表明,不同产地的湖北贝母在生物碱含量上存在显著差异,且部分生物碱具有较高的细胞毒性,这有助于在实践中更加安全合理地使用湖北贝母。

关键词:湖北贝母;生物碱;HPLC-ELSD;安全性评价

中图分类号:R284.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)21-0209-05

湖北贝母,源自百合科贝母属的特定种类,其干燥鳞茎在中医药领域具有重要地位。该植物长期在湖北地区广泛种植与应用,其学名 *Fritillaria hupehensis* (Hsiao et K. C. Hsia) 由肖培根与夏先成于 1977 年鉴定并命名^[1]。作为一种历史悠久的中药材,湖北贝母在中医药理论中展现出卓越的清热化痰、止咳散结功效,尤其在治疗热痰咳嗽、癰疽痰核等病症方面效果显著^[2-4]。随着现代医药科技的不断进步,研究发现其疗效的核心在于富含的生物碱成分,特别是贝母素甲、贝母素乙以及贝母辛等主要异甾体生物碱,这些成分在川贝母与浙贝母等传统药材中的研究已相当深入^[5-6]。鉴于川贝母与浙贝母的野生资源日益稀缺且价格昂贵,探索并开发

利用富含相似生物碱成分的湖北贝母资源,显得尤为必要且紧迫^[7-8]。

湖北贝母之所以备受关注,关键在于其含有丰富的贝母素甲、贝母素乙及贝母辛等生物碱^[9]。自 2000 年起,湖北贝母被正式纳入《中国药典》,这一举措不仅是对其实用价值的肯定,也标志着其在中药材市场中的地位得到了显著提升。为进一步探明不同产地湖北贝母中异甾体生物碱的具体含量差异,并将其与川贝母等传统药材进行对比分析,本研究精心选取了湖北恩施州 5 个乡的湖北贝母作为研究样本,通过高效液相色谱仪-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)对其主要的生物碱成分进行了精确测定。由于异甾体生物碱缺乏紫外吸收的特性,该检测方法展现出了极高的准确性与灵敏度。此外,本研究还深入评估了这些生物碱的细胞毒性,旨在为湖北贝母的临床应用与药物开发提供更加坚实、科学的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试剂、仪器、供试材料和试验动物

1.1.1 试剂 本研究采用批号为 110750-202010 的贝母素甲、批号为 110751-202008 的贝母素乙、

收稿日期:2024-05-13

基金项目:2023 年江苏高校“青蓝工程”团队资助项目(编号:苏教师函[2023]27 号);教育部第二期供需对接就业育人项目(编号:20230110721);苏州农业职业技术学院 2020 年科技培育项目(编号:PY2004)。

作者简介:解 鹏(1977—),男,江苏海安人,硕士,研究员,主要从事药物化学与生物技术研究。E-mail:xiiep@szai.edu.cn。

通信作者:李小平,博士,教授,主要从事天然产物开发与利用研究。E-mail:lixiaoping1995@163.com。

批号为 110892-202009 的贝母辛作为对照品,对照品皆采购自中国食品药品检定研究院,其纯度均达到或超过 98%。试验中所使用的乙腈(色谱纯)购自美国 Fisher 公司,二甲基亚砜(DMSO)、四甲基偶氮噻唑盐(MTT)购自美国 Sigma 公司,牛胎血清(FBS)则由美国 Gibco-BRL 公司提供。此外,其他所有试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 本研究使用了美国 Waters 公司的高效液相色谱仪(e2695)、ELSD 检测器 2420 以及 Empower 2 色谱工作站,瑞士 Mettler 公司的电子天平以及酸度计(NewClassic MF),德国 IKA 公司的旋转蒸发仪(RV 10D S25),美国 Millipore 公司的超纯水仪(Milli-Q)以及瑞士 Tecan 公司的酶标仪(Infinite F50)。

1.1.3 供试材料 本研究收集了来自湖北恩施 5 个乡镇种植的湖北贝母样品,并经上海中医药大学中药专家李西林教授进行了鉴定,所有收集到的标本均存放于上海中医药大学,以供后续研究使用。

