

杨晓琼, 范源洪, 何璐, 袁建民, 孔维喜, 许智萍. 云南热区香茅草总黄酮及矿质元素含量[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27 (2): 366-373

Yang XQ, Fan YH, He L, Yuan JM, Kong WX, Xu ZP. Evaluation of total flavonoids and mineral elements in *Cymbopogon citratus* in the Yunnan tropical area [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2021, 27 (2): 366-373

云南热区香茅草总黄酮及矿质元素含量

杨晓琼¹ 范源洪² 何璐^{1✉} 袁建民¹ 孔维喜¹ 许智萍¹

¹云南省农业科学院热区生态农业研究所 元谋 651300

²云南元谋干热河谷植物园 元谋 651300

³云南农业大学云南省高原特色农业研究院 昆明 650051

摘 要 以云南热区10个不同产地的香茅草 (*Cymbopogon citratus*) 为试材, 利用正交设计优化香茅草中总黄酮的提取工艺条件, 研究不同产地香茅草中总黄酮与矿质元素含量及其相关性。结果显示, 总黄酮的最佳提取工艺条件为65%乙醇、75 °C、1:35 (g/mL) 料液比、提取4 h, 得率达到最高值。产地德宏的香茅草中总黄酮的含量最高, 为7.458%, 产地南华的最低, 为3.605%; 不同产地香茅草13种矿质元素中, 含量差异明显, 其中K、Ca、Mg、P和S含量最为丰富, 为1 058.33 mg/kg以上, 产地德宏的香茅草中K元素含量高达29 647.5 mg/kg, 而Cr元素的含量仅为5.83 mg/kg, 且总黄酮含量最高的产地德宏的香茅草中矿质元素K的含量也最高。相关性研究发现香茅草中总黄酮含量与Ca呈负相关, 相关系数为-0.500, 与K呈正相关, 相关系数为0.480。系统聚类分析发现产地保山、双江、红河、德宏、南华中矿质元素含量与总黄酮含量之间具有相关性, 说明这些产地香茅草种质中矿质元素、总黄酮含量具有相似性。本研究表明云南热区香茅草种质中黄酮、不同矿质元素含量具有差异, 总黄酮与矿质元素含量之间存在一定的相关性, 矿质元素可能影响总黄酮的形成和积累; 结果可为云南热区香茅草资源的种质筛选、良种培育及产品开发提供科学依据。(图2表5 参32)

关键词 香茅草; 总黄酮; 矿质元素; 正交设计; 云南热区

Evaluation of total flavonoids and mineral elements in *Cymbopogon citratus* in the Yunnan tropical area

YANG Xiaoqiong¹, FAN Yuanhong², HE Lu^{1✉}, YUAN Jianmin¹, KONG Weixi¹ & XU Zhiping¹

¹ Tropical Eco-agricultural Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yuanmou 651300, China

² Dry-hot Valley Botanic Garden, Yuanmou 651300, China

³ Yunnan Plateau Characteristic Agricultural Industry Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650051, China

Abstract Using citronella, *Cymbopogon citratus*, from ten different habitats in the Yunnan tropical area as test materials, the extraction conditions for total flavonoids from *C. citratus* were optimized by orthogonal design, and the content and correlation analysis of total flavonoids and mineral elements in *C. citratus* from the different habitats were studied. The results showed that the optimum extraction conditions for total flavonoids were as follows: 65% ethanol, 75 °C, 1:35 (g/mL) solid-liquid ratio, and 4 h, where the yield reached the highest value. The total flavonoid content in citronella from Dehong was the highest at 7.458%, and was the lowest in Nanhua at 3.605%. There were obvious differences in the content of 13 mineral elements in citronella from different habitats, among which K, Ca, Mg, P, and S were the most abundant at over 1 058.33 mg/kg. The content of K in citronella from Dehong was as high as 29 647.5 mg/kg, while the content of Cr was only 5.83. The content of mineral element K in Dehong, which had the highest total flavonoid content, was also the highest. A correlation study found that the total flavonoid content in *Cymbopogon citratus* was negatively correlated with Ca, with a correlation coefficient of -0.500, and positively correlated with K, with a correlation coefficient of 0.480. Cluster analysis showed a correlation between mineral element content and total flavonoid content in plants from the Baoshan, Shuangjiang, Honghe, Dehong, and Nanhua regions, which indicated that the mineral elements and total flavonoids in citronella germplasms from these habitats were similar. The results showed that the contents of flavonoids and different mineral elements in citronella germplasms in the Yunnan tropical area differed, and

收稿日期 Received: 2021-01-15 接受日期 Accepted: 2021-03-16

国家重点研发计划项目 (2017YFC0505106-1) 和云南省重大科技专项计划项目 (2019ZG00903) 资助 Supported by the National Key R&D Program of China (2017YFC0505106-1) and the Key Science and Technology Project of Yunnan, China (2019ZG00903)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: helune@163.com)

there was a certain correlation between the contents of total flavonoids and mineral elements, which might affect the formation and accumulation of flavonoids. This study provides a scientific basis for germplasm screening, improved seed cultivation, and product development of citronella resources in the Yunnan tropical area.

Keywords *Cymbopogon citratus*; total flavonoids; mineral elements; orthogonal design; Yunnan tropical area

香茅草 (*Cymbopogon citratus*) 又名香巴茅、姜草、柠檬香茅, 为禾本科香茅属多年生草本香料植物, 原产于斯里兰卡、泰国、印度、孟加拉国等地^[1]。我国主产于云南、广西、海南、广东、福建等省, 野生香茅资源以云南最多, 且大部分生长于云南热区。香茅草性味辛、甘、微温, 有疏风通络、醒脑、温中止痛、和胃通气等功效^[1]。目前, 对香茅草化学成分的研究主要集中于挥发性成分^[2-4], 其中香茅草精油挥发性成分中含量最高的为柠檬醛, 其次是月桂烯、香叶醇、橙花醇、香茅醇、柠檬烯等成分^[5]。除了挥发性成分的研究外, 香茅草中还含有非挥发性萜类、黄酮类、多酚类、萜醌类、苯丙素类、甾体等多种生物活性成分。尤其是黄酮类化合物, 作为香茅草有效活性成分, 在抗菌、抗氧化、抗自由基、调节免疫力等方面具有较好的疗效, 对预防心脑血管疾病、降低血脂和胆固醇等方面具有较好的药理活性, 在生物医药方面具有广阔的应用前景^[6-7]。Cheel等人从香茅草中分离和鉴定出多个黄酮、黄酮苷类化合物^[8], 并研究了其提取物对自由基的清除能力及抗氧化活性。

