

桑树

活性物质研究

廖森泰 肖更生 主编



中国农业科学技术出版社

桑树活性物质研究

廖森泰 肖更生 主编



YZLI0890155512

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

桑树活性物质研究 / 廖森泰, 肖更生主编. —北京: 中国农业科学技术出版社,
2012. 1

ISBN 978 - 7 - 5116 - 0779 - 9

I. ①桑… II. ①廖…②肖… III. ①桑树 - 生物活性 - 物质 - 研究 IV. ①S888. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 273764 号

责任编辑 崔改泵

责任校对 贾晓红 郭苗苗

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82109708(编辑室) (010)82109704(发行部)
(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106624

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店北京发行所

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787 mm × 1 092 mm 1/16

印 张 15. 75

字 数 254 千字

版 次 2012 年 1 月第 1 版 2012 年 1 月第 1 次印刷

定 价 35. 00 元

——●●●●● 版权所有 · 翻印必究 ●●●●●——

《桑树活性物质研究》

编委会

主 编 廖森泰 肖更生

编写人员（按姓氏笔画排序）

刘吉平	刘 凡	刘学铭	孙远明
肖更生	吴娱明	邹宇晓	陈智毅
罗国庆	钟仰进	施 英	徐玉娟
唐翠明	廖森泰		

参加编写的研究生

何雪梅	邢东旭	王振江	郭小补
李 妍	沈维治	侯瑞宏	李平平
黄 勇	张 举		

序

古有成汤“以身祷雨于桑林”，桑林为祈祷祭祀之所。又传“莘氏女子采桑得婴儿于空桑之中，后即贤相伊尹”，更有“孔母生丘于空桑”之传说，故谓桑乃育圣之木。桑自古为贵，也因其为蚕丝之源。蚕丝以其华贵典雅，传承了历史辉煌。丝绸之路弘扬了中华文明，数千年来，蚕丝之光定格了养蚕业的基本格调：栽桑—养蚕—缫丝—织绸。即桑为养蚕而栽，桑为养蚕而生，围绕养蚕的栽桑学研究，可谓详之入微，而桑的其他功能则被忽视，或者仅作为养蚕的副产物利用而侧目旁视。近三十年由于蚕桑产业的调整和人们对生态环境的日益重视，桑树在生态治理和多级利用方面的特色逐渐为人们认识，从养畜、治沙、石漠化治理开始的生态桑产业逐渐从传统养蚕业中脱颖，展现了蚕桑产业发展新的广阔领域。

广东省农业科学院以廖森泰副院长为首的研究团队，长期致力于蚕桑副产物综合利用的研究，并有一系列创新成果和产业化的业绩。近年来，该团队把蚕桑副产物综合利用提升到以开拓新兴产业为目标，进行了系统的基础性研究。《桑树活性物质研究》一书是该团队多年研究成果的总结，更是新近开拓性研究的展示。全书分为桑树活性成分数据库构建、活性物质提取纯化工艺研究、活性物质药理活性研究三章，并附成分测定相关资料。这是系统研究桑树活性物质最为详实的一本专著，无疑对于桑树活性成分的开发利用，开拓新的产业将起到积极的推动作用。目前蚕桑产业正面临从传统产业向现代产业的调整和转型，我相信本书的出版将会为多元化蚕桑业的发展提供更多的思路和科技支撑，该书也是一本内容丰富实用性很强的著作，我谨此向斯学斯业的同仁推荐，并乐为序。

中国工程院院士



2011. 12. 28 于

重庆家蚕基因组生物学国家重点实验室

前 言

桑树是蚕的饲料，以往对桑树的研究，主要集中在桑树品种选育、桑树栽培和病虫害防治等方面，其目标是为蚕提供高产、优质的桑叶饲料。其实，桑树全身都是宝，除可做蚕的饲料外，它还有很多其他用途，据《本草纲目》《神农本草》等记载，我国很早就把桑树的叶、枝、根、果等作为中药材应用。随着科学技术的进步和人类对健康的重视，桑树的食药价值已逐渐为人们所认识，利用桑树资源开发的食药用途产品很多。

