

不同品种菊花质量研究

孙乙铭, 徐建中, 沈晓霞, 俞旭平*, 王志安(浙江省中药研究所有限公司, 杭州 310023)

摘要: 目的 评价不同品种菊花的质量差异。方法 对引种于浙江桐乡菊花种质资源圃的不同品种菊花采用 UV 测定总黄酮含量; 水蒸气蒸馏法测定挥发油含量; HPLC 测定绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量。结果 不同品种菊花有效成分含量有较大差异, 与引种栽培的菊花相比, 浙江地产菊花具有较明显的优势。结论 地方品种更适合在当地的自然条件栽培, 这也是保证道地药材菊花道地性优势的前提。

关键词: 不同品种; 菊花; 质量研究

中图分类号: R284.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)02-0224-04

Study on Quality of Different Varieties of Chrysanthemi Flos

SUN Yiming, XU Jianzhong, SHEN Xiaoxia, YU Xuping*, WANG Zhi'an(Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the quality of different varieties of Chrysanthemi Flos. **METHODS** The content of flavonoids for different varieties of Chrysanthemi Flos which were introduced from Zhejiang Tongxiang Chrysanthemum Germplasm Nursery were determined by UV. Water vapor distillation was used to determine volatile oil content. The contents of chlorogenic acid, mignonette glycosides, and 3, 5-O-2 coffee acyl quinic acid were determined by HPLC. **RESULTS** The effective component in different varieties of Chrysanthemi Flos had a big difference. Compared with the cultivation of Chrysanthemi Flos, Zhejiang real estate Chrysanthemi Flos had more obvious advantages. **CONCLUSION** Local variety is more suitable for cultivation in the local natural conditions, it is also guaranteed authentic medicinal Chrysanthemi Flos the original advantages of the premise.

KEY WORDS: different varieties; Chrysanthemi Flos; quality research

菊花是菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 具有散风清热、平肝明目、清热解毒等功效, 临床上主要用于治疗风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛等疾病^[1]。

杭白菊是著名的道地药材“浙八味”之一, 长期以来, 由于杭白菊的优异品质, 广泛用于医疗和生活等方面, 已成为一种深受欢迎的菊花品牌。目前关于菊花的研究主要来源于不同产地或不同市场产品抽样^[2-3], 均未能结合田间试验, 没有在同一生存环境下对不同种源及不同种的药用菊花进行化学成分比较分析。为此, 本研究将引种于浙江桐乡种质资源圃的 12 个不同种源及不同种的药用菊花进行了相关有效成分含量测定, 以评价浙产菊花的独特特征, 并探讨不同种源或不同种菊花药效成分的差异, 为浙产菊花资源的开

发利用提供科学依据, 也为该药用菊花的质量评价奠定基础。

1 仪器与材料

从浙江桐乡种质资源圃中采取不同品种菊花花序, 经浙江省中药研究所药材室高级工程师俞旭平鉴定为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat 的干燥头状花序, 加工干燥后粉碎。样品信息见表 1。

2 方法

2.1 菊花总黄酮测定方法

2.1.1 仪器与试剂 紫外-可见分光光度计(perkin Elmer); AB204-S 型电子天平(Mettler)。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100080-200707, 纯度: 92.5%)。所用试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAI04B02); 浙江省“十二五”农业新品种选育(2012C12912); 浙江省药用植物种质改良与质量控制技术重点实验室(2011E10015); 浙江省中药现代化产业技术创新战略联盟项目(2010LM304)

作者简介: 孙乙铭, 女, 硕士, 工程师 Tel: (0571)85241074 E-mail: luckypig_2006@163.com *通信作者: 俞旭平, 男, 硕士, 高级工程师 Tel: (0571)85229563 E-mail: fisher007@21cn.com

表1 样品信息

Tab 1 Sample information

编号	样品	采集时间	采集地
1	早小洋菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(当地品种)
2	小洋菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(当地品种)
3	大洋菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(当地品种)
4	异种大白菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(当地品种)
5	早贡菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(安徽引种)
6	晚贡菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(安徽引种)
7	小黄菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(安徽引种)
8	黄药菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(安徽引种)
9	射阳大菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(江苏引种)
10	射阳红心菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(江苏引种)
11	射阳大白菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(江苏引种)
12	射阳小白菊	2012年11月	浙江省桐乡市种质资源圃(江苏引种)

