

师治贤 张金霞 著

青藏高原 生物资源分析化学



科学出版社

青藏高原生物资源分析化学

师治贤 张金霞 著

科学出版社

1996

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书介绍了作者在青藏高原生物资源的开发和应用研究中,依据不同的生物资源,采用新的分析方法和分析技术而得到新应用的系列成果,既包括了青藏高原生物资源的化学组成与含量,也包括了分析方法的选择和应用。其内容包括青藏高原动、植物资源,特别是药用动、植物资源所含的植物精油、氨基酸、维生素、脂肪酸以及蛋白质和酶等的组成与含量,内容丰富、新颖。

本书可供从事化学、化工、生物、医学、农学和药学等研究人员及相关的技术人员参考,也可作为高等学校教师和学生的参考书。

青藏高原生物资源分析化学

师治贤 张金霞 著

责任编辑 杨淑兰

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

科地亚印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1996年8月第一版 开本:850×1168 1/32

1996年8月第一次印刷 印张:7 3/8

印数:1-820 字数:200 000

ISBN 7-03-005121-1/O·842

定 价: 20.00 元

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书介绍了作者在青藏高原生物资源的开发和应用研究中,依据不同的生物资源,采用新的分析方法和分析技术而得到新应用的系列成果,既包括了青藏高原生物资源的化学组成与含量,也包括了分析方法的选择和应用。其内容包括青藏高原动、植物资源,特别是药用动、植物资源所含的植物精油、氨基酸、维生素、脂肪酸以及蛋白质和酶等的组成与含量,内容丰富、新颖。

本书可供从事化学、化工、生物、医学、农学和药学等研究人员及相关的技术人员参考,也可作为高等学校教师和学生的参考书。

青藏高原生物资源分析化学

师治贤 张金震 著

责任编辑 杨淑兰

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

科地亚印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1996年8月第一版 开本:850×1168 1/32

1996年8月第一次印刷 印张:7 3/8

印数:1-820 字数:200 000

ISBN 7-03-005121-1/O·842

定 价: 20.00 元

前 言

被誉为地球第三极的青藏高原,以它独特的高原风光和神奇的魅力,受到了数以万计旅游者的青睐,也吸引着无数科学家、探险者的瞩目。正是这里特殊复杂的自然条件,孕育了丰富的生物资源,这些资源一直是国内外学者十分有兴趣的课题。解放后,党和人民政府十分重视生物资源的开发和利用,中国科学院西北高原生物研究所等单位曾组织了多次较大规模的考察,初步摸清了家底,前后出版了《西藏植物志》、《藏药志》、《青海经济植物志》、《青海经济动物志》和《青藏高原药物图鉴》1—3册等著作,为开发和利用青藏高原的资源提供了丰富的资料。改革开放以来,考察青藏高原的科学家不断增加。为了适应改革开放的需要,我国于1990年成立了青藏高原研究会。同时联合国教科文组织支持国际山地综合开发中心(ICIMOD),致力于兴都库什-喜马拉雅地区的综合开发。

长期生活在青藏高原的各族人民,通过生产和生活的实践积累了资源开发的宝贵经验,特别是藏族人民创建的藏医药学丰富了祖国医药学宝库,成为中华民族医药学宝库的组成部分。

我们在青藏高原这块土地上,奋斗了30多年,青藏高原特有的生物资源吸引着我们,促使我们对青藏高原一些生物资源进行了研究、应用和开发。随着改革开放和经济的发展,为了进一步深层次地研究、应用和开发青藏高原上特有的生物资源,使之造福于人类,我们把自己所作的一些研究工作,按化合物的不同类型,进行了总结,较为系统地写成了本书,以供同行参考,这是我们的愿望和目的。如果本书能为开发青藏高原生物资源起到抛砖引玉的作用,我们也就很满意了。

《青藏高原生物资源分析化学》也可定名为《青藏高原生物资

源化学》，但考虑这些生物资源的化学成分分析，采用了一些现代化分析方法及其新的应用，因此，仍采用了《青藏高原生物资源分析化学》的书名。

本书稿中青藏高原生物资源中的植物资源部分由中国科学院西北高原生物研究所植物研究室刘尚武研究员进行了审定，黄荣福研究员提供了高山药用植物氨基酸分析样，胡凤祖、刘晓达等同志协助进行氨基酸含量分析，作者对此表示十分感谢。

