

桂花果实 HPLC 指纹图谱及 9 种化学成分含量测定研究

李 爽, 陈 艳, 谢明珠, 杨 涛, 祝廷辉, 唐伟卓*

长沙学院 生物与环境工程学院, 湖南 长沙 410022

摘 要: **目的** 建立桂花 *Osmanthus fragrans* 果实 HPLC 指纹图谱及 9 种化学成分的定量测定方法, 为桂花果实的质量控制提供科学依据。**方法** 采用 YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-水 (含 0.1% 磷酸) 溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL, 检测波长 210 nm, 对不同产地桂花果实样品进行样分析; 采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 建立桂花果实的指纹图谱, 同时测定其中 9 种化学成分含量。**结果** 对不同产地 20 批桂花果实样品进行指纹图谱研究, 共标定了 24 个峰, 指出其中 9 个色谱峰。含量测定结果表明, 女贞苷 G13、特女贞苷、新女贞苷及红景天苷为桂花果实中主要化学成分。经方法学考察, 测定方法的精密度和重复性良好, 样品在 24 h 内稳定; 红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚在一定质量浓度范围内线性良好, 加样回收率均在 95%~105%。**结论** 建立的桂花果实 HPLC 指纹图谱及 9 种化学成分的定量分析方法稳定、可靠, 可为桂花果实的质量控制及综合开发提供参考。

关键词: 桂花果实; 指纹图谱; 女贞苷 G13; 特女贞苷; 新女贞苷; 红景天苷; 质量评价

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)15-4681-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.027

HPLC fingerprint and simultaneous determination of nine chemicals from fruits of *Osmanthus fragrances*

LI Shuang, CHEN Yan, XIE Ming-zhu, YANG Tao, ZHU Ting-hui, TANG Wei-zhuo

College of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint and simultaneously determination method for nine chemical components from fruits of Guihua (*Osmanthus fragrans*, OF), so as to provide reference for the quality control of OF fruits. **Methods** The separation was developed on YMC-Pack ODS-A column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) by gradient elution with acetonitrile-water (containing 0.1% of phosphoric acid) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 35 °C, the injection volume was 10 μL, and the detection wavelength was set as 210 nm. The fingerprint of OF fruits was established by using the similarity evaluation system of chromatographic fingerprint of TCM of the State Pharmacopoeia Committee (2012 Edition), and the contents of nine chemical components were determined simultaneously. **Results** The fingerprints of 20 batches of OF fruits from different areas were studied and a total of 24 peaks were calibrated and nine of them were quantitative analyzed. The results revealed that nuezhenide G13, spenuezenide, neonuezenide, and salidroside were the major compounds for OF fruits. According to the methodological investigation, the precision and repeatability were good, and the sample was stable within 24 h. Moreover, the linear ranges of nine chemicals, named salidroside, verbascoside, neonuezenide, spenuezenide, isoergosteroside, nuezhenide G13, quercetin, apigenin and kaempferol were all good and their recovery rate ranged from 95% to 105%. **Conclusion** The HPLC fingerprint combined with the simultaneous determination of nine chemical components analysis method established in this study are stable and reliable, which can provide the basis for the quality control and comprehensive utilization of OF fruits.

Key words: *Osmanthus fragrans* fruits; fingerprint; nuezhenide G13; spenuezenide; neonuezenide; salidroside; quality evaluation

收稿日期: 2020-12-03

基金项目: 湖南省教育厅优秀青年项目 (18B407); 长沙市科技计划项目 (kq2009024)

作者简介: 李 爽 (2000—), 女, 本科在读。Tel: 15274822553 E-mail: 1195960083@qq.com

*通信作者: 唐伟卓 (1985—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物的结构与开发利用。Tel: 18521055135 E-mail: tweizhuo@126.com

桂花 *Osmanthus fragrans* L. 又名木犀, 为我国十大传统名花之一, 主产四川、广西、湖南、江苏、湖北等地。《本草纲目》载: “桂花生津、辟臭、化痰, 治风火牙痛”, 其根、花、果实均可入药^[1-2]。桂花具有较高的观赏价值和园林用途, 种植和分布广泛, 在我国已有 2500 多年的栽培历史, 形成了丰富的桂花种质资源^[3]。桂花果实又称为桂花子, 长卵形, 状如小橄榄, 成熟时呈紫黑色。《江苏药材志》和《植物名实图考长编》载“桂花子, 味甘、辛, 性温, 能暖胃、益胃, 散寒”, 民间用作止痛剂, 治疗肝胃气病和心痹疼痛^[4]。

