

程金生,李舒雅,万维宏,等.金花茶微观结构鉴别及活性成分分析[J].江苏农业科学,2020,48(19):221-224.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.047

金花茶微观结构鉴别及活性成分分析

程金生,李舒雅,万维宏,曾雪琪

(韶关学院英东食品科学与工程学院,广东韶关 512005)

摘要:为开展金花茶微观结构鉴别及活性成分分析,应用扫描电镜获得金花茶微观结构信息,通过气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析金花茶的活性成分。研究表明,由电镜可以观察到金花茶叶子气孔都分布在叶下表皮,每一片小区域都由中心气孔从圆心向外延伸,像孔雀开屏状,外缘角质膜呈细条纹状。金花茶花朵的细胞则呈长圆形,棱角圆滑,排列联系紧密呈网状。花粉的形态一般呈长球形,少数从不同角度观察可看到近似呈三角形,有明显的孔沟,沟均细长。从金花茶花、叶的总离子图中可观察到金花茶叶子有 33 种活性成分,金花茶花朵则观察到 60 种活性成分,与 Nist 谱库匹配分析出金花茶富含醇和酚类物质,还包括酯类、有机酸类等,其中儿茶酚、天然维生素 E 等有效成分具有清除自由基的能力。说明金花茶叶、花微观结构各异,并含有丰富的活性成分。这些研究数据有望为金花茶综合利用提供一定借鉴,提高金花茶附加值。

关键词:金花茶;微观结构;活性成分;分析

中图分类号:S685.140.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)19-0221-04

金花茶(*Camellia chrysantha*)是唯一一种花朵

为金黄色又晶莹透润的山茶科植物,因胡先啸博士的鉴定而得名^[1]。1984 年,金花茶被列入国家一级保护植物之一,同时与其他 3 种珍稀植物齐名,它们分别是银杉、桫欏、珙桐。金花茶在国内和国外都有着诸多美誉:“植物活化石”“茶族皇后”“幻想中的黄色山茶”等^[2-3]。金花茶具有很高的药用价值。近年来,学者对金花茶的科学项目研究愈来愈深入。一些研究者发现,金花茶富含许多对人体具有重要保健作用的有效成分,其中包括人类所必需

收稿日期:2020-01-14

基金项目:广东省自然科学基金面上项目(编号:2016A030307013、2019A151011163);2018 国家大学生创新创业项目(编号:201810576005X)。

作者简介:程金生(1976—),男,博士,副教授,主要研究方向为食品及药物分析、天然药物化学、纳米医学等。E-mail:86839680@qq.com。

通信作者:万维宏,硕士,高级工程师,主要从事试验设计、管理。E-mail:86839680@qq.com。

[8]龙全江,金欣,都娟.不同加工法干姜挥发油成分 GC-MS 分析[J].现代中药研究与实践,2017,31(3):65-67.

[9]El-Ghorab H A,Nauman M,Anjum F M,et al. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2010,58(14):8231-8237.

[10]Chakraborty D,Mukherjee A,Sikdar S,et al. 6-Gingerol isolated from ginger attenuates sodium arsenite induced oxidative stress and plays a corrective role in improving insulin signaling in mice[J]. Toxicology Letters,2012,210(1):34-43.

[11]Araya J J,Zhang H P,Prisinzano T E,et al. Identification of unprecedented purine-containing compounds, the zingerines, from ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Roscoe) using a phase-trafficking approach [J]. Phytochemistry, 2011, 72(9): 935-941.

[12]Pawar N,Sandeep P,Nimbalkar M,et al. RP-HPLC analysis of phenolic antioxidant compound 6-gingerol from different ginger

cultivars[J]. Food Chemistry,2011,126(3):1330-1336.

[13]沈祥春,胡涵帅,肖海涛.GC-MS 法分析艳山姜根茎、茎、叶及果实等部位挥发油化学成分[J]. 药物分析杂志,2010,30(8):1399-1403.

[14]李洪福,李永辉,王勇,等.高良姜化学成分及药理活性的研究[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(7):236-244.

[15]Nampoothiri S V,Venugopalan V V,Joy B,et al. Comparison of essential oil composition of three ginger cultivars from sub himalayan region[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,2012,2(3):1347-1350.

[16]谭银丰,李海龙,李友宾,等.高良姜叶中的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(3):37-40.

