

不同产地南五味子中木脂素和总多糖的比较

王宇晖¹, 蔡子平^{2,3}

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 甘肃省农业科学院中药材研究所, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃省中药材种质改良与质量控制工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以产自陕西、四川、甘肃的南五味子为材料, 测定其中木脂素质量分数和总多糖质量分数, 结果显示, 四川、陕西、甘肃产南五味子的折合药材木脂素质量分数分别为 1.8725%、1.4126%、1.2534%; 甘肃产南五味子的折合药材木脂素含量最低。整粒提取时, 四川、陕西、甘肃产南五味子的折合药材总多糖质量分数分别为 10.080%、9.665%、11.180%; 研碎提取时, 四川、陕西、甘肃产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 9.560%、10.360%、12.830%。整粒提取和研碎后提取均以甘肃产南五味子折合药材总多糖质量分数高于四川产和陕西产。

关键词: 南五味子; 产地; 木脂素; 总多糖

中图分类号: S567

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2018)01-0030-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.01.010

南五味子为木兰科植物华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.) 的干燥成熟果实^[1], 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心之功效, 用于久嗽虚喘、梦遗滑精、遗尿尿频、久泻不止、自汗、盗汗、津伤口渴、气短脉虚、内热、消渴、心悸失眠等症。其广泛分布于江苏、安徽、河南、山西、陕西、甘肃、湖北、四川、江西、湖南、贵州和云南等地^[2]。南五味子现在陕西和甘肃陇南地区规模栽培, 含五味子甲素、五味子酯甲、乙、丙、丁、戊等木脂素类成分^[3]。研究发现, 南五味子中含有大量的木脂素类成分, 具有很好

的降酶、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用^[4], 如五味子酯类成分能显著降低谷丙转氨酶^[5], 木脂素具有镇静、催眠等多种药理作用^[6]。药理临床实验表明, 酯甲、酯乙、酯丙、酯丁对迁延性、慢性病毒性肝炎有较好的降SGPT作用, 其商品制剂“五酯胶丸”已用于临床治疗急、慢性肝炎^[7]。

为了探讨不同产地南五味子的差异, 我们于2017年8月在甘肃省中药材种质改良与质量控制工程实验室以南五味子醇提物中木脂素的含量和总多糖为评价指标, 采用紫外分光光度法分别对甘肃、陕西、四川产地的南五味子木脂素和多糖

收稿日期: 2017-11-13

作者简介: 王宇晖(1995—), 女, 甘肃宁县人, 研究方向为中药材药理及分析。E-mail: wangyh23258@163.com。

通信作者: 蔡子平(1982—), 男, 甘肃永昌人, 助理研究员, 主要从事西北特色药用植物驯化栽培与良种繁育工作。E-mail: caizp@163.com。

- Pathogenic races of the cucumber-wilt. *Fusarium* [J]. Plant Disease Report, 1978 (62): 824-828.
- [18] 翁祖信, 蒋兴祥, 肖小文. 黄瓜枯萎病抗病性鉴定方法研究-胚根接种法[J]. 中国蔬菜, 1985(2): 30-33.
- [19] 黄仲生, 杨玉茹, 朱晓丹. 中国黄瓜枯萎病菌生理小种鉴定及防治[J]. 华北农学报, 1994, 9(4): 81-86.
- [20] 侯安福, 尹彦. 黄瓜枯萎病抗性遗传规律的研究. 中国主要蔬菜抗病育种进展[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 439-444.
- [21] OWEN J H. Fusarium wilt of cucumber [J]. Phytopathology, 1955 (45): 435-439.
- [22] OWEN J H. Cucumber wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. cucumerinum N F [J]. Phytopathology, 1956 (46): 153-157.
- [23] 周红梅, 毛爱军, 张丽蓉, 等. 黄瓜枯萎病接种方法及抗性遗传的研究[J]. 华北农学报, 2010, 25 (4): 186-190.
- [24] 陈凤春. 黄瓜枯萎病接种方法及抗性遗传规律研究[J]. 现代农业科技, 2014(18): 142-146.
- [25] 司龙亭, 刘洪雨, 李新. 黄瓜品种对枯萎病抗性鉴定研究[J]. 农业科技与装备, 2008 (1): 10-16.
- [26] 刘殿林, 杨瑞环, 哈玉洁. 黄瓜抗枯萎病遗传特性的研究[J]. 天津农业科学, 2003, 9(2): 33-35.