2.1.2 标准曲线的制定 精密称取芦丁对照品 0.099 6 g, 用无水甲醇溶解, 置 50 mL 量瓶中, 用无水甲醇定容, 摇匀。精确移取 5.0 mL 至 50 mL 量瓶中, 用无水甲醇定容, 摇匀, 得芦丁浓度为 $0.199\ 2\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。准确吸取该芦丁对照品溶液 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至 3.5 mL, 分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL, 摇匀, 放置 6 min 后分别加 10% 硝酸铝溶液 0.5 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再分别加 1% 氢氧化钠溶液 5 mL, 摇匀, 用水定容至刻度, 放置 12 min 后, 以空白溶液为参比, 在波长 510 nm 处测吸光度, 得回归方程 $Y=10.129C-0.006\ 5$ ($r=0.999\ 2$), 线性范围为 $0.021\ 2\sim 0.074\ 2\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.1.3 样品液的制备 取药材约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 1 mL, 用 70% 乙醇定容于 10 mL 量瓶中。按“2.1.2”项下方法测定菊花中总黄酮含量。

2.1.4 仪器精密度试验 取对照品 6 份, 按“2.1.2”项下方法测定总黄酮的含量, RSD 为 0.95% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 按“2.1.2”项下方法对同一样品每隔 10 min 测定 1 次, RSD 为 1.0%, 表明 40 min 内稳定。

2.1.6 重复性试验 精密称取同一样品 6 份。按含量测定方法, 重复测定总黄酮的含量, 结果 RSD 为 0.6%, 实验重复性良好。

2.1.7 回收率试验 取已知含量的桐乡地方选育菊花约 0.125 g, 分别加入芦丁对照品, 按“2.1.2”项下方法处理, 进行测定。计算回收率, 结果见表 2。

表2 总黄酮回收率试验($n=6$)Tab 2 Recovery rate test for total flavonoids($n=6$)

原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/%
		8.17	104.0		
		7.96	99.1		
3.76	4.24	8.01	100.2	102.1	1.93
		8.11	102.6		
		8.13	103.1		
		8.15	103.5		

2.2 挥发油含量测定

采用水蒸气蒸馏法, 取菊花样品 50 g, 加 10 倍水回流提取 6 h, 计算挥发油含量。

2.3 绿原酸、木犀草苷、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定

2.3.1 仪器与试剂 Agilent HP1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 二极管阵列检测器(DAD); 绿原酸、木犀草苷、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品均购自四川成都曼斯特生物科技有限公司(批号分别为 12031401, 12041703, 12101101, 含量均为 98% 以上); 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为去离子水, 其余试剂均为分析纯。

2.3.2 色谱条件 色谱柱: Zorbax SB C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 分析柱; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL; 理论板数按对照品计均不低于 8 000; 检测波长: 325 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 流动相: (A) 乙腈-甲醇(9:1)-(B) 0.1% 磷酸水, 采用梯度洗脱: 0~10 min, A 10%; 10~16 min, A 18%; 16~20 min, A 18%; 20~25 min, A 20%; 25~45 min, A 22%; 45~55 min, A 30%; 55~65 min, A 40%; 65~70 min, A 60%; 70~80 min, A 80%; 80~90 min, A 95%。

2.3.3 对照品溶液的配制 分别称取绿原酸、木犀草苷、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品 3.3, 1.7, 8.0 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度, 分别得含绿原酸、木犀草苷、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品溶液 0.33, 0.17, 0.80 mg·mL⁻¹。用时用移液管吸取 1 mL, 加 70% 甲醇稀释定容成 10 mL, 即得每 1 mL 含绿原酸 33 μg, 木犀草苷 17 μg, 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸 80 μg 的对照品混合溶液。

2.3.4 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用滤膜(0.45 μm)

滤过后作为供试品溶液，进样。对照品及样品色谱峰见图 1。

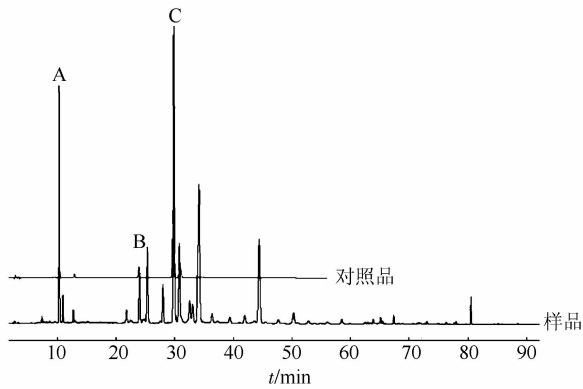


图 1 HPLC 色谱图

A-绿原酸; B-木犀草苷; C-3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸

Fig 1 HPLC chromatogram

A-chlorogenic acid; B-lutelin-7-O-β-D-glucoside; C-3,5-O-discaffeoylquinic acid

2.3.5 标准曲线制备 精密吸取混合对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按“2.3.2”项下色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 各对照品进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 并计算回归方程: 绿原酸: $Y=49.532X+123.3$, $r=0.9995$, 表明绿原酸在 0.165~0.825 μg 内具有良好的线性关系; 木犀草苷: $Y=10.022X-0.067$, $r=1.0000$, 表明木犀草苷在 0.085~0.425 μg 内具有良好的线性关系; 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸: $Y=54.19X+4.91$, $r=0.9999$, 表明 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸在 0.4~2 μg 内具有良好的线性关系。