[17]开亮,蔡月,付艳辉,等.革叶山姜的化学成分研究[J].中草药,2016,47(5):717-721.

[18]刘丹,陈新,罗焱,等.四川山姜叶挥发油化学成分 GC-MS 分析及其抑菌活性研究[J].中华中医药杂志,2017,32(3):1255-1258.

的氨基酸和维生素、总皂苷、茶多酚类、齐墩果酸、黄酮类,还有微量元素等营养性或药用活性成分^[4-6]。

截至目前,尚无对金花茶叶、花等部位系统的微观结构及活性成分的研究。尤其是对金樱子花朵、花粉的微观结构及活性成分的分析,目前尚未见任何文献报道。本研究通过扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)观察了金花茶叶、花朵、花粉的微观结构,并通过 GC-MS 分析了金花茶叶、花朵中脂溶性活性成分,为金樱子种核综合利用提供了一定借鉴。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

电热鼓风干燥箱(101-1,绍兴市严氏风机有限公司)、电子天平(XY600-2CS,常州市幸运电子设备有限公司)、万分之一分析天平(DF22A,苏州多赛电子天平有限公司)、高速多功能粉碎机(YB-2000A,浙江永康市速锋工贸有限公司)、超细微粉粉碎机(FSJ-501,上海有建电子科技有限公司)、气相色谱联用仪[Agilent6890-5973,津仪仪器科技(苏州)有限公司]、紫外分光光度计(WFH-2038,上海精密科学仪器有限公司)、超声波清洗器(KQ3200E,昆明市超声仪器有限公司)、恒温水浴锅(HH-6,江苏金坛市金城国盛实验仪器厂)、旋转蒸发仪(IKA RV8,上海亚荣生化仪器厂)、台式扫描电镜(TM3030,上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 主要试剂

防城港金花茶(南宁市田园之香食品店)、HF254 硅胶(市售食品级,衡阳市凯信化工试剂股份有限公司)、大孔树脂(XAD-200,天津市海光化工有限公司)、乙醚、乙醇、乙酸乙酯等试剂均为分析纯(阿拉丁化学试剂有限公司)。

1.3 试验地点及时间

试验地点:广东省韶关市;试验时间:2018 年 11 月至 2019 年 6 月。

1.4 主要研究方法

1.4.1 茶多酚浸提、浓缩和纯化 采用超声波辅助浸提技术提取金花茶茶多酚,超声波浸提的频率为 180 W,浸提温度为 70 ℃,浸提 20 min。将超声后的金花茶浸提液置于 70 ℃的旋转蒸发仪中,蒸发浓缩后得到茶多酚的粗提液。用 XDA-200 大孔树脂进行茶多酚与杂质的分离和纯化。首先用 95% 的

乙醇浸泡树脂 24 h;然后用去离子水漂洗至无醇味后用茶多酚的粗提液以 2.5 BV/h 的流速过柱,待粗提液的出口浓度达到进口浓度的 10% 时,停止过柱,从而使大孔树脂达到饱和状态;最后设置浓度梯度乙醇洗脱达到纯化的效果,其浓度分别为 10% 和 30%,过柱流速为 2.5 BV/h,得到茶多酚纯化液。

