

罗汉果微量元素的花粉直感效应研究

马 静^{1,2}, 杨晓红^{1*}, 马小军^{2*}, 付金娥², 何聿忠², 莫长明²

(1. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715; 2. 中国医学科学院 药用植物研究所 广西分所, 南宁 530023)

摘 要: 用 ICP-OES 法测定罗汉果中受花粉直感效应影响明显的微量元素含量。结果表明: 两种不同授粉处理的罗汉果样品中 Zn、Fe、Cr、Al 四种微量元素含量差异显著, 受花粉直感作用的影响较大, 尤其是 Zn 元素; 罗汉果样品铅含量超过罗汉果行标 NY/T 694-2003 的限量标准, 但符合药用植物绿色行标 WM/T 2-2004, 研究认为, 罗汉果行标 Pb 标准不太严格, 有必要进一步研究和探讨; 高甜苷 V 授粉组合(“青皮 3 号”×“红毛 1 号”)果实中 B 元素含量较高, 为硼微肥的利用提供科学依据; 而低甜苷 V 组合(“青皮 3 号”×“红毛 2 号”)果实中 8 种微量元素含量偏高, 其中锰与提高呼吸速率有关。

关键词: 罗汉果; 花粉直感; ICP-OES; 微量元素

中图分类号: Q945.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)06-0905-04

Study on xenia effect on trace elements of *Siraitia grosvenorii*

MA Jing^{1,2}, YANG Xiao-Hong^{1*}, MA Xiao-Jun^{2*},
FU Jin-E², HE Yu-Zhong², MO Chang-Ming²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715; 2. Guangxi Branch
Institute, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Nanning 530023)

Abstract: The xenia effect on trace elements in *Siraitia grosvenorii*, in which mogroside V content had been affected significantly by pollen source, was demonstrated by determining of several kinds of trace elements by ICP-OES. Four kinds of trace elements content, Zn, Fe, Cr and Al, had significant deviation in the two *S. grosvenorii* samples pollinized by two kinds of foreign pollens, therefore it demonstrated that xenia existed apparently. The Pb content in the two samples was hyper-standard because of strict standard of Pb in the NY/T 694-2003, while which was consistent with Pb standard of WM/T 2-2004; So we deemed that the standard of Pb in the NY/T 694-2003 was too strict and needed to be researched and discussed. The higher content of B in the fruits of “Qingpi 3”×“Hongmao 1”, which had higher mogroside V, provided the scientific basis for B trace element fertilizer; The higher content of 8 kinds of trace elements was found in fruits of “Qingpi 3”×“Hongmao 2” combination, in which Mn can boost respiratory rate.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; xenia effect; ICP-OES; trace elements

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)是传统中药, 为葫芦科多年生藤本植物, 主产于广西桂林北部山区。以果实入药, 味甘、性凉, 具止咳祛痰、凉血舒胃、润肠通便等作用。罗汉果不仅为中华人民共和国药典(2005 年版)所收载, 也被卫生部、国家中医药管理局列入第一批“既是食品又是药品”的中药名录。

2006~2007 年本课题组研究了花粉直感对罗汉果品质的影响, 发现不同来源的花粉授粉, 罗汉果在内含物含量上存在显著的花粉直感现象。花粉直感(xenia)是指花粉在当代直接影响果实的形状、成熟期、大小、颜色、风味及内在成分含量等产量和品质的现象。国内外对花粉直感的研究已有一个多世

收稿日期: 2009-07-10 修回日期: 2009-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(30560183)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30560183)]

作者简介: 马静(1981-), 女, 河南焦作人, 硕士研究生, 主要从事药用植物与生物技术等方面的研究, (E-mail) yijing15210@126.com.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: yangxhsu@tom.com; xjma@public.bta.net.cn)

纪,在许多种植物中均发现有花粉直感现象,如棕椰枣(Swingle, 1928)、樱桃(Stancevic, 1971)、蓝莓(Ehlenfeldt, 2003)、梨(Nyeky, 1972)、大豆(Freytag, 1979)、苹果(Eebel B. R., Trump I. J.)、葡萄(Daulta B. S., Chauhan K. S.)等,未见国外有关于罗汉果花粉直感现象的研究,并且有关花粉直感效应对果实或种子中微量元素影响的研究也未见报道。因此本研究在对7(♀)×7(♂)组罗汉果材料花粉直感研究的基础上(马小军等, 2008),选择罗汉果甜苷V和总糖含量花粉直感效应都显著的一组罗汉果材料,对其中10种微量元素含量进行分析,了解花粉直感效应显著的罗汉果果实中微量元素是否也存在花粉直感效应,为微量元素专业肥料的选用提供科学依据;同时也对罗汉果中有益元素含量情况及重金属污染情况进行调查。

