

中亚沙棘 × 中国沙棘杂交F₁代果实的主要酚类物质测试分析

胡建忠^{1*}, 殷丽强², 高岩¹

¹水利部沙棘开发管理中心, 北京

²山合林(北京)水土保持技术有限公司, 北京

收稿日期: 2021年8月11日; 录用日期: 2021年9月22日; 发布日期: 2021年9月30日

摘要

为了探明中亚沙棘与中国沙棘杂交F₁代果实的主要酚类物质, 对位于内蒙古鄂尔多斯的10个优株取样测定了果实的黄酮化合物、多酚和花青素, 结果表明: 双中杂雌沙棘优株鲜全果的6种糖苷和苷元含量, 以异鼠李素3-O-芸香糖苷平均含量最高, 达 $129.75 \pm 51.16 \mu\text{g/g}$, 位列第一; 有3个优株(占30%)果实中未检测出槲皮素来; 10个优株中以“双中杂雌沙棘04号”的黄酮化合物含量最高。双中杂雌沙棘鲜全果所含黄酮化合物含量明显高于蒙中杂雌沙棘和蒙古沙棘。双中杂雌沙棘的鲜籽中所含多酚的平均值最高, 达 $2.60\% \pm 0.30\%$, 为鲜全果含量 $0.74\% \pm 0.14\%$ 的3.5倍、鲜果肉含量 $0.50\% \pm 0.13\%$ 的5.2倍; 鲜全果多酚含量以“双中杂雌沙棘04号”最高。所有10个双中杂雌沙棘优株鲜果肉均不含花青素, 还有3个优株的鲜果肉、鲜籽部位均不含花青素, 其余7个优株的鲜全果总花青素含量平均值为 $0.00334 \pm 0.00139 \text{ mg}/100\text{g}$, 且以“双中杂雌沙棘05号”的鲜全果总花青素含量为最高。双中杂雌沙棘的有关研究, 将为我国沙棘资源建设和开发利用工作起到十分重要的推动作用。

关键词

双中杂雌沙棘, 黄酮, 多酚, 花青素, 分析

Test Analysis of Main Phenolic Substances in F₁ Hybrid Fruits of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*

Jianzhong Hu^{1*}, Liqiang Yin², Yan Gao¹

¹China National Administration Center for Seabuckthorn Development, Beijing

*第一作者。

²M&F (Beijing) Soil and Water Conservation Technique Company Ltd., Beijing

Received: Aug. 11th, 2021; accepted: Sep. 22nd, 2021; published: Sep. 30th, 2021

Abstract

In order to find out the main phenolic substances in the F₁ generation of the hybrid between *H. rhamnoides* ssp. *turkestanica* and *H. r. ssp. sinensis* (hereafter as *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*), 10 superior plants located in Ordos, Inner Mongolia were sampled and determined for testing flavonoids, polyphenols and anthocyanins. The results showed that the average content of isorhamnetin 3-O-rutside was $129.75 \pm 51.16 \mu\text{g/g}$, ranking first, in the contents of six glycosides and aglycones in the whole fresh fruit of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*, and quercetin was not detected in the fresh fruits of 3 superior plants (30%), and “Shuangzhongzacishaji 04” had the highest content of flavonoids among the 10 superior plants. The content of flavonoids in *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis* was significantly higher than that in *H. rhamnoides* ssp. *mongolica-sinensis*. and *H. r. ssp. mongolica*. The average value of polyphenols in the fresh seeds of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis* was the highest, up to $2.60\% \pm 0.30\%$, which was 3.5 times of the total fresh fruit content of $0.74\% \pm 0.14\%$ and 5.2 times of the fresh pulp content of $0.50\% \pm 0.13\%$. The content of polyphenols in total fresh fruit was the highest in “Shuangzhongzacishaji 04”. The fresh pulp of all 10 superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis* did not contain anthocyanins, and the fresh pulps and seeds of three superior plants did not contain anthocyanins. The average content of total anthocyanins in the total fresh fruit of the other 7 superior plants was $0.00334 \pm 0.00139 \text{ mg/100g}$, and the content of total anthocyanins in the total fresh fruit of “Shuangzhongzacishaji 05” was the highest. The research on *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis* will play a very important role in promoting the construction, development and utilization of *Hippophae rhamnoides* resources in China.

Keywords

Hippophae rhamnoides ssp. *turkestanica-sinensis*, Flavones, Polyphenols, Anthocyanin, Analysis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

选择育种、引种与杂交育种是林木育种最为有效的基本手段。在林木改良工作中，杂交育种的作用非常明显，主要体现在揭示遗传变异规律、获得杂种优势这两大方面[1]。目前，杂交育种已成为沙棘遗传改良工作中最为有效的基本手段和主要方法。许多林木新品种就是杂交育成的，如用材树种的杨树许多栽培优良无性系，具有很高经济价值的咖啡(*Coffea* spp.)、橡胶(*Hevea* spp.)、苹果(*Malus* spp.)、梨(*Pyrus* spp.)等。

沙棘属(*Hippophae*)植物亚种间通过人工杂交育种，创造出了一些优良杂种无性系，如“杂雄优 1 号”“杂雌优 1 号”“杂雌优 54 号”等[2]，已经在生产中发挥着十分重要的作用。这些杂交沙棘多系蒙中杂交沙棘，即以蒙古沙棘(*H. rhamnoides* ssp. *mongolica*)作母本、中国沙棘(*H. r. ssp. sinensis*)作父本杂

