

东北产不同种质山楂果实成分的比较

张建遼, 王冰*, 韩荣春, 许亮, 尹海波, 康廷国
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:通过对山楂果实成分含量的测定,对东北产不同种质的山楂果实药材质量进行比较。方法:采用滴定的方法测定山楂果实中有机酸的含量;采用比色法分别测定果实中的可溶性糖及总黄酮的含量;采用 HPLC 同时测定果实中芦丁、金丝桃苷、槲皮素 3 种黄酮的含量,并对测定结果进行聚类分析及差异显著性检验。结果:不同种质的山楂果实的成分含量差异较大。结论:“绵山里红”有药用价值,但食用价值更高;“铁山里红”食用价值低而药用价值高。

[关键词] 山楂;有机酸;总黄酮;反相高效液相色谱;芦丁;金丝桃苷;槲皮素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0159-04

Comparative Study on Compositions of Different Germplasm Type of Fructus Crataegi in Northeast of China

ZHANG Jian-kui, WANG Bing*, HAN Rong-chun, XU Liang, YIN Hai-bo, KANG Ting-guo
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To compare and analyze the quality of different germplasm type of Fructus Crataegi in Northeast of China by determining their components content. **Method:** Content of organic acid was idetermined with acid-base titration, content of soluble sugar and total flavonoids were determined with UV spectrophotometry and the content of rutin, hyperin and quercetin was determined with RP-HPLC. Cluster analysis method and difference significance test of statistics method were also adopted in finally result analysis. **Result:** Content of components varied with germplasm type. **Conclusion:** ‘Mian Shanlihong’ has medical value and higher edible value; ‘Tie Shanlihong’ has low edible value and higher medical value.

[Key words] *Crataegus pinnatifida*; organic acid; total flavonoid; HPLC; rutin; hyperin; quercetin

山楂为蔷薇科植物山楂的成熟果实,主产于我国北方,是传统常用的药食同源中药材,为历版《中国药典》所收录的山楂药材来源之一。在东北地区,人们将植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 习称为山里红,而将植物山里红 *C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 习称为山楂^[1-2]。由于山楂具有预防和治疗心脑血管以及消化系统疾病的作用,近年来

已经成为中药学研究热点之一,但目前以对山里红 *C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 的研究报道较多^[3-4],而对于山楂 *C. pinnatifida* Bge. 的研究报道较少,对于其种质资源与其应用价值的研究报道就更少。《东北药用植物》记载了山楂 *C. Bge.* 的果实在东北地区有两种类型,即“铁山里红”和“绵山里红”^[1]。据笔者观察,这两种种质的山楂饮片在市场上都有销售,这二者是否都适于药用,是否都符合药典规定的标准,尚无相关报道。本实验分别采用长度测量、称质量、酸碱滴定法、分光光度法和 HPLC 对采自东北地区的 30 个不同产地、不同种质的野生山楂果实的横径、单果重、可溶性糖、有机酸、总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量等指标进行测定,并对测定结果进行聚类分析及比较,分析出不同种质的山楂果实与其应用价值的关系,结果令人

[收稿日期] 20120227(024)

[基金项目] 国家科技基础条件平台项目(2005DKA21000)

[第一作者] 张建遼,讲师,在读博士,从事中药资源及品质评价研究, Tel: 0411-87586004, E-mail: lnzyzk@sina.com

[通讯作者] *王冰,教授,博士生导师,从事中药资源及品质评价研究, Tel: 0411-87586004, E-mail: yzbwang@lnutcm.edu.cn

满意。

1 材料

1.1 仪器 UV-3010 紫外-可见双光束扫描分光光度计(日本日立集团),AS3120A 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),Sartorius BP 211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),YXJ-1 型低速台式离心机(江苏金坛市环宇科学仪器厂),游标卡尺,索氏提取器。

1.2 试剂 硝酸铝、亚硝酸钠、氢氧化钠、乙醇、葡萄糖、醋酸乙酯、硫酸、蒽酮均为分析纯;水为纯净水;芦

丁、金丝桃苷、槲皮素对照品均购自中国药品生物制品检定所,经光谱及色谱检测,纯度均 >98%。

1.3 药材 所有药材均于 2008 年 8~10 月果实成熟期采自东北三省,全部为野生,均经辽宁中医药大学王冰教授鉴定为蔷薇科植物山楂 *C. pinnatifida* Bge. 的果实。

2 方法与结果

2.1 果实横径及单果重的测量 各个产地取新鲜果实 5 枚,分别测其横径及 5 枚果实的总质量,计算其平均值。结果见表 1。

表 1 不同产地山楂果实形态学指标及化学成分含量测定(n=5)

