

## 兔眼蓝浆果花青素 HPLC 分析

孙 视, 於 虹, 赵友谊, 任冰如, 顾 姻

(江苏省植物研究所, 江苏南京 210014)  
中国科学院

**HPLC analysis of anthocyanin in the fruit of *Vaccinium ashei* Reade** SUN Shi, YU Hong, ZHAO You-yi, REN Bing-ru, GU Yin (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(4): 59-60

**Abstract:** By finger chromatogram of HPLC, 16 anthocyanins have been detected from the pigment of the fruit of *Vaccinium ashei* Reade which were introduced in Nanjing from the United States. Fourteen anthocyanins have been identified, among them 12 are -3-O-galactosides, glucosides, and arabinosides of delphinidin, cyanidin, petunidin, and malvidin, and 2 are -3-O-galactoside and glucoside of peonidin. Another 2 anthocyanins are under elucidation. It indicated that the components of the pigment extracted from *V. ashei* are similar to Myrtocyan extracted from *V. myrtillus* L., but the ratios are different and the contents are much lower.

**关键词:** 兔眼蓝浆果; 花青素; HPLC

**Key words:** *Vaccinium ashei* Reade; anthocyanin; HPLC

中图分类号: Q946.83+6 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)04-0059-02

蓝浆果又名越桔, 是世界 4 种新兴小果树之一。蓝浆果果皮色素鲜艳, 可作为食品添加剂; 由于其主要成分花青素有良好的生理活性, 欧洲把花青素含量  $\geq 24\%$  的色素提取物作为药用。其中欧洲越桔 (*Vaccinium myrtillus* L.) 色素的提取物 (Myrtocyan) 已被意大利、德国等国家的药典收载<sup>[1]</sup>。色素作为蓝浆果重要成分, 除可作为营养指标外, 还可作为分类特征成分<sup>[2,3]</sup>。不同的种以及不同的品种间, 不仅花青素含量差异很大, 而且色素成分的比例也不相同, 因而可以用不同花青素比例区分染色体倍性不同的蓝浆果<sup>[2]</sup>。

花青素<sup>[4]</sup>及黄酮类其他成分定性和定量分析已有较多报道, 蓝浆果色素成分分析也有一些研究<sup>[2,3,5]</sup>。江苏省·中国科学院植物研究所于 1988 年引种了兔眼蓝浆果 (*Vaccinium ashei* Reade), 为了对引种的兔眼蓝浆果进行全面评价, 为其深度开发利用提供必要的理论基础, 本文就兔眼蓝浆果色素主要成分花青素进行了 HPLC 分析。

### 1 材料和方法

#### 1.1 仪器与试剂

Waters Model 6000A 型双泵; Model 660 系统控制器; Reodyne 7010 进样阀; Rerkin-Elmer LC-55 紫外检测器。Myrtocyan 和矢车菊定-3-O-葡萄糖苷对照品由 INDENA 研究所提供。甲醇(色谱纯), 乙腈(色谱纯), 甲酸(分析纯), 盐酸(分析纯), 重蒸馏水。

#### 1.2 色谱条件

色谱柱: Aquapore RP-300 (220mm  $\times$  4.6mm); 预柱 Aquapore RP-300 (30mm  $\times$  2.2mm); 流动相 A: 甲酸水溶液 (10%); 流动相 B: V(甲醇): V(乙腈) = 1:1; 流速 1 mL/min,

梯度洗脱。保留时间 65 min。柱温 28°C; 检测波长 530 nm; 灵敏度 0.01 AUFS。

1.2.1 线性关系测定 精密称取矢车菊定-3-O-葡萄糖苷, 用含 0.1% 盐酸的甲醇配制成 39.7  $\mu\text{g/mL}$  的溶液, 分别进样 4、8、12、16 和 20  $\mu\text{L}$ , 用上述色谱条件测定, 以峰面积对对照品浓度作标准曲线, 其回归方程为:

$$Y = 3.4644 + 35.0376X \quad r = 0.9999$$

1.2.2 精密度 精密吸取矢车菊定-3-O-葡萄糖苷对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 重复进样 5 次 ( $n=5$ ), 对照品峰面积相对标准偏差 RSD = 2.04%。

