

青稞生长期间叶片中大麦黄苷与皂草黄苷的积累及品种间差异

贾 静^{1,2}, 李玉林^{1,*}, 沈裕虎¹, 杜玉枝¹

(1.中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2.中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: 采用高效液相色谱法, 测定青稞叶片中两种黄酮大麦黄苷与皂草黄苷在生长期间的积累变化以及 20 个青稞品种叶片中大麦黄苷与皂草黄苷的含量差异。结果表明: 在生长期, 大麦黄苷与皂草黄苷的积累变化趋势基本一致, 均呈先增高后降低的趋势, 但皂草黄苷的含量明显高于大麦黄苷, 最佳的青稞叶采集期为三叶期至三叶一心期之间; 在 20 种青稞品种中, 白康青叶片中大麦黄苷含量最高, 昆仑 8 号叶片中的皂草黄苷含量最高, 康青 3 号叶片中的大麦黄苷和皂草黄苷含量最低, 而两种黄酮总量也以昆仑 8 号最多, 含量为 1.69%, 其次为白康青和昆仑 1 号。因此, 以青稞黄酮含量为指标选用的品种是昆仑 8 号、白康青和昆仑 1 号。

关键词: 青稞叶; 大麦黄苷; 皂草黄苷; 积累; 品种

Accumulation of Lutonarin and Saponarin in Barley Leaves during Growth and Differences in Their Contents among Different Varieties

JIA Jing^{1,2}, LI Yu-lin^{1,*}, SHEN Yu-hu¹, DU Yu-zhi¹

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The accumulation of lutanarin and saponarin during different growth and the differences in their contents among the leaves of different barley varieties were determined by HPLC. Results indicated that the content of saponarin was higher than that of lutanarin throughout the whole growth period and both of them displayed a similar change trend, i.e., an initial increase followed by a decrease. The optimal time for harvesting barley leaves was between the stage with three leaves and the stage with three leaves and one heart. Of 20 barely varieties, Baikangqing and Kunlun No.8 exhibited the highest contents of lutanarin and saponarin, respectively; however, the lowest contents of lutanarin and saponarin were both determined in Kangqing NO.3. In addition, Kunlun No.8 exhibited the highest total contents (1.69%) of lutanarin and saponarin, followed by Baikangqing and Kunlun No.1. Therefore, Kunlun NO.8, Baikangqing and Kunlun NO.1 are the selected barley varieties for the purpose of exploiting flavonoid resources.

Key words: barely; lutanarin; saponarin; accumulation; variety

中图分类号: O623.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)13-0016-03

黄酮类化合物广泛存在于动、植物体中, 黄酮类化合物属植物次生代谢产物, 具有消除氧自由基、抗氧化、抗过敏、抗炎、抗菌、抗突变、抗肿瘤、保肝、雌激素样作用、保护心脑血管系统、抗病毒和杀虫等生理活性, 并且其生理活性的强弱与其含量多少直接相关^[1]。有关中药材和食品原料等植物体内黄酮类化合物的提取、分离、结构鉴定、含量分析测定及活性

评价等研究已多有报道^[2-6]。

青稞(*Hordeum vulgare* L. var. nudum Hook. f.)属于禾本科大麦属作物, 在西藏、青海、四川、甘肃等地均有种植, 栽培历史悠久, 资源丰富。研究表明, 青稞幼苗中含有丰富的黄酮类物质, 主要成分为大麦黄苷(lutanarin)和皂草黄苷(saponarin)^[7]。有关青稞中黄酮的抗氧化活性的研究已有报道^[8-10], 但有关青稞在生长期

收稿日期: 2009-12-03

基金项目: 中国科学院“西部之光”项目; 国家自然科学基金面上项目(20875099)

作者简介: 贾静(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为应用植物化学。E-mail: jiajing2113@163.com

* 通信作者: 李玉林(1970—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: liyulin@nwipb.ac.cn

叶片中的黄酮类成分积累变化及其多个品种间含量差异的研究尚未见报道。

本实验对不同生长期青稞叶片中的两种主要黄酮成分大麦黄苷和皂草黄苷的含量变化进行研究,并比较20个青稞品种间黄酮含量的差异,旨在为充分开发利用青稞这一丰富而又特色的食品植物资源提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

青稞品种昆仑8号用于测定黄酮含量动态变化,其他20个青稞品种用于测定青稞叶黄酮含量品种间差异,所有品种由中国科学院西北高原生物研究所高原生态农业研究中心提供。实验地点设在中国科学院西北高原生物研究所平安生态农业实验站。各品种青稞的种植地、种植条件、采样时间均一致。取青稞苗叶片部分,经阴干、粗碎后待用。

1.2 试剂与仪器

大麦黄苷、皂草黄苷对照品(纯度98%)实验室自制;95%乙醇、二甲亚砜均为市售分析纯;甲醇为色谱纯。

Agilent 1100 高效液相色谱仪 美国安捷伦公司;AG135 万分之一电子天平 瑞士梅特勒-托利多公司。

1.3 对照品溶液的制备

准确称取干燥质量恒定的大麦黄苷4.5mg和皂草黄苷4.0mg混合,用30%乙醇溶解后定容至10mL,摇匀,得质量浓度为0.45mg/mL的大麦黄苷和0.40mg/mL的皂草黄苷的对照品混合溶液。

