

锥栗无性系坚果活性成分变异与性状相关性研究

陈柳英 (建瓯市林业科技推广中心, 福建建瓯 353100)

摘要 [目的] 研究锥栗果实的生物学性状与其活性成分的相关性, 扩展其药用价值并完善其质量控制。[方法] 测定了 12 个锥栗无性系坚果的纵横径比、种皮厚度、鲜出仁率 3 个生物学性状和总黄酮、总酚 2 种活性成分含量, 并对测定性状进行了相关性分析。[结果] 试验表明, 12 个无性系中总黄酮和总酚的含量均值分别为 1 412.83 $\mu\text{g/g}$ 和 580.26 $\mu\text{g/g}$, 不同无性系间总黄酮含量差为 4.18 倍, 总酚含量差为 3.33 倍, 差异明显。性状相关性分析显示, 果实的纵横径比与总黄酮含量呈显著负相关, 而总黄酮含量与总酚含量呈显著的正相关关系。以总黄酮含量和总酚含量作二维点聚图分析, 可将参试无性系分为 4 种类型, 其中 S_6 、 S_8 、 S_9 、 S_{10} 、 S_{12} 5 个无性系所在的第 (1) 类型黄酮含量平均为 2 026.698 $\mu\text{g/g}$, 总酚含量平均值为 727.954 $\mu\text{g/g}$, 可作为保健型锥栗选育的育种材料, 而果实纵横径比可作为初步筛选的依据。[结论] 研究可为保健型锥栗良种选育提供参考依据。

关键词 锥栗; 活性成分; 性状

中图分类号 S789.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)36-112-02

Study on Variance and Correlation among Bioactive Components and Characters of Nuts in *Castanea henryi* Clones

CHEN Liu-ying (Extending Center for Forestry Science and Technology of Jian'ou City, Jian'ou, Fujian 353100)

Abstract [Objective] To study correlation between biological characteristics and active components of *Castanea henryi*, expand its medicinal value and improve its quality control. [Method] By measuring the vertical and horizontal diameter, seed coat thickness, fresh kernel rate, total phenol and flavonoids content of nuts, the variance and correlation among bioactive components and characters of 12 *Castanea henryi* clones were analyzed. [Result] The results showed that the total flavonoids and total phenolic content mean was 1 412.83 and 580.26 $\mu\text{g/g}$ in all clones. The total flavonoids content differ 4.18 times, and the total phenolic content differ 3.33 times among different clones, the difference is obvious. The vertical and horizontal diameter ratio and flavonoids content has significant negative correlation, but the flavonoids content and total phenol content was significantly positive correlation. All clones have been distinguished four types according to two-dimensional scatter diagram analysis of total flavonoid and phenolic content. The first type of total flavonoids and total phenolic content were higher, including S_6 , S_8 , S_9 , S_{10} , S_{12} five clones, the average flavonoid content 2 026.698 $\mu\text{g/g}$, total phenols average content 727.954 $\mu\text{g/g}$, the groups can be used as breeding material. [Conclusion] The study can provide reference basis for breeding of healthy *Castanea henryi* varieties.

Key words *Castanea henryi*; Bioactive components; Characters

锥栗 [*Castanea henryi* (Skam) Rehd. et Wils.] 为壳斗科栗属落叶乔木, 其果实富含淀粉、蛋白质和多种维生素, 营养价值丰富。中医认为, 锥栗主益气, 有补肾气、厚胃肠之功效^[1]。已有研究表明, 板栗坚果中所含的黄酮类和酚酸类成分具有抗氧化、抗心律失常和降脂等功效^[2-3], 而锥栗和板栗同属, 因此研究锥栗果实中这些成分, 对进一步扩展其药用价值及完善质量控制具有重要的意义。目前已有对锥栗果实中总黄酮^[4-5]和总酚^[6]含量测定方法的报道, 但尚未见到对不同无性系果实中黄酮和总酚测定及生物学性状和活性成分之间相关性的报道。笔者详细测定了 12 个种锥栗无性系的果实生物学性状与活性成分含量, 同时分析了各性状之间的相关关系, 并从活性成分含量方面对 12 个无性系进行了评价, 为保健型锥栗良种选育提供研究基础。

