

· 研究报告 ·

荷花花粉的类黄酮组成

吴倩¹, 邵帅¹, 李珊珊^{2,3}, 张会金², 王亮生^{2*}

¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²中国科学院北方资源植物重点实验室/中国科学院植物研究所北京植物园, 北京 100093

³中国科学院大学, 北京 100049

摘要 利用超高效液相色谱质谱联用(I-Class UPLC/Xevo TQ MS)技术, 对50个品种荷花干燥花粉中的类黄酮代谢产物进行了分离及结构鉴定。结果表明, 在荷花(*Nelumbo nucifera*)花粉中检测到了13种黄酮醇和2种黄酮, 这15种类黄酮化合物均为首次从荷花花粉中检出, 其中槲皮素3-O-葡萄糖醛酸苷(querletin 3-O-glucuronide)、槲皮素3-O-新橙皮糖苷(querletin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside)以及槲皮素3-O-阿拉伯糖-(1→2)-半乳糖苷(querletin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside)含量较高, 且在所有品种中均有检出。不同品种花粉中检测到的类黄酮总含量(TF)差异较大, 绯云千叶类黄酮总含量最高, 为281.08 mg·100 g⁻¹; 仙女散花最低, 仅为82.64 mg·100 g⁻¹。通过聚类分析, 将50个品种聚为4组, B组类黄酮化合物种类最多, 而且该组总类黄酮含量最高, 其中绯云千叶、伯里小姐和蜀红莲的干燥花粉中总类黄酮含量均超过200 mg·100 g⁻¹, 可推荐为采集荷花花粉用的优良品种。

关键词 荷花, 花粉, 超高效液相色谱, 类黄酮, 槲皮素

吴倩, 邵帅, 李珊珊, 张会金, 王亮生 (2015). 荷花花粉的类黄酮组成. 植物学报 50, 721–732.

花粉作为植物的精华, 包含了维生素、氨基酸、矿物质和糖类等200多种营养成分, 被称为完全营养食品, 具有较强的抗氧化活性, 可用于抗菌消炎, 且对高血脂、高血压和前列腺炎等疾病具有显著的疗效(王开发, 2004; 樊柏林等, 2006; 饶剑等, 2014; Pascoal et al., 2014; Ulusoy and Kolayli, 2014)。类黄酮化合物是植物次生代谢产物, 具有较强的抗氧化、抗免疫及抗菌活性, 还具有抗疲劳、抑菌、减肥降脂和保肝等多重功效(林宣贤, 2007; Agnihotri et al., 2008; Zhang et al., 2009; Huang et al., 2010; Kredy et al., 2010; Kim and Shin, 2012; Qi and Zhou, 2013)。花粉中含有丰富的类黄酮, 可促进花粉萌发和花粉管生长, 并且对花粉的药用活性贡献很大(Markham and Campos, 1996)。研究花粉中类黄酮成分, 可用于对花粉产品进行分级。目前, 花粉类黄酮成分研究多集中于花粉总类黄酮含量的测定。由于不同植物花粉类黄酮组成差异较大, 利用色谱方法分析花粉中类黄酮组成, 有助于更深入地了解不同植物花粉的药用活性和应用价值(Ferreres et al., 2010; Tao et al., 2011; 郭丽梅和王盼盼, 2013)。

莲(*Nelumbo*), 莲科莲属, 又名荷花、芙蕖等, 是原产我国的多年生水生草本植物, 在中国已有近5 000年的栽培历史(张行言, 2011)。莲因其花大色艳、花叶清香以及其出淤泥而不染的品性, 自古以来就深受人们的喜爱, 是中国十大传统名花之一。莲在我国分布广泛, 栽培面积大, 品种繁多。荷花花粉作为新兴食用花粉, 营养丰富, 具有抗氧化、降血脂、护血管、预防癌症和润肤美容的功效, 深受大众欢迎(蒋枫等, 2007)。阐明荷花花粉中类黄酮化合物的成分和含量, 对揭示荷花花粉中的类黄酮代谢途径及其药理活性具有重要的意义, 并且为荷花花粉的分级提供理论依据。目前, 针对我国传统中药蒲黄和松花粉中的类黄酮研究较为深入, 但对荷花花粉中所含的类黄酮成分研究较为简单, 仅见其总黄酮含量的测定(董捷等, 2008; 阮征等, 2008; Ferreres et al., 2010; Tao et al., 2011)。因此, 有必要运用更先进的分析手段鉴定荷花花粉中类黄酮的分子结构, 准确测定各个品种花粉中的类黄酮含量, 进而有助于深入探讨荷花花粉中类黄酮的代谢途径, 明确荷花花粉的药理活性和应用价值。

收稿日期: 2014-11-15; 接受日期: 2015-04-26

基金项目: 国家自然科学基金(No.31471910)

* 通讯作者。E-mail: wanglsh@ibcas.ac.cn

超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)于2004年提出并应用,与高效液相色谱(HPLC)相比,它具有较高的柱效,且柱效能在较宽的线性范围内保持恒定,可以大大缩短分析时间,而且峰容量、分析效率和灵敏度也有了很大的提高。如今,超高效液相色谱技术已广泛应用于样品活性物质的分离分析、代谢组筛选和痕量化学残留检测等(高金娃等, 2006; Want et al., 2010; Vander-Molen et al., 2013; Klimczak and Gliszczynska-Świgło, 2015)。本实验以50个不同品种的荷花干燥花粉为材料,利用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱联用(ultra performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry, I-Class UPLC/Xevo TQ MS)技术快速分析和鉴定花粉中类黄酮成分,并对类黄酮含量进行测定,以期选育花粉中类黄酮含量较高的荷花品种及荷花花粉商品化分级提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料与试剂

荷花(*Nelumbo nucifera* Gaertn)花粉采自中国科学院植物研究所北京植物园荷花种质资源圃(39°48'N, 116°28'E, 海拔76 m),共50个品种。于日均气温达10–12°C时翻盆,长出立叶后开始追肥,平均15天1次,使用复合肥或有机肥,栽培土壤使用沙性河泥土,同时保持水面高出土壤10 cm左右,种植于相同尺寸的荷花缸中(直径40 cm,高30 cm),已在荷花种质资源圃中种植达3年以上。同一品种采集3个不同单株第1天开放的荷花雄蕊,自然阴干,过筛后收集花粉,存入干燥器。

黄酮醇标准品芦丁购自中国药品生物制品检定所。有机溶剂(包括分析纯甲醇等)购自北京化工厂。色谱纯甲醇和乙腈购于美国Fisher公司,色谱纯甲酸购于上海安谱科学仪器有限公司。UPLC级水由Milli-Q超纯水系统(Millipore, Billerica, MA, USA)制备。

1.2 花粉破壁处理

采用液氮淬冷法对收集的荷花花粉进行破壁处理:准确称取花粉50 mg,放入液氮中淬冷5分钟,再将样品置于水浴锅中95°C水浴5分钟,重复3次(周顺华等, 2002)。

