

# 变异紫斑牡丹红色叶色素与 抗氧化活性分析

唐豆豆<sup>1</sup>, 李厚华<sup>1</sup>, 张延龙<sup>1</sup>, 罗建让<sup>1</sup>, 于航<sup>2</sup>, 袁柳祥<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 风景园林艺术学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片为试材,采用高效液相色谱、紫外-可见分光光度法、薄层色谱对变异紫斑牡丹红色叶和紫斑牡丹绿色叶的色素进行定性定量分析;采用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基和2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐自由基分析2种叶片的体外抗氧化活性。结果表明:变异紫斑牡丹红色叶的颜色发生变化主要是芍药花素-3,5-二葡萄糖苷和天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷含量上升与叶绿素含量下降的共同作用结果;变异紫斑牡丹红色叶中单体酚含量(绿原酸、芦丁、儿茶素、表二茶素、二氢杨梅酮、对香豆酸和二氢槲皮素)比紫斑牡丹绿色叶中的高;变异紫斑牡丹红色叶较紫斑牡丹的绿色叶相比有较好的抗氧化能力,具有潜在药用价值。

**关键词:**紫斑牡丹;红色叶;芍药花素-3,5-二葡萄糖苷;抗氧化活性

**中图分类号:**S 685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)23-0079-08

紫斑牡丹(*Paeonia rockii*)属芍药科(Paeoniaceae)芍药属(*Paeonia* L.)牡丹组(section moutan DC)多年生落叶小灌木,素有“花中之王”的美誉<sup>[1-2]</sup>。牡丹全是宝,牡丹根皮干燥处理后即得常用中药丹皮,具有清热凉血、活血化瘀的功效<sup>[3]</sup>。牡丹籽具有抗氧化、消炎止痛作用,在民间常用于治疗腰腿疼痛<sup>[4]</sup>。研究发现,紫斑牡丹叶片含有较多的牡丹酚、芍药甙、没食子酸,这些均是重要的药用成分<sup>[3]</sup>,而不少植物的药用活性依赖于其抗氧化活性<sup>[5]</sup>。

紫斑牡丹叶色通常为绿色,2014年,在西北农林科技大学牡丹种质资源基地发现红色叶的变异紫斑牡丹实生苗(图1),该变异紫斑牡丹实生苗全株叶片均为红色。植物叶片呈色原理十分复杂,其中叶绿素、类胡萝卜素和花色苷3类色素对叶片颜色起主要决定作用<sup>[6]</sup>。花色苷属于类黄酮类物质,是影响植物色彩表达的主要因素之一<sup>[7]</sup>。花色苷因其具有安全、无毒、较好的抗氧化活性特点,常被用作天然食用色素<sup>[8-9]</sup>。

该研究利用紫外可见分光光度计、薄层层析色谱法、高效液相色谱仪-二极管阵列检测器 HPLC-DAD 对紫斑牡丹绿色叶和变异紫斑牡丹红色叶的色素进行了定性和定量分析,以确定其中的色素种类及含量,分析其叶片呈现红色的原因,以期通过杂交育种及基因工程培育红色叶的牡丹提供理论依据。现以2种叶片为试材,测定其总多酚和总黄酮含量,并用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-



图1 紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的实生苗和叶片

Fig. 1 Seedlings and leaf of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

**第一作者简介:**唐豆豆(1988-),女,硕士研究生,现主要从事园林植物分子生物学等研究工作。E-mail:1747662070@qq.com.

**责任作者:**李厚华(1973-),男,博士,副教授,现主要从事植物分子生物学等研究工作。E-mail:lihoushua73@163.com.

**基金项目:**林业公益性行业科研重大专项资助项目(201404701);西北农林科技大学基础科研业务费资助项目(2452015040)。

**收稿日期:**2015-07-24

diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl, DPPH) 自由基、2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate)) 自由基(ABTS+·)法测定其体外抗氧化活性,分析叶片总多酚、总黄酮和其抗氧化之间关系,以期为以后牡丹叶片的药用功能研究奠定试验和理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为3年生的变异紫斑牡丹实生苗红色叶和紫斑牡丹绿色叶,2014年5月采集于西北农林科技大学牡丹种质资源基地。将采集的叶片清洗干净后,用真空冷冻干燥机处理48 h,再研磨成粉末状备用<sup>[10]</sup>。该变异红色叶紫斑牡丹拉丁名暂定为 *Paeonia rocki* var. *purpurea*。

供试仪器:日立 L-2000 高效液相色谱仪,岛津-2450 紫外可见分光光度计,真空冷冻干燥机,超声清洗器。

供试试剂:标准品芍药花素-3,5-二葡萄糖苷和天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷购自美国 Sigma 公司,芦丁、二氢杨梅酮、绿原酸、对香豆酸、根皮苷、杨梅素购自天津一方科技有限公司,儿茶素和表儿茶素购自天津金测分析技术有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 色素萃取 将低温保存的试验材料用真空冷冻干燥机处理48 h,再研磨成粉末备用<sup>[10]</sup>。甲醇萃取液(类黄酮分析用)制备:取0.3 g 冷冻干燥后的粉末,用15 mL 甲醇萃取,放置在4℃冰箱中萃取24 h,超声提取后吸取上清液待用<sup>[10]</sup>。甲醇盐酸萃取液(花青苷分析用)制备:称取0.3 g 粉末,用 V(甲醇):V(36%的盐酸)=97:3 萃取并定容至15 mL,放置在4℃冰箱中萃取24 h,超声提取后吸取上清液待用<sup>[10]</sup>。水解萃取液(花青素分析用)制备:吸取450 μL 甲醇盐酸萃取液与900 μL 的2 mol/L 盐酸,混匀,95℃加热,45 min 后迅速冰上冷却,加入450 μL 异戊醇,混匀,4℃离心8~10 min,取出分层混合液后静置4℃冰箱,6~8 h 后吸取上相液待用<sup>[10]</sup>。丙酮-乙醇萃取液(叶绿素分析用)制备:取0.05 g 粉末,用 V(丙酮):V(乙醇)=9:1 提取并定容至2 mL,提取液放置于4℃冰箱中萃取48 h<sup>[11-12]</sup>。石油醚-丙酮萃取液(类胡萝卜素分析用)制备:0.05 g 粉末,用 V(石油醚):V(丙酮)=1:1 提取并定容至2 mL,提取液放置于4℃冰箱中萃取48 h<sup>[11-12]</sup>。

