

高效液相色谱法测定仙草全草中槲皮素含量

冯国金¹, 冯翠兰², 董华强², 冯允庄², 林小瑜², 刘富来²

(1.新会出入境检验检疫局, 广东 新会 529100; 2.佛山科学技术学院, 广东 佛山 528231)

摘要:应用高效液相色谱法测定仙草全草中槲皮素的含量,色谱柱采用 Ultimate XB-C₁₈柱,流动相为乙腈:水:磷酸(45:55:0.4),槲皮素的回归方程为: $Y=3739024X+169$, $r=0.9992$ 。

关键词:仙草;槲皮素;高效液相色谱法

中图分类号:Q949.777.6;Q946.83*3 文献标识码:B

文章编号:1004-874X(2009)06-0168-01

仙草(*Mesona Blume*)又名仙人草、凉粉草、仙人冻、薪草,为唇形科仙草属一年生草本植物,属于重要的药食兼用的东方植物资源,分布于我国的广东、福建、广西、江西、海南、浙江、台湾和云南等地,印度、印度尼西亚、马来西亚也有分布,我国南方部分地区有田间栽培。据《中药大辞典》记载,仙草性味涩、甘、寒,具清暑解渴、凉血之功效,可治中暑、高血压、肌肉及关节疼痛。有研究表明,仙草多糖具有显著的抗脂质过氧化作用。据台湾相关报道,饮用仙草茶还具有清除超氧阴离子的功效,其清除效果达到90%左右,为目前流行的保健方法。

在仙草所含成分中,黄酮类物质具有抑制癌细胞生长、降低血压的作用。槲皮素为仙草黄酮类物质的主要成分,具有较好的祛痰、止咳、平喘作用,此外还有降低血压、增强毛细血管抵抗力、减少毛细血管脆性、降血脂、扩张冠状动脉等作用,可辅助治疗冠心病及高血压。但目前有关仙草中槲皮素含量的测定方法未见报道。鉴于此,本试验利用高效液相色谱法初步建立了测定仙草全草中槲皮素含量的方法,现将试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的仙草全草分别采自丰顺县仙洞镇和汤坑镇。试验所用槲皮素标准品由中国药品生物制品检定所提供(批号100081-200406),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;使用的主要仪器为SY-8000高效液相色谱仪。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Ultimate XB-C₁₈(5 μm,4.6 mm×250 mm),流动相:乙腈:水:磷酸(45:55:0.4),流速:1.0 mL/min,检测波长:360 nm,柱温:25℃。

1.2.2 精密度试验与标准曲线的制备 精密称取槲皮素标准品4.0 mg,置于25 mL容量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,配成贮备液。精密吸取贮备液20 μL,连续进样6次,按1.2.1色谱条件测定槲皮素的峰面积,检测仪器的精密度。另外,精密吸取贮备液0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL,分别置于10 mL容量瓶中,加入甲醇至刻度,混匀,分别进样20 μL,测定槲皮素的峰面积,绘制标准曲线。

1.2.3 仙草全草样品制备和测定 精密称取仙草全草样品2 g,置于索氏提取器中,加入60 mL氯仿提取8 h,挥干溶剂,加入60 mL甲醇提取10 h,浓缩至小体积,转移到25 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度。按1.2.1色谱条件,进样20 μL,测定槲皮素的峰面积,通过回归方程计算仙草全草样品中的槲皮素含量。

1.2.4 回收率试验 精密称取1 g已知槲皮素含量的仙草全草样品共6份,分别置于索氏提取器中,加入60 mL氯仿提取8 h,挥干溶剂,再加入适量槲皮素标准品贮备液,加入60 mL甲醇提取10 h,浓缩至小体积,转移到25 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,分别进样20 μL,测定峰面积,计算回收率。

2 试验结果

2.1 精密度

精密度计算结果RSD为0.85%,表明仪器精密度良好。

2.2 仙草全草样品中的槲皮素含量

利用本检测方法得到槲皮素的回归方程为: $Y=3739024X+169$, $r=0.9992$,式中Y为峰面积,X为样品浓度(μg/mL)。结果表明,槲皮素含量在6.4~64 μg/mL范围内与峰面积呈良好的线性关系。对丰顺县仙洞镇存放1年的仙草陈草,测定结果显示,提取液中的槲皮素含量为18.5 μg/mL;折算全草样品中槲皮素含量为0.1813 mg/g。以同样的方法测定产自仙洞和汤坑

收稿日期:2009-02-25

作者简介:冯国金(1974-),男,兽医师,E-mail:sunking88@163.com

胚拯救技术及百合的胚培养研究进展

王少平¹, 林紫玉¹, 杜绪明²

(1.河南科技学院园林学院,河南 新乡 453003;2.河南理工大学后勤处,河南 焦作 454000)

