

春季和秋季 4 个种源青钱柳叶中总黄酮及粗多糖含量比较

郑敏^{1a}, 黄颖^{1a}, 汪建中^{1b}, 丁满萍², 李晓红^{1a, 1b}, 邵剑文^{1a, 1b, ①}

(1. 安徽师范大学: a. 生命科学学院, b. 重要生物资源保护与利用研究安徽省省级重点实验室, 安徽 芜湖 241000;
2. 安徽省绩溪县雄路苗圃, 安徽 宣城 242000)

Comparison on contents of total flavonoids and crude polysaccharides in leaf of *Cyclocarya paliurus* from four provenances in spring and autumn ZHENG Min^{1a}, HUANG Ying^{1a}, WANG Jianzhong^{1b}, DING Manping², LI Xiaohong^{1a, 1b}, SHAO Jianwen^{1a, 1b, ①} (1. Anhui Normal University; a. College of Life Sciences, b. Anhui Provincial Key Laboratory of the Conservation and Exploitation of Biological Resources, Wuhu 241000, China; 2. Xionglu Nursery Garden in Jixi County of Anhui Province, Xuancheng 242000, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(2): 68-70

Abstract: The contents of total flavonoids and crude polysaccharides in leaf of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk from four provenances in Zhangjiajie National Forest Park of Hunan Province, Tonggu County of Jiangxi Province, Xiushui County of Jiangxi Province, and Wuxishan Nature Reserve of Anhui Province in spring (May) and autumn (September) were compared. The results show that the content of total flavonoids in leaf of *C. paliurus* from each provenance in spring is significantly ($P < 0.05$) lower than that in autumn, and the average content of total flavonoids in leaf in spring ($20.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) is significantly lower than that in autumn ($22.38 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$); on the contrary, the content of crude polysaccharides in leaf of *C. paliurus* from each provenance in spring is higher than that in autumn, and the average content of crude polysaccharides in leaf in spring ($30.84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) is significantly higher than that in autumn ($23.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). Among four test provenances, the contents of total flavonoids and crude polysaccharides in leaf of *C. paliurus* from the provenance in Zhangjiajie National Forest Park of Hunan Province are both the highest, followed by the provenance in Tonggu County of Jiangxi Province. Overall, it is recommended that if the total flavonoids is exploitation target, the leaf of *C. paliurus* should be collected in September; while if the crude polysaccharides is exploitation target, the leaf of *C. paliurus* should be collected in May. In addition, the differences in contents of total flavonoids and crude polysaccharides in leaf of *C. paliurus* from different provenances are relatively great, and the provenances in Zhangjiajie National Forest Park of Hunan Province and Tonggu County of Jiangxi Province can be used as key research objects.

关键词: 青钱柳; 采摘期; 种源; 总黄酮; 粗多糖

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk; harvest period; provenance; total flavonoids; crude polysaccharides

中图分类号: Q946; S792.12 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)02-0068-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.02.09

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk] 隶属于胡桃科 (Juglandaceae) 青钱柳属 (*Cyclocarya* Iljinsk), 为高大落叶乔木。青钱柳为第四纪冰川孑遗树种, 被称为“植物界的大熊猫”, 是中国特有的单种属植物, 也是国家重点保护野生植物^[1]。青钱柳叶中含有丰富的黄酮类、多糖类和萜类等化学成分^[2], 具有抗癌、抗氧化、增强机体免疫力、降血糖、降血脂和保护肝脏等保健作用^[3-9], 已成为食品和药品工业研究的热点^[10]。目前, 市面上的青钱柳产品主要是春季嫩叶所制的茶, 而秋季叶制作的茶口感和卖相均欠佳, 基本无茶叶生产价值。柏明娥等^[11]发现, 青钱柳叶中的总黄酮和粗多糖含量随

生长过程 (即成熟度升高) 而改变, 因此, 探究青钱柳叶中具有药用和保健价值的化学成分含量峰值期对于选择青钱柳叶适宜采摘期, 充分发挥其保健作用具有重要意义。

研究发现, 不同种源植物的总黄酮和粗多糖含量差异较大^[12-13]。鉴于此, 以湖南张家界国家森林公园、江西铜鼓县、江西修水县和安徽五溪山自然保护区 4 个种源青钱柳叶为研究对象, 对春季 (5 月份) 和秋季 (9 月份) 各种源叶中的总黄酮和粗多糖含量进行比较, 以期明确不同种源青钱柳叶中总黄酮和粗多糖含量在春季和秋季的差异, 为不同用途青钱柳叶的适宜采摘期确定和优良种源筛选提供参考依据。