1.2.2 紫斑牡丹叶片色素的定性鉴定和定量分析 紫外分光光度计法鉴定:用岛津-2450 紫外可见分光光度计在200.0~700.0 nm 分别对不同萃取液进行光度和光谱测定<sup>[13]</sup>,对2种叶片所含色素种类进行初步鉴定和叶绿体色素含量确定。薄层层析色谱分析:用玻璃毛细管分别吸取2种叶片的甲醇盐酸萃取液,点样于纤维素薄

层板,将薄层板分别置于以下2种流动相的层析缸中展开。试验所用流动相为:BAW 溶液[V(正丁醇):V(冰乙酸):V(水)=6:1:2]和 BuHCl[V(正丁醇):V(2 mol/L 盐酸)=1:1]。萃取液各成分分离后,测定各显色色带的 Rf 值(Rf=原点至斑点中心的距离/原点至溶剂前沿的距离),将样品的 Rf 值对照标样的 Rf 值来辅助判断花青素/苷种类<sup>[8]</sup>。对肉眼很难观察到的无色或轻微黄色的类黄酮用显色方法进行鉴定<sup>[14-15]</sup>。高效液相色谱法检测:试验用日立 L-2000 高效液相色谱仪检测,检测器为 L-2455 型二极管阵列检测器,检测波长范围为200.0~700.0 nm,参考 LI 等<sup>[10]</sup>的方法。绘制标准品的标准曲线并计算试验样品中单体酚含量。

### 1.3 项目测定

1.3.1 总多酚含量和总黄酮含量的测定 总多酚含量的测定参考 YI 等<sup>[16]</sup>的方法并稍作修改。分别取1.58 mL 灭菌去离子水,5 μL 甲醇提取液,100 μL FC 试剂(Folin-ciocalten: H<sub>2</sub>O=1:1),混匀,1 min 后再向混合液中加入300 μL 20%水合碳酸钠,充分混匀后,在室温黑暗下放置30 min,测定765 nm 波长处吸光度。总多酚含量为没食子酸当量(GAE mg/g)。总黄酮含量的测定参考 WOLFE 等<sup>[17]</sup>的方法并稍作修改。分别取10 μL 的甲醇提取液,680 μL 的30%甲醇,30 μL 的0.5 mol/L NaNO<sub>2</sub>,30 μL 的0.3 mol/L AlCl<sub>3</sub>,混匀,反应5 min 后再向混合液中加200 μL 的1 mol/L NaOH,充分混匀后,测定506 nm 波长处吸光度。总黄酮含量为芦丁当量(RE mg/g)。

1.3.2 体外抗氧化活性的测定 清除 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基)自由基试验:对 DPPH 自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, 2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl) 的清除试验参考 FRIEDMAN 等<sup>[18]</sup>并稍作修改。取10 μL 甲醇提取液和2 mL 的62.5 μmol/L DPPH 溶液,混匀后立即测517 nm 波长下的吸光度 A1。之后,将其在室温黑暗下放置30 min,再次测定吸光度 A2。DPPH 自由基的清除能力为 Trolox 当量(TE μmol/g)。清除 ABTS+·(2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐自由基)试验:ABTS+·(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate))清除试验参考 TAI 等<sup>[19]</sup>的方法并稍作修改。配制7 mmol/L 的 ABTS+ 溶液,用0.2 mol/L pH 4.5 的醋酸钠缓冲液将其稀释至吸光度为0.7±0.02。取1 mL 稀释后的 ABTS+ 溶液和5 μL 甲醇提取液,混匀,于734 nm 波长下测定吸光度 A1。反应2 min 后,再次测定吸光度 A2。清除 ABTS+ 能力为 Trolox 当量(TE μmol/g)。