目前, 提取香茅草中的总黄酮最常见的方法是甲醇加热回流提取法、乙醇加热回流提取法、乙醇热浸提取法和热浸法^[8-11], 但甲醇加热回流提取法对人体具有一定毒性; 乙醇加热回流提取法存在提取时间较长、提取温度高等缺点; 乙醇热浸提取法和热浸法存在提取率低、浸出有效成分较少的缺点^[12]。利用索氏提取法提取香茅草中总黄酮鲜见相关报道, 索氏提取法是一种连续提取法, 利用虹吸原理, 提取液自动流入烧瓶中, 烧瓶内的溶液再受热气化上升, 而被溶出的有效成分因不能气化而留在烧瓶中, 如此循环提取, 直至可溶性成分提出后为止, 具有提取率较高、节省溶剂、原料利用率高、能耗低、操作简单等优点^[13]。因香茅草中的黄酮类化合物主要为黄酮苷类化合物^[8], 有些黄酮苷类较为复杂, 一般采用极性较大的溶剂或者加热的方法进行提取可提高得率^[14], 所以本研究中选择利用索氏提取法提取香茅草中的总黄酮。

目前, 香茅草的研究除了挥发性与非挥发性成分外, 还集中于繁殖与栽培技术^[15-16]、香料香精^[17-18]、药理^[19-21]等方面的研究, 但对云南热区香茅草中总黄酮与矿质元素含量的评价未见相关报道。矿质元素与植物的生长息息相关, 例如Mg是构成叶绿素的必需元素, 也是多种酶的活化剂, 植物的光合作用会受其含量的影响^[22]。因此, 对香茅草中矿质元素组成及含量的分析具有重要意义, ICP-OES法在矿质元素分析上具有超痕量和多元素分析的技术优势, 常用于矿物质元素含量的分析测定^[22-23]。

研究发现总黄酮与矿质元素含量之间存在一定的相关性, 迟明艳等对苦荞中总黄酮与矿质元素含量进行了相关性分析, 发现苦荞中的有效成分总黄酮与矿质元素存在内在联系^[24]; 钟佳等对11种傣药中的微量元素及总黄酮进行主成分分析和聚类分析, 为揭示微量元素含量与傣药药效药性之间的关系提供有效依据^[25]; 杨小芳等对不同产地姜黄属植物中姜黄素类成分与矿质元素的相关性进行了分析, 筛选出良种

进行推广栽培, 同时也为姜黄和莪术的高效栽培提供理论依据^[23]; 李玉平和李惟雄等研究了矿质元素的添加对大花金挖耳悬浮细胞生长的影响以及黄酮含量的变化, 发现微量元素对大花金挖耳细胞生长和黄酮类化合物的累积具有一定的影响^[26]。但对香茅草中总黄酮及矿质元素含量的相关性分析未见报道, 因此, 对云南热区香茅草总黄酮及矿质元素含量进行评价分析具有一定的意义。本文利用索氏提取法提取香茅草中的总黄酮, 通过单因素和正交试验探讨最佳提取工艺条件, 并对总黄酮与矿物质元素含量进行双变量相关性分析与系统聚类分析, 以期对香茅草的良种培育、栽培产区引种、产品开发以及植物的现代化栽培生产提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料概况

试验用香茅草材料于2019年6-7月分别采自于: 云南省楚雄州元谋县元马镇沙地村 (Yuanmou, 101°52'E, 25°41'N, 海拔1 135 m); 盈江陇川县章凤镇 (Longchuan, 97°48'E, 24°11'N, 海拔985 m); 保山市隆阳区潞江坝 (Baoshan, 98°52'E, 24°55'N, 海拔1 646 m); 德宏瑞丽户育乡 (Dehong, 97°43'E, 23°57'N, 海拔763 m); 临沧双江勐勐镇 (Shuangjiang, 99°49'E, 23°28'N, 海拔1 022 m); 西双版纳勐腊镇么粉村 (Banna, 101°33'E, 21°27'N, 海拔629 m); 临沧云县爱华镇 (Yunxian, 100°07'E, 24°26'N, 海拔1 902 m); 楚雄州南华县雨露乡溪武首村 (Nanhua, 101°17'E, 25°06'N, 海拔1 748 m); 红河州绿春县牛孔镇者俄村委会东沙村 (Honghe, 102°16'E, 22°45'N, 海拔1 630 m); 普洱市西盟县岳宋乡 (Puer, 99°22'E, 22°43'N, 海拔824 m)。上述材料经云南农业大学香料研究所任洪涛副研究员鉴定为禾本科香茅属植物香茅草 [*Cymbopogon citratus* (DG.) stapf] 的干燥全草, 植物标本存放于云南省农业科学院热区生态农业研究所实验楼。

1.2 材料与试剂

香茅草鲜叶采自于上述10个不同产地, 于60℃电热恒温鼓风干燥箱烘至恒重, 粉碎, 过60目尼龙筛, 混匀, 保存备用, 硝酸铝 (分析纯)、无水乙醇 (分析纯)、浓硝酸 (优级纯)、氢氧化钠 (分析纯)、芦丁标准品 (纯度99%)、超纯水、亚硝酸钠 (分析纯)、过氧化氢 (30%, 优级纯)、氩气 (纯度≥99.999%); Fe、B、Cu、Mn、Zn、Mg、Al、Cr多元素混合标准溶液及K、Na、Ca、P、S单个元素标准溶液, 购自国家有色金属及电子材料分析测试中心。

1.3 仪器与设备

索氏提取仪 (上海豫明仪器有限公司, BSXT-06); 电感耦合等离子体发射光谱仪 (德国耶拿, PQ-9000); 紫外可见分光光度计 (美国热电, UV330); 微波消解仪 (意大利迈尔思通, Milestone Ethos up); 移液枪 (美国瑞宁, RAININ); 万分之一电子分析天平 (日本岛津, ATX224); 行星式球磨机 (南京驰顺, QM3SP); 超纯水仪 (中国优普, UPH-IV-