通过文献查询, 桂花的相关研究主要集中在其花和叶部位, 内容涵盖花部位芳香性成分的分析 and 提取^[4-8]、多糖提取^[9]、黄酮成分^[10]及叶部位的挥发油分析^[11-14]等方面, 而有关桂花果实的研究相对偏少, 已有文献报道了桂花果实色素^[15-16]及粗提物的活性研究^[17-19]。整体上, 涉及桂花果实系统的化学成分分析报道有限。我国作为桂花的主要产区, 拥有大量的桂花果实资源。但是, 桂花果实除了少数作为种质资源进行育苗和栽培外, 大多数作为农业废弃物处理, 没有得到充分利用, 造成了一定的浪费。课题组前期对桂花果实的油脂性成分进行了脂肪酸分析^[20-21], 同时对其中环烯醚萜苷类成分的提取工艺及生物活性也进行了初步探讨^[22]。上述工作提示桂花果实具有较好的开发价值和潜力。

为了更好地开发桂花果实这种药用资源, 本研究对桂花果实进行 HPLC 指纹图谱研究, 建立其中红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素和山柰酚 9 种化学成分的同步测定方法, 同时, 开展不同产地桂花果实的含量比较分析, 以期对桂花果实质量控制和综合利用提供参考。

1 仪器与材料

Waters e2695 高效液相色谱仪及 2998 PDA 检测器, 美国 Waters 公司; TMT-3 电子天平, 湖南湘仪天平仪器设备有限公司; MS105/A 分析天平, 美国 Metler Toledo 公司; KQ-400DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; SHZ-D (III) 循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; DFT-100 中药粉碎机, 温岭市林大机械有限公司。

红景天苷 (批号 B20504, 质量分数≥98%)、毛蕊花糖苷 (批号 B20715, 质量分数≥98%)、新女贞苷 (批号 B25825, 质量分数≥95%)、异麦角

甾苷 (批号 B21535, 质量分数≥98%)、槲皮素 (批号 B20527, 质量分数≥98%)、芹菜素 (批号 B20981, 质量分数≥98%)、山柰酚 (批号 B21126, 质量分数≥98%)、特女贞苷 (批号 B21240, 质量分数≥98%)、女贞苷 G13 (批号 B20924, 质量分数≥98%) 对照品购自上海源叶生物; 色谱级乙腈购自 Tedia 公司; 纯净水, 屈臣氏集团, 其余分析级试剂均购自于国药集团化学试剂有限公司。不同产地桂花果实 2019 年 5 月分别购自于当地市场, 经长沙学院陈建荣教授鉴定为木犀属植物桂花 *O. fragrance* L. 的干燥成熟种子, 各种标本现保存于长沙学院生物与环境工程学院天然产物研究中心。具体信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	产地	编号	产地
S1	广西南宁	S11	河北邢台
S2	江苏徐州	S12	河北邯郸
S3	江苏宿迁	S13	河北沧州
S4	江苏南京	S14	河北衡水
S5	湖南永州	S15	浙江绍兴
S6	湖南长沙	S16	浙江宁波
S7	湖南常德	S17	四川德阳
S8	湖南株洲	S18	四川成都
S9	湖南湘潭	S19	山东烟台
S10	湖南邵阳	S20	江西南昌

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 YMC-Pack ODS-A (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) ~0.1% 磷酸水溶液 (B); 梯度洗脱: 0~35 min, 10%~30% A; 35~50 min, 30%~50% A; 50~51 min, 50%~95% A; 51~60 min, 90% A; 60~61 min, 95%~10% A; 61~65 min, 10% A; 体积流量 1.0 mL/min, 进样体积 10 μL, 波长 210 nm, 柱温 25 °C。

2.2 桂花果实指纹图谱研究

2.2.1 供试品溶液的制备 取适量桂花果实样品粉碎, 过 4 号筛, 精密称定 0.1 g 置离心管中, 加入甲醇 10 mL, 准确称定质量, 超声提取 30 min, 放冷后称量, 用溶剂补足质量, 随后样品放入离心机中离心 10 min。取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 待测。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定红景天苷、新女贞苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚对照品适量,

