

文章编号: 1000-5692(2004)04-0371-05

云锦杜鹃次生代谢产物质量分数的测定

杨蓓芬

(台州学院 生命科学与医药化工学院, 浙江 临海 317000)

摘要: 对云锦杜鹃 *Rhododendron fortunei* 不同大小级和不同营养器官的鞣质、生物碱、皂甙、木质素、绿原酸和大黄素等6种次生代谢产物的质量分数进行测定与分析。结果显示: 6种次生代谢产物在云锦杜鹃不同营养器官中的质量分数具有一定的差异, 总质量分数以茎最高, 中树、小树、幼树分别为 $447.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $319.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $247.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 小树和幼树中叶片次之, 分别为 $256.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $207.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根最低, 分别为 $234.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $174.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 中树中根次之, 为 $344.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 叶最低, 为 $317.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。6种次生代谢产物中, 木质素的质量分数以茎最高, 根次之, 叶片最低; 绿原酸的质量分数以根最高, 叶片次之, 而茎最低; 而总生物碱、总皂甙、总鞣质、大黄素的质量分数均以叶片最高, 茎次之, 而根最低, 其中大黄素的茎与根中的质量分数较为接近。6种次生代谢产物总量在3种器官中均以中树最高, 小树次之, 幼树最低, 差异具有显著性意义。不同器官的6种次生代谢产物质量分数在不同大小级之间具有一定的差异。表2参18

关键词: 云锦杜鹃; 次生代谢产物; 营养器官

中图分类号: S718.3; Q946 文献标识码: A

云锦杜鹃 *Rhododendron fortunei* 属杜鹃花科 Ericaceae 常绿灌木, 产浙江、江西、福建、广东、广西、湖南等省区, 生于海拔 400~1900 m 山间林中, 花大艳丽, 具极大的观赏价值^[1]。国内有关云锦杜鹃的研究较少, 仅有群落学、土壤肥力^[2]及衰退原因^[3]等研究, 有关云锦杜鹃生化成分的研究尚未见报道, 对它们的开发利用相当有限。植物的次生代谢产物在维护植物自身的生存和发展中具有重要作用: 如可提高植物对环境的适应性, 抵御天敌的侵袭, 增强抗病性, 提高植物种间竞争能力, 维系植物与其他生物间的互惠关系等^[4], 在植物的生长、发育和进化中都具有一定的调节和控制作用。植物的次生代谢产物主要包括含氮化合物(如生物碱), 萜类化合物(如挥发油等), 酚类化合物(包括黄酮、鞣质等)。次生代谢产物常是药物和化工原料的重要来源, 次生代谢产物含量的多少是利用植物医药工程及开发天然产物的前提。杜鹃花科植物常含有一定量的次生代谢产物, 具有一定的药用价值, 如彭晓春等^[5]证实湘西杜鹃花 *Rh. simsii* 根黄酮类化合物的质量分数为 $1.89 \sim 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 芦丁质量浓度为 $3.77 \sim 3.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。李钧敏等^[6]证实云锦杜鹃中含有一定量的黄酮类化合物。本文对云锦杜鹃不同器官的鞣质、生物碱、皂甙、木质素、绿原酸和大黄素6种次生代谢产物的质量分数进行了测定, 为合理开发利用云锦杜鹃资源提供基础资料。

收稿日期: 2004-04-12; 修回日期: 2004-07-26

基金项目: 浙江省教育厅资助项目(20030770)

作者简介: 杨蓓芬(1965-), 女, 浙江临海人, 讲师, 从事植物学教学与研究。E-mail: tuybf@163.com

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料取自浙江省天台山华顶国家森林公园, 海拔高度 900 m。于 2001 年 7 月, 在样地中以立木级结构代替年龄分析, 将云锦杜鹃种群按胸径大小分成幼树 (胸径 < 2.5 cm)、小树 (胸径 2.5 ~ 7.5 cm) 和中树 (胸径 7.5 ~ 22.5 cm) 3 个大小级^[7], 每个大小级各随机选取 5 株植株, 分根、茎、叶采集, 用湿布包裹, 塑料袋封装, 立即带回实验室。将材料洗净, 自然风干, 100 °C 水蒸气固定 2.5 min, 70 °C 干燥 12 h, 研磨后经过 0.25 mm 金属网筛, 将烘干样品放入磨口广口瓶, 置于干燥器中保存, 备用^[8]。

