

青海地区不同品种青稞中 B 族维生素含量分布

矫晓丽^{1,2}, 迟晓峰^{1,2}, 董琦¹, 肖远灿¹, 胡风祖^{1*},

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 利用 HPLC 法对青海不同产地的 15 个不同品种青稞中 6 种 B 族维生素质量分数进行了测定。结果表明: 15 个不同品种的青稞, 除叶酸(未检出)、VB₁₂(含量较少)外, 其余 4 种所测 B 族维生素含量均较丰富。其中称多产的二道眉黑青稞 VB 总量最高, 可达 0.10842 mg·g⁻¹, 民和产的长芒黄脉青稞 VB 总量最低, 为 0.03892 mg·g⁻¹; 玉树产的四长二短芒白青稞的 VB₁ 和烟酸质量分数均为 15 种青稞中最高, 分别可达 0.0589 mg·g⁻¹、0.0158 mg·g⁻¹; 称多产的二道眉黑青稞的 VB₂ 和 VB₆ 均为 15 种青稞中最高, 分别可达 0.0532 mg·g⁻¹、0.0298 mg·g⁻¹。对实验数据进行了聚类分析, 15 个青稞品种 B 族维生素质量分数大致可分为 4 类, 由低到高分别占供试品种的 20%、60%、13.3%、6.7%。

关键词: 高效液相色谱(HPLC); 青稞; 维生素 B 聚类分析

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1006-8376(2011)02-0013-04

青稞(*Hordeum vulgare* L. var *nudum* Hook.) 是禾本科大麦属的一种谷类作物, 别名叫裸大麦、元麦、米大麦, 为一年或越年生草本植物^[1]。主要分布在我国的西藏、青海、四川的甘孜州和阿坝州、云南的迪庆、甘肃的甘南等地。这种在青藏高原的特殊气候和种植生产环境中形成的区域性作物类型以其高蛋白、低脂肪、多纤维、多维生素和矿物质品质特点与现代保健医学主张的“四高四低”膳食结构要求明显吻合。因此, 青稞不但一直是中、藏医学极力推崇的传统食疗作物, 也被现代医学确认为是维生素与膳食纤维的极好来源。

B 族维生素是有机体生长和发育所必需的营养物质, 它们作为辅酶, 参与体内糖、蛋白质和脂肪的代谢。研究表明, 体内缺乏叶酸、VB₆ 及 VB₁₂ 会导致神经和心理障碍, 并且有可能导致先天性缺陷^[2]。由于维生素的重要营养功能以及它们的相对不稳定性, 定性和定量检测分析维生素具有一定难度。其有关测定方法主要有微生物法^[3,4]、荧光法^[5,6]和比色法, 以及高效液相色谱法、高效液相色谱质谱联用法^[7-11]。微生物法灵敏度高, 但误差相对较大, 并且实验周期长。分子荧光法和分光光度法的样品前处理较复杂, 干扰物质多, 不利于样品中维生素的定量。而采用高效液相色谱法, 样品前处理简单, 实用, 快速^[12]。对于 B 族维生素的测定, 近年来国内外都做了大量的研究工作, 但至今还未发

现对青稞中 VB 含量测定的文献报道。本实验对青海不同产地的 15 个不同品种的青稞 B 族维生素含量进行了比较分析, 旨在为开发青稞这一具有青藏高原特色的食品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

15 份青稞样品由本所农业与生态研究中心沈玉虎博士提供。

甲醇(色谱纯) 山东禹王化学试剂公司; 去离子水; 盐酸(优级纯) 白银西区银环化学制剂厂; VB₁、VB₂、VB₆、VB₁₂ 叶酸、烟酸对照品, 中国药品生物制品鉴定所。

YXQG02 型高压灭菌锅(山东新华医疗器械厂); 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AG135 万分之一天平、PL203 千分之一天平(Mettler Toledo); molelement 1810C 超纯水机(上海摩勒生物科技有限公司); Waters 515 Pump Waters 2996 二极阵列检测器, Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司)。