20T); 电热恒温鼓风干燥箱(上海博讯, GZX-9140MBE); 粉碎机(永康市速峰工贸有限公司)。

1.4 试验方法

1.4.1 香茅草总黄酮含量测定 以芦丁为标准品, 采用分光光度 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 显色法^[27]测定, 称取干燥至恒重的芦丁标准品0.0 250 g, 用80%乙醇定容至100 mL容量瓶, 得到浓度为0.250 g/L的芦丁标准品溶液。分别取芦丁标准液0.0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL至25 mL棕色容量瓶中^[23], 用80%乙醇溶液稀释至12.5 mL, 加入5%的亚硝酸钠溶液0.75 mL, 摇匀, 静置6 min, 加入10%的硝酸铝溶液0.75 mL, 摇匀, 静置6 min, 再加入4%氢氧化钠溶液3.75 mL, 用80%乙醇溶液定容至25 mL, 摇匀, 静置15 min。以试剂空白作为参比, 在510 nm波长下测定吸光度值, 绘制标准曲线, 进行线性回归^[27-28]。

单因素试验: 选取普洱(Puer)号样品为试验样品, 利用索氏提取法提取香茅草中的总黄酮。在参考其他相关文献^[29]和预试验的基础上, 考察提取温度、料液比、提取时间和乙醇浓度对总黄酮得率的影响。

正交试验: 在单因素试验的基础上, 以总黄酮的得率为考察指标, 设计4因素3水平 $L_9(3^4)$ 正交试验, 探讨提取香茅草中总黄酮的最佳提取工艺条件。

利用正交试验得到的最佳条件提取不同产地香茅草中的总黄酮, 在最大吸收波长下测定吸光度($N = 3$), 通过标准曲线计算不同产地香茅草提取液中总黄酮的含量。

1.4.2 香茅草矿质元素含量 采用ICP-OES测定不同产地香茅草中的矿质元素含量^[22]。

1.5 数据分析

采用Microsoft Excel 2016整理数据和Origin8.6作图, 采

用SAS 9.0统计分析软件进行单因素ANOVA 检验、多重比较、方差显著性分析、双变量相关性分析等, $P < 0.05$ 表示二者相关性具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 香茅草总黄酮的紫外可见吸收光谱测定方法

本研究在510 nm处对芦丁标准品进行系列浓度测定, 以芦丁的浓度(mg/mL)为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到线性回归方程为 $y = 17.11x + 0.0012$ ($R^2 = 0.9996$)。

2.2 索氏提取法提取香茅草总黄酮的工艺条件

2.2.1 单因素试验对香茅草总黄酮提取工艺条件的优化

(1) 提取温度对总黄酮得率的影响。由图1A所示, 当提取温度由50 °C升高到60 °C时, 香茅草总黄酮得率缓慢增加, 继续升高温度至70 °C时, 得率增加较为显著, 且达到最大值。继续加大温度, 会超过乙醇沸点导致乙醇挥发, 造成溶剂的损失, 总黄酮的得率降低。因此70 °C为最佳的提取温度。

(2) 料液比对总黄酮得率的影响。由图1B所示, 当料液比为1:10时, 由于提取液体积较小, 香茅草中的总黄酮难以全部溶解到乙醇提取液中, 因此得率较低。当料液比由1:10减小至1:20时, 得率增加缓慢, 减小至1:30时, 得率增加较为显著。料液比继续减小, 得率逐渐下降, 这可能是因为料液比过小, 总黄酮的溶解量过大, 从而导致总黄酮的得率降低。因此1:30为最佳料液比。

(3) 提取时间对总黄酮得率的影响。由图1C所示, 随着提取时间的增加, 总黄酮得率逐渐提高, 当提取时间大于4 h时, 得率呈略下降趋势。这可能是因为提取香茅草总黄酮的

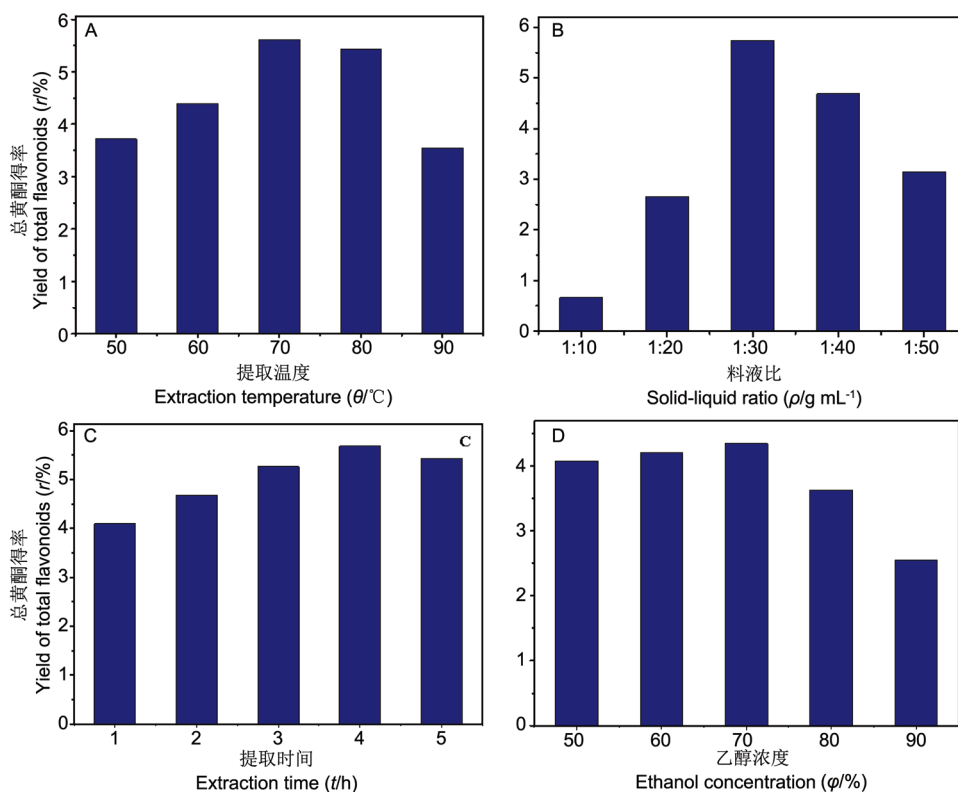


图1 提取温度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、乙醇浓度(D)对总黄酮得率的影响($N = 3$)。

Fig. 1 Effects of extraction temperature (A), solid-liquid ration (B), extraction time (C) and ethanol concentration (D) on the yield of total flavonoids ($N = 3$).