1 材料与与方法

1.1 材料 供试无性系来自福建省建瓯市林业科技推广中心锥栗无性系测定圃 (表 1), 为笔者课题组早期从锥栗主产区福建省建瓯市龙村乡、川石乡、水源乡等地农家种植园中根据表型, 按独立标准法初选、复选、决选出的优株的无性系后代。1993 年采穗嫁接建园。于 2014 年 9 月~10 月份采集其果实, 每个无性系选取 3 株生长发育良好的成年树, 从每株树体不同方向采摘 30 个栗苞转黄褐色、顶部微开裂的成

熟栗苞, 带回实验室, 取出坚果, 对其表型性状及活性成分指标进行测定。

表 1 参试无性系来源及采集时间

无性系号	采收时间	无性系来源
S_1	09-10	东游
S_2	09-15	龙村
S_3	09-28	龙村
S_4	09-23	水源
S_5	09-18	龙村
S_6	09-02	水源
S_7	09-23	龙村
S_8	09-19	龙村
S_9	09-02	龙村
S_{10}	09-29	龙村
S_{11}	10-20	川石
S_{12}	09-21	龙村

1.2 方法

1.2.1 表型测定。 利用游标卡尺测量坚果长度、宽度, 单果重采用百分之一电子天平称量。

1.2.2 总黄酮含量的测定。 参照文献 [5] 中的方法略作改进。

1.2.2.1 对照品溶液的制备。 精密称取芦丁对照品 4 mg 于 10 ml 量瓶中, 加 70% 乙醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 备用。

1.2.2.2 供试品溶液的制备。 精密称取锥栗粉末约 1 g, 置于 100 ml 锥形瓶中, 量取 60% 乙醇 10 ml, 称定重量, 浸泡 30 min 后, 于 50 $^{\circ}\text{C}$ 超声提取 30 min, 放至室温后称重, 补足失

重,离心,取上清液,即得。

1.2.2.3 最大吸收波长的确定。精密吸取上述芦丁对照品溶液 1 ml,置于 10 ml 量瓶中,加入 70% 乙醇 2.4 ml,加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.4 ml,摇匀,放置 6 min 后,加入 10% 硝酸铝溶液 0.4 ml,摇匀,放置 6 min 后,加入 4% 氢氧化钠 4 ml,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,放置 15 min 后,以相应试剂为空白,于波长 200 ~ 800 nm 扫描,结果在波长 510 nm 处有最大吸收,故确定 510 nm 为测定波长。

1.2.2.4 最佳提取工艺条件。乙醇体积分数为 80%,提取时间为 20 min,固液比为 1:24 g/ml。

1.2.3 总酚含量的测定。总酚含量参照文献[6]中的方法,略作修改。

1.2.3.1 对照品溶液的制备。精密称取没食子酸对照品 0.5 mg 于 25 ml 量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,冰箱冷藏备用。

1.2.3.2 供试品溶液的制备。精密称取锥栗粉末约 0.5 g,置于 100 ml 锥形瓶中,量取 70% 乙醇 20 ml,称定重量,浸泡 30 min 后,于 30 °C 超声提取 40 min,放至室温后称重,补足失重,离心,取上清液,即得。

1.2.3.3 最大吸收波长的确定。精密量取上述没食子酸对照品溶液 1 ml,置于 25 ml 量瓶中,加入无水乙醇至 5 ml,加入 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液 2 ml 和 0.6% 三氯化铁及 0.9% 铁氰化钾混合液(1:0.9) 1 ml,摇匀,暗处放置 5 min 后,以 0.1 mol/L 的盐酸溶液定容至刻度,摇匀,暗处放置 20 min 后,以相应试剂为空白,于波长 200 ~ 800 nm 扫描,结果在波长 720 nm 处有最大吸收,因而确定 720 nm 为测定波长。