### 1.4 数据分析

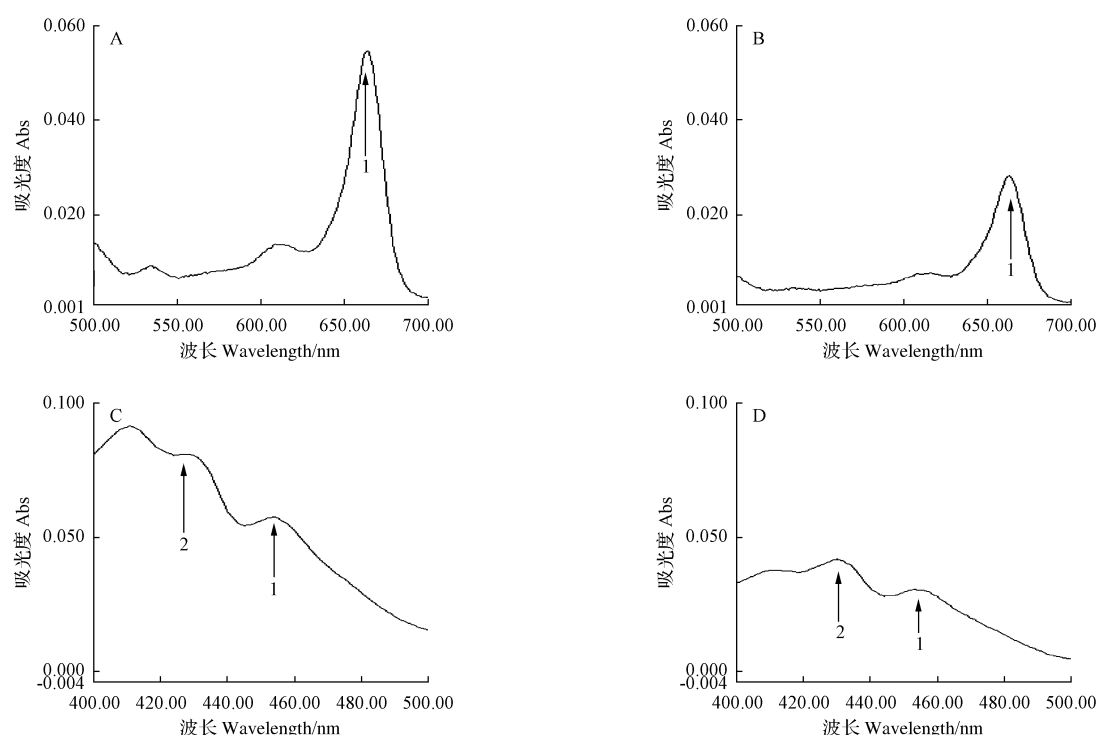
数据统计分析采用 Excel 2007、DPS 和 Minitab 5.0 软件,所有样品重复3次,结果表示为  $\bar{x}$ (平均数)±s。

## 2 结果与分析

### 2.1 紫外可见分光光度计检测

2.1.1 叶绿素和类胡萝卜素的含量计算 根据图 2 光度测定的结果,计算叶片中叶绿体色素含量,从表

1 可以看出,红色叶和绿色叶中类胡萝卜素含量差异不大,但红色叶中总叶绿素的含量明显低于绿色叶中含量,仅为绿色叶中总叶绿素含量的 40% 左右。



注:A. 紫斑牡丹绿色叶叶绿素萃取;B. 变异紫斑牡丹红色叶叶绿素萃取液;C. 紫斑牡丹绿色叶类胡萝卜素萃取液;D. 变异紫斑牡丹红色叶类胡萝卜素萃取液。

Note:A. The chlorophyll extract of green-leaf of *Paeonia rockii*; B. The chlorophyll extract of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*; C. The carotenoid extract of green-leaf of *Paeonia rockii*; D. The carotenoid extract of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*.

图 2 紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片叶绿素和类胡萝卜素萃取液紫外图谱

Fig. 2 UV spectrum of the chlorophyll and carotenoids extract in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

表 1

紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片中叶绿素和类胡萝卜素含量

Table 1

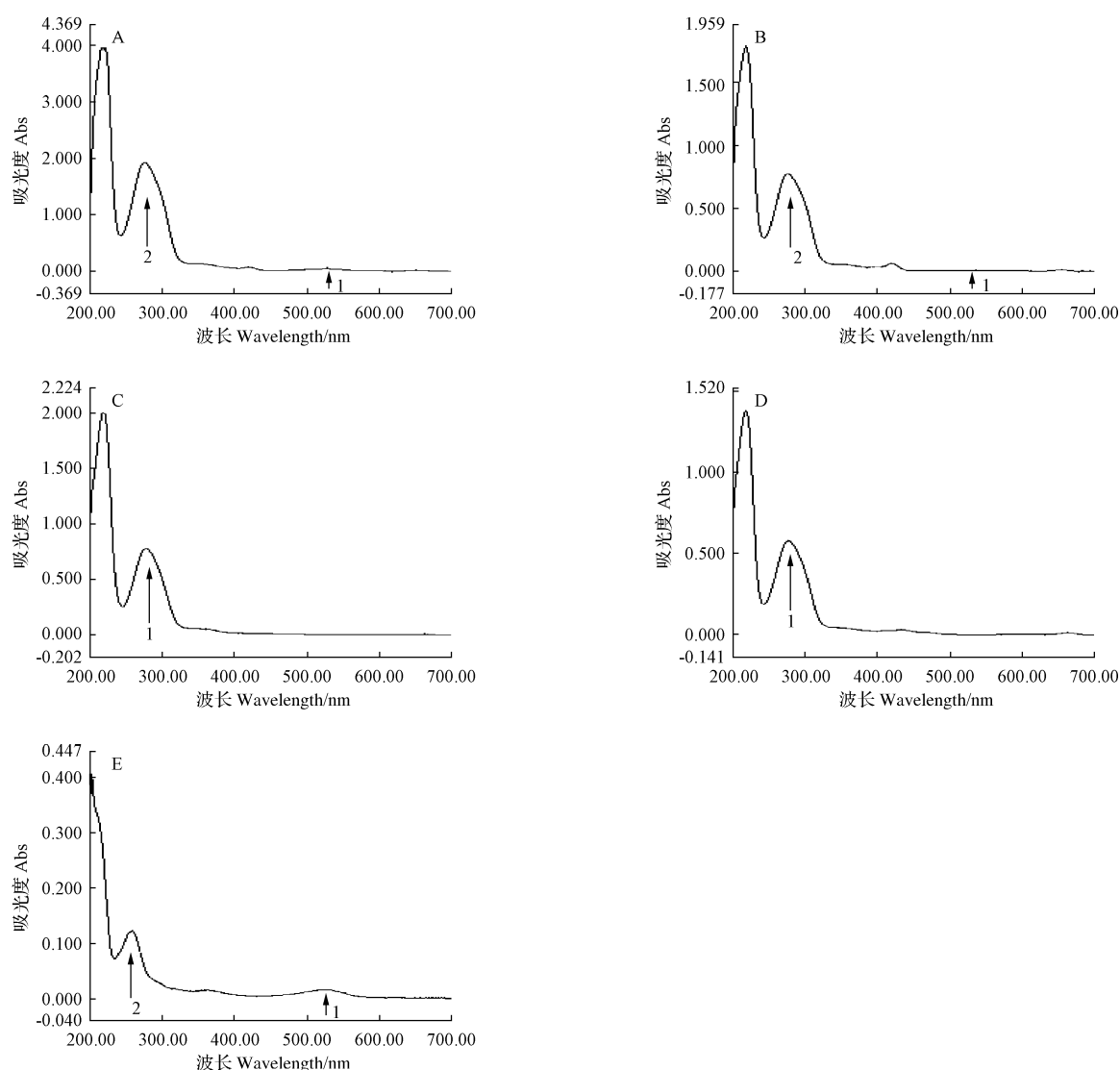
The content of the chlorophyll and carotenoids in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

