

文章编号: 1674-7054(2014)03-0286-04

# 诺丽营养器官内的总黄酮含量及消长规律

孟蕲翊, 崔孟媛, 吴友根, 杨东梅, 张军锋

(海南大学 园艺园林学院/热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南 海口 570228)

**摘 要:** 利用紫外分光光度法对诺丽(Noni)营养器官及枝叶不同生长阶段中总黄酮含量的消长规律进行研究,以探索诺丽营养器官内总黄酮的动态积累,为生产中确定适宜的采收期及其采收部位提供依据。结果表明:(1)该方法测定诺丽中总黄酮含量重复性好,稳定性强,加标回收率达99.66%,测试结果稳定可靠;(2)诺丽各器官总黄酮的含量顺序为:90 d 叶>270 d 叶>30 d 叶>毛状根>210 d 叶>150 d 叶>侧根>330 d 叶>主根>嫩枝>老枝>2年生枝>多年生枝>1年生枝。结果表明,对诺丽中总黄酮的开发利用应重点选择叶片,采摘生长270 d的叶入药,有利于植株生长,并可提高诺丽资源的综合利用率。

**关键词:** 诺丽; 总黄酮; 消长规律; 紫外分光光度法

**中图分类号:** R 927.2

**文献标志码:** A

诺丽(*Morinda citrifolia* Linn., Noni)是茜草科巴戟天属常绿小乔木或灌木植物,又称海巴戟、印度桑椹等,主要分布在波利尼西亚和夏威夷地区<sup>[1]</sup>,在我国云南、海南和台湾亦有分布<sup>[2]</sup>。诺丽药用历史悠久,具有抗菌、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗血栓、降血糖、消炎等功效,其主要的活性成分有黄酮类、蒽醌类、脂肪酸类、环烯醚萜类、木脂素、多糖、甾醇和萜类化合物<sup>[3]</sup>。近年来,黄酮被认为是诺丽的主要活性成分之一<sup>[4]</sup>,但有关“诺丽营养器官内总黄酮含量的动态变化与积累”未见报道。笔者采用紫外分光光度法测定诺丽各器官中总黄酮含量,并对茎叶不同生长阶段总黄酮含量的消长规律进行研究,为了解总黄酮含量的影响因素和确定诺丽的适宜采收期、采收部位提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 在前期试验基础上,诺丽样品于2013年8月—2014年7月,采自海南省儋州市中国热带农业科学院试验农场。随机选取15株3年生的生长一致、无病虫害、长势良好的诺丽植株,按营养器官依不同生长发育阶段对根(主根、侧根、毛状根)、枝(嫩枝(茎皮绿色无木质化枝条)、老枝(半木质化枝条)、1年生枝、2年生枝、多年生枝)、叶(生长期为30, 90, 150, 210, 270, 330 d)进行样品采集,60℃下烘至恒重,粉碎后过80目筛保存。

**1.2 仪器与试剂** XB120A 电子天平(Precisa 公司生产)、Centrifuge 5424R 离心机(Eppendorf 公司生产)、S53 紫外分光光度计(上海棱光仪器厂生产)、JFSD-100 粉碎机(上海淀久中药机械制造有限公司生产);芦丁标准品(纯度为98%)、95%乙醇、NaNO<sub>2</sub>、Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、NaOH等试剂均为分析纯。

**1.3 标准曲线的配制** 参考曹伟国等<sup>[5]</sup>的方法略有改动。精密称取120℃下干燥至恒重的芦丁标准品

收稿日期: 2014-06-20

基金项目: 海南大学热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室2014年开放课题资助

作者简介: 孟蕲翊(1988-),女,海南大学园艺园林学院2012级硕士研究生。

通信作者: 吴友根(1975-),男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向: 药用植物种质资源、活性成分及开发利用。E-mail: wygeng2003@163.com

10 mg,用40%乙醇溶解,定容至50 mL,得质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准品溶液。分别精密吸取上述芦丁标准品溶液0.25,0.5,1.0,1.5,2.0,2.25 mL,置于10 mL容量瓶中,分别加5%亚硝酸钠0.3 mL,放置6 min,再加10%硝酸铝0.3 mL,放置6 min,加4%氢氧化钠4 mL,再加40%乙醇定容至刻度,摇匀,静置15 min后,于510 nm下测定其吸光度,重复3次。以吸光度( $A$ )对浓度( $C$ )作回归统计分析,回归方程: $A = 12.507C + 0.0071$ ,  $R_2 = 0.9993$ 。

