

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2020.04.015

金花茶组植物花朵内多酚组分含量分析

姜丽娜¹, 李纪元^{1*}, 范正琪^{1*}, 童 冉¹, 莫润宏¹, 李志辉², 蒋昌杰²

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 2. 南宁市金花茶公园, 广西 南宁 530022)

摘要: [目的] 研究金花茶组植物花朵及不同花器官中多酚组分的组成和含量, 为多酚组分在金花茶植物分类中的应用提供参考。[方法] 利用 HPLC 方法测定金花茶组 22 种植物全开期花朵的花瓣、雄蕊、萼片 3 类器官中 9 种多酚组分含量, 并利用聚类分析方法解析其与金花茶组植物分类的关系。[结果] 在所测的 9 种多酚组分中, GCG、ECG、CG 在全部样品中均检测到, 而 GA、GC、EGC、C、EC、EGCG 在不等数量的样品中未被检测到。多酚含量最高的组分为 EC, 其次是 EGC、GCG 和 ECG, 剩余 5 种组分含量很低, 前 4 种组分是花朵多酚总量的主要成分。在 3 类器官中, 多酚总量及 EGC、C、EC、EGCG、GCG、ECG 6 种组分含量的排序为: 萼片>雄蕊>花瓣; CG 组分含量的排序为: 花瓣>雄蕊>萼片; GA 和 GC 组分含量的排序为: 雄蕊>萼片>花瓣。聚类分析发现, 雄蕊多酚组分聚类结果与各分类系统的相似率最高, 达 80.00%~90.00%, 萼片多酚分类结果相似率为 75.00%~88.89%, 花瓣多酚分类结果相似率为 58.33%~81.82%。[结论] 金花茶花朵中多酚组分含量最高的为 EC, 主要多酚组分为 EC、EGC、GCG 和 ECG, 在 3 类器官中多酚含量的排序为: 萼片>雄蕊>花瓣。雄蕊多酚组分的聚类结果可以作为金花茶组植物系统分类的有效补充。

关键词: 金花茶; 花; 多酚; 组分含量; 植物分类

中图分类号: S718.43

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2020)04-0117-10

植物多酚为植物体内具有多元酚结构的次生代谢物, 是一种天然有机抗氧化剂, 可清除自由基, 具有较高的营养和保健价值, 目前广泛应用于抗氧化、抗衰老、提高人体免疫力等方面, 同时还具有一定的医疗作用, 能预防心血管病、抗炎、抗癌等^[1-3]。前人对绿茶^[4]、红茶^[5]、黑茶^[6]、花茶^[7]等茶叶中的多酚含量、组分、功能等有较详细的研究。

金花茶组 (Sect. *Chrysantha* H. T. Chang) 植物属山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia* L.), 为常绿灌木或小乔木, 分布于广西、贵州、云南及越南中部和北部。金花茶组植物与茶树 (*C. sinensis* (L.) O. Ktze.) 为同科同属植物^[8], 其各器官中均含有大量的多酚、黄酮组分^[9-10]。金花茶组植物发现较晚, 相关研究较少, 仅有少量对其叶片多酚^[11-12]

及花朵类黄酮的研究^[13-14], 关于其花朵多酚组分与含量的研究尚未见报道。

叶创兴等^[15]、梁盛业^[16]、张宏达等^[8]、闵天禄^[17]及 Wu 等^[18]先后从表观形态学角度研究了金花茶组植物的系统分类。分子标记技术也应用到金花茶组植物亲缘关系的研究中^[19-21]; 但目前仍有新的金花茶物种被发现或引进^[22], 关于金花茶的分类仍存在诸多分歧, 因此, 需要更多的佐证来解析其分类系统。利用化学标记进行植物分类的研究较多, Li 等^[23]利用 25 种黄酮组分作为化学标记研究了山茶属红茶茶组 (Sect. *Camellia* (L.) Dyer in Hook.) 植物的演化关系, Fan 等^[24]基于芳香类成分对山茶属连蕊茶组 (Sect. *Theopsis* Coh. St.) 22 个物种进行了分类研究; Li 等基于多酚组分研究了茶树的

收稿日期: 2019-11-12 修回日期: 2020-01-17

基金项目: 国家政府间国际科技创新合作重点专项 (2016YFE0126100); 中国林科院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2017ZF001)

* 通讯作者: 李纪元. E-mail: jiyuan_li@126.com 范正琪. fzzq_76@126.com

品种分类与起源^[25]及茶树杂交后代与父母本间的亲缘关系^[26]。花作为金花茶重要的生殖、分类器官,其多酚组分与含量及其与植物分类的相关性具有重要的研究价值。

本研究利用高效液相色谱(HPLC)方法,对金花茶组植物花朵不同器官的主要多酚组分含量进行测定分析,揭示金花茶组植物花朵中的多酚组成及其物种间的差异,进而利用多酚组分含量对金花茶组植物进行分类,探析多酚组分在金花茶植物分类中应用的可行性。

1 材料与amp;方法

1.1 试材及取样

2018年1、3、9、11月份,分别在广西南宁市金花茶公园(108°20'53" E, 22°49'11" N, 海拔75 m)国家级金花茶种质资源库内,采集金花茶组22个物种全开期的花朵,快速将各花器官分离,分类包装,液氮速冻后,干冰运回实验室,−80℃保存备用。