mg/g

	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content	总叶绿素含量 Total chlorophyll content	类胡萝卜素含量 The carotenoid content
变异紫斑牡丹红色叶 The red-leaf of <i>Paeonia rockii</i> var. <i>purpurea</i>	1.63±0.65	0.81±0.15	2.44±1.03	0.29±0.05
紫斑牡丹绿色叶 The green-leaf of <i>Paeonia rockii</i>	3.73±0.88	2.72±0.40	6.41±1.21	0.33±0.10

2.1.2 紫外可见分光光度计法初步鉴定色素类别 对 2 种叶片甲醇萃取液、甲醇盐酸萃取液和水解萃取液光谱扫描。结果表明,2 种叶片的甲醇萃取液均在紫外区 280、550 nm 有吸收峰(图 3-A 和 B),推测其含有黄酮类化合物<sup>[20]</sup>。为对黄酮类化合物做进一步鉴定,取 2 种叶片水解液进行紫外检测。检测发现,只有红色叶片的水解液在紫外区 290.0 nm 和可见光区 530.0 nm(图 3-E)处检测到吸收高峰,且在 300~330 nm(酰基化花色苷的特征吸收)无明显吸收峰,因此确定红色叶中含有花色苷类物质,且花色苷无酰基化<sup>[21-23]</sup>。向上述水解液中加入 80~100  $\mu$ L 5%  $\text{AlCl}_3$  后,可见光区的最大吸收波长

未发生红移(即吸收波长不变),说明花青素 B 环上不含有 2 个相邻的羟基,进一步验证了萃取液中的红色物质为天竺葵素、芍药色素、锦葵色素<sup>[21-23]</sup>。参考相关文献可知<sup>[19]</sup>,根据花色苷在 440 nm 于 Avis-max 下吸光值之比,可以判断花色苷分子内糖基的位置。红色叶的甲醇盐酸萃取液检测表明,其  $A_{440}/A_{\text{vis-max}}$  小于 20%,为双取代的花色苷(3,5 号位置)<sup>[21-23]</sup>。其结合的糖基可能为葡萄糖苷<sup>[23-24]</sup>。对 2 种叶片的甲醇萃取液进行紫外检测,显示在 290 nm 附近有峰(图 3-C 和 D),但在 535 nm(甜菜色素的特征吸收区)没有吸收峰,说明叶片均含有二氢黄酮醇类物质<sup>[25]</sup>。



注:A. 变异紫斑牡丹红色叶甲醇盐酸萃取液;B. 紫斑牡丹绿色叶甲醇盐酸萃取液;C. 变异紫斑牡丹红色叶甲醇萃取液;D. 紫斑牡丹绿色叶甲醇萃取液;E. 变异紫斑牡丹红色叶花青苷水解液。

Note: A. The methanol, hydrochloric acid extract of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*; B. The methanol, hydrochloric acid extract of green-leaf of *Paeonia rockii*; C. The methanol extracts of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*; D. The methanol extracts of green-leaf of *Paeonia rockii*; E. The anthocyanin hydrolyzate of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*.

图3 紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片类黄酮萃取液紫外图谱

Fig. 3 UV spectrum of the pigment extract in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

## 2.2 薄层层析色谱分析

由表2可知,将2种叶片的花青素萃取液在BAW和BuHCl流动相中展开,在层析板上可以用肉眼观察变异紫斑牡丹红色叶萃取液处有一个明显红色斑点和一个较浅红色斑点,其 $R_f$ 值分别为0.31和0.43、0.11和0.37,这与标准品芍药花素-3,5-二葡萄糖苷、天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷的 $R_f$ 值基本一致。因此,可以初步推测变异紫斑牡丹红叶主要花青素物质为芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(Pn3G5G)和天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷(Pg3G5G)。对肉眼很难观察到的类黄酮,借助显色反应对其进行鉴定<sup>[8]</sup>,对叶片甲醇盐酸萃取液的2种流动相薄层板进行

