

## · 中药农业 ·

不同产地菊花质量研究<sup>△</sup>

杨朝帆, 董诚明\*, 邢冰, 夏伟, 田亚杰

(河南中医药大学, 河南 郑州 450046)

**[摘要]** **目的:** 通过对市场上流通的不同产地、规格的杭菊、亳菊、滁菊、怀菊进行绿原酸、木犀草苷、槲皮素及3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸4个指标性成分含量的检测, 根据含量的差异探讨品种、栽培地区等因素对菊花含量的影响, 为菊花引种栽培提供理论依据。**方法:** 采用紫外-可见分光光度计测定总黄酮含量; 采用HPLC测定菊花中绿原酸、木犀草苷、槲皮素及3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量。**结果:** 综合分析, 市场上流通的不同规格药用菊花中安徽滁州产区的滁菊质量较佳。**结论:** 菊花的主要化学成分含量因栽培品种、栽培地区不同而存在明显差异。

**[关键词]** 菊花; 质量评价; 总黄酮

**Study on Quality of *Chrysanthemum morifolium* from Different Habitats**

YANG Chao-fan, DONG Cheng-ming\*, XING Bing, XIA Wei, TIAN Ya-jie

(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**[Abstract]** **Objective:** Chlorogenic acid, luteoloside, quercetin and 3, 5-dicaffeoylquinic acid in Hangju, Boju, Chuju and Huaiju from different areas and specifications were determined. The effects of variety, cultivation area and other factors on the content of *Chrysanthemum morifolium* were discussed based on the differences in content. **Methods:** Total flavonoids were tested by UV-visible spectrophotometer and chlorogenic acid, luteoloside, quercetin and 3, 5-dicaffeoyl quinic acid content were determined by HPLC. **Results:** Based on the comprehensive analysis, the quality of the Chuju which was produced in the Chuzhou of Anhui province was the best in different specifications of medicinal *Ch. morifolium* circulated in markets. **Conclusion:** Main chemical compositions of *Ch. morifolium* were significantly different due to different cultivars and cultivation areas.

**[Keywords]** *Chrysanthemum morifolium*; quality evaluation; total flavonoids

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20170519008

菊花为菊科菊属多年生草本植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 有散风清热、平肝明目、清热解毒的功能, 临床上用于治疗风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛、眼目昏花、疮痈肿毒<sup>[1]</sup>。菊花作为药食两用植物, 在我国已有3000多年的栽培历史<sup>[2]</sup>, 因其产地变迁、加工方法的改进等, 逐渐形成了不同的商品和规格, 有杭白菊、亳菊(小亳菊)、大马牙(大亳菊)、贡菊、滁菊、怀菊等<sup>[3]</sup>, 其中以杭菊、亳菊、滁菊、怀菊最为有名, 有“四大名菊”之称<sup>[4]</sup>。目前, 国内外学者已经对菊花的产地变迁、栽培、遗传育

种、类型之间的质量比较、药理作用等方面进行了大量研究, 其活性成分主要有黄酮、绿原酸、挥发油等类成分, 影响其质量的因素涉及品种、栽培条件、采收时间、产后加工、炮制和贮存等<sup>[5-7]</sup>。2015年版《中华人民共和国药典》(《中国药典》)一部中, 菊花药材按产地及加工方法不同, 分为“亳菊”“杭菊”“滁菊”“怀菊”“贡菊”。《中国药典》以绿原酸、木犀草苷及3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸为检测指标进行含量测定。本文通过对市场上流通的不同规格的杭菊、亳菊、滁菊、怀菊进行绿原酸、木犀草苷、槲皮素、3, 5-O-二咖啡酰基

<sup>△</sup> [基金项目] 中央引导地方科技发展专项资金项目(2016年度)

\* [通信作者] 董诚明, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中药材规范化种植; E-mail: dcm371@sohu.com

奎宁酸以及总黄酮含量的检测,并对主要化学成分进行比较分析,以期探讨菊花内在化学成分之间的关联性,从而进一步为菊花质量评价提供依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

样品为市场流通的药用菊花,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为菊花 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,具体样品信息见表1。