过程中,需要一段时间才可达到传质平衡,若提取时间较短,未达到反应传质平衡,总黄酮未充分溶出,从而导致得率较低.随着提取时间的增加,传质逐渐达到平衡,总黄酮充分溶出,得率增大.但随着提取时间的延长,得率略微下降,这可能是因为长时间的提取导致溶剂挥发,从而导致得率下降.试验结果表明,当提取时间为4 h时即可达到传质平衡,因此,最佳提取时间为4 h.

(4)乙醇浓度对总黄酮得率的影响.由图1D所示,香茅草中总黄酮得率随着乙醇浓度的增大而逐渐增大,增大到70%时,香茅总草黄酮的得率最高,为4.341%,但当乙醇的浓度继续增大,得率逐渐下降,这可能是因为提取液乙醇的浓度过高,会使香茅草大量析出醇溶性物质,进而影响了总黄酮在提取液乙醇中的溶解性,最终导致得率降低.上述结果表明,当乙醇的浓度为70%时,香茅草总黄酮的得率最高,且没有醇溶性物质大量析出,因此选择70%为最佳的乙醇浓度.

2.2.2 正交试验对香茅草总黄酮提取工艺的优化 根据单因素试验结果可知,由于香茅草总黄酮得率会受提取温度、料液比、提取时间、乙醇浓度4种因素的影响,因此,以总黄酮的得率为指标,设计了4因素3水平L₉(3⁴)正交试验,以获取提取香茅草中总黄酮的最佳提取条件,试验设计见表1.

表1 正交试验设计的因素及水平

Table 1 Factors and levels of L₉(3⁴) orthogonal experiment

水平 Level	A 温度 Temperature (θ/℃)	B 料液比 Solid-liquid ratio (ρ/g mL ⁻¹)	C 时间 Time (t/h)	D 乙醇浓度 Ethanol concentration (P/%)
1	65	1:25	3.5	65
2	70	1:30	4.0	70
3	75	1:35	4.5	75

正交试验设计如表2所示.

依据L₉(3⁴)正交试验设计,对提取温度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、乙醇浓度(D)4因素3水平进行工艺条

件优化试验,结果由表2所示,通过极差R可知,影响总黄酮得率的因素为B>A>D>C.即料液比对总黄酮得率的影响最大,提取时间对试验结果影响最小.因此,香茅草中总黄酮的最佳提取工艺条件为65%乙醇、75℃、1:35(g/mL)料液比、提取4 h.为了验证A₃B₃C₂D₁是否为最佳条件,特进行了3次验证试验,结果在A₃B₃C₂D₁条件下产地为Puer的香茅草总黄酮得率为5.821%,高于正交试验中的任何一组数据,表明本研究中正交试验的结果是准确可靠的.

2.3 不同产地香茅草中总黄酮含量的变化

不同产地香茅草中总黄酮的含量如表3所示,结果表明10个不同产地香茅草中总黄酮的含量差异明显,产地为Dehong、Honghe和Banna的香茅草中总黄酮的含量高于其他产地,其中产地为Dehong的香茅草中总黄酮的含量最高,为7.458%,而产地为Yunxian和Nanhua的香茅草中总黄酮的含量最低,仅为4.008%和3.605%,产地为Dehong的海拔(763 m)远远低于产地为Yunxian(1 902 m)和Nanhua(1 748 m)的海拔,说明海拔等生态环境因子可能影响总黄酮含量的形成与积累^[29],具体影响因子有待进一步研究.

2.4 不同产地香茅草中矿质元素的变化

由表4显示,10个不同产地香茅草资源中矿质元素含量存在较大的差异,其中K含量最高,Ca、Mg、P、S含量较为丰富,而B、Cr、Cu含量最少.个别矿质元素在不同产地的含量也存在一定差异,如产地为Dehong的香茅草中K元素含量高达29 647.5 mg/kg,而产地为Yuanmou的K元素含量为23 624.17 mg/kg;产地为Longchuan的Al含量是产地为Baoshan的14倍,Fe含量是产地为Honghe的8.4倍.而K有利于降低血压,减少心血管疾病,促进糖类的代谢;Fe是淋巴细胞样组织的必需物质之一^[28].由变异系数可知,Na元素的变异系数最大,说明不同产地香茅草中Na元素含量差异较大,其次是Al、Fe,变异系数分别为122.1%、103.6%,Mg元素的变异系数最小,说明不同产地香茅草中Mg元素含量差异较小.

表2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

编号 Experiment number	A 温度 Temperature (θ/℃)	B 料液比 Solid-liquid ratio (ρ/g mL ⁻¹)	C 时间 Time (t/h)	D 乙醇浓度 Ethanol concentration (P/%)	得率 Yield of total flavonoids (r/%)
1	1 (65℃)	1(1:25)	1(3.5h)	1(65)	4.959
2	1	2(1:30)	2(4.0h)	2(70)	4.949
3	1	3(1:35)	3(4.5h)	3(75)	4.979
4	2 (70℃)	1	2	3	4.867
5	2	2	3	1	4.920
6	2	3	1	2	5.232
7	3 (75℃)	1	3	2	5.290
8	3	2	1	3	4.902
9	3	3	2	1	5.603
K1	4.962	5.039	5.031	5.161	-
K2	5.006	4.924	5.140	5.157	-
K3	0.303	5.271	5.063	4.916	-
极差(R)	0.303	0.347	0.109	0.245	-

表3 不同产地香茅草中总黄酮含量(N=3)

Table 3 The contents of total flavonoids in *Cymbopogon citratus* from different habitats (N=3)

不同产地 Different habitats	Yuanmou	Longchuan	Baoshan	Dehong	Shuangjiang
总黄酮含量 Content of total flavonoids (w/%)	4.771 ± 0.27de	5.290 ± 0.66d	6.251 ± 0.56bcd	7.458 ± 0.58a	6.636 ± 0.39bc
不同产地 Different habitats	Banna	Yunxian	Nanhua	Honghe	Puer
总黄酮含量 Content of total flavonoids (w/%)	6.868 ± 0.15abc	4.008 ± 0.14f	3.605 ± 0.24e	7.062 ± 0.37ab	5.821 ± 0.19cd

表中数据表示为平均值±SD(N=3).同行不同小写字母表示不同类型间差异显著(P<0.05).
The data indicates the means ± SD (N=3). Different lowercase letters indicate significant differences between the plants (P<0.05).