(本文责编: 陈珩)

含量进行了测定, 现将结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料与试剂

供试南五味子药材分别购自兰州旭康药业(批号: 20130910), 产地陕西; 复兴厚药业(批号: 20130510), 产地甘肃; 陇西百宝药业(批号: 20130225), 产地四川。五味子乙素对照品(110765-201311)购自中国食品药品检定研究院。供试试剂变色酸、苯酚、95%乙醇、甲醇、浓硫酸均为分析纯。

1.2 仪器设备

可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司生产, 型号规格: T6 新悦), 电子天平(奥豪斯仪器有限公司生产, 型号规格: SE602F), 调温型电热套(型号规格: MH-250)。

1.3 试验方法

1.3.1 试样的制备 ①南五味子木脂素样品溶液的制备。准确称取甘肃、陕西、四川产南五味子各 20.0 g, 用 95%乙醇 80 mL, 回流提取 2 h, 室温冷却, 过滤; 提取液浓缩至 60 mL, 取 2 mL 水浴蒸干, 用甲醇定容至 50 mL, 即得南五味子木脂素样品溶液。②南五味子多糖样品溶液的制备。准确称取甘肃、陕西、四川产南五味子各 20.0 g, 水煎煮提取 2 次, 第 1 次加 15 倍水, 煎煮 1 h; 第 2 次加 10 倍水, 煎煮 0.5 h。提取液过滤, 合并两次提取液, 浓缩、醇沉、抽滤, 取沉淀加蒸馏水溶解, 即得南五味子多糖样品溶液。

1.3.2 标准曲线绘制 ①木脂素标准曲线的绘制。精确称取五味子乙素对照品 0.002 6 g, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 0.26 mg/mL 的标准溶液。分别精确吸取五味子乙素标准溶液 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 置 5 mL 容量瓶中, 加 95%乙醇定容至刻度, 摇匀, 在 570 nm 处测定其吸光度, 以吸光度为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制木脂素标准曲线。

②多糖标准曲线的绘制。精确称量葡萄糖 0.994 7 g, 定容于 250 mL 容量瓶中, 稀释 40 倍, 即得质量浓度为 0.099 47 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。称取苯酚固体 5 g, 蒸馏水溶解并定容至 100 mL 棕色容量瓶中, 备用。分别精密吸取葡萄糖标准溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL 置于 20 mL 试管中, 补加蒸馏水至 1.0 mL, 再加入 5%苯酚 1 mL 及浓硫酸 5 mL, 静置 10 min, 摇匀, 室温放置 20 min。以 1.0 mL 水按同样

