

不同产地及采收时间青海产野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的比较

文怀秀, 邵 赟, 王启兰, 陶燕铎, 梅丽娟^①

(中国科学院西北高原生物研究所 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810008)

Comparison on total flavonoids content in leaf of wild *Lycium barbarum* at different locations and collection times in Qinghai Province WEN Huaixiu, SHAO Yun, WANG Qilan, TAO Yanduo, MEI Lijuan^① (Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(1): 107-109

Abstract: Total flavonoids content in leaf of wild *Lycium barbarum* Linn. from June to October at 15 locations from Haidong and Haixi districts in Qinghai Province was determined. The results show that there are obvious differences in total flavonoids content in leaf of wild *L. barbarum* at different locations and collection times. Total flavonoids content in leaf from 15 locations is 0.127% -3.443%, in which that from county town and Xiangride Town in Dulan County reaches 3.443% and 2.582%, respectively. Total flavonoids content in leaf from county town in Dulan County decreases gradually with delaying of collection time, that is higher in June and July (3.443% and 3.382%, respectively) and is the lowest in October (only 1.479%). The comprehensive analysis result shows that total flavonoids content in leaf of wild *L. barbarum* from Haixi District in Qinghai Province is higher, and the best collection time is June and July.

关键词: 宁夏枸杞; 叶片; 产地; 采收时间; 总黄酮含量

Key words: *Lycium barbarum* Linn.; leaf; location; collection time; total flavonoids content

中图分类号: S567.1⁺9; R284 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)01-0107-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.01.15

宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* Linn.) 为茄科 (Solanaceae) 枸杞属 (*Lycium* Linn.) 灌木, 为著名的药食两用植物, 其成熟果实为枸杞子, 具有滋补肝肾和益精明目等功效^{[1]232}; 其叶也是传统中药之一, 具有“除烦益志、补五劳七伤、壮心气、除热毒、散疮肿和除风明目”等功效, 民间常用枸杞叶制作药膳或药饮。相关化学成分的研究结果表明: 枸杞叶富含多种维生素、人体必需的氨基酸及矿质元素, 还含有黄酮类、萜类、甾类、生物碱及有机酸类等次生代谢成分^[2-3], 其中, 黄酮类化合物具有降血脂、降胆固醇、保肝抗炎以及雌激素样作用^[4]。宁夏枸杞叶片中的总黄酮含量与其清除 DPPH· 的能力呈极显著正相关^[5]; 枸杞叶片提取物中的黄酮类成分可抑制动物体内 MDA 的产生, 从而提高机体耐力并延缓疲劳的发生^[6]。近年来, 已有研究者对宁夏产枸杞叶片总黄酮的提取纯化工艺等进行了研究^[7-10], 但对青海产宁夏枸杞叶的相关研究较少。

为此, 作者对来源于青海不同产地及同一产地不同采收时间的野生宁夏枸杞叶片中的总黄酮含量进行了测定和比较, 以期确定青海产野生宁夏枸杞叶的最佳产地及最佳采收时间, 为青海产宁夏枸杞资源的开发利用提供实验数据, 也为进一步扩大黄酮类化合物药源提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试宁夏枸杞叶片均于 2011 年采自青海省, 具体产地和采收时间见表 1。原植物经中国科学院西北高原生物研究所梅丽娟高级工程师鉴定。每个产地随机选择 3 株样株, 分别采集一定量的新鲜叶片, 混合后阴干、研碎, 过 20 目筛, 待用。并分别于 2011 年 6 月至 10 月的各月上旬在海西州都兰县县城采集供试叶片, 首次采样后对所有样株进行标记, 每月定株采集叶片, 混合后阴干、研碎, 过 20 目筛, 待用。