表1 收集的菊花样品信息表

编号	药材名称	药材产地	产地地形	样品来源	样品特征
1	滁菊	安徽滁州	丘陵	亳州药材市场	滁菊
2	亳菊	安徽亳州	平原	亳州药材市场	大亳菊
3	亳菊	安徽亳州	平原	亳州药材市场	小亳菊
4	杭菊	安徽亳州	平原	亳州药材市场	亳州引种江苏杭菊
5	杭菊	江苏射阳	平原	亳州药材市场	胎菊
6	杭菊	浙江桐乡	平原	亳州药材市场	胎菊
7	杭菊	浙江桐乡	平原	亳州药材市场	杭菊
8	怀菊	河南武陟	平原	宛西山药基地	白
9	怀菊	河南武陟	平原	宛西山药基地	黄

### 1.2 仪器与试剂

UV-3200S型紫外可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);Waters 2596型高效液相色谱仪。

对照品绿原酸(纯度 $\geq 98\%$ ,批号:110753-200413)、槲皮素(纯度 $\geq 98\%$ ,批号:100081-200907)、木犀草苷(纯度 $\geq 98\%$ ,批号:720-200905)和芦丁(纯度 $\geq 98\%$ ,批号:100080-9303)均购于中国食品药品检定研究院;3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,CAS号码:2450-53-5)购于四川维克奇生物科技有限公司;甲醇、乙腈为色谱纯;水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 水分测定

参照《中国药典》2015版通则0832第二法进行测定<sup>[1]</sup>。

### 2.2 总黄酮含量的测定

参考刘利军等<sup>[8]</sup>的实验方法测定总黄酮含量。

2.2.1 对照品溶液制备 精密称定芦丁对照品5.1 mg,

置25 mL锥形瓶中,加70%甲醇制成每1 mL含芦丁0.204 mg的溶液,即得。

2.2.2 标准曲线的制备 精密量取204  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的芦丁对照品溶液0、1.0、2.0、3.0、4.0 mL,分别置于10 mL带刻度试管中,各加入5%的亚硝酸钠0.3 mL,摇匀,放置6 min,加入10%硝酸铝0.3 mL,摇匀,放置6 min,4%的氢氧化钠2 mL,加70%乙醇定容至刻度,摇匀,放置10 min,在510 nm波长处测定吸光度,以芦丁含量为横坐标,吸光度为纵坐标做线性回归,回归方程为 $Y = 12.436X - 0.0016$ , $r = 0.9998$ ,表明芦丁在0~0.816 mg吸光度与芦丁含量呈良好的线性关系。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取1 g过五号筛的菊花粉末,于具塞磨口锥形瓶中,加入70%乙醇30 mL,60℃水浴0.5 h,取出抽滤,洗涤,置100 mL的容量瓶,70%乙醇定容至刻度,精密量取3 mL于10 mL容量瓶中,用30%乙醇定容至刻度,静置备用。

2.2.4 含量测定 精密量取供试品溶液2 mL于10 mL带刻度的试管中,以不加供试品为空白对照,照2.2.2进行测定。

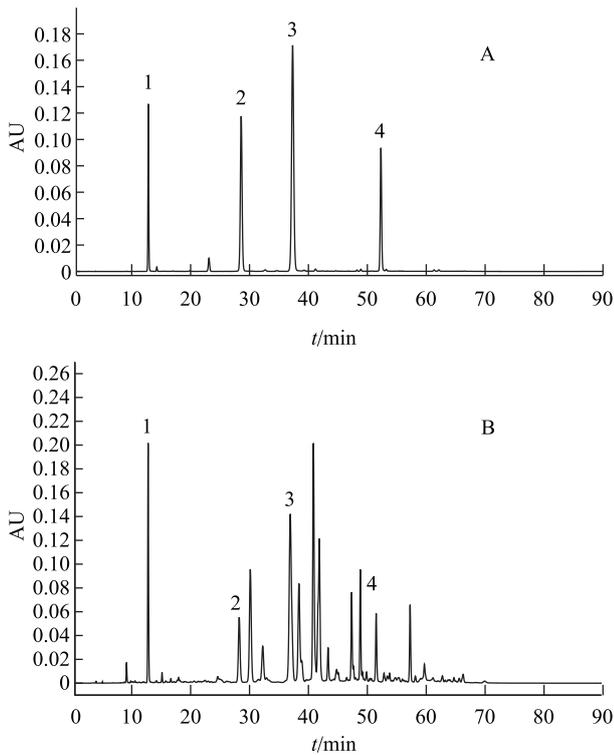
2.3 绿原酸、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸、木犀草苷、槲皮素的含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱: Xaquac C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈(A)-0.2%磷酸(B),梯度洗脱,程序见表2;检测波长: 348 nm;柱温: 30℃;进样量: 10  $\mu\text{L}$ 。对照品及供试品溶液色谱图见图1。

