

# 山药地方品种的化学成分和淀粉酶同工酶分析

谢彩侠<sup>1</sup>, 高山林<sup>1,①</sup>, 张重义<sup>1,2</sup>, 黄晓书<sup>2</sup>

(1. 中国药科大学, 江苏 南京 210038; 2. 河南农业大学, 河南 郑州 450002)

**摘要** 为研究品种对山药品质的影响, 对山药 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 不同地方品种在同一地区种植后的化学成分及淀粉酶同工酶差异性进行了比较分析。结果表明, 5个山药品种(太谷山药 *D. opposita* cv. Taigu, 怀庆山药 *D. opposita* cv. Huaiqing, 白玉山药 *D. opposita* cv. Baiyu, 花籽山药 *D. opposita* cv. Huazi, 铁棍山药 *D. opposita* cv. Tiegun) 的淀粉、蛋白质、水溶性及醇溶性浸出物、水分和多糖含量均不同。淀粉含量以怀庆山药最高(27.98%), 太谷山药最低(19.52%); 蛋白质含量变化幅度较小(10.05%~11.74%); 多糖含量的差异最大(0.54%~1.48%)。其中铁棍山药多糖含量最高(1.48%), 水分含量最低(65.84%)。因此, 以多糖作为评价山药品质的主要指标较为合理。淀粉酶同工酶分析结果表明, 铁棍山药的淀粉酶同工酶酶谱与其他山药品种差异较大, 亲缘关系较远。

**关键词:** 山药; 品种; 成分; 淀粉酶同工酶

**中图分类号:** R282 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2004)02-0021-04

**Analysis of the chemical components and isomorphous amylase among different local cultivars of *Dioscorea opposita*** XIE Cai-xia<sup>1</sup>, GAO Shan-lin<sup>1,①</sup>, ZHANG Zhong-yi<sup>1,2</sup>, HUANG Xiao-shu<sup>2</sup> (1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. He'nan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2004, 13(2): 21-24

**Abstract:** To study the effect of cultivars on the quality of crude drug of *Dioscorea opposita*, the chemical components and isomorphous amylase of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Taigu, *D. opposita* cv. Huaiqing, *D. opposita* cv. Baiyu, *D. opposita* cv. Huazi, *D. opposita* cv. Tiegun were analyzed after being cultivated in the same area. The results indicate that the contents of the starch, protein, soluble substance, water and polysaccharide are different among five cultivars. The starch content is the highest in *D. opposita* cv. Huaiqing (27.98%), the lowest in *D. opposita* cv. Taigu (19.52%). There is no obvious difference in protein content among these cultivars (10.05% - 11.74%), but the difference of the content of polysaccharide is the biggest. The polysaccharide content in *D. opposita* cv. Tiegun is the highest (1.48%) and the water content is the lowest (65.84%), it shows that polysaccharide could be as a measure index of the quality of crude drug of *D. opposita*. The analysis of isomorphous amylase shows that *D. opposita* cv. Tiegun has obvious distinction with other cultivars.

**Key words:** *Dioscorea opposita* Thunb.; cultivars; components; isomorphous amylase

中药山药原植物为薯蓣科 (*Dioscoreaceae*) 植物薯蓣 (*Dioscorea opposita* Thunb.), 系多年生缠绕草质藤本, 药用其块茎, 始载于《神农本草经》, 称薯蓣, 列为上品<sup>[1]</sup>。具有“主治伤中、补虚羸、除寒邪热、补中益气、长肌肉、久服耳目聪明、轻身不饥延年。”等功效<sup>[2]</sup>。历代本草记载, 药用山药分布较北, 以河南、山西交界处为中心, 明清以来都认为以主产于“古怀庆府”(今河南省焦作市沿沁河两岸)的“怀庆山药”最佳, 为中国著名“四大怀药”之一。为探讨山药道地性的成因, 前人从品种<sup>[3]</sup>、微量元素<sup>[4]</sup>和产地<sup>[5,6]</sup>等方面对山药进行了研究。为了研究不同地方品种

对山药品质的影响, 本项目收集了数种山药地方品种, 在同一条件下栽培和管理, 并分析其化学成分和淀粉酶同工酶的差异, 试图揭示品种对山药道地性形成的影响, 为山药优良品种选育及质量标准的制定提供依据。

收稿日期: 2003-09-23

基金项目: 国家科学技术部“四大怀药规范化种植”项目(99-929-01-06A)

作者简介: 谢彩侠(1977-), 女, 河南内乡人, 博士研究生, 主要从事中药生物技术研究。

① 通讯作者

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

山西太谷山药 (*Dioscorea opposita* Thunb. cv. Taigu) 取自山西太谷县北阳村, 怀庆山药 (*D. opposita* cv. Huaiqing)、铁棍山药 (*D. opposita* cv. Tiegun) 取自河南省沁阳市农基推广中心, 山东白玉山药 (*D. opposita* cv. Baiyu) 和江苏花籽山药 (*D. opposita* cv. Huazi) 由河南省温县农科所馈赠, 均经河南农业大学王遂义教授鉴定。