1.3 类黄酮定性和定量分析

1.3.1 类黄酮化合物的提取

在破壁后的样品中加入70%甲醇水提取液,振荡后置于超声清洗器中,20°C超声20分钟,然后离心(10 000 \times g) 10分钟,收集上清液。当上清液无色时,提取结束,提取总体积为3 mL。将收集到的抽提液混合,用0.22 μ m孔径的尼龙微孔滤器过滤,保存于–40°C冰箱中。

1.3.2 类黄酮定性分析

抽提液样品使用I-Class UPLC (Waters, 美国)色谱仪进行分离分析。色谱柱为ACQUITY UPLC HSS C₁₈分析柱(2.1 \times 100 mm, 1.7 μ m)。流动相水相(A相)为10%甲酸水,有机相(B相)为10%甲酸乙腈。分析条件:流速0.4 mL \cdot min⁻¹,柱温35°C,样品温度10°C,进样体积为1.0 μ L,扫描波长范围200–600 nm,定量波长为350 nm。线性洗脱梯度:0分钟,5%B;1.0分钟,17%B;4.0分钟,27%B;4.1分钟,90%B;5.0分钟,90%B;5.1分钟,5%B;7.0分钟,5%B。

质谱分析条件:电喷雾离子化(ESI),正负离子模式,全离子扫描,扫描范围(m/z):50–1 000 u,毛细管电压为1 500 V,干燥气(N₂)流速500 L \cdot h⁻¹,干燥温度350°C,毛细管出口电压为30 V,锥孔气流50 L \cdot h⁻¹,碰撞气体流速0.15 mL \cdot min⁻¹。用MassLynx软件分析质谱结果。

1.3.3 类黄酮定量分析

在上述液相色谱条件下,利用I-Class UPLC在350 nm下检测荷花干燥花粉中类黄酮总含量(total flavonoid contents, TF) (mg \cdot 100 g⁻¹)。采用标准品半定量法分别计算每100克干燥花粉中含有的相对于标准品的类黄酮总含量,并计算每个品种的各类黄酮组分的含量(mg \cdot 100 g⁻¹),以比较各品种之间类黄酮组分的差异。

1.4 数据分析

用SPSS 21.0软件对数据进行聚类分析。

2 结果与讨论

2.1 类黄酮定性分析

利用I-Class UPLC/Xevo TQ MS对50个品种的荷花

干燥花粉进行类黄酮成分检测, 共检测到15个化合物, 其UPLC色谱图(350 nm)如图1所示。

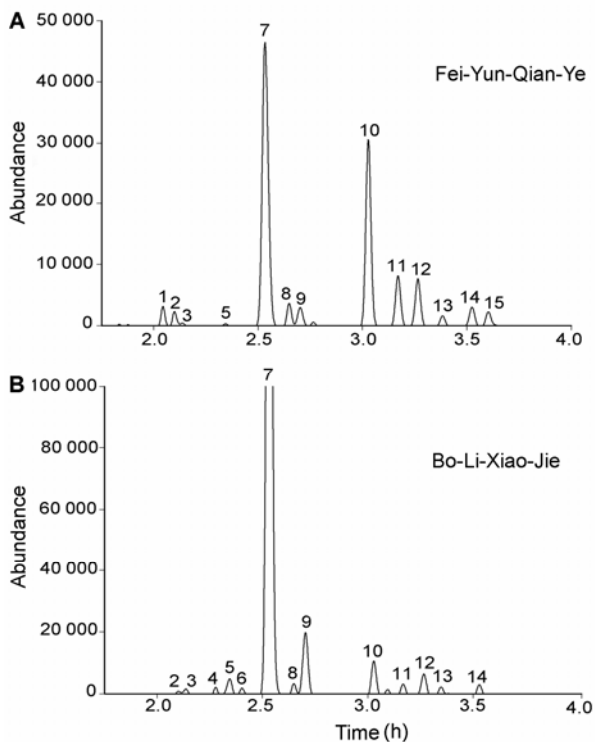


图1 绯云千叶(A)和伯里小姐(B)花粉类黄酮UPLC图谱
检测波长为350 nm, 其中伯里小姐花粉类黄酮UPLC图谱放大4倍。

Figure 1 The UPLC profiles of flavonoids glycosides in pollen of Fei-Yun-Qian-Ye (A) and Bo-Li-Xiao-Jie (B)
The detection wavelength is 350 nm, and the Bo-Li-Xiao-Jie's is enlarged 4 times.

在I-Class UPLC/Xevo TQ MS负离子模式下, 分子离子可以进一步被打碎, 得到二级甚至三级碎片离子, 这些碎片离子对类黄酮结构的鉴定有很大作用。表1列出了荷花花粉黄酮和黄酮醇的特征数据, 包括保留时间、最大吸收波长和质谱数据。据此, 在50个品种的荷花花粉中鉴定出15种黄酮和黄酮醇物质, 包括13种黄酮醇和2种黄酮。其化学结构式如图2。

1号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度的离子 m/z 493[M-H]⁻和苷元离子 m/z 316[A-2H]⁻、 m/z 317[A-H]⁻, 且316[A-2H]⁻离子丰度大于 m/z 317[A-H]⁻, (+)ESI-MS正离子模式下有离子 m/z 495

[M+H]⁺和苷元离子 m/z 319[A+H]⁺。二级质谱丢失了苷元离子 m/z 317[A-H]⁻以及糖基碎片176, 据此可推定1号峰为杨梅酮单糖苷。在黄酮醇3-O单糖苷中, 自由基苷元离子[A-2H]⁻的丰度大于苷元离子[A-H]⁻(Ablajian et al., 2006)。综上, 峰1被鉴定为Myricetin 3-O-glucuronide, 此化合物曾在荷花花瓣、雄蕊、雌蕊、花托、莲房、种皮、莲子和花柄中报道过(Chen et al., 2012a; Deng et al., 2013; Li et al., 2014)。

2号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度的离子 m/z 479[M-H]⁻和苷元离子 m/z 316[A-2H]⁻, 在(+)-ESI-MS正离子模式下有离子 m/z 481[M+H]⁺和苷元离子 m/z 319[A+H]⁺。二级质谱丢失了苷元离子 m/z 316[A-2H]⁻以及糖基碎片162。所以峰2被鉴定为Myricetin 3-O-glucoside, 该化合物曾在荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、雌蕊、莲房、种皮、叶柄和花柄中报道过(Ohkoshi et al., 2007; Huang et al., 2010; Chen et al., 2012a; Deng et al., 2013)。

3号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度离子碎片 m/z 595[M-H]⁻和苷元离子碎片 m/z 300[A-2H]⁻, 在(+)-ESI-MS正离子模式下有离子碎片 m/z 597[M+H]⁺和苷元离子碎片 m/z 303[A+H]⁺。9号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度的离子 m/z 609[M-H]⁻和苷元离子 m/z 301[A-H]⁻, 在(+)-ESI-MS正离子模式下有离子 m/z 611[M+H]⁺和苷元离子 m/z 303[A+H]⁺。这两个化合物被鉴定为槲皮素-O-双糖苷类化合物。Ablajian等(2006)的研究表明, 此类化合物糖链部分为1→6连接有利于产生[M-H]⁻苷元离子, 而1→2连接更有利于产生[M-2H]⁻离子。据此, 峰3可鉴定为Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside, 该化合物曾在荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、雌蕊、花托、莲房、莲子、叶柄和花柄中报道过(Kashiwada et al., 2005; Chen et al., 2012a)。峰9被鉴定为Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside, 此化合物在莲子心中存在(Li et al., 2014)。