收稿日期: 2020-06-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32070370)

作者简介: 郑敏 (1995—), 女, 安徽安庆人, 硕士研究生, 主要从事植物资源的保护和利用研究。

①通信作者 E-mail: shaojw@ahnu.edu.cn

引用格式: 郑敏, 黄颖, 汪建中, 等. 春季和秋季 4 个种源青钱柳叶中总黄酮及粗多糖含量比较 [J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(2): 68-70.

1 材料和方法

1.1 材料

于2015年9月至10月,分别采集湖南张家界国家森林公园(东经110°36'23"、北纬29°32'12")、江西铜鼓县(东经114°22'02"、北纬28°31'08")、江西修水县(东经114°32'48"、北纬29°01'35")和安徽五溪山自然保护区(东经117°39'32"、北纬29°57'28")4个种源的青钱柳种子。参照尚旭岚等^[14]的方法进行种子萌发和种植,由安徽师范大学邵剑文教授鉴定。于2017年4月17日,将幼苗移植到安徽绩溪县雄路苗圃基地(东经118°32'24"、北纬29°59'24",海拔160 m,年均温16.2℃,年均降水量1531.5 mm,年均日照时数1801.8 h,土壤为黄红壤)。于2019年5月15日,每个种源选择10株样株,每株采集生长良好且无病虫害的叶片约60 g;自然风干过夜,在35℃条件下烘干约1 h,将同株的样品粉碎后混匀,密封保存于塑封袋中。于2019年9月8日,按照上述方法再次采集同样株的叶片并进行相同的处理和保存。

实验使用的芦丁标准品(批号170402)和葡萄糖标准品(批号160415)均购自上海展化工有限公司,且均为分析纯;使用的主要仪器有CLT-1型电子调温电热套[邦西仪器科技(上海)有限公司]、索氏提取器(扬州市沪武玻璃仪器厂)和V-1200紫外-分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线绘制 用体积分数80%乙醇将芦丁标准品溶解并配制成质量浓度0.20 mg·mL⁻¹母液,用体积分数80%乙醇分别稀释成0.00、0.04、0.08、0.12和0.16 mg·mL⁻¹溶液,与母液组成系列梯度溶液,待测;用纯净水将葡萄糖标准品配制成质量浓度0.10 mg·mL⁻¹的母液,用纯净水分别稀释成0.00、0.02、0.04、0.06和0.08 mg·mL⁻¹溶液,与母液组成系列梯度溶液,待测。采用紫外分光光度法^[15]分别在415和490 nm下测定芦丁和葡萄糖系列梯度溶液的吸光值,均重复检测3次。以吸光值为纵坐标(y)、标准品溶液质量浓度为横坐标(x)绘

制标准曲线,并拟合回归方程。其中,芦丁标准曲线的回归方程为 $y=10.111x-0.015$ ($R^2=0.9990$),该回归方程在0.00~1.00 mg·mL⁻¹范围内线性关系良好;葡萄糖标准曲线的回归线性方程为 $y=10.355x+0.060$ ($R^2=0.9966$),该回归方程在0.00~1.00 mg·mL⁻¹范围内线性关系良好。

1.2.2 总黄酮和粗多糖提取 精确称量干燥的青钱柳叶粉末3.000 g,每株3份。按固液比1:40加入石油醚,于60℃脱脂1 h;加入120 mL体积分数80%乙醇,于80℃浸提1.5 h,抽滤,滤液为总黄酮提取液;用体积分数80%乙醇定容至120 mL,待测。挥干滤渣,加入120 mL蒸馏水,于90℃浸提1.5 h,抽滤,滤液为粗多糖提取液;用蒸馏水定容至120 mL,待测。

