

十四种金花茶组植物叶总黄酮含量比较

黄兴贤^{1,2}, 邹蓉², 胡兴华², 韦霄², 唐辉², 漆小雪²

(1. 广西师范大学 生命科学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 金花茶叶含有丰富的黄酮类化合物。以70%乙醇为提取溶剂,对14种金花茶叶中的黄酮进行超声波提取,并以芦丁为对照品,采用紫外分光光度法于273 nm处测定吸光度,得出各种金花茶叶总黄酮的含量并进行了比较。结果表明:不同种金花茶叶黄酮的含量差异较大,平果金花茶中新叶的总黄酮含量(22.011%)最高,而东兴金花茶中一年叶龄叶子总黄酮含量(1.518%)最低;同种而不同叶龄的金花茶叶总黄酮含量变化较大。新叶的总黄酮含量较一年生叶和二年生叶的含量高。平果金花茶和柠檬黄金花茶叶中黄酮含量较高,具有潜在的研究与开发价值。

关键词: 金花茶组; 超声波提取; 紫外分光光度法; 不同叶龄; 总黄酮; 含量测定

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)02-0281-04

Comparison of total flavonoids content in 14 species of *Camellia* sect. *Chrysantha*

HUANG Xing-Xian^{1,2}, ZOU Rong², HU Xing-Hua²,
WEI Xiao², TANG Hui², QI Xiao-Xue²

(1. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: There are rich flavonoids in leaves of *Camellia* sect. *Chrysantha*. The total flavonoids content in leaves of 14 species of *Camellia* sect. *Chrysantha* were extracted using 70% ethanol as extracting solvent by ultrasonic wave and were determined by ultraviolet spectrophotometry in this study, with rutin as a standard sample at 273nm. The content differences among species were analyzed. The results showed that the total flavonoids content in new leaves of *C. pingguensis* (22.011%) was highest and the lowest was the one-year-old leaves of *C. tungthinensis* (1.518%). There were significant differences of the total flavonoids in different leaf ages of the same species. The total flavonoids content in new leaves is higher than that in one-year-old or two-year-old leaves. *C. pingguensis* and *C. limonia* had the potential value of research and exploit with higher total flavonoids content.

Key words: *Camellia* sect. *Chrysantha*; ultrasonic extraction; ultraviolet spectrophotometry; different leaf age; total flavonoids; content determination

金花茶组(*Camellia* sect. *Chrysantha*)植物(张宏达等, 1979)属山茶科山茶属常绿灌木或小乔木(张宏达等, 1998), 是世界上著名的观赏植物(韦霄等, 2005)。金花茶是金花茶组植物的统称。金花茶的

收稿日期: 2010-09-25 修回日期: 2011-01-27

基金项目: 国家自然科学基金(31040014); 广西留学回国人员科学基金(桂科基 0575008); 广西科技攻关项目(桂科攻 0992003B-36); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-Z-0913)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31040014); Natural Science Foundation for the Returned Scholars of Guangxi(0575008); Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(0992003B-36); Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences(KSCX2-YW-Z-0913)]

作者简介: 黄兴贤(1982-), 男, 广西平南人, 硕士, 主要从事经济植物生理生化研究, (E-mail) gghbxx@126.com.

花黄色,形态美观,具有极高的观赏价值,被誉为“茶族皇后”和植物界的“大熊猫”(梁盛业,1993;宾晓芸等,2005)。金花茶富含多种重要保健价值的微量元素,具有清热解毒,利尿利湿等功效,常用于咽喉炎、痢疾、水肿、高血压、尿路感染、预防肿瘤等疾病的治疗。近年来的动物学实验研究表明,金花茶叶的水浸出物具有降血糖、降血脂、抑制肿瘤生长、提高机体免疫能力等多种生理功能,是一种十分优良的功能性食品原料(杨宏等,2005)。植物类黄酮在植物中分布广泛,随着研究的深入,黄酮类成分在医药领域的应用取得了良好的社会效益和经济效益,如银杏黄酮、葛根黄酮在医药领域的广泛应用(王德伟等,2006;李大枝等,2008;张宁等,2003)。金花茶组植物中普通金花茶(*Camellia nitidissima*)、凹脉金花茶(*C. impressinervis*)、毛瓣金花茶(*C. pubipetala*)、显脉金花茶(*C. euphlebia*)和平果金花茶(*C. pingguoensis*)的叶黄酮的提取已有报道(陈全斌等,2005;黄永林等,2009),但其它种类还未见相关报道。本文对14种不同叶龄的金花茶组植物叶总黄酮的含量进行比较研究,旨在探明不同种类金花茶黄酮含量的差别,为进一步开发利用金花茶组植物资源提供理论基础。