1.4 供试液的制备

准确称取干燥的青稞叶粗碎物0.5g,加入到50mL三角烧瓶中,在温度90℃条件下,用30%乙醇溶液作提取剂,料液比1:60(m/V),提取时间2h,提取3次。提取液经合并、浓缩之后,用二甲亚砜-乙醇溶液(二甲亚砜、无水乙醇、蒸馏水体积比为1:1:2)重新溶解后移入25mL容量瓶中,定容,混匀,备用。

1.5 提取液中黄酮含量测定

1.5.1 HPLC 色谱条件

Phenomenex luna C₁₈柱(4.6mm × 250mm, 5 μm),在0~14min内38%~62%甲醇溶液流动相梯度洗脱,流速1.00mL/min,检测波长270nm,柱温25℃。

1.5.2 标准曲线的制作

将1.3节得到的混合对照品溶液逐级稀释,然后注入高效液相色谱仪进行测定,拟合峰面积(Y)和样品浓度(X, mg/mL)作回归曲线,得回归方程:(1)大麦黄苷 $Y = -21.9 + 7839.5X$, $r = 0.9997$; (2)皂草黄苷 $Y = 17.8 + 7667.6X$, $r = 0.9999$ 。

1.5.3 青稞叶中的黄酮含量测定

由1.4节所得供试液经0.45 μm滤膜过滤,注入高效液相色谱仪进行分离,并借助标准曲线进行定量测定,确定青稞叶提取物中两种主要黄酮大麦黄苷和皂草黄苷的含量。

2 结果与分析

2.1 不同生长阶段青稞叶中大麦黄苷和皂草黄苷含量动态变化

分别在青稞品种昆仑8号的10个生长阶段:一叶期、一叶一心期、两叶期、两叶一心期、三叶期、三叶一心期、拔节期、成熟期、抽穗期、孕穗期采集样品,按1.4节方法处理制备供试液后,用1.5节的分析方法测定青稞叶中大麦黄苷和皂草黄苷的含量,结果见表1。

表1 青稞叶不同生长阶段的样品采集及黄酮含量
Table 1 Harvesting time and corresponding contents of luteonarin and saponarin of Kunlun No.8 barely leaves during growth

采集日期	生长阶段	含量/%		总量/%
		大麦黄苷	皂草黄苷	
2008-06-12	一叶期	0.08	0.81	0.89
2008-06-15	一叶一心期	0.15	1.22	1.37
2008-06-19	两叶期	0.14	1.32	1.46
2008-06-23	两叶一心期	0.21	1.44	1.65
2008-06-27	三叶期	0.28	1.43	1.71
2008-07-01	三叶一心期	0.31	1.41	1.72
2008-07-08	拔节期	0.51	0.80	1.31
2008-07-12	孕穗期	0.26	0.43	0.69
2008-07-16	抽穗期	0.17	0.22	0.39
2008-07-20	成熟期	0.09	0.11	0.20

由表1可知,在青稞从出苗至孕穗期的生长阶段,其皂草黄苷的含量均高于大麦黄苷的含量。两种主要的黄酮代谢产物大麦黄苷与皂草黄苷的累积变化趋势基本一致,均呈先增高后降低的趋势。其中皂草黄苷的累积从出苗的0.81%至一叶一心期的1.22%呈快速增长,然后增长速度减缓,在两叶一心期含量达到最高值为1.44%,在两叶一心期至三叶一心期基本处于恒定状态,随后快速降低,到成熟期降至最低0.11%;大麦黄苷的累积则从出苗的0.08%至拔节期最高值0.51%持续缓慢增长,随后也快速降低,至成熟期降至最低0.09%,而两种黄酮总量在其生长期同样呈先增高后降低的趋势,从出苗时的0.89%至三叶一心期达到最大值1.72%,之后显著减少,至成熟期含的0.20%,降幅达1.52%,远少于生长发育的初始值0.89%。

2.2 不同品种青稞叶中黄酮含量的差异

分别采集20个青稞品种(表2)在三叶一心期的青稞

叶片。按 1.4 节方法处理制备供试液后,用 1.5 节的分析方法测定青稞叶中大麦黄苷和皂草黄苷的含量,结果如表 2 所示。

表 2 不同青稞品种青稞叶中黄酮含量
Fig.2 Respective and total contents of lutanarin and saponarin flavonoids of the leaves of different barley varieties