采样物种:中东金花茶(*C. achrysantha* Chang et S. Y. Liang)、薄叶金花茶(*C. chrysanthoides* Chang)、崇左金花茶(*C. chuangtsoensis* S. Y. Liang et L. D. Huang)、显脉金花茶(*C. euphlebica* Merr. Ex Sealy)、箱田金花茶(*C. hakodae* Ninh)、凹脉金花茶(*C. impressinervis* Chang et S. Y. Liang)、柠檬黄金花茶(*C. limonia* C. F. Liang et Su)、陇瑞金花茶(*C. longruiensis* S. Y. Liang et X. J. Dong)、龙州金花茶(*C. lungzhouensis* Luo)、小花金花茶(*C. micrantha* S. Y. Liang et Y. C. Zhong)、小果金花茶(*C. microcarpa* Chang)、多瓣金花茶(*C. multipetala* S. Y. Liang et C. Z. Deng)、金花茶(*C. nitidissima* Chi)、小瓣金花茶(*C. parvipetala* J. Y. Liang et Su)、潘氏金花茶(*C. phanii* Hakoda et Ninh)、平果金花茶(*C. pinggaomensis* Fang)、毛籽金花茶(*C. ptilosperma* S. Y. Lang et Q. D. Chen)、毛瓣金花茶(*C. pubipetala* Y. Wan et S. Z. Huang)、顶生金花茶(*C. terminalis* S. Y. Liang)、天峨金花茶(*C. tianeensis* S. Y. Liang et Y. T. Luo)、东兴金花茶(*C. tunghinensis* Chang)、武鸣金花茶(*C. wumingensis* S. Y. Liang et C. R. Fu)。试验共采集金花茶组植物22个花瓣样品、20个雄蕊样品、

14个萼片样品。

标准样品:没食子酸(GA)、没食子儿茶素(GC)、表没食子儿茶素(EGC)、儿茶素(C)、表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和儿茶素没食子酸酯(CG)9种标准样品均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取 称取样品0.6 g,液氮快速研磨后,倒入25 mL试管中,加入提取液(甲醇:水:甲酸:三氟乙酸=70:27:2:1)5 mL,用石蜡膜封口。浸提24 h,中间摇动几次,浸提均匀。提取完成后,用脱脂棉过滤,去掉残渣。用有机微孔过滤膜(0.22 μm)过滤后,将滤液装入进样瓶中,进行上机分析,提取液可暂时避光存放于−20℃冰箱。

1.2.2 样品检测 采用美国安捷伦1260系列高效液相色谱仪(Agilent Technologies 1260 Infinity),色谱柱为Waters SunFire C18色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。洗脱流动相为:A相:2%的甲酸水溶液;B相:纯乙腈。洗脱程序:0.0~9.0 min, 98%降至90.7%的B相;9.0~15.0 min, 90.7%的B相;15.0~20.5 min, 90.7%降至85%的B相;20.5~29.5 min, 85%降至75%的B相;29.5~30.0 min, 75%升至98%的B相;30.0~34.0 min, 98%的B相。流速为1.0 mL·min^{−1},进样量为10 μL,柱温为30℃,检测波长278 nm。

1.3 数据分析

应用Microsoft Office Excel 2007进行数据统计及作图,使用SPSS-Statistics 19.0进行单因素方差分析、聚类分析等。

2 结果与分析

2.1 花瓣内多酚组分及含量分析

金花茶组22个物种花瓣样品9种多酚组分的HPLC色谱图(图1)显示:在本实验检测环境下,所测9种组分全部可以有效分离,没食子酸(GA)、没食子儿茶素(GC)、表没食子儿茶素(EGC)、儿茶素(C)、表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、儿茶素没食子酸酯(CG)可依次鉴定

出。9种组分在线性范围内线性良好,相关系数均大于0.999 00(表1)。

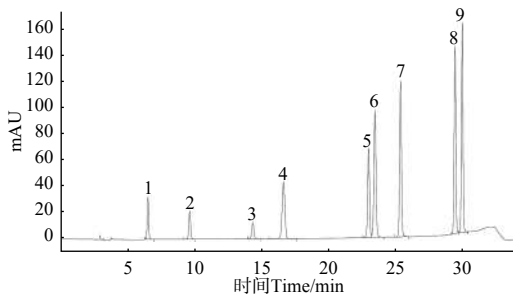


图1 9种多酚组分HPLC色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of 9 polyphenol standard samples

花瓣样品的9种组分中(表2),GCG、ECG、CG在每个物种均检测到,EC只在箱田金花茶的花瓣中未检测到,EGC、C分别有8个和9个物种未检测到,EGCG有10个物种未检测到,GA仅在6个物种中检测到,GC仅在崇左金花茶中检测到。花瓣中多酚平均含量分别为:EC($0.814 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>EGC($0.155 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GCG($0.142 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>CG($0.122 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>ECG($0.112 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>C($0.087 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>EGCG($0.023 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GA($0.012 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GC($0.007 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。多酚总量中,凹脉金花茶花瓣含量最高为 $3.069 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,平果金花茶与东兴金花茶含量相近且最低,分别为 0.546 、 $0.535 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

表1 9种多酚组分的回归方程、相关系数

Table 1 Regression equation, correlation coefficient of 9 polyphenol standard samples

编号 Number	多酚物质 Phenolic compounds	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient (R^2)
1	没食子酸 Gallis(GA)	$y = 3.041 72x - 0.033 008$	0.999 99
2	没食子儿茶素 Gallo catechin (GC)	$y = 2.438 47x + 0.349 927$	0.999 95
3	表没食子儿茶素 Epigallo catechin (EGC)	$y = 1.672 58x + 0.067 983$	0.999 99
4	儿茶素 Catechin (C)	$y = 7.788 81x - 1.848 48$	0.999 82
5	表儿茶素 Epicatechin (EC)	$y = 8.274 20x - 1.023 47$	0.999 99
6	表没食子儿茶素没食子酸酯 Epigallo catechin gallate (EGCG)	$y = 13.279 94x - 6.832 13$	0.999 94
7	没食子儿茶素没食子酸酯 Gallo catechin gallate (GCG)	$y = 13.806 34x - 9.141 65$	0.999 92
8	表儿茶素没食子酸酯 Epicatechin gallate (ECG)	$y = 15.250 54x + 7.443 55$	0.999 57
9	儿茶素没食子酸酯 Catechin gallate (CG)	$y = 16.689 06x + 3.132 21$	0.999 35

