

姚李祥,潘春柳,王春丽,等.不同种质来源白芨的品质差异[J].江苏农业科学,2021,49(17):150-154.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.17.027

不同种质来源白芨的品质差异

姚李祥¹,潘春柳¹,王春丽¹,李莹¹,黄宝优¹,黄雪彦¹,唐程姣²,余丽莹¹

(1.广西药用植物园,广西南宁 530023; 2.广西中医药大学,广西南宁 530200)

摘要:通过比较不同种质来源白芨多个成分指标的差异,寻找影响白芨品质的重要指标及其相关性,为白芨的种源选择提供参考。收集 17 份白芨种质,采用紫外分光光度计测定不同种质白芨的多糖、蛋白质、可溶性糖、淀粉、蔗糖、果糖及还原糖含量;利用 SPSS 软件对各成分含量进行比较分析,找出不同指标成分间的相关性,以此来比较不同白芨种质的品质差异及积累规律。结果表明,不同种质来源的白芨各成分含量存在显著性差异,通过相关性分析发现,蔗糖含量与果糖含量呈显著正相关性($r=0.985$);可溶性糖含量与淀粉含量具有相对较强的相关性($r=0.568$);多糖含量与淀粉含量之间呈较弱的正相关性($r=0.481$),而蛋白质含量与可溶性糖含量之间呈较弱的负相关性($r=-0.495$)。由此可见,不同种质来源的白芨块茎中各成分含量存在明显差异,其中果糖与蔗糖积累量具有很高的协同性,可溶性糖含量与淀粉积累量也具有一定的协同性。尽管多糖含量与淀粉含量之间的正相关性较弱,但是由于其具有一定的统计学意义,因此可以考虑将淀粉含量作为白芨质量评价的候选指标。研究结果可为白芨优良种质的筛选和培育提供参考。

关键词:白芨;多糖;含量测定;相关性分析

中图分类号: S567.23+9.024

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2021)17-0150-05

白芨[*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.]为兰科白芨属多年生草本植物,以其干燥块茎入药,具有收敛止血、消肿生肌的功效,可用于治疗咯血、吐血、外伤出血、疮疡肿毒和皮肤皲裂^[1],是一种常用的中药材。白芨的主要化学成分为联苕类、联菲类及其衍生物、糖苷类、萜类、多糖等^[2-3],其中多糖是白芨的主要活性成分,具有抗菌^[4]、抗肿瘤^[5]、促进凝血^[6]、抗氧化^[7]等作用,应用前景广阔。现代药理学研究表明,白芨多糖对小鼠的免疫功能具有调节作用^[8],对小鼠急性乙醇性肝损伤具有保护作用^[9]。白芨在我国湖北、浙江、四川、贵州、广西、安徽等地均有栽培,然而产量低、病害严重、品种退化等问题制约着白芨产业的发展。白芨生长周期较长,筛选和培育高多糖含量的白芨种质是白芨高产栽培的关键。张新秦等对贵州地区产的白芨药

材进行多糖、浸出物和总酚含量测定发现,不同产地白芨间的品质差异较大^[10]。苏泽春等基于抗病性及田间综合表现,采用灰色关联度和 Topsis 评价法对白芨进行综合评价,认为 Topsis 法评价结果中 Ci 值的差异适用于白芨种质优劣评价^[11]。林立等研究发现,白芨野生品及栽培品块茎中多种成分含量具有显著差异,并认为产地是影响白芨有效成分含量的最重要因素^[12]。历版《中华人民共和国药典》中收载白芨药材基源植物都为兰科白芨,其有效成分含量是影响其药材质量及用药安全、有效性的重要因素。目前,对白芨的研究多集中在资源分布、药理作用、成分提取及含量测定方法等方面^[13-15],尽管目前已开展白芨不同种质多糖含量差异的研究,但仍缺乏对白芨内在多个成分指标的测定及评价。本研究采用紫外分光光度计法对不同种质来源的白芨进行多糖、蛋白质、可溶性糖、淀粉含量等指标的测定,比较分析不同种质来源白芨各成分含量之间的差异及其相关性,研究结果可为筛选优良白芨种质、培育优质种子种苗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