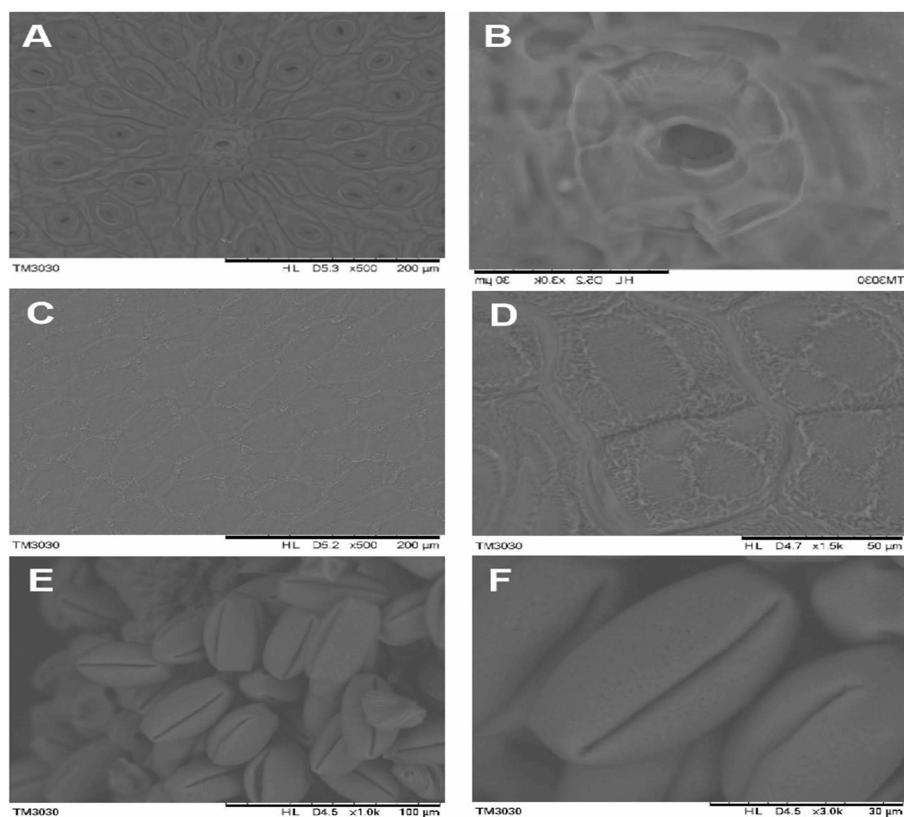
1.4.2 金花茶叶、花微观结构研究^[7-8] 用扫描电镜来观察干燥后的金花茶的花朵和叶的微观形态,以便观察金花茶的组织结构。将金花茶的花朵和叶都剪成适合的小片状,放入机器内,设置为真空状态时观察,并调整放大倍数与对焦,扫描出图片。

1.4.3 金花茶活性成分 GC-MS 分析方法 气相色谱柱程序升温:第 1 步是从 25 ℃ 的室温以 10 ℃/min 的速度来升温,直到温度升高到 70 ℃ 为止,并在此温度下保持 2 min;第 2 步是将温度升高到 230 ℃,升温速度为 13 ℃/min;第 3 步是将温度升高到 280 ℃,升温速度应为 5 ℃/min,当温度达到时在此温度下保持 12 min,并保持进样口和检测器(FID)温度均为 250 ℃;分流比为 50:1,柱流量为 1 mL/min,载气为高纯氮气。质谱条件:高纯氦气, EI 离子源,电离电压 70 eV;离子源温度为 250 ℃,传输线温度为 250 ℃;扫描范围为 35~500 amu;质谱标准库为 Nist 谱图库。

2 结果与讨论

2.1 金花茶叶、花微观结构研究

分别对金花茶的叶、花等部位微观形态进行扫描电镜观察。由图 1-A 可知,金花茶叶的显微形态中,气孔都分布在叶下表皮,每一片小区域都是由中心气孔从圆心向外延伸,像孔雀开屏状,外缘角质膜呈细条纹状,在气孔周围无规则地连接着中心气孔以及包围着周围的气孔。从图 1-B 可以看出,角质膜呈条纹状同时有些许的颗粒感。气孔器由 2 个像月牙的细胞构成,气孔大多数呈椭圆形,表面平滑。从图 1-C、图 1-D 可以看出,花朵的细胞呈长圆形,棱角圆滑,排列联系紧密呈网状,外侧由较粗的条纹状连接,内侧为较细的条纹状无规则的排列。从图 1-E、图 1-F 可以看出,花粉的形态一般呈长球形,少数从不同角度观察可看到近似呈三角形;有明显的孔沟,沟均为细长,有些张开呈梭状,外壁饰纹为穴状饰纹。综合上述的微观结构分析可知,金花茶花、叶、花粉组织结构联系比较紧密,细胞多呈类球状,能承受较大程度上的物理研



A—金花茶叶子电镜照(500×); B—金花茶叶子电镜照(2 500×); C—金花茶花朵电镜照(500×); D—金花茶花朵电镜照(1 000×); E—金花茶花粉电镜照(1 000×); F—金花茶花粉电镜照(3 000×)

图1 金花茶各部位扫描电镜图

磨,且其饰纹结构单一,表面一般较光滑,在一定程度上会削弱外力的作用,因此在萃取活性成分时若仅靠机械研磨来使其内容物溶于提取剂的方法是不够理想的。所以先经过多功能粉碎机研磨后再用超声波萃取,能在一定程度上增加内容物的流出并更易溶于提取剂中。