2.5 总黄酮与矿物质元素的相关性

对香茅草中13种矿质元素与总黄酮进行双变量相关性分析,结果如表5所示,总黄酮含量与Ca元素具有极显著的负相关,相关系数为-0.500,与K元素具有极显著的正相关,相关系数为0.480. 2.3、2.4节中研究发现总黄酮含量最高的产地Dehong中矿质元素K的含量也最高,说明矿质元素的含量会影响次生代谢产物总黄酮的含量,K元素会促进总黄酮的形成与积累,而Ca元素则反之.这可能是因为矿质元素参与植物次生代谢产物的合成或作为植物体内某些有机合成反应的催化剂,从而影响植物次生代谢产物的形成和积累^[24].同时也说明在香茅草栽培过程中可通过多施钾肥,少施钙肥,从而促进香茅草中总黄酮含量的形成与积累.

2.6 不同产地香茅草中矿质元素及总黄酮的聚类分析

由于香茅草中的各种矿质元素的含量数据庞杂、离散,因此用统计的方法对不同产地香茅草的相似性进行比较,从含量数据上很难说明问题,而单纯以某一元素的含量与功能作用作为评价指标也不能体现整体规律.因此本试验以10个不同产地为自变量,香茅草中总黄酮和矿质元素含量为因变量,分别进行系统聚类分析.结果如图2所示,当距离为10左右时,可将不同产地香茅草中总黄酮和矿质元素分为3类,发现产地为Baoshan、Shuangjiang、Honghe、Dehong中矿质元素含量与总黄酮含量可聚为第一类,产地为Nanhua中矿质元素含量与总黄酮含量为第二类.研究表明Baoshan、Shuangjiang、Honghe、Dehong、Nanhua产地香茅草种质中矿质元素、总黄酮含量相似,而Banna、Puer、Yunxian、Longchuan和

表4 10个不同产地香茅草中矿质元素含量比较

Table 4 Comparison in mineral element contents in *Cymbopogon citratus* from 10 different habitats

不同产地 Different habitats	元素含量 Element content (w/mg kg ⁻¹)						
	Fe	Al	B	Cr	Cu	Mn	Zn
Yuanmou	114.17 ± 16.27	93.33 ± 2.89	9.17 ± 3.82	5.00 ± 2.5	5.00 ± 0.00	81.67 ± 7.64	25.00 ± 2.5
Longchuan	1193.33 ± 38.92	1308.33 ± 28.43	22.50 ± 2.50	11.67 ± 1.44	4.17 ± 1.44	55.00 ± 5.00	14.17 ± 1.44
Baoshan	162.50 ± 7.50	93.33 ± 14.22	8.33 ± 2.89	4.17 ± 1.44	9.17 ± 1.44	46.67 ± 3.82	30.83 ± 1.44
Dehong	187.50 ± 48.80	205.83 ± 16.27	19.17 ± 1.44	5.83 ± 1.44	7.50 ± 0.00	139.17 ± 6.29	37.50 ± 0.00
Shuangjiang	245.83 ± 10.10	241.68 ± 15.28	31.67 ± 1.44	5.83 ± 2.89	4.17 ± 1.44	18.33 ± 2.89	26.67 ± 1.44
Banna	190.83 ± 52.58	156.68 ± 10.10	30.00 ± 2.50	6.67 ± 1.44	4.17 ± 1.44	42.50 ± 2.50	25.83 ± 2.89
Yunxian	196.67 ± 17.56	211.68 ± 9.46	6.67 ± 1.44	6.67 ± 1.44	5.00 ± 0.00	30.00 ± 2.50	30.83 ± 1.44
Nanhua	290.00 ± 74.04	266.68 ± 11.55	20.83 ± 1.44	6.67 ± 1.44	13.33 ± 1.44	57.50 ± 5.00	45.83 ± 1.44
Honghe	141.67 ± 7.64	65.00 ± 7.50	2.50 ± 0.00	5.00 ± 0.00	7.50 ± 0.00	192.50 ± 4.33	44.17 ± 1.44
Puer	264.17 ± 17.74	245.83 ± 14.65	6.67 ± 1.44	7.50 ± 0.00	6.67 ± 1.44	217.50 ± 5.00	25.00 ± 2.50
变异系数 Coefficient of variation (CV/%)	103.6	122.1	64.87	37.25	44.41	77.04	30.79

不同产地 Different habitats	元素含量 Element content (w/mg kg ⁻¹)					
	Ca	K	Na	P	S	Mg
Yuanmou	10083.33 ± 197.77	23624.17 ± 119.54	91.67 ± 2.89	2388.33 ± 15.28	1743.33 ± 1.44	4827.50 ± 5.00
Longchuan	9821.67 ± 104.05	28878.33 ± 111.65	657.50 ± 30.31	1832.50 ± 27.04	1727.50 ± 5.00	4780.83 ± 26.73
Baoshan	6951.67 ± 314.70	28912.50 ± 107.59	25.00 ± 0.00	3151.67 ± 9.46	1432.50 ± 23.85	4833.33 ± 3.82
Dehong	4737.50 ± 85.18	29647.50 ± 135.28	39.17 ± 5.20	3288.33 ± 1.44	1572.50 ± 9.01	4847.50 ± 2.50
Shuangjiang	7354.17 ± 130.63	28395.83 ± 60.02	254.17 ± 1.44	2384.17 ± 15.07	1150.00 ± 5.00	4840.00 ± 5.00
Banna	11485.00 ± 201.17	28710.83 ± 42.60	131.67 ± 7.64	2889.17 ± 98.18	1370.83 ± 5.20	4838.33 ± 1.44
Yunxian	6985.83 ± 21.55	26387.50 ± 167.56	70.00 ± 5.00	4390.00 ± 28.83	1058.33 ± 3.82	4829.17 ± 3.82
Nanhua	11562.50 ± 76.03	27683.33 ± 142.79	75.83 ± 1.44	3578.33 ± 7.64	2374.17 ± 5.20	4823.33 ± 3.81
Honghe	6032.50 ± 201.45	26874.17 ± 118.57	14.17 ± 1.44	2895.00 ± 5.00	1740.83 ± 3.82	4740.00 ± 147.22
Puer	7506.67 ± 28.43	27310.83 ± 50.08	38.33 ± 1.44	2543.33 ± 20.05	1792.50 ± 6.61	4838.33 ± 1.44
变异系数 Coefficient of variation (CV/%)	27.38	6.09	134.7	23.73	22.71	1.06

表中数据表示为平均值 ± SD (N = 3).

