

竹叶黄酮化合物季节变化规律

吕兆林¹ 任美玲² 欧阳屹林² 林 西² 张柏林²

(1 北京林业大学分析测试中心 2 北京林业大学生物科学与技术学院)

摘要:对毛竹、苦竹、绿竹及黄甜竹竹叶黄酮类化合物一年四季变化规律的研究表明 4 种竹叶总黄酮含量在 3 ~ 13.1 mg/g 干竹叶之间;从秋季、冬季、春季至夏季 4 种竹叶总黄酮含量呈上升的趋势,每种竹叶中主要黄酮化合物的含量变化与该种竹叶总黄酮变化的趋势一致。竹叶中所含黄酮化合物的种类与竹种有关,毛竹叶中以单碳苷黄酮居多,苦竹叶中氧碳双苷及双碳苷黄酮占的比例较高,绿竹叶中双碳苷黄酮占的比例较高,黄甜竹叶中氧碳双苷黄酮占的比例较大,不同类型的黄酮化合物含量从秋季至夏季的变化幅度不等。

关键词: 竹叶;黄酮化合物;季节;变化规律

中图分类号: S795;S718.43 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2011)04-0081-04

LÜ Zhao-lin¹; REN Mei-ling²; OUYANG Yi-lin²; LIN Xi²; ZHANG Bo-lin². **Seasonal variations of flavonoid contents in leaves of four of bamboo species.** *Journal of Beijing Forestry University* (2011) **33**(4) 81-84 [Ch, 14 ref.]

1 The Analysis Center, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China;

2 College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

We reported the seasonal variations of flavonoid compounds in leaves of four bamboo species, i. e., *Phyllostachys heterocycla*, *Pleioblastus amarus*, *Dendrocalamopsis oldhami* and *Acidosasa edulis*. The contents of total flavonoids (TF), independent of bamboo species, increased from 3 to 13.1 mg per gram of dry leaf weight as leaves developed. TF showed an upward trending from autumn to summer. For each species, the levels of major flavonoid compounds in leaves showed a similar seasonal change with that of TF. The total types of flavonoid compounds varied among the four bamboo species: *Phyllostachys heterocycla* contained more mono-C-glycosylflavones, *Pleioblastus amarus* contained more O, C-diglycosylflavones and di-C-glycosylflavones, di-C-glycosylflavones were rich in *Dendrocalamopsis oldhami*, and O, C-diglycosylflavones were rich in *Acidosasa edulis*.

Key words bamboo leaves; flavonoid; seasons; content variation

近年的研究表明,竹叶提取物具有明显的抗癌活性、降血脂和降血清胆固醇的作用、较好的清除活性氧自由基的能力、显著的抗衰老和抗疲劳作用^[1]。中国是世界上竹类资源最丰富的国家之一,现有竹林面积约 500 万hm²,占世界第 1 位^[2-4]。竹叶中重要活性成分与竹叶内在质量存在密切关系,竹叶优异的生物活性功能归因于它富含黄酮类化合物等有效活性成分^[5-8],竹叶黄酮含量被看作是评价竹子内在质量的依据之一^[9],然而有关竹叶黄酮随竹种、地域、季节、采集时间及采集部位等因素变

化的报道,特别是涉及到竹叶黄酮化合物结构的研究非常有限。

本研究选择了禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoideae)刚竹属的毛竹(*Phyllostachys heterocycla*)、禾本科大明竹属的苦竹(*Pleioblastus amarus*)、禾本科绿竹属的绿竹(*Dendrocalamopsis oldhami*)以及竹亚科酸竹属的黄甜竹(*Acidosasa edulis*)4种竹作为实验材料^[10-13],研究了4种竹叶黄酮化合物总黄酮及其中主要黄酮化合物,以期竹类植物的选种、育种和适宜的竹叶采集时间的确

收稿日期:2011-01-22

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划课题(2006BAD19B08)、中央高校基本科研业务费专项资金(JD2010-3)、国家自然科学基金项目(30500349)。

第一作者:吕兆林,博士,副教授。主要研究方向:天然产物提取与加工利用。电话:010-62338346-55 Email: zhaolinlv@bjfu.edu.cn 地址:100083 北京市清华东路 35 号北京林业大学 154 信箱。

责任作者:张柏林,教授,博士生导师。主要研究方向:食品生物技术。电话:010-62336154 Email: zhangbolin888@126.com 地址:同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