表2 菊花中4种化合物检测的流动相梯度洗脱程序表

t/min	流速/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0→11	0.8	10→18	90→82
11→30	0.8→0.6	18→21	82→79
30→40	0.6	21→28	79→72
40→60	0.6	28→40	72→60
60→65	0.6→0.8	40	60
65→85	0.8	40→10	60→90

2.3.2 混合对照品溶液的制备 精密称取绿原酸4.62 mg、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸3.06 mg、木犀草苷1.46 mg、槲皮素3.46 mg,于10 mL量瓶中,用70%甲醇水溶解并稀释至刻度,摇匀,4℃密封避光保存,备用。



注: A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; 1. 绿原酸; 2. 木犀草苷; 3. 3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸; 4. 槲皮素。

图1 混合对照品及菊花样品 HPLC 图

2.3.3 供试品溶液制备 精密称取菊花粗粉 0.5 mg, 置具塞锥形瓶中。精密加入 70% 甲醇水 50 mL, 称量。超声处理 40 min, 补足失重。摇匀, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.22  $\mu\text{m}$ ) 滤过, 备用。

2.3.4 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液 2.5、5、7.5、10、12.5、15  $\mu\text{L}$ , 按 2.3.1 色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标( $Y$ ), 进样量为横坐标( $X$ ), 绘制标准曲线, 得到相应回归方程, 见表 3。

表3 绿原酸、3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸、木犀草苷、槲皮素的标准曲线及线性范围

成分	线性回归方程	$r$	线性范围/ $\mu\text{g}$
绿原酸	$Y = 22\ 907X + 3\ 288.4$	0.999 8	1.155 ~ 6.930
3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸	$Y = 51\ 624X - 41\ 529$	0.999 8	0.765 ~ 4.590
木犀草苷	$Y = 28\ 226X - 91\ 255$	0.999 8	0.365 ~ 2.190
槲皮素	$Y = 59\ 547X - 35\ 639$	0.999 9	0.865 ~ 5.190

2.3.5 样品含量测定 吸取各菊花供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 测定<sup>[9]</sup>, 即得。

### 3 结果与分析

#### 3.1 含量测定结果

由表 4 含量测定结果可以看出, 不同产地菊花样品在总黄酮、绿原酸、木犀草苷、3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸、槲皮素含量上存在显著差异。菊花样品中总黄酮质量分数为 6.67% ~ 12.41%, 其中以样品 5 和样品 1 较高, 即江苏射阳产杭菊和安徽滁州产滁菊含量较高, 分别为 12.41%、10.49%, 样品 4 即安徽亳州产杭菊的总黄酮含量较低, 为 6.67%; 绿原酸含量以样品 5 即江苏射阳产杭菊绿原酸含量较高, 为 1.10%; 样品 6 即浙江桐乡杭菊绿原酸含量较低, 为 0.52%; 木犀草苷含量以样品 6 即浙江桐乡产杭菊含量较高, 为 0.54%; 样品 4 即安徽亳州产杭菊的木犀草苷含量较低, 为 0.15%; 3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量以样品 1 即安徽滁州滁菊含量较高, 为 3.83%; 而样品 4 和 6 即安徽亳州产杭菊和浙江桐乡产杭菊较低, 分别为 1.37%、1.38%; 槲皮素含量以样品 8 即河南武陟产白怀菊较高, 为 0.22%; 而样品 6 和 7 即浙江桐乡产胎菊和杭菊较低, 为 0.03%、0.02%。

表4 不同产地菊花中总黄酮及 4 种化学成分的含量测定结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

