

栾树中有效成分的提取、应用及其生物修复综述

张 胜¹, 汤少展^{2,3}, 彭兆丰^{4*}

(1. 衢州第二中学, 浙江 衢州 324000; 2. 湖北省地质实验测试中心(国土资源部武汉矿产资源监督检测中心), 湖北 武汉 430034;
3. 国土资源部稀土稀有矿产勘查及综合利用重点实验室, 湖北 武汉 430034; 4. 中国地质大学(武汉), 湖北 武汉 430074)

摘要:概述了栾树的叶子、花和果实中有效成分的提取方法及其应用,归纳了与栾树相关的土壤重金属修复的研究进展,指出应加强探讨栾树在修复重金属污染地区过程中,铅、镉、锰、铜的积累对栾树体内代谢产物如黄酮、类黄酮、油脂、蛋白质、粗纤维和色素等的影响,并深入探究其影响机制,以实现栾树美化、修复重金属污染地区,又能提取较高产量的天然代谢产物的目的。

关键词:栾树;天然产物;提取;分离;土壤;重金属;环境修复

中图分类号:Q949.755.5; S792.99

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2020.02.010

栾树(*Koelreuteria paniculata*)为无患子科栾树属落叶乔木,民间俗称“灯笼树”或“摇钱树”。栾树喜温暖、湿润气候,喜光,且耐寒、耐旱,适宜栽种在温带及亚热带。其根系发达,萌蘖性强,对土壤要求不严,抗污染性强,微酸至碱性土壤中都能生长^[1-2]。栾树的枝叶含有杀菌性物质,其含有的丰富黄酮类物质可供提取;其含量有较高的叶黄素,可作为黄色染料原材料加以提取。栾树花是优良的蜜源,不仅可供药用,亦可作黄色染料;其种子富含不饱和脂肪酸,可作油料。栾树是一种具有较高经济价值的多用途观赏树种^[3-4]。

栾树作为园林绿化树种栽培,历史悠久。人们很早还发现栾树有一定的药用价值^[5]。上世纪80年代,植物体内天然产物的研究广泛兴起,栾树体内分离出多种新化合物,自然引起人们对其的兴趣和重视^[6-7]。人们已从栾树中分离出8种黄酮类化合物,其中2种有免疫、抗癌、抗病毒、清除自由基和活血化瘀等生理作用;分离到3种具环木脂内酯结构的木脂素类化合物,经体外试验证实对人体乳腺癌MCF-7、肺癌A-549和大肠腺癌HT-29等8种细胞株有细胞毒性,能抑制细胞微管聚合蛋白酶^[8-9]。栾树中还含14种有机酸,即没食子酸类衍生物7种、甾脂类衍生物3种、甘油酯3种和其他不饱和脂肪酸1种。另外从栾树叶中还分离到甾醇类

化合物、香豆素类化合物、三萜皂苷B等成分^[10-11]。虽然对栾树的主要成分以及药用价值做了一定的研究,但针对栾树不同部位有效成分的开发,以及各类有效成分的高效提取方法有待进一步探讨;虽然栾树对部分重金属的抗性研究取得了一些进展,但在重金属胁迫下栾树体内产物代谢受到的影响及其影响机理,都还有待于深入研究。

1 成分提取、应用的研究现状

1.1 多酚类

工业生产中,多酚类物质提取基本工艺路线:花、叶原料→溶剂提取→杂质过滤→反相萃取→分离→喷雾干燥→多酚粗品。溶剂萃取法是国内使用最为广泛的天然药物提取方法之一,该方法利用多酚类物质在不同溶剂中的溶解度差异实现分离,利用水及乙醇等有机溶剂,采用回流设备提取,如常用氯仿从水溶液中提取咖啡因、用活性炭脱色、用石油醚除色素或通过低温静置去杂质,最后选用乙酸乙酯作溶剂萃取,使多酚从水相中分离出来^[12-13]。

类比发现,微波辅助提取时,其消耗时间和总溶剂量比传统萃取法要少。2种提取方法都显示,栾树果实内的总黄酮含量要高于叶及枝^[14]。传统的分离提取方法基本能满足栾树花果中黄酮类物

收稿日期:2020-01-07;修回日期:2020-02-04

作者简介:张 胜(1988-),男,湖北黄冈人,硕士。主要研究方向为植物受重金属胁迫条件下黄酮类物质代谢指纹图谱。E-mail:jushiliuyi@163.com。