1.2.3.4 最佳条件。控制提取温度为 60 °C,90% 乙醇,料液比为 1:40 g/ml,超声提取 40 min。

1.3 数据分析 运用 SPSS 20.0 软件对 12 个无性系的生物学性状和活性成分进行相关性分析,并做黄酮含量和总酚含量的二维点聚图。

2 结果与分析

2.1 参试锥栗无性系的生物学性状和活性成分分析 通过测定锥栗的活性成分含量和性状(表 2),得出 12 个建瓯锥栗无性系中,总黄酮和总酚的含量均值分别为 1 412.83 μg/g 和 580.26 μg/g,不同无性系间总黄酮含量差为 4.18 倍,总酚含量差为 3.33 倍,差异明显。

2.2 相关分析 对参试无性系果实纵横径比、种皮厚度、鲜出仁率、总黄酮和总酚含量进行相关性分析(表 3),结果显示锥栗的纵横径比与总黄酮含量呈显著负相关($r = -0.624$),即纵横径比越小的锥栗中总黄酮含量越高;种子的种皮厚度与鲜出仁率存在显著的负相关($r = -0.602$),种皮厚度大的种子,质量所占的比例自然更大,经济价值也就降低了;总黄酮含量与总酚含量呈显著的正相关关系($r = 0.693$),结合总黄酮与纵横径比呈负相关,可推测纵横径比与总酚也存在一定的负相关关系;种皮厚度和鲜出仁率与总黄酮和总酚之间相关不明显。从结果可知,以活性成分为主要指标,种皮厚度和鲜出仁率非重要的性状指标。

表 2 12 个锥栗无性系的生物学性状和活性成分含量

无性系	纵横径比	种皮厚度 // mm	鲜出仁率 // %	总黄酮 μg/g	总酚 μg/g
S ₁	1.30	0.61	83.96	684.72	269.04
S ₂	1.16	0.64	81.83	552.60	341.01
S ₃	1.36	0.71	75.30	708.81	368.49
S ₄	1.17	0.58	80.81	1 426.69	830.70
S ₅	1.05	0.74	78.31	1 365.54	607.42
S ₆	0.99	0.61	78.48	1 657.10	765.60
S ₇	1.14	0.68	77.01	1 772.19	491.50
S ₈	1.04	0.69	75.16	2 309.06	609.49
S ₉	1.21	0.62	79.18	2 113.52	894.56
S ₁₀	0.99	0.58	78.71	1 938.57	743.07
S ₁₁	1.19	0.70	77.51	593.88	415.13
S ₁₂	1.09	0.63	79.09	2 115.24	627.05

表 3 活性成分与形状相关系数矩阵

指标	纵横径比	种皮厚度	鲜出仁率	总黄酮	总酚
纵横径比	-				
种皮厚度	0.152	-			
鲜出仁率	0.183	-0.602*	-		
总黄酮含量	-0.624*	-0.171	-0.377	-	
总酚含量	-0.535	-0.434	-0.136	0.693*	-

注:相关系数 * 表示 $P < 0.05$ 。

2.3 聚类分析 以总黄酮含量为横坐标,总酚含量为纵坐标,含量均值为原点做二维点聚图(图 1)。将 12 个参试无性系分为 4 种类型:①总黄酮和总酚含量均高的类型,包括 S₆、S₈、S₉、S₁₀、S₁₂ 5 个无性系,其中总黄酮含量最高的 S₈ 为 2 309.06 μg/g,总酚含量最高的 S₉ 为 894.56 μg/g。②总黄酮含量较低,总酚较高的类型有 S₄ 和 S₅ 无性系。③其中总酚含量较低,总黄酮含量较高的类型是 S₇ 无性系。④两活性成分均较低的类型为 S₁、S₂、S₃ 和 S₁₁ 无性系,其总黄酮含量最低的 S₂ 为 552.60 μg/g,总酚最低的 S₁ 为 269.04 μg/g,这种类型没有选种意义。