作者特别感谢中国科学院西北高原生物研究所印象初院士对本专著的指导、帮助和支持。

本书出版得到了中国科学院西北高原生物研究所的领导和有关部门的关心与支持，得到了作者实验室同事们的积极配合，对此，作者表示由衷的谢意。我们还十分感谢科学出版社的大力支持和帮助，由于他们的协作，才使得本书早日与读者见面。

由于作者水平有限，时间仓促，书中的错误和不妥之处在所难免，敬请专家和读者批评指正。

作 者

1995.10

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 植物精油	(4)
2.1 杜鹃花属有鳞亚属植物精油概况	(4)
2.1.1 杜鹃植物精油的提取和含油量的测定	(5)
2.1.2 杜鹃植物精油的理化性质及含量变化规律	(6)
2.1.3 杜鹃植物精油的分离和分析	(10)
2.1.4 杜鹃植物精油气相色谱定量分析	(21)
2.2 菊科蒿属植物精油概况.....	(30)
2.2.1 蒿属植物精油的提取和含油量的测定	(31)
2.2.2 蒿属植物精油的分离和分析	(31)
2.3 菊科凤毛菊属植物精油概况.....	(44)
2.3.1 凤毛菊属植物精油的提取和含油量的测定	(44)
2.3.2 凤毛菊植物精油的分离和分析	(44)
2.3.3 凤毛菊植物	(44)
2.3.4 分离分析条件	(45)
2.4 玫瑰精油的概况.....	(52)
2.4.1 玫瑰精油的提取方法和含油量的测定	(52)
2.4.2 玫瑰精油的分离和分析	(52)
2.4.3 青海玫瑰精油	(52)
2.4.4 苦水玫瑰鲜花香气	(60)
第三章 氨基酸	(68)
3.1 氨基酸的分类.....	(68)
3.1.1 按氨基酸的化学结构分类	(68)
3.1.2 按照 α -氨基酸中侧链 R 基的极性性质分类	(69)
3.2 氨基酸分析方法.....	(74)
3.2.1 氨基酸分析方法的发展	(74)

3.2.2	毛细管气相色谱分析氨基酸	(76)
3.2.3	离子交换色谱法分离分析氨基酸	(79)
3.2.4	荧光分光光度测定色氨酸	(85)
3.3	青藏高原生物资源	(87)
3.3.1	药用植物资源	(87)
3.3.2	饲料资源	(122)
3.3.3	动物资源	(130)
第四章	维生素	(145)
4.1	维生素的发现	(145)
4.2	维生素分类	(147)
4.2.1	水溶性维生素	(147)
4.2.2	脂溶性维生素	(151)
4.3	维生素的分析方法	(154)
4.3.1	沙棘果实中维生素C的分析	(154)
4.3.2	水溶性维生素在液相色谱上的分离和分析	(156)
4.3.3	反相液相色谱分析脂溶性维生素	(159)
4.3.4	分光光度法测定胆碱	(161)
4.4	青藏高原维生素饲料资源	(166)
第五章	脂肪酸	(170)
5.1	脂肪酸及其存在形式	(170)
5.1.1	脂肪酸的结构与写法	(170)
5.1.2	脂肪酸存在的共性	(171)
5.2	脂肪酸的分析方法	(175)
5.2.1	脂肪酸的萃取	(175)
5.2.2	脂肪酸的甲基化	(176)
5.2.3	毛细管气相色谱分离分析脂肪酸	(178)
5.2.4	青海高原菜籽油中芥酸分析	(186)
5.2.5	微孔草油中脂肪酸分析	(188)
第六章	蛋白质和酶	(192)
6.1	蛋白质和酶的性质	(192)
6.2	植物蛋白质或酶的提取和分离	(195)
6.2.1	粗蛋白质或酶的提取和分离	(195)

6.2.2	高效液相色谱分离和纯化蛋白质	(197)
6.3	蛋白质的定量方法	(209)
6.3.1	双缩脲法	(210)
6.3.2	Lowry 法	(210)
6.3.3	紫外吸收光度法	(212)
6.3.4	凯氏定氮法	(213)
6.3.5	染料结合法	(216)
附录 I	藏药长梗喉毛花吡酮类化合物的高效液相色谱分析	
	(219)
附录 II	紫丁杜鹃挥发油的化学成分	(222)
索引	(224)