No.	产地	果实横径 /cm	单果质量 /g	可溶性糖 /%	有机酸 /%	糖酸比	总黄酮 /%	芦丁 /mg·g ⁻¹	金丝桃苷 /mg·g ⁻¹	槲皮素 /mg·g ⁻¹
1	辽宁省大连市甘井子区红旗镇	1.32	0.91	13.40	5.89	2.28	2.75	0.088 0	0.272 2	0.026 0
2	辽宁省大连市金州区大黑山	1.26	0.86	9.35	8.08	1.16	3.23	0.052 3	0.177 3	0.006 2
3	辽宁省大连市绿山	1.38	0.96	8.99	7.37	1.22	3.51	0.065 2	0.180 4	0.020 6
4	辽宁省普兰店市铁西乡	0.97	0.76	6.97	7.32	0.95	3.81	0.217 5	0.145 4	0.016 9
5	辽宁省庄河市徐岭镇	1.20	0.82	8.16	7.72	1.06	3.37	0.110 3	0.661 2	0.041 3
6	辽宁省宽甸县牛毛坞镇	1.38	1.12	9.51	5.41	1.76	2.92	0.094 6	0.559 0	0.017 6
7	辽宁省桓仁县华来镇	1.36	0.92	9.75	7.19	1.36	3.27	0.053 5	0.233 4	0.013 3
8	辽宁省抚顺市高湾镇	1.55	1.14	11.84	3.61	3.28	2.73	0.089 1	0.567 0	0.056 6
9	辽宁省清原县清原镇	1.14	0.83	7.48	8.20	0.91	3.56	0.114 6	0.593 2	0.030 3
10	辽宁省沈阳市皇姑区北陵公园	1.25	1.07	7.08	6.91	1.02	3.65	0.069 3	0.232 2	0.018 6
11	辽宁省沈阳市苏家屯区姚千镇	1.33	0.91	8.60	8.19	1.05	4.35	0.183 6	0.621 4	0.051 5
12	辽宁省鞍山市千山	1.45	1.37	13.61	7.25	1.88	4.04	0.112 5	0.420 2	0.019 5
13	辽宁省铁岭县熊官屯乡	1.52	1.23	13.31	3.62	3.68	2.91	0.077 0	0.538 6	0.010 0
14	辽宁省建昌县养马甸子乡	1.36	1.35	11.68	4.13	2.83	3.18	0.110 7	0.324 7	0.018 2
15	辽宁省锦州市古塔区站前街道	1.40	1.26	12.96	7.17	1.81	3.56	0.186 5	0.899 1	0.056 7
16	辽宁省黑山县黑山镇	1.38	0.80	12.22	4.54	2.69	3.25	0.209 8	0.274 5	0.014 7
17	吉林省通化县快大茂镇	1.37	0.98	4.62	9.21	0.50	3.65	0.006 8	0.790 0	0.075 9
18	吉林省梅河口市海龙镇	1.28	0.84	9.78	6.82	1.43	4.61	0.090 0	0.746 0	0.049 2
19	吉林省磐石市烟筒山镇	1.05	0.96	7.49	7.97	0.94	4.15	0.075 8	0.159 6	0.016 0
20	吉林省抚松县抚松镇	1.34	1.06	8.22	7.62	1.08	3.54	0.147 4	0.327 4	0.030 7
21	吉林省永吉县双河镇	1.40	0.89	11.25	4.74	2.37	3.96	0.074 0	0.404 8	0.026 6
22	吉林省蛟河市白石山镇	0.94	0.79	9.06	7.52	1.20	3.47	0.112 5	0.420 2	0.019 5
23	吉林省吉林市龙潭区大口钦镇	1.36	1.23	4.34	9.19	0.47	2.86	0.147 3	0.534 5	0.051 4
24	吉林省舒兰市环城镇	1.37	0.93	9.55	8.04	1.19	4.61	0.065 7	0.753 4	0.068 3
25	吉林省安图县两江镇	1.21	0.96	9.25	8.14	1.14	3.85	0.127 6	0.983 5	0.132 6
26	吉林市珲春市杨泡乡	1.35	1.14	6.75	8.35	0.81	5.68	0.086 3	0.295 8	0.050 5
27	黑龙江省哈尔滨市阿城区什河乡	0.96	0.86	7.51	7.63	0.98	3.72	0.146 0	0.902 0	0.032 0
28	黑龙江省尚志市尚志镇	1.22	0.90	8.40	7.79	1.08	3.80	0.060 0	1.312 9	0.064 0
29	黑龙江省尚志市帽儿山镇	0.99	1.16	8.78	8.16	1.08	3.60	0.096 7	0.342 3	0.035 4
30	黑龙江省佳木斯市四丰山	1.29	0.89	8.99	7.83	1.15	3.90	0.151 6	0.670 6	0.034 0