交而得，而其他沙棘亚种间杂交未见报道。

国内外的研究表明，沙棘果实中含有黄酮类、酚酸类、花青素类等酚类物质，依据成分的不同，具有一定的抗炎、抗氧化、降血糖、抗肿瘤、防辐射、延缓光老化、抗动脉粥样硬化、预防肝损伤、预防血栓形成等生物作用[3]-[8]。目前，欧洲已开发出 10 多种沙棘药物用于临床治疗疾病[9] [10] [11]；我国经食药监局批准销售的含有沙棘的药品有 17 种口服药、1 种外用药及 1 种原料药，对消化系统、呼吸系统、生殖系统及皮肤系统和管脉系统的疾病均有良好的疗效，其中沙棘总黄酮是治疗心脏病(心达康片、心达康胶囊等)和高血压(舒麦、醋柳黄酮片)沙棘原料药的主要成分[12] [13]。近年来，沙棘酚类中的黄酮类成分被广泛用于心血管病的治疗以及抗肿瘤新药的研制[14]，同时，作为保健及功能性食品的添加剂，与银杏黄酮一样成为极具价值的天然活性物质。

正是基于这一考虑，本文对双中杂交沙棘，亦即以中亚沙棘(*H. r. ssp. turkestanica*)作母本、中国沙棘作父本杂交而得 F₁ 代优株，取样测定研究鲜全果所含黄酮、多酚和花青素 3 类主要酚类物质成分，以期推动沙棘杂交工作，发挥更好的生态经济功能，有效助力于全球沙棘杂交育种和开发利用工作。

2. 材料与方法

2.1. 沙棘果实原料

双中杂交沙棘，如前所述，系“中亚沙棘 × 中国沙棘”杂交 F₁ 代，由我国著名沙棘育种学家、中国林业科学研究院研究员黄铨先生在内蒙古磴口通过杂交手段获得，水利部沙棘开发管理中心于 1999 年春季将获赠杂种 F₁ 代实生苗木定植于内蒙古鄂尔多斯东胜九成宫。2014 年秋季调研时已经定植 16 年，双中杂交群体尚保留 51 株。选择其中表现较好的 10 个雌性优株(表 1)取样，测定鲜果(全果、果肉和籽)花青素、多酚和黄酮等主要生化成分。

Table 1. Fresh fruits information of superior plants of *Hippophae rhamnoides ssp. turkestanica-sinensis*

表 1. 双中杂交沙棘鲜果取样 10 个优株的基本性状

优株编号	树高(cm)	冠幅(cm)	地径(cm)	果色	果形系数	百果重(g)	果实株产(kg)
双中杂雌沙棘 01 号	226	238	9.5	橘红色	0.96	14.02	2.80
双中杂雌沙棘 04 号	330	265	13.6	黄色	0.96	13.76	6.46
双中杂雌沙棘 05 号	300	288	10.2	黄色	0.93	11.98	7.02
双中杂雌沙棘 08 号	305	275	9.9	橘红色	0.92	18.26	9.36
双中杂雌沙棘 09 号	405	387	16.5	黄色	0.95	19.20	27.67
双中杂雌沙棘 15 号	418	257	13.8	黄色	0.89	12.14	12.32
双中杂雌沙棘 36 号	342	282	14.2	红色	0.90	15.70	9.01
双中杂雌沙棘 38 号	360	263	10.2	黄色	0.79	24.50	12.23
双中杂雌沙棘 39 号	330	286	11.5	红色	0.95	8.70	7.32
双中杂雌沙棘 50 号	330	281	14.4	黄色	0.76	15.74	14.28
优株平均	335	282	12.4	-	0.90	15.40	10.85
群体平均	320	256	12.1	-	0.90	13.20	6.50

2.2. 试剂

沙棘果肉、籽总花青素：石油醚、乙醇、氯化钾、乙酸钠(均为分析纯，北京化学试剂公司)。

沙棘果肉、籽多酚：乙醇、盐酸、碳酸钠(均为分析纯)，福林酚试液、没食子酸标准品(上海安谱化学试剂公司)。

沙棘果肉、籽黄酮化合物：石油醚、乙醇、乙酸(均为分析纯，北京化学试剂公司)，乙腈(色谱纯)，Fisher 试剂，槲皮素、异鼠李素、山奈素(均为 sigma 标准品)。

2.3. 测试仪器设备

沙棘果肉、籽黄酮化合物：培养皿；镊子；万能高速粉碎机 DE-100g；鼓风干燥箱；恒温水浴箱；布氏漏斗；三角烧瓶；二极管阵列高效液相色谱 - 电喷雾离子阱 - 飞行时间串联多级质谱仪 (HPLC-DAD-ESI/IT-TOF/MSn) (日本岛津公司)。

沙棘果肉、籽多酚：万能高速粉碎机 DE-100g；鼓风干燥箱；超声波提取器；布氏漏斗；三角烧瓶；分光光度计；电子天平。

沙棘果肉、籽总花青素：培养皿；镊子；万能高速粉碎机 DE-100g；鼓风干燥箱；恒温水浴箱；布氏漏斗；三角烧瓶；UV2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

2.4. 测试方法

2.4.1. 沙棘果肉、籽黄酮化合物

称取 2.0 g 左右后的沙棘果肉(或籽)于三角烧瓶中，准确称重，充分粉碎后，加入 80%甲醇(约 15 mL)后，在 55℃超声(频率 45 kHz)提取 1 h；过滤，作为待测液。待测液在 HPLC-DAD/Q-TOF/MS/MS 检测之前需用 0.25 μm 微孔滤膜进行过滤。

使用岛津公司(Shimadzu) HPLC-DAD-ESI/IT-TOF/MSⁿ，配 Zorbax SB C18 柱(250 mm × 4.6 mm i.d × 5 μm)定性检测。在自动模式下，所有的离子先聚集再快速打入离子阱中用多级质谱分析，所有的离子碎片最终进入飞行时间质谱中计算分析。

