

哈尔滨市主栽花楸果实主成分测定分析

张妍妍, 李 静, 卢慧颖, 王艳敏*, 白 卉* (黑龙江省林业科学研究所速生林木培育重点实验室,黑龙江哈尔滨 150081)

摘要 [目的]对哈尔滨市主栽花楸果实主成分进行测定分析。[方法]以哈尔滨市主栽的5个花楸种源的花楸果实作为研究材料,对它们进行了可溶性糖、总黄酮、芦丁等次生代谢产物含量的测定。[结果]5个花楸种源中的欧洲花楸 US-05 果实中可溶性总糖、总黄酮和芦丁含量均显著高于其他种源,分别达到6.389%、1.564 1%和6.986 744 μg/ml。[结论]筛选出欧洲花楸 US-05 为适于哈尔滨地区栽培的药用花楸种源。
关键词 花楸果实;可溶性糖;总黄酮;芦丁;测定分析
中图分类号 S722.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)20-204-02

Determination and Analysis Composition of the Main Planting *Sorbus pohuashanesis* Fruit in Harbin
ZHANG Yan-yan, LI Jing, LU Hui-ying, WANG Yan-min*, BAI Hui* (Key Laboratory of Fast-growing Tree Cultivating, Forestry Research Institute of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150081)
Abstract [Objective] The composition of the main planting *Sorbus pohuashanesis* fruit in Harbin was determined and analyzed. [Method] Choosing five provenances of *Sorbus pohuashanesis* fruit which main cultivated in Harbin as material, their secondary metabolites such as soluble sugar, total flavonoids, rutin were determined. [Result] The results showed that content of secondary metabolites such as soluble sugar, total flavonoids of *Sorbus aucuparia* L. US-05 fruit have reached a significant level between these provenances, respectively reached 6.389%, 1.564 1%, 6.986 744 μg/ml. [Conclusion] *Sorbus aucuparia* L. US-05 could thus be screened filter out the provenance of medicinal plant which was suitable for cultivation in Harbin.
Key words Fruit of *Sorbus pohuashanesis*; Soluble sugar; Total flavonoids; Rutin; Determination and analysis

花楸(*Sorbus* spp.)为蔷薇科花楸属落叶小乔木,该树种春季观叶、夏季观花、秋冬观果,是城市园林绿化的优良树种;同时该树种具有结果早、产量高、适应性强,且富含黄酮类等化合物的特点,是一个集园林绿化、食用、药用等价值于一身的珍贵灌木浆果树种^[1-2]。黄酮类化合物对人类健康有重要作用,其对体内自由基有明显的清除作用,并可抑制细胞的调亡,是治疗心血管疾病药物的主要成分,由于黄酮类化合物具有广谱的药理活性和较低毒性,是目前人们比较

关注的一类化合物,已成为国内外天然药物开发利用研究的热点^[3]。该研究通过对哈尔滨市主要栽植的5个花楸种源的花楸果实进行主要成分分析,定向筛选适于哈尔滨地区栽培的药用花楸种源。
1 材料与方法
1.1 供试材料及试验地概况 供试材料为目前作为哈尔滨市城市绿化树种进行栽植的,选自高寒地区的5个种源的花楸植株,树木年龄均为3年,具体的种源地见表1。

表1 供试花楸植株的种源地信息

花楸种源编号	简称	拉丁名	种源地
欧洲花楸 US-05	US-05	<i>S. aucuparia</i>	俄罗斯布拉戈维申斯克市
百花花楸 1号	BH1	<i>S. domestica</i>	黑河市七二七林场
百花花楸 2号	BH2	<i>S. domestica</i>	伊春市五营区前丰林场
百花花楸 3号	BH3	<i>S. domestica</i>	山河屯林场凤凰山经营所
百花花楸 4号	BH4	<i>S. domestica</i>	大亮子河林场

试验地位于哈尔滨市松北区哈尔滨市林业科学院院内,地理坐标为125°42′~130°10′E,44°04′~46°40′N,海拔146 m。地势平坦,土层深厚,特别是含有丰富的矿质元素及有机质,土壤类型为黑钙土,土壤pH为6.6。气候类型为温带半湿润季风性气候,夏季炎热多雨,冬季则严寒漫长,结冰期达5个月。当地年平均气温在3.6℃,最低月平均气温达-19.4℃(1月),最高月平均气温为22.9℃(7月),年平均降雨量为523 mm,相对湿度为78%,≥10℃年积温2 700