表 1 样品基本情况

样品编号	来源	采集时间
HB-1	湖北恩施建始县花坪乡大招村	2020 年 5 月
HB-2	湖北恩施利川市团堡镇牛栏坪村	2020 年 5 月
HB-3	湖北恩施建始县花坪乡花坪村	2020 年 5 月
HB-4	湖北恩施新塘乡下坝村	2020 年 5 月
HB-5	湖北恩施宏图乡石灰窑村	2020 年 5 月

1.1.4 试验动物 选用周龄 8~10 周、体重 18~20 g 的雄性清洁级 BALB/c 小鼠,小鼠均购自上海实验动物研究中心。

1.2 试验方法

1.2.1 制备对照品储备液 精确称量了贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的对照品,并逐一加入甲醇,使制备出的混合对照品储备液含有贝母素甲 0.04 mg/mL、贝母素乙 0.5 mg/mL、贝母辛 0.6 mg/mL。并将制备好的储备液置于 4℃ 环境中冷藏,以备后续试验使用。

1.2.2 制备供试品溶液 精确称取了经过四号筛筛选的粉末样品,质量约为 2.0 g,并将其小心地放入烧瓶中。接着,向烧瓶内加入了 4 mL 的浓氨水试液,让样品充分浸润 1 h。之后,准确地加入了 40 mL 由三氯甲烷和甲醇按 4:1 比例混合的溶液,充分混匀后,在 80℃ 的水浴中,将整个烧瓶进行加热回流,持续时间为 2 h。加热回流结束后,待溶液冷却至室温,再次对烧瓶进行称重。为了弥补因加

热而蒸发损失的部分,用相同比例的三氯甲烷/甲醇混合液进行了补足。随后,对溶液进行过滤处理。后准确量取了 10 mL 的滤液,并将其倒入蒸发皿中进行蒸干。蒸干后得到的残渣用甲醇进行溶解,并转移至 2 mL 的量瓶中。然后,采用甲醇将量瓶中的溶液定容至刻度线,并充分摇匀。为了进一步净化溶液,以 15 000 r/min 的转速对溶液进行了离心处理,持续时间为 10 min。离心结束后,取上清液作为最终的样品溶液。为了确保试验的准确性和可靠性,对上述每个样品各制备 3 份平行的供试品溶液。

1.2.3 色谱条件 本研究选用了安捷伦公司生产的 Zorbax SB-C₁₈ 液相色谱柱,其具体规格为 250 mm×4.6 mm,粒径大小为 5 μm。将乙腈和 0.1% 的甲酸水溶液混合作为流动相。梯度洗脱程序具体设置为:初始阶段,0~10 min 内乙腈的浓度维持在 25%;随后,在 10~20 min 的时间段内,乙腈的浓度从 25% 线性增长至 40%;紧接着,在 20~25 min,乙腈的浓度继续提升至 95%;最后,在 25~50 min 的时间段内,乙腈的浓度保持在 95%。在试验过程中,液相色谱柱的温度被设定为 30℃,流动相的流速控制为 1.0 mL/min,并且每次进样的量为 10 μL。此外,漂移管的温度设置为 40℃,而载气的流速则设定为 2.0 L/min。

1.2.4 制备小鼠脾淋巴细胞悬液 在严格遵守无菌操作的基础上,对小鼠使用颈椎脱臼法予以处死,并迅速分离出其脾脏。接下来,将脾脏放置于冰冷的 PBS 溶液中进行冲洗,以彻底清除多余的血迹和杂质,同时仔细分离并去除其中的结缔组织。然后,使用 200 目的不锈钢筛网对脾脏进行轻柔的研磨和过滤,以确保脾脏中的细胞能够充分释放。收集到的细胞需要经过 2 次 PBS 洗涤步骤,具体条件为 4℃、250 g 离心 5 min,以有效去除细胞悬液中的杂质和残留物。随后,采用特定的 RPMI-1640 培养基来重悬这些细胞,该培养基的成分为 L-谷氨酰胺(25 mmol/L)、链霉素(80 IU/mL)、青霉素(100 IU/mL)、β-二巯基乙醇(体积分数 0.1%)以及胎牛血清(10%)。调整细胞密度至 2×10⁶ 个/mL,以确保形成均匀的细胞悬液。最后,在 96 孔板中每孔接入 200 μL 的细胞悬液,并将培养板放置在含有 5% CO₂、温度设置为 37℃ 的培养箱中进行培养^[10]。