1.4 样品溶液中总黄酮的提取 总黄酮的提取参考韩爱芝等<sup>[8]</sup>的方法略有改动。精密称取各样品1.0 g,分别加入95%乙醇溶剂75 mL,在60℃超声波处理1 h,室温下以 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,吸取上清液,残渣用相同方法重复萃取2次,将3次萃取滤液合并,经旋转蒸发后用40%乙醇定容于200 mL容量瓶中,摇匀,待测,每个样品设3个重复。精密吸取各样品提取液1 mL,进行显色测定,依据线性回归方程,换算样品中总黄酮的量。

#### 1.5 实验的精密性、重复性、稳定性、加样回收率测定

(1) 精密性 精密称取侧根样品粉末1.0 g,先制备供试品溶液,后按标准曲线配制方法测定吸光度,连续测定7次,平均吸光度为0.522, RSD为0.33% ( $n=7$ )。

(2) 重复性 精密称取9份诺丽侧根样品,每份1.0 g,先制备供试品溶液,总黄酮含量测定方法同标准曲线配制方法,计算总黄酮的量。总黄酮的平均含量为 $7.61\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD为1.77% ( $n=9$ )。

(3) 稳定性 取供试品溶液,分别于制备后0,2,4,6,8 h测定吸光度,总黄酮的平均含量为 $7.63\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD为1.20% ( $n=5$ ),这表明供试品溶液在8 h内稳定。

(4) 加样回收率 精密称取诺丽侧根粉末6份,准确加入等量芦丁标准品溶液,制备供试品溶液,分别测定并计算总黄酮的量,平均回收率为99.66%, RSD为2.26% ( $n=6$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 实验的精密性、重复性、稳定性、加样回收率测定结果

(1) 精密性测定结果: 诺丽侧根的平均吸光度为0.522, RSD为0.33% ( $n=7$ )。

(2) 重复性测定结果: 诺丽侧根的总黄酮的平均含量为 $7.61\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD为1.77% ( $n=9$ )

(3) 稳定性测定结果: 诺丽侧根的总黄酮的平均含量为 $7.63\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD为1.20% ( $n=5$ ),这表明供试品溶液在8 h内稳定。

(4) 加样回收率测定结果: 平均加标回收率为99.66%, RSD为2.26% ( $n=6$ )。

2.2 样品溶液中总黄酮的测定 由图1~3可知,叶中总黄酮含量在生长90 d时达到最高,为 $15.66\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,而生长330 d时最低,为 $5.95\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;嫩枝内的总黄酮含量最高,为 $3.09\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,而1年生枝内的总黄酮最低,为 $1.89\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;主根内总黄酮含量为 $4.19\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,侧根为 $7.61\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,毛状根为 $9.13\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

由图1可见,诺丽不同生长时间叶的总黄酮含量顺序为:90 d叶>270 d叶>30 d叶>210 d叶>150 d叶>330 d叶,分析认为,这可能与“诺丽叶生长初期防御紫外线能力逐渐增强,总黄酮含量逐渐升高<sup>[9]</sup>”有关,叶在生长90 d时,总黄酮含量达到最高,为 $15.66\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。随着叶片的生长发育,叶内的叶绿素和碳水化合物含量产生变化,由此导致植株光合作用和呼吸作用效率改变,从而影响总黄酮含量的变化。由图2可见,枝的总黄酮含量明显偏低,尽管嫩枝的含量最高,但仅为 $3.09\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,而1年生枝的最低,为 $1.89\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,总黄酮含量从老枝到1年生枝呈现出“先下降后逐渐上升”的趋势。总黄酮含量在枝的高低顺序为:嫩枝>老枝>2年生枝>多年生枝>1年生枝,在地上部位的枝条中,嫩枝最脆弱,易遭受紫外伤害,但实际中嫩枝生长旺盛,究其原因,可能与“嫩枝中总黄酮含量高、且黄酮类物质能减少植物紫外伤害”相关。在诺丽不同类型的根系中,毛状根的总黄酮含量最高,且各类型根间总黄酮含量差异显著( $P<0.05$ ,图3)。据报道,黄酮类物质具有驱虫、杀虫的作用,且能防御草食动物对植物的吞噬及病原微生物的侵害<sup>[9]</sup>。在诺丽不同类型的根中,毛状根作为分布最广泛的根系,其总黄酮含量较高对植株具有一定的生理意义,能有效地减少动物及病原微生物对其伤害。