取山药嘴子作为繁殖材料, 分别于2002年4月和2003年4月连续2年种植于温县农科所, 实行统一管理。实验田土壤肥力水平为: 全氮 0.069%, 全磷 0.249%, 全钾 2.84%, 速效氮 13.1 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效磷 14.0 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效钾 85 mg·kg<sup>-1</sup>, 有机质 0.98%, pH 7.92。

当年10月下旬同期收获, 每样品采样5~10株, 测定含水量后, 将其块茎烘干、混匀、粉碎后过筛。每个指标重复测定2次, 取其平均值。

### 1.2 测定项目及方法

1.2.1 淀粉及多糖测定 参照文献[7]进行。

1.2.2 蛋白质、浸出物、水分测定 按《中华人民共和国药典》附录方法[8]进行。

1.2.3 淀粉酶同工酶电泳 按文献[9]的方法进行。

1.2.3.1 样品制备 相同时期, 分别取山药块茎的冷冻样品约0.5 g, 加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 7.5)

缓冲液 2.5 mL, 冰浴中匀浆, 于 0~4℃ 下 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min, 取上清液, 加等量 40% 蔗糖和 1 滴溴酚蓝, 混匀, 置于 0~4℃ 冰箱中备用。

1.2.3.2 电泳及染色方法 采用不连续垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳 (DYY 型稳压稳流电泳仪, 北京六一仪器厂生产) 方法。分离胶浓度 7.5%, 浓缩胶浓度 2.5%, 分离胶缓冲液为 3.0 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.9), 浓缩胶缓冲液 3.0 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 6.7), 电极缓冲液为稀释 10 倍的 0.5 mol·L<sup>-1</sup> Tris-甘氨酸缓冲液 (pH 8.3)。在 0~4℃ 下点样, 点样量 60~100 μL。电泳时浓缩胶电压为 160 V, 分离胶电压 200 V, 电泳时间 3~4 h。

将胶板放入 1% 淀粉中, 于 28℃ 下保温 40~50 min。清洗数次, 用 100 mL 0.04 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (pH 7.0) 浸泡 10 min 后, 加入 0.005 mol·L<sup>-1</sup> KI-I<sub>2</sub> 50 mL, 放置一段时间后, 胶板上出现红白相间的谱带, 即为淀粉酶谱带 (红色为 β-淀粉酶谱带, 白色为 α-淀粉酶谱带)。

计算每一酶带的 R<sub>f</sub> 值, 并绘制淀粉酶同工酶酶谱图。为便于分析, 将各酶带依次编号为 A、B、C、D、E、F、G、H、I。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同品种山药成分比较

不同品种山药的淀粉、蛋白质、多糖、含水量及水溶性和醇溶性浸出物含量见表 1。

表 1 不同品种山药各成分的含量  
Table 1 The contents of components in different cultivars of *Dioscorea opposita* Thunb.

品种 Cultivar	含水量 Content of water	淀粉含量 Content of starch	蛋白质含量 Content of protein	水溶性 浸出物含量 Content of water extract	醇溶性 浸出物含量 Content of ethanol extract	多糖含量 Content of polysaccharide	%
花籽山药 <i>D. opposita</i> cv. Huazi	83.80	19.95	11.74	4.52	3.85	0.84	
白玉山药 <i>D. opposita</i> cv. Baiyu	81.96	20.43	11.71	2.54	2.88	0.72	
怀庆山药 <i>D. opposita</i> cv. Huaiqing	80.12	27.98	10.05	2.42	2.26	0.54	
太谷山药 <i>D. opposita</i> cv. Taigu	76.85	19.52	10.48	2.94	3.00	0.38	
铁棍山药 <i>D. opposita</i> cv. Tiegun	65.84	20.65	10.05	2.00	1.92	1.48	

2.1.1 不同品种山药水分含量分析 由表 1 可知, 不同山药品种水分含量不同, 其中铁棍山药含量最低 (65.84%), 花籽山药、白玉山药最高, 分别是铁棍山药的 1.27 倍和 1.24 倍。铁棍山药作为道地产区

的地方品种, 其质地细腻和品质优良可能与此有关。  
2.1.2 不同品种山药淀粉及蛋白质含量分析 表 1 结果表明, 不同品种山药的淀粉及蛋白质含量差异不明显, 蛋白质含量为 10.05%~11.74%, 淀粉含量