1.2.5 通过 MTT 比色法检测 3 种主要生物碱对小鼠脾淋巴细胞的毒性 按照“1.2.4”节中所述的方法,将细胞悬液接种到 96 孔板中,其密度为 2×

10^6 个/mL, 每孔加入 200 μ L。接着, 向各孔中分别添加了不同浓度的贝母素甲、贝母素乙、贝母辛, 这些药物的浓度梯度设置为 0.000、3.125、6.250、12.500、25.000、50.000、100.000 μ g/mL。为确保试验结果的准确性, 每种药物浓度都设置了 3 个复孔。然后, 将孔板放置在 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO_2 的培养箱中进行 48 h 的培养。

培养时间结束后, 向每个孔中加入 MTT 溶液 (浓度 5 mg/L) 20 μ L, 并将孔板再次放回培养箱中, 在避光条件下孵育 4 h。此后, 通过 300 g 离心 5 min 的方式去除了上清液, 并向每孔中加入 DMSO 100 μ L, 然后振荡 10 min, 以确保形成的甲瓩晶体能够充分溶解。

最后, 在 570 nm 的波长下, 使用酶标仪检测了各孔的吸光度 (D), 并基于这些数据, 对细胞的相对存活率进行计算。为了评估这些药物对细胞的毒性效应, 采用了半死量测定法, 计算了贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的 CC_{50} 值, 即这些药物导致 50% 细胞死亡时的浓度。

1.3 方法学分析

1.3.1 线性关系分析 使用甲醇对适量吸取的对照品储备液进行稀释, 制备出浓度梯度各异的对照品溶液。随后, 准确吸取一定量的这些对照品溶液, 并依照“1.2.3”节中所描述的色谱条件进行检测。通过对所得数据的分析, 探究贝母素甲、贝母素乙、贝母辛三者之间的线性关系。

1.3.2 精密度分析 连续 6 次对同一个对照品溶液进行准确吸取, 并严格按照“1.2.3”节中所述的色谱条件进行检测。在每次进样后, 详细记录贝母素甲、贝母素乙和贝母辛的峰面积数据。根据这些峰面积数据, 依次计算出贝母素甲、贝母素乙和贝母辛的相对标准偏差 (RSD) 值。

1.3.3 重复性分析 精确称取 6 份来自同一批次的湖北贝母药材粉末, 遵循“1.2.2”节中所述方法, 制备相应的 6 份供试品溶液。随后, 根据“1.2.3”节中的色谱条件对这 6 份溶液进行检测, 并确保连续 6 次进样的一致性。在检测过程中, 详细记录贝母素甲、贝母素乙和贝母辛的峰面积数据。对贝母素甲、贝母素乙和贝母辛的平均含量进行计算, 并进一步求得它们的相对标准偏差 (RSD) 值。

1.3.4 稳定性分析 准确吸取同一种供试品溶液, 并在 0、1、2、4、8、12、24 h 等不同时间点, 按照“1.2.3”节的色谱条件进行检测。在每次检测中, 分

别详细记录贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的峰面积。基于这些数据, 计算出它们的相对标准偏差 (RSD) 值。

1.3.5 加样回收率分析 对已知准确含量的湖北贝母平行称取 6 份样品, 每份质量 1.0 g, 置于圆底烧瓶中。随后, 按照预设比例, 向每份样品中精确加入对照品贝母素甲 0.1 mg、贝母素乙 1.0 mg 以及贝母辛 0.8 mg。按照“1.2.2”节中所述方法, 将这些加标后的样品制备成供试品溶液。完成制备后, 严格按照“1.2.3”节中的色谱条件对这些供试品溶液进行检测。通过对检测结果的分析, 计算出每份样品的加样回收率, 并进一步求得相对标准偏差 (RSD) 值。

1.3.6 测定样品中的贝母素甲、贝母素乙、贝母辛含量 精确称量来自各地的湖北贝母样品, 并按照“1.2.2”节中所述的方法, 逐一制备成供试品溶液。随后, 严格遵循“1.2.3”节中的色谱条件, 对这些溶液进行检测, 并准确记录检测结果。