HPLC 测试条件：

色谱柱：Zorbax SB C18 柱，250 mm × 4.6 mm i.d × 5 μm；

波长扫描 210 nm~500 nm，检测波长 360 nm；

流动相 A：乙腈；

流动相 B：0.4%乙酸水溶液(v/v)；

流速：1 mL/min；

恒温柱箱温度：30℃；进样体积：5 μL；

梯度洗脱程序：0~10 min，A：12%~15%；10~30 min，A：15%~20%；30~50 min，A：20%~40%；50~60 min，A：40%~12%；

优化过的质谱分析条件如下：负离子模式；电压：-3.5 kV；CDL 温度：200℃；加热部件：200℃；雾化气(N₂)：1.5 L/min；干燥气(N₂)压：0.1 MPa。一级质谱离子扫描范围：m/z 200~1500；二级质谱离子扫描范围：m/z 100~1500；三级质谱离子扫描范围：m/z 50~1500。使用自动模式搜集数据，氩气作为碰撞气体，二级和三级质谱能量设置均为 50%。

取异鼠李素标准品 1 mg 溶解后，定容至 10 mL，制成浓度为 0.1 mg/mL 的标准品溶液，作为外标定量物。通过改变进样量绘制标准曲线。定量检测的 HPLC 测试条件与定性检测一致。

2.4.2. 沙棘果肉、籽多酚

利用测试含籽率剩余的沙棘果肉作为原料，准确称取 2.0 g 左右(精确到 0.001 g)的沙棘果肉于三角烧瓶中，加入 80%甲醇，在 70℃~80℃超声提取 1 h；过滤，并将滤液 50℃减压旋转蒸发浓缩至 10 mL，作

为待测液。

称取 2.0 g 左右(精确到 0.001 g)脱脂后的沙棘籽于三角烧瓶中, 记录准确质量, 加入 80%甲醇, 在 70℃~80℃超声提取 1 h; 过滤, 并将滤液 50℃减压旋转蒸发浓缩至 10 mL, 作为待测液。

称取 0.0302 g 纯度为 90.8%的没食子酸(188.14), 于 25 mL 容量瓶中定容, 即为 1000 μg/mL (现配)。用移液管分别取 0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mL 的没食子酸储备液于 25 mL 容量瓶中, 分别用水定容至刻度, 摇匀, 浓度分别为 10、20、30、40、50 μg/mL, 即为工作液。分别取工作液 0.5 mL 于刻度试管内, 每个试管加入 2.5 mL 的 10% (体积)的福林酚试剂, 摇匀。反应 6 min 内, 加入 2.0 mL 7.5% (质量浓度)的 Na₂CO₃ 溶液, 摇匀。室温暗处下放置 60 min。用比色皿在 765 nm 波长条件下测量吸光度。绘制吸光度与浓度的线性曲线, 得到定量用标准曲线(图 1)。

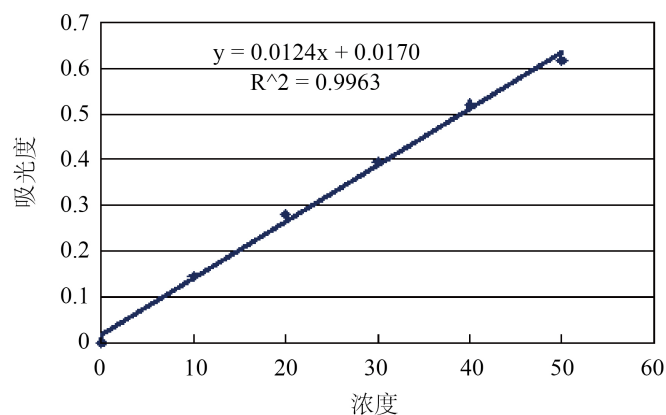


Figure 1. Standard curve of gallic acid

图 1. 没食子酸标准曲线

取待测液(果肉或籽) 1 mL, 其余操作同标准曲线。

计算公式如下:

$$\text{多酚含量}\% = \frac{A \times V \times d}{SLOPE_{Std} \times 10^6 \times m_1} \times 100$$

式中:

A ——样品测试液吸光度;

V ——样品提取液体积;

d ——稀释因子(通常为 1 mL 稀释成 100 mL, 则其稀释因子为 100);

$SLOPE_{Std}$ ——没食子酸标准曲线的斜率;

m_1 ——样品质量, g。

2.4.3. 沙棘果肉、籽花青素

称取 2.0 g 沙棘果肉(或籽)于三角烧瓶中, 加入 80%甲醇, 在 70℃~80℃超声提取 1 h; 过滤, 并将滤液 50℃减压旋转蒸发浓缩至 10 mL, 作为待测液。

量取 0.5 mL 待测液分别与 4.5 mL 0.2M 的 pH = 1 的氯化钾缓冲液及 pH = 4.5 乙酸钠缓冲液按比例混合, 使样品的吸光值在线性范围内(<1.2 AU), 分别在 515 nm 和 700 nm 波长下测量吸光度, 以纯水为空白比色。以花青素-3-糖配基为标准计算, 结果以 mg 花青素/100g 沙棘果肉鲜重计算。所有样品称重并行分析 3 组。花青素含量用下式计算:

$$\text{沙棘果肉或籽总花青素}/(\text{mg}/100\text{g}) = \Delta A \times DV \times VF \times 100 \times M \times 1000/\varepsilon W$$

$$\Delta A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 1.0 - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 4.5;$$

式中:

DV——稀释倍数;

VF——沙棘果肉(或籽)提取液体积, L;

M——花青素 3-糖配基的相对分子质量 449.2;

ε ——花青素 3-糖配基的摩尔吸光率 26,900;