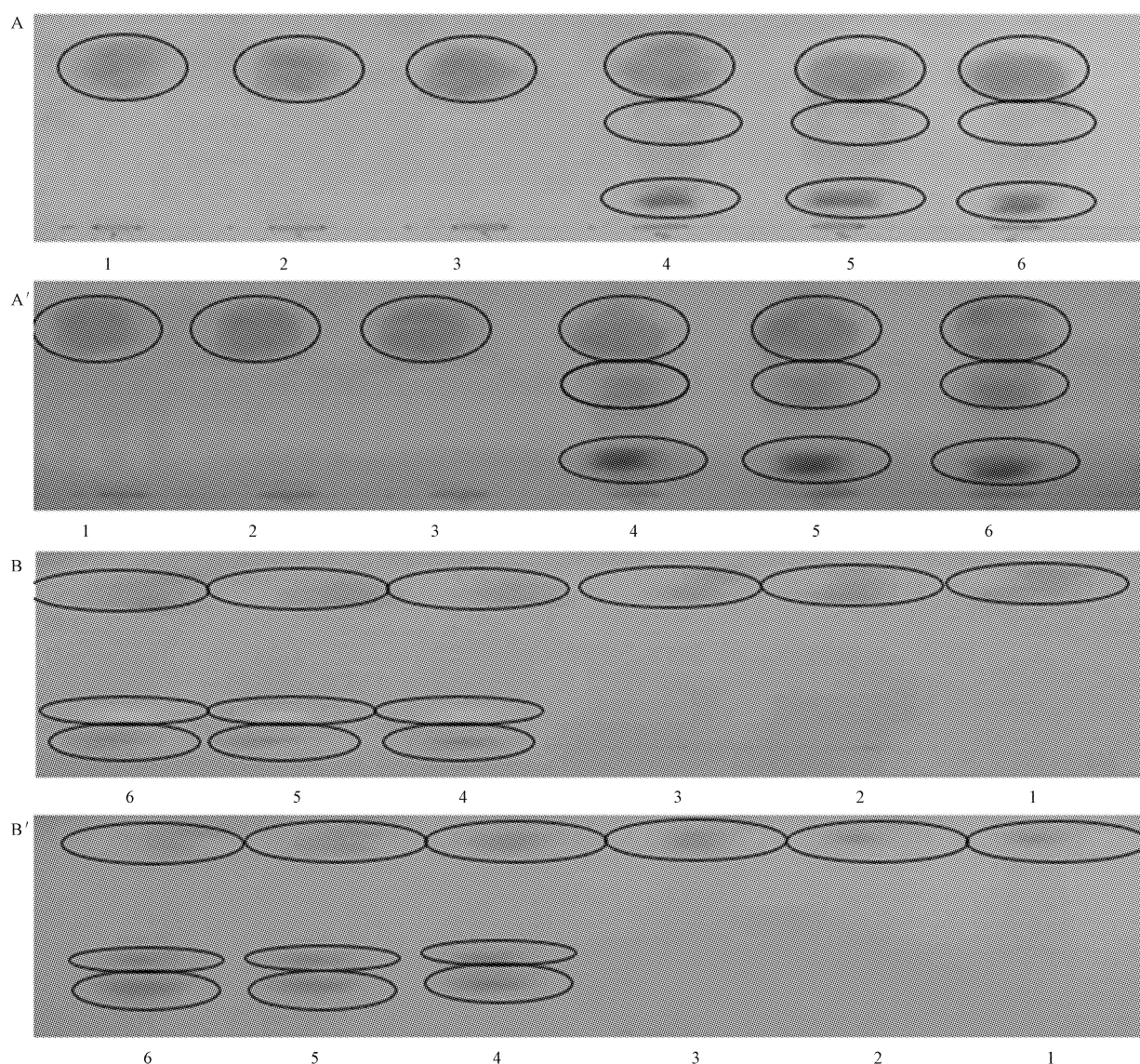
氨气熏蒸试验,各板中红色斑点均立即出现明显的蓝化现象(图4A'-B'),进一步确定红色叶中含有花青苷物质<sup>[25]</sup>。

表2 变异紫斑牡丹叶片的花青苷萃取液在2种流动相中的 $R_f$ 值

Table 2  $R_f$  values of anthocyanin extracts of red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea* in two mobile phase

花青素萃取液 Anthocyanin extract	芍药花素-3,5-二葡萄糖苷 Peonidin-3,5-di-O-glucoside, Pn3G5G	天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷 Pelargonidin-3,5-di-O-glucoside, Pg3G5G
BAW	0.31 和 0.43	0.31 和 0.44
BuHCl	0.11 和 0.37	0.10 和 0.38





注:A、A'为在流动相 BuHCl 氨气熏熏前后色谱图;B、B'为流动相 BAW 中氨气熏熏前后色谱图;1、2、3 为紫斑牡丹绿色叶甲醇盐酸萃取液;4、5、6 为变异紫斑牡丹红色叶甲醇盐酸萃取液。

Note:A,A',the chromatogram about ammonia smoked and not smoked in the BuHCl mobiles phase;B,B',the chromatogram about ammonia smoked and not smoked in the BAW mobiles phase;1,2,3,anthocyanin extract of the green-leaf of *Paeonia rockii*;4,5,6,anthocyanin extract of the red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*.

图 4 BuHCl 和 BAW 流动相中紫斑牡丹和变异紫斑牡丹叶片花青苷萃取液薄层层析色谱图

Fig. 4 Thin layer chromatogram in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea* in the mobiles phase BuHCl and BAW

### 2.3 高效液相色谱检测

高效液相色谱对叶片萃取液的检测结果表明,520 nm 图谱下,红色叶在保留时间 16.50 min 出现较大吸收峰,这与标准品芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(Pn3G5G)的保留时间基本一致;同时还检测到微弱的天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷(Pg3G5G)吸收峰(表 3)。对比紫外及薄层层析结果,可以确定芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(Pn3G5G)是变异紫斑牡丹红色叶的主要花青苷,含量( $1\,023 \pm 2.09$ ) mg/kg。除花青苷外,在 2 种叶片的甲醇萃取液中还检测到 10 种已鉴定出的多酚,分别是绿原酸、儿茶素、表二茶素、二

氢杨梅酮、芦丁、没食子酸、对香豆酸、二氢杨梅皮素、根皮苷和杨梅素。从表 3 可以看出,这些单体酚在 2 种叶片中含量差异较大,其中红色叶中的儿茶素含量为 674 mg/kg,是绿色叶中儿茶素含量的 7 倍多,绿原酸、芦丁和对香豆酸在红色叶中含量为 2 928、7 838、1 844 mg/kg,分别约为其在绿色叶中含量的 3 倍,二氢杨梅酮和没食子酸在红色叶中含量约是绿色叶中含量的 2 倍。这可能因为红色叶中有大量的花青苷合成,而二氢杨梅酮、对香豆酸等多酚物质是花青苷合成的前体物质。