17 份白芨种质来源于广西、云南、贵州、浙江等

收稿日期:2020-11-26

基金项目:广西科技基地和人才专项(编号:桂科 AD17129020);中央本级重大增减支项目(编号:2060302-1605-03);中央本级重大增减支项目(编号:2060302)。

作者简介:姚李祥(1993—),男,广西玉林人,硕士,研究方向为药用植物种质资源收集保存研究。E-mail:1528190924@qq.com。

通信作者:余丽莹,女,硕士,研究员,硕士生导师,研究方向为药用植物种质资源收集保存研究。E-mail:214412619@qq.com。

地,详见表1。所有种质均于2018年9月种植于广西药用植物园种质圃,种植条件及管理方法均相同。所有种质均由广西药用植物园余丽莹研究员鉴定为兰科植物白芨。2019年11月,在每份种质中随机选取生长情况较为相近的植株10株,挖取块

茎后用清水冲洗干净,取部分鲜品(约2~4 g)用液氮速冻,保存于超低温冰箱中,用于蛋白质含量的测定。将其余样本切成薄片后烘干、打粉后过60目筛,用于其他指标的测定。

表1 白芨的种质信息

种质编号	引种编号	植物名称	来源地
1	20181134	白芨	贵州省黔东南州镇远县青溪镇关口村
2	20181135	白芨	广西壮族自治区靖西市靖西药市
3	20181137	白芨	陕西省商洛市镇安县太白村
4	20181138	白芨	安徽省合肥市
5	20181139	白芨	广西壮族自治区药用植物园标本园
6	20181140	白芨	广西壮族自治区桂林市资源县资源镇
7	20181141	白芨	广西壮族自治区桂林市全州县凤凰乡印田村
8	20181142	白芨	广西壮族自治区药用植物园科研基地
9	20181143	白芨	浙江省杭州市
10	20181144	白芨	重庆市
11	20181145	白芨	陕西省西安市户县光明生态专业合作社
12	20181146	白芨	广西壮族自治区荔浦县桂林丰润莱生物科技有限公司
13	20181147	白芨	陕西省商洛市镇安县黄家湾乡太白村
14	20181148	白芨	云南省文山壮族苗族自治州文山市文山小街
15	20181149	白芨	广西壮族自治区桂林市全州县石塘镇
16	20180162	白芨	广西壮族自治区南宁市巴马县古寨乡本立村朗屯
17	20110740	白芨	四川省成都市

1.2 试验方法

1.2.1 多糖含量的测定 参照朱新焰等的方法^[16]进行白芨多糖的提取及含量测定。

1.2.2 蛋白质含量的测定 参考李合生等的方法^[17]提取白芨中的蛋白质。采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量,以牛血清蛋白(BSA)为标准品。

1.2.3 可溶性糖含量的测定 参考李合生等的方法^[17],采用蒽酮比色法测定白芨中的可溶性糖含量。

1.2.4 淀粉含量的测定 在测定可溶性糖的离心管残渣中加入8 mL盐酸,沸水浴45 min,将其连同残渣全部移至50 mL容量瓶中,加入8 mL氢氧化钠,加水定容至刻度,离心后取上清作为待测液。取0.1 mL待测液于干净的试管中,加入0.9 mL水、4.0 mL蒽酮-硫酸试剂,沸水浴显色5 min,测定 $D_{620\text{ nm}}$ 。以葡萄糖为对照绘制标准曲线,计算样品中的淀粉含量。

1.2.5 蔗糖含量的测定 参考李合生等的方法^[17]并进行适当优化。精确称取50 mg样品粉末,置于50 mL离心管中,加入20 mL 80%乙醇,于80 ℃水

浴加热30 min,冷却后离心,取上清。向残渣中加入20 mL 80%乙醇,再次提取,合并2次提取的上清液。向上清液中加入0.2 g活性炭,80 ℃水浴脱色30 min,过滤,滤液用80%乙醇定容至50 mL,作为待测液。取1.0 mL待测液,加入0.2 mL 2 mol/L氢氧化钠混匀,沸水浴5 min,冷却后加入2.8 mL 30%盐酸及0.1 mL间苯二酚试剂混匀,于80 ℃水浴10 min,冷却后测 $D_{480\text{ nm}}$ 。根据蔗糖对照的标准曲线方程计算样品中的蔗糖含量。