1.2 对照品溶液的制备

分别精密称取 VB₁、VB₂、VB₆、VB₁₂、烟酸、叶酸对照品 3.08 mg 2.06 mg 5.31 mg 4.33 mg 4.85 mg 2.83 mg 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 加适宜的溶剂溶解定容。其中 VB₁、VB₂、VB₆、VB₁₂、烟酸用 0.01 mol·L⁻¹ 稀 HCl 溶解后, 用超纯水定容至 10 mL, 叶酸用 0.1 mol·L⁻¹ 碳酸钠溶液溶解, 用超纯水定容。

1.3 供试品溶液的制备

收稿日期: 2011-01-11

作者简介: 矫晓丽, 女(1985-), 在读硕士研究生, 主要从事植物化学研究。E-mail: a5273jiao@126.com

* 通讯作者 E-mail: hufz@mwipb.ac.cn

精密称取干燥的各种青稞 5 000 g 左右, 置具塞锥形瓶中, 加入 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸 40 mL, 121°C 高压锅中水解 30 min, 冷却后用水定容至 50 mL, 微孔滤膜 ($0.45 \mu\text{m}$) 过滤, 滤液待测。

1.4 样品中 VB 含量的测定

1.4.1 色谱条件

色谱柱: phenomenex C_{18} ($250 \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 流动相: $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾 ($\text{pH} 6.0$) 为流动相 A, 甲醇为流动相 B 梯度洗脱; 洗脱程序: $0 \sim 20 \text{ min}$ $90\% \text{ A} \sim 40\% \text{ A}$ 洗脱, $20 \sim 30 \text{ min}$ $40\% \text{ A} \sim 90\% \text{ A}$ 洗脱; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 266 nm ; 柱温: 35°C 。

1.4.2 标准曲线的制作

将已配标准浓度的各 VB 对照品按照 VB_1 : VB_2 : VB_6 : VB_{12} : 烟酸: 叶酸 = 1: 2: 1: 1: 2 的比例混合 (VB_1 、 VB_2 、 VB_6 、 VB_{12} 、烟酸、叶酸的浓度分别为 0.0385 、 0.0515 、 0.0664 、 0.0541 、 0.0606 、 $0.0708 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 混合液按照 2、4、8、16、32、64 倍逐级稀释, 进样, 按照标题 1.4.1 的色谱条件进行测定, 以峰面积积分为纵坐标, 相应的 VB 浓度为横坐标, 作回归曲线, 得回归曲线方程, 结果见表 1。

表 1 线性方程及参数

维生素	回归曲线方程	相关系数 /r
VB_1	$Y = 6 \times 10^6 x - 30.891$	0.9994
VB_2	$Y = 6 \times 10^6 x - 905.66$	0.9995
VB_6	$Y = 1 \times 10^7 x + 2.2126$	0.9993
VB_{12}	$Y = 2 \times 10^7 x + 10709$	0.9994
烟酸	$Y = 3 \times 10^7 x - 6634.2$	0.9995
叶酸	$Y = 3 \times 10^6 x - 1704.9$	0.9993

1.4.3 青稞中 VB 含量的测定

将标题 1.3 项下的供试品滤液, 注入高效液相色谱仪进行分析, 并借助标准曲线进行定量分析, 确定青稞中各 VB 组分的含量。

1.4.4 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件分析实验结果。

2 结果与分析

2.1 B 族维生素含量测定结果

按照拟定的方法, 对 15 个不同品种青稞的 VB 质量分数进行了测定, 结果见表 2。

表 2 不同品种青稞中 VB 质量分数

编号	青稞品种	来源	质量分数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$					VB 总量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
			烟酸	VB_1	VB_2	VB_6	VB_{12}	
1	长芒蓝青稞	玉树	0.0112	0.0176	0.0133	0.0157	0.00001	0.05781
2	四长二短芒白青稞	玉树	0.0158	0.0589	0.0098	0.0066	0.00001	0.09111
3	长芒红青稞	班玛	0.0123	0.0298	0.0088	0.0078	0.00001	0.05871
4	二道眉白青稞	称多	0.0098	0.0202	0.0156	0.0188	0.00004	0.06444
5	二道眉黑青稞	称多	0.0096	0.0158	0.0532	0.0298	0.00002	0.10842
6	湟源蓝青稞	称多	0.0138	0.0278	0.0188	0.0132	0.00002	0.07362
7	二道眉紫青稞	囊谦	0.0128	0.0488	0.0179	0.0165	0.00003	0.09603
8	长钩芒白青稞	囊谦	0.0135	0.0397	0.0099	0.0077	0.00001	0.07081
9	互助白青稞	互助	0.0089	0.0109	0.0111	0.0098	0.00001	0.04071
10	湟源花青稞	湟源	0.0121	0.0345	0.0078	0.0045	0.00001	0.05891
11	六棱红青稞	大通	0.0142	0.0112	0.0097	0.0054	0.00001	0.04051
12	四棱白大麦	乐都	0.0108	0.0233	0.0094	0.0067	0.00001	0.05021
13	四棱蓝青稞	民和	0.0078	0.0188	0.0187	0.0132	0.00004	0.05854
14	长芒黄脉青稞	民和	0.0136	0.0132	0.0077	0.0044	0.00002	0.03892
15	四棱红青稞	循化	0.0123	0.0355	0.0199	0.0112	0.00005	0.07895