* 通信作者:彭兆丰(1962-),男,湖北武汉人,教授,博士。主要研究超积累植物的金属代谢机理、探究重金属污染地区植物应对环境胁迫的代谢规律。E-mail:pfz_soe@qq.com。

质的提取,但大量的工业生产应采取微波辅助提取以减少成本。马柏林等^[15]对栲树叶的70%乙醇提取物研究发现,其含有的酚类、黄酮类等抗氧化物质,可添加到食用油中,增强其抗氧化能力。但目前,在栲树果实内的总黄酮提取及其抗氧化性方面,值得进一步研究,并可期待开发为精细化妆品原料。

1.2 油脂、粗蛋白和粗纤维

张学杰等^[16]用毛细管柱气相色谱-质谱法(GC-MS)分析、测定了栲树籽油的脂肪酸组成,共鉴定出21种成分。其不饱和脂肪酸相对含量为88%,主要为二十碳烯酸和亚油酸,相对含量分别为44.98%和39.75%,高于花生油(37.6%)和菜子油(14.2%),另一种必需脂肪酸亚麻酸含量为0.24%;多不饱和脂肪酸含量为40.22%。杨小凤等^[17]测得栲树果油与果仁油的密度分别为0.939 2和0.967 2 g/mL,栲树种籽中的脂肪含量比大豆、棉籽高,与油菜籽、花生仁、油葵籽、芝麻中的脂肪含量相近。

高向阳等^[18-20]采用国家标准方法测定了北方栲树和黄山栲树果中粗脂肪、粗蛋白、粗纤维的含量,2种栲树果仁中的粗脂肪含量高达40%—51%,粗蛋白含量为18.95%—24.3%,粗纤维含量为22.53%—28.12%。虽然栲树果的粗蛋白含量比大豆低,但其果仁中的粗蛋白含量与花生仁、油菜籽相近,可作为油料产品进行开发^[17-21]。

栲树籽油的不饱和脂肪酸稳定性较好,不易被氧化而产生异味,栲树果的粗蛋白、粗纤维含量与其他油料作物几乎相当,甚至有些成份还要高,可见,栲树果及种籽是非常有开发价值的高脂肪、高蛋白食品和新型油料资源。大规模种植的情况下,它可既作为新型食品油料资源进行深度开发和利用,而油饼(粕)也是不可多得的优质饲料。栲树籽还可制成干粉絮凝剂、水提液絮凝剂和盐提液絮凝剂,可广泛应用在污水处理中^[22]。

1.3 色素

目前食品工业中用微胶囊包裹天然色素,这不仅可以防止受光和热的直接影响,同时也能掩盖其不良风味,并兼作缓释剂,是针对天然色素不稳定性的一项可行方法。天然色素一般采用溶剂提取法^[23],对单相溶解性较好的多采用有机溶剂浸提,例如水溶性或醇溶性的花色苷类和黄酮类、脂溶性色素的提取。工业生产上,一般采用热水提取,乙

酸乙酯转溶,再经过滤、减压浓缩、真空干燥,然后用柱层析法进行分离,甚至根据需要利用高速逆流色谱法分离提纯。

栲树蒴果成熟时呈玫瑰色或红色,颇具观赏性,是良好的天然色素资源^[24]。杨桂松^[25]对栲树蒴果皮提取红色素的条件进行过优化。天然色素比合成色素对人体安全性高,但国内对天然色素的开发和利用还比较落后,尤其是利用栲树开发天然色素少有报道,所以对栲树天然色素还需进一步研究,其天然色素的开发具有十分广阔的市场前景^[26-27]。

1.4 黄酮类物质

国内对于栲树中黄酮类化合物的研究,大多集中在栲树叶和种子^[28]。超声波破坏植物细胞和细胞膜结构,采用超声波法提取黄酮类物质,有助于黄酮类化合物的释放与溶出,而恒温超声波设备的运用,更有利于提取物从原料的脱离。相较于黄酮类化合物的传统提取工艺,超声波法提取不仅缩短了提取时间,更提高了有效成分的提出率和原料的利用率。

雷海民等^[29]从栲树叶、种子中分离、鉴定出16种栲树黄酮类化合物。翟梅枝等^[30]以总黄酮含量为指标,优化了栲树花中黄酮类化合物的提取工艺,得到的栲树花黄酮类提取物对4种供试病原菌(茄早疫病病原菌等)均有抑制作用,且抑菌试验表明,在合适的提取条件下得到的提取物,对上述4种供试病原菌的抑菌率都在60%以上,甚至有9个提取物对棉花立枯病原菌的抑制率均为100%,对番茄早疫病病原菌的抑制率都在75%以上。唐纯翼等^[9]对不同时段分别采集的栲树果实进行总黄酮的提取及测定,结果显示,栲树果实中总黄酮含量随果实趋向成熟期显著递增。虽然栲树中黄酮类物质的提取研究和药物应用取得了一定的进展,但对影响栲树中黄酮类物质产量的因素探究还远远不够。