W——沙棘果肉(或籽)鲜重, g。

在此特别说明, 本文所测所有数据均为湿基含量。

3. 结果与分析

3.1. 黄酮类化合物

黄酮类化合物是沙棘果实中最重要的酚类成分之一, 沙棘黄酮常用于制剂中质量控制指标和理化鉴别的标准参照。黄酮类化合物指的是含有酚羟基的两个苯环(A-与 B-环)通过中间的 3-碳原子链接而形成的一类植物次生代谢产物, 广泛存在于草本植物中, 在水果和蔬菜中含量丰富。沙棘果肉中的黄酮类化合物主要由异鼠李素、山奈酚、槲皮素、杨梅素等 4 种苷元及其糖苷类化合物组成, 构成黄酮苷类的糖基主要有葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖及槐糖等, 多以 3-O-糖苷形式出现, 部分为 7-O-糖苷连接, 沙棘中的黄烷醇类包括儿茶素及表儿茶素等。表 2 所列就是对双中杂雌沙棘优株鲜全果 6 种糖苷和苷元含量的测定结果。

Table 2. Flavone contents in fresh total fruits of superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*

表 2. 双中杂雌沙棘优株鲜全果黄酮化合物含量对比

优株编号	黄酮化合物含量($\mu\text{g}/\text{g}$)					
	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷	槲皮素 3-O-芸香糖苷	槲皮素 3-O-葡萄糖苷	异鼠李素 3-O-芸香糖苷	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷	槲皮素
双中杂雌沙棘 01 号	71.80	19.19	8.15	129.56	21.11	ND
双中杂雌沙棘 04 号	80.09	70.95	27.76	337.84	44.66	0.85
双中杂雌沙棘 05 号	27.39	25.17	9.82	84.14	16.77	3.11
双中杂雌沙棘 08 号	53.15	37.29	14.96	125.51	29.73	2.93
双中杂雌沙棘 09 号	95.39	22.48	12.24	151.12	42.52	2.67
双中杂雌沙棘 15 号	32.82	28.36	6.46	74.61	9.30	2.59
双中杂雌沙棘 36 号	44.29	21.78	9.67	90.57	20.09	0.77
双中杂雌沙棘 38 号	37.10	20.95	6.38	60.33	9.34	ND
双中杂雌沙棘 39 号	82.88	27.61	20.09	156.09	59.49	ND
双中杂雌沙棘 50 号	23.57	39.35	11.25	87.70	22.47	1.04
平均	54.85 \pm 22.15	31.31 \pm 10.73	12.68 \pm 4.96	129.75 \pm 51.16	27.55 \pm 13.24	1.99 \pm 0.95

10 个双中杂雌沙棘优株鲜全果的 6 种糖苷和苷元含量(表 2), 相互之间相差十分悬殊。异鼠李素 3-O-

芸香糖苷平均含量达 $129.75 \pm 51.16 \mu\text{g/g}$ ，位列第一；异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷含量为 $54.85 \pm 22.15 \mu\text{g/g}$ ，位列第二；槲皮素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷、槲皮素 3-O-葡萄糖苷的含量分别为 $31.31 \pm 10.73 \mu\text{g/g}$ 、 $27.55 \pm 13.24 \mu\text{g/g}$ 、 $12.68 \pm 4.96 \mu\text{g/g}$ ，分居第三、四、五位；槲皮素含量最少，仅 $1.99 \pm 0.95 \mu\text{g/g}$ ，居第六位，且 3 个优株果实中未检测出槲皮素来。

上面是在鲜全果 6 种糖苷和苷元间的对比。再来看 10 个双中杂雌沙棘优株鲜全果的 6 种糖苷和苷元情况，“双中杂雌沙棘 04 号”的黄酮化合物含量最高，“双中杂雌沙棘 38 号”含量最低，位居第二至第九的依次为“双中杂雌沙棘 39 号”“双中杂雌沙棘 09 号”“双中杂雌沙棘 08 号”“双中杂雌沙棘 01 号”“双中杂雌沙棘 36 号”“双中杂雌沙棘 50 号”“双中杂雌沙棘 05 号”“双中杂雌沙棘 15 号”。

表 3、表 4 所列分别为鲜果肉、鲜籽的 6 种糖苷和苷元含量。鲜果肉 6 种糖苷和苷元含量，按含量从高到低的排序与全果完全相同，其中有 5 个优株槲皮素竟然没有检测到。而鲜籽的 6 种糖苷和苷元含量，按含量从高到低依次排序为：异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷、槲皮素 3-O-芸香糖苷、槲皮素、异鼠李素 3-O-芸香糖苷、槲皮素 3-O-葡萄糖苷，与全果、果肉的排序变动较大。

Table 3. Flavone contents in fresh pulps of superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*
表 3. 双中杂雌沙棘优株鲜果肉黄酮类化合物含量对比

优株编号	黄酮化合物含量($\mu\text{g/g}$)					
	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷	槲皮素 3-O-芸香糖苷	槲皮素 3-O-葡萄糖苷	异鼠李素 3-O-芸香糖苷	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷	槲皮素
双中杂雌沙棘 01 号	65.91	21.32	8.39	136.85	23.07	ND
双中杂雌沙棘 04 号	73.95	73.69	29.26	359.80	48.25	ND
双中杂雌沙棘 05 号	30.06	14.18	10.36	89.03	17.56	0.74
双中杂雌沙棘 08 号	54.75	29.12	15.80	130.66	31.12	1.8
双中杂雌沙棘 09 号	93.72	24.81	13.00	160.32	46.41	1.48
双中杂雌沙棘 15 号	25.45	30.66	6.67	77.45	9.72	0.65
双中杂雌沙棘 36 号	39.11	23.89	10.26	94.53	21.70	0.87
双中杂雌沙棘 38 号	27.84	21.90	6.30	59.60	9.65	ND
双中杂雌沙棘 39 号	77.78	30.68	21.61	167.15	64.23	ND
双中杂雌沙棘 50 号	18.13	42.30	11.72	91.26	24.03	ND
平均	50.67 ± 22.55	31.26 ± 10.70	13.34 ± 5.33	136.67 ± 55.49	29.57 ± 14.34	1.11 ± 0.43