置于 10 mL 量瓶中,用色谱甲醇溶解定容,制得含上述对照品质量浓度分别为 4.25、2.81、1.30、4.78、0.30、5.98、0.16、0.15、0.42 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 精密度试验 取桂花果实,按“2.2.1”项下方法制备供试品,按上述色谱条件连续进样 6 次,以分离度较好且峰面积较大的特女贞苷为参照峰,考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果表明,各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 1.0%,相对峰面积 RSD 值均小于 3.0%,表明仪器精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取桂花果实药材,按“2.2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样,以特女贞苷为参照峰,考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果表明,各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 1.0%,相对峰面积 RSD 值均小于 3.0%,表明方法重复性良好。

2.2.5 稳定性试验 取桂花果实药材,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,室温下放置,分别在 0、2、4、8、12、24 h 后按“2.1”项下色谱条件进样,以特女贞苷为参照峰,考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果表明,各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 1.0%,相对峰面积 RSD 值均小于 3.0%,表明供试品溶液在 24 h 内

稳定性良好。

2.2.6 桂花果实 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 将收集的 20 批桂花果实(S1~S20),按“2.2.1”项方法制备供试品溶液,并按“2.1”项色谱条件下进样,得 20 批桂花果实 HPLC 色谱图(图 1)。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)进行指纹图谱分析,以样品(S20)图谱为参照指纹图谱,用中位数法生成对照指纹图谱,采用多点校正后进行自动匹配。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 值均小于 1.0%。对 20 批桂花果实色谱图与对照指纹图谱进行相似度评价,发现 S1~S20 相似度均 ≥ 0.909 (表 2)。

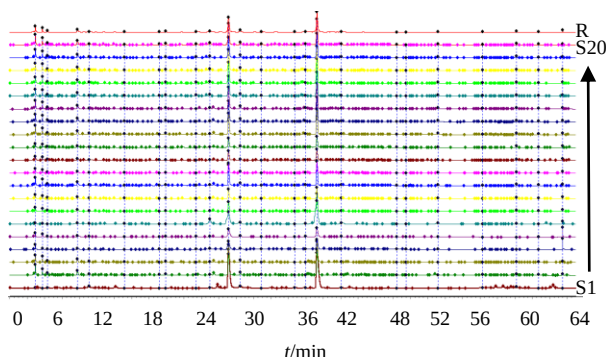


图 1 20 批桂花果实指纹图谱及其对照指纹图谱(R)

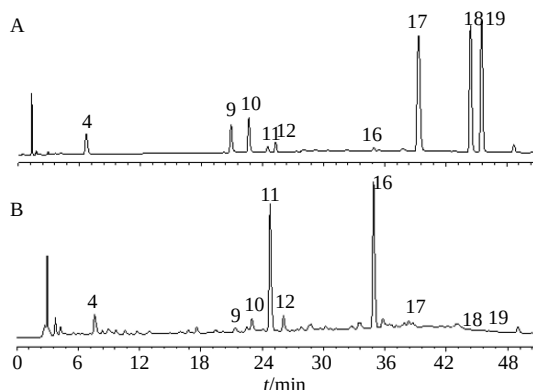
Fig. 1 Fingerprints of 20 batches of *O. fragrans* fruits and their reference fingerprints (R)

表 2 20 批桂花果实样品的指纹图谱与对照指纹图谱相似度评价结果

Table 2 Similarity of fingerprint of 20 batches of *O. fragrans* fruits and their reference fingerprints