4号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度的苷元离子 m/z 298[A-2H]⁻, 在(+)-ESI-MS正离子模式下有苷元离子 m/z 300[A+H]⁺, 将其鉴定为Diosmetin衍生物。6号峰在(-)ESI-MS负离子模式下具有高丰度的苷元离子 m/z 299[A-H]⁻以及 m/z 607[M-H]⁻, 在(+)-ESI-MS正离子模式下有苷元离子 m/z 301[A+H]⁺

表1 荷花花粉中黄酮和黄酮醇I-Class UPLC/Xevo TQ MS分析及结构鉴定与推定结果**Table 1** I-Class UPLC/Xevo TQ MS analysis as well as the structure characterization and tentative identification of flavonols and flavonoids in lotus pollen

Peak No.	Rt (min)	UV λ_{\max} (nm)	ESI-NI (m/z)	ESI-PI (m/z)	Identification	References
1	2.04	248, 354	493[M-H] ⁻ , 317[A-H] ⁻	495[M+H] ⁺ , 319[A+H] ⁺	Myricetin 3-O-glucuronide	Chen et al., 2012a
2	2.18	248, 352	479[M-H] ⁻ , 316[A-2H] ⁻	481[M+H] ⁺ , 319[A+H] ⁺	Myricetin 3-O-glucoside	Deng et al., 2013
3	2.23	248, 348	595[M-H] ⁻ , 300[A-2H] ⁻	597[M+H] ⁺ , 303[A+H] ⁺	Quercetin 3-O-arabino-pyranosyl-(1→2)-galactopyranoside	Chen et al., 2012a
4	2.37	248, 348	298[A-2H] ⁻	301[A+H] ⁺	Diosmetin derivative	
5	2.44	248, 348	477[M-H] ⁻ , 314[A-2H] ⁻	479[M+H] ⁺ , 317[A+H] ⁺	Isorhamnetin 3-O-glucoside	Li et al., 2014
6	2.50	248, 348	607[M-H-CH ₃] ⁻ , 299[A-H] ⁻	463[M+H-146] ⁺ , 301[A+H] ⁺	Diosmetin 7-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside	Li et al., 2014
7	2.63	248, 354	477[M-H] ⁻ , 301[A-H] ⁻	479[M+H] ⁺ , 303[A+H] ⁺	Quercetin 3-O-glucuronide	Deng et al., 2009
8	2.74	248, 354	463[M-H] ⁻ , 300[A-2H] ⁻	487[M+Na] ⁺ , 465[M+H] ⁺ , 303[A+H] ⁺	Quercetin 3-O-galactoside	Deng et al., 2009
9	2.80	248, 354	609[M-H] ⁻ , 301[A-H] ⁻	611[M+H] ⁺ , 303[A+H] ⁺	Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside	Li et al., 2014
10	3.13	248, 347	447[M-H] ⁻ , 284[A-2H] ⁻	449[M+H] ⁺ , 287[A+H] ⁺	Kaempferol 3-O-galactoside	Jung et al., 2003
11	3.27	248, 348	461[M-H] ⁻ , 285[A-H] ⁻	463[M+H] ⁺ , 287[A+H] ⁺	Kaempferol 3-O-glucuronide	Chen et al., 2012a
12	3.37	248, 348	447[M-H] ⁻ , 284[A-2H] ⁻	471[M+Na] ⁺ , 287[A+H] ⁺	Kaempferol 3-O-glucoside	Yang et al., 2009
13	3.49	248, 353	623[M-H] ⁻ , 477[M-H-146] ⁻ , 315[A-H] ⁻	625[M+H] ⁺ , 479[M+H-146] ⁺ , 317[A+H] ⁺	Isorhamnetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside	Chen et al., 2012a
14	3.63	248, 354	477[M-H] ⁻ , 314[A-2H] ⁻	479[M+H] ⁺ , 317[A+H] ⁺	Isorhamnetin 3-O-hexose	Lim et al., 2006
15	3.71	248, 358	507[M-H] ⁻ , 344[A-2H] ⁻	509[M+H] ⁺ , 347[A+H] ⁺	Syringetin 3-O-glucoside	Guo et al., 2009

和二级离子 m/z 463[M+H-146]⁺, 可鉴定6号峰为 Diosmetin 7-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside, 此化合物在莲子心中被检出(Li et al., 2014)。

正负离子模式的共同结果表明, 5号峰、13号峰和14号峰是异鼠李素苷, 5号峰和14号峰的苷元离子为 m/z 314[A-2H]⁻, 并且都含有 m/z 477[A-H]⁻, 是异鼠李素 O-单糖苷, 这两个化合物分别被鉴定为 Isorhamnetin 3-O-glucoside 和 Isorhamnetin 3-O-hexose。13号峰含有 m/z 477[M-H-146]⁻ 和 m/z 623[M-H]⁻, 表明峰13为 Isorhamnetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside。其中, Isorhamnetin 3-O-glucoside 在荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、花托、莲房、种皮、莲子、叶柄和花柄中报道过(Chen et al., 2012a; Deng et al., 2013; Li et al., 2014; 李珊珊等, 2014); Isorhamnetin 3-O-hexose 在荷叶中报道过(Chen et al., 2012b); Isorhamnetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-

glucopyranoside 在花瓣、雄蕊、雌蕊、花托、种皮、莲子和莲子心中报道过(Lim et al., 2006; Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a)。

7号峰在负离子模式下检测到高丰度的离子 m/z 477[M-H]⁻ 及苷元离子 m/z 301[A-H]⁻, 正离子模式下检测到高丰度的 m/z 479[M+H]⁺ 和 m/z 303[A+H]⁺。峰7可鉴定为 Quercetin 3-O-glucuronide, 此化合物在除莲藕外的莲其它各部位均有报道(Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a)。根据质谱裂解数据并查阅文献, 发现8号峰的质谱裂解特征符合 Quercetin 3-O-galactoside, 故鉴定峰8为 Quercetin 3-O-galactoside, 此化合物在荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、雌蕊、花托、莲房、种皮、叶柄和花柄中均有报道(Deng et al., 2009; Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a; Li et al., 2014)。