1.2.3 总黄酮和粗多糖含量测定 参考相关文献^[15-16],将待测液在室温下4000 r·min⁻¹离心10 min;精确量取1 mL上清液,稀释至适宜浓度,按上述方法分别在415和490 nm下测定待测液的吸光值,并计算待测液中总黄酮和粗多糖的浓度。按公式“某成分含量=该成分质量浓度×稀释倍数×120/3.000”分别计算青钱柳叶中总黄酮和粗多糖的含量。

1.3 数据统计分析

采用EXCEL 2010和SPSS 19.0软件对相关数据进行统计、方差分析和差异显著性分析。

2 结果和分析

方差分析结果表明:青钱柳叶中总黄酮含量在春季和秋季间差异显著($P<0.05$),且在不同种源间差异极显著($P<0.01$);其粗多糖含量在春季和秋季间差异极显著,在不同种源间差异也极显著。

分析结果(表1)表明:春季各种源青钱柳叶中总黄酮含量显著低于秋季,且春季叶中总黄酮含量平均值(20.50 mg·g⁻¹)显著低于秋季(22.38 mg·g⁻¹)。在春季,湖南张家界国家森林公园种源叶中总黄酮含量最高,江西铜鼓县种源次之,且这2个种源叶中总黄酮含量显著高于安徽五溪山自然保护区种源。在秋季,湖南张家界国家森林公园种源叶中总黄酮含量最高,显著高于江西修水县和安徽五溪山自然保

表1 春季和秋季供试4个种源青钱柳叶中总黄酮及粗多糖含量的比较($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 1 Comparison on contents of total flavonoids and crude polysaccharides in leaf of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Hjnisk from four test provenances in spring and autumn ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

种源 Provenance	总黄酮含量/(mg·g ⁻¹) Content of total flavonoids		粗多糖含量/(mg·g ⁻¹) Content of crude polysaccharides	
	春季 Spring	秋季 Autumn	春季 Spring	秋季 Autumn
湖南张家界国家森林公园 Zhangjiajie National Forest Park of Hunan Province	22.21±3.94Ba	24.17±3.38Aa	38.82±7.98Aa	28.54±5.24Ba
江西铜鼓县 Tonggu County of Jiangxi Province	21.21±2.87Ba	23.60±1.30Aab	33.52±4.18Aa	24.64±2.34Ba
江西修水县 Xiushui County of Jiangxi Province	20.36±1.84Bab	21.83±1.44Ab	27.42±3.69Ab	19.84±0.87Bb
安徽五溪山自然保护区 Wuxishan Nature Reserve of Anhui Province	18.23±1.83Bb	19.90±1.36Ac	23.59±4.78Ac	21.92±2.91Ab
平均值 Average	20.50±3.04B	22.38±2.61A	30.84±7.86A	23.74±4.71B

¹⁾ 同列中不同小写字母表示在同一季节不同种源间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among different provenances in the same season; 同行中不同大写字母表示在同一种源不同季节间差异显著($P<0.05$) Different uppercases in the same row indicate the significant ($P<0.05$) difference among different seasons from the same provenance.

保护区种源;江西铜鼓县种源次之,仅显著高于安徽五溪山自然保护区种源。

由表1可见:春季各种源青钱柳叶中粗多糖含量均高于秋季,且春季湖南张家界国家森林公园、江西铜鼓县和江西修水县种源叶中粗多糖含量显著高于秋季;春季叶中粗多糖含量平均值($30.84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)显著高于秋季($23.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。在春季和秋季,4个种源叶中粗多糖含量均表现为湖南张家界国家森林公园种源最高,江西省铜鼓县种源次之,且这2个种源叶中粗多糖含量显著高于江西修水县和安徽五溪山自然保护区种源。