2.2 金花茶活性成分的 GC-MS 分析

利用上述试验方法对金花茶活性成分进行 GC-MS 分析,其中定性分析是通过人工图谱解析与 Nist 谱图库检索,来确定活性成分的种类。定量分析则是使用面积归一化法,来确定活性成分的含量,得出匹配率最高的化学成分及各成分的相对质量分数。活性成分的提取方法:将金花茶的叶经多功能粉碎机粉碎后,按料液比为 1 g : 3 mL 的比值加入甲醇,为了能充分溶出活性物质需用超声波处理 3 h,超声波的频率设为 80 W,超声后过滤得到甲醇提取液,将甲醇提取液于旋转蒸发仪中蒸发浓缩,最后将试验所提取的浓缩液置于真空干燥箱中干燥 12 h,温度设置为 40 ℃,得到其有效成分的萃取物。金花茶的花朵也用同样的方法处理。

图 2 为在上述条件下得出的金花茶叶的总离子图,共检测出 33 种活性成分,其中可与 Nist 谱库匹配识别的活性物质有 3-甲基戊烷、异戊酸、*N*-甲基吡咯烷酮、邻苯二酚、4-乙烯基-2-甲氧基、苯酚、2,4-二甲氧基苄醇、十五烷酸、4-异丁基苯酚、1,1'-联-2-萘酚、4-甲基儿茶酚、天然维生素 E、虾青素(表 1)。

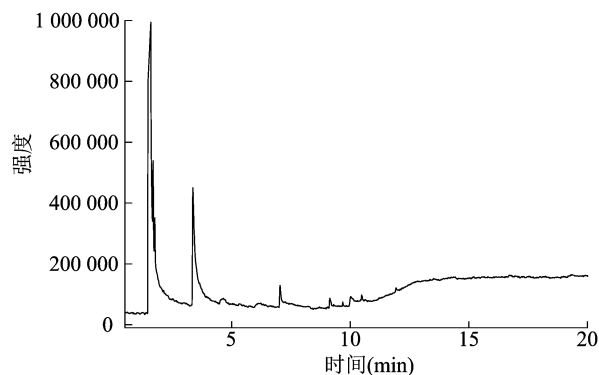


图2 金花茶叶 GC-MS 分析总离子图

图 3 是在上述条件下得出的金花茶花朵的总离子图,共检测出 60 种活性物质,其中可与 Nist 谱库匹配识别的活性物质有糠醇、缩水甘油、甲基咪喃

表 1 采用 GC-MS 技术检出的金花茶叶子活性成分

序号	保留时间 (min)	化合物名称 (CAS 号)	相对质量分数 (%)
1	1.650	3-甲基戊烷(96-14-0)	9.75
2	2.597	异戊酸(503-74-2)	2.36
3	3.426	N-甲基吡咯烷酮(872-50-4)	17.05
4	4.483	邻苯二酚(120-80-9)	6.33
5	5.108	4-甲基儿茶酚(452-86-8)	1.17
6	5.283	4-乙基-2-甲氧基苯酚 (7786-61-0)	1.02
7	8.794	2,4-二甲氧基苄醇(7314-44-5)	1.53
8	9.092	十五烷酸(1002-84-2)	0.35
9	11.784	4-异丁基苯酚(4167-74-2)	0.21
10	11.906	1,1'-联-2-萘酚(602-09-5)	0.16
11	15.077	天然维生素 E(59-02-9)	0.61
12	17.305	虾青素(471-61-7)	0.18