根据正负离子数据, 10号峰、11号峰和12号峰均

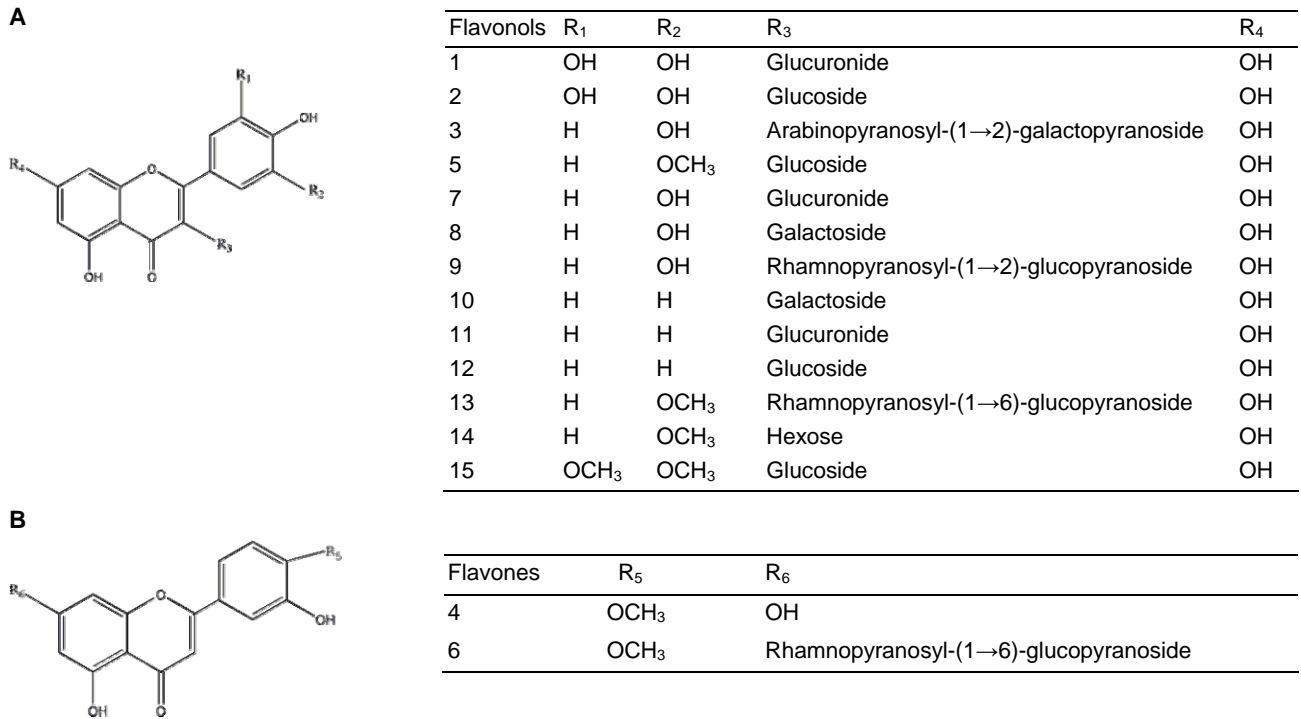


图2 荷花花粉中检测到的15种类黄酮化合物的化学结构式

(A) 黄酮醇; (B) 黄酮

Figure 2 The chemical structure scheme of 15 flavonoids detected in lotus pollen

(A) Flavonols; (B) Flavones

为山奈酚苷。10号峰和12号峰在负离子模式下均检测到高丰度的 m/z 477[M-H]⁻, 在正离子模式下检测到高丰度的 m/z 479[M+H]⁺和 m/z 471[M+Na]⁺。这2个峰都含有1个分子量为162的糖基, 相同苷元连接不同的糖基, 半乳糖苷连接的会先于葡萄糖苷洗脱(Wu and Prior, 2005)。根据其洗脱顺序结合紫外可见吸收光谱数据, 峰10被鉴定为Kaempferol 3-O-galactoside, 此化合物在荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、雌蕊、莲房、莲子、叶柄和花柄中有过报道(Jung et al., 2003; Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a)。峰12被鉴定为Kaempferol 3-O-glucoside, 该化合物曾在花瓣、雄蕊、叶柄和花柄中报道过(Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a; Li et al., 2014)。11号峰在负离子检测模式下检测到了高丰度的 m/z 461[M-H]⁻, 在正离子模式下检测到了高丰度的 m/z 463[M+H]⁺。峰11被鉴定为Kaempferol 3-O-glucuronide, 荷叶、叶脉、花瓣、雄蕊、雌蕊、花托、莲房、种皮、叶柄和花柄

中均含有此化合物(Jung et al., 2003; Yang et al., 2009; Chen et al., 2012a)。

15号峰在负离子模式下检测到了高丰度的 m/z 507[M-H]⁻和 m/z 344[A-2H]⁻, 正离子模式下检测到 m/z 509[M+H]⁺和 m/z 347[A+H]⁺, 结合紫外可见吸收光谱数据并查阅文献, 鉴定峰15为Syringetin 3-O-glucoside, 此化合物曾在花瓣、雄蕊、雌蕊、莲房、种皮和花柄中报道过(Guo et al., 2009; Chen et al., 2012a)。

2.2 类黄酮定量分析

2.2.1 不同品种类黄酮含量分析

本实验在荷花干燥花粉中检测到的15种类黄酮化合物均为首次在荷花花粉中发现。表2列出了50个荷花品种的花粉类黄酮组成。从表2可以看出, 不同品种荷花花粉中总类黄酮含量差异较大, 变化范围为82.64–281.08 mg·100 g⁻¹, 其中仙女散花总类黄酮

表2 50个荷花品种花粉中类黄酮化合物含量
Table 2 The contents of flavonoids in 50 cultivars of lotus pollen

Cultivar name	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Peak 8	Peak 9	Peak 10	Peak 11	Peak 12	Peak 13	Peak 14	Peak 15	Total flavonoid contents (mg·100 g ⁻¹)
Xi-Hu-Hong-Lian	ND	ND	16.01	ND	4.93	2.53	178.84	1.18	10.48	5.47	2.63	7.28	ND	1.41	ND	230.76
Fen-Qing-Lian	ND	1.89	1.77	ND	2.94	1.37	121.39	1.87	6.59	5.48	1.55	4.78	ND	0.88	ND	150.51
Shuang-Chen-Yue	ND	ND	13.33	0.27	2.47	1.78	142.79	0.15	10.14	0.48	0.61	0.37	ND	1.14	ND	173.52
Shou-Xing-Tao	ND	ND	7.88	0.27	4.17	2.55	173.66	ND	12.73	0.53	ND	0.72	ND	ND	ND	202.5
Bu-Lao-Chun	ND	ND	6.5	0.32	2.58	1.05	145.01	0.79	8.08	ND	7.29	2.92	ND	ND	ND	174.52
188	0.89	0.86	4.08	0.17	2.95	1.97	142.02	1.01	8.86	0.5	12.78	4.42	ND	1.51	0.91	182.92
Fo-Zuo-Lian	ND	ND	2	0.3	1.62	0.94	94.13	ND	6.01	2.54	1.08	1.44	ND	ND	ND	110.05
Ji-Cui-Lian	ND	ND	4.15	ND	2.21	1.21	107.95	0.66	5.61	7.05	1.34	2.36	ND	ND	ND	132.55
Hong-Wan-Lian	ND	ND	2.2	ND	1.81	0.96	84.52	ND	5.08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	94.56
Jv-Hong	ND	ND	6.03	ND	2.8	1.5	141.74	0.7	8.93	3.6	1.38	2.46	ND	ND	ND	169.15
Da-Sa-Jin	ND	ND	6.84	ND	2.97	2.52	188.95	ND	12.66	1.28	0.93	0.33	ND	ND	ND	216.47
Hong-Mu-Dan	ND	ND	9.26	ND	4.73	3.15	129.4	ND	8.18	ND	0.48	ND	ND	ND	ND	155.2
Jiao-Rong-San-Bian	ND	ND	2.73	ND	2.5	1.27	102.6	ND	5.87	ND	3.13	1.26	0.13	ND	ND	119.48
Fei-Yun-Qian-Ye	1.73	3.46	2.83	ND	2.03	1.22	125.4	6.98	7.35	70.99	19.65	19.04	4.94	8.42	7.04	281.08
32	ND	ND	8.98	ND	3.15	1.47	131.92	ND	6.76	ND	1.68	ND	ND	ND	ND	153.96
Shao-Xing-Hong-Lian	25.49	ND	1.98	ND	1.57	0.49	112.44	0.45	8.25	5.57	3.1	2.11	ND	ND	ND	161.44
Da-Bi-Lian	ND	ND	4.07	ND	2.12	1.3	115.88	ND	6.48	2.68	ND	ND	ND	0.9	ND	133.42
Zhong-Ri-You-Yi-Lian	ND	ND	7.93	ND	5.13	4.06	243.41	ND	13.11	1.15	1.21	ND	ND	1.26	ND	277.27
Cui-Wei-Xi-Zhao	ND	ND	4.31	ND	2.57	1.21	166.83	ND	9.21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	184.13
Huang-Bai-Lian	ND	ND	5.56	0.48	3.19	0.8	231.68	ND	16.91	1.47	0.79	1.05	ND	ND	ND	261.93
Shu-Hong-Lian	ND	ND	5.54	0.2	3.28	1.97	161.85	0.35	10.85	1.39	8.81	4.19	ND	1.61	1.37	201.39
Wu-Fei-Lian	ND	ND	1.13	0.8	0.91	0.38	93.57	0.34	6.64	2.69	4.02	1.07	ND	ND	ND	111.55
Xi-Yin-Men	ND	ND	7	0.24	3.65	3.5	147.63	ND	9.66	ND	ND	ND	ND	ND	ND	171.69
Tai-Kong-Lian	ND	ND	1.72	0.24	1.86	0.72	83.17	ND	5.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	92.74
Ben-Yue	0.86	ND	1.32	0.24	1.59	0.94	104.35	0.73	6.26	ND	13.85	4.79	ND	1.35	2.12	138.39