摘要:百合育种中由于胚败育致使杂交后代不能正常生长发育,胚培养技术解决了杂交幼胚生长发育的关键问题,在育种实践中发挥了巨大作用。综述了目前在百合胚培养研究中已获得的技术成就,这些技术不但对百合胚培养研究具有指导意义,同时也为今后百合的育种工作产生巨大作用。

关键词:胚拯救技术;百合;胚培养

中图分类号:Q32;S682.2*9 文献标识码:A 文章编号:1004-874X(2009)06-0169-03

胚培养的最早记录可追溯到18世纪,Charles 分离并培养了菜豆(*Phaseolus*)与荞麦(*Fagopyrum*)的胚并获得了植株。在1890年左右,营养液被用于胚培养。更加系统的胚拯救技术应用始于20世纪初^[1], Hannig 在1904年提出胚胎组织培养的研究路线,在一些十字花科植物如萝卜(*Raphanus sativus*)、陆萝卜(*Raphanus landra*)、鼠尾萝卜(*Raphanus caudatus*)和辣根(*Cochlearia donica*)上应用,取这些植物接近成熟的胚分离培养,成功地在含有无机盐和糖液的培养基上将其培养为成熟胚;Laibach 使用不能发育成有活力种子的亚麻杂种(宿根亚麻×澳洲亚麻)将其合子胚培养成熟,获得了在自然条件下由于胚败育而得不到的杂种;Van 等在1941年在诱导曼陀罗植物胚胎发育和愈伤组织形成中使用椰子汁(液体胚乳),增加了培养基中的营养促使胚胎生长和发育,成为胚胎培养的转折点。以上研究激励了人们对胚胎培养的深入研究^[2]。迄今为止,通过胚胎培养已经获得了许多由于胚败育而不能获得的杂种,开创了胚胎培养在植物育种中应用的先河。

1 胚胎培养研究进展

周传恩等^[3]对小麦远缘杂交胚拯救技术进行综述,

收稿日期:2009-02-18

作者简介:王少平(1965-),女,副教授,E-mail:wsp@hist.edu.cn



两地当年采收的新鲜干草样品,结果其槲皮素含量分别为0.1702 mg/g 和 0.1687 mg/g。

2.3 回收率

称取1g 已知槲皮素含量的仙草全草样品6份,分别加适量槲皮素标准品贮备液进行回收试验,结果显示平均回收率为96.7%,RSD为1.98%。

提出植物的胚胎培养广义上包括子房切片培养、胚珠培养、胚培养,从而界定了胚胎培养技术的范围。

贺佳玉等^[4]从植物胚胎败育机理及影响植物胚胎离体挽救成功的因素2个方面,综述了近年来有关植物胚胎败育的研究进展。指出从器官发育、生理生化指标和遗传角度来看,引起植物胚胎败育的主要原因有七类,包括胚囊发育异常、胚乳发育异常、幼胚起源、营养供应失调、内源激素、酚类物质、某些酶的活性变异及基因调控。由于胚胎败育原因的多样性,增加了胚挽救的难度。影响植物胚挽救成功与否的主要因素包括胚挽救材料及处理方式、胚龄、培养基种类及培养条件、渗透压、添加剂等。

唐征等^[5]对甘蓝型油菜与青花菜种间杂种子房离体培养获得了杂交后代。授粉后15d的子房离体培养效果最好,最佳的子房离体培养基为1/2MS+B5有机+IAA1.5 mg/L+蔗糖50 g/L,利用杂交授粉后子房离体培养的方法克服了甘蓝型油菜与青花菜杂种后代杂种胚的衰亡,并通过组织培养技术获得了杂交后代,对远缘杂交的育种途径进行了探索。

Beasley 等用棉属种间杂种胚珠进行离体培养均获得了杂种植株。时香玉等^[6]以陆地棉为母本分别与海岛棉、亚洲棉杂交,以海岛棉为母本与亚洲棉杂交,取杂交授粉后2、4、5、8d的受精胚珠进行离体培养,筛选出棉花杂种胚珠培养的适宜时期为授粉后4~6d。

孙晓梅等^[7-8]从培养基种类、碳源浓度、pH值、活性

3 讨论

本试验结果表明,高效液相色谱法可以作为测定仙草全草中槲皮素含量的方法。此外,不同时间不同产地采集的仙草样品所含成分类似,但含量高低不同,其中以丰顺县仙洞镇存放1年的陈草样品的槲皮素含量最高。