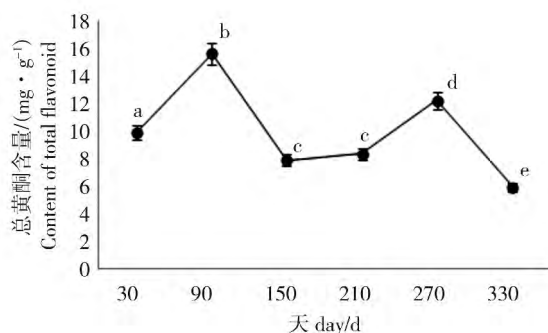


图1 诺丽不同生长阶段叶的总黄酮含量

Fig.1 Content of flavonoids in different periods of noni leaf

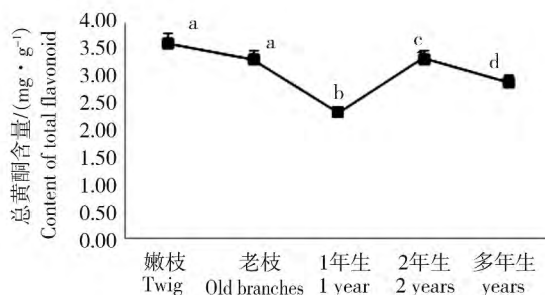


图2 诺丽不同生长阶段枝的总黄酮含量

Fig.2 Content of flavonoids in different periods of noni branch

### 3 讨论

植物中黄酮类化合物含量测定的方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、薄层色谱法、气相色谱法(GC-MS)和分光光度法等,其中以HPLC法测定准确度高、误差小、稳定性好,但HPLC法对样品纯度要求高、提取、仪器操作复杂、测定成本高,不利于广泛应用。本实验采用的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2\text{-NaOH}$ 显色法是利用形成有色络合物的原理,采用分光光度法测定诺丽不同器官中总黄酮含量,该方法稳定、准确、重复性好,加标回收率达99.66%,且简便易操作,应用广泛。

黄酮类化合物是植物界分布最广泛的一大类次生物质且几乎遍布植物体的各个组织和器官。天然黄酮类化合物具有清除自由基、抗氧化、抑制酶的活性、抗衰老、抗癌、抗病毒、抗菌、防止血管舒张、抗炎、抗糖尿病及其并发症等作用。诺丽中含有丰富的黄酮类化合物<sup>[1]</sup>,本实验对诺丽营养器官总黄酮含量进行动态分析,发现叶中总黄酮含量普遍高于其它部位,含量的高低顺序为: 90 d 叶 > 270 d 叶 > 30 d 叶 > 毛状根 > 210 d 叶 > 150 d 叶 > 侧根 > 330 d 叶 > 主根 > 嫩枝 > 老枝 > 2 年生枝 > 多年生枝 > 1 年生枝,这与李娜<sup>[8]</sup>等的结论(光果甘草“上部叶 > 中部叶 > 毛状根 > 水平根茎 > 侧根 > 主根、垂直根茎、上部茎 > 中下部茎”)一致,也与赵则海等<sup>[9]</sup>等的结论(乌拉尔甘草叶中总黄酮含量显著高于根和茎)相似。黄酮类物质是植物经过光合作用产生的一大类化合物,始于苯丙烷代谢途径<sup>[10]</sup>。因此,诺丽的黄酮类物质可能由叶合成,一部分在叶中积累,另一部分再由枝条转运至毛状根、侧根和主根。地下部分为储藏器官,毛状根和侧根的储藏量均大于主根。这与文献<sup>[10-11]</sup>的报道结果(黄酮是经苯丙烷代谢途径产生的一类化合物,可能是由地上部(叶)经光合作用合成通过枝条转运至地下根系中储藏起来)相一致。同时黄酮类物质作为最主要的紫外吸收物,能有效减少UV-B辐射对植物自身的伤害并促进紫外吸收物的合成<sup>[8]</sup>。因此,地上部分的叶中总黄酮含量高于其它部位是具有一定生理意义的。

诺丽的传统用药方式通常是采用果实入药,忽略了其他部位的药用价值。由于药用植物中有效成分的动态积累与植物生长发育阶段的关系是确定药材适宜采收期的重要指标<sup>[12]</sup>。总黄酮含量在叶生长90 d和270 d时达到最大值,但从叶的综合利用角度考虑,生长90 d的叶,较幼嫩,采摘不利于诺丽果实的生长发育,因此,宜采收生长270 d的叶入药。诺丽枝条的总黄酮含量偏低,故枝条不适宜提取总黄酮,从总黄酮得率和药效而言,除充分利用诺丽的果实外,还可重点开发利用其叶片。