芦丁购自上海生化试剂公司; 没食子酸、大黄素、绿原酸和小檗碱购自中国药品生物制品检定所; 西洋参 *Panax quinquefolium* 总皂甙参照文献 [9] 自提。

1.2 研究方 法

1.2.1 鞣质的抽提与测定^[10] 取样品 0.1 g, 加水 25 mL, 微火煮沸 30 min, 放冷过滤至干燥锥形瓶中, 加水定容至 25 mL, 吸取 1 mL 提取液, 加入 24 mL 蒸馏水, 再加入 2 滴 5% 靛红溶液, 用 0.01 mol·L⁻¹ 高锰酸钾溶液滴定, 溶液从蓝色变以绿色再变为黄色为终点。以没食子酸为标准品, 标准曲线为 $y = 4.1x + 0.0009$, $r = 0.9936$ 。

1.2.2 生物碱的抽提与测定^[11] 取样品 0.1 g, 置 50 mL 小烧杯中, 加入体积分数 90% 乙醇 5 mL, 在磁力搅拌器上搅拌 30 min, 转换至 10 mL 离心管中, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液至 25 mL 容量瓶中, 再重复进行搅拌离心, 上清液混合, 直至上清液无色, 再用体积分数 90% 乙醇定容至 25 mL。取提取液 1.4 mL 置于精密加入 4.0 mL 氯仿的分液漏斗中, 加入 7.2×10^{-4} mol·L⁻¹ 溴甲酚绿 pH4.42 缓冲溶液 (精密称取溴甲酚绿 125.0 mg, 用 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠 12.5 mL 溶解后, 加入邻苯二甲酸氢钾 2.55 g, 加少量蒸馏水溶解后, 转移至 250 mL 容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 用 pH 计校正 pH=4.42) 0.6 mL, 振摇 1 min, 静置 1 h, 取澄清的氯仿液, 以试剂空白作对照, 于 417 nm 处测定吸光度。以小檗碱为标准品, 其回归方程为 $y = 0.0325x - 0.0543$, $r = 0.9994$ 。

1.2.3 总皂甙的提取与测定^[12] 取样品 0.1 g, 加入无水乙醇 5 mL, 85 °C 回流提取 6 h, 无水乙醇定容至 25 mL, 取 1 mL 置 25 mL 容量瓶中, 挥去溶剂后, 加入 0.2 mL 体积分数为 5% 的香草醛冰醋酸溶液, 再加入 0.8 mL 高氯酸, 于 70 °C 水浴加热 20 min, 取出, 冷却, 加 5 mL 冰醋酸, 以试剂空白作对照, 于 560 nm 波长处测其吸光度。以西洋参总皂甙 (按 5% 计算) 为标准品, 其回归方程为 $y = 3538.6x + 0.082$, $r = 0.9958$ 。

1.2.4 木质素的提取与测定^[13] 准确称取 1 g 试样, 用滤纸包好放在索氏抽提器中用 2:1 苯-乙醇混合液抽提 6 h, 取出风干后将试样转入具塞锥形瓶用 15 mL 体积分数 7.5% 硫酸 25 °C 下反应 2.5 h, 然后加水稀释至硫酸的体积分数为 3%, 煮沸回流 4 h, 过滤, 用蒸馏水洗涤至中性, 然后将滤纸连同残渣移入一已恒重的坩埚中, 105 °C 烘干至恒重即得木质素含量。

1.2.5 绿原酸的提取与测定^[14] 取样品 0.1 g, 加入体积分数 95% 乙醇回流提取 0.5 h, 定容至 25 mL, 取 1 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加入 0.2 mol·L⁻¹ 盐酸定容至刻度, 摇匀, 以试剂空白为对照, 在 327 nm 处测定吸光度。以绿原酸为标准品, 其回归方程为 $y = 57868x - 0.0061$, $r = 0.9957$ 。