注：ND 表示未测出(下同)。

鲜果肉 6 种糖苷和苷元含量(表 3)，在 10 个优株间的排序与全果完全相同，在此不在赘述。而鲜籽的 6 种糖苷和苷元含量(表 4)，在 10 个优株间的排序与鲜全果和鲜果肉有所区别，按从大到小依次排序为：“双中杂雌沙棘 04 号”“双中杂雌沙棘 08 号”“双中杂雌沙棘 39 号”“双中杂雌沙棘 09 号”“双中杂雌沙棘 01 号”“双中杂雌沙棘 38 号”“双中杂雌沙棘 05 号”“双中杂雌沙棘 15 号”“双中杂雌沙棘 50 号”“双中杂雌沙棘 36 号”，其中有 4 种的鲜籽未检测到槲皮素。

Table 4. Flavone contents in fresh seeds of superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*
表 4. 双中杂雌沙棘优株鲜籽黄酮类化合物含量对比

优株编号	黄酮化合物含量(μg/g)					
	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷	槲皮素 3-O-芸香糖苷	槲皮素 3-O-葡萄糖苷	异鼠李素 3-O-芸香糖苷	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷	槲皮素
双中杂雌沙棘 01 号	112.19	4.64	6.51	79.67	7.67	ND
双中杂雌沙棘 04 号	131.61	47.91	15.20	153.55	14.58	8.00
双中杂雌沙棘 05 号	12.41	86.89	6.76	56.68	12.33	16.43
双中杂雌沙棘 08 号	37.38	117.72	6.76	74.81	16.02	13.99
双中杂雌沙棘 09 号	107.78	5.17	6.61	82.78	13.63	11.52
双中杂雌沙棘 15 号	102.06	6.82	4.42	47.98	5.39	20.82
双中杂雌沙棘 36 号	84.53	5.46	5.03	59.87	7.63	ND
双中杂雌沙棘 38 号	117.06	12.67	7.09	66.61	6.66	ND
双中杂雌沙棘 39 号	122.13	4.03	8.38	70.94	22.96	ND
双中杂雌沙棘 50 号	76.65	10.59	6.73	52.99	7.30	11.22
平均	90.38 ± 30.11	30.19 ± 32.39	7.35 ± 1.78	74.59 ± 18.49	11.42 ± 4.49	13.66 ± 3.42

3.2. 多酚

植物多酚广泛分布在水果、蔬菜、谷物中。植物之所以产生多酚，其作用是帮助植物防御紫外线辐射和抵御病毒侵害。植物多酚包括酚酸类、黄酮类、芪类和木酚素。一般酚酸占饮食中多酚的 1/3，在所有的植物中都存在，在酸味的水果中含量更高，以阿魏酸、咖啡酸为主。茶叶中的酚酸类成分含量较少，包括没食子酸、绿原酸、咖啡酸、茶没食子素等[15]。

小浆果中一般含有大量的植物酚酸类物质，如没食子酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸、咖啡酸、香草酸、丁香酸、m-/o-/p-香豆酸、藜芦酸、羟基咖啡酸、二甲氧基肉桂酸等。沙棘果实中的酚酸类主要由羟基苯甲酸和羟基肉桂酸的衍生物组成，包括绿原酸、没食子酸、原儿茶酸、对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、肉桂酸、p-香豆酸、阿魏酸及咖啡酸等，其中结合态酚酸类是以与酯类及糖苷类络合的形式存在。

表 5 所列即为双中杂雌沙棘优株在鲜全果、鲜果肉、鲜籽中所含的多酚数值。

Table 5. Polyphenol contents in different parts of fresh total fruits of superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*

表 5. 双中杂雌沙棘优株鲜果不同部位的多酚含量对比

优株编号	多酚含量(%)		
	全果	果肉	籽
双中杂雌沙棘 01 号	0.85	0.61	2.53
双中杂雌沙棘 04 号	1.00	0.73	3.26
双中杂雌沙棘 05 号	0.91	0.55	2.98
双中杂雌沙棘 08 号	0.84	0.65	2.68
双中杂雌沙棘 09 号	0.72	0.55	1.98

Continued

双中杂雌沙棘 15 号	0.43	0.23	2.31
双中杂雌沙棘 36 号	0.64	0.37	2.81
双中杂雌沙棘 38 号	0.81	0.59	2.70
双中杂雌沙棘 39 号	0.75	0.50	2.65
双中杂雌沙棘 50 号	0.45	0.29	2.06
平均	0.74 ± 0.14	0.50 ± 0.13	2.60 ± 0.30

鲜籽中所含多酚的平均值最高, 达 2.60% ± 0.30%, 为鲜全果含量 0.74% ± 0.14% 的 3.5 倍、鲜果肉含量 0.50% ± 0.13% 的 5.2 倍。

鲜全果多酚含量以“双中杂雌沙棘 04 号”最高, 达 1.00%, 为含量最低的“双中杂雌沙棘 15 号”0.43% 的 2.3 倍。鲜果肉多酚含量也以“双中杂雌沙棘 04 号”最高, 达 0.73%, 为含量最低的“双中杂雌沙棘 15 号”0.23% 的 3.2 倍。鲜籽中多酚含量同样也以“双中杂雌沙棘 04 号”最高, 达 3.26%, 为含量最低的“双中杂雌沙棘 09 号”1.98% 的 1.6 倍。