据药典记载，桑树的药理功能，主要是清肝明目、疏散风热、降压利尿等，这些功能已传统习用，但其生物活性物质、药用机理等未有系统研究，不同桑树品种其活性成分也千差万别。为了给桑树资源药食用途开发提供科学解释和技术支撑，我们系统地开展了桑树活性成分数据库构建、生物活性物质药理功能评价和活性物质提取工艺优化等研究工作，取得了良好的进展，培养了一批研究生。本书将这些研究汇总整理，旨在为桑树资源的深度开发提供理论依据。

本书分为三部分，第一部分是桑树活性成分数据库构建，包括不同桑树品种的桑叶多糖、桑叶黄酮、桑叶生物碱、桑叶多酚、桑枝黄酮、桑椹花青素、桑椹多酚等活性成分含量的测定分析以及动态变化规律；第二部分是桑树活性物质提取纯化工艺研究，主要是对多糖、黄酮、生物碱、酚类物质等活性成分提取工艺的优化试验；第三部分是桑树活性物质药理研究，从体外、动物整体和细胞水平开展桑树活性物质的抗氧化、降糖、降脂、免疫调节、抗菌、消炎等功能评价。

本书得到国家蚕桑产业技术体系专项、广东省自然科学基金团队项目等资助。

本书编写人员，除了科研团队成员外，还得到了研究生的积极参与，穆丽霞、刘军等参与了书稿校对。因为编者水平有限，编写时间仓促，肯定有很多不当之处，敬请批评指正。

编者

2011 年 12 月

目 录

第一章 桑树活性成分数据库构建.....	(1)
第一节 不同品种桑叶多糖含量的测定与比较分析.....	(1)
一、广东桑桑叶多糖含量的测定与分析.....	(1)
二、染色体倍数性与桑叶多糖含量关系.....	(4)
三、季节对桑叶多糖含量的影响.....	(5)
四、不同桑种桑叶多糖含量的比较.....	(6)
五、航天诱变对桑叶多糖含量的影响.....	(8)
六、小结.....	(9)
第二节 桑叶总黄酮含量的动态变化规律研究.....	(9)
一、品种与桑叶总黄酮含量的关系	(10)
二、桑种与桑叶总黄酮含量的关系	(13)
三、染色体倍数性与桑叶总黄酮含量的关系	(13)
四、采收季节与桑叶总黄酮含量的关系	(14)
五、航天诱变对桑叶总黄酮含量的影响	(15)
六、小结	(16)
第三节 桑叶总生物碱及特征生物碱(1-DNJ)含量的 动态变化规律	(16)
一、品种与桑叶DNJ含量、总生物碱含量的关系	(16)
二、桑种与桑叶DNJ含量、总生物碱的关系	(21)
三、染色体倍数性与桑叶DNJ含量、总生物碱含量的关系	(21)
四、不同月份桑叶DNJ的含量变化规律研究	(21)
五、小结	(22)
第四节 不同桑叶品种总多酚含量及单体酚类物质含量的 比较研究	(23)
一、不同桑叶品种总多酚含量	(23)

二、桑叶中单体酚类物质含量	(23)
三、不同月份桑叶总多酚含量的变化	(25)
四、不同月份桑叶中主要单体酚类物质含量的变化	(26)
五、小结	(28)
第五节 不同桑枝的总黄酮含量比较分析及其体外抗氧化能力	
相关性研究	(28)
一、不同品种桑枝总黄酮含量及其抗氧化作用比较	(28)
二、桑种与桑枝总黄酮含量与抗氧化作用的关系	(33)
三、染色体倍数性与桑枝总黄酮含量与抗氧化作用的关系	(34)
四、季节对桑枝总黄酮含量及其抗氧化能力的影响	(34)
五、桑枝中总黄酮含量与抗氧化能力的相关性分析	(35)
六、小结	(36)
第六节 不同品种成熟桑椹总花青素及单体花青素含量的	
比较研究	(37)
一、不同品种桑椹干果总花青素含量	(37)
二、不同品种桑果汁中总花青素的含量	(38)
三、桑椹中单体花青素含量	(42)
四、小结	(43)
第七节 桑椹总多酚含量及单体非花青素酚类物质含量的	
比较研究	(44)
一、不同果桑品种桑椹干果总多酚含量	(44)
二、桑椹中单体非花青素酚类物质含量	(45)
三、桑椹成熟过程中总多酚含量的变化	(48)
四、桑椹成熟过程中非花青素酚类物质的含量变化	(48)
五、小结	(51)
第八节 桑树活性成分数据库总结	(52)
第二章 桑树活性物质提取纯化工艺研究	(58)
第一节 桑叶多糖的提取及纯化工艺研究	(58)
一、桑叶多糖热水浸提的二次回归正交旋转组合设计试验	(59)
二、采用微波技术提取桑叶多糖的响应面试验	(63)
三、脱蛋白条件的确定	(69)
四、脱色	(71)