主要仪器和试剂: Waters 高效液相色谱仪 (包括二元泵、手动进样器、二极管阵列检测器和柱温箱, 美国 Waters 公司); LxJ-D 型离心沉淀机 (涟水县电讯电机厂); RE-52 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); DZKW-C 型电子恒温水浴锅 (北京化玻联医疗器械公司)。槲皮素、山柰酚和异鼠李素对照品均购自中国药品生物制品检定所 (批号依次为 100081-200906、110861-200908 和 110860-200905), 纯度均在 98% 以上。色谱分析用甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

收稿日期: 2014-05-14

基金项目: 青海省“123”科技支撑工程项目 (2012-G-Q08A-6)

作者简介: 文怀秀 (1981—), 女, 青海平安人, 硕士, 助理研究员, 主要从事天然产物化学方面的研究。

^①通信作者 E-mail: meilijuan111@163.com

表1 供试青海产野生宁夏枸杞叶片的产地概况和采收时间

Table 1 Location status and collection time of leaf of wild *Lycium barbarum* Linn. tested in Qinghai Province

产地编号 ¹⁾ No. of location ¹⁾	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude	采收时间 Collection time	产地编号 ¹⁾ No. of location ¹⁾	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude	采收时间 Collection time
1	E102°42'42"	N36°21'38"	1 840	6月 June	11	E102°05'44"	N36°41'12"	2 540	6月 June
2	E102°40'07"	N36°24'23"	1 880	6月 June	12	E101°57'03"	N36°22'21"	2 510	6月 June
3	E102°33'45"	N36°25'58"	1 970	6月 June	13	E102°06'59"	N36°47'03"	2 720	6月 June
4	E102°27'13"	N36°27'21"	1 980	6月 June	14	E97°52'32"	N35°58'51"	3 100	6月 June
5	E102°16'23"	N36°28'44"	2 040	6月 June	15	E98°07'03"	N36°13'47"	3 280	6月 June
6	E102°03'08"	N36°39'19"	2 090	6月 June	16	E98°07'03"	N36°13'47"	3 280	7月 July
7	E102°05'45"	N36°31'11"	2 110	6月 June	17	E98°07'03"	N36°13'47"	3 280	8月 August
8	E101°52'34"	N36°40'55"	2 330	6月 June	18	E98°07'03"	N36°13'47"	3 280	9月 September
9	E101°55'35"	N36°48'10"	2 440	6月 June	19	E98°07'03"	N36°13'47"	3 280	10月 October
10	E101°05'44"	N36°37'32"	2 410	6月 June					

¹⁾1: 民和县松树乡 Songshu Township in Minhe County; 2: 乐都县高庙镇 Gaomiao Town in Ledu County; 3: 乐都县洪水乡 Hongshui Township in Ledu County; 4: 乐都县岗沟乡 Ganggou Township in Ledu County; 5: 乐都县高店镇 Gaodian Town in Ledu County; 6: 平安县平安镇 Ping'an Town in Ping'an County; 7: 互助县红崖子沟乡 Hongyazigou Township in Huzhu County; 8,9: 互助县塘川镇 Tangchuan Town in Huzhu County; 10,11: 互助县五十乡 Wushi Township in Huzhu County; 12: 平安县寺台乡 Sitai Township in Ping'an County; 13: 互助县丹麻镇 Danma Town in Huzhu County; 14: 都兰县香日德镇 Xiangride Town in Dulan County; 15-19: 都兰县县城 County town in Dulan County.

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 Thermo C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 V(甲醇):V(体积分数 0.1% H₃PO₄) = 50:50, 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 360 nm, 柱温 30 °C, 灵敏度 1.5 AUFS。