第一章 绪 论

青藏高原是在第三纪末,受喜马拉雅造山运动的影响,使海拔上升到4500—6000米而形成的。地处祖国西陲的青藏高原为世界第一大高原,地势高亢,气候严酷,空气稀薄,辐射强烈,寒冷异常,蒸发甚剧,劲风常袭,植物生长期短。因此,人们往往会自然地把此种高寒严酷环境,与不毛、荒凉等词联系在一起。其实不然,在这一世界屋脊的森林上界(3150—4400米)与气候雪线(4300—6100米)之间,却依然生长着奇异多采,艳丽诱人的高山植物。这些高山植物,经过了漫长的自然选择,保留了其有利生存的性状特征,获得了多式多样的适应性。

青海省位于我国青藏高原的东北部,面积72万多平方公里。地势高峻,海拔多在3000米以上。祁连山由一系列北西西-南东东的平行山脉与谷地组成,海拔一般在4000米以上。阿尔金山脉东段位于青海省西北边境,在当金山口与祁连山脉衔接,海拔在3500—4000米。柴达木盆地位于青海省西北部,为昆仑山、阿尔金山、祁连山等所环抱,盆地海拔2600—3000米。青南高原位于柴达木盆地及青海南山以南,主要由昆仑山、巴颜喀拉山、唐古拉山、阿尼玛卿山(大积石山)组成,海拔在4500—5000米以上,是长江、黄河和澜沧江的发源地,气候特点冬长夏短,冬季寒冷,夏季温凉,平均气温偏低,日差较大,年差较小,日照时数长,辐射量大。青藏高原这类特殊的自然条件和复杂的生态环境,孕育了丰富多样的值得研究和开发的动、植物资源。吸引着众多的科学家,他们对这一地区予以极大关注和兴趣。早在几个世纪以前,就有外国传教士来青藏高原活动,继之而来的数量众多的探险家和不少科学家,发表了各种各样的论文和专著。其中不少对生物资源的开发和利用,有着科学的参考价值,如喜马拉雅鬼臼。

青藏地区各族人民长期的生活和生产实践,积累了利用青藏高原生物资源的宝贵经验,特别是藏族人民,经过长期与疾病斗争,建立了历史悠久的藏医药学,丰富了祖国药学的宝库,成为具有独特的理论体系和民族特色的藏医学。解放后,党和人民政府非常重视青藏高原的资源开发和利用。1970—1979年,中国科学院西北高原生物研究所先后在青海、甘肃、西藏、四川等省较大规模的进行了动、植物资源的调查研究工作,先后出版了《青藏高原药物图鉴》1—3册,记载植物药378种,动物药77种;《藏药志》记载了藏药431种,其中植物藏药287种,动物藏药91种,矿物藏药53种,以及《青海经济植物志》收录了96科422属905种经济植物。这些都为青藏高原生物资源的利用和开发提供了丰富多样的新思路、新途径。中国科学院西北高原生物研究所,从70年代起,有选择性地进行了有用植物资源的开发和利用,取得了一系列成果,如用百里香杜鹃药物治疗慢性气管炎;药用藏茵陈、复方樟柳碱;开发了沙棘饮料等。与此同时,对龙胆科植物,杜鹃属植物和蒿属植物挥发油的化学成分较为系统地进行了研究,在沙棘果实维生素C含量的分析中发现,高海拔(3000米以上)的果实比2000多米左右的为高,显然,这与植物的生长环境有着密切的关系。

随着天然药品、绿色食品日益被人们重视,天然的保健品倍受欢迎,因此,作者对高山冰缘植物中的氨基酸,高山油脂植物中的脂肪酸,以及青藏高原的饲料资源中的维生素、氨基酸等营养成分进行了分析,取得了大量的有用数据,为绿色饲料的资源利用与开发提供了理论上的依据。

由于生物在特殊复杂的生境条件下生长,它的化学组分受海拔的高低、辐射强度的大小、季节的变化等影响是较为明显的。即使是同一种植物,由于生长环境的变异,同样可以引起化学组分和含量的变化。具有生物活性物质的生物,更是如此。

生物的化学组分比较复杂,要对某种化学组分的含量进行分析,必须经过一系列的分离和纯化过程,而且必须除去影响这一组分各种天然化合物。不仅工作量大,且要求苛刻。包括采样,样

品处理等,每一步骤都需根据生物的特点,严格控制条件,一步一步地分离纯化。因此,整个过程既需要有高效的分离纯化技术,还需要建立比较准确的分析方法。

青藏高原丰富多彩的生物资源,是我们的宝贵财富。进行深层次的生物资源的研究与开发,从中找出在低氧、干、寒、强辐射的环境中具有抗紫外辐射和提高人体免疫功能等生理活性物质,以及对有应用开发前景的生物资源进行分离纯化取其有效成分,研究其分子结构、功能和应用途径,这不但为我国的天然资源的应用与开发提供科学依据,而且在国际学术界形成我们自己的特色,使其在国际天然资源应用与开发的舞台上占有一席之地。