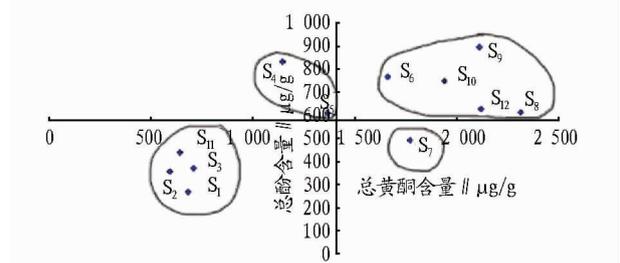


图 1 总黄酮和总酚点聚图

3 结论

黄酮类化合物是一类低分子量的天然物质,是植物体内的次级代谢产物,广泛地分布于多种植物体内。研究表明,黄酮类化合物具有清除生物体内的自由基、抗肿瘤、抗衰老、抗心血管疾病等作用,且无毒无害,在食品、药品、保健品等方面得到广泛应用^[7-8]。有研究表明,板栗种仁中富含黄酮类化合物^[4],锥栗与板栗同科同属,果实成分应该相似。该

(下转第 130 页)

文献报道, 酮类物质对烤烟香味贡献巨大, 特别是巨豆三烯酮、大马酮和茄酮等香味物质, 但在该研究中, 由于笔者采用静态顶空方法测定顶空香气成分, 上述3种酮类化合物由于蒸汽压较小, 不易挥发, 因而测定含量均较小或低于检测限, 因此回归分析中显示酮类物质与感官评价指标相关性均不显著。醛类物质与香气量、浓度和余味呈现负相关, 与杂气、刺激性、劲头呈正相关。醇类物质与香气质和香气量呈极显著正相关, 与劲头和刺激性呈负相关, 与浓度、杂气和余味呈正相关, 但相关性不显著。

环神农架地区中部烟叶感官质量聚类分析结果表明, 保康海拔800~1 000 m, 房县海拔1 000 m 烟叶感官呼吸质量最佳, 与该区域烟叶酸类和醇类物质含量相对较高, 其他2类物质含量适中有关。

3 结论

对环神农架地区烟叶质量风格特征进行跟踪, 表明环神农架周边地区特色烤烟风格特征主要与其在神农架周边的地理位置密切相关。位于神农架以北的十堰市各县基本归于一类, 位于神农架东南面的保康、兴山县也基本归于一类。神农架以北区域烟叶香气特性侧重于飘逸、绵长, 烟叶特性侧重于甜润、细腻; 神农架东南区域香气则侧重于飘逸、透发、丰满, 烟叶侧重于流畅、细腻。通过神农架北部各县以及神农架东南面保康、兴县2个县烟叶主要致香物质含量比较, 发现保康和兴山烟叶中酸类物质含量明显高于神农架北部区域各县, 保康、兴山县烟叶酸类物质含量平均值为60.63 $\mu\text{g/g}$, 神农架以北区域各县市酸类物质含量平均值仅为

41.18 $\mu\text{g/g}$ 。统计分析表明, 这2个区域烟叶酸类物质含量差异极其显著, 感官呼吸结果表明, 保康和兴山烟叶透发性好, 可能与该区域烟叶酸类物质含量高有关。保康和兴山烟叶醛类物质含量明显低于神农架北部各县市烟叶, 酮类物质和醇类物质总量无明显差异, 但与外省市烟叶相比, 整个环神农架区域烟叶醇类物质明显高于河南浓香型烟叶, 但酮类物质总量略低于云南的清香型烟叶, 这可能赋予该区域烟叶甜润、细腻的风格特征。秭归县虽然处于神农架南边, 但其烟叶质量风格特征更接近于神农架北边各县, 秭归县烟叶致香物质含量分析结果表明, 该县烟叶酸类物质含量为35.78 $\mu\text{g/g}$, 与环神农架北部地区相近。统计分析表明, 秭归县烟叶醛类、醇类物质总量与神农架北部各县烟叶平均含量无明显差异, 酮类物质含量比神农架北部各县略低, 导致其烟叶细腻程度下降。