1.2.6 大黄素的提取与测定^[15] 取样品 0.1 g, 加入 0.5 mol·L⁻¹ 盐酸 4 mL, 氯仿 3 mL, 60 °C 回流 1 h, 倒入离心管, 再加入 3 mL 氯仿洗涤, 4 000 r·min⁻¹ 离心, 取氯仿层置 25 mL 容量瓶中, 水浴蒸干, 加入 50 g·kg⁻¹ 氢氧化钠定容至 25 mL, 黑暗放置 0.5 h, 以 50 g·kg⁻¹ 氢氧化钠为空白参照, 测定 517 nm 处吸光度。以大黄素为标准品, 其回归方程为 $y = 1.2525x - 0.0007$, $r = 0.9977$ 。

1.3 数 据 处 理

将所得数据输入 Microsoft Excel, 对不同大小级之间数据进行配对样品的 t 检验, 对不同营养器官之间数据进行两样本平均数的 t 检验。

2 结果与分析

2.1 云锦杜鹃不同营养器官的次生代谢产物质量分数分析

云锦杜鹃不同营养器官的总鞣质、总生物碱、总皂甙、木质素、绿原酸和大黄素的质量分数如表 1 所示。从 6 种次生代谢产物的总量来看, 中树以茎质量分数最高, 根中次之, 叶片中最低; 而小树、幼树也以茎的质量分数最高, 其次是叶, 根最低。t 检验显示 3 种器官两两之间不具显著差异(表 2)。

从表 1 可知, 云锦杜鹃不同营养器官的 6 种次生代谢产物质量分数各不相同: 总鞣质质量分数是叶最高, 不同器官之间无显著性差异(表 2); 总生物碱质量分数也是叶最高, 叶与茎、茎与根之间差异显著, 而叶与根之间差异极显著; 总皂甙质量分数在中树、幼树、小树中均是叶最高, 叶与茎差异不显著, 茎与根、叶与根之间差异显著; 木质素质量分数是茎中最高, 其中叶与茎之间具有极显著性差异, 而茎与根与叶之间均没有明显的差异; 绿原酸质量分数是根中最高, 根与茎之间差异显著, 而叶与根、叶与茎之间差异均不显著; 含大黄素最高的是叶, 茎与根的较接近, 但它们彼此之间差异不显著。

表 1 云锦杜鹃不同营养器官次生代谢产物的质量分数

Table 1 Secondary metabolites in different nutrient organs of *Rhododendron fortunei*

大小级	器 官	次生代谢产物质量分数/(g·kg ⁻¹)						合 计
		总鞣质	总生物碱	总皂甙	木质素	绿原酸	大黄素	
中树	叶	167.5	3.3	52.3	75.6	16.4	1.9	317.0
	茎	147.6	2.1	46.5	235.6	15.5	0.2	447.5
	根	141.6	1.7	26.8	157.0	17.2	0.2	344.5
小树	叶	132.0	3.2	40.6	58.7	19.2	2.7	256.4
	茎	88.4	2.5	30.9	186.1	10.9	0.5	319.3
	根	85.2	1.7	33.6	88.9	24.9	0.5	234.8
幼树	叶	124.1	3.1	24.6	29.3	17.3	9.3	207.7
	茎	66.5	2.5	16.0	152.3	8.5	1.7	247.5
	根	64.8	1.7	14.3	72.9	19.5	1.5	174.7

表 2 云锦杜鹃次生代谢产物质量分数的 t 检验

Table 2 The t test of the content of secondary metabolites in *Rh. fortunei*

次生代谢物	t 值					
	中树-小树	小树-幼树	中树-幼树	叶片-茎	茎-根	叶片-根
总鞣质	1.6101*	0.9012*	1.3461*	1.4596	0.1088	1.6564
总生物碱	0.1562	0.2403	0.0905	3.4805*	3.7823*	25.9965**
总皂甙	0.2364	3.0252**	1.0073	0.6490	3.5066*	3.9111*
木质素	0.7162	1.1789*	1.3665*	4.9361**	2.4061	1.7767
绿原酸	0.1315	0.7071	0.1046	2.7113	2.8990*	1.1950
大黄素	0.6694	0.3822	0.4061	1.6046	0.1104	1.6407
总量	1.1791*	2.1578*	1.4315*	1.1691	1.1303	0.1533