The data indicates the means ± SD (N = 3).

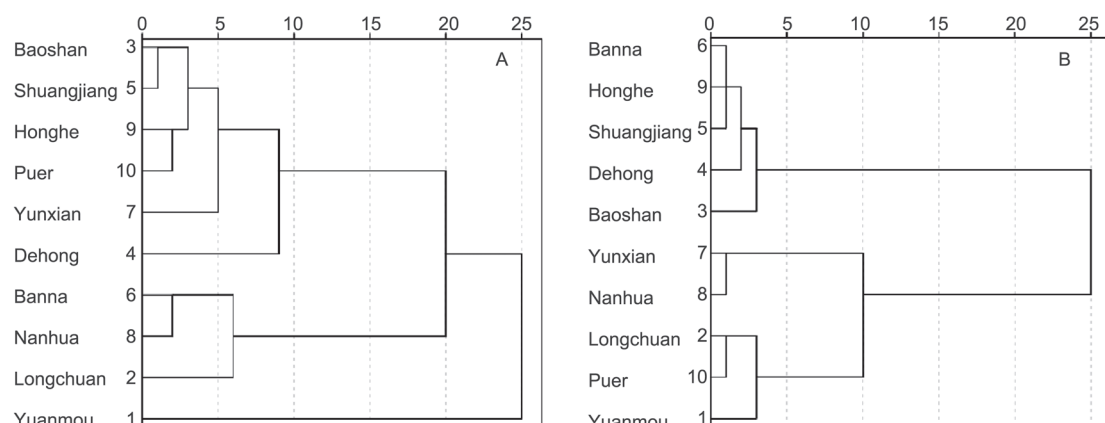


图2 不同产地香茅草中矿质元素(A)与总黄酮(B)聚类分析树状图.

Fig. 2 Cluster analysis tree diagram of mineral elements (A) and flavonoids (B) in *Cymbopogon citratus* from different habitats.

表5 香茅草中总黄酮与矿质元素相关性分析
Table 5 Correlation analysis of flavonoids and mineral elements in *Cymbopogon citratus*

元素 Element	Fe	Al	B	Cr	Cu	Mn	Zn	Ca	K	Na	P	S	Mg	总黄酮 Flavonoids
Fe	1.000													
Al	0.993**	1.000												
B	0.281	0.305	1.000											
Cr	0.754**	0.771**	0.310	1.000										
Cu	-0.234	-0.248	-0.185	-0.210	1.000									
Mn	-0.171	-0.187	-0.542	-0.046	0.148	1.000								
Zn	-0.561	-0.580	-0.256	-0.493	0.714**	0.263	1.000							
Ca	0.269	0.254	0.416*	0.284	0.049	-0.425	-0.238	1.000						
K	0.308	0.302	0.506**	0.205	0.120	-0.108	0.001	-0.209	1.000					
Na	0.930**	0.939**	0.482**	0.700**	-0.424	-0.364	-0.672	0.323	0.253	1.000				
P	-0.505	-0.488	-0.268	-0.316	0.390*	-0.152	0.594**	-0.212	-0.025	-0.605	1.000			
S	0.167	0.141	-0.114	0.135	0.667**	0.376*	0.370*	0.409*	-0.124	-0.027	-0.155	1.000		
Mg	-0.219	-0.190	0.205	-0.129	0.009	-0.192	-0.073	0.022	0.103	-0.172	0.150	-0.171	1.000	
总黄酮 Flavonoids	-0.176	-0.185	0.177	-0.192	-0.280	0.298	-0.005	-0.500**	0.480**	-0.096	-0.280	-0.357	-0.079	1.000

*表示显著相关 ($P < 0.05$) ; **表示极显著相关 ($P < 0.01$) .
* indicates significant correlation ($P < 0.05$); ** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$).

Yuanmou产地的种质中13种矿质元素、种质及总黄酮含量存在明显差异.

3 讨论

香茅草主要分布于云南热区,资源丰富,滇西边地区农户大多以粗放经营栽培和野生为主,作为一种在云南热区具有较好发展前景的芳香植物,种质资源优势 and 加工利用价值未得到充分发挥,栽培品种少、开发利用率低、加工技术滞后.因此,对不同产地香茅草资源进行有效活性成分总黄酮与矿质元素含量评价及相关性研究,对云南热区香茅草资源的种质筛选、良种培育及产品开发具有重要意义.

黄酮作为香茅草的有效活性成分,具有抗自由基、抗菌、抗氧化、抗衰老等功效,在医药和营养保健方面具有较大的应用前景^[30].本研究采用索氏提取法提取香茅草中的总黄酮,研究提取温度、料液比、提取时间和乙醇浓度对总黄酮得率的影响,设计了单因素试验、L9(3⁴)正交试验进行工艺条件优化,结果发现影响香茅草中总黄酮得率的因素为料液比 > 提取温度 > 乙醇浓度 > 提取时间,说明料液比对总黄酮得率的影响最大,而提取时间的影响最小.因此在最佳提取工艺条件为65%乙醇、75℃、1:35 (g/mL) 料液比、提取4 h,利用索氏提取法提取香茅草中总黄酮,发现产地为Dehong的香茅草中总黄酮的含量最高,为7.458%,产地为Nanhua的香茅草中总黄酮含量最低,为3.605%,含量介于3.605%-7.458%之间.在有关利用乙醇加热回流提取法提取香茅草中总黄酮的研究报道中,谷瑶等人采用单因素试验研究广西香茅草中总黄酮含量,优化提取工艺条件后的总黄酮含量为5.14 mg/g^[9],低于产地为Dehong、Longchaun、Baoshan、Shuangjiang、Banna、Honghe、Puer等地香茅草中总黄酮的含量.不同产地香茅草中总黄酮含量差异明显,这可能是因为特定的环境赋予植物特有生长特征,包括次生代谢物的合成与积累,除了遗传特性,有效成分的含量可能还受环境因子的影响^[23].