℃,无霜期是135 d,最深冻土层达1.8 m。
1.2 试验方法
1.2.1 花楸果实可溶性糖的测定。
(1)试剂配制。100 μg/ml 葡萄糖标准溶液的配制:取100 mg 分析纯无水葡萄糖,精密称量,用蒸馏水溶解后定容至100 ml,使用时再稀释10倍,即获得100 μg/ml 葡萄糖标准溶液。
蒽酮试剂配制:称取1.0 g 蒽酮,用80%浓硫酸溶解后定容至1 000 ml。

基金项目 黑龙江省财政厅自拟项目(2010-01);黑龙江省林业科学院青年基金项目(201405);黑龙江省科研机构创新能力提升专项计划项目(YC2014D005)。
作者简介 张妍妍(1981-),女,黑龙江黑河人,助理研究员,硕士,从事森林培育研究。*为共同通讯作者,王艳敏,助理研究员,博士,从事林木遗传育种研究;白卉,副研究员,博士,从事林木遗传育种工作。
收稿日期 2015-05-28

(2)样品提取。称取剪碎混匀的新鲜果实各1.0 g,放入大试管中,加入15 ml 蒸馏水,在沸水浴中煮沸20 min,取出冷却,过滤入100 ml 容量瓶中,用蒸馏水冲洗残渣数次,定容至刻度。
(3)标准曲线制作。取6支大试管,从0~5分别编号,

按表 2 加入各试剂。

表 2 萘酮法测可溶性糖制作标准曲线的试剂量				
编号	100 μg/ml 葡萄糖溶液//ml	蒸馏水 ml	萘酮试剂 ml	葡萄糖量 μg
0	0	1.0	5.0	0
1	0.2	0.8	5.0	20
2	0.4	0.6	5.0	40
3	0.6	0.4	5.0	60
4	0.8	0.2	5.0	80
5	1.0	0	5.0	100

将各管快速混匀后,置于沸水浴中 10 min ,取出后冷却,在 620 nm 波长下,用空白调零测定光密度,纵坐标为光密度,横坐标为葡萄糖量(μg)绘制标准曲线(图 1)。

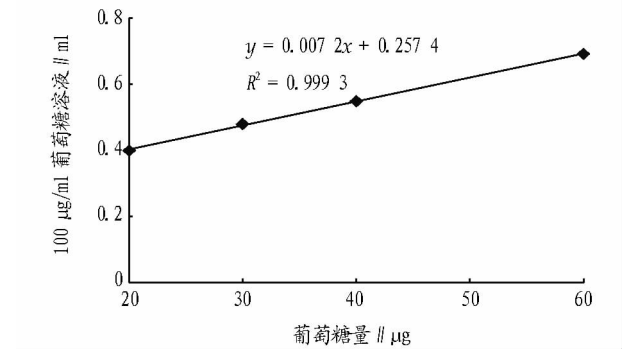


图 1 可溶性糖标准曲线

(4) 样品测定。取待测样品提取液 1.0 ml 加萘酮试剂 5 ml,同以上操作显色测定光密度,重复 3 次。

(5) 结果计算。可溶性糖含量 = $\frac{C \times V_T \times \text{稀释倍数}}{V_1 \times W \times 10^6} \times 100\%$

式中:C 为从标准曲线查得葡萄糖量(μg); V_T 为样品提取液总体积(ml); V_1 为显色时取样品液量(ml); W 为样品重(g)。

1.2.2 比色法对花楸果实总黄酮提取及其含量测定。

(1) 对照品溶液的制备。取 120 ℃ 的常压干燥芦丁标准品 0.020 0 g,精密称量,用 30% 的热乙醇溶解,并移至 100 ml 的容量瓶中,定容,制备成 0.200 mg/ml 芦丁标准溶液。

(2) 样品的提取。准确称取供试花楸果实鲜样各 1 g,用 70% 的乙醇在超声波中提取 30 min,趁热过滤。再用旋转蒸发仪浓缩提取液,直到所得的提取液近干为止,用 30% 的乙醇溶解并移至 100 ml 容量瓶中,定容,为所得的总黄酮提取液,然后从中各取出 1 ml,用 30% 的乙醇稀释到 25 ml 的容量瓶中,最后从中各取出 1 ml 用于分光光度计的测定,测定方法同标准曲线的制备。

(3) 标准曲线的制备。准确量取 0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 ml 对照品溶液,置于 25 ml 的容量瓶中,首先用 30% 的乙醇将其稀释至 12.5 ml,各加 5% 亚硝酸钠 0.7 ml,摇匀,放置 5 min。然后加入 0.7 ml 的 10% 硝酸铝,摇匀后放置 6 min。最后再加入 10 ml 的 1 mol/L 的氢氧化钠溶液,用 30% 乙醇定容至刻度,摇匀后放置 10 min,在波长 510 nm 处测定吸收度,以吸收度对