2.3.6 仪器精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 10 μL, 结果绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸的 RSD 分别为 0.23%, 0.08%, 0.34%, 表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 室温下

放置, 分别在 0, 3, 6, 12, 24 h 进样 10 μL 测定, 考察测定的稳定性, 绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸的 RSD 分别为 0.33%, 0.28%, 0.54%, 表明供试品溶液在室温下比较稳定。

2.3.8 重复性试验 取菊花样品 6 份, 依“2.3.2”项下条件测定绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量, 测得各物质含量 RSD 分别为 0.38%, 2.21%, 0.87%, 表明该方法的重复性较好。

2.3.9 回收率试验 取已知含量的桐乡地方选育菊花约 0.125 g, 分别添加不同浓度的绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸对照品后, 按“2.3.2”项下条件进行测定。结果见表 3。

表 3 加样回收率试验(n=6)

Tab 3 Recovery rate test(n=6)

成分	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
绿原酸	1.136 6	0.33	1.466 6	99.99	101.9	2.77
	1.135 7	0.33	1.461 0	98.59		
	1.136 6	0.66	1.806 0	101.42		
	1.137 5	0.66	1.801 3	100.58		
	1.140 2	0.99	2.180 4	105.07		
木犀草苷	1.136 6	0.99	2.181 4	105.54	99.9	1.96
	0.364 9	0.17	0.534 6	99.87		
	0.364 6	0.17	0.531 0	97.89		
	0.364 9	0.255	0.615 7	98.37		
	0.365 1	0.255	0.619 8	99.89		
3,5-O-二咖啡 酰基奎宁酸	0.366 0	0.34	0.709 7	101.09	108.3	2.14
	0.364 9	0.34	0.715 5	103.12		
	2.518 0	0.8	3.356 2	104.77		
	2.516 0	0.8	3.367 1	106.39		
	2.518 0	1.6	4.250 6	108.29		
	2.520 0	1.6	4.269 0	109.31		
	2.526 1	2.4	5.171 4	110.22		
2.518 0	2.4	5.176 3	110.76			

3 结果与分析

对不同样品的菊花分别测定总黄酮、挥发油含量和绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸的含量, 结果见表 4。

表 4 不同品种菊花有效成分含量的测定结果(n=3)

Tab 4 The determination results of different varieties of Chrysanthemi Flos(n=3)

样品	总黄酮/%	绿原酸/mg·g ⁻¹	木犀草苷/mg·g ⁻¹	3,5-o-二咖啡奎宁酸/mg·g ⁻¹	挥发油/%
早小洋菊	7.849 1±0.007 6	10.161 9±0.048 8	3.813 9±0.041 0	25.463 7±0.175 8	0.40
小洋菊	7.127 7±0.170 8	7.938 1±0.020 0	3.709 7±0.013 8	19.574 9±0.012 2	0.50
大洋菊	6.939 7±0.042 8	8.324 2±0.049 2	2.606 4±0.024 9	22.444 3±0.237 3	0.40
异种大白菊	7.690 6±0.079 0	6.949 5±0.009 4	3.683 1±0.002 9	20.989 4±0.209 6	0.20
早贡菊	5.147 7±0.123 1	8.239 5±0.019 7	0.771 8±0.002 2	24.911 9±0.009 1	0.40
晚贡菊	7.806 6±0.036 6	7.400 9±0.014 1	6.061 4±0.075 2	33.011 0±0.348 3	-
小黄菊	5.096 8±0.040 1	8.742 0±0.002 0	1.771 9±0.001 6	12.599 6±0.041 3	0.70
黄药菊	5.015 1±0.078 1	7.187 1±0.061 6	0.896 0±0.002 8	16.893 0±0.091 3	0.80
射阳大黄菊	4.645 1±0.098 6	4.514 3±0.020 8	3.171 7±0.043 5	16.920 2±0.282 3	0.30
射阳红心菊	5.541 7±0.025 4	6.398 5±0.000 6	1.813 1±0.026 9	19.622 7±0.077 7	0.30
射阳小白菊	6.956 9±0.042 7	8.826 6±0.002 9	2.318 2±0.022 8	27.922 0±0.296 5	0.30
射阳大白菊	5.702 1±0.003 3	7.531 0±0.028 5	2.211 5±0.000 9	20.213 9±0.102 0	0.25