微量元素在疾病的预防及治疗方面有重要作用,如Zn对人体的免疫系统及防御功能有着重要的作用; Mn可维持人体正常免疫功能; Mg具有舒张血管而使血压下降的作用^[28],本研究中香茅草富含多种矿物质元素,尤其富含K、Ca、Mg、P、S元素,而B、Cr、Cu含量最少,含有人体必需的微量元素Fe、

Cu、Zn、Mn、Cr、B等及矿质元素Mg^[31],且含量差异较大,产地为Dehong的香茅草中K元素含量高达29 647.5 mg/kg,而Cr元素的含量仅为5.83 mg/kg.个别矿质元素在不同产地的含量也存在一定差异,产地为Longchuan的Al含量是产地为Baoshan的14倍,Fe含量是产地为Honghe的8.4倍.不同产地香茅草中矿质元素含量可能与其生长土壤所含的矿质元素有一定的相关性,不同产地土壤中养分含量及有效性不同,植物吸收后,会产生较大的差异.研究还发现矿质元素K含量及总黄酮含量最高的产地均为Dehong,说明可将Dehong地区的香茅草资源作为优良育种材料在栽培地推广种植.

通过对香茅草中总黄酮及矿质元素含量进行双变量相关性和系统聚类分析,发现总黄酮含量与Ca呈负相关,相关系数为-0.500,与K呈正相关,相关系数为0.480,研究还发现总黄酮含量最高的产地Dehong中矿质元素K的含量也最高,说明K元素会影响香茅草中总黄酮的形成与积累.以矿质元素和总黄酮含量作聚类分析,产地为Baoshan、Shuangjiang、Honghe、Dehong总能聚为第一类,说明这些产地香茅草种质中矿质元素、总黄酮含量具有相似性,这与种质资源的遗传特性和生态环境相关联.矿质元素可能影响植物次生代谢产物总黄酮的形成和积累,可作为植物体内某些有机合成反应的催化剂或参与植物次生代谢产物的合成^[24].因此在香茅草栽培过程中可通过多施钾肥,少施钙肥,促进香茅草中总黄酮含量的形成与积累.

4 结论

香茅草中除了含有挥发性成分外,还富含非挥发性有效成分黄酮类化合物及矿质元素,具有较高的开发利用潜力.本研究表明,云南热区香茅草产地生态环境影响矿质元素和黄酮类化合物的积累.香茅草总黄酮及矿质元素含量之间具有一定的相关性,矿质元素可能影响植物次生代谢产物总黄酮的形成和积累,可为云南热区香茅草资源的种质筛选、良种培育及产品开发提供理论依据.因黄酮类化合物作为次生代谢产物在不同的生态环境(不同矿质元素含量)条件下,具有抗逆性、清除自由基、抵御病虫害、抵御环境的骤变的作用^[32].因此,下一步将深入研究不同矿质元素含量条件下,香茅草中次生代谢产物黄酮类化合物的合成途径及代谢机理.

参考文献 [References]

- 王聪. 超临界萃取柠檬草精油及化学成分分析[J]. 广州化工, 2019, **47** (10): 100-102 [Wang C. Supercritical fluid extraction of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. essential oils and analysis of its chemical components [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2019, **47** (10): 100-102]
- Garvalho GR, Victória R, Fernandes B, Silva PC. Influence of modified starches as wall materials on the properties of spray-dried lemongrass oil [J]. *J Food Sci Technol*, 2019, **56** (11): 4972-4981
- Tan PD, Hoang TD, Le QK, Nguyen VGP, Mai HC, Tri NP, Nguyen VM. Evaluation of physico-chemical properties of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil grown in Tien Giang province, Vietnam [J]. *Asian J Chem*, 2020, **32** (5): 1248-1250
- Groot AD, Schmidte E. Essential oils. Part V: peppermint oil, lavender oil, and lemon grass oil [J]. *Dermatitis*, 2016, **27** (6): 325-332
- 赵建芬, 韦寿莲, 陈子冲. 香茅草挥发油的提取及其化学成分分析[J]. 食品研究与开发, 2019, **36** (19): 55-58 [Zhao JF, Wei SL, Chen ZC. Extraction and GC-MS analysis of volatile oils from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. [J]. *Food Res Dev*, 2019, **36** (19): 55-58]
- Perdana MI, Ruamcharoen J, Panphon S, Leelakriangsak M. Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application [J]. *Food Sci Technol*, 2021 (141): 110934
- 杨梦文, 赵琳静, 顾思怡, 郑之裕, 贺思洁. 香茅化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中成药, 2020, **42** (3): 714-719 [Yang MW, Zhao LJ, Gu SY, Zheng ZY, He SJ. Research progress on chemical composition and pharmacological action of *Cymbopogon citratus* [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, **42** (3): 714-719]
- Cheel J, Theoduloz C, Rodríguez J, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, **53**: 2511-2517
- 谷瑶, 朱永杰, 周丽珠, 梁忠云, 李桂珍, 曾永明. 柠檬香茅草总黄酮和多糖含量的测定[J]. 应用化工, 2018, **47** (4): 846-848 [Gu Y, Zhu YJ, Zhou LZ, Liang ZY, Li GZ, Zeng YM. Determination of the total flavones and polysaccharide in *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. [J]. *Appl Chem Ind*, 2018, **47** (4): 846-848]
- 张雪梅, 霍翹, 尚黎, 潘红利, 曾齐, 如则·阿卜力孜, 于杰, 孙湛. 香茅草黄酮提取物对L-NNA诱导的高血压大鼠血压及炎症因子的影响[J]. 吉林中医药, 2019, **39** (3): 366-373 [Zhang XM, Huo X, Shang L, Pan HL, Zeng Q, RuZe-APLZ, Yu J, Sun S. Effects of *Cymbopogon flavonoids* extract on blood pressure and inflammatory cytokines in L-NNA induced hypertensive rats [J]. *Jilin J Chin Med*, 2019, **39** (3): 366-373]
- 郭素枝, 蓝福胜, 陈连生, 那海燕, 邱栋梁. 柠檬香茅草花茶配制及保健成分浸提条件优化[J]. 福建农业学报, 2015, **30** (12): 1193-1198 [Guo SZ, Lang FS, Chen LS, Na DL. Optimization of flavorede lemon roasted tea making process and extraction conditions for hygienical component [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2015, **30** (12): 1193-1198]
- 王九峰, 万忠民, 濮生财, 焦威, 阳小成, 邵华武. 减压内沸腾和响应面分析优化苦荞总黄酮提取工艺[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (4): 633-638 [Wang JF, Wan ZM, Pu SC, Jiao W, Yang XC, Shao HW. Extraction of total flavonoids from *Fagopyrum esculentum* seeds by decompressing inner ebullition extraction method and response surface analysis [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (4): 633-638]
- 赵子剑, 赵紫犁. 植物化学实验[M]. 西安: 西安电子科技大学出版社, 2013 [Zhao ZJ, Zhao ZL. *Phytochemical Experiment* [M]. Xian: Xidian University Press, 2013]
- 高锦明. 植物化学[M]. 第3版. 北京: 科学出版社, 2017 [Gao JM. *Chemical Plant* [M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2017]
- Quiala E, Barbón R, Capote A, Pérez N, Jiménez E. *In vitro* mass propagation of *Cymbopogon citratus* Stapf, a medicinal Gramineae [M]//Quiala E. *Protocols for In Vitro Cultures and Secondary*. Totowa: Humana Press, 2016: 445-457
- González J, De Colmenares N, Usabillaga A, Darghan E, Linares S. Evaluation of agronomical variables in the cultivation of lemon grass (*Cymbopogon citratus* L. Stapf.) for the production of essential oil [J]. *Interciencia*, 2008, **33** (9): 693-699
- Anna KD, Agnieszka L, Živilė T, Monika M, Aleksandra G, Tomasz B, Beata K, Barbara KM. Chemical and nutritional compounds of different parts of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) cultivated in temperate climate of Poland: essential oils and natural products [J]. *J Oleo Sci*, 2021, **70** (1): 125-133
- Hien TT, Nhut PT, Bach LG, Nhan NPT, Nhan LTH. Study on the formula to produce shampoo derived from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) essential oil [J]. *Mater Sci Eng*, 2020, **959** (1): 12027
- Bidinotto LT, Costa CARA, Salvadori DMF. Protective effects of lemongrass *Cymbopogon citratus* Stapf. essential oil on DNA damage and carcinogenesis in female Balb/C mice [J]. *J Appl Toxicol*, 2011, **31** (6): 536-544
- Puatanachokchai R, Kishida H, Denda A. Inhibitory effects of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats [J]. *Cancer Lett*, 2002, **183** (1): 9-15
- Viana GS, Vale TG, Pinho RS. Antinociceptive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice [J]. *Ethnopharmacol*, 2000, **70** (3): 323-327
- 袁建民, 何璐, 杨晓琼, 许智萍, 孔维喜. 微波消解ICP-OES法同时测定香茅草中11种微量元素[J]. 中国农学通报, 2020, **36** (14): 69-73 [Yuan JM, He L, Yang XQ, Xu ZP, Kong WX. Simultaneous determination of 11 trace elements in *Cymbopogon citratus* by ICP-OES with microwave digestion [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2020, **36** (14): 69-73]
- 杨小芳, 陈育才, 刘建福, 李丹丹, 胡娴. 不同产地姜黄属植物中姜黄素成分及矿质元素分析[J]. 植物学报, 2019, **54** (3): 335-342 [Yang XF, Chen YC, Liu JF, Li DD, Hu X. Analysis of curcuminoids and mineral elements in curcuma from different habitats [J]. *Chin Bull Bot*, 2019, **54** (3): 335-342]
- 迟明艳, 徐昌艳, 周雯. 18种黔产苦荞中微量元素与有效成分含量的