1.2.6 果糖含量测定 待测溶液的制备方法同“1.2.5”节。准确吸取0.5 mL待测液于干净试管中,加入0.5 mL 80%乙醇、2.8 mL 30%盐酸、0.8 mL 0.1%间苯二酚混匀。于80 ℃水浴10 min,冷却后测定 $D_{480\text{ nm}}$ 。根据果糖对照的标准曲线方程,计算样品中的蔗糖含量。

1.2.7 还原糖含量测定 参考李志霞等的方法^[18]并进行适当优化。精确称取1 g样品粉末置于50 mL离心管中,加入30 mL蒸馏水混匀,于50 ℃水浴20 min,边水浴边搅拌,使样品粉末中的还原糖充分浸出,待其微冷后离心,转移上清液,在沉淀中

加入 15 mL 水,搅拌充分,再次离心,合并上清液,加入适量活性炭,在 80 ℃ 水浴锅中水浴脱色,过滤,滤液加水定容到 50 mL,作为待测液。取 0.5 mL 待测液,加入 0.5 mL 蒸馏水、3 mL 3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂,沸水浴 5 min,冷却后测定 $D_{540\text{ nm}}$ 。根据还原糖对照品的标准曲线方程计算样品中的还原糖含量。

2 结果与分析

2.1 不同白芨种质的多糖含量比较

多糖为白芨药材的主要活性成分,具有多种药理作用,是评价白芨品质的一个重要指标。由图 1 可见,不同白芨种质的多糖含量为 89.4 ~ 232.1 mg/g,含量差异较大。其中 2 号白芨种质的多糖含量最高,其次为 16、17 号种质,7 号种质的多糖含量最低。利用 SPSS 软件进行方差分析的结果表明,2 号白芨种质的多糖含量显著高于其余 16 份白芨种质($P < 0.05$),1、3、6、11、15 号白芨种质之间的多糖含量没有显著性差异。

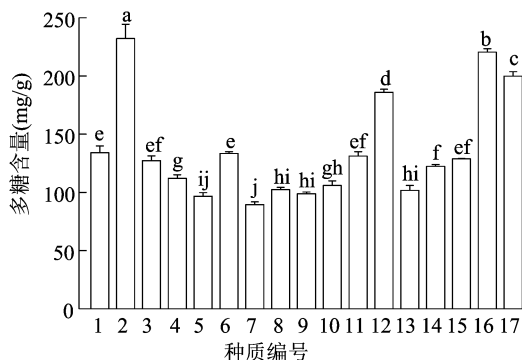


图1 不同种质来源白芨块茎中的多糖含量

2.2 不同白芨种质的蛋白质含量比较

由图 2 可见,不同白芨种质块茎中的蛋白质含量差异较大,1 号种质的蛋白质含量显著高于其他种质。蛋白质含量较高的种质还包括 3、13、17 号,7、14 号种质的蛋白质含量最低。利用 SPSS 软件进行方差分析的结果表明,3、13、17 号种质的蛋白质含量间无显著性差异。

2.3 不同白芨种质的可溶性糖含量比较

由图 3 可以看出,不同白芨种质块茎中的可溶性糖含量为 109.8 ~ 213.6 mg/g,存在较大差异。其中,12 号种质的可溶性糖含量明显高于其他种质,达到 213.6 mg/g;7、16 号种质的可溶性糖含量也较高,方差分析结果显示它们之间无显著差异;4、5 号种质的可溶性糖含量较低。