*P<0.05 表示差异显著; **P<0.01 表示差异极显著

2.2 不同大小级云锦杜鹃次生代谢产物质量分数的变化

次生代谢产物在体内具有累积过程, 中树、小树与幼树的 6 种次生代谢产物的质量分数见表 1。从 6 种次生代谢产物总量来看, 在根、茎和叶 3 种器官中, 均以中树最高, 小树次之, 幼树最低(表 1), 不同大小级彼此之间的显著性差异如表 2 所示。

从结果可知, 总鞣质的质量分数在 3 种器官中均以中树最高, 小树次之, 幼树最低, 中树与小树、幼树之间存在显著性差异, 而小树与幼树之间无显著差异。总生物碱质量分数在叶中以中树最

高, 但差异不显著; 在茎中以小树和幼树较高; 而在根中则不同大小级的质量分数均一致; 不同大小级之间无显著性差异。总皂甙质量分数在叶与茎中以中树最高; 在根中以小树最高, 小树与幼树之间存在极显著的差异, 中树与小树, 中树与幼树之间不存在显著性差异。木质素的质量分数在3种器官中均以中树最高, 小树与幼树、中树与幼树之间存在显著性差异, 而中树与小树之间不存在显著性差异。绿原酸的质量分数在叶与根中以小树最高, 而在茎中以中树最高, 彼此之间无显著性差异。大黄素的质量分数在3种器官中均以幼树最高, 不同大小级彼此之间无显著性差异。

3 结论

次生代谢是植物的重要特征, 其产物既具有重要的生态学意义又可决定各类植物在进化过程中的兴衰成败和生死存亡。合成和利用次生代谢产物是植物适应环境的重要对策之一, 植物可以通过次生代谢产物来阻止其他生物的侵袭, 抑制与其竞争生存条件的其他植物种群的生长发育^[1]。

6种次生代谢产物在云锦杜鹃不同营养器官中的质量分数具有一定的差异, 总量以茎最高, 但三者之间不存在显著性差异。6种次生代谢产物中除木质素在茎与根中质量分数高于叶, 绿原酸在根中质量分数高于叶, 其余4种均以叶片中质量分数最高, 这与其他植物类似^[19]。此外, 6种次生代谢产物在茎与根中质量分数高低无一定的规律, 大黄素在茎与根中的质量分数较为接近; 总生物碱、总皂甙、总鞣质和木质素在茎中的质量分数要高于根; 对于绿原酸来说, 在根中的质量分数要高于茎。

6种次生代谢产物在不同大小级之间的质量分数有一定的差异, 总量在不同大小级之间具有显著性差异, 中树中的质量分数最高, 小树次之, 幼树最低, 这说明植物的次生代谢产物具有一定的累积过程。

西洋参总皂甙质量分数为 $48.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[9], 云锦杜鹃小树根中总皂甙质量分数为 $33.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 叶中质量分数为 $52.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 大黄 *Rheum officinale* 鞣质质量分数为 $145.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[15], 云锦杜鹃中树叶中鞣质质量分数为 $167.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根中质量分数 $141.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 贝母 *Fritillaria thunbergii* 总生物碱质量分数为 $5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[17], 云锦杜鹃中树叶中总生物碱质量分数为 $3.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根中质量分数达 $1.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 金银花 *Lonicera japonica*^[18] 花蕾中绿原酸的质量分数为 $12.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 茎中为 $4.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 叶中为 $17.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而云锦杜鹃中树叶中的绿原酸质量分数为 $16.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 茎中质量分数为 $15.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根中质量分数 $17.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。另外, 云锦杜鹃茎中的木质素质量分数较高。云锦杜鹃的总皂甙、鞣质和绿原酸等次生代谢产物质量分数较高, 可能有一定的开发前景, 有待进一步的研究与开发。

参考文献:

- [1] 方云亿. 浙江植物志: 第5卷[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1989. 9-10.
- [2] 管康林, 吴家森, 范义荣, 等. 华顶山云锦杜鹃林衰退原因及对策[J]. 浙江林学院学报, 2001, 18(2): 195-197.
- [3] 吴家森, 庞加钱, 周祖耀, 等. 华顶山云锦杜鹃林地土壤肥力分析[J]. 浙江林业科技, 2002, 22(2): 26-28.
- [4] 杜近义, 胡国赋, 秦际威. 植物次生代谢产物的生态学意义[J]. 生物学杂志, 1999, 16(5): 9-10.
- [5] 彭晓春, 王辉宪, 刘文萍, 等. 湘西杜鹃花根黄酮类化合物含量测定[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2000, 21(1): 11-12.
- [6] 李钧敏, 金则新, 杨蓓芬. 云锦杜鹃总黄酮含量及成分分析[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(1): 110-112.
- [7] 陈小勇, 宋永昌. 黄山青冈种群时间遗传结构[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 1999, 33(4): 79-84.
- [8] 何维明, 钟章成. 绞股蓝种群次生代谢产物的动态及其生态学意义[J]. 云南植物研究, 1998, 20(4): 434-438.
- [9] 丁之恩, 严平. 西洋参茎叶总皂甙的提取分离研究[J]. 经济林研究, 2000, 18(1): 58-59.
- [10] 王璐, 王晓, 施大文. 中药锁阳鞣质含量的测定[J]. 上海医科大学学报, 1996, 23(2): 150.
- [11] 李惠芬, 卢继新, 张晓梅, 等. 5种不同产地天仙子总生物碱的含量分析[J]. 中草药, 1999, 30(8): 582-583.
- [12] 宋永良. 复方乳鸽胶囊中绞股蓝总皂甙含量测定[J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(3): 77.
- [13] 陈为健, 程贤, 陈跃先, 等. 硫酸法测定花生壳中木质素的含量[J]. 闽江学院学报, 2002, 23(2): 72-73.
- [14] 邢俊波, 李萍, 温德良. 不同物候期金银花中总绿原酸的积累动态研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 456-459.
- [15] 戴万生, 赵荣华, 陈红波. 干酪素法测定大黄鞣质类成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(6): 324-325.
- [16] 张宇, 王凤芝, 张丹丹, 等. 黄芪根、茎、叶中总皂甙含量比较[J]. 中草药, 1998, 29(2): 674.

- [17] 王冲之, 孙健, 李萍. 贝母类药材生物碱及生物碱苷含量测定方法学研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(6): 417-418.
- [18] 张雁冰, 寇嫻, 王桂红. 密县金银花及其茎、叶中绿原酸含量测定[J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(2): 36-37.

Determination of content of secondary metabolites in Rhododendron fortunei

YANG Bei-fen

(School of Life Science and Pharmaceutical and Chemical Engineering, Taizhou University, Linhai 317000, Zhejiang, China)

Abstract: The contents of 6 secondary metabolites such as tannin, saponin, alkaloid, lignin, emodin and chlorogenic acid in different organs of *Rhododendron fortunei* different class size were determined. The results showed that there were certain differences among the content of 6 secondary metabolites in different organs of *Rhododendron fortunei*. The total content of 6 secondary metabolites was highest in stem. It was $447.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ in middle sized tree, $319.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the little tree and $247.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ in young tree, respectively. The total content in the little tree and young tree, took the second place with $256.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $207.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively, while it in root was the lowest with $234.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $174.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively. The total content in the root of the middle-sized tree took the second place $344.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ while that in leaves was the lowest ($317.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rank of contents of lignin was as follows: stem > root > leaves. The rank of chlorogenic acid was root > leaves > stem. The rank of the contents of the other 4 secondary metabolites was leaves > stem > root while the content of emodin in stem was as much as that in root. In three organs, the total content of 6 secondary metabolites in the middle-sized tree was highest, that in little tree took the secondary place while that in young tree was the lowest. In different organs, there were also certain differences among the contents of 6 secondary metabolites in *Rhododendron fortunei* with different sizes. [Ch, 2 tab. 18 ref.]

Key words: *Rhododendron fortunei*; secondary metabolites; nutritive organs