1 材料

1.1 植物材料

采自广西植物研究所金花茶园不同种类金花茶成年植株,经广西植物研究所赵瑞峰副研究员鉴定为:弄岗金花茶(*C. longgangensis*)、平果金花茶、小果金花茶(*C. microcarpa*)、普通金花茶、凹脉金花茶、显脉金花茶、小瓣金花茶(*C. parvipetala*)、柠檬黄金花茶(*C. limonia*)、毛瓣金花茶、毛籽金花茶(*C. ptilosperma*)、东兴金花茶(*C. tunghinensis*)、直脉金花茶(*C. multipetala*)、顶生金花茶(*C. pingguoensis* var. *terminalis*)、龙州金花茶(*C. longzhouensis*)。

1.2 仪器与试剂

TU-1901 紫外分光光度计;微型高速万能试样粉碎机;电热恒温水浴锅;真空干燥箱;JY92-2D 超声植物细胞粉碎机;电子天平。芦丁对照品(购自中国药品生物制品检定所);亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、三氯化铝、无水乙醇等均为分析纯试剂。

2 方法

2.1 提取方法

参照相关文献(韦璐等,2007;胡文波等,2008;李大枝等,2008),通过单因素和正交实验对超声波提取金花茶黄酮的工艺进行研究,探讨溶剂浓度、料液比、提取时间及超声波功率这四个影响因素,确定了金花茶黄酮的最佳提取工艺条件为:乙醇浓度为70%,料液比为1:60,处理时间为35 min,超声波功率为600 W。

2.2 供试液的制备

对照品溶液的制备:精密称取在120℃下干燥至恒重的芦丁对照品20.0 mg置100 mL容量瓶中,加70%乙醇60 mL置水浴上微热使溶解,放冷至室温,加70%乙醇至刻度,摇匀,即得0.2 mg/mL对照品溶液,待用。

供试品溶液的制备:称取金花茶叶末1.00 g,用60 mL 70%乙醇溶液浸泡20 min,然后在600 W超声波功率水平下处理35 min,处理后再置于室温下浸泡30 min,过滤,滤液定容至100 mL,待用。

3 结果

3.1 标准曲线的绘制

分别取上述对照品溶液0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL置于25 mL容量瓶中,各加1%三氯化铝溶液4 mL,用70%乙醇定容至刻度,摇匀,放置15 min,分别得空白液及含0.008、0.016、0.032、0.048、0.064 mg/mL对照品溶液。按照紫外分光光度法在273 nm波长处,以试剂空白作参比,测定吸光度(胡文波,2008)。以芦丁浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度值为纵坐标作标准曲线,所得标准曲线为: $y=24.39x+0.0056$, $R^2=0.9983$ 。

3.2 样品的测定

吸取上述供试品溶液1 mL置于25 mL容量瓶中,加1%三氯化铝溶液4 mL,用70%乙醇定容至刻度,摇匀,放置15 min,然后在273 nm处测定吸光度,代入回归方程,计算总黄酮的含量。结果见表1。通过方差分析,各种金花茶叶的黄酮总含量差异显著,尤其是新叶的差异最明显, F 值 $668.459 > F(7,16)0.05=2.66$ (表2)。

3.3 稳定性试验

取某一供试品溶液 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加 1%三氯化铝溶液 4 mL,用 70%乙醇定容至刻度,摇匀,每隔 2 h 测定其吸收度,共计 12 h,其测得值基本保持不变,RSD 值为 2.04%,表明供试品

溶液黄酮基本稳定。

3.4 重现性实验

取同一批药材样品(普通金花茶)按供试品溶液的制备项下方法平行制备供试品溶液 5 份,分别取供试品溶液 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加 1%三

表 1 14 种金花茶叶总黄酮的含量
Table 1 Content of total flavonoids in 14 species of sect. *Chrysantha* leaves (n=3)