#### 1.3 对照品溶液制备

已知含量的 Myrtocyan 0.1 g 溶解于含有 1% 盐酸的甲醇溶液中, 定容至 50 mL, 取 20  $\mu\text{L}$  进样。

#### 1.4 样品制备测定与加样回收率实验

1.4.1 样品制备 蓝浆果果实采自南京中山植物园兔眼蓝浆果试验苗圃, 榨去果汁, 残渣粉碎, 用含 0.1% 盐酸的 70% 乙醇浸渍, 低温真空浓缩至无醇味, 经  $D_{101}$  大孔树脂处理, 水、70% 乙醇洗脱, 减压回收至干, 碾成粉末状, 保存备用。

1.4.2 样品测定 精密称定 0.1 g 贮备样, 样品溶液制备方法同对照品, 取 20  $\mu\text{L}$  进样, 按上述条件测定, 得色谱图, 测峰面积, 代入回归方程, 其含量为 3.13%。

1.4.3 加样回收率实验 精密称取已知含量的样品, 精密添加矢车菊定-3-O-葡萄糖苷对照品, 按样品测定方法测定,

收稿日期: 2000-08-01

基金项目: 江苏省农业科技攻关基金资助 (BE96362) 和中国科学院重点项目资助 (K2952-J-019)

作者简介: 孙 视 (1967-), 男, 山西灵丘人, 在读博士生, 主要从事天然药物活性成分研究。

计算回收率为 99.7%, RSD = 2.56%。

## 2 结果与讨论

兔眼蓝浆果与欧洲越桔色素提取物 Myrtocyan 花青素的 HPLC 色谱图见图 1, 花青素成分的比较结果见表 1。从图 1 和表 1 可知, 对照品 Myrtocyan 共检测到 15 个主要花青苷成分, 与文献[5]报道的完全一致。与对照品相比, 兔眼蓝浆果样品除没有检测到 peonidin-3-O-arabinoside 以及一个未知成分外, 其他 14 个成分与对照品相同, 并且还检测到两个未知成分, 其相对含量较高, 结构尚待确定。从所含花青素的种类来看, 引种兔眼蓝浆果的色素成分, 即花青素的提取物中花青苷种类与对照品 Myrtocyan 的基本一致, 但根据图 1 中各峰的相对面积可以看出兔眼蓝浆果与 Myrtocyan 的各花青苷间的相对含量差异。

本试验取引种圃样品混合提取, 未检测到 peonidin-3-O-arabinoside 成分, 该成分在美国本土相对含量较低, 报道的 7 个品种中最高相对百分含量为 2.7%, 平均 1.4%, 而 Garden Blue 品种则未检测到, 导致这种结果的原因有待于进一步研究。

本文含量测定采用与文献[5]一致的方法, 用矢车菊定-3-O-葡萄糖苷标准品做对照, 测得的样品花青苷含量仅为 3.13%。简单的提取纯化工艺很难达到含量  $\geq 24\%$  的标准。而欧洲国家利用他们自己拥有的提取纯化技术, 使 Myrtocyan 的花青素含量  $\geq 36\%$ 。因而从开发利用兔眼蓝浆果色素资源的角度出发, 很有必要对色素的提取工艺作进一步研究。