所测22个物种中,19个物种的花瓣中EC含量为9种多酚组分中含量最高的,其中,18个物种的花瓣中EC含量占多酚总量的比例超过50%(图2),仅柠檬黄金花茶花瓣中的ECG含量最高,武鸣金花茶花瓣中的C含量最高,箱田金花茶花瓣中的GCG含量最高。

2.2 雄蕊内多酚组分及含量分析

所测20个物种雄蕊样品的9种组分中(表2),EGC、EC、GCG、ECG、CG5种组分在每个物种的雄蕊中均检测到,C在4个物种的雄蕊中未检测到,EGCG在3个物种的雄蕊中未检测到;GA仅在7个物种的雄蕊中检测到,GC仅在小果金花茶、薄叶金花茶和小金花茶3个物种的雄蕊中检测到。雄蕊中多酚平均含量分别为:EC($1.250 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>EGC($0.470 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GCG($0.191 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>ECG($0.168 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>C($0.096 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>CG(0.075

$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GC($0.054 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>GA($0.035 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)>EGCG($0.030 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。多酚总量中,多瓣金花茶雄蕊中最高为 $6.932 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,柠檬黄金花茶雄蕊中含量最低为 $0.644 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

所测20个物种中,18个物种的雄蕊中EC含量为9种多酚组分中含量最高的,其中,14个物种的雄蕊中EC含量占多酚总量的比例超过50%(图2),仅平果金花茶的雄蕊中CG含量最高,武鸣金花茶的雄蕊中C含量最高。

2.3 萼片内多酚组分及含量分析

所测14个物种萼片样品中,多酚组分种类较多,其中,GA在其中8个物种的萼片中检测到,GC可在11个物种的萼片中检测到(表2);C在3个物种的萼片中未检测到,EGCG在平果金花茶的萼片中未检测到,剩余的5种组分在所测14个物种的萼片中均检测到。萼片中多酚平均含量分别

表2 金花茶组植物花朵中多酚组分及含量

Table 2 Contents of polyphenols in flowers of yellow *Camellia*mg·g⁻¹

物种 Species	EC			EGC			GCG			ECG			C		
	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal
中东金花茶 <i>C. achrysantha</i>	1.189	2.866	-	0.282	1.095	-	0.181	0.473	-	0.072	0.350	-	0.093	0.169	-
薄叶金花茶 <i>C. chrysanthoides</i>	0.650	0.640	-	NULL	0.280	-	0.021	0.054	-	0.120	0.104	-	NULL	0.052	-
崇左金花茶 <i>C. chuangtsoensis</i>	0.764	1.086	0.693	0.141	0.378	0.085	0.226	0.188	0.171	0.054	0.163	0.274	0.062	0.032	NULL
显脉金花茶 <i>C. euphlebia</i>	0.736	1.013	1.426	0.059	0.064	0.337	0.080	0.162	0.134	0.074	0.231	0.274	0.100	0.024	0.219
箱田金花茶 <i>C. hakodae</i>	NULL	1.195	-	0.149	0.521	-	0.686	0.208	-	0.010	0.110	-	NULL	0.085	-
凹脉金花茶 <i>C. impressinervis</i>	1.580	1.475	3.050	0.460	0.706	1.144	0.243	0.299	0.539	0.101	0.133	0.333	0.065	0.032	0.068
柠檬黄金花茶 <i>C. limonia</i>	0.282	0.255	1.215	0.060	0.057	0.280	0.037	0.011	0.133	0.409	0.038	0.101	NULL	NULL	0.023
陇瑞金花茶 <i>C. longruiensis</i>	1.076	1.875	1.928	0.137	0.821	0.927	0.194	0.380	0.423	0.073	0.184	0.174	NULL	0.033	0.038
龙州金花茶 <i>C. lungzhouensis</i>	0.488	0.778	-	NULL	0.224	-	0.069	0.154	-	0.082	0.095	-	NULL	NULL	-
小花金花茶 <i>C. micrantha</i>	0.558	0.666	-	NULL	0.168	-	0.046	0.035	-	0.207	0.144	-	NULL	NULL	-
小果金花茶 <i>C. microcarpa</i>	0.574	0.789	1.389	NULL	0.469	0.318	0.067	0.118	0.128	0.145	0.166	0.847	NULL	0.100	0.028
多瓣金花茶 <i>C. multipetala</i>	1.279	3.659	-	0.371	1.707	-	0.319	0.950	-	0.095	0.420	-	0.052	0.086	-
金花茶 <i>C. nitidissima</i>	0.736	1.287	1.771	NULL	0.551	0.482	0.061	0.051	0.166	0.061	0.236	0.211	0.040	0.072	0.088
小瓣金花茶 <i>C. parvipetala</i>	0.701	0.713	-	NULL	0.189	-	0.060	0.088	-	0.067	0.217	-	NULL	0.027	-
潘氏金花茶 <i>C. phanii</i>	1.516	-	-	0.409	-	-	0.167	-	-	0.105	-	-	0.023	-	-
平果金花茶 <i>C. pinggaensis</i>	0.340	0.253	0.677	NULL	0.115	0.177	0.039	0.014	0.084	0.124	0.094	0.083	NULL	NULL	NULL
毛籽金花茶 <i>C. pilosperma</i>	1.421	1.529	1.450	0.230	0.373	0.138	0.168	0.228	0.287	0.113	0.126	0.143	0.040	0.015	0.023
毛瓣金花茶 <i>C. pubipetala</i>	1.561	-	2.261	0.258	-	1.097	0.232	-	0.443	0.095	-	0.211	0.043	-	0.044
顶生金花茶 <i>C. terminalis</i>	1.376	2.972	1.635	0.098	0.531	0.527	0.095	0.203	0.213	0.121	0.237	0.157	0.036	0.124	0.023
天峨金花茶 <i>C. tianeensis</i>	0.648	1.149	1.228	NULL	0.485	0.430	0.056	0.121	0.157	0.211	0.105	0.111	0.086	0.189	0.051
东兴金花茶 <i>C. tunghinensis</i>	0.227	0.671	0.127	0.114	0.115	0.202	0.022	0.071	0.037	0.051	0.097	0.238	0.019	0.052	NULL
武鸣金花茶 <i>C. wumingensis</i>	0.201	0.167	0.332	0.641	0.558	0.874	0.052	0.020	0.040	0.072	0.103	0.146	1.255	0.826	2.612
平均 average	0.814	1.252	1.370	0.155	0.470	0.501	0.142	0.191	0.211	0.112	0.168	0.236	0.087	0.096	0.230
总平均 Total average		1.145			0.376			0.181			0.172			0.138	