- 相关性[J]. 贵州医科大学学报, 2019, **44** (11): 1295-1300 [Chi MY, Xu CY, Zhou W. Research on the correlation of trace elements and active ingredients in *F. esculentum* from guizhou province [J]. *J guizhou Med Univ*, 2019, **44** (11): 1295-1300]
- 25 钟佳, 张福娟, 王廷平. 11种傣药微量元素的主成分分析和聚类分析[J]. 辽宁师专学报, 2019, **21** (3): 97-108 [Zhong J, Zhang FJ, Wang TP. Principal component analysis and cluster analysis of trace element contents in eleven Dai medicines [J]. *J Liaoning Norm Coll (Nat Sci Ed)*, 2019, **21** (3): 97-108]
- 26 李玉平, 李惟雄. 微量元素对大花金挖耳悬浮细胞生长与黄酮含量的影响及其化感作用[J]. 福建农业学报, 2019, **34** (1): 1-8 [Li YP, Li WX. Effects of trace elements in culture medium on growth, flavonoids content and intracellular metabolite allelopathy of *Carpesium macrocephalum* [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2019, **34** (1): 1-8]
- 27 李会端, 崔旭. 罗望子壳总黄酮提取及其清除羟基自由基活性研究[J]. 南方农业学报, 2014, **45** (5): 844-849 [Li HD, Cui X. Extraction of flavonoids and scavenging effect on hydroxyl radicals from tamarind shells [J]. *J South Agric*, 2014, **45** (5): 844-849]
- 28 张成, 胡紫薇, 罗映, 李芷盈. 紫茉莉籽黄酮响应面法优化提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国农学通报, 2019, **35** (34): 127-133 [Zhang C, Hu ZW, Luo Y, Li ZY. Optimization of extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Mirabilis jalapa* seeds by response surface methodology [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2019, **35** (34): 127-133]
- 29 鲁守平, 隋新霞, 孙群. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2006, **18** (6): 1027-1032 [Lu SP, Sui XX, Sun Q. Biological functions of secondary metabolism of medicinal plants and influences of ecological environment [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2006, **18** (6): 1027-1032]
- 30 王雪, 乔博, 张健鑫, 李冬雪, 刘艳琴, 石旭柳. 黄酮类化合物的应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2020, **31** (4): 159-163 [Wang X, Qiao B, Zhang JX, Li DX, Liu YQ, Shi XL. Study progress of application of flavonoids [J]. *Chin Food Addit*, 2020, **31** (4): 159-163]
- 31 Yassin AA, Ghandour MA, Khalil MM. Health risk assessment and micro determination of trace elements content in *Egyptian* olive oil using ICP-OES [J]. *Mat Sci Eng*, 2021, **1046** (1): 12028
- 32 杨祎辰, 党艳妮, 安莉, 常晖, 张泉将, 王二欢, 马存德. 营养元素对黄芪初生及次生代谢的影响[J]. 安徽农业科学, 2019, **47** (11): 178-180 [Yang YC, Dang YN, An L, Chang H, Zhang XJ, Wang EH, Ma CD. Influence of nutrient elements on the primary and secondary metabolism of *Astragalus membranaceus* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2019, **47** (11): 178-180]