五、大孔树脂纯化桑叶多糖工艺的确定	(71)
六、小结	(74)
第二节 桑叶粗多糖的超声—微波提取工艺优化研究	(75)
一、葡萄糖标准曲线和方程	(76)
二、方法学考察	(76)
三、响应面分析法优化桑叶粗多糖提取工艺	(77)
四、讨论	(86)
五、小结	(87)
第三节 桑叶总黄酮提取工艺研究	(87)
一、桑叶总黄酮测定方法的标准工作曲线	(88)
二、单因素试验结果与分析	(88)
三、桑叶黄酮提取工艺优化设计	(90)
四、桑叶黄酮提取率预测的模型方程的建立及显著性检验	(91)
第四节 桑叶总生物碱提取工艺的研究	(92)
一、提取工艺对桑叶总生物碱提取效果的影响	(92)
二、桑叶总生物碱提取工艺响应面设计	(95)
三、小结	(97)
第五节 桑叶多糖、黄酮和生物碱的连续提取工艺优化研究	(98)
一、桑叶多糖、黄酮和生物碱的连续提取工艺的单因素实验	(98)
二、桑叶多糖和黄酮的提取工艺的优化实验	(103)
三、桑叶生物碱提取工艺的优化实验	(108)
四、桑叶多糖、黄酮和生物碱的纯化工艺研究	(111)
第六节 桑叶总多酚提取工艺研究	(115)
一、没食子酸标准曲线和方程	(115)
二、方法学考察	(116)
三、提取工艺中的几个重要因素对桑叶中总多酚提取效果的影响	(116)
四、桑叶总多酚提取的二次回归正交旋转组合设计	(118)
第七节 桑枝总黄酮的提取纯化分离工艺研究	(122)
一、桑枝总黄酮提取的二次回归正交旋转组合试验结果	(122)
二、桑枝乙醇提取物的大孔吸附树脂纯化试验结果	(126)
三、桑枝总黄酮提取物的分部及各部分的体外抗氧化作用	(132)

四、小结	(137)
第八节 桑椹花青素的分离纯化	(138)
一、大孔吸附树脂对桑椹花青素的纯化	(139)
二、高速逆流色谱对桑椹花青素的分离纯化	(141)
三、小结	(143)
第九节 大孔树脂对桑椹多酚的纯化及 HPLC 法检测纯化效果	(146)
一、最佳树脂的筛选	(146)
二、上样初始浓度确定	(146)
三、解吸剂浓度确定	(147)
四、洗脱流速确定	(147)
五、HPLC 法检测纯化前后单体非花青素酚类物质的变化	(148)
第十节 桑树活性成分提取工艺研究总结	(149)
第三章 桑树活性物质药理活性研究	(151)
第一节 桑叶多糖的抗氧化及降血糖作用研究	(151)
一、桑叶多糖的体外抗氧化作用	(151)
二、桑叶多糖的体内抗氧化作用	(154)
三、桑叶多糖的动物降血糖实验	(156)
四、小结	(163)
第二节 桑叶多糖的免疫调节作用的研究	(163)
一、桑叶多糖对小鼠碳廓清能力的影响	(164)
二、桑叶多糖对致敏小鼠血清溶血素水平的影响	(164)
三、桑叶多糖对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化的影响	(165)
四、NK 细胞活性	(165)
五、桑叶多糖对小鼠免疫器官的影响	(165)
六、对细胞因子 $TNF-\alpha$ 的影响	(166)
七、对细胞因子 $IFN-\gamma$ 的影响	(166)
八、桑叶多糖的体外免疫调节作用研究	(167)
九、小结	(169)
第三节 桑叶总黄酮的动物体内抗氧化及护肝作用研究	(170)
一、对 CCl_4 引起的急性肝损伤小鼠血清和肝匀浆中 抗氧化能力影响	(170)
二、对 CCl_4 引起的急性肝损伤小鼠血清和肝匀浆中	