浓度进行回归,其结果用最小二乘法作线性回归,得芦丁浓度 Y 与吸光度 A 的关系为 $Y(\text{g/L}) = 0.647\ 0A + 0.015\ 6$ ($r = 0.995\ 5$)。总黄酮含量标准曲线见图 2。

(4) 样品总黄酮含量的计算公式。

总黄酮含量 = $[(Y \times 100 \times 25 \times 25)/(1 \times 1\ 000)] \times 100\%$

式中: Y 为根据所测定的溶液的吸光度值,用回归方程计算相对应的总黄酮类化合物的物质含量。

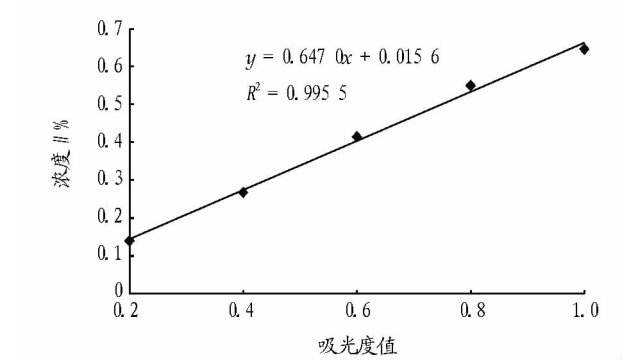


图 2 总黄酮含量标准曲线

1.2.3 高效液相对花楸果实芦丁定量测定。

(1) 色谱条件。Kromasil C_{18} (4.6 mm × 250 mm) 色谱柱,流动相为甲醇:0.4% 磷酸(60:40),柱温为室温,流速为 0.7 ml/min,检测波长为 368 nm。

(2) 紫外波长的选择。对照品进行紫外波长的扫描,其在 368 nm 处有最大吸收峰,所以选取的波长为 368 nm。

(3) 对照品溶液的制备。精密称量对照品芦丁 2.0 mg,定容在 10 ml 的容量瓶中,制备成 0.20 mg/ml 的芦丁标准溶液。

(4) 供试品溶液的制备。精密称量供试花楸果实鲜样各 1.0 g,加入石油醚 100 ml 进行索氏提取,目的是除去脂溶性色素的干扰,提取后放凉,再加入 100 ml 的 70% 甲醇溶液,水浴提取 3 h,之后趁热过滤,所得的提取液用 70% 甲醇定容至 100 ml,快速冷却,过膜(0.45 μm 微孔滤膜),即得供试品溶液。

(5) 标准曲线的制备。准确吸取对照品溶液 0.10、0.20、0.30、0.60、1.0 μg。按上述的色谱条件测定,其中横坐标为进样量,纵坐标为峰面积,绘制标准曲线(图 3),回归方程为 $Y = 48.206C + 15.347$ ($r = 0.998\ 5$)。试验结果见表 3。

表 3 芦丁回归曲线数据	
进样量 $C//\mu\text{g}$	峰面积 A
0.10	53.0
0.20	126.5
0.30	259.0
0.60	371.5
1.00	502.0

1.3 数据统计方法 所得数据采用 Excel 软件和 SPSS13.0 分析软件进行方差分析及多重比较分析。

(下转第 342 页)

村支付结算环境,优化农村金融业务结构、提升农村金融质量入手,进一步完善金融服务,结合实际因地制宜展开业务创新。

逐步建立以政策性金融组织为基础、合作金融组织为主导,商业金融为发展方向的农村金融服务体系,形成多种形式的金融机构并存功能互补的多层次金融服务体系。

3.6 建立农村法律服务体系 引导法律服务资源向广大农村地区有效转移,整合资源形成政府主导的公益法律法务组织、群众性法律服务组织、民间自发性公益法律服务组织等力量,构建多元化公益法律服务体系,满足广大农民的法律服务需求。

形成网格化服务体系,建设县级法律服务中心,完善乡、村法律服务站的布局,形成县、乡、村三级服务网络。建设多元化纠纷解决渠道,积极促成工会、共青团、妇联、残联等组

织及其他政府部门的联动配合,形成全方位的农村基本公共法律服务网格体系。我国法治建设尚未完善,农村与城市的差异还比较大,要让农民真正完全享受到和城市均等的公共服务不是一朝一夕就能完成的。

全面提升、建设农村公共服务体系还任重道远,相信党和政府能够逐渐完善和提高农村公共服务水平,通过国家、社会和每个人的努力,农村公共服务体系会越来越完善,越来越好。

参考文献

[1] 财政部农业司“公共财政覆盖农村问题研究”课题组. 公共财政覆盖农村问题调研报告[J]. 农业经济问题,2004(7):48-54,55,56.
[2] 魏星河,刘堂山. 处理中央与地方关系的关键:财权与事权的合理划分[J]. 江西行政学院学报,2004(2):15-18.
[3] 柳园. 农村职业教育:问题与出路[J]. 教育与职业,2010(11):28-34.
[4] 王家合,姚惊波. 农民需求表达与农村公共服务有效供给[J]. 石河子大学学报:哲学社会科学版,2011(6):58.