定、合理利用竹叶资源及制备高含量竹叶黄酮提供指导。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

毛竹、苦竹、绿竹及黄甜竹叶采自福建省南平市延平区樟湖镇,每竹种采集地面积约2 000 m²,采集植株为2年生竹子,采样之前对同一发育期的叶片进行标记。采样时间为2007年9月中旬(秋季)、2007年12月中旬(冬季)、2008年3月中旬(春季)和2008年6月中旬(夏季)。采下标记好的叶片,自然风干,弃去破损叶,用粉碎机粉碎至10目,放入封口塑料袋中密封,4℃冷藏,备用。

苳草苷标准物于中国药品生物制品检定所,甲醇、乙腈为Fisher色谱纯试剂,甲酸为分析纯试剂,水为重蒸水。

1.2 样品提取及溶液制备

1.2.1 标准溶液的制备

准确称取20.0 mg苳草苷标准品,用甲醇水溶液溶解样品,定容至50 mL容量瓶中,分别配制6个不同浓度的苳草苷标准溶液,标准溶液中苳草苷的浓度分别为200、100、52、25、12.5和6.25 mg/L。

1.2.2 样品溶液的提取制备

准确称取粉碎至10目的不同种、不同季节的竹叶样品10 g,于250 mL圆底烧瓶中,加入175 mL甲醇水溶液,浸泡2 h,放入电热套中,加热回流3 h后,停止加热并冷至室温,将烧瓶中料液用甲醇水溶液补充至恒重,提取液经过滤,放入冰箱4℃冷藏保存。每样品重复3次。提取液在HPLC检测之前需用0.25 μm微孔滤膜进行过滤。

1.3 HPLC工作条件

岛津LC-10ATvp液相色谱仪,双泵,二级管阵列检测器,class-vp数据处理系统;C18液相色谱柱(250 mm × 4.6 mm × 5 μm);波长扫描210~500 nm,检测波长340 nm;流动相A为V(乙腈):V(甲醇)=80:95(含0.1%乙酸);流动相B为0.1%乙酸水溶液;流速0.8 mL/min;恒温柱箱40℃;进样体积20 μL;80%流动相B等度洗脱12 min,12~25 min流动相B由80%梯度降至50%,25~35 min流动相B由50%梯度降至0,35~40 min流动相B由0再梯度升至80%,并保持5 min。

1.4 竹叶黄酮化合物含量计算

采用苳草苷为定量标准物,利用外标法对竹叶提取液中黄酮类化合物进行定量。每克干竹叶中含有的黄酮化合物计算公式为:

黄酮化合物含量 =

$$\frac{\text{提取液黄酮化合物浓度} \times \text{提取液体积}}{\text{干叶质量}}$$

1.5 统计分析

用Originpro 8.0 (SR4 v.0951)进行统计学分析,数据为平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm SD$), $\alpha = 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 4种竹叶黄酮化合物组成

为了更好地研究竹叶中黄酮化合物的变化规律,我们在以往的研究中已利用配二极管阵列检测器的高效液相色谱/四级杆-飞行时间/串联质谱联用仪(HPLC-DAD/Q-TOF/MS/MS)对4种竹叶黄酮化合物做了定性研究,即得到4类黄酮化合物,M7、M8、M10、M11、L10、L14、L15为单碳苳草苷黄酮化合物,K8、K11、K16、K20、H14为双碳苳草苷黄酮化合物,M15、K7、K14、K22、L12、L16、H13、H15、H16、H17、H19、H22为氧碳双苳草苷黄酮,M14、K18、L9、H18为氧苳草苷黄酮化合物^[14]。4种竹叶黄酮提取物在340 nm波长的液相色谱图见图1,本文对4种竹叶中含量较高的上述28种黄酮化合物进行研究。

2.2 竹叶总黄酮含量变化规律

本研究首先考察了4种竹叶中总黄酮化合物的变化规律,结果见图2。

从图2可看出4种竹叶总黄酮(total flavonoid, TF)随季节的变化有着相同的趋势,即在秋、冬季节,TF含量偏低;春、夏季节TF上涨。

对毛竹叶而言,TF在一年四季中的变化幅度最小,在2.2~4.5 mg/g之间,冬季含量最低,与其他季节相比差异显著($P < 0.05$);峰值在夏季,与冬季、春季相比差异显著($P < 0.05$)。

绿竹叶TF随着秋、冬、春、夏上涨的趋势最明显。同样,在夏季TF达到最大,约为10.0 mg/g,与其他季节相比呈显著差异($P < 0.05$),春季TF含量次之,最低值出现在秋季,含量为3.2 mg/g,约是夏季的1/3。