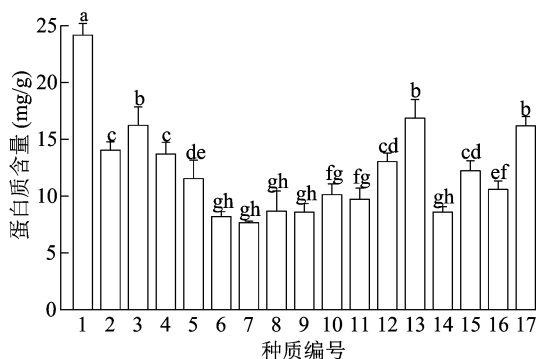


图2 不同种质来源白芨块茎的蛋白质含量

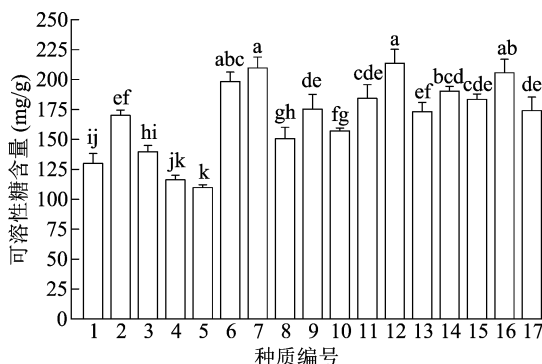


图3 不同种质来源白芨的可溶性糖含量

2.4 不同白芨种质的淀粉含量比较

由图 4 可知,不同种质白芨块茎中的淀粉含量为 30.5 ~ 264.7 mg/g,差异较大。其中 12 号种质的淀粉含量最高,其次为 16 号;15、17 号种质的淀粉含量也较高,方差分析结果显示它们之间无显著性差异;淀粉含量最低的种质为 5 号,与 12 号种质间的淀粉含量相差 234.2 mg/g;其他种质(如 2、4、10、13 号)的淀粉含量也相对较低。

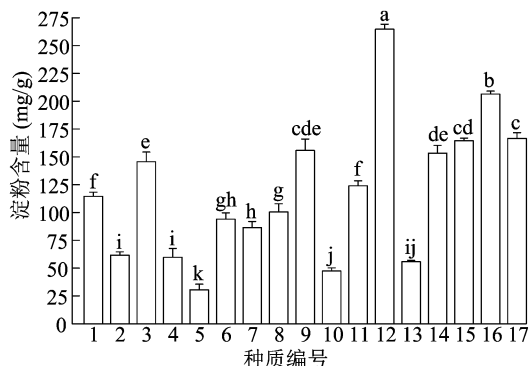


图4 不同种质来源白芨的淀粉含量

2.5 不同白芨种质的蔗糖含量

由图 5 可以看出,不同种质来源白芨块茎中的蔗糖含量以 9 号最高,为 62.5 mg/g,其余种质的蔗糖含量均明显较低;16 号种质的蔗糖含量最低,仅 18.9 mg/g,此外,5、12、17 号种质的蔗糖含量也

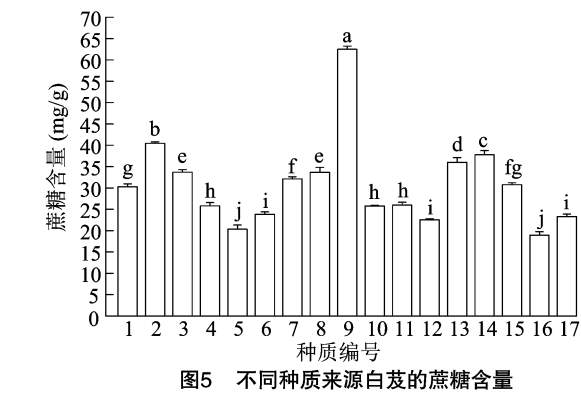


图5 不同种质来源白芨的蔗糖含量

较低。

2.6 不同白芨种质的果糖含量比较

由图6可以看出,9号白芨种质的果糖含量最高,为36.8 mg/g,其次为2号种质,果糖含量为24.7 mg/g,其余种质的果糖含量均明显低于这2个种质。16、17号种质的果糖含量较低,分别仅为9.7、9.0 mg/g,方差分析结果显示,它们之间无显著性差异。