1.4 试验时间和地点

本试验于 2022 年 6 月至 2023 年 10 月在苏州农业职业技术学院“江苏省高等职业教育产教深度融合实训平台 (农产品质量安全监测)”完成。

2 结果与分析

2.1 对照品和样品色谱图

通过图谱观察, 对照品溶液与供试品溶液的基线均展现出良好的稳定性, 各色谱峰之间的分离度清晰, 未受到其他成分的干扰 (图 1、图 2)。

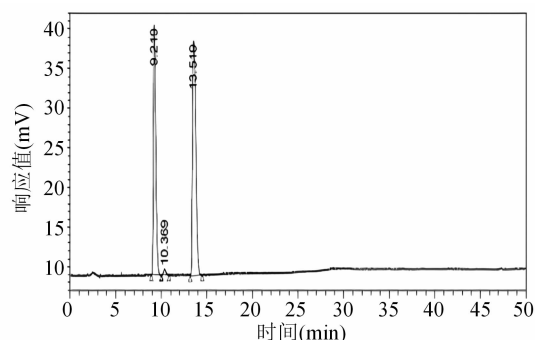


图1 对照品贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的 HPLC-ELSD 色谱图

2.2 方法学分析结果

2.2.1 线性关系 本研究对贝母素甲、贝母素乙及贝母辛的峰面积进行了检测, 并线性回归分析了溶液质量浓度 (x) 与峰面积积分值 (y) 的关系。经过精确计算, 得到了以下贝母素甲、贝母素乙及贝母辛的线性回归方程:

$$y_1 = 1.7517x_2 + 12.413 (r_2 = 0.9995);$$

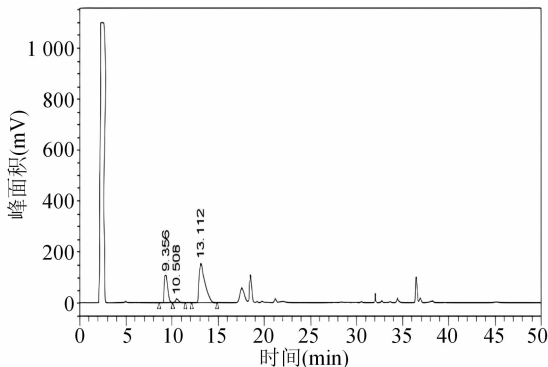


图2 湖北贝母样品的 HPLC-ELSD 色谱图

$y_2 = 1.744\ 3x_3 + 11.227(r_3 = 0.999\ 7);$

$y_3 = 1.732\ 0x_1 + 11.884(r_1 = 0.999\ 0);$

在 7.5 ~ 40.0、31.2 ~ 500.0、37.5 ~ 600.0 μg/mL 范围内,贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的质量浓度与峰面积呈现良好的线性关系。

2.2.2 精密度分析 贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的峰面积 RSD 值分别为 2.11%、1.38%、1.63%,均处于较低水平,充分证明了试验所用仪器的精密度优异。

2.2.3 重复性分析 贝母素甲、贝母素乙、贝母辛含量的平均值分别为 113.6、1 416.5、971.5 μg/g,相应的 RSD 值分别为 1.55%、2.09%、1.87%,均处于较低水平,充分证明了该方法具有较好的重现性。

2.2.4 稳定性分析 贝母素甲、贝母素乙及贝母辛的峰面积 RSD 值分别为 1.32%、1.98% 及 2.11%,均处于较低水平,充分表明了供试品溶液在 24 h 内具有较好的稳定性。

2.2.5 加样回收率分析 由表 2 中数据可知,贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的平均回收率分别为 101.40%、101.13%、100.58%,且相应的 RSD 值分别为 1.75%、1.47%、1.34%。结果表明,本研究采用的方法具有较高的准确性和可靠性,可用于精确测定贝母素甲、贝母素乙及贝母辛的含量。

2.3 样品中贝母素甲、贝母素乙、贝母辛含量的检测结果

经过对上述 5 个湖北贝母产地的样品进行的含量检测,由表 3 可知,样品在贝母素甲、贝母素乙和贝母辛的含量上表现出明显差异。尤其是湖北恩施利川市团堡镇牛栏坪村(HB-2)的湖北贝母,其 3 种生物碱的含量均达到最高水平。此结果为今后优化湖北贝母的种植区域和提高其品质提供了关键依据。