黄甜竹叶TF亦随着秋、冬、春、夏四季的到来而上涨,只是上涨的幅度较黄甜竹小,由秋季的3.8 mg/g涨至夏季的8.0 mg/g。

对苦竹叶而言,TF变化走势与毛竹相似,最低点在冬季,为4.0 mg/g;峰值同样在夏季,达到了13.1 mg/g;冬季到春季的上涨最强,由3.7 mg/g涨至夏季的11.3 mg/g。

综上,一年中,从秋季、冬季、春季至夏季,竹叶中TF随着叶片的发育和成熟呈增加的趋势。

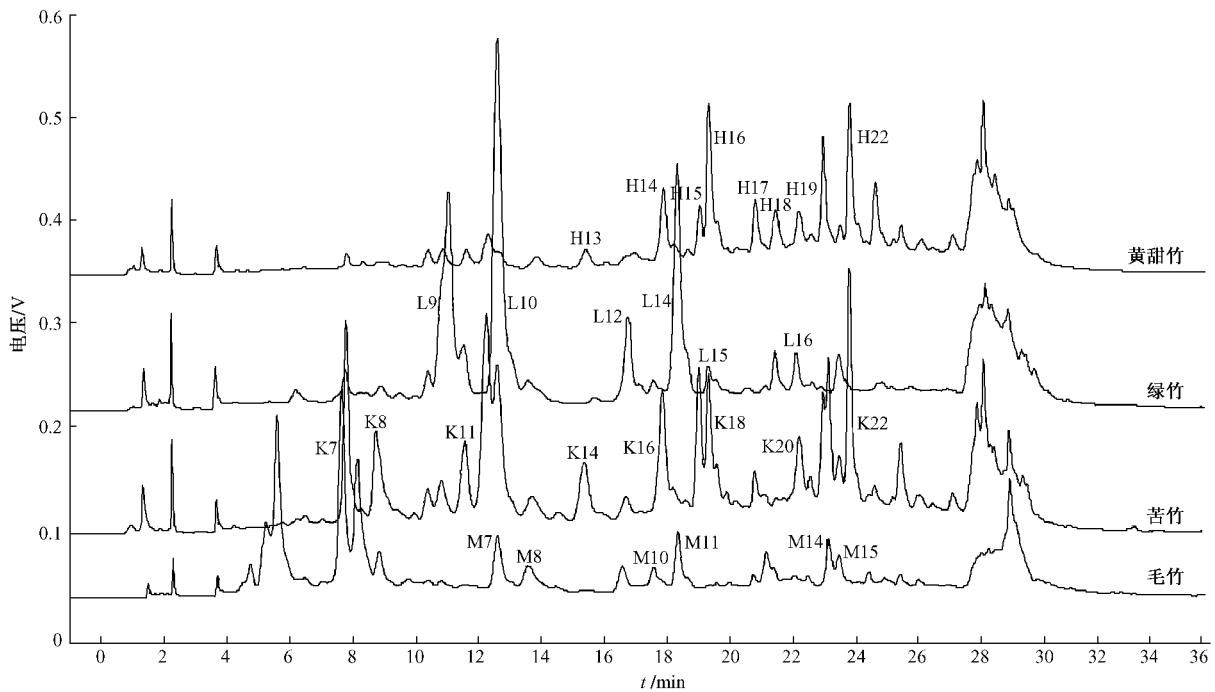


图 1 4 种竹叶黄酮化合物 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC finger chromatograph of flavonoids obtained from leaves of four bamboo species

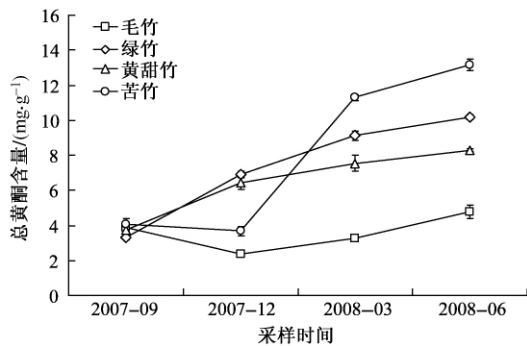


图 2 4 种竹叶总黄酮随季节变化曲线

Fig. 2 Variation of contents of total flavonoids in different seasons

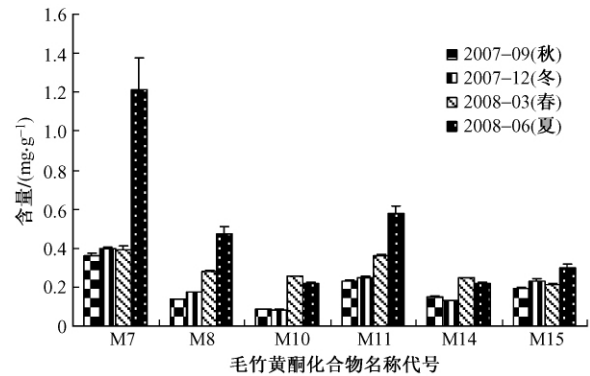


图 3 不同季节毛竹叶主要黄酮化合物含量变化

Fig. 3 Variation of contents of flavonoid compounds in *Phyllostachys heterocycla* leaves over the entire growing months