2 环境修复的研究现状

随着有色金属矿产的大规模开采,越来越多的重金属随尾矿砂进入矿区周边土壤,造成大面积的面源污染,更由此引发了严重的环境污染事件。矿区废弃地中重金属污染问题是矿业开发遗留的主要问题,这些地区通常植被稀疏,水污染严重,农作物更难生存。利用植物代谢中需要适量的 Cu^{2+} ,

Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} 和 Co^{2+} 等必需微量元素,选育抗性品种,是矿区土地修复的理想之路。但是大多数植物对重金属耐性有限,尤其是根系不发达的植物,对极低浓度的某些重金属离子极其敏感^[31-35]。

目前,我国对植物富集重金属 Cd 的研究较多^[36-37]。2004 年魏树和等^[38,42]在对铅锌矿坑口的杂草富集特性的研究中,首次发现龙葵为 Cd 超富集植物,并认为可以利用草本植物修复重金属污染。

刘亮^[43]以栎树为研究对象,对矿区废弃地的重金属污染土壤进行修复试验,发现栎树幼苗具有较强的重金属耐受能力^[44-45],栎树幼苗不同部位吸收和积累重金属能力的顺序为根>叶>茎,并随着时间的推移,叶有大于根部的趋势。与对照相比,金属螯合剂 EDTA 促进了栎树叶、茎和根对 5 种重金属离子(Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+})的吸收。一般来说,低浓度的 EDTA 添加量(0—1 mmol/kg)促进根和茎对上述重金属元素的吸收、叶对 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的吸收,高浓度的 EDTA 添加量(2—8 mmol/kg)促进叶对 Cu^{2+} , Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 的吸收。

卢丽丽等^[46-47]通过重金属对栎树幼苗生长影响的研究,发现低质量分数的 Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} 溶液对栎树幼苗生长不仅没有明显伤害现象,反而促进其生长,增加生物量积累,但高质量分数的 Cu^{2+} ($>240\times 10^{-6}$), Pb^{2+} ($>200\times 10^{-6}$), Zn^{2+} ($>760\times 10^{-6}$) 溶液致使栎树根系不发达,幼苗生长缓慢,甚至死亡,影响到其生态效益的良好发挥。研究发现^[43],栎树对 Cu^{2+} 的富集系数达到 0.23—0.31,对 Mn^{2+} 的富集系数仅 0.02,转运系数也只在 0.56—1.11 范围内。无生物修复的废弃矿山土壤中重金属锌、锰、镉十分丰富,平均含量分别为 640.32, 7 990.21, 13.15 mg/kg。栎树造林 2.5 a 后,重金属含量会不同程度地下降,跌幅最大的是锰(1 103.35 mg/kg),减少了 86.19%,其次是镉和锌,总量分别减少了 75.67%和 70.39%。Mn 在穗型栎树中积累丰富,为 2 490.72 mg/kg,占积累重金属总量的 56.1%。穗型栎树对不同重金属富集能力不一,依次是锰>锌>铜>镍>铅>钴,不同部位重金属积累能力依次为叶>细根>树枝>粗根>根>枝顶。穗型栎树对锌、锰、镍、钴的转运系数超过 1,对锰的富集系数大于 1。

利用植物修复技术,不仅可以极大地从土壤中吸收重金属,解除污染,还能改善土质,降低土壤 pH 值^[39,48-49]。但目前植物修复技术大多局限于草本,尤其是禾草类,栎树除了可实现废弃矿区的“退矿

还林”外,在修复其他立地土壤重金属污染方面还潜在着重要作用。

3 栎树相关研究的展望

对栎树的研究应加强以下几方面的工作:

(1) 选育重金属抗性品种。栎树在我国分布广,栽培历史悠久。应根据栎树的生态习性和我国重金属污染地区的地理特点,加强重金属抗性植株的选育研究工作,如可以通过遗传改良技术培育重金属超级累型乔木,为进一步提高其在土壤重金属污染生态修复中的作用打下工作基础。扩大栎树作为景观树种的园林应用市场,开发栎树集环境美化、污染治理于一体的功能,促进矿区污染综合治理由微生物到草本再到乔木林的生态体系的形成,并搭建经济林业带产业区。