2.4 贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的细胞毒性评价 分别使用 0.000、3.125、6.250、12.500、25.000、

表 2 加样回收率试验结果(n=6)

样品名称	加入量 (mg)	样品含量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
贝母素甲	0.10	0.119 2	0.222 0	101.30	1.75
		0.120 5	0.229 6	104.13	
		0.118 5	0.219 3	100.30	
		0.118 4	0.223 8	102.50	
		0.126 5	0.224 3	99.00	
		0.125 1	0.227 8	101.20	
		平均		101.40	
贝母素乙	1.00	1.482 2	2.524 9	101.70	1.47
		1.396 5	2.477 6	103.40	
		1.376 1	2.382 9	100.30	
		1.470 2	2.464 4	99.80	
		1.355 8	2.347 3	99.60	
		1.426 3	2.475 8	102.00	
		平均		101.13	
贝母辛	0.80	0.976 7	1.7702	99.60	1.34
		0.976 3	1.812 3	102.00	
		0.970 4	1.782 4	100.60	
		0.965 1	1.761 1	99.80	
		0.971 9	1.815 2	102.40	
		0.980 1	1.764 6	99.10	
		平均		100.58	

表 3 湖北贝母中贝母素甲、贝母素乙、贝母辛的含量

样品产地 编号	含量(μg/g)		
	贝母素甲	贝母素乙	贝母辛
HB-1	46.3	679.2	224.3
HB-2	117.4	1 412.4	967.5
HB-3	58.1	557.6	253.3
HB-4	64.6	597.9	492.7
HB-5	31.5	359.3	389.1

50.000、100.000 μg/mL 的贝母素甲、贝母素乙、贝母辛来对小鼠脾淋巴细胞进行处理,细胞相对存活率和 CC₅₀见表 4。

从表 4 中可以观察到贝母素甲、贝母素乙及贝母辛这 3 种化合物的半数致死量(CC₅₀)依次为 153.24、85.05、62.64 μg/mL。在三者之中,贝母辛展现出了最强的细胞毒性,其 CC₅₀值为 62.64 μg/mL。为了进一步评估贝母辛在小鼠体内的急性毒性,采用了体外试验公式进行计算:lg(LD₅₀) = 0.435 × lg(IC₅₀) + 0.625。在此公式中,IC₅₀等同于 CC₅₀,即 62.64 μg/mL。通过计算,得出小鼠的 LD₅₀为 0.782 g/kg。

表 4 贝母辛、贝母素甲、贝母素乙对小鼠脾脏淋巴细胞毒性

样品	含量 ($\mu\text{g/mL}$)	<i>D</i>				存活率 (%)	CC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		重复 1	重复 2	重复 3	平均		
贝母素甲	100	0.129 8	0.127 1	0.132 0	0.129 6	66.99	153.24
	50	0.166 9	0.155 6	0.172 8	0.165 1	85.32	
	25	0.175 3	0.185 8	0.190 2	0.183 8	94.97	
	12.500	0.200 5	0.206 8	0.196 8	0.201 4	104.07	
	6.250	0.186 2	0.195 0	0.184 4	0.188 5	97.43	
	3.125	0.208 9	0.230 7	0.202 3	0.214 0	110.58	
	0	0.192 7	0.198 6	0.189 1	0.193 5		
贝母素乙	100	0.097 5	0.091 7	0.082 7	0.090 6	46.84	85.05
	50	0.158 9	0.146 5	0.139 4	0.148 3	76.62	
	25	0.198 0	0.196 2	0.185 0	0.193 1	99.78	
	12.500	0.229 9	0.206 4	0.203 6	0.213 3	110.23	
	6.250	0.227 1	0.202 3	0.202 8	0.210 7	108.91	
	3.125	0.221 2	0.203 0	0.205 2	0.209 8	108.42	
	0	0.192 7	0.198 6	0.189 1	0.193 5		
贝母辛	100	0.039 4	0.032 1	0.046 5	0.039 3	20.33	62.64
	50	0.138 1	0.133 4	0.130 3	0.133 9	69.22	
	25	0.188 3	0.170 0	0.173 2	0.177 2	91.56	
	12.500	0.206 9	0.184 5	0.199 7	0.197 0	101.83	
	6.250	0.220 1	0.190 8	0.201 5	0.204 1	105.50	
	3.125	0.225 1	0.209 1	0.220 2	0.218 1	112.75	
	0	0.192 7	0.198 6	0.189 1	0.193 5		