1.2.2 标准曲线绘制 分别取槲皮素、山柰酚和异鼠李素对照品适量, 精密称定后, 用甲醇配制成为槲皮素质量浓度为 40 μg · mL⁻¹、山柰酚质量浓度为 40 μg · mL⁻¹ 和异鼠李素质量浓度为 30 μg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。分别吸取混合对照品溶液 6、8、10、12、14 μL, 按上述色谱条件进行分析。以对照品进样量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)对标准曲线进行拟合。槲皮素标准曲线的回归方程为 $Y = 8\ 769\ 350\ 024X + 1\ 302\ 599$ ($r = 0.999\ 3$), 槲皮素含量在 0.06 ~ 0.14 μg 范围内呈良好的线性关系; 山柰酚标准曲线的回归方程为 $Y = 23\ 921\ 875\ 000X - 5\ 635$ ($r = 0.999\ 7$), 山柰酚含量在 0.06 ~ 0.14 μg 范围内呈良好的线性关系; 异鼠李素标准曲线的回归方程为 $Y = 13\ 076\ 005\ 695X - 162\ 182$ ($r = 0.999\ 9$), 异鼠李素含量在 0.054 ~ 0.126 μg 范围内呈良好的线性关系。

1.2.3 样品制备及色谱分析 取 1 g 样品粗粉置于索氏提取器中, 加约 120 mL 石油醚, 回流 2 h, 弃去提取液; 再加甲醇 120 mL, 回流提取 4 h, 提取液减压浓缩至干; 用 V(甲醇):V(体积分数 25% HCl) = 4:1 混合液 30 mL 溶解残渣, 并置于 80 °C 水浴中水解处理 30 min; 水解液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 并定容至 50 mL, 即得供试样品溶液。按照上述色谱条件进行分析, 进样量 10 μL。

1.3 数据处理

根据样品的峰面积、参照标准曲线计算样品中各黄酮类成分的含量; 并参照文献[1]297 中的方法计算总黄酮含量 (以总黄酮醇苷含量计), 计算公式为: 总黄酮含量 = (槲皮素

含量 + 山柰酚含量 + 异鼠李素含量) × 2.51。

2 结果和分析

2.1 不同产地宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的差异

采自青海不同产地的野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的测定结果见表 2。结果显示: 青海不同产地野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量有明显差异, 其中, 采自都兰县县城的叶片中总黄酮含量最高, 达到 3.443%; 其次为采自都兰县香日德镇的

表2 青海不同产地野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的比较

Table 2 Comparison on total flavonoids content in leaf of wild *Lycium barbarum* Linn. from different locations in Qinghai Province

产地编号 ¹⁾ No. of location ¹⁾	总黄酮含量/% Content of total flavonoids	产地编号 ¹⁾ No. of location ¹⁾	总黄酮含量/% Content of total flavonoids
1	0.350	9	0.474
2	1.087	10	0.374
3	1.030	11	0.192
4	0.127	12	0.523
5	1.823	13	1.612
6	0.149	14	2.582
7	1.037	15	3.443
8	0.182		

¹⁾1: 民和县松树乡 Songshu Township in Minhe County; 2: 乐都县高庙镇 Gaomiao Town in Ledu County; 3: 乐都县洪水乡 Hongshui Township in Ledu County; 4: 乐都县岗沟乡 Ganggou Township in Ledu County; 5: 乐都县高店镇 Gaodian Town in Ledu County; 6: 平安县平安镇 Ping'an Town in Ping'an County; 7: 互助县红崖子沟乡 Hongyazigou Township in Huzhu County; 8,9: 互助县塘川镇 Tangchuan Town in Huzhu County; 10,11: 互助县五十乡 Wushi Township in Huzhu County; 12: 平安县寺台乡 Sitai Township in Ping'an County; 13: 互助县丹麻镇 Danma Town in Huzhu County; 14: 都兰县香日德镇 Xiangride Town in Dulan County; 15: 都兰县县城 County town in Dulan County.