测定结果表明, 15 种青稞中除叶酸未检出, VB_{12} 含量较少外, 其余 4 种所测 B 族维生素含量均较丰富。其中称多产的二道眉黑青稞 VB 总量最高, 可达 $0.10804 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 民和产的长芒黄脉青稞 VB 总量最低, 为 $0.03892 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 玉树产的四长二短芒白青稞的 VB_1 和烟酸质量分数均为 15 种青稞中最高, 分别可达 $0.0589 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.0158 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 称多产的二道眉黑青稞的 VB_2 和 VB_6 均为 15

种青稞中最高, 分别可达 $0.0532 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.0298 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.2 聚类分析

用 SPSS 16.0 软件对所测数据做聚类分析, 采用欧式距离测量, 每两样本间用类间平均连锁法 (Between-groups linkage) 连接, 输出相似矩阵和系统聚类分析图, 结果见图 1。

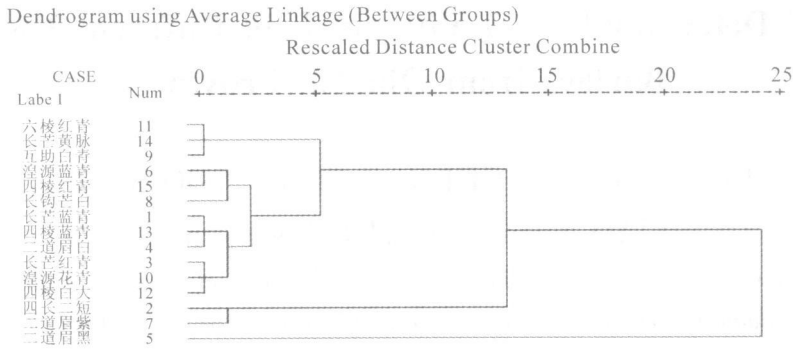


图 1 青稞系统聚类图

从图 1可以看出, 15个青稞品种 B族维生素含量大致可分为 4类, 9、11、14为第一类, 1、3、4、6、8、10、12、13、15为第二类, 2、7为第三类, 5为第四类。VB含量由低到高区分的各类分别占供试品种的 20%、60%、13.3%、6.7%。

3 结论与讨论

通过对不同地区的 15个不同品种青稞 B族维生素含量的比较, 结果表明, 称多产的二道眉黑青稞, 其 VB_6 、 VB_2 及 VB 总量均属 15种青稞中最高, 玉树产的四长二短芒白青稞, 其 VB_1 和烟酸含量为 15种青稞中最高。由聚类分析可以看出, B族维生素总量在 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \sim 0.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间的青稞占有青稞的 60%; 而含量较高的两个类群: 品种 5 (二道眉黑青稞), 品种 2 (四长二短芒白青稞) 和 7 (二道眉紫青稞), 分别占 6.7% 和 13.3%。因此, 从实验结果及聚类分析结果, 建议选育的品种为二道眉黑青稞、四长二短芒白青稞及二道眉紫青稞。

实验结果表明, 不同品种的青稞中 VB 含量存在差异, 即使是同一产区, 不同品种的青稞, 其 B族维生素含量也有较大的差异。这可能与青稞本身的遗传物质、种植环境、水肥供应、海拔高度、光照、温度、湿度、土壤营养成分等有关。

青稞作为一种营养成分较全面的谷类食物, 对其营养成分的深入研究能够为青稞的合理利用和有效开发提供较好的理论支撑。

参考文献

[1] 谢宗万. 本草纲目药物彩色图鉴 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 221.