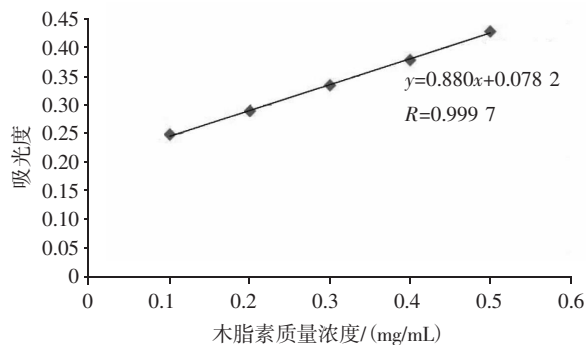


图 1 木脂素标准曲线

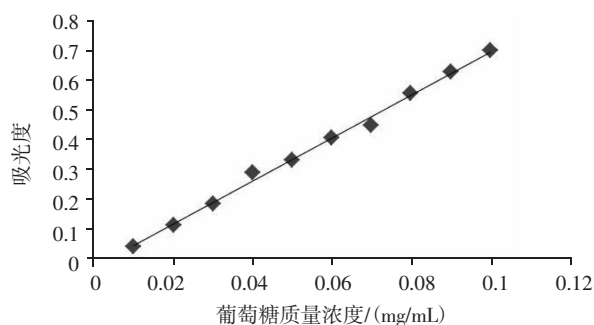


图 2 葡萄糖标准曲线

操作为空白。在 490 nm 处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制多糖标准曲线。

1.3.3 木脂素质量浓度和总多糖质量浓度测定采用紫外-分光光度法测定南五味子中的木脂素质量浓度和总多糖质量浓度^[8-15]。准确吸取南五味子木脂素样品溶液和多糖样品溶液, 按照 1.3.2 的方法操作, 根据标准曲线计算南五味子木脂素质量分数和总多糖质量分数。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

木脂素标准曲线: $Y=0.880X+0.0782$ ($r=0.9997$), 在 0~0.26 mg/mL 范围内具有良好的线性关系。

多糖标准曲线: $Y=31.92191241X-1.377699945$ ($R=0.9982$), 在 0~0.09947 mg/mL 范围内有良好的线性关系。

2.2 不同产地南五味子总木脂素

在 570 nm 波长处, 测定不同产地的南五味子样品溶液的吸光度值, 根据标准曲线计算木脂素量, 结果见表 1。由表 1 可以看出, 以四川产南五味子木脂素量最高, 为 374.498 9 mg, 折合药材木脂素质量分数为 1.872 5%; 陕西产南五味子次之, 木脂素量为 282.516 7 mg, 折合木脂素质量分数为 1.412 6%; 甘肃产南五味子总木脂素量最低, 为 250.684 4 mg, 折合药材木脂素量为 1.253 4%。

表 1 不同产地南五味子药材中木脂素

产地	吸光度值	标准木脂素 质量浓度 (mg/mL)	试样木脂素 /mg	折合药材 木脂素 /%
陕西1	0.455 1	0.566 4	283.184 9	
陕西2	0.458 3	0.573 1	286.525 6	
陕西3	0.472 2	0.604 2	302.115 8	
陕西4	0.439 1	0.530 7	265.367 5	
陕西5	0.448 2	0.550 8	275.389 8	
陕西平均			282.516 7	1.412 6
甘肃1	0.404 1	0.428 1	214.045 1	
甘肃2	0.445 3	0.514 4	257.212 0	
甘肃3	0.455 1	0.535 5	267.740 6	
甘肃4	0.462 0	0.550 2	275.110 5	
甘肃5	0.428 0	0.478 6	239.313 5	
甘肃平均			250.684 4	1.253 4
四川1	0.535 0	0.744 5	372.271 7	
四川2	0.542 0	0.760 1	380.066 8	
四川3	0.550 2	0.778 0	388.975 5	
四川4	0.521 0	0.713 4	356.681 5	
四川5	0.537 0	0.749 0	374.498 9	
四川平均			374.498 9	1.872 5

2.3 不同产地南五味子总多糖含量

在 490 nm 波长处, 测定不同产地的南五味子样品溶液的吸光度值, 根据标准曲线计算总多糖含量, 结果见表 2。由表 2 可以看出, 整粒提取时, 陕西产地南五味子的折合药材总多糖质量分数为 9.665%, 四川产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 10.080%, 甘肃产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 11.180%; 研碎提取时, 陕西产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 10.360%, 四川产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 9.560%, 甘肃产南五味子的折合药材总多糖质量分数为 12.830%。由此可看出, 研碎后不同产地南五味子总多糖质量分数差异性明显, 甘肃产南五味子总多糖质量分数较研碎前增加了 1.650 百分点, 四川产南五味子总多糖质量分数较研碎前减少了 0.520 百分点, 陕西产南五味子总多糖质量分数较研碎前增加了 0.695 百分点。