物种 Species	CG			EGCG			GC			GA			多酚总量 Total		
	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal
中东金花茶 <i>C. achrysantha</i>	0.029	0.105	-	0.014	0.017	-	NULL	NULL	-	0.028	NULL	-	1.888	5.075	-
薄叶金花茶 <i>C. chrysanthoides</i>	0.270	0.036	-	0.225	0.030	-	NULL	0.162	-	NULL	0.061	-	1.286	1.419	-
崇左金花茶 <i>C. chuangtsoensis</i>	0.095	0.035	0.016	0.013	0.016	0.014	0.146	NULL	0.052	NULL	NULL	NULL	1.500	1.898	1.305

续表2

物种 Species	CG			EGCG			GC			GA			多酚总量 Total		
	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal	花瓣 Petal	雄蕊 Stamen	萼片 Sepal
显脉金花茶 <i>C. euphlebia</i>	0.284	0.061	0.030	NULL	0.016	0.031	NULL	NULL	0.032	0.056	0.168	0.038	1.389	1.739	2.521
箱田金花茶 <i>C. hakodae</i>	0.090	0.016	-	0.072	0.012	-	NULL	NULL	-	NULL	NULL	-	1.006	2.147	-
凹脉金花茶 <i>C. impressinervis</i>	0.611	0.113	0.158	0.008	0.014	0.016	NULL	NULL	0.069	NULL	NULL	NULL	3.069	2.772	5.377
柠檬黄金花茶 <i>C. limonia</i>	0.017	0.252	0.014	NULL	NULL	0.013	NULL	NULL	NULL	0.035	0.031	0.034	0.839	0.644	1.813
陇瑞金花茶 <i>C. longruiensis</i>	0.028	0.074	0.043	0.023	0.063	0.090	NULL	NULL	0.032	0.041	NULL	NULL	1.572	3.430	3.655
龙州金花茶 <i>C. lungzhouensis</i>	0.023	0.061	-	NULL	0.025	-	NULL	NULL	-	NULL	NULL	-	0.662	1.337	-
小花金花茶 <i>C. micrantha</i>	0.111	0.066	-	NULL	0.051	-	NULL	0.421	-	NULL	0.092	-	0.922	1.643	-
小果金花茶 <i>C. microcarpa</i>	0.219	0.021	0.012	NULL	0.014	0.079	NULL	0.501	0.036	NULL	0.248	0.032	1.005	2.426	2.869
多瓣金花茶 <i>C. multipetala</i>	0.024	0.082	-	NULL	0.028	-	NULL	NULL	-	NULL	NULL	-	2.140	6.932	-
金花茶 <i>C. nitidissima</i>	0.046	0.058	0.036	0.066	0.168	0.505	NULL	NULL	0.037	NULL	0.058	0.039	1.0	2.481	3.335
小瓣金花茶 <i>C. parvipetala</i>	0.098	0.024	-	NULL	0.046	-	NULL	NULL	-	NULL	0.034	-	0.927	1.338	-
潘氏金花茶 <i>C. phanii</i>	0.053	-	-	0.012	-	-	NULL	-	-	NULL	-	-	2.284	-	-
平果金花茶 <i>C. pinggaensis</i>	0.007	0.260	0.009	NULL	NULL	NULL	NULL	NULL	NULL	0.036	NULL	NULL	0.546	0.736	1.030
毛籽金花茶 <i>C. pilosperma</i>	0.039	0.105	0.090	0.024	NULL	0.087	NULL	NULL	0.026	NULL	NULL	NULL	2.035	2.376	2.244
毛瓣金花茶 <i>C. pubipetala</i>	0.223	-	0.052	0.010	-	0.021	NULL	-	0.100	0.058	-	0.071	2.479	-	4.300
顶生金花茶 <i>C. terminalis</i>	0.014	0.065	0.041	NULL	0.019	0.014	NULL	NULL	0.017	NULL	NULL	0.082	1.740	4.151	2.709
天峨金花茶 <i>C. tianeensis</i>	0.126	0.036	0.045	0.012	0.033	0.014	NULL	NULL	NULL	NULL	NULL	0.052	1.139	2.118	2.088
东兴金花茶 <i>C. tunghinensis</i>	0.102	0.028	0.014	NULL	0.019	0.077	NULL	NULL	0.068	NULL	NULL	NULL	0.535	1.053	0.763
武鸣金花茶 <i>C. wumingensis</i>	0.177	0.006	0.014	0.026	0.019	0.072	NULL	NULL	0.044	NULL	NULL	0.054	2.424	1.699	4.188
平均值 average	0.122	0.075	0.041	0.023	0.030	0.074	0.007	0.054	0.037	0.012	0.035	0.029	1.473	2.371	2.728
总平均 Total average		0.079			0.042			0.032			0.025			2.191	

注: -, 样品不足, 未检测, 未计数值; NULL: 此实验条件下未检测到, 按0计算。

Note: -, Insufficient samples, untested and uncounted; NULL, undetected under this experimental condition, counted as 0.