在药物的安全性评估过程中,治疗指数(TI)是一个至关重要的指标。通常情况下,默认每日的服药量为 ED_{50} ,而 TI 的计算则是通过 LD_{50} 除以 ED_{50} 来得出的。根据以往的经验值,可以估算出人的剂量为 LD_{50} 除以 9 再乘以 70,即 6.082 g。同时,根据《中国药典》2020 版(一部)的相关规定,湖北贝母的用用量应在 3~9 g 的范围内。结合贝母辛在湖北贝母中的含量范围(0.022 4%~0.096 8%),可以计算出其治疗指数 TI 在 699~9 050 之间。

一般来说,治疗指数 >10 即被视为用药安全的标志。因此,在忽略贝母辛可能存在的胚胎致畸毒性的情况下,可以认为湖北贝母在临床用药上是相对安全的。这一结论为湖北贝母在临床上的应用提供了重要的安全性依据。

3 讨论

本研究采用高效液相色谱仪-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD),精确测定了 5 个不同产地湖北贝母中的贝母素甲、贝母素乙、贝母辛 3 种生物碱的含量,并进行了对比分析。该方法展现出在生物碱检测方面的高灵敏度、良好重现性以及快速准确

的特点,有力支持了湖北贝母的质量控制。

在开发该方法时,本研究深知流动相的组成十分关键。它不仅能调整保留时间,还能优化峰形,从而提升分析的准确性与可靠性。虽然之前的研究指出,二乙胺、三氟乙酸等酸碱调节剂能调节出峰时间并改善峰形,但实测显示,这些调节剂会延长平衡时间^[8-9,11]。因此,在比较了不同酸碱调节剂后,选择了添加 0.1% 甲酸的流动相,因其平衡时间短且分离效果好,确保了分析的高效和准确。

通过对比 5 个产地湖北贝母中的生物碱含量,发现产地间差异显著。尽管本研究的结果与文献报道^[12]相符,但考虑到炮制和采集时间的影响,如何在种植中控制和稳定质量仍待解决。未来可深入探索影响质量的关键因素,并提出质量控制措施,确保药材的安全性和有效性。

参考文献:

- [1]肖培根. 湖北贝母的研究进展[J]. 中国中药杂志,2002,27(10):726-728.
- [2]国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:363.
- [3]程 斌,童静玲,周爱珍,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 谱-效

张雯婷,林 夏,周颖怡,等. 海南茶园土壤及茶树叶片养分分析与评价[J]. 江苏农业科学,2024,52(21):214-220.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.21.028

海南茶园土壤及茶树叶片养分分析与评价

张雯婷^{1,3,4,5}, 林 夏^{1,3}, 周颖怡^{1,3,4,5}, 符传良⁶, 汤 适^{4,5}, 李栋梁^{1,3,4,5}, 王新超^{2,3}

(1. 海南省农业科学院热带园艺研究所/热带特种经济植物种质资源创新利用重点实验室, 海南海口 571100;

2. 中国农业科学院茶叶研究所/国家茶树改良中心/农业农村部特种经济动植物生物学与遗传育种重点实验室, 浙江杭州 310008;

3. 三亚中国农业科学院国家南繁研究院, 海南三亚 571158; 4. 海南天然茶叶有限公司/白沙茶树省级林木种质资源库, 海南白沙 572812;

5. 海南天然茶叶研究院有限公司, 海南白沙 572812; 6. 海南省农业科学院农业环境与土壤研究所/海南省耕地保育重点实验室, 海南海口 571100)