(2) 加强栎树有效成分的提取,拓展其应用范围。针对栎树的生物学特性,从栎树中提取有效药用成分,尤其是具有医药价值的天然产物的综合提取。如针对栎树花、果和叶中黄酮类化合物对病原菌的选择性抑制作用,以及多酚类物质对肿瘤细胞的抑制作用,开发高效药物;栎树花期长、花量大以及花粉质量好,可进行花中天然色素、黄酮和多酚类物质的提取,以及养蜂采蜜;栎树果实油脂含量较高,粗蛋白、粗纤维含量突出,可深化油料的提取加工技术;栎树枝叶中多酚、黄酮、天然色素、多糖等有效成分含量丰富,可进行精细化妆品原材料开发,继而形成产业化的加工链。

(3) 深入探究栎树的代谢产物,尤其是次级代谢产物受重金属胁迫的代谢变化机理。由于次级代谢成分的合成与降解受温度、光照等多种因素影响,针对栎树对铅、镉、锰、铜的积累作用,加强对栎树在重金属污染地区的次级代谢产物的研究,探究重金属污染地区栎树中代谢产物如黄酮类物质、色素等因重金属胁迫作用在种类和含量上发生的变化,以及影响变化的机理。

参考文献:

- [1] 林文群.合肥市绿化的好树种——栎树[J].安徽农业,2003(12):18.
- [2] 窦全琴,袁惠红,王宝松,等.栎树研究的现状与展望[J].江苏林业科技 1999,26(2):52-54.
- [3] 何秀梅.栎树的生态习性 & 育苗栽培技术[J].现代农业科技,2019(15):150-151.
- [4] 冯桂林.黄山栎树生物学特性及栽培技术[J].江西农业,2019