表 3

紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片中各单体酚质量分数

Table 3

The monomeric phenol contents in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

编号 No.	中文名称 Chinese name	保留时间 Keeping time/min	英文名 English name	质量分数 Quality score/(mg·kg <sup>-1</sup> )	
				红色叶 Red-leaf	绿色叶 Green-leaf
1	芍药花素-3,5-二葡萄糖苷	18.50	C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>16</sub>	1 023±2.09	未检测到
2	天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷	21.96	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>15</sub>	152±0.42	未检测到
3	绿原酸	26.23	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	2 928±1.04	1 080±1.45
4	儿茶素	23.73	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> ·H <sub>2</sub> O	674±0.46	95±0.15
5	表二茶素	27.76	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	4 123±2.21	2 518±2.67
6	二氢杨梅酮	28.69	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	1 339±1.45	581±0.47
7	芦丁	30.56	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	7 838±3.76	2 520±2.45
8	没食子酸	13.60	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	2 806±1.67	1 370±0.94
9	对香豆酸	32.11	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	1 844±0.54	610±0.12
10	二氢杨榭皮素	35.30	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	3 353±2.82	2 023±0.85
11	根皮苷	38.02	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1 344±0.68	1 452±1.07
12	杨梅素	39.68	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	2 228±1.46	1 861±1.16

## 2.4 多酚、黄酮的含量和体外抗氧化活性的测定

从图 5 可以看出,2 种叶片中总多酚、总黄酮含量及抗氧化能力上存在差异。变异紫斑牡丹红色叶中总多酚含量(GAE 182.84 mg/g)和总黄酮含量(RE 53.89 mg/g)都较紫斑牡丹绿色叶中总多酚、总黄酮含量(GAE 134.25 mg/g,RE 36.53 mg/g)高。在抗氧

化能力上变异紫斑牡丹红色叶比绿色叶强。变异紫斑牡丹红色叶清除 DPPH 自由基和 ABTS+·能力分别为(9 727.15±31.26) μmol/g 和(974.5±11.67) μmol/g Trolox 当量,而紫斑牡丹的绿色叶清除 DPPH 自由基和 ABTS+·的能力分别为(5 707.15±15.40) μmol/g 和(548.05±9.81) μmol/g。

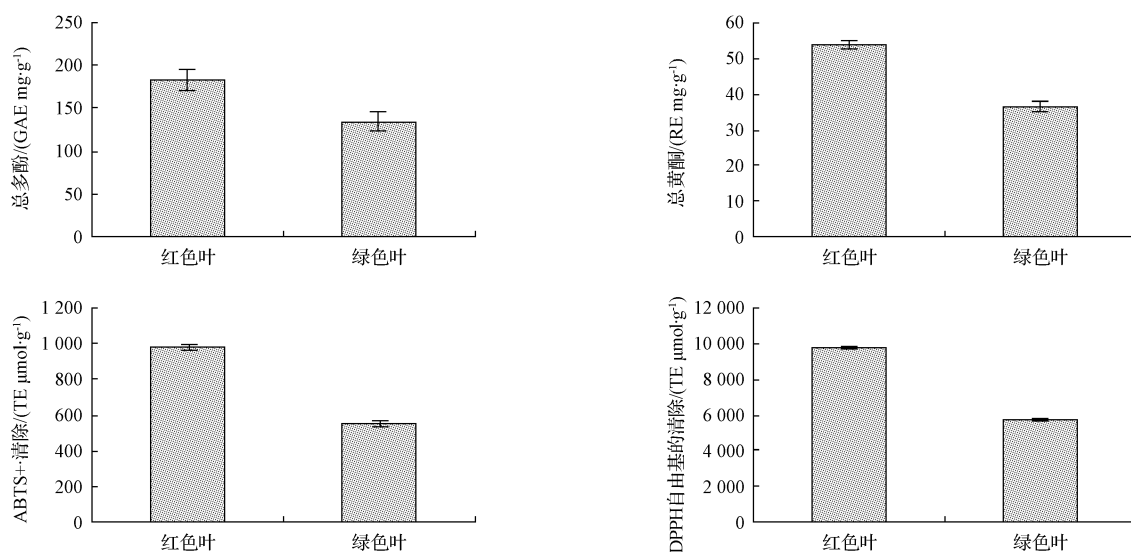


图 5 紫斑牡丹和变异紫斑牡丹的叶片体外抗氧化活性

Fig. 5 *in vitro* antioxidant activity in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea*

## 3 结论与讨论

紫斑牡丹为中国牡丹中仅次于中原牡丹的第二大品种群<sup>[5-6]</sup>。通过对 2 种叶片花青苷萃取液进行薄层层析色谱检测,其中,变异紫斑牡丹红色叶萃取液在 BAW 和 BuHCl 流动相中都检测到芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(Pn3G5G)和天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷(Pg3G5G),通过高效液相色谱仪-二极管阵列检测器进一步确定花色苷成分与含量。在植物中,花青苷和叶绿素的质量分数比会影响其所在器官颜色的呈现<sup>[26]</sup>,经检测发现,变异紫斑牡丹红色叶中总叶绿素的含量(2.44±1.03) mg/g 是紫

斑牡丹绿色叶中总叶绿素含量(6.41±1.21) mg/g 的 40%左右,并且红色叶中还含有绿色叶中未检测到的芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(1 023±2.09) mg/kg 和天竺葵素-3,5-二葡萄糖苷(152±0.42) mg/kg。花青苷类色素是红色叶植物成色的主要色素,但其它黄色或无色色素也起辅助作用<sup>[27-30]</sup>。试验中 2 种叶片中都检测到绿原酸、儿茶素、表二茶素、二氢杨梅酮、芦丁、没食子酸、对香豆酸、二氢杨榭皮素、根皮苷、杨梅素、类胡萝卜素等物质,它们作为辅助色素对变异紫斑牡丹叶色的形成可能也起着一定的作用<sup>[31]</sup>。