2.3 不同季节毛竹叶中主要黄酮化合物含量变化

从图 3 可以看出,毛竹叶中主要黄酮化合物的变化趋势与 TF 的变化趋势基本相符,仅有 M10 和 M14 峰值不在夏季,而在春季,推测这两种物质在春季得以蓄积有利于夏季的生长,毛竹在夏季的生长过程中会消耗 M10 和 M14。毛竹叶中单碳苷黄酮较多,其中 M7、M8、M10、M11 均为单碳苷黄酮化合物。M7、M8 和 M11 在总黄酮中占的比例较高,约占 25%、10% 和 12%,而 M10、M14 和 M15 在总黄酮中占的比例相对较小,约占 5%、5% 和 7%。M7 在夏季达到了 1.2 mg/g,是其他季节的 3 倍左右,且 M7 的上升幅度大于 M8、M11 和 M15。

2.4 不同季节苦竹叶黄酮化合物含量变化

苦竹叶中氧碳双苷黄酮占 17.5%,双碳苷黄酮占 18.5%。氧苷占 4.5%。从图 4 可以看出,苦竹叶黄酮化合物的变化趋势与总黄酮的变化趋势是一

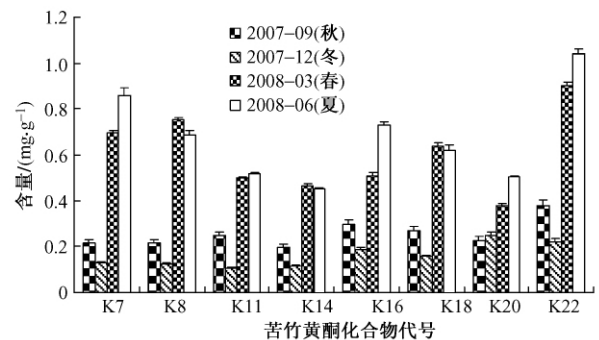


图 4 不同季节苦竹叶主要黄酮化合物含量变化

Fig. 4 Variation of contents of flavonoid compounds in *Pleioblastus amarus* leaves in different months

致的,即随着单个化合物含量的增大,总黄酮的量也呈现增加的趋势。K7、K8、K18、K22 和 K16 在总黄酮中占的比例较高,而 K11、K14 和 K20 在总黄酮中

占的比例略小于前者。双碳苷黄酮化合物 K8 的峰值出现在春季,夏季相比差异显著($P < 0.05$)。

2.5 不同季节绿竹叶黄酮化合物的含量比较

从图5可以看出,除L15、L16外,绿竹叶黄酮化合物的变化趋势与总黄酮的变化趋势是一致的,即随着单个化合物含量的增大,总黄酮的量也呈现增加的趋势。绿竹叶中氧碳双苷黄酮占8%,双碳苷黄酮占42%,氧苷占9%。L9、L10和L14在总黄酮中占的比例较高,而L12、L15和L16在总黄酮中占的比例较小。

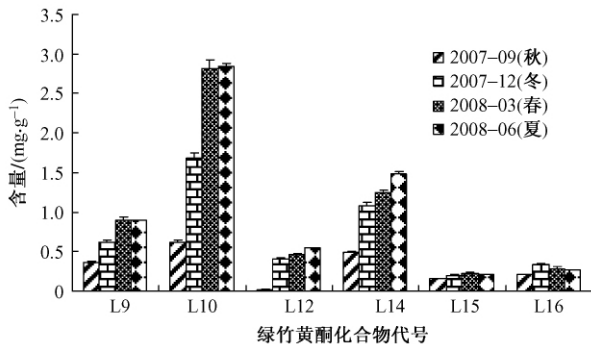


图5 不同季节绿竹叶主要黄酮化合物含量变化

Fig. 5 Variation of contents of flavonoid compounds in

Dendrocalamopsis oldhami leaves over the entire growing months

2.6 不同季节黄甜竹叶黄酮化合物的含量比较

黄甜竹叶中氧碳双苷黄酮占32.5%,碳碳双苷黄酮占4.5%,氧苷占3.4%。从图6可以看出,H14、H16、H17和H22比例较高,约占总黄酮中的4.5%、8.2%、8.2%和10%,而H13、H15、H18和H19在总黄酮中占的比例较小,占2%、1.8%、3.4%和2.3%。黄酮化合物H13、H17峰值出现在春季,H22峰值在冬季,其余黄酮化合物峰值均在夏季。