2.2 可溶性糖的含量测定 按照李合生提供的方法测定^[5],可溶性糖含量以葡萄糖计,结果见表1。

2.3 有机酸的含量测定 按照2010年版《中国药典》一部“山楂”项下含量测定方法操作^[6],有机酸含量以枸橼酸计,结果见表1。

2.4 总黄酮的含量测定 按照2010的版《中国药典》一部“山楂叶”项下的总黄酮含量测定操作^[6],总黄酮含量以芦丁计。结果见表1。

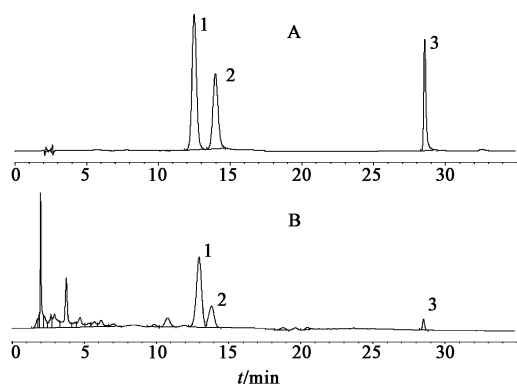
2.5 芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量测定

2.5.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.025 mol·L⁻¹磷酸水(B),流速0.9 mL·min⁻¹,柱温28℃,进样量20 μL。梯度洗脱(0~15 min, 18% A); 15~30 min, 18%~40% A),检测波长363 nm(0~18 min), 371 nm(18~30 min)。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的芦丁、金丝桃苷、槲皮素对照品,加甲醇分别制成每1 mL含芦丁157.40 μg的溶液、每1 mL含金丝桃苷26.28 μg的溶液及每1 mL含槲皮素31.20 μg的溶液,作为对照品溶液备用。

2.5.3 供试品溶液的制备及含量测定 精密称取山楂果实细粉0.5 g,置索氏提取器中,加入60%乙醇100 mL,提取4 h,放冷,置100 mL量瓶中,以60%乙醇稀释至刻度。精密吸取50 mL,置蒸发皿中蒸干,加入60%乙醇溶解后定容至5 mL,再以0.45 μm滤膜滤过,作为供试品溶液。精密吸取对照品、供试品溶液各20 μL,注入液相色谱仪中,记录色谱图,按外标法计算样品中芦丁、金丝桃苷、槲皮素的含量。结果见图1。

2.6 聚类分析 应用SPSS 11.0统计软件,以果实直径、单果重、可溶性糖、有机酸、总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量、糖酸比为指标,采用系统聚类对山楂果实样品进行分类,所采用的方法是组间距离法(Between-groups linkage),测度选用欧氏距离。根据聚类分析所得的结果见图2。在阈值为20处,所有样品被分为两类: I类包括1号、6号、8号、12~16号、21号等9份样品,其余样品归于II类。I类样品果实直径较大,单果重较大,果肉较厚,味道好,符合“绵山里红”的特征,其可溶性糖含量较高,有机酸含量较低,糖酸比较大; II类样品果实直径较小,单果重较小,果肉较薄,酸味较重,符合“铁山里红”的特征,其可溶性糖含量较低,有机酸含量较高,糖酸比较小。



1. 芦丁; 2. 金丝桃苷; 3. 槲皮素

图1 对照品(A)和安图产山楂供试品(B)色谱

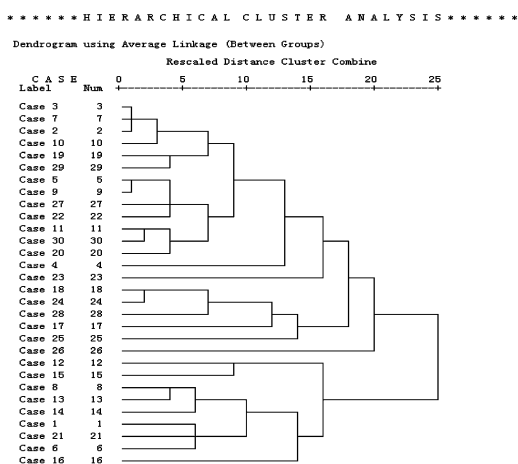


图2 不同产地山楂果实的聚类分析

2.7 差异显著性检验 用SPSS 11.0 for windows软件对两种种质的山楂果实的所有指标进行差异显著性检验,其中,可溶性糖、芦丁、金丝桃苷含量等3个指标的数据均呈正态分布,采用 t 检验;果实横径、单果重、有机酸、糖酸比、总黄酮、槲皮素含量等6个指标的数据均不呈正态分布,采用秩和检验,结果见表2。

由表2可知,两种种质的样品在果实横径、可溶性糖、有机酸含量以及糖酸比等4个指标上有极显著性差异($P < 0.01$);在单果重、总黄酮含量上有显著性差异($P < 0.05$);在芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量上没有显著性差异。