为: $EC (1.370 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > EGC (0.501 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > ECG (0.236 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > C (0.230 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > GCG (0.211 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > EGCG (0.074 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > CG (0.041 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > GC (0.037 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}) > GA (0.029 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1})$ 。多酚总量中, 凹脉金花茶萼片中含量最高 $5.377 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 东兴金花茶萼片中含量最低为 $0.763 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

所测的 14 个物种中, 12 个物种的萼片中 EC 含量为 9 种多酚组分中含量最高, 其中, 11 个物种萼片中的 EC 含量占多酚总量的比例超过

50% (图 2), 仅有东兴金花茶萼片中 ECG 含量最高, 武鸣金花茶萼片中 C 含量最高。

3 类器官中, 花瓣中的 CG 含量最高, 雄蕊中次之, 萼片中最低; 雄蕊中 GA、GC 含量最高, 萼片中次之, 花瓣中最低; 萼片中 EGC、C、EC、EGCG、GCG、ECG 6 种组分及多酚总量均最高, 雄蕊中次之, 花瓣中最低。总体而言, 萼片中的多酚组分含量高于雄蕊和花瓣 (图 3)。

2.4 花朵各器官多酚组分含量聚类分析

采用 Ward 法, 分别依据花瓣、雄蕊、萼片

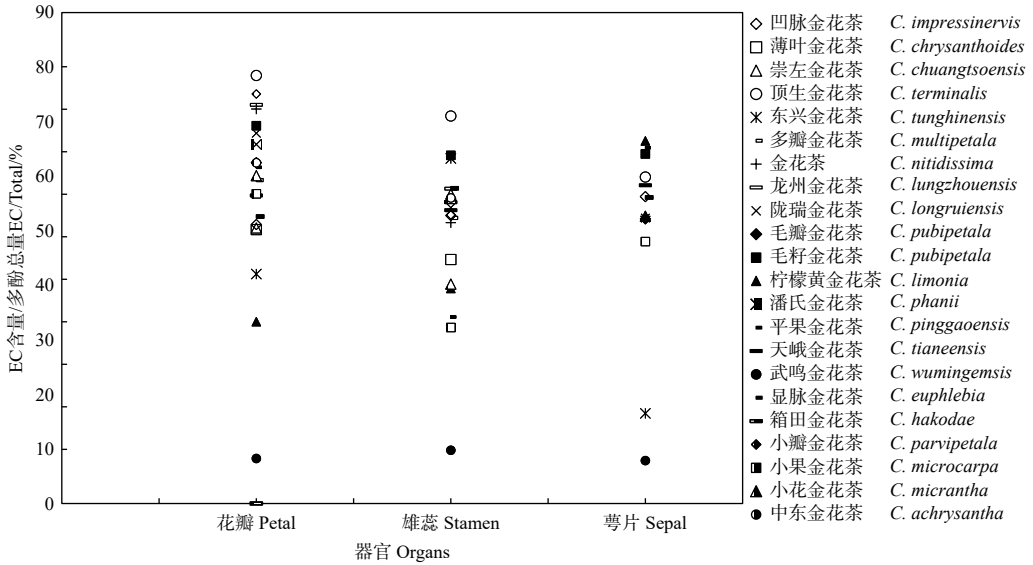


图2 金花茶组植物3类器官中EC含量占多酚总量比例

Fig. 2 EC/total in 3 kinds of organs in yellow *Camellia*

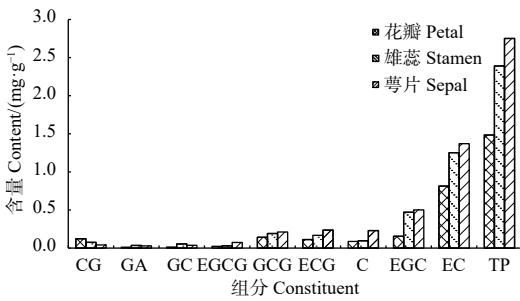


图3 金花茶组植物3类器官中多酚组分含量

Fig. 3 Contents of polyphenols in 3 kinds of organs from yellow *Camellia*

3类器官的多酚组分含量,对金花茶组植物进行了聚类分析。22个花瓣样品的多酚组分含量聚类为2大类,4小类:小果金花茶、小花金花茶、金花茶、小瓣金花茶、天峨金花茶、薄叶金花茶、龙州金花茶、东兴金花茶、柠檬黄金花茶、平果金花茶、显脉金花茶11个物种为I-A,崇左金花茶、箱田金花茶为I-B;陇瑞金花茶、中东金花茶、毛瓣金花茶、顶生金花茶、毛籽金花茶、多瓣金花茶、潘氏金花茶、凹脉金花茶8个物种为II-A,武鸣金花茶单独为II-B(图4)。