### 参考文献:

[1] BUSSMANN R W, HENNIG L, GIANNIS A, et al. Anthraquinone content in Noni (*Morinda citrifolia* L.) [J]. Evidence

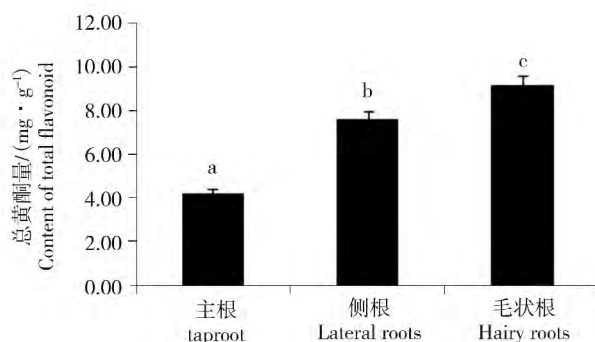


图3 诺丽不同类型根中总黄酮含量

Fig.3 Content of flavonoids in different types of noni root

- Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 25( 7) : 5.
- [2] WANG M Y, SU C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia*( Noni) [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2001, 952: 161 – 168.
- [3] DENG S, PALU A K, WEST B J, et al. Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni ( *Morinda citrifolia*) collected in Tahiti [J]. Nat Prod, 2007, 70: 859 – 862.
- [4] 曹伟国,陶燕铎,张丹,等. 葎草中总黄酮与木犀草素含量的季节动态变化 [J]. 西北林学院学报,2010,25( 6) : 134 – 137.
- [5] 韩爱芝,白红进,耿会玲,等. 响应面法优化超声辅助提取黑果枸杞叶片总黄酮的工艺研究 [J]. 西北林学院学报,2013, 28( 1) : 114 – 118.
- [6] AMBASHT N K, AGRAWAL M. Physiological responses of field growth *Zeamays* L. plants to enhanced UV-B radiation [J]. Biotronics,1995,24( 2) : 15 – 23.
- [7] RAMAMOORTHY P K, BONO A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes [J]. Journal of Engineering Science and Technology, 2007, 2( 1) : 70 – 80.
- [8] 李娜,陆嘉惠,秦忠立,等. 光果甘草营养器官不同季节总黄酮消长规律的研究 [J]. 西北植物学报,2012, 32( 1) : 162 – 165.
- [9] 赵则海,曹建国,李庆勇,等. 黑龙江省西部乌拉尔甘草总黄酮含量的动态变化研究 [J]. 植物研究,2004, 24( 2) : 235 – 239.
- [10] ZHANG R, XU Y Q, SHI Y. The extracting technology of flavonoids compounds [J]. Food and Machinery, 2003, 12( 1) : 5 – 7.
- [11] BRENDA W S. Flavonoid Biosynthesis. A colorful model for genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology [J]. Plant Physiol, 2001,126: 485 – 493.
- [12] 韩建萍,梁宗锁,王敬民. 矿质元素与根类中草药根系生长发育及有效成分累积的关系 [J]. 植物生理学通讯,2003,39 ( 1) : 78 – 82.

## Changes of Total Flavonoids Content in Vegetative Organs of *Morinda citrifolia* ( Noni) in Different Growth Periods

MENG Qixuan, CUI Mengyuan, WU Yougen, YANG Dongmei, ZHANG Junfeng

( Ministry of Education Key Laboratory of Protection, Development and Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources ( Hainan University) ;  
College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstracts:** Ultraviolet spectrophotometry was used to study the dynamic changes of total flavonoids in vegetative organs of Noni ( *Morinda citrifolia* Linn. ) at different growth stages in a view to determine the appropriate time and organs for harvesting. This method was good in repeatability and high in precision to determine the total flavonoids in Noni. The recovery rate was 99.66% and the testing result was reliable. The flavonoids content of Noni in different organs varied in the order of 90 days old leaves > 270 days old leaves > 30 days old leaves > hairy roots > 210 days old leaves > 150 days old leaves > lateral roots > 330 days old leaves > taproots > twigs > old branches > biennial branches > perennial branches > annual branches. This indicated that Noni leaves were the priority organ for extraction of total flavonoids in Noni. Considering the plant growth and leaf utilization, it is best to select 270 days old leaves of Noni as the medicinal material to extract total flavonoids.

**Key words:** *Morinda citrifolia* Linn.; total flavonoids; dynamic changes; ultraviolet spectrophotometry