样品	相似度																				
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	对照
S1	1.000	0.969	0.974	0.954	0.955	0.906	0.969	0.968	0.968	0.967	0.968	0.971	0.966	0.966	0.969	0.965	0.968	0.972	0.966	0.966	0.978
S2	0.969	1.000	0.998	0.985	0.983	0.914	0.997	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997	0.996	0.998	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	
S3	0.974	0.998	1.000	0.985	0.985	0.921	0.998	0.999	0.998	0.999	0.998	0.999	0.996	0.998	0.999	0.995	0.996	0.997	0.996	0.996	0.998
S4	0.954	0.985	0.985	1.000	0.995	0.914	0.987	0.986	0.985	0.987	0.986	0.985	0.985	0.986	0.985	0.987	0.987	0.986	0.987	0.987	0.987
S5	0.955	0.983	0.985	0.995	1.000	0.909	0.988	0.988	0.986	0.987	0.987	0.987	0.985	0.985	0.986	0.985	0.985	0.985	0.985	0.984	0.986
S6	0.906	0.914	0.921	0.914	0.909	1.000	0.919	0.915	0.920	0.916	0.914	0.920	0.915	0.920	0.922	0.919	0.921	0.928	0.919	0.917	0.935
S7	0.969	0.997	0.998	0.987	0.988	0.919	1.000	0.998	0.997	0.998	0.998	0.998	0.998	0.997	0.998	0.996	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997
S8	0.968	0.997	0.999	0.986	0.988	0.915	0.998	1.000	0.999	0.999	0.999	1.000	0.996	0.998	0.999	0.996	0.996	0.996	0.996	0.996	0.996
S9	0.968	0.997	0.998	0.985	0.986	0.910	0.997	0.999	1.000	0.999	0.997	0.998	0.997	0.999	0.999	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997
S10	0.967	0.998	0.999	0.987	0.987	0.916	0.998	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.998	0.999	0.999	0.996	0.996	0.996	0.997	0.997	0.997
S11	0.968	0.997	0.998	0.986	0.987	0.914	0.998	0.999	0.997	0.999	1.000	0.999	0.996	0.997	0.998	0.994	0.994	0.995	0.995	0.995	0.996
S12	0.971	0.997	0.999	0.985	0.987	0.920	0.998	1.000	0.998	0.999	0.999	1.000	0.996	0.997	0.999	0.995	0.995	0.997	0.996	0.995	0.997
S13	0.966	0.996	0.996	0.985	0.985	0.915	0.998	0.996	0.997	0.998	0.996	0.996	1.000	0.998	0.997	0.997	0.997	0.996	0.999	0.999	0.996
S14	0.966	0.998	0.998	0.986	0.985	0.920	0.997	0.998	0.999	0.999	0.997	0.997	0.998	1.000	0.999	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997
S15	0.969	0.997	0.999	0.985	0.986	0.922	0.998	0.999	0.999	0.999	0.998	0.999	0.997	0.999	1.000	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997	0.998
S16	0.965	0.997	0.995	0.987	0.985	0.919	0.996	0.996	0.997	0.996	0.994	0.995	0.997	0.997	0.997	1.000	1.000	0.998	0.999	0.999	0.997
S17	0.968	0.997	0.996	0.987	0.985	0.921	0.997	0.996	0.997	0.996	0.994	0.995	0.997	0.997	0.997	1.000	1.000	0.999	0.999	0.999	0.997
S18	0.972	0.997	0.997	0.986	0.985	0.928	0.997	0.996	0.997	0.996	0.995	0.997	0.996	0.997	0.998	0.998	0.999	1.000	0.998	0.997	0.998
S19	0.966	0.997	0.996	0.987	0.985	0.919	0.998	0.996	0.998	0.997	0.995	0.996	0.999	0.998	0.998	0.999	0.999	0.998	1.000	0.999	0.997
S20	0.966	0.997	0.996	0.987	0.984	0.917	0.997	0.996	0.998	0.997	0.995	0.995	0.999	0.998	0.997	0.999	0.999	0.997	0.999	1.000	0.997
对照	0.978	0.997	0.998	0.987	0.986	0.935	0.997	0.996	0.997	0.997	0.996	0.997	0.996	0.997	0.998	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997	1.000

2.2.7 指纹图谱共有峰的指认与归属 取“2.2.1”和“2.2.2”项下制备的桂花果实供试品溶液(S1)和混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,通过保留时间和UV紫外图谱对照分析,确定4号峰为红景天苷、9号峰为毛蕊花糖苷、10号峰为新女贞苷、11号峰为特女贞苷、12号峰为异麦角甾苷、16号峰为女贞苷 G13、17号峰为槲皮素、18号峰为芹菜素、19号峰为山柰酚,混合对照品以及桂花果实样品的 HPLC 色谱图见图 2。



4-红景天苷 9-新女贞苷 10-毛蕊花糖苷 11-特女贞苷 12-异麦角甾苷 16-女贞苷 G13 17-槲皮素 18-芹菜素 19-山柰酚
4-salidroside 9-neonuezhenide 10-pilosyl glucoside
11-spenuezhenide 12-isoergosteroside 16-nuezhenide G13
17-quercetin 18-apigenin 19-kaempferol