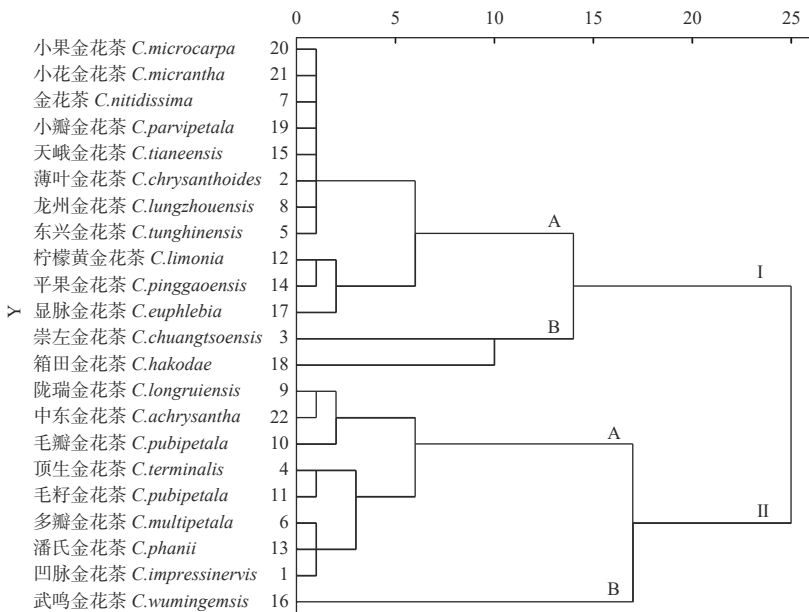


图4 金花茶组22个物种的花瓣样品聚类

Fig. 4 The dendrogram of 22 petal samples in yellow *Camellia*

20个雄蕊样品的多酚组分含量聚类为3大类, 4小类: 柠檬黄金花茶、平果金花茶、东兴金花茶、龙州金花茶、小瓣金花茶、薄叶金花茶、显脉金花茶、武鸣金花茶8个物种为I-A; 顶生金花茶、中东金花茶、凹脉金花茶、陇瑞金花茶、崇左金花茶、箱田金花茶、毛籽金花茶、天峨金花茶、金花茶9个物种为I-B; 小果金花茶、小花金花茶2个物种为II; 多瓣金花茶单独为III(图5)。

14个萼片样品的多酚组分含量聚类为2大

类, 3小类: 显脉金花茶、小果金花茶、金花茶、柠檬黄金花茶、天峨金花茶、顶生金花茶、崇左金花茶、东兴金花茶、毛籽金花茶、平果金花茶10个物种为I-A; 武鸣金花茶为I-B; 凹脉金花茶、陇瑞金花茶、毛瓣金花茶3个物种为II(图6)。

将以上3类器官的多酚组分聚类分析结果与金花茶形态分类系统结果进行比较(表3)发现: 雄蕊多酚分类结果与分类系统中重复的物种数量较多, 均在10个以上, 二者分类相同的物种数量也

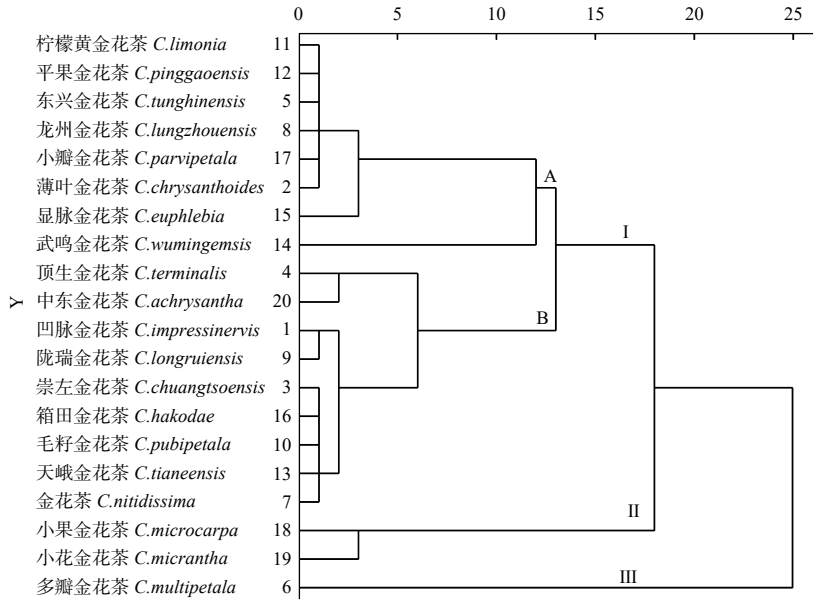


图5 金花茶组20个物种的雄蕊样品聚类

Fig. 5 The dendrogram of 20 stamen samples in yellow *Camellia*

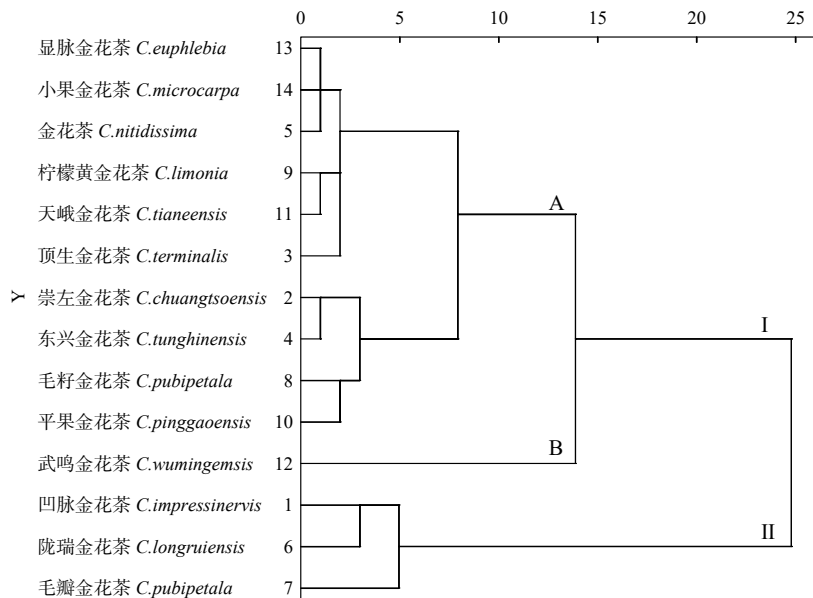


图6 金花茶组14个物种的萼片样品聚类

Fig. 6 The dendrogram of 14 sepal samples in yellow *Camellia*

表3 多酚组分分类结果与形态分类系统比较

Table 3 Comparison of classification results of polyphenols with morphological classification methods

分类 Classification approach	雄蕊Stamen		花瓣 Petal		萼片 Sepals	
	物种数量 Species number	相似率 Similarity rate/%	物种数量 Species number	相似率 Similarity rate/%	物种数量 Species number	相似率 Similarity rate/%
张宏达, 任善湘 Zhang H D, Ren S X ^[8]	12/14	85.71	10/14	71.43	7/9	77.78
叶创兴, 许兆然 Ye Z X, Xu Z R ^[15]	9/10	90.00	9/11	81.82	8/9	88.89
梁盛业 Liang S Y ^[16]	12/15	80.00	12/16	75.00	9/11	81.82
闵天禄 Min T L ^[17]	10/12	83.33	7/12	58.33	6/8	75.00
Wu Z Y, Raven P H, Hong D Y, <i>et al</i> ^[18]	8/10	80.00	8/10	80.00	7/8	87.50

注: b/a: a-本分类结果和分类系统中重复的物种数量, b-分类相同的物种数量。
Note: b/a: a-number of detected species present in the classification system; b-number of species in the same category.