样品编号	总黄酮	绿原酸	木犀草苷	3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸	槲皮素
1	10.49 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	0.90 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	3.38 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
2	9.91 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	0.93 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	1.96 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
3	8.61 $\pm$ 0.27 <sup>d</sup>	0.90 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.74 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
4	6.67 $\pm$ 0.17 <sup>e</sup>	0.57 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.37 $\pm$ 0.06 <sup>f</sup>	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
5	12.41 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	1.10 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	1.97 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
6	7.60 $\pm$ 0.25 <sup>f</sup>	0.52 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.54 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.08 <sup>f</sup>	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>
7	7.94 $\pm$ 0.20 <sup>ef</sup>	0.91 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.52 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.91 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.02 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>
8	8.43 $\pm$ 0.23 <sup>de</sup>	0.70 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.59 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	0.22 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
9	8.63 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>	0.92 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.62 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>

注: 同列数据不同小写字母表示差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 同列数据相同小写字母表示差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 3.2 相关性分析

利用 SPSS 19.0 软件, 选择 Pearson 相关系数对各化学成分进行双侧  $t$  检验相关性分析, 结果见表 5。

表 5 总黄酮、绿原酸、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、木犀草苷、槲皮素含量的相关性分析表

化学成分含量	总黄酮含量	绿原酸含量	木犀草苷含量	3, 5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸含量	槲皮素含量
总黄酮含量	1				
绿原酸含量	0.796*	1			
木犀草苷含量	-0.219	-0.246	1		
3, 5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸含量	0.530	0.409	-0.161	1	
槲皮素含量	0.531	0.351	-0.612	0.293	1

注: \*  $P < 0.05$  水平(双侧)上显著相关。

由表 5 可以看出, 菊花样品中绿原酸含量与总黄酮含量呈显著正相关, 但与木犀草苷、槲皮素等黄酮类化学物质含量没有明显的相关性, 同时与同为酚酸类的 3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量也没有明显相关性。而木犀草苷含量与其他成分含量均呈负相关, 由于样本量较小, 无统计学意义。

### 3.3 变异系数权重法的综合评价

在综合评价中, 权重系数是评价的关键, 权重系数法可分为主观的专家咨询权数法, 以及客观的因子分析权数法、独立性权数法和信息量权数法<sup>[10]</sup>。主观定权需要对指标进行打分, 具有较强的主观影响, 而本实验根据表征评价指标特征值之间的差异性, 选客观的因子分析权数法, 其变异系数越大, 权重越大。选取指标中的总黄酮、绿原酸、木犀草苷、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、槲皮素含量进行综合评价。具体计算步骤如下:

$$\text{变异系数 } \delta_i = \frac{D_i}{\bar{X}_i} (i = 1, 2, 3, \dots, n) \quad (1)$$

式中:  $\delta_i$  为第  $i$  项指标的变异系数;  $D_i$  为第  $i$  项指标的标准差;  $\bar{X}_i$  为第  $i$  项指标的平均数。

根据公式(1)可得变异系数为:

	$\delta_i$
$C_1$	0.01
$C_2$	0.01
$C_3$	0.01
$C_4$	0.01
$C_5$	0.02

式中:  $C_1 \sim C_5$  分别代表总黄酮含量、绿原酸含量、木犀草苷含量、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量、槲皮素含量。

根据变异系数( $\delta_i$ ), 按公式(2)计算权重系数( $A_i$ ), 按公式(3)计算综合得分( $W_i$ )。

$$A_i = \frac{\delta_i}{\sum_{i=1}^n \delta_i} \quad (2)$$

	$A_i$
$C_1$	0.11
$C_2$	0.13
$C_3$	0.26
$C_4$	0.21
$C_5$	0.30

$$W_i = \sum_{i=1}^n A_i \times X_i \quad (3)$$

式中:  $X_i$  为第  $i$  项指标的指标值。

	$W_i$
$M_1$	2.18
$M_2$	1.74
$M_3$	1.53
$M_4$	1.16
$M_5$	2.04
$M_6$	1.34
$M_7$	1.53
$M_8$	1.49
$M_9$	1.49

由最终得分可知, 样品综合得分为  $M_1 > M_5 > M_2 > M_3$ 、 $M_7 > M_8$ 、 $M_9 > M_6 > M_4$ , 即滁菊(安徽滁州) > 杭菊(胎菊, 江苏射阳) > 亳菊(大亳菊) > 亳菊(小亳菊)、杭菊(浙江桐乡) > 怀菊(白, 河南武陟)、怀菊(黄, 河南武陟) > 杭菊(胎菊, 浙江桐乡) > 江苏杭菊(亳州引种)。安徽滁州的滁菊综合评价得分较高, 为 2.18, 较其他地区菊花质量佳; 而由亳州引种的江苏杭菊综合评价得分较低为 1.16, 较其他地区菊花质量差。