表 2 不同产地南五味子药材中总多糖^①

产地	整粒提取物		研碎提取物	
	总多糖 提取率 /%	折合药材总多糖 质量分数 /%	总多糖 提取率 /%	折合药材总多糖 质量分数 /%
陕西	1.934	9.665	2.074	10.360
四川	2.017	10.080	1.911	9.560
甘肃	2.238	11.180	2.567	12.830

① 每个产地的南五味子均重复 3 次, 多糖含量为平均值。

3 小结与讨论

测定结果表明, 甘肃、陕西、四川产南五味

子中以四川产南五味子折合药材木脂素质量分数最高, 达 1.872 5%; 陕西产南五味子折合药材木脂素质量分数次之, 为 1.412 6%; 甘肃产南五味子折合药材木脂素质量分数最低, 为 1.253 4%。整粒提取和研碎后提取均以甘肃产南五味子折合药材总多糖质量分数最高, 分别为 11.180%、12.83 0%, 均高于四川产和陕西产。经研碎处理后, 甘肃产南五味子折合药材总多糖质量分数较研碎前增加了 1.65 百分点, 四川产南五味子折合药材总多糖质量分数较研碎前减少了 0.52 百分点, 陕西产南五味子折合药材总多糖质量分数较研碎前增加了 0.695 百分点。甘肃产和陕西产的南五味子研碎处理测的总多糖质量分数明显高于研碎前整粒提取, 说明传统“五味子宜研碎入药”的合理性。四川产南五味子研碎之后提取所得多糖质量分数低于研碎前的整粒提取, 这可能与人工研碎材料不均匀以及醇沉时间短有关。

有关文献报道, 影响南五味子多糖提取得率的因素很多, 如料液比、时间、pH、温度等^[8-15]。本研究测定的是南五味子水提物中的木脂素质量分数和总多糖质量分数, 之所以选择水提醇沉法提取木脂素和多糖, 采用紫外-分光光度法测定木脂素质量分数和总多糖质量分数, 因为其简单, 易操作。木脂素质量分数和总多糖质量分数有差异的原因, 除产地环境外, 南五味子的栽培管理、采收季节、加工方式都可能产生影响。近年来, 由于市场经济刺激, 多数药农以及加工企业有抢收, 或者以次充好的情况存在。在推广规范化生产技术的同时, 也不能忽视生长环境对南五味子木脂素质量分数和总多糖质量分数的影响。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 孙成仁. 北五味子与华中五味子分布区订正[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(1): 10-12
- [3] 夏继成. 南五味子化学成分及其活性研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2012(2): 10.
- [4] 蒋红, 王宏军, 李新国, 等. 大叶南五味子多糖纯化工艺优化[J]. 中国农学通报, 2013, 29(18): 206-210.
- [5] 郭志欣, 顾地周, 宋宇辉, 等. 五味子药渣中多糖提取工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 254-255.
- [6] 张朝波, 柳燕, 李林燕. 南五味子总木质素有效部位镇静、催眠作用研究[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(1): 29-30.