ALT、AST 的影响	(172)
三、对 CCl_4 引起的急性肝损伤小鼠肝组织形态的影响	(173)
四、小结	(174)
第四节 桑叶黄酮的免疫调节活性	(175)
一、桑叶黄酮对小白鼠免疫器官的影响	(175)
二、桑叶黄酮对小白鼠单核巨噬细胞吞噬活性的影响	(175)
三、桑叶黄酮对小白鼠抗体形成数的影响	(175)
四、桑叶黄酮对小白鼠体液免疫的影响	(176)
五、桑叶黄酮对小白鼠脾淋巴细胞的影响	(176)
六、桑叶黄酮对小白鼠红细胞免疫调节活性的影响	(177)
七、桑叶黄酮对 NK 细胞活性的影响	(178)
八、小白鼠脾脏切片 (HE 染色, 10×20 倍)	(178)
九、讨论	(179)
十、小结	(186)
第五节 桑叶总生物碱的降血糖活性评价	(186)
一、桑叶生物碱对 DM 小鼠空腹血糖值的影响	(186)
二、桑叶中生物碱对 α -葡萄糖苷酶抑制活性	(187)
三、小结	(188)
第六节 桑叶总生物碱的降血糖作用机制	(188)
一、糖耐量	(188)
二、小鼠肝脏中肝糖原、己糖激酶	(189)
三、小鼠血脂水平	(190)
四、小鼠肝脏中氧化应激水平	(191)
五、桑叶总生物碱对小鼠小肠上皮细胞蔗糖酶的抑制作用	(192)
六、桑叶总生物碱对小鼠胰岛保护作用	(192)
七、小结	(194)
第七节 桑叶多糖、黄酮和生物碱的降血糖活性的 协同作用研究	(195)
一、桑叶多糖、黄酮和生物碱对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的 协同作用	(195)
二、桑叶多糖、黄酮和生物碱降血糖活性的协同作用	(195)
第八节 桑叶总多酚极性部位抑菌作用的研究	(199)

一、桑叶化学成分的极性分部·····	(199)
二、桑叶化学成分极性部位总多酚的含量·····	(199)
三、桑叶总多酚极性部位抑菌活性·····	(200)
四、桑叶总多酚极性部位最低抑菌浓度研究·····	(200)
第九节 桑枝总黄酮提取物对高脂血症大鼠的降血脂及 抗氧化作用·····	(201)
一、桑枝总黄酮提取物对实验大鼠血脂水平的影响·····	(201)
二、桑枝总黄酮提取物的体内抗氧化作用·····	(203)
三、小结·····	(205)
第十节 桑椹花青素对大鼠佐剂性关节炎的防治作用研究·····	(206)
一、桑椹花青素对大鼠左侧继发足肿胀的影响·····	(206)
二、桑椹花青素对大鼠血清抗氧化力的影响·····	(207)
三、桑椹花青素对炎症因子及 NO 的影响·····	(207)
四、小结·····	(208)
第十一节 桑椹非花青素酚类物质的体外抗氧化活性研究·····	(208)
一、不同非花青素酚类物质抗氧化能力比较·····	(208)
二、“大 10” 品种成熟桑椹中各非花青素酚类物质对总抗氧化 能力的贡献·····	(209)
三、桑椹非花青素酚类物质对人肺腺癌 A549 细胞体外增殖活性 的影响·····	(210)
第十二节 桑树活性成分提取物药理活性总结·····	(212)
一、桑叶多糖具有明显的抗氧化活性，能显著降低糖尿病小鼠 的血糖，还能提高小鼠的免疫活性·····	(212)
二、桑树黄酮提取物具有明显的体内、外抗氧化活性，有护肝、 降血脂和提高免疫活性的作用·····	(213)
三、桑叶总生物碱有良好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，能显著 降低糖尿病小鼠血糖水平·····	(213)
四、桑叶多糖、黄酮和生物碱进行降血糖活性的协同作用 研究·····	(214)
五、桑椹花青素的抗炎活性·····	(214)
六、桑叶多酚的抑菌作用·····	(215)
七、桑椹非花青素类多酚的抗肿瘤作用·····	(215)

参考文献.....	(216)
附录.....	(221)
附录 1 24 个桑树品种花青素 HPLC 图	(221)
附录 2 三个品种桑椹成熟过程非花青素酚类物质 HPLC 图谱 ...	(228)