第二章 植物精油

植物精油是植物组织经水蒸气蒸馏得到的挥发性组分的总称,大都具有芳香味,主要组分为单萜及倍半萜类化合物。我国天然精油资源十分丰富,也有不少人工栽培资源。青藏高原植物精油,由于生态环境的特殊,不但资源丰富,而且精油的组分与含量也有差别。这些植物精油在民间,特别是藏族人民作为单味药方长期用于治疗疾病,通常人们称为“藏药”。为提高药效,找出有效组分,以便合理的开发利用,同时也为藏药理论的完善提供理论依据,我们对其进行了比较深入系统的研究。分析青藏高原资源丰富且有代表性的杜鹃花科和菊科的天然资源精油和从人工栽培的玫瑰得到的玫瑰油,不但有实用意义也具有理论意义。

2.1 杜鹃花属有鳞亚属植物精油概况

杜鹃花属有鳞亚属植物精油,经临床验证,对防治和治疗慢性气管炎具有明显的效果。民间长期以来采用杜鹃植物精油单方治疗肺炎、气管炎,同时它还具有和血、调经、止咳、祛痰、平喘之功能。药理实验证明,如烈香杜鹃精油,能使实验动物提高急性减压缺氧的忍耐力。因此,杜鹃精油在医药上有着广泛的应用前景,杜鹃精油经过分离还可以用在日用化学工业、食品工业和香料工业等领域。

杜鹃花属植物资源极其丰富,种类繁多,约有 400 余种,为了更好地开发和利用该属植物,人们已对该属植物中许多植物精油化学组分进行了分离和分析。

2.1.1 杜鹃植物精油的提取和含油量的测定

1. 精油提取

植物精油的提取方法一般有水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法、水蒸气蒸馏和溶剂萃取法同时联合提取法,还有根据植物精油的不同性质确定不同的方法,如直接压榨法、脂肪温浸等方法。

杜鹃植物精油的提取主要采用水蒸气蒸馏法,其方法有二种:

(1)将杜鹃植物的鲜叶和嫩枝放在玻璃蒸馏容器中,按比例加入水,以直火或封闭蒸汽管加热进行水蒸气蒸馏,得到淡绿色透明液体(采用金属容器蒸馏得到棕黄色液体),气味芳香。

(2)将杜鹃植物的鲜叶和嫩枝放在蒸馏锅下部装置的多孔板

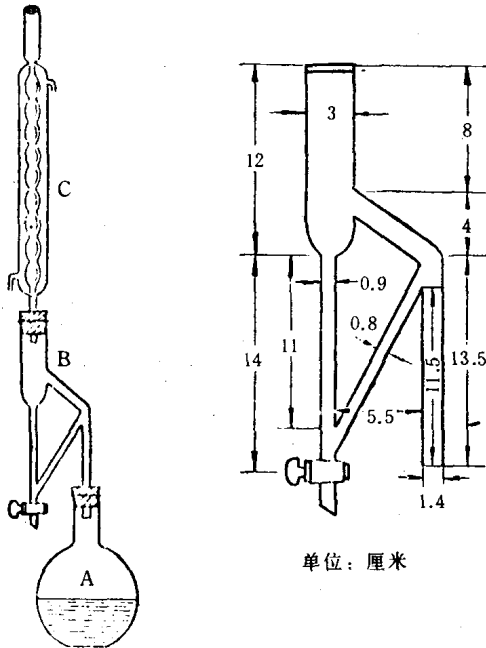


图 2-1 精油测定器示意图

上面,通入低压蒸汽,得到淡绿色的透明液体,气味芳香。

2. 杜鹃精油含量的测定

根据比重不同精油含量的测定采用二种方法进行:

(1)精油比重小于 1.0 时的测定,取相当含精油 0.5—1.0 毫升的杜鹃植物鲜叶和嫩枝,称重(准确到 0.01 克),置烧瓶中加入蒸馏水 300—500 毫升和数粒玻璃珠,连接精油测定器(图 2-1),并自冷凝管向测定器添加蒸馏水至刻度位置到溢流入烧瓶为止。油浴加热,保持微沸约 5 小时,直到测定器中油量不再增加为止。放置片刻,开启测定器下活塞,将水缓缓放出,放置 1 小时以上,开启活塞,放出精油,计算含量。