表2 (续) Table 2 (continued)

Cultivar name	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Peak 8	Peak 9	Peak 10	Peak 11	Peak 12	Peak 13	Peak 14	Peak 15	Total flavonoid contents (mg·100 g ⁻¹)
Tao-Ran-Yi-Xiao	ND	2.24	0.34	1.66	ND	117.79	0.39	6.65	4.33	ND	ND	ND	ND	ND	ND	133.41
Tai-5	ND	1.61	0.26	1.47	ND	75.83	1.07	4.24	2.63	11.5	5.01	ND	1.68	ND	ND	105.3
Chu-Shui-Huang-Li	ND	8.83	ND	3.72	1.98	152.33	ND	10.47	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	177.32
Fen-Dai	ND	3.43	ND	1.59	1.72	118.2	ND	6.21	5.2	3.04	2.71	ND	ND	ND	ND	142.1
Dian-Jiang-Chun	ND	1.97	0.13	1.56	0.78	80.37	ND	5.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	89.87
You-Yi-Mu-Dan	ND	1.91	ND	2.3	0.99	123.82	ND	7.29	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	136.31
Hong-Deng-Long	ND	2.76	ND	1.53	2	70.64	ND	3.93	0.47	0.38	0.55	ND	0.47	ND	ND	82.73
Bo-Li-Xiao-Jie	1.29	1.41	1.1	4.11	1.54	180.61	7.21	13.18	6.78	1.85	4.83	1.92	2.39	ND	ND	228.23
Ying-Huang	ND	4.18	0.57	1.74	0.69	157.06	0.54	11.13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	175.92
629	ND	0.85	0.18	1.33	0.47	88.24	ND	6.62	0.45	0.47	ND	ND	ND	ND	ND	98.6
Chong-Ban-Yi-Zhang-Qing	ND	3.72	0.29	1.88	1.4	92.23	ND	4.84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	104.36
Chun-Hui	ND	9.52	0.38	2.55	4.64	115.76	ND	8.79	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	141.65
Xian-Jiao	ND	2.1	ND	1.81	0.82	101.95	ND	6.27	ND	3.62	1.58	ND	ND	ND	ND	118.15
Yi-Meng-Song	ND	7.03	0.17	2.09	1.59	127.18	ND	8.31	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	146.36
Hong-Tai-Lian	ND	2.11	ND	1.86	0.95	85.41	0.29	4.36	ND	3.77	1.62	ND	ND	ND	ND	100.38
Jian-Xuan-17	ND	1.07	ND	1.08	0.63	82.72	ND	5.45	1.63	ND	ND	ND	ND	ND	ND	92.57
Bo-Li-Fu-Ren	ND	3.11	0.42	2.09	0.73	99.82	ND	7.23	ND	3.16	ND	ND	ND	ND	ND	116.55
Hong-Jian-Lian	ND	3.86	ND	1.43	1	109.54	0.28	9.43	1.14	1.28	1.05	ND	1.38	ND	ND	130.38
Yan-Yang-Tian	ND	5.23	0.26	1.18	1.95	79.57	1.16	8.63	0.44	1.2	1.22	0.66	2.22	ND	ND	103.72
Xian-Nv-San-Hua	ND	1.13	0.39	4.98	ND	67.38	ND	4.27	2.74	1.74	ND	ND	ND	ND	ND	82.64
Hong-Xiang-Lian	ND	1.42	ND	1.5	0.71	89.4	ND	6.01	1.72	0.5	1.11	ND	ND	ND	ND	102.37
You-Yi-Mu-Dan-Lian	ND	7.58	0.38	4.99	2.9	151.92	0.75	12.1	0.92	2.82	1.39	0.65	1.11	0.22	ND	187.73
You-Yi-Hong-3-Hao	2.16	14.8	0.23	6.76	4.95	204.14	0.46	14.29	0.83	1.17	1.11	1.11	1.3	ND	ND	252.18
Gu-Da-Lian	46.88	3.75	0.25	2.17	5.16	143.42	1.03	8.11	10.63	1.99	4.68	ND	1.1	ND	ND	229.18
Tai-Zhen-Chu-Yu	ND	7.39	1.01	8.58	3.71	119.74	0.57	6.95	4.38	ND	1.51	3.1	2.5	4.37	ND	163.82