较高(8个以上),与各形态学分类系统的相似率高达80.00%至90.00%,故此结果可以作为分类系统一个很好的补充。花瓣多酚分类结果与分类系统中重复的物种数量也较多(10个以上),但二者分类相同的物种数量较低,相似率仅58.33%至81.82%。萼片多酚分类结果与分类系统中重复的物种数量较低(仅8~11个),虽然与部分分类系统相似率较高(相似率75.00%至88.89%),但其对分类系统的补充作用不稳定,说服力不强。

3 讨论

对金花茶组22个物种花朵所测的9种多酚组分中,EC含量最高,多数物种EC含量占多酚总量的比例超过50%,其次是EGC、GCG、ECG,多酚总量也主要与这4种组分呈极显著正相关;GA、GC则在多个样品中未检测到,且总体含量极低。此结果与茶叶的差别较大,茶树中EGCG的含量最高^[26],在黑茶中GA与EGCG的含量很高^[6]。另外,武鸣金花茶花朵的多酚总量也较高,但其组分组成与其它物种差别较大,EC含量占多酚总量比例较小,含量最高的组分为C。3类器官中,除GCG、ECG、CG在各物种的3类器官中均检测到,其它组分在多个物种的不同器官中未检测到,多数组分(EGC、C、EC、EGCG、GCG、ECG)及多酚总量,均为萼片中的含量最高,依次大于雄蕊、花瓣中的含量。雄蕊中GA、GC的含量依次大于萼片、花瓣中的含量,CG含量在花瓣中最高,依次大于雄蕊、萼片中的含量。

所测22个物种中,凹脉金花茶花朵的3类器官多酚总量最高为11.218 mg·g⁻¹,平果金花茶与东兴金花茶含量相近且最低,分别为2.312、2.351

mg·g⁻¹。苏建睦等^[27]曾利用分光光度计测定3种金花茶的多酚总量,其结果比本研究略高,本实验中未测定雌蕊的多酚含量。陈红娟等^[28]曾利用超高效液相色谱-电喷雾离子化-飞行时间质谱法(UPLC-ESI-Triple TOF MS)鉴定金花茶花中的多酚组分,共鉴定96种组分,除本试验测定的9种主要组分外,其它组分也占一定比例,故本实验所测含量略低。

目前,关于金花茶植物分类的争议仍较大,闵天禄^[17]和Wu等^[18]的分类系统中认为,金花茶不应单独成组,应归并到古茶组中,但叶创兴等^[15]、梁盛业^[16]、张宏达等^[8]认为,应单独设立金花茶组。关于模式种的选择也不确定,闵天禄^[17]和Wu等^[18]选用*C. petelotiiwei* (Merr.) Sealy为模式种,叶创兴等^[15]、张宏达等^[8]选择*C. nitidissima* Chi为模式种,而梁盛业^[16]则选择*C. chrysantha* (Hu) Tuyama为模式种。各分类系统关注的分类依据也不尽相同,导致金花茶分类系统仍不统一。本研究对比了几个形态分类系统与多酚组分含量的聚类结果,其中,花瓣多酚组分的聚类结果更倾向叶创兴等^[15]的分类系统,所测11个物种中9个物种与其分类相同。雄蕊多酚组分的聚类结果与各分类系统的相似率均较高,其中与叶创兴等^[15]的分类系统相似率最高,所测10个物种中9个物种均相同。萼片多酚组分的分类结果也与叶创兴等^[15]的分类系统相似率最高,所测9个物种中8个物种均与叶创兴等^[15]的分类系统相同。因此,本研究更支持叶创兴等^[15]的分类系统。

本研究3类器官多酚组分的聚类结果中,雄蕊聚类结果与各形态学分类结果相似率均较高,达到80.00%~90.00%,且雄蕊多酚组分的聚类分析

与各分类系统重复的物种数量较多。故雄蕊多酚组分的聚类结果可以较完整地反映形态学分类结果,是对金花茶表型分类的有效补充。

4 结论

金花茶花朵花瓣、雄蕊、萼片3类器官所测的9种多酚组分中,EC含量最高,其次为EGC、GCG和ECG,这4种组分是多酚总量的主要成分。在3类器官中,多酚总量及EGC、C、EC、EGCG、GCG、ECG6种组分含量的排序为:萼片>雄蕊>花瓣。雄蕊多酚组分的聚类结果可以较完整地反映形态学分类结果,是对金花茶表型分类的有效补充。

参考文献:

- [1] Haghjoo B, Lee L H, Habiba U, *et al.* The synergistic effects of green tea polyphenols and antibiotics against potential pathogens[J]. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2013, 4(11): 959-967.
- [2] 姜楠,王蒙,韦迪哲,等.植物多酚类物质研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 439-444.
- [3] 白晓琳,樊梓鸾,李璐,等.多酚类化合物与其他活性物质协同作用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(6): 308-311.
- [4] Dai F, Chen W F, Zhou B. Antioxidant synergism of green tea polyphenols with α -tocopherol and L-ascorbic acid in SDS micelles[J]. *Biochimie*, 2008, 90(10): 1499-1505.
- [5] Passat D N. Interactions of black and green tea water extracts with antibiotics activity in local urinary isolated *Escherichia coli*[J]. *Journal of Al-Nahrain University*, 2012, 15: 134-142.
- [6] 胡绍德,陈畅畅,李大祥,等.黑茶中多酚组分和多酚总量分析[J]. *蚕桑茶叶通讯*, 2011(2): 26-28.
- [7] 张仁堂,谷端银,黄守耀.茉莉花茶中茶多酚的提取分离纯化及其抗氧化性能研究[J]. *中国食物与营养*, 2010(4): 47-51.
- [8] 张宏达,任善湘. *中国植物志:第49卷第3分册 山茶科(一)山茶亚科*[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [9] 王永奇. *药用山茶的研究*[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2015.
- [10] 张单皓,张晓寒,冯叙桥.茶多酚测定研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(17): 4655-4663.
- [11] 喻军.金花茶叶多酚类化合物分析研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2017.
- [12] 喻军,莫建光,陈秋虹,等.金花茶叶多酚类成分HPLC指纹图谱研究[J]. *广西科学*, 2019, 26(2): 238-244.
- [13] 李辛雷,王佳童,孙振元,等.三种山茶属金花茶组植物花朵类黄酮成分研究[J]. *广西植物*, 2019, 39(7): 917-924.
- [14] 姜丽娜,李纪元,童冉,等.金花茶组植物花色与细胞内重要环境因子的关系[J]. *广西植物*, 2019, 39(12): 1605-1612.
- [15] 叶创兴,许兆然.关于金花茶组的研究[J]. *中山大学学报*, 1992, 31(4): 68-77.
- [16] 梁盛业. *金花茶*[M]. 北京:中国林业出版社,1993.
- [17] 闵天禄. *世界山茶属的研究*[M]. 昆明:云南科技出版社,2000.
- [18] Wu Z Y, Raven P H, Hong D Y, *et al.* *Flora of China*. Vol. 12 (Hippocastanaceae through Theaceae)[M]. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2007.
- [19] 唐绍清,杜林方,王燕.山茶属金花茶组金花茶系的AFLP分析[J]. *植物科学学报*, 2004, 22(1): 44-48.
- [20] 肖政,李纪元,李志辉,等.金花茶组物种遗传关系的ISSR分析[J]. *林业科学研究*, 2014, 27(1): 71-76.
- [21] 刘付永清.基于叶绿体SSC序列的金花茶植物系统发育研究[D]. 广西桂林:广西师范大学,2015.
- [22] Orel G, Curry A S. In pursuit of hidden camellias: 32 new *Camellia* species from Vietnam and China[M]. Sydney: Theaceae Exploration Associates, 2015.
- [23] Li J B, Hashimoto F, Shimizu K, *et al.* Chemical taxonomy of red-flowered wild *Camellia* species based on floral anthocyanins[J]. *Phytochemistry*, 2013, 85(none): 99-106.
- [24] Fan Z, Li J, Li X, *et al.* Composition analysis of floral scent within genus *Camellia* uncovers substantial interspecific variations[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 250: 207-213.
- [25] Li J H, Nesumi A, Shimizu K, *et al.* Chemosystematics of tea trees based on tea leaf polyphenols as phenetic markers[J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(11-12): 1342-1349.
- [26] 李家华,张广辉,邵宛芳,等.基于PCA和聚类分析的茶树F1代茶多酚遗传分析[J]. *分子植物育种*, 2011, 9(4): 491-497.
- [27] 苏建睦,王小敏,莫昭展,等.金花茶茶花中茶多酚和总黄酮含量分析[J]. *玉林师范学院学报*, 2014(5): 64-68.
- [28] 陈红娟.基于UPLC-ESI-TripleTOF MS的金花茶花的多酚类化合物分析[C]//南京大学医药生物技术国家重点实验室.第十一届中国生命科学公共平台管理与发展研讨会摘要集.南京:南京大学医药生物技术国家重点实验室,2018: 65.

Content Analysis of Polyphenols in Flowers of Yellow *Camellia*

JIANG Li-na¹, LI Ji-yuan¹, Fan Zheng-qi¹, TONG Ran¹, MO Run-hong¹, LI Zhi-hui², JIANG Chang-jie²

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China; 2. Nanning Golden Camellia Park, Nanning 530022, Guangxi, China)

Abstract: [Objective] To study the polyphenols in the flowers of yellow *Camellia* and their relationship with plant classification, and provide reference for the application of polyphenols in the classification of yellow *Camellia*. [Method] The author used HPLC to determine 9 polyphenolic components in the petals, stamens and sepals of the full flowering flowers of 22 species of yellow *Camellia*, and the cluster analysis were used to study the relationship between them and the taxonomy of yellow *Camellia*. [Result] Among the 9 polyphenols tested, GCG, ECG, and CG were detected in all samples, while GA, GC, EGC, C, EC, and EGCG were not detected in some samples. EC was the most abundant, followed by EGC, GCG and ECG. The total polyphenols were significantly positively correlated with these 4 components. The contents of EGC, C, EC, EGCG, GCG, ECG as well as total polyphenols were the highest in sepals, followed by stamens and petals. The content of CG was the highest in petals, followed by stamens and sepals. The contents of GA and GC were the highest in stamens, followed by sepals and petals. The results of cluster analysis showed that the similarity rate of stamen polyphenols with classification systems was the highest, which was 80.00%–90.00%. The similarity rates of sepal polyphenols content and petals polyphenols content were 75.00%–88.89% and 58.33%–81.82%, respectively. [Conclusion] The highest polyphenolic content in the flowers of yellow *Camellia* is EC, and the main polyphenolic constituents are EC, EGC, GCG and ECG. The polyphenolic content is the highest in sepal followed by stamen and lowest in petal. The clustering results of stamen polyphenols can be used as an important supplement to the phylogenetic classification of yellow *Camellia*.

Keywords: yellow *Camellia*; flower; polyphenols; constituent content; classification

(责任编辑: 金立新)