3 讨论和结论

本研究结果表明:青钱柳叶中总黄酮和粗多糖含量在春季和秋季间以及不同种源间均存在显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)差异。在春季,青钱柳叶中总黄酮含量平均值($20.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)显著低于秋季($22.38 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),而粗多糖含量平均值($30.84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)却显著高于秋季($23.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。据此认为,若以青钱柳叶中总黄酮为主要有效成分开发抗菌、增强免疫等功效的产品,建议在秋季采摘叶片;若以青钱柳叶中粗多糖为主要有效成分开发降血糖、抗氧化等功效的产品,建议在春季采摘叶片。不论在春季还是秋季,湖南张家界国家森林公园和江西铜鼓县种源青钱柳叶中总黄酮和粗多糖含量均较高,并且这2个种源叶中粗多糖含量显著高于江西修水县和安徽五溪山自然保护区种源。春季和秋季湖南张家界国家森林公园和江西铜鼓县种源青钱柳叶中总黄酮含量明显高于同季节金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)叶中总黄酮含量($9.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^[17],并接近小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla* Lam)6月份叶中总黄酮含量($22.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^[18]。春季和秋季4个种源青钱柳叶中粗多糖含量平均值为 $22.76 \sim 33.68 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,均高于安徽舒城和四川沐川种源(分别为 12.20 和 $21.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^[19]。

综上所述,应根据青钱柳叶不同利用目标选择适宜的采摘时间,春季宜以粗多糖为利用目标,秋季宜以总黄酮为利用目标。并且,应将湖南张家界国家森林公园和江西铜鼓县种源作为青钱柳叶总黄酮和粗多糖利用研究的重点对象。

参考文献:

- [1] 尚旭岚,徐锡增,方升佐. 香草酸对青钱柳离体胚萌发过程中生理生化指标的影响及各指标的相关性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(4): 76-81.
- [2] 周明明,钱晨云,刘洋,等. 青钱柳叶片解剖结构及黄酮、三萜和多糖的组织化学定位观察[J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26(2): 107-109.
- [3] DENG B, SHANG X, FANG S, et al. Integrated effects of light intensity and fertilization on growth and flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60: 6286-6292.
- [4] 林源,陈培,周明明,等. 天然居群青钱柳叶主要生物活性物质及抗氧化活性研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(2): 10-16.
- [5] 岳喜良,秦健,洪香香,等. 氮素水平对青钱柳叶片主要次生代谢物含量和抗氧化能力的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(2): 35-42.
- [6] 邹荣灿,吴少锦,焦思棋,等. 不同产地青钱柳多糖的体外抗氧化及 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 25-29.
- [7] 李婷婷,吴彩娥,方升佐,等. 青钱柳冲剂对糖尿病小鼠的降血糖功效[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 287-290.
- [8] JIANG C, YAO N, WANG Q, et al. *Cyclocarya paliurus* extract modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity by inhibition of inflammation in mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 153: 344-351.
- [9] WANG X, ZHAO X, LV Y, et al. Extraction, isolation and structural characterization of a novel polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 864-870.
- [10] 王恒禹,刘玥,姜猛,等. 多糖在食品工业中的应用现状[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 431-438.
- [11] 柏明娥,王丽玲,王衍彬,等. 青钱柳叶片中活性成分含量的年动态变化[J]. 浙江林业科技, 2018, 38(5): 21-26.
- [12] 严志伟,徐志恒,钟子龙,等. 不同种源和不同基质对三叶青产量的影响[J]. 南方林业科学, 2019, 47(4): 27-30.
- [13] 夏和先,陈乃东,姚厚军,等. 不同种源的太子参多糖含量及其单糖组成GC-MS研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(4): 542-546.
- [14] 尚旭岚,徐锡增,方升佐. 青钱柳种子休眠机制[J]. 林业科学, 2011, 47(3): 68-74.
- [15] 张学英,章发盛,黄静,等. 青钱柳叶总黄酮检测方法的研究[J]. 农业与技术, 2018, 38(15): 49-53.
- [16] 杨勇,范罗嫡,胡明华,等. 青钱柳叶总黄酮、总三萜及粗多糖的快速检测方法研究[J]. 食品科技, 2018, 43(3): 272-277.
- [17] 张春东. 不同生长时期金银花茎和叶中总黄酮、绿原酸含量的变化观察[J]. 当代医药论丛, 2015, 13(10): 146-147.
- [18] 蒙秋霞,张丽珍,牛宇. 不同生长时期小叶锦鸡儿黄酮类化合物含量的变化动态[J]. 草地学报, 2011, 19(6): 943-947.
- [19] 粟君,方升佐,李彦. 温度及种源对青钱柳多糖含量的影响[J]. 林业科技开发, 2011, 25(2): 52-55.

(责任编辑:佟金凤)