1 材料与方法

1.1 试验设计

2006~2007年期间,本课题组对罗汉果主要品质性状的花粉直感效应进行研究(马小军等, 2008),筛选出在甜苷V和总糖含量上花粉直感效应都显著的两组授粉组合,即为“青皮3号”×“红毛1号”和“青皮3号”×“红毛2号”,其中,青皮果类型主栽品种‘青皮3号’为母本,分别以‘红毛1号’和长滩果与红毛果的杂交后代‘红毛2号’为父本。所有材料均经收集鉴定,由桂林亦元生现代生物技术有限公司培育成组培苗并继代保存。

试验于2008年在广西桂林市兴安县莫川乡试验基地进行。母本按随机区组试验设计,重复3次,每小区10株。每个父本种植1个小区,每小区10株,按杭玲等(2003)的田间管理方法管理。母本每小区选5株,于7月开花前套袋。在授粉当天清晨5:00~7:00时选择发育良好含苞待放或者微开放的雄花采摘,选择当天开放的雌花进行授粉,每株每种花粉随机选授10朵花,并挂牌标记。10月果熟期每个组合每小区采20个果实,混合后随机抽取10个果实,经钟士强(1999)变温法烘烤干,将果实打粉,装入塑料密封袋内,并放于干燥器中,用于测定微量元素含量。

1.2 仪器与试剂

仪器:常压微波消解仪(美国 CEM STAR-Plus 6/2); ICP-OES 电感耦合等离子原子发射光谱仪

(美国 Varian 710 系列);超纯水制备器;氩气(纯度≥99.99%);德国 eppendorf 移液枪。试剂:硝酸(GR);30%过氧化氢(GR);超纯水(电导率 18.2 MΩ/cm);Al, As, B, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn 多元素标准溶液(100 μg/L, 国家有色金属及电子材料分析测试中心)。

1.3 样品微波消解过程

将每个处理的罗汉果材料称取3份,每份0.3000 g,放入石英反应罐中,将反应罐放入微波消解仪开始进行消解。同时做一份空白试样。具体消解程序见表1和图1。

1.4 ICP-OES 的工作条件

发射功率 1 200 W;工作气体氩气;等离子气流量 15.0 L/min;辅助气流量 1.50 L/min;雾化气压 200 kPa;泵速 15 rpm;蠕动泵 7 rpm。

1.5 分析谱线的选择

ICP-OES 对每种元素的测定都可以同时选择多条特征谱线,且同时具有同步背景校正功能,因此实验中对每个测定元素的特征谱线进行综合分析强度、干扰情况及稳定性分析,选择干扰少、精密度高的分析谱线(表2)。

表1 硝酸和过氧化氢的加入时间及加入量
Table 1 Time and volume of HNO₃ and H₂O added

阶段 Stage	时间 Time (min)	温度 Temperature (°C)	加入试剂 Reagent	加入 次数 Times	每次加入量 Volume each time (mL)
1	0	室温	2mL HNO ₃	5	0.4
2	0-3	室温-120	3mL HNO ₃	6	0.5
3	6-8	120-150	3mL HNO ₃	6	0.5
4	15-25	150-50	2mL H ₂ O ₂	5	0.4

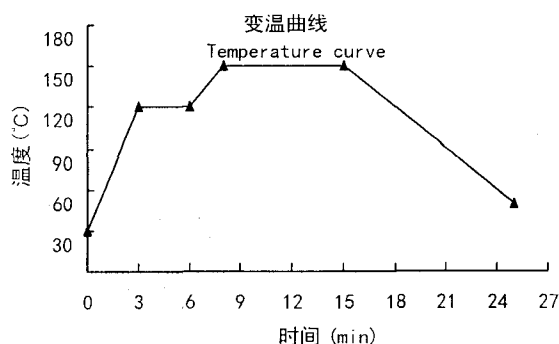


图1 常压微波消解变温曲线

Fig. 1 Temperature curve of digesting procedure of normal pressure microwave system

表 2 测定元素的分析谱线
Table 2 Analytical lines of elements

元素 Elements	分析谱线(nm) Analytical lines	元素 Elements	分析谱线(nm) Analytical lines
锌 Zn	213.857	铬 Cr	267.716
铅 Pb	220.353	镁 Mg	279.553
铁 Fe	238.204	铜 Cu	327.395
硼 B	249.772	铝 Al	396.152
锰 Mn	257.610	钡 Ba	455.403

