

# 利用 RP-HPLC 法研究罗汉果采后贮藏期甜苷 V 的含量变化趋势

梁成钦<sup>1</sup>, 周先丽<sup>1</sup>, 刘林文<sup>2</sup>, 苏小建<sup>2</sup>, 徐庆<sup>1</sup>

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004 2. 广西师范大学 环境与资源学院 广西 桂林 541004)

**摘要:**以 RP-HPLC 法检测罗汉果中甜苷 V 的含量, 研究罗汉果采后不同贮藏期内甜苷 V 的含量变化趋势。结果表明: 所检测的罗汉果在采后第 1 天甜苷 V 含量为 0.3232%, 第 7 天为 0.3643%, 第 14 天为 0.3818%。由此可见, 罗汉果在采后 1~14 d 的贮藏期间甜苷 V 含量依然会逐步增加, 但前 7 d 增加较快, 后 7 d 增加较慢。

**关键词:**罗汉果甜苷 V; 采后贮藏期; RP-HPLC; 含量变化

**中图分类号:** Q 949.782 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)20-0164-03

罗汉果 [*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey] 是葫芦科 (Cucurbitaceae) 罗汉果属植物的成熟果实, 为我国特有的经济、药食两用植物, 主要分布于广西、广东、江西、湖南南部等地区<sup>1-3</sup>。罗汉果甜苷是罗汉果中的主要成分之一, 在干果中的总含量为 3.76%~3.86%<sup>1,3</sup> 其中罗汉果甜苷 V (Mogroside V) 是甜苷中主要甜味成分, 占总甜苷量的 30%~40%, 其甜味比蔗糖甜 300 多倍, 是一种很好的甜味剂<sup>4</sup>。罗汉果每年的开花期在 6~8 月, 结果期在 8~10 月, 果实成熟期在 9~11 月<sup>3</sup>, 李典鹏等<sup>6</sup> 的研究表明, 罗汉果果实从授粉后 5 d 开始即有苷类成分出现, 70 d 左右, 罗汉果甜苷 IV 含量达到最高, 并有罗汉果甜苷 V 生成。果农一般在罗汉果成熟后, 采摘回来, 放在干燥通风处存放 7~15 d, 让其充分成熟。在这个过程中甜苷 V 的含量是否会发生变化, 目前还没有文献报道。因此, 该研究采用 RP-HPLC 分析测定法测定罗汉果采摘后 0~14 d 内甜苷 V 的含量, 以揭示罗汉果在采后贮藏期中甜苷 V 的含量变化的规律, 为指导罗汉果的生产和质量控制提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

新鲜罗汉果 2008 年秋采摘于广西桂林临桂县, 为皮青且蒂带微黄的果实; 罗汉果甜苷 V 标准品 (纯度 99.70%, 由桂林思特公司提供); 甲醇和乙腈都为国产分

析纯。WS210S 型电子分析天平 (北京赛多利斯天平有限公司); STRATA XTM 固相萃取小柱 (8B-S100-FBJ, 200 mg/ (3 mL); phenomenex, 美国菲罗门); P200II 型高效液相色谱仪 (大连依利特分析仪器有限公司), 包括 UV230+ 型紫外-可见光检测器, P230 型高压恒流输液泵, Rheodyne7725i 高压进样阀, EC2000 色谱工作站。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 罗汉果样品处理** 将采来的新鲜罗汉果挑选 4 个, 编号为 P1、P2、P3 和 P4。因为不同罗汉果所含成分含量不同, 为了使结果更具参考价值, 将罗汉果切片后再分组。同时为避免切后霉变, 所以用酒精适当处理灭菌后, 在无菌操作台上将每个罗汉果用手术刀切分为 3 片, 切分时尽量均等并尽可能少地破坏组织细胞, 并依次编号为 P1-1、P1-2、P1-3……P4-1、P4-3、P4-3。然后将它们分为 3 组, 每组包括每个罗汉果的 1 片, 并将其放入已用高压灭菌锅灭菌的加塞瓶子中, 无菌室温存放。第 1 组于当天各加入 100 mL 无水乙醇浸泡保存, 以杀灭酶活, 停止甜苷 V 的生成。第 2 组于第 7 天各加入 100 mL 无水乙醇浸泡保存, 第 3 组于第 14 天各加入 100 mL 无水乙醇浸泡保存。

**1.2.2 罗汉果甜苷的提取** 第 15 天时, 将各浸泡罗汉果的乙醇倾出, 减压旋干后加一定量的蒸馏水溶解作为提取液。罗汉果切片再用玻璃棒捣碎, 加入固液质量比为 1:8 的蒸馏水 90℃浸提 2 次, 每次 1 h, 并与乙醇提取液合并, 过滤后定容为 500 mL, 待纯化处理。

**1.2.3 罗汉果甜苷 V 纯化处理** 采用 SPE 小柱进行纯化<sup>4</sup>。先用 2 mL 甲醇活化, 再用 4 mL 去离子水平衡柱子, 取 1.2.2 中得到的提取液 2 mL 上样, 待样品吸附

第一作者简介: 梁成钦 (1977), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事天然产物研究与开发工作。E-mail: lichqixing@163.com.

通讯作者: 苏小建 (1957), 男, 高级工程师, 现主要从事天然产物研究与开发工作。E-mail: xiaojiansu@163.com.