为 19.52% ~ 27.98%。因此,在山药的质量控制中,不宜用淀粉和蛋白质作为控制指标。

2.1.3 不同品种山药浸出物含量分析 由表 1 可知,不同品种山药水溶性浸出物含量不同,从高至低依次为花籽山药、太谷山药、白玉山药、怀庆山药和铁棍山药。花籽山药,太谷山药分别是铁棍山药的 2.26 和 1.47 倍;醇溶性浸出物含量差异较大;变化幅度为 3.85% ~ 1.92%。山药是活性成分不明显的生药,药理研究表明,山药水煎剂给小鼠灌胃可以增加前列腺、精囊腺的重量,增强雄性激素样作用,因此,山药水溶性浸出物中的活性成分还有待于进一步的研究和确定。

2.1.4 不同品种山药多糖含量分析 由表 1 可知,不同品种山药多糖含量存在明显差异。最高为铁棍山药(1.48%),是太谷山药的 3.89 倍,其次为花籽山

药、白玉山药,分别是太谷山药的 2.21、1.89 倍,怀庆山药多糖含量是太谷山药的 1.42 倍。免疫药理实验表明,山药多糖有增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的作用,并刺激免疫早期阶段的抗原结合细胞,还能提高小鼠淋巴细胞转化率及溶血素(SOD 值),初步认为山药多糖为其活性成分<sup>[7]</sup>。铁棍山药作为道地山药产区的地方品种,其品质优良,多糖含量高可能是主要原因之一,说明品种在一定程度上决定了多糖含量的高低。另外由表 1 可知,怀庆山药多糖含量高于太谷山药,说明山西地方品种太谷山药引种于温县后,由于道地产区环境及其他因子的长期作用,可能改变了某些生理特性,因而造成多糖含量的变异。

## 2.2 不同品种山药淀粉酶同工酶分析

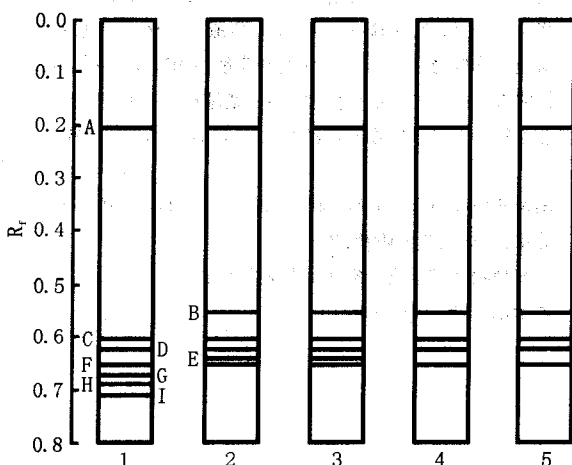
从淀粉酶同工酶谱可以看出(见表 2 和图 1):5

表 2 不同品种山药淀粉酶同工酶谱  $R_f$  值

Table 2 The  $R_f$  value of isomorphic amylase bands of different cultivars of *Dioscorea opposita* Thunb.

品种 Cultivar	淀粉酶谱带的迁移率 <sup>1)</sup> $R_f$ value of isomorphic amylase bands <sup>1)</sup>								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
铁棍山药 <i>D. opposita</i> cv. Tiegun	0.203		0.601	0.627		0.653	0.680	0.693	0.707
太谷山药 <i>D. opposita</i> cv. Taigu	0.203	0.560	0.601	0.627	0.640	0.653			
怀庆山药 <i>D. opposita</i> cv. Huaiqing	0.203	0.560	0.601	0.627	0.640	0.653			
花籽山药 <i>D. opposita</i> cv. Huazi	0.203	0.560	0.601	0.627		0.653			
白玉山药 <i>D. opposita</i> cv. Baiyu	0.203	0.560	0.601	0.627		0.653			

<sup>1)</sup> A, E, G, I:  $\alpha$ -淀粉酶谱带  $\alpha$ -isomorphic amylase bands; B, C, D, F, H:  $\beta$ -淀粉酶谱带  $\beta$ -isomorphic amylase bands.



1. 铁棍山药 *D. opposita* cv. Tiegun; 2. 太谷山药 *D. opposita* cv. Taigu; 3. 怀庆山药 *D. opposita* cv. Huaiqing; 4. 花籽山药 *D. opposita* cv. Huazi; 5. 白玉山药 *D. opposita* cv. Baiyu; A, E, G, I:  $\alpha$ -淀粉酶谱带  $\alpha$ -isomorphic amylase bands; B, C, D, F, H:  $\beta$ -淀粉酶谱带  $\beta$ -isomorphic amylase bands.

图 1 不同品种山药淀粉酶同工酶谱

Fig. 1 The isomorphic amylase bands of different cultivars of *Dioscorea opposita* Thunb.