叶片,总黄酮含量也达到2.582%;采自乐都县岗沟乡的叶片中总黄酮含量最低,仅为0.127%。

2.2 不同采收时间宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的差异

6月份至10月份采自青海省都兰县县城的野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的测定结果见表3。结果显示:不同采收时间野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量有明显差异,其中,6月份总黄酮含量最高,达到3.443%;10月份最低,仅为1.479%;总体上看,青海产野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量随采收时间的延后(6月份至10月份)呈逐渐降低的趋势。

表3 不同采收时间青海产野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量的比较
Table 3 Comparison on total flavonoids content in leaf of wild *Lycium barbarum* Linn. from Qinghai Province at different collection times

采收时间 Collection time	总黄酮含量/% Content of total flavonoids
6月 June	3.443
7月 July	3.382
8月 August	2.250
9月 September	2.047
10月 October	1.479

3 讨论和结论

本研究涉及的15个野生宁夏枸杞产地主要分布在青海省的海东地区(1至13号样品)和海西地区(14和15号样品),这2个区域的野生宁夏枸杞叶片中的总黄酮平均含量分别为0.689%和3.012%,差异达显著水平,这一现象可能与这2个区域的气候条件和土质等环境因素的差异有关。海西地区地处柴达木盆地,该地是青海产野生宁夏枸杞中心分布区之一^[11],独特的土壤和气候条件特别适合宁夏枸杞生长,也有利于野生宁夏枸杞中次生代谢产物的合成和积累;而海东地区的13个产地相对较集中,也是青海省人口分布较为密集的地区,且本研究的采样点多在公路沿线,宁夏枸杞的生长环境受较大干扰,有可能导致野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量相对较低。另外,本研究所选的产地海拔落差较大,各产地间海拔落差最大可达到1340m,但进一步的分析结果显示野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量与产地海拔并无直接的相关性。此外,在青海海西地区都兰县县城,6月份和7月份采收的野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量较高,10月份采收的最低。笔者

的前期研究结果^[12]也显示西宁市的宁夏枸杞叶片总黄酮含量在入秋后呈下降趋势。

综合分析结果表明:产自青海海西地区的野生宁夏枸杞叶片中总黄酮含量较高,且以6月份和7月份为最佳采收期。青海海西地区的野生宁夏枸杞分布面积大、结果率较低,目前其果实和叶片尚处于自然生长和凋落的状态,资源并未得到有效利用。因而,本研究结果可为青海海西野生宁夏枸杞的进一步开发利用提供实验依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 邹耀洪. 枸杞叶的黄酮类化学成分[J]. 分析测试学报, 2002, 21(1): 76-78.
- [3] 张华峰, 杨晓华. 枸杞叶的生物活性成分及其在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 369-373.
- [4] 周新, 李宏杰. 黄酮类化合物的生物活性及临床应用进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(5): 350-355.
- [5] 牛东玲, 马婷婷, 张自萍. 宁夏枸杞叶中总黄酮含量与抗氧化活性关系[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2012, 33(1): 55-57.
- [6] 黄欣, 赵海龙. 枸杞总黄酮对运动小鼠腓肠肌抗氧化能力的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(15): 2280-2281, 2400.
- [7] 张芦燕, 贺凯, 马玲, 等. HPLC法测定枸杞叶中芦丁的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 858-860.
- [8] 雍晓静, 刘钢, 张境. 应用大孔树脂分离纯化枸杞叶总黄酮的研究[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2005, 26(2): 148-150.
- [9] 刘兰英, 曹有龙, 赵友谊. 枸杞叶黄酮纯化工艺研究[J]. 食品科技, 2009, 34(8): 134-137.
- [10] 马婷婷, 王忠忠, 牛东玲. 宁夏枸杞叶总黄酮提取和纯化方法的优化[J]. 植物科学学报, 2012, 30(6): 644-650.
- [11] 郭辉, 沈宁东. 柴达木盆地产枸杞的资源状况及其栽培繁育研究进展[J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 2009(1): 62-66.
- [12] 文怀秀, 邵赞, 蒋福全, 等. 不同采收期宁夏枸杞叶中总黄酮含量的比较[J]. 植物资源与环境学报, 2006, 15(3): 75-76.

(责任编辑: 张明霞)