ND: 未检测到 ND: No detected

含量最低;而绯云千叶含量最高。

荷花花粉中类黄酮含量最丰富的是3个槲皮素糖苷,分别为Quercetin 3-O-glucuronide、Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside和Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside,并且这3个槲皮素糖苷在所有品种的花粉中均被检测到。其中Quercetin 3-O-glucuronide的含量最高,中日友谊莲Quercetin 3-O-glucuronide含量最高,为243.41 mg·100 g⁻¹;仙女散花最低,仅为67.38 mg·100 g⁻¹。不同品种中Quercetin 3-O-glucuronide的相对含量差异较大,绯云千叶干燥花粉中Quercetin 3-O-glucuronide含量为125.40 mg·100 g⁻¹,占总类黄酮含量的45%;而在翠微夕照、太空莲、友谊牡丹、重瓣一丈青和建选17等品种中,Quercetin 3-O-glucuronide的相对含量能达到总类黄酮含量的90%。绍兴红莲和古代莲含有较高的Myricetin 3-O-glucuronide,其相对含量分别达到15.79%和20.45%。在荷花花粉中共检测到3种山奈酚单糖苷,分别是Kaempferol 3-O-galactoside、Kaempferol 3-O-glucuronide和Kaempferol 3-O-glucoside。在红碗莲、翠微夕照、喜盈门、太空莲、出水黄鹌、点绛唇、友谊牡丹、莺黄、重瓣一丈青、春回和沂蒙颂等品种花粉中未检测到以上3种山奈酚糖苷。其它品种的山奈酚糖苷的含量也不相同,红牡丹花粉中山奈酚糖苷的含量较低,为0.48 mg·100 g⁻¹。绯云千叶花粉中的山奈酚含量最高,约为109.67 mg·100 g⁻¹,占其总类黄酮含量的39.02%。香叶木素糖苷和异鼠李素糖苷存在于所有检测品种中,其中香叶木素糖苷在花粉中含量较低,异鼠李素糖苷含量在0.81%—7.13%。在188、绯云千叶、蜀红莲、奔月、友谊牡丹和太真出浴等品种中检测到含量较低的丁香亭单糖苷。

2.2.2 聚类分析

为了评价荷花花粉商品化等级,利用荷花花粉中含有的类黄酮种类,采用Ward平方Euclidean距离的方法,将50个品种的荷花花粉聚为4组(图3)。

A组包括友谊红3号、古代莲、霜晨月、太5、不老春和舞妃莲等12个品种。所有品种均检测到Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside、Isorhamnetin 3-O-glucoside、Quercetin

3-O-glucuronide、Quercetin 3-O-galactoside、Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside、Kaempferol 3-O-glucuronide和Kaempferol 3-O-glucoside,且本组中Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside含量高达6.24 mg·100 g⁻¹(干燥花粉)。

B组有8个品种:蜀红莲、奔月、188、友谊牡丹莲、太真出浴、伯里小姐、艳阳天和绯云千叶。本组所有品种都含有Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside、Isorhamnetin 3-O-glucoside、Diosmetin 7-O-rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside、Quercetin 3-O-glucuronide、Quercetin 3-O-galactoside、Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside、Kaempferol 3-O-glucoside和Isorhamnetin 3-O-hexose。从B组检测到的类黄酮化合物种类最多,而且总类黄酮含量在4个组中最高,为185.91 mg·100 g⁻¹,其中绯云千叶、伯里小姐和蜀红莲中总类黄酮含量均超过200 mg·100 g⁻¹,可推荐为采集荷花花粉用的优良品种。

C组有出水黄鹌、友谊牡丹、沂蒙颂和陶然一笑等14个品种。从本组品种中均检测到了Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside、Isorhamnetin 3-O-glucoside、Quercetin 3-O-glucuronide、Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside。C组类黄酮化合物种类较少,且总类黄酮含量低,为133.88 mg·100 g⁻¹,不宜开发花粉产品。

D组包括红牡丹、伯里夫人、仙女散花和寿星桃等14个品种。除寿星桃花粉中未检测到Kaempferol 3-O-glucuronide外,本组品种均检测到Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside、Isorhamnetin 3-O-glucoside、Quercetin 3-O-glucuronide、Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside和Kaempferol 3-O-glucuronide。

2.3 讨论

本研究利用超高效液相色谱质谱联用技术,首次对50个荷花品种的干燥花粉中类黄酮化合物进行了分离及结构鉴定,检测到了13种黄酮醇苷和2种黄酮苷,包括山奈酚糖苷、槲皮素糖苷、异鼠李素糖苷、杨梅酮糖苷、香叶木素及其糖苷、丁香亭糖苷,其中在所有品种中均检测出Quercetin 3-O-glucuronide、

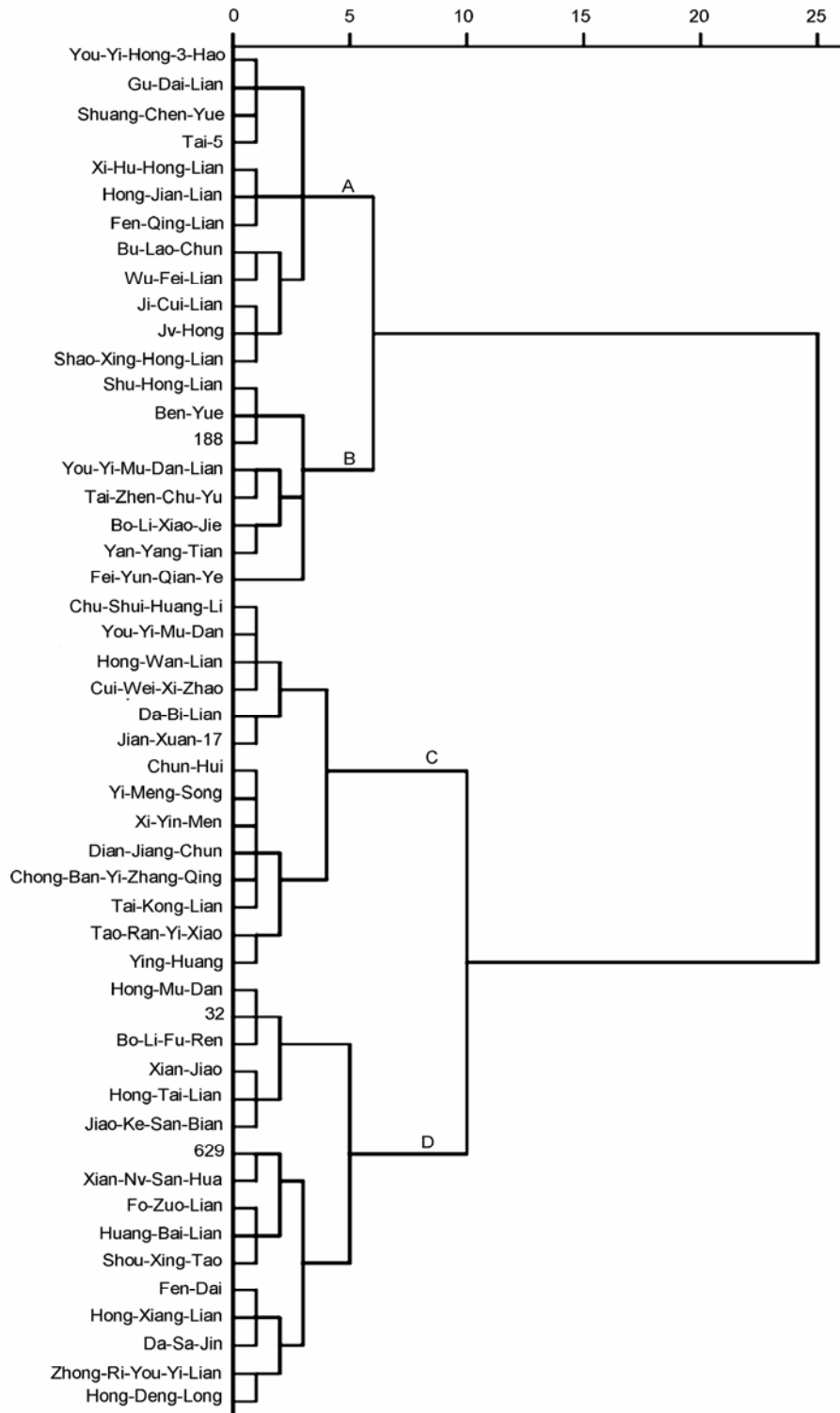


图3 基于花粉类黄酮成分分析的50个荷花品种聚类图

Figure 3 The cluster analysis of 50 cultivars of lotus pollen based on their flavonoids composition

Quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside 以及 Quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside, 且含量较高。不同品种花粉中检测到的总类黄酮含量差异较大。通过聚类分析将50个品种聚为4组, B组品种中类黄酮的种类最多, 其中绯云千叶、伯里小姐和蜀红莲花粉量大, 花粉中总类黄酮含量高, 可用于开发荷花花粉产品。

荷叶中类黄酮含量最丰富的化合物是3个槲皮素单糖苷, 荷花花瓣和雄蕊中山奈酚糖苷含量较高, 山奈酚糖苷的含量占总类黄酮含量的60%以上。荷花花粉中类黄酮含量最丰富的是3个槲皮素苷, 且Quercetin 3-O-glucuronide含量最高, Quercetin 3-O-glucuronide具有抗氧化、抗炎和抗癌的功效, 其含量是评估莲产品抗氧化活性的指标之一(Moon et al., 2001; Goo et al., 2009; Chen et al., 2012a, 2012b; Yamazaki et al., 2014)。Tao等(2011)在狭叶香蒲(*Typha angustifolia*)花粉中检测到了槲皮素及其糖苷、山奈酚及其糖苷、异鼠李素及其糖苷和柚皮素, 但未检测到类黄酮单糖苷, 而荷花花粉中含量较高的是类黄酮单糖苷。

液相色谱技术已成为分离鉴定植物活性物质最简单有效的方法之一, 随着高效液相色谱技术的不断成熟, 大量的样品需要快速分析, 并且对植物中存在的大量微量成分也需要正确检测, 即对检测的灵敏度要求越来越高(Yang et al., 2009; 赵容, 2014)。在这种情况下, 超高效液相色谱(UPLC)技术的开发及推广应用非常重要(Goupy et al., 2013; Su et al., 2013)。本实验采用UPLC-MS联用技术, 可在7分钟内快速检测出荷花花粉中的15种类黄酮化合物, 大大缩短了分析时间并节省样品用量。

目前, 油菜花粉作为治疗前列腺炎药物已被广泛应用, 油菜花粉中含有类黄酮、脂肪酸及生物碱, 其治疗前列腺炎的机制目前还不清楚(陈莲君, 2012)。我们在荷花花粉中检测到了15种类黄酮化合物, 与油菜花粉类似, 荷花花粉中也含有生物碱和脂肪酸等物质, 而荷花花粉是否也对治疗前列腺炎等疾病有一定功效, 有待今后进一步验证(蒋枫等, 2007)。

参考文献

陈莲君 (2012). 油菜蜂花粉活性成分的提取分离及结构鉴定. 硕士论文. 无锡: 江南大学. pp. 16–32.

- 董捷, 张红城, 李洁, 李慧 (2008). 八种蜂花粉醇提物中总多酚和总黄酮含量测定. 食品工业科技 29, 80–83.
- 樊柏林, 王护民, 宋毅, 田辉, 李新兰 (2006). 破壁松花粉对高血脂症人群降血脂作用的观察. 职业与健康 22, 2012–2014.
- 郭丽梅, 王盼盼 (2013). 板栗花粉黄酮的精制及其质谱分析. 天津科技大学学报 28(2), 15–18.
- 蒋枫, 朱威, 张颖, 胡福良 (2007). 莲花花粉营养成分分析. 中国蜂业 58(9), 5–10.
- 金高娃, 章飞芳, 薛兴亚, 肖远胜, 徐青, 梁鑫淼 (2006). 超高效液相色谱在复杂体系中中药分离分析中的应用. 世界科学技术—中医药现代化 8, 106–111.
- 李珊珊, 吴倩, 袁茹玉, 邵帅, 张会金, 王亮生 (2014). 莲属植物类黄酮代谢产物的研究进展. 植物学报 49, 738–750.
- 林贤贤 (2007). 荷花黄酮类的提取及其生物活性的研究. 中国食品添加剂 (3), 65–68.
- 饶剑, 吴盼盼, 徐德平 (2014). 油菜蜂花粉的抗氧化活性. 食品与发酵工业 40, 139–142.
- 阮征, 邓泽元, 吴龙耀, 谢明勇, 吴谋成 (2008). HPLC法测定油菜蜂花粉中黄酮含量及六种破壁方法对黄酮提取的影响. 食品科学 29, 455–458.
- 王开发 (2004). 花粉的功能与应用. 北京: 化学工业出版社. pp. 119–130.
- 张行言 (陈龙清译) (2011). 中国荷花新品种图志I. 北京: 中国林业出版社. pp. 20–28.
- 赵容 (2014). UPLC在药物分析中的应用. 黑龙江医药 27, 283–285.
- 周顺华, 陶乐仁, 徐斐, 刘宝林, 郭旭峰 (2002). 用液氮淬冷法进行花粉破壁的实验研究. 上海理工大学学报 24, 233–237.
- Ablajan K, Abliz Z, Shang XY, He JM, Zhang RP, Shi JG (2006). Structural characterization of flavonol 3,7-di-O-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 41, 352–360.
- Agnihotri VK, ElSohly HN, Khan SI, Jacob MR, Joshi VC, Smillie T, Khan IA, Walker LA (2008). Constituents of *Nelumbo nucifera* leaves and their antimalarial and anti-fungal activity. *Phytochem Lett* 1, 89–93.
- Chen S, Fang LC, Xi HF, Guan L, Fang JB, Liu YL, Wu BH, Li SH (2012a). Simultaneous qualitative assessment and quantitative analysis of flavonoids in various tissues of lotus (*Nelumbo nucifera*) using high performance liquid chromatography coupled with triple quad mass spectro-