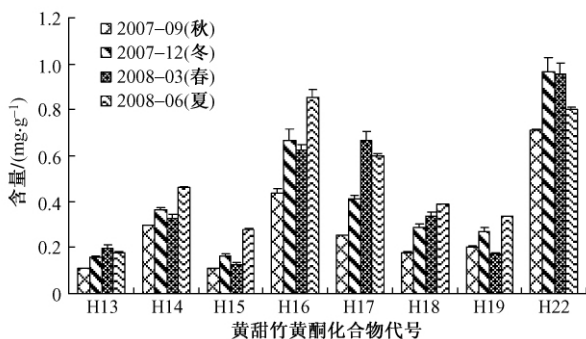


图6 不同季节黄甜竹叶主要黄酮化合物含量变化

Fig. 6 Variation of contents of flavonoid compounds in

Aidosasa edulis leaves over the entire growing months

3 结 论

1) 以HPLC技术对竹叶黄酮化合物随四季和种的变化进行跟踪表明,竹叶总黄酮含量在3~13.1 mg/g之间;从秋季、冬季、春季至夏季4种(毛竹、苦竹、绿竹及黄甜竹)竹叶总黄酮含量呈上升的趋

势,即随着叶片的发育和成熟,竹叶中总黄酮的含量一直增加。4种竹叶总黄酮峰值均在夏季。

2) 4种竹叶中主要黄酮化合物含量的变化与该种竹叶总黄酮变化趋势一致,不同种的竹叶所含化合物种类有所差异,其中毛竹叶中以单碳苷黄酮居多,苦竹叶中氧碳双苷及双碳苷黄酮占的比例较高,绿竹叶中双碳苷黄酮占的比例较高,黄甜竹叶中氧碳双苷黄酮占的比例较大;4种竹叶中不同类型的黄酮化合物从秋季至夏季的含量变化有所不同。不同种类黄酮化合物在竹叶的生长过程中起着什么样的作用,有待深入研究。

与竹叶黄酮化合物有关资料与数据的收集与积累,是竹子品质甄别、改良及资源综合利用的前提,我们的研究结果可为今后竹类植物的选种、育种及适宜竹叶采集时间的确定奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 李飞跃, 喻国光, 陈金珠, 等. 竹叶主要化学成分分析及其生物活性研究现状[J]. 江西林业科技, 2006(4): 34-36.
- [2] 刘翠. 竹叶资源研究进展及开发利用[J]. 林业建设, 1999(6): 10-14.
- [3] 傅懋毅, 杨校生. 我国竹类研究展望和竹林生境利用[J]. 竹子研究汇刊, 2003, 22(2): 1-8.
- [4] 吕兆林, 李月琪, 秦娇, 等. 毛竹叶挥发油的提取方法[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(4): 135-139.
- [5] LU B Y, WU X Q, TIEX W, et al. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bamboo leaves[J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43(5): 783-792.
- [6] LU B Y, WU X Q, SHI J Y, et al. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 2: Developmental toxicity test in rats with antioxidant of bamboo leaves[J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 4(10): 1739-1743.
- [7] HU C, ZHANG Y, KITTS D D. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. *henonis* leaf extract in vitro[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(8): 3170-3176.
- [8] 张凌云. 竹叶黄酮的研究与应用进展[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 247-249, 236.
- [9] 张英, 吴晓琴, 俞卓裕. 竹叶和银杏叶总黄酮含量及其抗自由基活性的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(4): 254-257, 320.
- [10] 胡明芳. 福建竹类植物生物多样性的现状、保护和利用[J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(4): 33-38.
- [11] 梁春元. 黄甜竹的开发利用及其栽培技术[J]. 福建农业科技, 2006(3): 37-38.
- [12] 朱勇. 中国绿竹文献研究[J]. 世界竹藤通讯, 2008, 6(4): 32-34.
- [13] 王学利, 吕健全, 章一德. 苦竹叶挥发油成分的分析[J]. 浙江林学院学报, 2002, 19(4): 387-390.
- [14] 吕兆林. 竹叶黄酮和挥发油的制备及生物活性的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.

(责任编辑 赵 勃)