种类 Species	含量 Content (%)		
	新叶 New leaves	一年叶龄 One-year-old leaves	两年叶龄 Two-year-old leaves
平果金花茶 <i>C. pingguoensis</i>	22.011 ± 0.604	3.017 ± 0.008	3.277 ± 0.117
小果金花茶 <i>C. microcarpa</i>	4.785 ± 0.354	2.078 ± 0.157	2.228 ± 0.118
普通金花茶 <i>C. nitidissima</i>	10.145 ± 0.291	3.079 ± 0.098	2.290 ± 0.453
显脉金花茶 <i>C. euphlebia</i>	6.188 ± 0.148	1.712 ± 0.021	2.020 ± 0.048
小瓣金花茶 <i>C. parvipetala</i>	8.492 ± 0.274	3.038 ± 0.041	3.496 ± 0.103
柠檬黄金花茶 <i>C. limonia</i>	17.052 ± 0.104	6.710 ± 0.223	5.116 ± 0.334
毛瓣金花茶 <i>C. pubipetata</i>	3.930 ± 0.039	3.169 ± 0.147	3.790 ± 0.026
毛籽金花茶 <i>C. ptilosperma</i>	5.048 ± 0.052	1.600 ± 0.103	2.037 ± 0.033
东兴金花茶 <i>C. tungbinensis</i>	*	1.518 ± 0.233	1.750 ± 0.204
直脉金花茶 <i>C. multipetala</i>	*	1.969 ± 0.152	1.572 ± 0.021
顶生金花茶 <i>C. pingguoensis</i> var. <i>terminalis</i>	*	2.320 ± 0.072	4.432 ± 0.185
龙州金花茶 <i>C. longzhouensis</i>	*	1.702 ± 0.006	1.948 ± 0.098
弄岗金花茶 <i>C. longgangensis</i>	*	2.626 ± 0.350	1.750 ± 0.041
凹脉金花茶 <i>C. impressinervis</i>	*	2.037 ± 0.0341	2.345 ± 0.316

* 采样时该种金花茶未抽新梢
* This species of *Camellia* had no new leaves when taking samples

表 2 方差分析表
Table 2 The table of variance analysis

变量来源 Source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值
8 种金花茶新叶 SSA	896.056	7	128.008	668.459
14 种金花茶一年生叶 SSB	67.937	13	5.226	166.047
14 种金花茶二年生叶 SSC	48.147	13	3.704	94.912

氯化铝溶液 4 mL,用 70%乙醇定容至刻度,摇匀,放置 15 min,在 273 nm 处测定吸光度,计算总黄酮平均含量为 3.762%,RSD 为 1.07%,表明实验重现性良好。

4 结论与讨论

4.1 金花茶黄酮的提取

陈全斌等(2005)采用加水煮沸提取金花茶叶中总黄酮,该方法得率低,且所得黄酮提取液含糖分较多,很难过滤分离。而本实验采用 70%乙醇作为提取溶剂并经超声波处理,黄酮得率大大提高。同时采用紫外分光光度法测定金花茶叶中总黄酮含量,方法快速、简便、准确、可靠,为今后金花茶中总黄酮

含量的检测提供了便捷方法,也为深入开发利用金花茶中黄酮类成分奠定了基础。

4.2 金花茶黄酮含量的比较

不同种金花茶新叶总黄酮含量差异很大。平果金花茶新叶总黄酮的含量(22.011%)最高,其次为柠檬黄金花茶,达 17.052%;最低为毛瓣金花茶,为 3.930%;从一年生叶上看,柠檬黄金花茶叶总黄酮的含量最高,为 6.710%;其次为普通金花茶,为 3.079%;最低的是东兴金花茶,为 1.518%。在二年生叶中,柠檬黄金花茶叶总黄酮的含量最高,为 5.116%;其次为顶生金花茶,为 4.432%;最低的是直脉金花茶,为 1.572%。黄永林等(2009)对普通金花茶、凹脉金花茶、毛瓣金花茶、显脉金花茶和平果金花茶等 5 种金花茶的黄酮进行了检测,经检测毛瓣金花茶中总黄酮含量最高,而显脉金花茶中总黄酮含量相对较低。我们测定这 5 种金花茶一年生叶的黄酮也得到相同的结论。

总体上看,各种金花茶新叶总黄酮的含量与一年生、二年生有很大差异;除普通金花茶、柠檬黄金花茶、弄岗金花茶、直脉金花茶外总黄酮含量次序

为:新叶>二年生叶>一年生叶。其它种类金花茶叶总黄酮含量次序为:新叶>一年生叶>二年生叶。平果金花茶和柠檬黄金花茶叶中黄酮含量较高,具有潜在的研究与开发价值。

参考文献:

- 张宁,马建芳. 2003. 葛根素的临床应用[J]. 海峡药学,15(5): 93-95
- 张宏达,任善湘. 1998. 中国植物志(第49卷第3分册)[M]. 北京:科学出版社:101-112
- 陈全斌,湛志华,张巧云,等. 2005. 金花茶叶中黄酮甙元的分离提纯及其表征[J]. 广西热带农业,101(6):10-11
- 黄永林,文永新,刘金磊,等. 2009. 5种金花茶中总黄酮含量的测定[J]. 中国中医药科技,16(1):38-39
- 杨宏,秦小明,宁恩创. 2005. 金花茶浓缩饮液加工工艺研究[J]. 广西热带农业,98(3):38-39
- 梁盛业. 1993. 金花茶[M]. 北京:中国林业出版社:1-5
- Bin XY(宾晓芸), Tang SQ(唐绍清), Zhou JY(周俊亚), et al. 2005. ISSR analysis on genetic diversity of *Camellia nitidissima* Chi(Theaceae) in China(金花茶遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物研究), 23(1):20-26
- Li DZ(李大枝), Xiao ZF(肖忠峰), Xie Y(谢彦), et al. 2008. Solvothermal extraction of flavones from *Ginkgo* leaves(溶剂热法从银杏叶中提取银杏黄酮的研究)[J]. *J Shandong Univ: Nat Sci*(山东大学学报·理学版), 43(3):13-15
- Hu WB(胡文波), Shi SL(石森林), Gao M(高敏), et al. 2008. Determination of flavonoids in different parts of *Lespedeza formosa*(美丽胡枝子不同部位总黄酮含量测定)[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 25(6):542-544
- Wang DW(王德伟), Zhu H(朱红), Gao E(高尔). 2006. Pharmacological action and clinical application on total *Ginkgo flavone glycosides*(银杏黄酮的药理作用和临床应用)[J]. *Food and Drug*(食品与药品), 8(6):7-9
- Wei L(韦璐), Qin XM(秦小明), Huang RQ(黄日秋), et al. 2007. Study on tea polysaccharide from the leave of *Camellia chrysanthra* by the ultrasonic extraction process(超声波提取金花茶多糖的工艺研究)[J]. *Food Sci Tech*(食品科技), (11):100-102
- Wei X(韦霄), Wei JQ(韦记青), Jiang SY(蒋水元), et al. 2005. Genetic diversity evaluation of ex-situ populations of *Camellia nitidissima*, detected by ISSR markers(迁地保护的金花茶遗传多样性评价)[J]. *Guihaia*(广西植物), 25(3):215-218
- Zhang HD(张宏达). 1979. *Chrysanthra*, a section of golden camellias from Cataysian flora(华夏植物区系的金花茶组)[J]. *Acta Univ Sunyatseni: Sci Nat Edi*(中山大学学报·自然科学版), 18(3):69-74
- 响[J]. *Guihaia*(广西植物), 29(5):648-652
- Quilliam RS, Swarbrick PJ, Scholes JD, et al. 2006. Imaging photosynthesis in wounded leaves of *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Exp Bot*, 57(1):55-69
- Shi GY(石贵玉). 2004. Effect of aluminium on growth and some physiological function of rice seedlings(铝对水稻幼苗生长和生理的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 24(1):77-80
- Sun DH(孙冬花), Tian QY(田秋英), Zhang WH(张文浩). 2006. The effects of aluminium on the seed germination and seedling growth in *Hibiscus moscheutos* (Malvaceae) and wheat(*Triticum aestivum*, Gramineae)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 28(5):523-528
- Tang YL(唐延林), Huang JF(黄敬峰), Wang RC(王人潮). 2004. Change law of hyperspectral data with chlorophyll and carotenoid for rice at different developmental stages(水稻不同发育期高光谱与叶绿素和类胡萝卜素的变化规律)[J]. *Chin J Rice Sci*(中国水稻科学), 18(1):59-66
- Wang F(王芳), Liu P(刘鹏), Xu GD(徐根娣), et al. 2006. Effects of aluminium amount in soil on the root growth of buckwheat(铝对荞麦根系的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(3):321-324
- Xu YF(许玉凤), Cao MJ(曹敏建), Wang WH(王文和), et al. 2005. Effect of aluminum on photosynthetic characteristics of different genotypes of maize seedling(铝胁迫对耐性不同的玉米基因型幼苗光合特性的影响)[J]. *J Maize Sci*(玉米科学), 13(1):79-82
- Ying XF(应小芳), Liu P(刘鹏). 2005. Effects of aluminum stress on photosynthetic characters of soybean(铝胁迫对大豆叶片光合特性的影响)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 16(1):166-170
- You JF, He YF, Yang JL, et al. 2005. A comparison of aluminum resistance among *Polygonum* species originating on strongly acidic and neutral soils[J]. *Plant Soil*, 276(1):143-151
- Yu HN(俞慧娜), Liu P(刘鹏), Xu GD(徐根娣). 2007. Responses of growth and chlorophyll fluorescence characteristics of soybean to aluminum treatment(大豆生长及叶绿素荧光特性对铝胁迫的反应)[J]. *Chin J Oil Crop Sci*(中国油料作物学报), 29(3):257-265

(上接第232页 Continue from page 232)