参考文献

- [1] 祖秉桥, 黎妍妍, 王林, 等. 湖北两大品牌烟叶质量特征比较研究[J]. 中国烟草科学, 2011(5): 6-9.
- [2] “金神农”烟叶(品牌)发展方向暨风格特色通过论证[EB/OL]. [2015-11-01]. http://www.tobaccochina.com/tobaccoleaf/roundup/update/200812/200812316711_335318.shtml.
- [3] 覃光炯, 饶雄飞, 杨艳华, 等. 静态顶空-气质联用法分析烤烟中香味物质[J]. 广州化工, 2015(11): 116-118.
- [4] 张晓明. 烟草主要化学指标与卷烟风格感官评价的修正相关性分析[D]. 昆明: 云南财经大学, 2014.
- [5] 常爱霞, 杜咏梅, 付秋娟, 等. 烤烟主要化学成分与感官质量的相关性分析[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(6): 9-12.
- [6] 张勇刚, 宋朝鹏, 李常军, 等. 烟叶感官质量评价研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010(9): 2271-2274.

(上接第113页)

研究表明, 12个锥栗无性系总黄酮和总酚的含量均值分别为1 412.83 $\mu\text{g/g}$ 和580.26 $\mu\text{g/g}$ 。不同无性系间2种活性成分含量差异明显, 总黄酮含量相差达4.18倍, 总酚含量差为3.33倍, 可见, 开展高活性成分锥栗无性系选育是可行的。以总黄酮含量和总酚含量作二维点聚图分析, 可将参试无性系分为4种类型, 其中第1类型总黄酮和总酚含量均高, 包括S₆、S₈、S₉、S₁₀、S₁₂5个无性系, 黄酮含量平均为2 026.698 $\mu\text{g/g}$, 总酚含量平均值为727.954 $\mu\text{g/g}$, 这个类群可作为育种材料, 进入锥栗的育种群体, 结合其他性状开展保健型优良无性系定向选育。

秦玉星等进行了21个锥栗无性系营养品质的遗传变异分析, 认为基因型对营养品质起主要影响, 开展优良品质锥栗无性系选育在理论上可行^[9]。笔者应用pearson双变量分析方法, 分析了测定性状之间的相关性。从分析结果来看, 锥栗果实中总黄酮含量和总酚含量明显正相关, 这表明, 选择黄酮类和酚类化合物含量双高的锥栗优良无性系在理论

上是可行的, 而总黄酮含量和栗果纵横径比间显著的负相关。因此, 可通过观测锥栗的纵横径比来初步推测其黄酮类化合物的含量, 降低选择的盲目性, 节约仪器分析成本, 提高选择效率。

参考文献

- [1] 杨利民. 植物资源学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 173.
- [2] 赵国强, 高慧媛, 王晓毅, 等. 板栗种仁化学成分的初步研究[J]. 中国现代中药, 2006, 8(9): 14-16.
- [3] 王慧. 黄酮类化合物生物活性的研究进展[J]. 食品与药品, 2012, 12(9): 347-350.
- [4] 张艳萍, 俞远志. 超声法提取栗黄酮的工艺[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(3): 95-99.
- [5] 朱思, 牛广俊, 苏素娇, 等. 用星点设计-效应面法优化锥栗总黄酮超声提取工艺[J]. 经济林研究, 2015, 33(1): 127-130.
- [6] 马宏峰, 孙志, 王凤春, 等. 板栗种仁中总酚酸的提取纯化工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(36): 17721-17722.
- [7] 裴凌鹏, 惠伯棣, 金宗濂. 黄酮类化合物的生理活性及其制备技术研究进展[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 203-207.
- [8] 陈亚蓝, 王雪青, 李月娇, 等. 板栗花黄酮的抗氧化作用及其对HeLa细胞活力的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(14): 165-168, 179.
- [9] 秦玉星, 龚榜初, 吴小林, 等. 锥栗不同无性系营养品质的变异和相关性分析[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(4): 675-679.