摘要:为明确海南省主产区茶园土壤及茶树叶片养分丰缺状况,为海南茶园土肥管理及茶叶提质增效提供科学依据,收集了海南省白沙、五指山、琼中、定安及保亭等 5 个主要产茶区土壤样品和茶树叶片样品各 121 份,检测 pH 值、有机质、N、P、K、Zn、Se 等 7 个土壤营养指标和茶树叶片 N、P、K、Zn、Se 等 5 个营养指标,分析了土壤样品和茶叶样品的养分含量及养分间的相关性。结果显示:海南省茶园土壤呈弱酸性,pH 值平均为 5.16,有机质含量整体较高,土壤中碱解氮和有效磷含量整体处于中上等水平,有效钾含量偏低。茶园土壤肥力质量总体水平良好,大量元素上建议增施钾肥;锌、硒含量总体水平适中,部分地区土壤锌、硒含量丰富,少部分地区茶树叶片可达富锌、富硒茶标准,有开发锌硒茶的潜力;海南省茶树叶片氮、钾含量适当,但缺磷现象较多;土壤指标与茶叶中的 N、P、K 无显著相关性;土壤锌、硒含量与茶叶锌、硒含量之间均具有正相关关系。

关键词:海南茶园;土壤肥力;有效养分;相关性

中图分类号:S571.106 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)21-0214-07

茶树在我国栽培历史悠久,我国茶叶种植规模、采摘面积和茶叶产量稳居世界第一。截至 2022

年年底,全国茶园面积达 333.03 万 hm^2 ,开采茶园面积 302.66 万 hm^2 ,干毛茶总产量 318.10 万 t,总产值达 3 180.68 亿元^[1-2]。茶产业是促农增收的重要产业、乡村振兴的重要抓手,部分地区实现了“一片叶子富了一方百姓”。

土壤肥力状况是茶树营养研究的基础,其重要组成指标包括有机质、碱解氮、有效磷、有效钾等土壤养分^[3],土壤养分的丰缺状况直接影响茶树生长发育^[4],从而影响茶树叶片内含物成分和茶叶品质^[5-6]。因此,优良的茶园土壤肥力是提高茶叶产量和品质的基础,是茶叶种植可持续发展的重要前

收稿日期:2023-12-01

基金项目:海南省自然科学基金青年基金(编号:321QN362);三亚中国农业科学院国家南繁研究院 2022 年“南繁专项”(编号:YYLH03);海南省农业科学院院本级科研项目(编号:HAAS2022KJCX03、HAAS2023TDYD18)。

作者简介:张雯婷(1996—),女,广东廉江人,硕士,研究实习员,主要从事茶树种质资源与营养健康研究。E-mail:zhangwenting@hnaas.org.cn。

通信作者:王新超,博士,研究员,主要从事茶树遗传育种研究, E-mail:xcw75@tricaas.com;李栋梁,硕士,助理研究员,主要从事茶树育种和种质资源利用研究, E-mail:lidongliang@hnaas.org.cn。

分析的浙贝母化痰质量标志物的初步筛选及含量差异研究[J]. 中国药学杂志,2021,56(6):462-471.

[4]赵 益,朱卫丰,刘红宁,等. 贝母辛平喘作用及机制研究[J]. 中草药,2009,40(4):597-601.

[5]刘玉红,孙彩霞,宗侃侃,等. 浙贝母中贝母素甲和贝母素乙含量的调研[J]. 浙江农业科学,2020,61(9):1768-1771,1775.

[6]王 聪,王 曙,马 静. 川贝母的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 华西药理学杂志,2010,25(1):61-63.

[7]赵耀东,杜伟锋,王胜波,等. 基于近红外光谱的浙贝母中贝母素甲和贝母素乙含量快速检测方法的建立[J]. 中华中医药学刊,2013,31(4):756-758.

[8]杜伟锋,贾永强,张焱新,等. HPLC-ELSD 法同时测定浙贝母饮

片硫熏前后 3 种有效成分的含量[J]. 药物分析杂志,2015,35(4):675-678.

[9]牛焕云,金施施,贾宇平,等. 湖北贝母与紫花鄂北贝母中 4 种生物碱的含量比较分析[J]. 中药材,2015,38(10):2105-2108.

[10]李小平,司文会. 安徽贝母中 3 种主要生物碱的含量测定及细胞毒性研究[J]. 江苏农业科学,2022,50(24):156-160.

[11]朱 明. 不同产地贝母中生物碱成分的比较研究[D]. 上海:上海中医药大学,2011.

[12]徐 玲,周 伟,徐亚,等. 湖北贝母中 3 种生物碱含量的高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定[J]. 时珍国医国药,2014,25(11):2652-2654.