- metry. *Anal Chim Acta* **724**, 127–135.
- Chen S, Wu BH, Fang JB, Liu YL, Zhang HH, Fang LC, Guan L, Li SH** (2012b). Analysis of flavonoids from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves using high performance liquid chromatography/photodiode array detector tandem electrospray ionization mass spectrometry and an extraction method optimized by orthogonal design. *J Chromatogr A* **1227**, 145–153.
- Deng J, Chen S, Yin XJ, Wang K, Liu YL, Li SH, Yang PF** (2013). Systematic qualitative and quantitative assessment of anthocyanins, flavones and flavonols in the petals of 108 lotus (*Nelumbo nucifera*) cultivars. *Food Chem* **139**, 307–312.
- Deng SG, Deng ZY, Fan YW, Peng Y, Li J, Xiong DM, Liu R** (2009). Isolation and purification of three flavonoid glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* (lotus) by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr B* **877**, 2487–2492.
- Ferreeres F, Pereira DM, Valentão P, Andrade PB** (2010). First report of non-coloured flavonoids in *Echium plantagineum* bee pollen: differentiation of isomers by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* **24**, 801–806.
- Goo HR, Choi JS, Na DH** (2009). Simultaneous determination of quercetin and its glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Arch Pharm Res* **32**, 201–206.
- Goupy P, Vian MA, Chemat F, Caris-Veyrat C** (2013). Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. *Ind Crop Prod* **44**, 496–510.
- Guo XF, Wang DJ, Duan WJ, Du JH, Wang X** (2009). Preparative isolation and purification of four flavonoids from the petals of *Nelumbo nucifera* by high-speed counter-current chromatography. *Phytochem Anal* **21**, 268–272.
- Huang B, Ban XQ, He JS, Tong J, Tian J, Wang YW** (2010). Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of edible lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves. *Food Chem* **120**, 873–878.
- Jung HA, Kim JE, Chung HY, Choi JS** (2003). Antioxidant principles of *Nelumbo nucifera* stamens. *Arch Pharm Res* **26**, 279–285.
- Kashiwada Y, Aoshima A, Ikeshiro Y, Chen YP, Furukawa H, Itoigawa M, Fujioka T, Mihashi K, Cosentino LM, Morris-Natschke SL, Lee KH** (2005). Anti-HIV benzyloisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorg Med Chem* **13**, 443–448.
- Kim MJ, Shin HS** (2012). Antioxidative effect of lotus seed and seedpod extracts. *Food Sci Biotechnol* **21**, 1761–1766.
- Klimczak I, Gliszczynska-Świągło A** (2015). Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. *Food Chem* **175**, 100–105.
- Kredy HM, Huang DH, Xie BJ, He H, Yang E, Tian BQ, Xiao D** (2010). Flavonols of lotus (*Nelumbo nucifera*, Gaertn.) seed epicarp and their antioxidant potential. *Eur Food Res Technol* **231**, 387–394.
- Li SS, Wu J, Chen LG, Du H, Xu YJ, Wang LJ, Zhang HJ, Zheng XC, Wang LS** (2014). Biogenesis of C-glycosyl flavones and profiling of flavonoid glycosides in lotus (*Nelumbo nucifera*). *PLoS One* **9**, e108860.
- Lim SS, Jung YJ, Hyun SK, Lee YS, Choi JS** (2006). Rat lens aldose reductase inhibitory constituents of *Nelumbo nucifera* stamens. *Phytother Res* **20**, 825–830.
- Markham KR, Campos M** (1996). 7- and 8-O-methylherbacetin-3-O-sophorosides from bee pollens and some structure/activity observations. *Phytochemistry* **43**, 763–767.
- Moon JH, Tsushida T, Nakahara K, Terao J** (2001). Identification of quercetin 3-O-β-D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Radic Biol Med* **30**, 1274–1285.
- Ohkoshi E, Miyazaki H, Shindo K, Watanabe H, Yoshida A, Yajima H** (2007). Constituents from the leaves of *Nelumbo nucifera* stimulate lipolysis in the white adipose tissue of mice. *Planta Med* **73**, 1255–1259.
- Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A, Feás X, Estevinho LM** (2014). Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and antiinflammatory. *Food Chem Toxicol* **63**, 233–239.
- Qi SJ, Zhou DL** (2013). Lotus seed epicarp extract as potential antioxidant and anti-obesity additive in Chinese Cantonese Sausage. *Meat Sci* **93**, 257–262.
- Su SL, Cui WX, Zhou W, Duan JA, Shang EX, Tang YP** (2013). Chemical fingerprinting and quantitative constituent analysis of Siwu decoction categorized formulae by UPLC-QTOF/MS/MS and HPLC-DAD. *Chin Med* **8**, 5.
- Tao WW, Yang NY, Duan JA, Wu DK, Guo JM, Tang YP, Qian DW, Zhu ZH** (2011). Simultaneous determination of

- eleven major flavonoids in the pollen of *Typha angustifolia* by HPLC-PDA-MS. *Phytochem Anal* **22**, 455–461.
- Ulusoy E, Kolayli S** (2014). Phenolic composition and antioxidant properties of anzer bee pollen. *J Food Biochem* **38**, 73–82.
- VanderMolen KM, Cech NB, Paine MF, Oberlies NH** (2013). Rapid quantitation of furanocoumarins and flavonoids in grapefruit juice using ultra-performance liquid chromatography. *Phytochem Anal* **24**, 654–660.
- Want EJ, Wilson ID, Gika H, Theodoridis G, Plumb RS, Shockcor J, Holmes E, Nicholson JK** (2010). Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC-MS. *Nat Protoc* **5**, 1005–1018.
- Wu XL, Prior RL** (2005). Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts, and grains. *J Agric Food Chem* **53**, 3101–3113.
- Yamazaki S, Miyoshi N, Kawabata K, Yasuda M, Shimoi K** (2014). Quercetin-3-O-glucuronide inhibits noradrenaline-promoted invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells by blocking $\beta(2)$ -adrenergic signaling. *Arch Biochem Biophys* **557**, 18–27.
- Yang RZ, Wei XL, Gao FF, Wang LS, Zhang HJ, Xu YJ, Li CH, Ge YX, Zhang JJ, Zhang J** (2009). Simultaneous analysis of anthocyanins and flavonols in petals of lotus (*Nelumbo*) cultivars by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1216**, 106–112.
- Zhang L, Shan Y, Tang KJ, Putheti R** (2009). Ultrasound-assisted extraction flavonoids from lotus (*Nelumbo nuficera* Gaertn.) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity. *Inter J Physical Sci* **4**, 418–422.

Composition of Flavonoids in Lotus Pollen

Qian Wu¹, Shuai Shao¹, Shanshan Li^{2,3}, Huijin Zhang², Liangsheng Wang^{2*}

¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Key Laboratory of Plant Resources and Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ³University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract We used ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (I-Class UPLC/Xevo TQ MS) to separate and identify the flavonoids in lotus pollens from 50 cultivars. Lotus pollen contains 13 flavonols and 2 flavones, all reported in lotus pollen for the first time. The most abundant flavonoids were quercetin glucosides, namely quercetin 3-O-glucuronide, quercetin 3-O-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside and quercetin 3-O-arabinopyranosyl-(1→2)-galactopyranoside, detected in all cultivar pollen. The total flavonoid (TF) content ranged from 82.64 to 281.08 mg·100 g⁻¹ in 50 cultivars, with Fei-Yun-Qian-Ye showing the highest TF and Xian-Nv-San-Hua the lowest. According to cluster analysis, 50 lotus cultivars were classified into four groups; group B contained more flavonoids than other groups, and group B TF content was the highest. TF content in Fei-Yun-Qian-Ye, Bo-Li-Xiao-Jie and Shu-Hong-Lian exceeded 200 mg·100 g⁻¹ dry weight and could be developed into lotus pollen products.

Key words lotus, pollen, UPLC, flavonoids, quercetin

Wu Q, Shao S, Li SS, Zhang HJ, Wang LS (2015). Composition of flavonoids in lotus pollen. *Chin Bull Bot* **50**, 721–732.

* Author for correspondence. E-mail: wanglsh@ibcas.ac.cn