研究表明,黄酮、多酚有较强的抗氧化活性,植物的抗氧化活性与黄酮、多酚含量有关<sup>[32-33]</sup>。该试验中,红色叶的总黄酮和总多酚含量较高,同时其抗氧化活性也比绿色叶强。2种叶片的单体酚含量差异较大。儿茶素在红叶中含量是其在绿色叶中含量的7倍,同时,绿原酸和芦丁在红色叶中含量是绿色叶中的3倍多。其中,花青苷、儿茶素、绿原酸、芦丁等单体酚都对红色叶抗氧化起到了贡献作用<sup>[34-36]</sup>,这说明抗氧化活性较强变异紫斑牡丹的红色叶与紫斑牡丹的绿色叶相比存在极大潜在药用价值,可以作为今后牡丹药用产业的开发材料。

### 参考文献

- [1] 陈德忠. 中国紫斑牡丹[M]. 北京:金盾出版社,2003:1-4.
- [2] 成仿云. 中国紫斑牡丹[M]. 北京:中国林业出版社,2005:1.
- [3] 戴松成. 国花牡丹档案[M]. 开封:河南大学出版社,2008.
- [4] 翟文婷,朱献标,李艳丽,等. 牡丹籽油成分分析及其抗氧化活性研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版),2013,26(2):147-150.
- [5] DUFOUR D, PICHETTE A, MSHVILDADZE V, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Ledum groenlandicum* Retzius[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 111: 22-28.
- [6] 姜卫兵,庄猛,韩浩章,等. 彩叶植物呈色机理及光合特性研究进展[J]. 园艺学报,2005,32(2):352-358.
- [7] 刘青林,陈俊愉. 观赏植物花器官主要观赏性状的遗传与改良[J]. 园艺学报,1998,25(1):81-86.
- [8] 高彦祥,李媛媛. 天然色素抗氧化性研究进展[J]. 食品科学,2005,26(21):139.
- [9] 崔文新,耿越,王凤芹,等. 几种天然食用色素抗氧化作用研究[J]. 食品科学,2008,29(4):401.
- [10] LI H H, FLACHOWSKY H, FISCHER T C, et al. Maize Lc transcription factor enhances biosynthesis of anthocyanins, distinct proanthocyanidins and phenylpropanoids in apple (*Malus domestica* Borkh.)[J]. Planta, 2007, 226(5): 1243-1254.
- [11] 高燕,李厚华,李玲,等. 紫叶李叶片色素成分分析[J]. 浙江农林大学学报,2014,31(3):481-487.
- [12] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:99-103.
- [13] FULEKI T, FRANEIS F J. Quantitative methods for anthocyanins. 2. determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice[J]. Food Science, 1968, 33: 78-82.
- [14] HARBORNE J B. Classes and functions of secondary products from plants[M]. London: Imperial College Press, 1999: 1-25.
- [15] HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Advances in flavonoid research since 1992[J]. Phytochemistry, 2000, 55(6): 481-504.
- [16] YI O S, MEYER A S, FRANKEL E N. Antioxidant activity of grape extracts in alecithin liposome system[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1997, 74(10): 1031-1037.
- [17] WOLFE K, WU X Z, LIU R H. Antioxidant activity of apple peels[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(3): 609-614.
- [18] FRIEDMAN M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2007, 51(1): 116-134.
- [19] TAI Z G, CAI L, DAI L, et al. Antioxidant activity and chemical constituents of edible flower of *Sophora viciifolia* [J]. Food Chemistry, 2011, 126(4): 1648-1654.
- [20] HARBORNE J B, BAXTER H. The Handbook of natural flavonoids [M]. New York: Wiley Press, 1999.
- [21] 王爱晶,刘晓东,刘香环,等. 芍药红色素的提取及稳定性[J]. 东北林业大学学报,2008,36(9):63-64.
- [22] 王爱晶,刘晓东,刘香环,等. 芍药花红色素的分离及初步鉴定[J]. 东北林业大学学报,2009,37(5):74-76.
- [23] 樊金玲,朱文学,沈军卫,等. 高效液相色谱-电喷雾质谱法分析牡丹花中花色苷类化合物[J]. 食品科学,2007,28(8):367-371.
- [24] 张晶晶,王亮生,刘政安,等. 牡丹花色研究进展[J]. 园艺学报,2006,33(6):1383-1388.
- [25] 李玲,李厚华,王亚杰,等. 紫叶小檗叶片色素成分分析[J]. 东北林业大学学报,2013,41(7):58-62.
- [26] 曾佑徐,徐良雄,彭永宏. 45种花卉清除自由基能力的比较[J]. 应用与环境生物学报,2004,10(6):699-702.
- [27] MANETAS Y. Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red[J]. Flora-Morphol Distrib Funct Ecol Plants, 2006, 201(3): 163-177.
- [28] 于晓南,张启翔. 彩叶植物多彩形成的研究进展[J]. 园艺学报,2000,27(1):533-538.
- [29] 安田齐. 花色之谜[M]. 北京:中国林业出版社,1989:137-149.
- [30] SAURE M C. External control of anthocyanin in apple[J]. Scientia Horticulturae, 1990, 42: 181-218.
- [31] 李崇晖,王亮生,舒庆艳,等. 迎红杜鹃花色色素组成及花色在开花过程中的变化[J]. 园艺学报,2008,35(7):1023-1030.
- [32] HONG Y P, LIN S Q, JIANG Y M, et al. Variation in contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activities in the leaves of 11 *Eriobotrya* species[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2008, 63: 200-204.
- [33] 洪燕萍,黄素华,曹红云,等. 香花枇杷和普通枇杷叶片抗氧化活性成分的比较[J]. 园艺学报,2009,36(6):898-904.
- [34] 赵连飞,陈凤丽,孙曦晓,等. 牡丹种壳中丹皮酚和芍药苷的微波提取及含量测定[J]. 植物研究,2014,34(4):561-566.
- [35] 胡宗福,于文利,赵亚平. 绿原酸清除活性氧和抗脂质过氧化的研究[J]. 食品科学,2006,27(2):128-130.
- [36] 徐变娜,王敏,曹静,等. 不同时期梨枣叶茶抗氧化成分组成活性差异的分析[J]. 食品科学,2013,34(13):38.