图2 混合对照品(A)和桂花果实样品(B)溶液的HPLC图
Fig. 2 HPLC of nine mixed references (A) and sample of *O. fragrans* fruits (B)

2.3 桂花果实中9种化学成分含量测定

2.3.1 色谱条件及供试品溶液、混合对照品溶液的制备 同“2.1”“2.2.1”“2.2.2”项下方法。

2.3.2 线性关系考察 按“2.2.2”项下方法制备含有红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚分别为 262.7、16.4、8.8、285.5、1.6、369.3、1.0、1.0、3.0 $\mu\text{g/mL}$; 525.4、32.8、17.7、571.1、3.2、738.6、2.0、2.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$; 1 050.9、65.6、35.3、1 142.1、6.4、1 477.2、4.0、4.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$; 2 101.8、131.2、70.6、2 284.2、12.8、2 954.4、8.0、8.0、21.0 $\mu\text{g/mL}$; 4 203.5、262.4、141.2、4 568.4、25.6、5 908.9、16.0、16.0、41.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,置于 1 mL 量瓶中,以甲醇定容,摇匀,得系列质量浓度的混合对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件依次进样测定,以对照品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性分析,得各成分回归方程,结果见表 3。结果表明,桂花果实中上述 9 种化学成分在相应的质量浓度范围与峰面积的线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取桂花果实样品按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱峰面积,计算红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素和山柰酚各成分峰面积的 RSD 值依次为 2.02%、2.72%、2.65%、2.49%、2.97%、1.96%、2.93%、2.81%、2.57%,均小于 3.0%。

表 3 桂花果实中 9 种化学成分线性关系考察结果

Table 3 Results of linear relation of constants of *O. fragrans* fruits

成分	线性方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
红景天苷	$Y=9\times 10^6 X+100\ 000$	0.997 3	262.7~4 203.5
毛蕊花糖苷	$Y=2\times 10^6 X+3\ 318.8$	0.998 3	16.4~262.4
新女贞苷	$Y=2\times 10^6 X+9\ 051.6$	0.998 9	8.8~141.2
特女贞苷	$Y=6\times 10^6 X+324\ 561$	0.999 7	285.5~4 568.4
异麦角甾苷	$Y=7\times 10^6 X+5\ 113$	0.999 0	1.6~25.6
女贞苷 G13	$Y=7\times 10^6 X+880\ 146$	0.998 1	369.3~5 908.9
槲皮素	$Y=3\times 10^7 X-954.58$	0.999 0	1.0~16.0
芹菜素	$Y=9\times 10^7 X-4\ 157.1$	0.980 5	1.0~16.0
山柰酚	$Y=6\times 10^7 X-8\ 768.2$	0.990 3	3.0~41.0

2.3.4 重复性试验 取同一批(S1)桂花果实样本,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按“2.1”项下色谱条件连续进样,记录色谱峰面积,计算得红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素和

山柰酚各成分质量分数的 RSD 值分别为 2.56%、2.95%、2.65%、2.79%、2.43%、2.62%、2.49%、2.51%、2.67%,表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一批(S1)桂花果实样本,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项

下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,记录色谱峰面积,计算得红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素和山柰酚各成分峰面积的 RSD 值依次为 2.38%、2.56%、2.73%、2.97%、2.64%、2.51%、2.61%、2.47%、2.77%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取同一批(S1)桂花果实,精密称定 6 份,每份 0.05 g,分别加入红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚对照品 13.57、0.67、0.10、15.95、0.10、13.99、0.04、0.03、0.10 μg ,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进行测定,记录峰面积并计算回收率。

结果表明,红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚的平均加样回收率依次为 98.0%、100.4%、101.5%、101.9%、98.1%、102.6%、102.1%、99.3%、99.9%,RSD 值分别为 2.81%、0.58%、0.59%、2.38%、2.28%、1.17%、2.58%、2.24%、1.42%,表明该方法的回收率良好。

2.3.7 不同产地桂花果实样品含量测定 为了分析不同产地桂花果实的质量差异,按“2.2.1”项下方法制备 20 个不同产地桂花果实供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算各样品中红景天苷、毛蕊花糖苷、新女贞苷、特女贞苷、异麦角甾苷、女贞苷 G13、槲皮素、芹菜素、山柰酚的含量,结果见表 4。