第一章 桑树活性成分数据库构建

我国是桑树种质资源最丰富的国家，全球除印度、韩国、日本、埃及、巴基斯坦等几个国家有少量种植之外，绝大部分分布在我国的长江、珠江和黄河三大流域，是我国的特色资源之一。桑树的化学成分十分丰富，主要活性成分有黄酮、多糖、多羟基生物碱、多酚等。桑树品质性状是品种基因型与生态环境的综合表现，桑树品质性状既受遗传基因控制，也受生态环境、栽培条件以及发育状况等外部因素的制约。不同品系、品种之间以及不同外部因素作用下，桑树的产量和化学物质等产生一定的差异。因此，从可能影响桑树活性成分含量变化的因素出发，探究各因素的影响，对桑树的开发利用具有十分重要的意义。

第一节 不同品种桑叶多糖含量的测定与比较分析

桑叶多糖是桑叶重要活性成分之一，具有显著的降血糖作用，在药品和保健食品产业化开发方面有着广阔的前景。本节以广东桑树资源为主，对 100 余个不同品种的桑叶多糖含量进行测定，并分析季节、染色体倍数等对桑叶多糖含量的影响，为桑叶多糖提取原料的选择提供参考。

一、广东桑桑叶多糖含量的测定与分析

广东地处亚热带，冬季短，夏季长，雨量充沛，桑品种资源经过长期的自然变异、淘汰以及人工选择，出现了许多性状迥异、各具特色、丰富多姿的地方品种资源。这些地方品种大都具有耐高温多湿、抗病力及抗逆性强、发条多、产量高等特点。在广东桑资源中依据桑树的倍体、抗性以及叶质等方面选取了 68 个品种进行桑叶多糖含量的测定，结果见表 1-1。

表 1-1 广东桑桑叶多糖含量表

编号	品种名称	桑种类型	染色体倍数	多糖含量 (mg/g)
1	大 10	广东桑	3X	23.76
2	粤诱 19	广东桑	4X	20.77
3	粤诱 29	广东桑	4X	18.07
4	粤诱 10	广东桑	4X	20.07
5	粤诱 25	广东桑	4X	24.56
6	伦 40	广东桑	3X	25.26
7	粤诱 28	广东桑	4X	19.57
8	42-6	广东桑	4X	22.77
9	41-2	广东桑	4X	17.17
10	41-13	广东桑	4X	26.06
11	粤诱 73	广东桑	4X	22.07
12	粤诱 30	广东桑	4X	21.47
13	粤诱 56	广东桑	4X	25.26
14	粤诱 51	广东桑	4X	26.46
15	粤诱 87	广东桑	4X	20.17
16	桂诱 154	广东桑	4X	21.47
17	桂诱 7	广东桑	4X	28.46
18	粤诱 52	广东桑	4X	21.07
19	粤诱 35	广东桑	4X	16.28
20	粤诱 77	广东桑	4X	20.77
21	粤诱 53	广东桑	4X	22.07
22	粤诱 61	广东桑	4X	15.28
23	粤诱 76	广东桑	4X	26.16
24	粤诱 104	广东桑	4X	17.77
25	粤诱 201	广东桑	4X	15.78
26	粤诱 12	广东桑	4X	23.66
27	粤诱 70	广东桑	4X	23.56
28	粤诱 192	广东桑	4X	14.38
29	粤诱 34	广东桑	4X	21.97
30	桂诱 10-19	广东桑	4X	26.16
31	粤诱 32	广东桑	4X	22.17
32	粤诱 5	广东桑	4X	25.86
33	粤诱 36	广东桑	4X	27.16
34	粤诱 112	广东桑	4X	29.36
35	湛 1432	广东桑	2X	19.87
36	上山 6	广东桑	2X	23.27
37	苗 66	广东桑	2X	17.37

(续表)