3.3. 花青素

Kallio 等[16]采用 HPLC-ESI-MS 的方法检测到沙棘果实中所有的花青素都是 B 族, 且主成分为表没食子儿茶素没食子酸酯。表 6 的测定结果表明, 10 个双中杂雌沙棘优株中, 所有优株鲜果肉均不含花青素, 还有 3 个优株“双中杂雌沙棘 09 号”“双中杂雌沙棘 15 号”“双中杂雌沙棘 50 号”的鲜果各部位(全果、果肉、籽)均不含花青素。

Table 6. Total anthocyanin contents in different parts of fresh total fruits of superior plants of *Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica-sinensis*

表 6. 双中杂雌沙棘优株鲜果不同部位的总花青素含量对比

优株编号	总花青素含量(mg/100g)		
	全果	果肉	籽
双中杂雌沙棘 01 号	0.004	ND	0.032
双中杂雌沙棘 04 号	0.002	ND	0.018
双中杂雌沙棘 05 号	0.005	ND	0.035
双中杂雌沙棘 08 号	0.004	ND	0.043
双中杂雌沙棘 09 号	ND	ND	ND
双中杂雌沙棘 15 号	ND	ND	ND
双中杂雌沙棘 36 号	0.001	ND	0.012
双中杂雌沙棘 38 号	0.005	ND	0.048
双中杂雌沙棘 39 号	0.002	ND	0.016
双中杂雌沙棘 50 号	ND	ND	ND
平均	0.003 ± 0.001	ND	0.029 ± 0.010

7 个双中杂雌沙棘优株的鲜全果总花青素含量平均值为 0.00334 ± 0.00139 mg/100g, 且以“双中杂雌

沙棘 05 号”的鲜全果总花青素含量为最高,达 0.00522 mg/100g;鲜籽总花青素含量平均值为 0.029 ± 0.010 mg/100g,但以“双中杂雌沙棘 38 号”的鲜籽总花青素含量为最高,达 0.048 mg/100g。

4. 讨论

黄酮类化合物是植物次生代谢中的一种重要产物,广泛分布于植物体的各个部位,大多以黄酮糖苷或游离的黄酮苷元形式存在于维管束植物果实中[17]。黄酮类化合物结构特征为含有两个或多个芳香环,且每个芳香环至少含有一个芳香羟基,并与一个杂环吡喃相连,在其基本骨架的结构基础上,其取代基有着各种差异,导致了理化性质的差异[18]。根据分子结构可将黄酮类化合物分为以下几类:黄酮类、黄酮醇类、二氢黄酮类、二氢黄酮醇类、异黄酮类、二氢异黄酮类、查尔酮类、橙酮类及花色素类等。研究发现,植物黄酮如芦丁、槲皮素、水仙苷、异鼠李素及烟花苷等具有抗氧化和清除自由基的能力[19]。黄酮类化合物包含 C6-C3-C6 的骨架结构,且很多都以 2-苯基色原酮这一结构作为基本母核,具有广泛的药理活性,如抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗炎等作用[20],是大多数中药材的有效活性成分[21]。

双中杂雌沙棘与蒙中杂雌沙棘、蒙古沙棘(大果沙棘)3类沙棘果实测得的糖苷和苷元有异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷、槲皮素 3-O-芸香糖苷、槲皮素 3-O-葡萄糖苷、异鼠李素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷和槲皮素等(表 7)。6 个糖苷和苷元平均值对比结果表明,双中杂雌沙棘的异鼠李素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷、槲皮素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷的平均含量明显高于其他 2 类沙棘,槲皮素 3-O-葡萄糖苷平均含量介于蒙古沙棘与蒙中杂雌沙棘之间,只有槲皮素平均含量明显小于其他 2 类。总体来看,双中杂雌沙棘所含黄酮类化合物含量明显高于蒙中杂雌沙棘和蒙古沙棘。

Table 7. Polyphenol contents in fresh total fruits of 3 types' *Hippophae*

表 7. 3 类沙棘鲜全果所含黄酮类化合物含量对比

沙棘类别	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷	槲皮素 3-O-芸香糖苷	槲皮素 3-O-葡萄糖苷	异鼠李素 3-O-芸香糖苷	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷	槲皮素
蒙古沙棘	8.12 ± 3.05	4.09 ± 5.64	8.39 ± 4.57	8.96 ± 13.78	13.48 ± 6.46	10.74 ± 5.93
蒙中杂雌沙棘	10.04 ± 1.60	4.67 ± 2.08	17.27 ± 7.51	11.82 ± 6.24	19.03 ± 7.12	14.66 ± 9.58
双中杂雌沙棘	54.85 ± 22.15	31.31 ± 10.73	12.68 ± 4.96	129.75 ± 51.16	27.55 ± 13.24	1.99 ± 0.95

花青素是糖基化的多酚类化合物,又称花青素苷。花青素广泛存在于植物叶、花和果实等器官中,是植物呈现五颜六色的基础。花青素的基本结构是 3,5,7-羟基-2-苯基苯并吡喃,根据结构不同可分为天竺葵素、矢车菊素、芍药花素、飞燕草素、矮牵牛素和锦葵素 6 大类[22],6 类花青素的羟基与不同的糖类结合进而产生不同种类的花色苷。花青素能提高植物抗性,帮助植物抵御多种生物与非生物胁迫。花青素可以吸收多余的可见光和帮助植物抵抗紫外线,并清除氧自由基保护植物不受强光灼伤,是植物天然的光保护剂[23][24]。对人类来说,花青素具有抗氧化能力,在防癌变、抗衰老、预防心血管疾病以及降血脂等方面有重要医疗价值[25][26]。基于花青素的应用前景和研究潜力,剖析花青素的生物合成途径具有经济学和科学两个范畴的重要意义。

花青素和原花青素是不同的,首先表现在化学结构不同。花青素与原花青素是两种完全不同的物质,原花青素属多酚类物质,花青素属类黄酮类物质。原花青素也叫前花青素,在酸性介质中加热均可产生花青素,故将这类多酚类物质命名为原花青素。其次表现在颜色不同。花青素是一种水溶性色素,是构