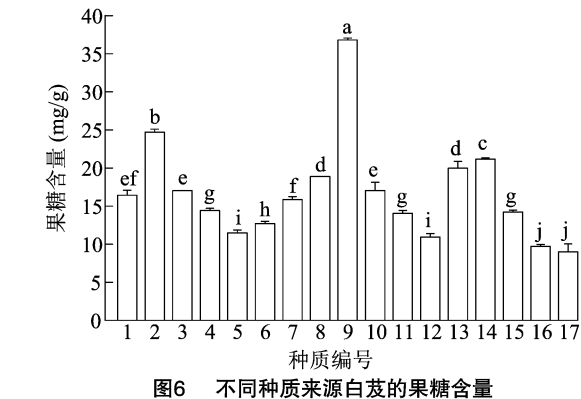


图6 不同种质来源白芨的果糖含量

表 2 不同指标间的相关性							
测定指标	相关系数						
	多糖含量	蛋白质含量	可溶性糖含量	淀粉含量	蔗糖含量	果糖含量	还原糖含量
多糖含量	1.000	0.199	0.339	0.481 *	-0.120	-0.119	0.123
蛋白质含量	0.199	1.000	-0.495 *	-0.045	-0.247	-0.277	-0.067
可溶性糖含量	0.339	-0.495 *	1.000	0.568 *	0.392	0.364	0.141
淀粉含量	0.481 *	-0.045	0.568 *	1.000	0.089	0.010	0.055
蔗糖含量	-0.120	-0.247	0.392	0.089	1.000	0.985 **	0.363
果糖含量	-0.119	-0.277	0.364	0.010	0.985 **	1.000	0.337
还原糖含量	0.123	-0.067	0.141	0.055	0.363	0.337	1.000

注: *、** 分别表示相关性显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$)。

3 结论与讨论

对 17 份不同种质来源的白芨进行多糖、蛋白质、可溶性糖、淀粉、蔗糖、果糖及还原糖含量测定

2.7 不同白芨种质的还原糖含量比较

由图7可以看出,不同种质白芨块茎中的还原糖含量存在较大差异。其中,17号种质的还原糖含量最高,为79.7 mg/g,8号种质的还原糖含量也较高。方差分析结果表明,除1、3、16号种质,7、12号种质以外,其他种质来源的白芨还原糖含量之间均具有显著性差异。

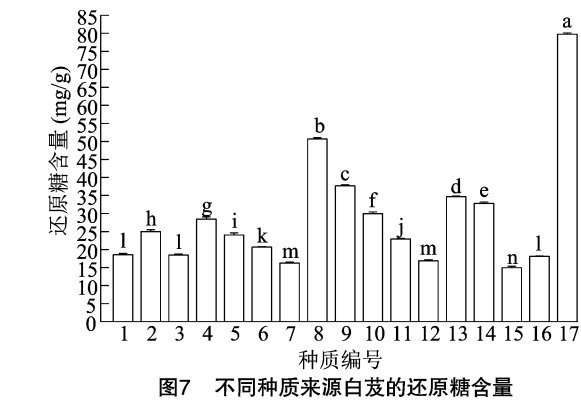


图7 不同种质来源白芨的还原糖含量

2.8 不同测定指标间的相关性分析

为了进一步了解不同测定指标之间的关系,利用SPSS软件对各测定指标数据进行相关性分析。由表2可以看出,果糖含量与蔗糖含量具有强正相关性($r=0.985$),说明白芨块茎中果糖与蔗糖的积累具有较高的一致性;可溶性糖含量与淀粉含量之间也有较强的正相关性($r=0.568$);多糖含量与淀粉含量的积累具有较弱的正相关性($r=0.481$);此外,蛋白质含量与可溶性糖含量之间具有较弱的负相关性($r=-0.495$),其相关性具有统计学意义,表明2个变量之间可能存在一定的联系。

发现,白芨块茎中各成分含量存在很大差异,其中淀粉含量变化范围最大,最高淀粉含量与最低淀粉含量间相差234.2 mg/g。多糖是白芨的主要活性成分之一,多糖含量是评价白芨药材最重要的指

标。本研究发现,来自广西壮族自治区靖西市靖西药市的白芨多糖含量最高,其次为广西巴马瑶族自治县的白芨种质,而来自广西壮族自治区桂林市全州县的白芨种质的多糖含量最低。由于本研究中的 17 份白芨种质均在相同地块中种植,培育时间及管理方式一致,因此,通过比较不同种质来源白芨块茎中多糖含量的差异,对于白芨优良种质选择及良种繁育来说具有一定的指导意义。广西是白芨主产区之一,为了确保白芨药材优质生产,应重视白芨的种质来源,宜选择多糖含量较高的种质(如靖西或巴马种质)进行推广种植。