编号	品种名称	桑种类型	染色体倍数	多糖含量 (mg/g)
38	试 11	广东桑	2X	26.76
39	选 27	广东桑	2X	21.27
40	7403	广东桑	2X	23.36
41	北-2-5	广东桑	2X	21.07
42	北-1-13	广东桑	2X	18.27
43	北-2-8	广东桑	2X	15.18
44	云桑	广东桑	2X	13.38
45	抗锈 2	广东桑	2X	12.48◆
46	抗锈 4	广东桑	2X	14.48
47	抗锈 5	广东桑	2X	28.36
48	苗 33	广东桑	2X	17.87
49	7861	广东桑	2X	18.67
50	抗 11	广东桑	2X	18.67
51	伦 408	广东桑	2X	21.67
52	屯车 4	广东桑	2X	19.57
53	英沙 3	广东桑	2X	28.96
54	抗 10	广东桑	2X	22.07
55	23-10	广东桑	2X	23.46
56	北-1-10	广东桑	2X	13.48
57	伦 518	广东桑	2X	25.26
58	塘 31	广东桑	2X	22.77
59	塘 39	广东桑	2X	23.46
60	北-1-3	广东桑	2X	17.37
61	抗锈 3 号	广东桑	2X	26.46
62	69	广东桑	2X	30.55
63	851	广东桑	2X	15.28
64	曲马 2 号	广东桑	2X	31.05★
65	屯车 1	广东桑	2X	23.36
66	塘 10	广东桑	2X	17.77
67	伦 109	广东桑	2X	17.57
68	任抗 1 号	广东桑	2X	18.47

★表示桑叶多糖含量最高, ◆表示桑叶多糖含量最低

由表 1-1 可以看出品种间桑叶多糖含量差异显著, 其中, 含量最高的是曲马 2 号, 达到 31.05mg/g, 含量最低的是抗锈 2 号, 仅为 12.48mg/g, 两者相差 2.5 倍之多。为了更全面地分析多糖含量的分布情况, 通过 SPSS 14.0 软件作图 1-1。

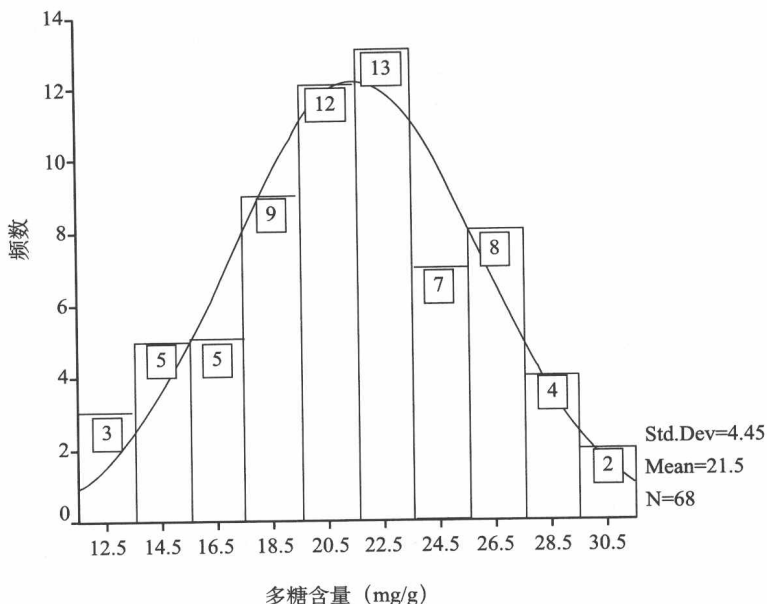


图 1-1 广东桑桑叶多糖含量分布直方图

由图 1-1 可以看出, 广东桑桑叶多糖含量基本呈现正态分布, 其中 54 个品种的桑叶多糖含量分布在 15.5 ~ 27.5mg/g, 占所测定总量的 80% 之多, 只有 6 个品种桑叶多糖含量超过 28.0mg/g, 说明对广东桑桑树资源进行大规模的桑叶多糖含量测定是比较有意义的, 这不仅有利于筛选出活性多糖含量特别高的品种用于中药材和保健食品的产业化开发, 而且对于选育药用桑树新品种, 构建桑树药用育种技术体系也有较大的参考价值。

二、染色体倍数性与桑叶多糖含量关系

多倍体植株由于染色体加倍, 基因模板增加, 转录出的 mRNA 也增加, 相应的酶蛋白合成必然增加, 使酶的整体催化活性加倍, 新陈代谢旺盛, 有机物的合成速率提高, 所以化学成分含量可能相应提高 (颜春潮等, 2006)。所以, 也对桑树染色体倍数性与桑叶多糖的关系进行了研究, 结果见表 1-2。