- (16):7.
- [5] 杨小凤,付宏征,雷海民,等.栲树的化学成分[J].药学学报,1999,34(6):457-462.
- [6] 梁淑芳,马柏林.栲树化学成分的研究进展[J].西北林学院学报,2004,19(1):119-122.
- [7] 张星海.天然产物生产与实训技术[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [8] 杨小凤,雷海民,付宏征,等.栲树种子中黄酮类化学成分[J].药科学,2000,35(3):208-211.
- [9] 唐纯翼,丁 文,高中松.栲树不同部位总黄酮的提取及含量测定[J].中国农学通报,2005,21(5):159-163.
- [10] 马广恩,申雅维,鲁学照,等.栲树抗菌有效成分的研究[J].中草药,1998(2):84-85.
- [11] 郭景丽.栲树花化学成分的提取分离及其抑菌活性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2010.
- [12] 王瑞芳,蓝伟光,张世文,等.茶叶中有效成分的开发利用进展[J].亚热带农业研究,2005,1(3):64-69.
- [13] 杨 焱,宓晓黎.茶叶中儿茶素的提取和纯化工艺研究综述[J].茶业通报,1997,19(4):34-36.
- [14] 李衍方,高彩霞,高 阳,等.栲树叶总多酚的超声波辅助提取工艺及其抗氧化活性[J].生物质化学工程,2016,50(3):27-34.
- [15] 马柏林,梁淑芳,田 鹏.栲树的化学成分及其利用[J].陕西林业科技. 2003(3):68-72.
- [16] 张学杰,李法曾,程传格.栲树种油中脂肪酸组成的气相色谱-质谱分析[J].分析测试学报,2000,19(4):46-47.
- [17] 杨小凤,雷海民,付宏征,等.栲树种子的化学成分研究[J].药学学报,2000,35(4):279-283.
- [18] 高向阳,陈 伟.黄山栲果与栲果中维生素含量的研究[J].河南科学,2009,27(11):1392-1394.
- [19] 张震芳.黄山栲果油料油脂的理化特性及其脂肪酸组分分析[D].郑州:河南农业大学,2010.
- [20] 高向阳,张震芳,寇亚蕊.栲树果实中粗脂肪、粗蛋白和粗纤维的营养特性[J].经济林研究,2009,27(3):61-65.
- [21] 宋晓寒,高向阳,李向军.微波程序消解-ICP-AES测定栲果与黄山栲果中14种元素[J].天然产物研究与开发,2011,23(6):1118-1121.
- [22] 王 珊.栲树籽生物质絮凝剂的研制与应用[D].西安:陕西科技大学,2014.
- [23] 徐清海,明 霞.天然色素的提取及其生理功能[J].应用化工,2005(5):268-270,273.
- [24] 解冰冰.黄山栲树的果实生长和色彩变化规律研究[D].杭州:浙江农林大学,2012.
- [25] 杨桂松.栲树果皮中红色素最佳提取工艺研究[J].中国调味品,2008(3):59-61.
- [26] 王晨旭,刘蓉飞,毛 琦,等.栲树花色素的提取及其稳定性研究[J].湖州师范学院学报,2019,41(2):44-48.
- [27] 唐丽萍,孙朝辉,张锦坤,等.羽叶栲树花气味分析[J].河北林业科技,2018(3):33-35.
- [28] 赵 兵,徐清海,段丽颖.国内黄酮金属配合物的研究进展[J].化学试剂,2006(3):141-143.
- [29] 雷海民,毕 葳,李 强,等.栲树中一新化合物[J].天然产物研究与开发,2007(5):796-797.
- [30] 翟梅枝,郭景丽,王 磊,等.栲树花黄酮类化合物的提取工艺研究[J].西北林学院学报,2010,25(2):136-139.
- [31] 黄鑫浩.栲树和榉树对 Pb、Zn 的耐性和富集特征研究[D].长沙:中南林业科技大学,2017.
- [32] 黄鑫浩,朱 凡,胡丰姣,等.基于 Lake 模型的 Pb 胁迫对木荷和栲树幼树叶片叶绿素荧光参数的影响研究[J].生态学报,2018,38(4):1284-1292.
- [33] 吴子剑,陈明利,付新喜,等.锰尾矿区有机菌肥-速生树种的生态修复效应[J].中国环境科学,2019,39(12):5219-5227.
- [34] 高媛媛,彭兆丰,邱海鸥,等.ICP-OES 测定金矿尾矿区优势植物中的重金属元素[J].分析试验室,2016,35(5):521-525.
- [35] KHAN I U, YAN Z H, CHEN J. Production and characterization of biodiesel derived from a novel source *Koeleria paniculata* seed oil[J]. Energies, 2020, 13(4):791.
- [36] 袁先伟.不同栲树品种对镉胁迫的生理响应及富镉差异研究[D].长沙:中南林业科技大学,2017.
- [37] 杨岚鹏.栲树幼苗对 Cd 的富集效应及胁迫响应机制研究[D].长沙:中南林业科技大学,2018.
- [38] 魏树和,周启星,王 新,等.某铅锌矿坑口周围具有重金属超积累特征植物的研究[J].环境污染治理技术与设备,2004,5(3):33-39.
- [39] 魏树和.超积累植物筛选及污染土壤植物修复过程研究[D].沈阳:中国科学院研究生院(沈阳应用生态研究所),2004.
- [40] 魏树和,周启星.重金属污染土壤植物修复基本原理及强化措施探讨[J].生态学报,2004,23(1):65-72.
- [41] 王 茜,侯 楠,魏树和,等.锌超积累植物生理响应研究[J].园艺与种苗,2019,39(9):4-6.
- [42] 安 婧,宫晓双,魏树和.重金属污染土壤超积累植物修复关键技术的发展[J].生态学报,2015,34(11):3261-3270.
- [43] 刘 亮. EDTA 对矿区废弃地栲树生长及其重金属积累特征的影响[D].长沙:中南林业科技大学,2012.
- [44] WANG X L, CAO J B, LI D D, et al. Management of imported malaria cases and healthcare institutions in central China, 2012—2017: application of decision tree analysis[J]. Malaria Journal, 2019, 18(1):1-11.
- [45] 王旭旭,黄鑫浩,胡丰姣,等.4种木本植物对重金属铅、锌的积累及叶片养分含量特征研究[J].中南林业科技大学学报,2018,38(6):115-122.
- [46] 卢丽丽,王长春,王永昌. Pb、Zn 等重金属对栲树幼苗的影响[J].吉林农业,2012(4):53.
- [47] 陈璐璐,雷妮娅.酸雨胁迫下接种土壤微生物对栲树幼苗生长的影响[J].生态环境学报,2019,28(3):438-445.
- [48] 万利秀,刘 亮.甲醇提取柑橘皮总黄酮的工艺优化[J].安徽农业科学,2010,38(27):15087-15089.
- [49] TIAN D L, ZHU F, YAN W D, et al. Heavy metal accumulation by panicked goldenrain tree (*Koeleria paniculata*) and common elaeocarpus (*Elaeocarpus decipens*) in abandoned mine soils in southern China [J]. Journal of Environmental Sciences (China), 2009, 21(3):340-345.