## Analysis on Pigments and Antioxidant Activity in Red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea*

TANG Doudou<sup>1</sup>, LI Houhua<sup>1</sup>, ZHANG Yanlong<sup>1</sup>, LUO Jianrang<sup>1</sup>, YU Hang<sup>2</sup>, YUAN Liuxiang<sup>1</sup>

(1. College of Landscape Architecture and Arts, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** The leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea* were used as experimental materials. Pigments in leaves of *Paeonia rockii* and *Paeonia rockii* var. *purpurea* were qualitatively identified and quantitatively analyzed using

DOI:10.11937/bfyy.201523024

# 线叶忍冬群落区系和组分研究

李亚兰, 梁凤丽, 刘璐

(新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆教育厅干旱区林业生态与产业技术重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘要:**在昭苏县线叶忍冬分布区内设置典型样地,对典型样地内的植物种类、高度、株(丛)数、盖度等特征进行调查统计。结果表明:线叶忍冬群落物种丰富度较高,由39种植物组成,隶属于23科34属,其中蔷薇科、豆科、菊科、龙胆科为主要组成科,委陵菜属、獐牙菜属、忍冬属为主要组成属,科、属的分布型以温带成分占优势,属于温暖气候带的植被成分;地面芽植物比例较高;主要层植物灌木叶片以微型叶、单叶、草质、全缘叶为主,叶片特点体现其属于山地河谷落叶阔叶灌丛。

**关键词:**线叶忍冬;群落;物种;植物区系

**中图分类号:**S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)23-0086-04

线叶忍冬(*Lonicera alberti*)为亚洲中部特有的高山小灌木,花冠淡紫至粉红色,浆果球形白色<sup>[1]</sup>,不同于其它忍冬种类,具有较高的观赏价值,但目前尚鲜见关于线叶忍冬的研究。因此,通过对线叶忍冬群落内植物种类调查及对其群落区系、组分进行分析,有利于增加对线叶忍冬的了解,同时对保护和合理开发利用这一植物资源有重要意义。有关新疆忍冬属植物多是对分布、引种繁育及在园林中的应用等方面的研究<sup>[2-7]</sup>。在植物群落方面的相关研究中,对忍冬属只有简略的介绍,并未对其组成、结构等方面有详细记录<sup>[8-14]</sup>。针对线叶忍冬(*Lonicera alberti*)的相关研究更是甚少,仅知道为忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera*)的小灌木,分布于新

疆昭苏,生长于河谷岸边灌丛中<sup>[1]</sup>。该研究通过样地调查和相关资料查阅分析线叶忍冬群落内植物种类、地理区系组成、生活型及组分结构,从植被生态学角度对线叶忍冬群落的植物种类、区系组成、生活型谱及叶片特征等进行调查研究,以期了解线叶忍冬的生态学和生物学特性,掌握线叶忍冬的分布状况,为合理开发利用和保护线叶忍冬提供科学参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

调查样地昭苏县位于伊犁哈萨克自治州西南部(北纬42°38'~43°15',东经80°10'~80°30',海拔1 323~6 769 m)。昭苏县被天山山脉的哈尔克山、阿拉套山及阿腾套山所夹,形成了一个较为独特的自然生态环境,是新疆境内唯一一个没有荒漠的县,属于大陆性温带山区半干旱、半湿润冷凉气候,冬长夏短,没有明显的四季之分,年平均温度2.9℃,年极端最高温度33.5℃,最低温度-32℃,全年无霜期平均为98 d,年均降雨量达576.83 mm,为新疆之首,水蒸发量大,年均均为1 261.6 mm,年平均日照总数为2 699 h<sup>[15]</sup>。

**第一作者简介:**李亚兰(1989-),女,新疆博湖人,硕士研究生,研究方向为林木种苗繁育。E-mail:weixiaoliyalan@163.com

**责任作者:**梁凤丽(1973-),女,新疆乌鲁木齐人,硕士,讲师,研究方向为植物繁殖生态学。E-mail:xjliangfengli@163.com

**基金项目:**干旱区生物多样性保育与恢复生态学科科研创新团队资助项目;大学生创新资助项目(JQZTP72013173)。

**收稿日期:**2015-07-31

HPLC-Diode array detector(DAD),UV spectrophotometry and thin layer chromatography;1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl(DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (ABTS+•)) were used to evaluate the *in vitro* antioxidant activity of the leaves. The results showed that the color-leaf variation of *Paeonia rockii* var. *purpurea* was major caused by the combined effect of the increased accumulation of peonidin-3,5-di-O-glucoside, pelargonidin-3,5-di-O-glucoside and decreased accumulation of chlorophyll. The red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea* had higher content on chlorogenic acid, rutin, epicatechin, dihydromyricetin, p-coumaric acid and dihydroquercetin than green-leaf of *Paeonia rockii*; compared with green-leaf of *Paeonia rockii*, the red-leaf of *Paeonia rockii* var. *purpurea* exhibited stronger antioxidant activity, which had potential medicinal value.

**Keywords:** *Paeonia rockii*; red-leaf; peonidin-3,5-di-O-glucoside; antioxidant activity