3.1 不同品种菊花总黄酮含量比较

总黄酮含量在 4.64%~7.85%之间,以早小洋菊最高,射阳大黄菊最低,其中早小洋菊、小洋菊、异种大白菊、晚贡菊达 7%以上。晚贡菊相对于早贡菊总黄酮含量高 34%;射阳菊中,以射阳小白菊为最高,其次是射阳大白菊,以射阳大黄菊为最低。综合分析浙江地产品种早小洋菊、小阳菊、大洋菊基本上高于安徽贡菊、黄菊及黄药菊,也高于江苏射阳菊。浙产品种(早小洋菊、小洋菊、大洋菊)总黄酮含量高于贡菊、黄菊及射阳菊,说明浙产菊种在总黄酮含量上较有优势。

3.2 不同品种菊花绿原酸含量比较

不同品种菊花绿原酸含量在 4.51~10.16 mg·g⁻¹之间,以早小洋菊最高,为 10.161 9 mg·g⁻¹,高出射阳大黄菊 4.514 3 mg·g⁻¹一倍以上,其中早小洋菊、大洋菊、早贡菊、小黄菊及射阳小白菊达 8 mg·g⁻¹以上。射阳菊中,以射阳小白菊最高,其次是射阳大白菊,变化趋势与总黄酮相一致。综合分析浙江地产品种早小洋菊绿原酸含量优势较明显,除射阳大黄菊含量最低外,其他菊花品种相差较小。

3.3 不同品种菊花木犀草苷含量比较

不同品种菊花木犀草苷含量差异较明显,整体变化在 0.77~6.06 mg·g⁻¹之间。以晚贡菊最高,早贡菊最低,黄药菊木犀草苷含量也相对较低;射阳菊中,以射阳大黄菊为最高,其他射阳菊差异不大。浙江地产品种早小洋菊、小阳菊、大洋菊木犀草苷含量较高,说明浙产菊种在木犀草苷含量上较有优势。

3.4 不同品种菊花 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量比较

不同品种菊花 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量整体变化在 12.60~33.01 mg·g⁻¹之间。以晚贡菊最高,小黄菊最低。早贡菊与晚贡菊在 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量变化上差异较显著。射阳菊中,以射阳小白菊为最高。浙江地产品种早小洋菊、小洋菊、大洋菊 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量较高,约 20 mg·g⁻¹以上,说明浙产菊种在 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量上较有优势。

3.5 不同品种菊花挥发油含量比较

各品种挥发油含量相差较明显,含量在 0.2%~0.8%之间,以黄药菊最高 0.80%,其次为小

黄菊 0.70%,异种大白菊最低只有 0.20%。射阳菊之间挥发油含量基本无差异,在 0.3%左右。浙产菊挥发油含量在 0.4%左右。

3.6 综合多指标评价分析

以各样品各有效成分含量为依据,用 DPS 统计软件多指标综合评价中的 Topsis 法,对各样本数据数据进行分析,评价最优样本,结果见表 5。

表 5 各个样本排序指标值

Tab 5 Sample sorting index values

样本	D+	D-	指标 CI	名次
早小洋菊	0.212 9	0.408 0	0.657 1	2
小洋菊	0.293 4	0.313 9	0.516 9	3
大洋菊	0.354 4	0.262 7	0.425 7	6
异种大白菊	0.305 1	0.314 9	0.507 9	4
早贡菊	0.506 7	0.197 2	0.280 1	9
晚贡菊	0.137 3	0.555 9	0.802 0	1
小黄菊	0.478 9	0.170 2	0.262 2	10
黄药菊	0.537 3	0.107 9	0.167 2	12
射阳大黄菊	0.424 9	0.219 7	0.340 8	7
射阳红心菊	0.457 4	0.148 4	0.245 0	11
射阳小白菊	0.334 5	0.309 4	0.480 5	5
射阳大白菊	0.411 8	0.194 4	0.320 7	8

由表 5 可见,采用 DPS 统计软件,晚贡菊第一,其次分别为早小洋菊、小洋菊、异种大白菊等,黄药菊综合排名较低,其次是射阳红心菊和小黄菊。综合排名看浙产菊种均较优,在有效成分含量等各方面都有较好的优势,是优质的保证。

4 结论

本实验采用 DPS 多指标综合评价各引种菊花样本,并将引种栽培的菊花与浙江地产菊花做相比,发现浙江地产菊花具有较明显的优势,不仅表现在分枝力强、花朵紧凑、商品性好,其品质有效成分含量上也高于其他地方引种菊种。说明地方品种更适合在当地的自然条件下栽培。实验为杭白菊的开发利用提供依据,也为菊花药材的应用和质量评价提供依据。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I(中国药典 2010 年版,一部)[S]. 2010: 292
- [2] ZHAO Y C, LIU G J, REN B Z, et al. Fingerprint of Flos Chrysanthemi by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2005, 36(10): 1552-1555.
- [3] CUI Y X, WU M X, WU M, et al. Content determination of chlorogenic acid and 4,5-O-dicaffeoylquinic acid in Chrysanthemi Indici Flos from different areas [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(9): 799-801.

收稿日期: 2013-05-21