成花瓣和果实颜色的主要色素之一，可以随着细胞液的酸碱改变颜色。细胞液呈酸性则偏红，细胞液呈碱性则偏蓝。原花青素是无色的，是由不同数量的儿茶素或表儿茶素结合而成。三是存在区域不同。原花青素广泛存在于植物的皮、壳、籽中，比如葡萄籽、苹果皮、花生皮、蔓越莓中，而花青素广泛存在于如蓝莓、樱桃、草莓、葡萄、黑醋栗、山桑子等的花瓣中，其中以紫红色的矢车菊色素、橘红色的天竺葵色素及蓝紫色的飞燕草色素等 3 种为自然界常见。

可惜的是，目前对沙棘花青素的研究很少，多为对原花青素的研究。Rösch 等[27]系统研究了沙棘果渣中的原花色素类，提出了低聚物中以原飞燕草素为主，原花青素的含量相对较少，平均聚合度在 6 到 9 之间，证实含有原花青素 B3 和 B4，纯化后的多聚体降解产物经节硫醇降解分析后发现其平均聚合度为 12.2。Grey 等[7]报道了不同提取溶剂得到的沙棘中原花青素的含量差异，其中乙醇-水(2:1)提取溶剂可将得率提高到 6.8 mg/g (DW)。山西省林科院的有关研究结果[28]指出，中国沙棘果实不同部位都含原花青素，沙棘种壳含量最高(7.93%)，其次为沙棘种子(6.22%)，最低为皮渣(0.75%)。用 CO₂ 超临界萃取沙棘油后的沙棘籽渣为原料提取原花青素，既可得到高品质沙棘油，又能提高原花青素的萃取率，保持原花青素天然活性。

沙棘果实中还含有少量的马台松脂醇和开环异落叶松脂酚等木脂素类成分，该类化合物经肠道内微生物的作用可转换为肠内脂和肠二醇等雌激素类物质，从而调控雌激素依赖性乳腺癌细胞的生长[29]。

5. 结论

10 个双中杂雌沙棘优株鲜全果的 6 种糖苷和苷元含量，相互之间相差十分悬殊。异鼠李素 3-O-芸香糖苷平均含量达 $129.75 \pm 51.16 \mu\text{g/g}$ ，位列第一；槲皮素含量最少，仅 $1.99 \pm 0.95 \mu\text{g/g}$ ，居第六位，且 3 个优株(占 30%)果实中未检测出槲皮素。优株中以“双中杂雌沙棘 04 号”鲜果的黄酮化合物含量最高，“双中杂雌沙棘 38 号”含量最低。

双中杂雌沙棘鲜果的异鼠李素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷-7-O-鼠李糖苷、槲皮素 3-O-芸香糖苷、异鼠李素 3-O-葡萄糖苷的平均含量明显高于其他 2 类沙棘，槲皮素 3-O-葡萄糖苷平均含量介于蒙古沙棘与蒙中杂雌沙棘之间，只有槲皮素平均含量明显小于其他 2 类。总体来看，双中杂雌沙棘鲜果所含黄酮化合物含量明显高于蒙中杂雌沙棘和蒙古沙棘(亦即大果沙棘)。

双中杂雌沙棘的鲜籽中所含多酚的平均值最高，达 2.60%，为鲜全果含量 $0.74\% \pm 0.14\%$ 的 3.5 倍、鲜果肉含量 $0.50\% \pm 0.13\%$ 的 5.2 倍。鲜全果多酚含量以“双中杂雌沙棘 04 号”最高，达 1.00%，为含量最低的“双中杂雌沙棘 15 号”0.43% 的 2.3 倍。鲜籽中多酚含量也以“双中杂雌沙棘 04 号”最高，达 3.26%，为含量最低的“双中杂雌沙棘 09 号”1.98% 的 1.6 倍。

所有 10 个双中杂雌沙棘优株鲜果肉均不含花青素，还有 3 个优株“双中杂雌沙棘 09 号”“双中杂雌沙棘 15 号”“双中杂雌沙棘 50 号”的鲜果各部位(全果、果肉、籽)均不含花青素，其余 7 个优株的鲜全果总花青素含量平均值为 $0.00334 \pm 0.00139 \text{ mg/100g}$ ，且以“双中杂雌沙棘 05 号”的鲜全果总花青素含量为最高，达 0.00522 mg/100g ；鲜籽总花青素含量平均值为 $0.029 \pm 0.010 \text{ mg/100g}$ ，但以“双中杂雌沙棘 38 号”的鲜籽总花青素含量为最高，达 0.048 mg/100g 。

双中杂雌沙棘果小、刺多是其劣势所在，但与蒙中杂雌沙棘相比，有较抗旱、抗卷叶病、果实产量高且晚熟等优点，也正是基于这 3 个方面的优异性状，才促使我们开展了双中杂雌沙棘果实的有关测试分析。从黄酮类化合物含量数值这一个方面来看，双中杂雌沙棘较蒙中杂雌沙棘和引进大果沙棘具有明显的含量较高的优势，这第 4 个优异性状，无疑是开展双中杂雌沙棘研究开发和示范种植的更加优越的条件，利用好了，将为我国沙棘种植地区沙棘资源建设和开发利用工作起到十分重要的推动作用。