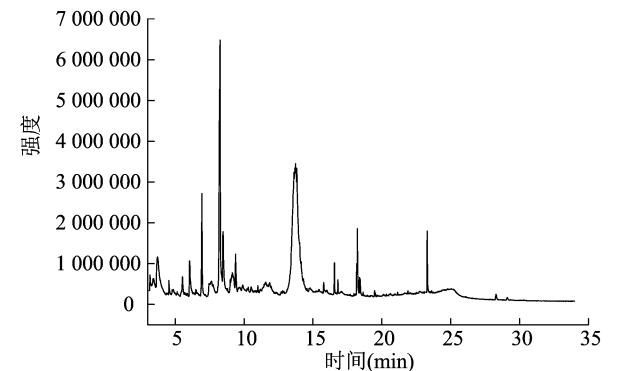


图3 金花茶茶花GC-MS 分析总离子图

醛、苯酚、(S)-(-)-柠檬烯、环丁烷、甲基草甘膦、3-辛炔-1-醇、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮、3-甲基-2,3,4,5-四氢-2,4-呋喃二酮、(S)-(+)-柠草酸、丁酸辛酯、1,6-脱水吡喃葡萄糖、对羟基苯甲酸、月桂酸、十五烷酮、邻苯二甲酸二异丁酯、反式-2-十二烯酸、十二烷二醇、正十五酸、顺式-十八碳烯酸、反油酸乙酯、豆固醇等(表 2)。

3 结论

金花茶的组织结构联系紧密,应先经过多功能粉碎机研磨后再用超声波萃取,能在一定程度上增加内容物的流出并更易溶于提取剂中,有利于后续制粒的操作步骤。在 GC-MS 分析中,金花茶叶子可检测出 33 种活性成分,而花朵可检测出 60 种活性成分,其中包括一些具有较好抗氧化作用的有效成分,如儿茶酚、天然维生素 E 等,有望作为抗氧化制剂的良好原料。

表 2 采用 GC-MS 技术检出的金花茶花朵活性成分

序号	保留时间 (min)	化合物名称 (CAS 号)	相对质量分数 (%)
1	3.179	糠醇(98-0-0)	0.73
2	4.118	缩水甘油(556-52-5)	0.37
3	4.421	甲基呋喃醛(620-02-0)	0.17
4	4.790	苯酚(108-95-2)	0.12
5	5.190	(S)-(-)-柠檬烯(5989-54-8)	0.36
6	5.279	环丁烷(19465-02-2)	0.15
7	6.201	甲基草甘膦(24569-83-3)	0.57
8	6.397	3-辛炔-1-醇(14916-80-4)	0.32
9	6.928	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮 (28564-83-2)	5.85
10	8.304	3-甲基-2,3,4,5-四氢-2,4-呋喃二酮(1192-51-4)	0.14
11	9.857	(S)-(+)-柠草酸(6236-09-5)	0.19
12	10.476	丁酸辛酯(110-39-4)	0.18
13	11.771	1,6-脱水吡喃葡萄糖(498-07-7)	1.88
14	11.877	对羟基苯甲酸(99-96-7)	4.20
15	12.319	月桂酸(143-07-7)	0.55
16	15.347	十五烷酮(502-69-2)	0.45
17	15.640	邻苯二甲酸二异丁酯(84-69-5)	0.53
18	15.944	反式-2-十二烯酸(32466-54-9)	1.40
19	16.183	十二烷二醇(1119-87-5)	0.88
20	16.544	正十五酸(1002-84-2)	1.81
21	18.211	顺式-十八碳烯酸(506-17-2)	2.82
22	18.419	反油酸乙酯(6114-18-7)	0.86
23	28.278	豆固醇(83-47-7)	1.03

参考文献:

[1]胡先啸. 雕果茶属——山茶科一新属[J]. 植物分类学报,1965, 10(1):25-26.

[2]孔桂菊,袁胜涛,孙立. 金花茶药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2016,27(6): 1459-1461.

[3]广西植物研究所. 广西植物杂志[M]. 南宁:广西科学技术出版社,1965.

[4]Xiong Z C, Qi X X, Wei X, et al. Nutrient composition in leaves of cultivated and wild *Camellia nitidissima* [J]. Pakistan Journal of Botany, 2012, 44(2): 635-638.

[5]Qi J, Shi R, Yu J, et al. Chemical constituents from leaves of *camellia nitidissima* and their potential cytotoxicity on SGC7901 cells [J]. Chinese Herbal Medicines, 2016, 8(1): 80-84.

[6]曹芬,樊兰兰. 金花茶研究进展[J]. 中国药业, 2013, 22(4): 95-96.

[7]汪小兰. 几种金花茶花粉的扫描电镜观察[J]. 武汉植物学研究, 1985(2): 131-135, 203-206.

[8]王任翔,胡长华,梁盛业,等. 金花茶组植物叶表皮特征的扫描电镜观察[J]. 广西林业科学, 2002(3): 133-136.