- [2] Sehub J, Troen A, Rosenberg H. B vitamins and the aging brain [J]. Nutrition Reviews, 2010, 68 (12): S112~S118.
- [3] GB/T 5009.154-2003. [S] 食品中维生素 B6 的测定.
- [4] GB/T 5009.89-2003. [S] 食品中烟酸的测定.
- [5] GB/T 5009.84-2003. [S] 食品中硫胺素 (维生素 B1) 的测定.
- [6] GB/T 5009.85-2003. [S] 食品中核黄素的测定.
- [7] 成志强, 孙成均, 黎源倩. 反相高效液相色谱法同时测定食品和多维片中 8 种水溶性维生素 [J]. 分析化学, 2001, 29(9): 1068~1071.
- [8] 蒋晔, 刘红菊, 郝晓花. 反相高效液相色谱法同时测定 9 种水溶性维生素 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(3): 339~341.
- [9] 王一红, 冯家力, 潘振球. 液相色谱-串联质谱法分析 10 种水溶性维生素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(7): 1160~1162.
- [10] Vinas P., Lopez-erroz C., Bakalobre N., et al. Reversed-phase liquid chromatography on an anile stationary phase for the determination of B group vitamins in baby foods [J]. Journal of chromatography A, 2003, 1007(1-2): 77~84.
- [11] Han Z, Ren YP, Liu XS, et al. A reliable isotope dilution method for simultaneous determination of folic acid, B_2 and B_3 in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of separation science, 2010, 33(17-18): 2723~2733.
- [12] 王艳, 王坚民. 高效液相色谱法同时测定元素多维片中 5 种水溶性维生素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(3): 510~511.

HPLC Determination of Vitamin B in Different Highland Barleys from Qinghai Province

JIAO Xiao-li^{1, 2}, CHI Xiao-feng^{1, 2}, DONG Qi¹,
XIAO Yuan-can¹, HU Feng-zu^{1*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008

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

Abstract In order to provide scientific basis for the quality control and comprehensive utilization of highland barley, we determined the contents of Vitamin B in 15 highland barleys from different regions of Qinghai Province using HPLC. The results indicated that all the highland barleys detected were rich in VB₁, VB₂, VB₆ and nicotinic acid. The total Vitamin B contents in Erdaomei (Chenduo) were the highest among the 15 highland barleys, which could reach 10 842 mg · 100g⁻¹, while the total Vitamin B contents in Changnanguangnai (Minhe) were the lowest, only 3 892 mg · 100g⁻¹. Sichangerduan (Yushu) was rich in VB₁ (5 89 mg · 100g⁻¹) and nicotinic acid (1. 58 mg · 100g⁻¹). Erdaomei (Chenduo) was rich in VB₂ (5 32 mg · 100g⁻¹) and VB₆ (2 98 mg · 100g⁻¹). Cluster analysis indicated that the samples could be divided into 4 groups. The percentages of each group (the contents from lower to higher) were 20%, 60%, 13. 3% and 6. 7%, respectively.

Key words HPLC; highland barley; vitamin B; cluster analysis

(上接第 8 页)

[12] Cheng SW, Hu HM, Takaqi H. Production and characterization of keratinase of a feather-degrading *Bacillus*

licheniformis PWD-1 [J]. *BioSci Biotechnol Biochem*, 1995, 59(12): 2239-2243

Optimization of Protease Production by *Bacillus pumilus* WHK4 Using Feather Meal as Substrate

YAO Da-wei, QU Jiao, CHANG Pei-wei, YANG De-ji

(College of Veterinary Medicine, Njing 210095, China)

Abstract The effect of cultivation conditions and medium composition on protease production by *Bacillus pumilus* WHK4 using feather meal as substrates were analyzed. The optimal conditions was achieved at initial pH 7. 38, inoculum size 5% with 16 h old inoculum, incubation temperature 37 °C, and the medium composed of 40 g feather meal, 10. 0 g (NH₄)₂SO₄, 10. 0 g maltose in 1000 mL based fermentation medium. Maximum protease production attained at the optimal conditions was 90 U · mL⁻¹ after 24 h cultivation.

Key words protease; *Bacillus pumilus*; feather meal; optimization; fermentation