研究发现,不同种质来源的白芨块茎内大量元素(N、Zn、Mn)含量之间呈显著或极显著正相关关系,但多糖的累积不受大量元素和微量元素的影响,初生代谢产物与矿质元素之间不具有协同作用^[12]。本研究对白芨各测定指标进行了相关性分析,发现不同种质来源白芨块茎中果糖含量与蔗糖含量之间具有强正相关性,表明白芨块茎在初生代谢物形成过程中伴随着果糖与蔗糖的协同性积累。可溶性糖含量与淀粉含量之间呈较强的正相关性,表明白芨块茎中可溶性糖的累积与淀粉也具有一定的协同性,其原因可能与可溶性糖累积为淀粉合成提供充足的底物有关。此外,多糖含量与淀粉含量之间呈较弱的正相关性。淀粉为单糖组成的多糖,在白芨块茎多糖积累的过程中,淀粉可能是多糖的主要贮存形式之一。由于多糖含量与淀粉含量之间的相关性具有一定的统计学意义,可考虑将淀粉含量作为评价白芨种质优劣的候选指标。

本研究对不同种质来源白芨块茎中的多个成分含量指标进行了测定,比较了各成分指标的差异及其相关性,为白芨优良种质筛选及培育提供数据支持。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2015 版. 北京:中国医药科技出版社,2015:103.
- [2] 任华忠,何毓敏,杨 丽. 白芨化学成分其药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,5(2):134-140.
- [3] 颜 智,刘 刚,刘育辰,等. 白芨化学成分、药理活性及质量评价研究进展[J]. 广州化工,2018,46(16):42-44.
- [4] He X R, Wang X X, Feng J C, et al. *Bletilla striata*: medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 195: 20-38.
- [5] 陈思思,吴 蓓,谭 婷,等. 白芨多糖 BSP-1 的分离纯化、结构表征及抗肿瘤活性研究[J]. 中草药,2019,50(8):1921-1926.
- [6] Hung H Y, Wu T S. Recent progress on the traditional Chinese medicines that regulate the blood [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2016, 24(2): 221-238.
- [7] Qu Y, Li C X, Zhang C, et al. Optimization of infrared-assisted extraction of *Bletilla striata* polysaccharides based on response surface methodology and their antioxidant activities [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 148: 345-353.
- [8] 邱红梅,张 颖,周岐新,等. 白芨多糖对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中国生物制品学杂志,2011,24(6):676-678.
- [9] 贺国芳,丁伊玲,徐清霞,等. 白芨多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(18):1658-1661.
- [10] 张新秦,周 涛,肖承鸿,等. 贵州不同产地白芨及品质综合评价[J]. 中药材,2020,43(2):368-373.
- [11] 苏泽春,陈 翠,徐中志,等. 2 种综合评价法在白芨种质资源综合评估中的应用[J]. 江西农业学报,2015,27(5):10-15.
- [12] 林 立,聂鲜钰,陆春云,等. 基于多糖和白芨胶及矿质元素分析的白芨种质资源特征研究[J]. 中药材,2019,42(5):1000-1006.
- [13] 任风鸣,刘 艳,李 滢,等. 白芨属药用植物的资源分布及繁育[J]. 中草药,2016,47(24):4478-4487.
- [14] 孙爱静,庞素秋,王国权. 白芨化学成分与抗肿瘤活性研究[J]. 中国药理学杂志,2016,51(2):101-104.
- [15] 吴诗惠,王剑波,开 拓,等. 白芨多糖超声提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 世界中医药,2020,15(17):2556-2560.
- [16] 朱新焰,字淑慧,王家金,等. 白芨与 2 种近缘种的多糖组织化学定位及含量测定研究[J]. 中药材,2018,41(12):2774-2778.
- [17] 李合生,孙 群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:194-201.
- [18] 李志霞,聂继云,闫 震,等. 响应面法对 3,5-二硝基水杨酸比色法测定水果中还原糖含量条件的优化[J]. 分析测试学报,2016,35(10):1283-1288.