3 讨论

植物体内的可溶性糖主要指能溶于水及乙醇的单糖和寡聚糖。山楂中的可溶性糖主要有葡萄糖、山梨糖、蔗糖、鼠李糖等^[8]。可溶性糖是果实品质的重要构成性状之一,可溶性糖不仅是能量来源和结构物质,而且作为渗透调节物质和信号物质在高等植物代谢调节中有重要的生理作用^[9]。可溶性

表 2 各测定指标差异显著性检验 ($\bar{x} \pm s$)

指标	I (绵山里红)	II (铁山里红)	检验方法	P 值
果实横径 (cm)	1.42 ± 0.08	1.22 ± 0.15	秩和检验	0.000
单果重 (g)	1.12 ± 0.21	0.94 ± 0.13	秩和检验	0.045
可溶性糖 (%)	12.20 ± 1.31	8.05 ± 1.51	t 检验	0.000
有机酸 (%)	5.15 ± 1.39	7.86 ± 0.61	秩和检验	0.000
糖酸比	2.51 ± 0.67	1.04 ± 0.23	秩和检验	0.000
总黄酮 (%)	3.25 ± 0.50	3.82 ± 0.61	秩和检验	0.022
芦丁 (mg·g ⁻¹)	0.115 8 ± 0.048 8	0.103 8 ± 0.050 0	t 检验	0.549
金丝桃苷 (mg·g ⁻¹)	0.473 3 ± 0.197 2	0.527 7 ± 0.318 0	t 检验	0.640
槲皮素 (mg·g ⁻¹)	0.027 3 ± 0.017 4	0.040 9 ± 0.028 5	秩和检验	0.178

糖不仅决定山楂的口味,更能反映其内抗性等内在品质。SB/T 10092-92《中华人民共和国行业标准山楂》^[10]中规定,可溶性糖含量的最高标准为红果类型不得少于 7%,照此规定,所有的样品中有 4 份可溶性糖含量少于 7%,全部是“铁山里红”,所有的“绵山里红”可溶性糖含量都符合规定,而且“绵山里红”可溶性糖含量极显著地高于“铁山里红”(P < 0.01)。

有机酸是山楂消食健胃功效的主要物质基础,按照 2010 年版《中国药典》一部的规定,有机酸以枸橼酸计含量不得少于 5%,所有的样品中有 5 份有机酸含量少于 5%,全部是“绵山里红”。所有的“铁山里红”有机酸含量都符合规定,而且“铁山里红”有机酸含量极显著地高于“绵山里红”(P < 0.01)。在能反映水果口味的糖酸比值方面,“绵山里红”极显著地高于“铁山里红”(P < 0.01)。

黄酮类化合物是山楂治疗心血管系统疾病的主要有效成分,药典以及国家标准中对于芦丁、金丝桃苷、槲皮素等黄酮单体以及总黄酮的含量均未作规定。结果表明,尽管两种种质的山楂果实中 3 种黄酮单体的含量均无显著性差异,但“绵山里红”的总黄酮含量显著地低于“铁山里红”的含量(P < 0.05)。

由以上分析可知,“绵山里红”的可溶性糖含量、糖酸比值较高,但药用成分(有机酸、总黄酮)含量较低,且果肉较厚、口感较好,尽管有药用价值,但作为水果或食品加工原料的食用价值更高。“铁山里红”的可溶性糖含量、糖酸比值较低,但药用成分(有机酸、总黄酮)含量较高,且果肉较薄、酸味较

重,因此食用价值低而药用价值高。

目前关于中药材种质资源的研究(如黄芪等)^[11]已经成为热点,本实验对于东北产不同种质山楂果实成分的比较研究,可为山楂的药用和食用价值进一步的开发提供参考和依据。

[参考文献]

[1] 朱有昌. 东北药用植物[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989:514.

[2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 36 卷[M]. 北京:科学出版社,1974:189.

[3] 陈承瑜,杨滨,周洁. 山楂饮片的质量评价研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(12):1.

[4] 陈宝龙,冯坤,郑朝华,等. 山楂中齐墩果酸和熊果酸的测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):73.

[5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:195.

[6] 中国药典. 一部[S]. 2010:29,30.

[8] 刘霞,程宏,肖及有. 山楂果实中水溶性维生素和可溶性游离糖的分析测定[J]. 吉林农业大学学报,1996,18(增刊):99.

[9] 赵江涛,李晓峰,李航,等. 可溶性糖在高等植物代谢调节中的生理作用[J]. 安徽农业科学,2006,34(24):6423.

[10] SB/T 10092-92《中华人民共和国行业标准 山楂》[S]. 1992.

[11] 钱丹,黄璐琦,崔光红,等. 黄芪种质资源的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):86.

[责任编辑 邹晓翠]