2 结果与分析

2.1 方法的线性范围、精密度、重复性及回收率实验

为检验研究方法的准确性,选取配好的 1 mg/L 混合标准溶液来进行精密度测定,平行测定 6 次,计算测定结果的 RSD 值;同时以一个样品的消解液连续平行进样 6 次,进行方法学的重复性试验,计算测定结果的 RSD 值;并选取实验中的一个样品进行加标回收试验,重复 6 次,并计算各元素的加标回收率。结果证明方法的可行性(表 3)。

表 3 测试方法评价参数
Table 3 Parameter table of assessment for method (n=6)

元素 Elements	线性范围(mg/L) Linearity range	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	精密度(%) Precision RSD	重复性(%) Repetitiveness RSD	回收率(%) Recovery
锌 Zn	0~1	Y=21929.8x+571.8	0.999068	0.122	0.475	102.4
铅 Pb	0~1	Y=2223.5x+9.9	0.999971	0.215	0.027	101.2
铁 Fe	0~1	Y=33533.7x+130.9	0.999987	0.091	0.381	97.8
硼 B	0~1	Y=19785.0x+255.5	0.999957	0.153	0.306	97.6
锰 Mn	0~1	Y=173398.3x+565.1	0.999982	0.094	0.113	92.5
铬 Cr	0~1	Y=2734.3x+109.9	0.999957	0.097	0.012	100.9
镁 Mg	1~10	Y=590991x+6033.9	0.999753	0.102	4.137	109.7
铜 Cu	0~1	Y=20427.1x+210.4	0.999830	0.122	0.078	97.9
铝 Al	0~1	Y=25642.4x+516.5	0.999646	0.189	0.078	115.2
钡 Ba	0~1	Y=633163.2x+1753.9	0.999990	0.098	0.013	99.8

表 4 微量元素含量及花粉直感的影响
Table 4 Content trace elements and effects of xenia on trace elements content

元素 Elements	青皮 3 号×红毛 1 号 Qingpi 3×Hongmao 1		青皮 3 号×红毛 2 号 Qingpi×Hongmao 2	
	含量 Content(mg/kg)	RSD (%)	含量 Content(mg/kg)	RSD (%)
锌 Zn	25.57±0.0070A	1.2047	94.90±0.0028B	0.4765
铅 Pb	0.65±0.0003a	0.0506	1.01±0.0001a	0.0185
铁 Fe	17.50±0.0018a	0.3094	26.59±0.0035b	0.6130
硼 B	9.17±0.0038a	0.6543	5.64±0.0012a	0.2052
锰 Mn	3.13±0.0010a	0.1702	5.22±0.0016a	0.2790
铬 Cr	1.32±0.0003a	0.0444	2.73±0.0006b	0.1058
镁 Mg	377.35±0.0244a	4.2276	372.40±0.0121a	1.2148
铜 Cu	3.99±0.0008a	0.1387	5.44±0.0004a	0.0627
铝 Al	1.73±0.0006a	0.1116	3.94±0.0007b	0.1211
钡 Ba	0.35±0.0001a	0.0238	0.53±0.0002a	0.0342
总量	440.86	—	518.49	—

注：横向不同小写字母表示差异达到显著水平(P=0.05);横向不同大写字母表示差异达到极显著水平(P=0.01)。
Note: Different lowercases expresse significant difference at P=0.05 level. The different majuscules expresse significant difference at P=0.01 level.

外经贸绿色行业标准(WM/T 2-2004)》规定: Pb $\leq$ 5.0 mg/kg,表明罗汉果作为药用植物,Pb 不超标。

3 讨论

(1)花粉直感效应对罗汉果微量元素影响显著:两个授粉组合的当代果实中 Zn、Fe、Cr、Al 差异均达到显著水平($P<0.05$),其中锌达到极显著差异水平($P<0.001$),表明罗汉果果实内的 Zn、Fe、Cr、Al 含量表现出明显的花粉直感现象。这是国内外首次发现花粉直感对果实中的微量元素亦存在影响。

(2)关于铅和铬含量超标问题:2003 年颁布的《罗汉果农业部行业标准(NY/T 694-2003)》规定罗汉果中 Pb $\leq$ 0.2 mg/kg,按此标准本罗汉果样品中的铅含量已严重超标,但依据《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准(WM/T 2-2004)》的规定 Pb $\leq$ 5.0 mg/kg,则罗汉果中铅的含量并未超标。显然,罗汉果行标 NY/T 694-2003 对 Pb 含量的制定标准同《玉米农业部绿色食品行业标准(NY/T 418-2000)》,该标准规定玉米 Pb $\leq$ 0.2 mg/kg。莫利书等(2008)对市售罗汉果果壳和果瓢(含子)中所含的铅含量进行测定,结果表明,果壳内 Pb $\geq$ 2.05 mg/kg,果瓢中 Pb $\geq$ 1.95 mg/kg。王梦月等(2007)对 5 个地区、3 个药房的 17 个罗汉果样本进行 6 种有害元素含量测定,发现 Pb 最小含量为 0.7918 mg/kg,最大含量为 10.12 mg/kg。如按罗汉果标准,则 Pb 超标 3.25~50.1 倍。我们认为,罗汉果行业标准对铅的限量过于严格,有修改的必要,因为罗汉果是药用植物,其日摄入量远低于食品,因此,应根据药用植物的行业标准来制定铅的限量标准。杨振宇等(2008)指出,铬的毒性与其存在的价态有关,三价铬对人体有益,而六价铬是有毒的。在天然食品中铬的含量较低,均以无毒的三价形式存在,并且铬是人体必需的微量元素,在肌体的糖代谢和脂代谢中发挥特殊作用。而铬在罗汉果的存在价态还有待进一步研究。