编号	品种	含量 /%		总量 /%
		大麦黄苷	皂草黄苷	
1	昆仑 8 号	0.43	1.26	1.69
2	白康青	0.54	0.90	1.44
3	昆仑 1 号	0.32	1.01	1.33
4	湟源白六棱	0.25	1.08	1.33
5	北青 1 号	0.53	0.73	1.26
6	昆仑 10 号	0.41	0.85	1.26
7	大通红六棱	0.40	0.80	1.20
8	北青 8 号	0.33	0.85	1.18
9	民和四棱	0.32	0.80	1.12
10	东青 1 号	0.38	0.70	1.08
11	昆仑 3 号	0.31	0.77	1.08
12	南繁 2 号	0.34	0.70	1.04
13	湟源紫青稞	0.29	0.73	1.02
14	循化红六棱	0.22	0.79	1.01
15	互青 2 号	0.38	0.63	1.01
16	门农 1 号	0.31	0.68	0.99
17	肚里黄	0.36	0.56	0.92
18	北青 7 号	0.41	0.47	0.88
19	莫多吉 1 号	0.23	0.50	0.73
20	康青 3 号	0.20	0.30	0.50

由表 2 可知,在 20 种青稞品种中,大麦黄苷含量以白康青中最高,达 0.54%;昆仑 8 号中含皂草黄苷含量最高达 1.26%;而康青 3 号中大麦黄苷和皂草黄苷含量均最低,分别仅有 0.20% 和 0.30%。受各生长期皂草黄苷明显多于大麦黄苷的影响,两种黄酮总量也以昆仑 8 号最多,含量为 1.69%,而以康青 3 号最少,仅仅 0.50%。

两种黄酮总量小于 1.00% 的青稞品种有 5 种:门农 1 号、肚里黄、北青 7 号、莫多吉 1 号和康青 3 号,占 25%;总量大于 1.50% 的青稞品种只有 1 种为昆仑 8 号,占 5%;而大于 1.00% 小于 1.50% 的青稞品种有 14 种,占 70%,其含量由高到低分别为白康青、昆仑 1 号、湟源白六棱、北青 1 号、昆仑 10 号、大通红六棱、北青 8 号、民和四棱、东青 1 号、昆仑 3 号、南繁 2 号、湟源紫青稞、循化红六棱和互青 2 号。

3 结 论

3.1 青稞的一叶期、一叶一心期、两叶期、两叶一

心期、三叶期、三叶一心期、拔节期、成熟期、抽穗期和孕穗期的 10 个生长阶段,两种主要黄酮大麦黄苷与皂草黄苷的累积变化趋势基本一致,均呈先增高后降低的趋势。其中皂草黄苷的累积在两叶一心期达到最高为 1.44%,大麦黄苷的累积在拔节期达到最高为 0.51%,而青稞苗中两种黄酮总量则在三叶一心期达到最高 1.72%。最佳的青稞叶采集期为三叶期至三叶一心期之间。在整个生长阶段,皂草黄苷的含量均明显高于大麦黄苷。

3.2 通过对 20 种青稞品种中两种黄酮大麦黄苷和皂草黄苷含量的测定比较,结果表明,在 20 种青稞品种中,大麦黄苷含量以白康青中最高,皂草黄苷含量则以昆仑 8 号中最高;而康青 3 号中大麦黄苷和皂草黄苷含量均为最低。受各生长期皂草黄苷明显多于大麦黄苷的影响,两种黄酮总量也以昆仑 8 号最多,其次为白康青和昆仑 1 号,而以康青 3 号最少。在 20 种青稞品种中,有 70% 以上青稞品种叶片中的两种黄酮总量大于 1.00%,以青稞黄酮含量为指标选用的品种是昆仑 8 号、白康青和昆仑 1 号。

参 考 文 献 :

- [1] STEFAN M, AXEL M. Flavones and flavone synthases[J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(20): 2399-2407.
- [2] 刘晓宇, 张俊杰, 王蕊霞. 葛根总黄酮的提取及抗氧化活性评价研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(10): 232-237.
- [3] 阿布力米提, 艾来提, 穆赫塔尔, 等. 香青兰中黄酮类化合物的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(8): 384-386.
- [4] 马厉芳, 吴春霞, 阿不都拉·阿巴斯. 黄花软紫草地上部分有效成分分析及黄酮的测定[J]. *食品科学*, 2007, 28(5): 292-294.
- [5] 李庆华, 魏春雁, 黄九林, 等. 松嫩草原罗布麻茎叶总黄酮抗氧化活性动态变化的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(5): 32-34.
- [6] 朱小霞, 杨文侠. 树莓叶黄酮类物质提取及抗氧化性研究[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(5): 546-549.
- [7] FERRERES F, ANDRADE P B, VALENTAO P, et al. Further knowledge on barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves O-glycosyl-C-glycosyl flavones by liquid chromatography-UV diode-array detection-electro spray ionisation mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1182: 56-64.
- [8] KAZUMI K, YOSHIHIDE H, TAKAYUKI S. Antioxidative activity of an isoflavonoid, 2'' - O-glycosylisovitexin isolated from green barley leaves[J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40(10): 1843-1845.
- [9] OHKAWA M, KINJO J, HAGIWARA Y, et al. Three new anti-oxidative saponarin analogs from young green barley leaf[J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(12): 1887-1890.
- [10] MARKHAM K R, MITCHELL K A. The mis-identification of the major antioxidant flavonoids in young barley (*Hordeum vulgare*) leaves[J]. *Z Naturforsch*, 2003, 58(1/2): 53-56.