## 4 讨论

按《中国药典》进行含量测定时是按照样品的干燥品进行计算的; 本文进行水分测定, 是为总黄酮、绿原酸、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、木犀草苷、槲皮素的含量计算时扣除水分, 使所有样品在同一水平下进行含量比较, 使实验结果更为严谨。

本实验在对结果进行分析时,先对菊花的各检测指标进行相关性分析,进而采用变异系数加权法进行综合分析。权重系数往往决定了数据的最终综合评分,权重系数一般分为主观和客观两种,主观是指专家咨询权数法,客观包括独立性权数法、分析权数法和信息量权数法。本实验选定信息量权数法进行权重系数的确定。采用加权平均法,将总黄酮、绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸、槲皮素含量设为评价菊花的5个条件来评价菊花样品的质量,各样品质量排序为滁菊(安徽滁州) > 杭菊(胎菊,江苏射阳) > 亳菊(大亳菊) > 亳菊(小亳菊)、杭菊(浙江桐乡) > 怀菊(白,河南武陟)、怀菊(黄,河南武陟) > 杭菊(胎菊,浙江桐乡) > 江苏杭菊(亳州引种)。滁菊(安徽滁州)样品得分最高,滁菊的总黄酮质量分数为10.49%、绿原酸质量分数为0.90%、木犀草苷质量分数为0.23%、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸质量分数为3.83%、槲皮素质量分数为0.16%,较其他样品质量佳。本文研究结果与滁菊为“四大药菊”之首<sup>[11]</sup>的报道结果相一致。从菊花的总黄酮、绿原酸、木犀草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸、槲皮素含量测定结果看,不同产地、不同品种菊花的5种成分含量差异较大,可能与种植、采收、产地加工、环境、土壤、气候等因素有关,有待进一步考察研究。

在本实验质量排序中,杭菊(胎菊,江苏射阳) > 杭菊(浙江桐乡) > 杭菊(胎菊,浙江桐乡) > 江苏杭菊(亳州引种)的结果也与索凤梅等<sup>[4]</sup>的“杭菊和亳菊对生态环境的要求相对较高”这一观点相一致。药材具有一定的道地性,同种异地

种植的药材,江苏杭菊(亳州引种)与亳菊(亳州)、杭菊(浙江、杭州、江苏)在质量上有明显差异,表明药材要遵循其道地性原则及其产地适宜性原则<sup>[4]</sup>。

### 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,2015:310-311.
- [2] 邵清松,郭巧生. 药用菊花道地药材形成源流考[J]. 时珍国医国药,2009,20(7):1751-1752.
- [3] 王珊,李友连,苏靖,等. 中国药用菊花品种及加工方法变迁的研究[J]. 中国药学杂志,2017,52(7):539-542.
- [4] 索凤梅,陈士林,余华,等. 中国四大名菊的产地适宜性研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2011,13(3):332-339.
- [5] 白晓艳. 采收期对药用菊花产量与质量的影响[J]. 河北林业科技,2015(3):10-11.
- [6] 郭巧生,汪涛,程俐陶,等. 药用菊花不同栽培类型总黄酮动态积累研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(11):1237-1239.
- [7] 覃珊. 产后加工、采收期和花序不同部位对菊花质量影响的研究[D]. 济南:山东大学,2011.
- [8] 刘利军,于艳,时维静,等. 安徽省3种药用菊花总黄酮含量比较[J]. 安徽科技学院学报,2012,26(4):47-50.
- [9] 于艳,时维静,邓家胜,等. 菊花中7种化合物HPLC检测方法的建立[J]. 安徽科技学院学报,2012,26(5):43-48.
- [10] 杜真辉,董诚明,熊玉萍,等. 菌肥与复合肥组合对地黄产量及品质的影响[J]. 作物杂志,2016(4):146-149.
- [11] 陈世勇,李英峰,史亚东,等. 滁菊低产原因分析及对策[J]. 安徽农业科学,2011,39(10):5784-5785.

(收稿日期 2017-05-19)