(3)授粉花粉选择的重要性:“青皮 3 号” $\times$ “红毛 1 号”和“青皮 3 号” $\times$ “红毛 2 号”两种授粉组合,前者的当代果实中甜苷 V 的含量明显高于后者(马小军等,2008),而当代果实中 Pb 和 Al 的含量,前者却显著较后者低 55.3% 和 127.7%,所以花粉选用适当既能使罗汉果甜苷 V 含量高、又能使重金属 Pb 和 Al 元素含量降低,显著改善罗汉果的品质,这将对罗汉果的开发具有重要意义。花粉直感可能是

降低果实中 Pb 和 Al 元素含量的一种途径。

(4)微量元素与甜苷 V 和总糖积累的关系:在所测定的 10 种元素中,“青皮 3 号” $\times$ “红毛 2 号”有 8 种元素含量均高于“青皮 3 号” $\times$ “红毛 1 号”。其中前者样品中锰元素含量较后者高 66.8%,总糖含量高 58.9%,而甜苷 V 含量却较后者低 16%。锰元素是糖酵解和三羧酸循环中某些酶的活化剂,所以锰能提高呼吸速率(潘瑞炽,2001)。因此,“青皮 3 号” $\times$ “红毛 2 号”样品中锰元素含量较高也同时解释了为什么其果实中甜苷 V 含量较低,而可溶性总糖含量较高,即不利于甜苷 V 生成这一问题。硼能与游离状态的糖结合,使糖带有极性,从而使糖容易通过质膜,促进运输(潘瑞炽,2001)。“青皮 3 号” $\times$ “红毛 1 号”授粉的罗汉果样品中,硼元素的含量比“青皮 3 号” $\times$ “红毛 2 号”高出 62.6%,可见硼元素可能对甜苷 V 的积累是有益的,在罗汉果果实发育期间对罗汉果喷施硼肥,有利于提高罗汉果甜苷 V 的含量,节约生产成本。

参考文献:

- 潘瑞炽. 2001. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,31
- Hang L(杭玲),Su GX(苏国秀),Xia YS(夏阳升),et al. 2003. Cultivation of tissue cultured seedlings of *Momordica grosvenorii*(罗汉果组培苗栽培技术)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), (6): 70-72
- Ma XJ(马小军),Shi L(石磊),Mo CM(莫长明),et al. 2008. Xenia effect on main qualitative characters of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果主要品质性状的花粉直感效应)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 35(11): 1695-1700
- Mo LS(莫利书),Pan xz(潘雪珍),Wang YL(王益林),et al. 2008. High pressure microwave digestion and determination of microelements *Siraitia grosvenorii* by ICP-AES(高压微波消解-ICP-AES 测定罗汉果中的微量元素)[J]. *Guangxi Sci*(广西科学), 15(4): 408-410
- Wang MY(王梦月),Li XB(李晓波),Zhou J(周兢),et al. 2007. ICP-MS determination of 6 hazard elements in Fructus *Momordicae* (Luohanguo)(电感耦合等离子体质谱法检测罗汉果中 6 种有害元素的含量)[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 27(7): 954-957
- Yang ZY(杨振宇),Guo DH(郭德华),Yang KC(杨克成),et al. 2008. Determination of hexavalent chromium in health foods(保健食品中的六价铬测定)[J]. *J Chin Mass Spectrometry Society*(质谱学报), 29(2): 92-96
- Zhang M(张敏),Zhou L(周莉),Cao JH(曹建华),et al. 2008. The correlation between available elements Ca, Zn, Pb and soil pH value in Maocun, Guilin(桂林毛村土壤钙、锌、铅有效性与 pH 关系初探)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), 39(6): 796-799
- Zhong SQ(钟士强). 1999. Experiment on new variable temperature curve of machining of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果加工的新变温曲线试验)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 24(1): 31