假单胞菌 HC5 对马铃薯晚疫病菌的抑制作用研究

张艳萍¹, 令利军², 赵 瑛¹, 厚毅清¹

(1. 甘肃省农业科学院生物技术研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 西北师范大学生命科学学院, 甘肃兰州 730070)

摘要: 从土壤中分离获得对马铃薯晚疫病菌具有较强拮抗作用的假单胞菌 HC5。采用皿内涂布法、平板对峙法和平板渗透法分别评价了 HC5 菌株发酵液对马铃薯晚疫病菌的抑制能力, 采用平板渗透法进一步研究了菌株 HC5 发酵液在不同温度、pH 以及紫外线照射时间下对马铃薯晚疫病菌抑制的稳定性。结果显示, 不同方法下, 菌株 HC5 对马铃薯晚疫病菌均具有较强的抑制作用, 与对照组相比, 病原菌几乎不生长。菌株 HC5 发酵液在温度 50 ℃ 以下, pH 为 5~11 时, 紫外线照射 120 min 均对马铃薯晚疫病菌具有抑制作用, 即菌株 HC5 的耐受稳定性较强。

关键词: 假单胞菌 HC5; 马铃薯晚疫病; 抑制作用

中图分类号: S188.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2018)01-0033-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.01.011

Study on Antagonistic Activity on *P. infestans* Exhibited from *Pseudomonas* sp. HC5

ZHANG Yanping¹, LING Lijun², ZHAO Ying¹, HOU Yiqing¹

(1. Institute of Biotechnology, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: *Pseudomonas* sp. HC5 which have strong antagonistic efficacy on *P. infestans* was isolated from the soil. The antagonistic ability of strain HC5 fermentation liquor on *P. infestans* were evaluated with surface spread plate method, plate confront antibiotic method and plate penetration method. With plate penetration method, the stabilities of strain HC5 fermentation liquor under different temperature treatments, different pH treatments and different time of ultraviolet light treatments were studied. The results show that strain HC5 all have strong antagonistic efficacy on *P. infestans*, and pathogen did not grow comparing to the control. The strain HC5 fermentation liquor have antagonistic efficacy on *P. infestans* below temperature 50 ℃, between pH 5~11 and 120 minutes in ultraviolet light treatment. The strain HC5 have strong tolerance and stability.

Key words: *Pseudomonas* sp. HC5; *Phytophthora infestans*; Antibiotic activity

马铃薯晚疫病是由致病疫霉 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] 引起的一种毁灭性的病害,

严重影响着马铃薯的产量和品质^[1-2]。目前, 马铃薯晚疫病防治主要包括化学防治、抗病育种

收稿日期: 2017-11-30

基金项目: 甘肃省农业科学院农业科技创新专项“甘肃省马铃薯晚疫病的拮抗生防菌分离筛选”(2015GAAS36)。

作者简介: 张艳萍(1978—), 女, 甘肃武威人, 助理研究员, 主要从事微生物发酵、病毒检测工作。联系电话:

(0)18919072177。E-mail: 64929217@qq.com。

- [7] 肖培根. 新编中药志: 二卷 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 435.
- [8] 陈晓青, 蒋新宇, 刘佳佳. 中草药成分分离分析与方法 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 150-153.
- [9] 李晓亮, 易进海, 刘云华, 等. 南五味子、五味子 HPLC 指纹图谱研究和木脂素成分测定 [J]. 中成药, 2011(6): 920-924
- [10] 王小宁, 闫丽萍, 胡玉敏, 等. 五味子总木脂素的提取纯化 [J]. 食品与药品, 2013(4): 11-13.
- [11] 邓寒霜, 李筱玲. 陕西省不同产地南五味子品质分析研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 222-223.
- [12] 蒋益萍, 张巧艳, 张 宏, 等. 正交试验优选五味

子木脂素类成分的提取工艺 [J]. 中成药, 2013, 35 (11): 2390-2394.

- [13] 杜为军, 刘 枫, 马翠娇, 等. 毛头牛蒡子总木脂素含量测定 [J]. 新疆师范大学学报: 自然科学版, 2013(4): 24-27.
- [14] 陆兔林, 吴 杨, 季 德, 等. 五味子多糖提取分离和药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 751-754.
- [15] 梁少华, 王金亚, 杨瑞楠. 亚麻籽油中木脂素含量测定方法研究 [J]. 中国粮油学报, 2014(5): 15-17.

(本文责编: 郑立龙)