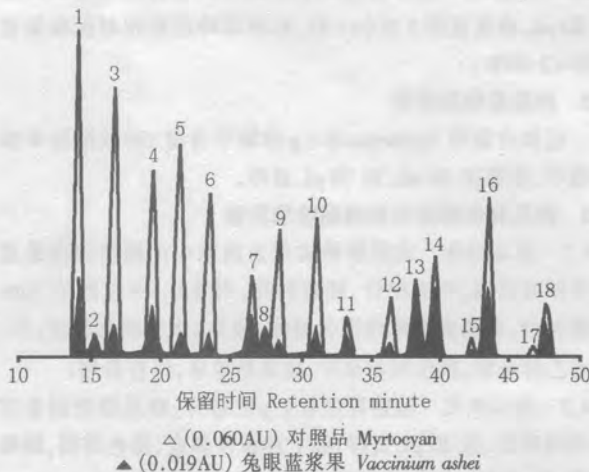


图 1 兔眼蓝浆果与欧洲越桔色素提取物 Myrtocyan 花青素色谱图  
Fig. 1 Chromatogram of anthocyanins from *Vaccinium ashei* Reade fruit and Myrtocyan

表 1 兔眼蓝浆果与欧洲越桔色素提取物 Myrtocyan 花青素成分比较<sup>1)</sup>

Table 1 The comparison of anthocyanins of *Vaccinium ashei* Reade fruit and Myrtocyan extracted from *V. myrtillus*<sup>1)</sup>

峰 Peak	化合物 Component	CK	VA
1	飞燕草定-3-O-半乳糖苷 delphinidin-3-O-glucoside	+	+
2	未知 unknown	-	+
3	飞燕草定-3-O-葡萄糖苷 delphinidin-3-O-glucoside	+	+
4	矢车菊定-3-O-半乳糖苷 cyanidin-3-O-glucoside	+	+
5	飞燕草定-3-O-阿拉伯糖苷 delphinidin-3-O-arabinoside	+	+
6	矢车菊定-3-O-葡萄糖苷 cyanidin-3-O-glucoside	+	+
7	矮牵牛定-3-O-半乳糖苷 petunidin-3-O-glucoside	+	+
8	未知 unknown	-	+
9	矢车菊定-3-O-阿拉伯糖苷 cyanidin-3-O-arabinoside	+	+
10	矮牵牛定-3-O-葡萄糖苷 petunidin-3-O-glucoside	+	+
11	芍药定-3-O-半乳糖苷 petunidin-3-O-glucoside	+	+
12	矮牵牛定-3-O-阿拉伯糖苷 petunidin-3-O-arabinoside	+	+
13	芍药定-3-O-葡萄糖苷 peonidin-3-O-glucoside	+	+
14	锦葵定-3-O-半乳糖苷 malvidin-3-O-glucoside	+	+
15	芍药定-3-O-阿拉伯糖苷 peonidin-3-O-arabinoside	+	-
16	锦葵定-3-O-葡萄糖苷 malvidin-3-O-glucoside	+	+
17	未知 unknown	+	-
18	锦葵定-3-O-阿拉伯糖苷 malvidin-3-O-arabinoside	+	+

<sup>1)</sup> CK: 对照品 control Myrtocyan; VA: 兔眼蓝浆果 *Vaccinium ashei* Reade; +: 有 present; -: 无 absent

致谢 意大利 INDENA 研究所在标准品及 HPLC 分析上提供帮助

## 参考文献:

- [1] Morazzoni P, Bombardelli E. *Vaccinium myrtillus* L. [J]. *Fitoterapia*, 1996, 67(1): 3-29.
- [2] Ballington J R, Ballinger W E, Maness E P. Interspecific difference in the percentage of anthocyanins, aglycones, and aglycone-sugars in the fruit of seven species of blueberries [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1987, 112(5): 859-864.
- [3] Ballington J R, Kirkman W B, Ballinger W E, et al. Anthocyanin, aglycone, and aglycone-sugar content in the fruits of Temperate North America species of four sections in *Vaccinium* [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1988, 113(5): 746-749.
- [4] Strack D, Akavia N, Reznik H. High performance liquid chromatographic identification of anthocyanins [J]. *Z Naturforsch*, 1980, 35: 533-538.
- [5] Baj J, Bombardelli E, Gabetta B, et al. Qualitative and quantitative evaluation of *Vaccinium myrtillus* anthocyanin high-resolution gas chromatography and high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromat*, 1983, 279: 365-372.

(责任编辑:惠 红)