(2)精油比重大于 1.0 时的测定,装置和操作同上法。只是在样品加入前先在精油测定部分加入二甲苯 1 毫升,将烧瓶内容物加热至沸,30 分钟后停止加热。放置 15 分钟后,读取二甲苯体积,然后将一定量的样品加入烧瓶中,按以上方法进行蒸馏。最后从油层中减去二甲苯体积,计算含量。

2.1.2 杜鹃植物精油的理化性质及含量变化规律

杜鹃植物精油不同,其理化性质有所差异。为了寻找最佳采集季节,对它的季节的含量变化规律作了研究,以保证采集的植物精油无论是质量还是数量都处在最佳理想状态。因此,王生新对百里香杜鹃(*Rhododendron thymifolium* Maxim.)、头花杜鹃(*R. capitatum* Maxim.)、青海杜鹃(*R. Qinghaiense* Ching)、烈香杜鹃(*R. anthopogonoides* Maxim.)和长管杜鹃(*R. tubulosum* Ching)等所含精油的理化性质、含量及变化规律进行了研究和比较。

1. 杜鹃植物精油的理化常数

杜鹃植物的鲜叶和嫩枝,用水蒸气蒸馏法,得到一种挥发油,常温下多为淡黄绿色且透明的油状液体,具有挥发性和强烈的芳香气味,应存放在冰箱避光保存,接触空气或光照会使一些组分氧

化、颜色变深。经测定,不同种类的杜鹃精油,其理化常数彼此均有显著差异,因此,它们的组成和含量也有差别,其理化常数如表 2-1 所示。

表 2-1 六种杜鹃精油的理化性质

品 种	折光率	旋光度	比 重	酸 值	酯 值
百里香杜鹃	1.4990	+2.1	0.9044	1.9198	184.62
头花杜鹃	1.4761	+9.3	0.8703	0.3370	187.21
青海杜鹃	1.5088	+2.1	0.9720	0.4891	182.57
烈香杜鹃	1.5089	0	0.9588	0.5156	174.30
长管杜鹃	1.5079	-1.2	0.9512	1.9177	188.00
樱草杜鹃	1.4819		0.8878		

2. 杜鹃植物精油的贮存与杜鹃植物叶和嫩枝表皮上鳞片特征

杜鹃植物的叶和嫩枝表皮上,均披有密集的鳞片。根据形态特征,可分为三种:第一种正面呈圆盆状,直径约为 250—300 微米,如百里香杜鹃、头花杜鹃和青海杜鹃的鳞片。第二种正面呈星芒状,直径约 245—250 微米。第三种正面呈盾状,直径约 40—50 微米,烈香杜鹃和长管杜鹃同属后两种。但不论哪一种类型,它们都是由多数细胞组成,而且精油也都贮存在这些细胞间的间隙里,所以,杜鹃植物的精油是在植物体表面的鳞片中,而不是在组织的内部。

为了摸清精油开始贮存的时间,连续观察引种的百里香杜鹃和烈香杜鹃冬芽,发现两种杜鹃的鳞片分别于 11 月下旬和 12 月上旬开始分化。起初,表皮细胞向外伸出突起,后经多次分裂,逐渐

形成锥形鳞片,但此时经苏丹红染色后呈负反应,说明在叶芽中的鳞片里尚未贮存精油。当叶开展后,能清楚看到鳞片细胞中的细胞核时,染色后呈正反应,证明已有精油的存在。由此可见,精油是在杜鹃植物的叶片发育成熟后所形成的一种代谢产物。

表 2-2 杜鹃植物不同器官中精油的含量

品 种	器 官	样品鲜重 (克)	出油量 (克)	含油率 (%)
百里香杜鹃	叶 片	30	0.73	2.43
	嫩 枝	30	0.41	1.37
	老 枝	30	0	0
头花杜鹃	叶 片	30	0.61	2.00
	嫩 枝	30	0.26	0.87
	老 枝	30	0	0
烈香杜鹃	叶 片	30	0.60	2.00
	嫩 枝	30	0.19	0.63
	老 枝	30	0	0

3. 杜鹃植物精油的含量及其变化规律

杜鹃属植物中的鳞片有无,以及在茎叶上的分布数量和排列形式等,不仅是分类学上相互区分的一个重要特征,而且也是决定精油含量多少的主要依据。

在同一种杜鹃植物中,植物体的不同器官,由于生长的鳞片数量不同,因而不同部位之间精油的含量亦不同(表 2-2)。叶片上的