基金项目

水利部财政项目“水土保持业务”(126216223000200001)。

参考文献

- [1] 胡建忠, 卢顺光. 沙棘杂种 F₁ 代无性系区域试验示范[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2020: 19-30.
- [2] 胡建忠. 沙棘工业原料林资源配置与开发利用[M]. 北京: 中国环境科学出版集团, 2019: 55-92.
- [3] 崔米米, 武海丽, 李汉卿, 等. 沙棘源多酚的提取及其抗肿瘤活性测定[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2020, 43(3): 621-627.
- [4] 郭瑞雪. 沙棘酚类物质生物活性、生物利用度及其体内外抑制乳腺癌细胞增殖的机理研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [5] Xu, Y.-J., Kaur, M., Dhillon, R.S., *et al.* (2011) Health Benefits of Sea Buckthorn for the Prevention of Cardiovascular Diseases. *Journal of Functional Foods*, **3**, 2-12. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.01.001>
- [6] Eccleston, Y.B., Tahvonene, R., *et al.* (2002) Effects of an Antioxidant-Rich Juice (Sea Buckthorn) on Risk Factors for Coronary Heart Disease in Humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 346-354. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00179-1)
- [7] Grey, C., Widén, C., Adlercreutz, P., *et al.* (2010) Antiproliferative Effects of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Extracts on Human Colon and Liver Cancer Cell Lines. *Food Chemistry*, **120**, 1004-1010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.039>
- [8] Rösch, D. (2003) Structure-Antioxidant Efficiency Relationships of Phenolic Compounds and Their Contribution to the Antioxidant Activity of Sea Buckthorn Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 4233-4229. <https://doi.org/10.1021/jf0300339>
- [9] Bal, L.M., Meda, V., Naik, S.N., *et al.* (2011) Sea Buckthorn Berries: A Potential Source of Valuable Nutrients for Nutraceuticals and Cosmeceuticals. *Food Research International*, **44**, 1718-1727. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.002>
- [10] Suryakumar, G. and Gupta, A. (2011) Medicinal and Therapeutic Potential of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, **138**, 268-278. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024>
- [11] Wang, Y., Nie, F., Ouyang, J., *et al.* (2014) Inhibitory Effects of Sea Buckthorn Procyanidins on Fatty Acid Synthase and MDA-MB-231 Cells. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, **35**, 9563-9569. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2233-1>
- [12] 王宏昊, 孙欣, 花圣卓, 等. 我国沙棘药用历史记载及药品开发现状[J]. 国际沙棘研究与开发, 2012, 10(4): 25-28.
- [13] Guo, R., Guo, X., Hu, X., *et al.* (2017) Fabrication and Optimization of Self-Microemulsions to Improve the Oral Bioavailability of Total Flavones of *Hippophaë rhamnoides* L. *Journal of Food Science*, **82**, 2901-2909. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13944>
- [14] Kanayama, Y., Kato, K., Stobdan, T., *et al.* (2012) Research Progress on the Medicinal and Nutritional Properties of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*): A Review. *Journal of Pomology & Horticultural Science*, **87**, 203-210. <https://doi.org/10.1080/14620316.2012.11512853>
- [15] 王蕾. 水果中的多酚和茶多酚是同一种东西吗[J]. 包含科学, 2021(6): 16.
- [16] Kallio, H., Yang, W., Liu, P., *et al.* (2014) Proanthocyanidins in Wild Seabuckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) Berries Analyzed by Reversed-Phase, Normal-Phase, and Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography with UV and MS Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62**, 7721-7729. <https://doi.org/10.1021/jf502056f>
- [17] 唐毓, 李丽, 周平和, 等. 天然植物中黄酮类化合物的研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2016(5): 45-50.
- [18] 徐赫, 李荣华, 夏岩石, 等. 黄酮类化合物提取、分离纯化方法研究现状及展望[J]. 应用化工, 2021, 50(6): 1677-1682.
- [19] Niu, Q., Gao, Y. and Liu, P. (2019) Optimization of Microwave-Assisted Extraction, Antioxidant Capacity, and Characterization of Total Flavonoids from the Leaves of *Alpinia oxyphylla* Miq. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, **50**, 1-9. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1663535>
- [20] 李萌茹, 周玉枝, 杜冠华, 等. 中药黄酮类化合物抗衰老作用及其机制研究进展[J]. 药学学报, 2019, 54(8): 1382-1391.
- [21] 张晓萌, 王圆圆, 王洪晶, 等. 中药材黄酮类化合物的研究进展[J]. 广东化工, 2020, 47(24): 55-56.

-
- [22] Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., *et al.* (2016) Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytotherapy Research*, **30**, 1265-1286. <https://doi.org/10.1002/ptr.5642>
- [23] Li, X., He, Y.M., Xie, C.M., *et al.* (2018) Effects of UV-B Radiation on the Infectivity of *Magnaporthe oryzae* and Rice Disease-Resistant Physiology in Yuanyang Terraces. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **17**, 8-17. <https://doi.org/10.1039/C7PP00139H>
- [24] 金海英. 沙棘原花青素提取单因素实验研究[J]. 沙棘, 2005, 18(4): 29-31.
- [25] Hatier, J.B., Michael, C.J. and Kevin, G.S. (2013) The Functional Significance of Black-Pigmented Leaves: Photosynthesis, Photoprotection and Productivity in *Ophiopogon planiscapus* "Nigrescens". *PLoS ONE*, **8**, e67850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067850>
- [26] 金海英. 沙棘籽原花青素提取物抗氧化作用研究[J]. 沙棘, 2005, 18(1): 35-37.
- [27] Rösch, D., Mügge, C., Fogliano, V., *et al.* (2004) Antioxidant Oligomeric Proanthocyanidins from Sea Buckthorn Pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 6712-6718. <https://doi.org/10.1021/jf040241g>
- [28] 张素华. 沙棘及其提取物中原花青素含量的分析测定[J]. 沙棘, 2008, 21(1): 16-18.
- [29] Kurzer, M.S. and Xu, X. (1997) Dietary Phytoestrogens. *Annual Review of Nutrition*, **17**, 353-381. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.17.1.353>