表 4 不同产地 20 批桂花果实中 9 种化学成分含量测定结果

Table 4 Determination of nine chemicals of 20 batches of *O. fragrans* fruits from different habitats

产地	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	红景天苷	毛蕊花糖苷	新女贞苷	特女贞苷	异麦角甾苷	女贞苷 G13	槲皮素	芹菜素	山柰酚
S1	2.789	0.605	1.556	19.035	0.038	30.168	0.072	0.003	0.007
S2	2.883	0.588	1.590	16.565	0.056	31.333	0.083	0.002	0.008
S3	2.550	0.599	1.556	14.583	0.098	33.274	0.079	0.003	0.009
S4	2.660	0.590	1.559	15.866	0.076	28.351	0.073	0.002	0.005
S5	2.565	0.538	1.662	14.264	0.133	29.625	0.071	0.002	0.006
S6	2.749	0.548	1.580	17.573	0.057	25.749	0.074	0.002	0.008
S7	2.721	0.605	1.529	14.181	0.228	25.284	0.081	0.003	0.009
S8	2.749	0.548	1.580	14.573	0.057	25.749	0.079	0.003	0.008
S9	2.411	0.543	1.593	16.666	0.188	32.177	0.082	0.002	0.006
S10	2.268	0.660	1.589	19.303	0.131	24.477	0.083	—	—
S11	2.343	0.545	1.605	19.137	0.084	25.164	0.079	0.002	0.008
S12	2.083	0.587	1.572	18.343	0.064	24.955	0.073	0.004	0.006
S13	2.343	0.585	1.594	17.813	0.040	24.801	0.085	0.003	0.007
S14	2.433	0.611	1.610	19.462	0.021	24.934	0.076	0.002	0.007
S15	2.806	0.623	1.612	19.556	0.104	31.135	0.078	0.003	0.008
S16	2.755	0.601	1.637	22.424	0.201	24.252	0.084	0.003	0.007
S17	2.754	0.613	1.764	26.808	0.325	40.338	0.075	0.003	0.008
S18	2.235	0.619	1.614	19.521	0.093	33.981	0.081	0.003	0.007
S19	2.404	0.557	1.621	20.631	0.235	33.151	0.083	0.002	0.006
S20	2.440	0.574	1.634	21.331	0.104	36.948	0.082	0.003	0.008

结果显示,特女贞苷、女贞苷 G13 和新女贞苷为桂花果实中主要化学成分,其中,尤以特女贞苷和女贞苷 G13 含量较高,二者质量分数范围分别为 14.181~26.808 mg/g、24.252~40.338 mg/g。这一结果与文献报道桂花果实中特征性化学成分主要为环烯醚萜苷类成分一致^[22]。另外,桂花果实中虽然检测到一定的黄酮类成分,但是它们的含量较低。因此,可以考虑采用特女贞苷和女贞苷 G13 作为桂花果实质量评价的主要指标。从不同产地桂花果实化学成分测定结果来看,各地区桂花果实中环烯醚萜苷类成分的含量差异比较明显。其中,四川德阳

地区的桂花果实中女贞苷 G13 和特女贞苷含量最高。不同产地桂花果实中代表性成分的含量差异原因推测与不同产地的地理位置、气候、土壤等环境综合因素有关。同时,与购买的桂花果实的采集时间、储存条件或品种也有一定关联,具体的差异原因有待进一步分析。

3 讨论

3.1 提取溶剂的考察

为了考察不同提取溶剂对桂花果实含量测定结果的影响,平行称定 8 份桂花果实样本 1.0 g,置三角瓶中,分别加入 100%、90%、70%和 50%甲醇以

及100%、90%、70%和50%乙醇各50 mL进行超声提取,提取液过滤后进行HPLC分析。结果显示,纯甲醇对桂花果实中各成分的提取效果最好,故选择100%甲醇作为本研究提取溶剂。

3.2 检测波长的选择

采用紫外检测器对桂花果实对照品及供试品溶液进行200~400 nm全波长扫描。结果发现,桂花果实中环烯醚萜苷类成分:女贞苷G13,特女贞苷,新女贞苷和红景天苷分别在230、224、210、220 nm处有最大吸收,其他成分的最大吸收范围在220~375 nm。通过波长筛选,桂花果实中9种化学成分在210 nm处均能显示,且分离度和峰形良好,故选择210 nm作为测定波长。