(上接第 205 页)

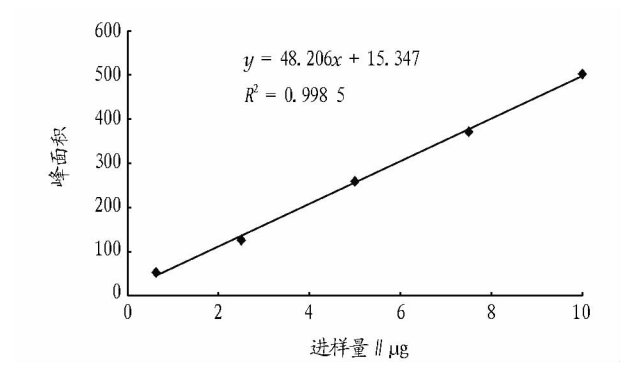


图3 以芦丁为对照的标准曲线

2 结果与分析

2.1 可溶性总糖测定结果 可溶性总糖测定结果表明,欧洲花楸US-05可溶性糖含量最高,为6.389%,即每100g欧洲花楸果实中含有6.389g的可溶性糖。百花花楸3号可溶性糖含量最低,每100g果实中仅含有2.167g的可溶性糖,显著低于其他4个花楸种源(BH1 6.022%,BH2 5.431%,BH4 5.329%)。由此,筛选出果实可溶性糖含量最高的种源为欧洲花楸US-05。

2.2 总黄酮含量测定结果 供试花楸果实总黄酮含量测定结果见表4,可以看出,欧洲花楸US-05的总黄酮含量最高,

为1.5641%,显著高于其他4个种源,比总黄酮含量最低的百花花楸3号多出1.2983个百分点。因此,筛选出果实总黄酮含量最高的种源为欧洲花楸US-05。

2.3 芦丁含量测定结果 供试花楸果实芦丁含量测定结果见表5,可以看出,欧洲花楸US-05的芦丁含量最高,为6.986744μg/ml,显著高于其他4个种源,芦丁含量最低的是百花花楸4号,为1.993590μg/ml。因此,筛选出芦丁含量最高的为欧洲花楸US-05果实。

表 5 不同种源花楸果实中芦丁含量测定结果			
种源	进样量/μl	峰面积	含量//μg/ml
US-05	20	352.15	6.986 744
BH1	20	175.00	3.311 891
BH2	20	270.85	5.300 232
BH3	20	236.20	4.581 442
BH4	20	111.45	1.993 590

3 小结

对花楸果实可溶性糖、总黄酮和芦丁3种次生代谢产物含量进行了测定,结果表明:欧洲花楸US-05可溶性总糖、总黄酮和芦丁含量均显著高于其他种源,分别达到6.389%、1.5641%和6.986744μg/ml;百花花楸3号,可溶性总糖含量和总黄酮含量均显著低于其他种源,为2.167%和0.2658%,筛选出欧洲花楸US-05为黄酮类物质最佳提取种质种源,最适于哈尔滨地区栽培的药用花楸种源。

参考文献

[1] 周丹,宿宗艳,李文娟,等. 欧洲花楸应用价值的探讨[J]. 中国林副特产,2007(10):83-85.
[2] 余治家,于澎涛,王绪芳,等. 多用途树种欧洲花楸及其引种[J]. 中国城市林业,2007(5):56-59.
[3] 庄凤君,王继丰,王臣. 国产及引进花楸属植物研究与应用发展[J]. 国土与自然资源研究,2008(1):94-96.
[4] 张芹,刘保刚,李鹏,等. 天山花楸中总黄酮和槲皮素测定[J]. 石河子大学学报,2006(12):709-712.

表 4 不同种源花楸果实的总黄酮含量测定结果		
种源	OD 值	总黄酮含量//%
US-05	0.218	1.564 1
BH1	0.113	0.752 7
BH2	0.090	0.575 0
BH3	0.050	0.265 8
BH4	0.091	0.582 7