个山药品种块茎中淀粉酶同工酶谱共有 9 条不同的酶带,铁棍山药有 7 条;怀庆山药和太谷山药谱带相同,均为 6 条(A、B、C、D、E、F);花籽山药和白玉山药相同,均为 5 条(A、B、C、D、F),其中 A( $R_f$  0.203)、C( $R_f$  0.601)、D( $R_f$  0.627)、F( $R_f$  0.653)为共有谱带。而铁棍山药具有其他 4 个品种所没有的 G( $R_f$  0.680)、H( $R_f$  0.693)、I( $R_f$  0.707)谱带,缺少 B( $R_f$  0.560)和 E( $R_f$  0.640)谱带,说明铁棍山药与其他山药谱带差异较大,亲缘关系较远。花籽山药与白玉山药、太谷山药与怀庆山药的谱带相似,具有较近的亲缘关系。

## 3 讨 论

1) 通过本研究可以看出,不同品种山药淀粉、蛋白质、浸出物、水分和多糖含量均有不同,但以多糖

含量差异最大,其中,铁棍山药多糖含量最高,水分含量最低。有研究表明,山药主要有效成分是多糖,因此,以多糖作为评价山药品质的主要指标较为合理。

2) 若以多糖作为评价山药品质的指标<sup>[7]</sup>,铁棍山药品质最好,但产量低;白玉山药和花籽山药品质次之,但产量高(另文报道),性状好,可以在怀山药产区推广种植,也可作为杂交育种的材料,以培育优质高产的品种。

3) 种质资源研究是针对作物品种进行的考察与收集、鉴定与评价、保存和应用以及遗传学基础、起源和演化的研究。对于山药类生药,目前研究较多的仅限于铁棍山药与太谷山药,而对于其他如花籽山药、白玉山药等地方品种研究较少,而且在调查农户的过程中,得知还有一些山药的农家品种没有被发现,也没有做过调查,这说明山药种质资源还有待于进一步调查研究。

4) 由山药淀粉酶同工酶分析可看出:太谷山药与怀庆山药的亲缘关系最近,这与太谷山药与怀庆山药具有相同的来源有关;花籽山药和白玉山药外形上有差别,但酶谱无差别;铁棍山药与其他山药酶谱差别较大,这有待于进一步研究。

5) 由酶谱特征可看出,铁棍山药 $\alpha$ -淀粉酶谱带较多,而其他山药 $\beta$ -淀粉酶谱带较多,说明利用同工酶分析技术在一定程度上可以对山药种内差异进行鉴别。虽然同工酶分析技术在药用植物学的研究中有一定的应用,但由于酶谱易受到发育阶段和环境条件的影响,因此同工酶分析在药用植物学的研究中具有一定的局限性。DNA分子作为遗传信息的载体,不受外界因素和生物个体发育阶段及器官组织差异的影响,具有较高的遗传稳定性。如果能从分子水平对山药种内变异进行研究,找出它们基因上的差异,不但能揭示山药道地性的实质,还可以分离出控制山药优良性状的基因,采用基因重组技术培

育优良山药品种。

6) 特定的遗传基因是道地药材形成与发展的物质基础,但道地药材的形成和发展也与产地土壤、气候、水质、生态环境等地理因子和生态因子密切相关。由本研究可知,若以多糖作为评价山药品质的指标之一,在地理及生态因子相同的情况下,铁棍山药质地细腻,多糖含量最高,品质最佳。《本草原始》亦云:“今人多用怀庆者,肉白指喜细,紧实者入药”,均与当今认为家种的怀山药中最佳品为铁棍山药的论点相符。因此铁棍山药这一优良品种可能是怀山药道地性形成的一个原因。前人研究结果表明,道地与非道地产区山药在对微量及大量元素的吸收上也有一定差异,这可能也与道地性有一定关系<sup>[4,5]</sup>,因此怀山药道地性的形成主要是品种与环境双重作用的结果<sup>[6]</sup>,但生态环境是如何影响山药的化学成分,即怀山药的化学生态学尚需深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 森林之辑. 神农本草经(卷1)[M]. 上海:群联出版社,1955. 19.
- [2] 唐·苏敬. 新修本草[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1981. 150.
- [3] 张重义. 不同山药品种的品质评价与分析[J]. 河南农业大学学报,1997,31(增刊):42.
- [4] 张重义,谢彩侠. 怀山药无机元素特征分析[J]. 特产研究,2003,25(1):41-44.
- [5] 谢彩侠,张重义,谢慧玲,等. 不同产地山药氮磷钾吸收规律研究[J]. 河南农业大学学报,2003,37(3):253-256.
- [6] 张重义,谢彩侠,黄晓书,等. 怀山药道地产区与非道地产区药材质量比较[J]. 现代中药研究与实践,2003,17(1):19-21.
- [7] 楼之岑,秦波. 常用中药材品种整理和质量研究[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1995. 1114-1115.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2000年版(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [9] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985. 344.