3.3 流动相的选择

本实验综合考虑色谱基线、峰形及分离度对色谱分析的影响,依次考察了乙腈-水、乙腈-0.1%醋酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-水、甲醇-0.1%醋酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液等不同类型流动相的洗脱效果,最终发现以乙腈-0.1%磷酸溶液进行梯度洗脱效果最好。

本实验建立了桂花果实的HPLC指纹图谱,并通过相似度评价系统分析了其结果。同时,建立了同步测定桂花果实中9种化学成分的含量测定方法。方法学考察结果表明,该分析方法稳定、可靠,可用于不同产地桂花果实的质量分析与评价。上述研究结果可为桂花果实的质量控制和综合利用提供依据和参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 王红运. 桂花ERF2转录因子在CCD1和CCD4基因表达调控中的作用研究[D]. 开封: 河南大学, 2019.
- 刘东阳, 闵清. 桂花果的活性成分及其药理作用的研究进展[J]. 湖北科技学院学报: 医学版, 2017, 31(4): 361-364.
- 赵宏波, 郝日明, 胡绍庆. 中国野生桂花的地理分布和种群特征[J]. 园艺学报, 2015, 42(9): 1760-1770.
- 刘洁, 朱长通. HPLC法测桂花中槲皮素的含量[J]. 轻工科技, 2018, 34(1): 43-44.
- 狄飞达, 张驰松, 郑亭, 等. 桂花功能性成分提取及加工应用进展[J]. 农产品加工, 2019(21): 75-77.
- 孙宝军. 中国部分桂花品种芳香成分研究[D]. 开封: 河南大学, 2011.
- 吴超然, 房仙颖, 萧伟. 桂花非挥发性成分及药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(8): 1439-1448.
- 郑义, 贾纪萍, 邵凤玲, 等. 桂花精油的提取及芳香物质分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(22): 223-226.
- 陈培珍, 马春华, 刘俊劭, 等. 桂花精油提取工艺优化及其成分分析[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(10): 54-57.
- 蒋德旗, 黄利敏, 王艳, 等. 响应面优化纤维素酶法提取桂花多糖工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 271-275.
- Yu J F, Lou Q, Zheng X Y, et al. Sequential combination of microwave- and ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Osmanthus fragrans* Lour. flowers[J]. *Molecules*, 2017, 22(12): E2216.
- 尹伟, 郁阳, 马秋丽, 等. 桂花叶的化学成分及抗肿瘤活性研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2018, 26(2): 178-184.
- 杨淇, 吴正云, 张文学. 桂花酒的制备与其香气成分分析[J]. 食品科技, 2017, 42(2): 50-54.
- 李彦灵, 叶同生, 曾凡一, 等. 不同采摘时期桂花中总黄酮含量的测定及纯化[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(10): 44-47.
- Wang H S, Pan Y M, Tang X J, et al. Isolation and characterization of melanin from *Osmanthus fragrans*' seeds[J]. *LWT Food Sci Technol*, 2006, 39(5): 496-502.
- Pan Y M, Zhu Z R, Huang Z L, et al. Characterisation and free radical scavenging activities of novel red pigment from *Osmanthus fragrans*' seeds[J]. *Food Chem*, 2009, 112(4): 909-913.
- 李佳川, 赵兴冉, 程雪瑶, 等. 桂花子的抗炎镇痛作用研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(3): 123-124.
- 金裕华, 翟凡, 邹涛, 等. 桂花果活性成分提取纯化及其抗氧化活性[J]. 湖北理工学院学报, 2019, 35(5): 24-29.
- 张蝶, 王苗苗, 李桂华, 等. 桂花果实油脂的不同提取方法工艺优化及脂肪酸组成[J]. 中国油脂, 2019, 44(3): 15-19.
- 王苗苗, 李桂华, 刘嘉琪, 等. 响应面优化回流提取桂花不同品种种子油工艺及脂肪酸组成分析[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 1986-1993.
- 李桂华, 王苗苗, 贺魏, 等. 桂花种子环烯醚萜苷的提取工艺与抗血栓活性研究[J]. 中草药, 2018, 49(13): 3033-3041.
- 吕伟, 闵清, 白育庭. 桂籽中有效活性成分的药理作用研究概况[J]. 湖北科技学院学报: 医学版, 2019, 33(1): 90-92.

[责任编辑 时圣明]