收稿日期: 2010-07-06

后,再用4 mL去离子水淋洗柱子,最后用10 mL甲醇洗脱,放40℃烘箱中干燥后,用高效液相测定时的流动相溶解,定容为1 mL,用0.45 μm滤膜过滤后放入-20℃的冰箱中保存备用。

**1.2.4 色谱条件** 分析型HPLC柱:Agilent ZORBAX SB-C18柱,规格:4.6 mm×250 mm,5 μm;流动相:乙腈-水(体积比21.5:78.5);流速:1 mL/min;进样体积:20 μL;检测波长:203 nm;柱温:室温;检测灵敏度:0.0050 AUFS;定量方法:外标法。

**1.2.5 线性关系考察** 精密称取罗汉果甜苷标准品10.03 mg放入10 mL的容量瓶中,用流动相(21.5%的乙腈水溶液)溶解,定容到刻度,配成浓度为1.000 mg/mL的标准样品,分别吸取一定量的标准样品,用流动相稀释,配成质量浓度为0.025、0.050、0.100、0.250、0.500、1.000 mg/mL的对照溶液,分别进行HPLC测定,考察线性关系及线性范围,以峰面积Y(mv/min)纵坐标,对照溶液的质量浓度X(mg/mL)为横坐标绘制标准曲线,得回归方程。

**1.2.6 精密度试验** 取浓度为0.500 mg/mL的对照样品进行HPLC检测,6次重复。

**1.2.7 重现性试验** 取一待测样品(P2-2)进行HPLC

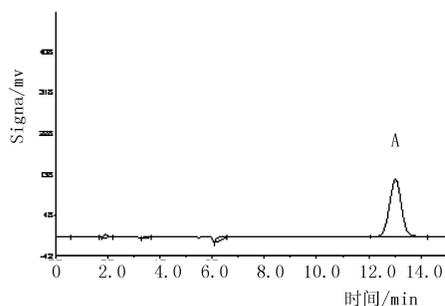


图1 罗汉果甜苷V标准样品色谱图

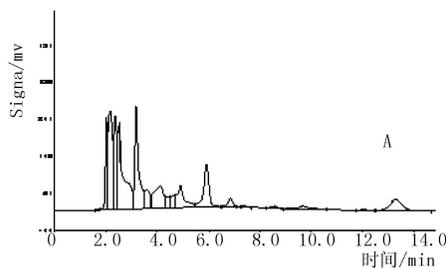


图2 罗汉果样品的色谱图

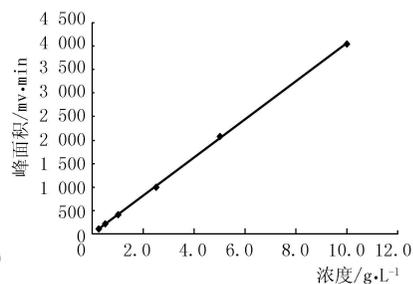


图3 罗汉果甜苷V标准曲线

## 2.3 精密度试验

罗汉果甜苷V的精密度检测结果见表1。RSD为2.08%(n=6),表明精密度良好。

表1 罗汉果甜苷V的精密度试验

次数	保留时间/min	峰面积
1	13.30	2 213.01
2	13.28	2 079.27
3	13.30	2 167.90
4	13.31	2 184.04
5	13.31	2 167.03
6	13.32	2 174.00
RSD%		2.08

## 2.4 重现性试验

样品的重现性检验结果见表2。RSD为0.47%(n=6),保留时间和峰面积响应值重现性良好。

检测,重复6次。

**1.2.8 加样回收率试验** 取待测样品P2-1和浓度为0.25 mg/mL对照品各100 μL混和进行HPLC检测,重复5次,同时,P2-1和对照品0.25 mg/mL也分别进样检测,5次重复,计算甜苷V的回收率。

**1.2.9 待测样品甜苷V含量的测试** 将1.2.3中得到的待测样品进样分析,每个样品进样3次,取平均值,外标法定量。

## 2 结果与分析

**2.1 罗汉果甜苷V标准样品及待测样品的HPLC测定的峰形和保留时间对照**

由图1、2可知,A峰为甜苷V,保留时间为13.30、13.31 min。理论塔板数以罗汉果甜苷V计不少于14 200,与邻近峰的分离度达到1.80,说明分离度很好,杂峰对测定没有干扰。

**2.2 标准曲线的绘制**

对罗汉果甜苷V标准曲线的测定结果如图3。经计算,线性回归方程为: $Y=4\ 059.9X+5.8119$  ( $R^2=0.9997$ )。峰面积的响应值与罗汉果甜苷V的质量在0.0005~0.0200 mg范围内有良好的线性关系。

表2 鲜果中罗汉果甜苷V测定重复性情况

次数	保留时间/min	峰面积
1	13.30	986.96
2	13.33	996.18
3	13.32	993.50
4	13.31	986.27
5	13.34	986.40
6	13.36	977.44
RSD%		0.47

## 2.5 加样回收率试验

加样回收试验测定的结果见表3。采用峰面积比计算回收率<sup>[7]</sup>。平均回收率达100.15%,RSD为1.55%(n=5),结果显示,在该色谱条件下,可以准确地测定罗汉果甜苷V的含量,杂质干扰可以忽略,回收率高。

表3 样品加样回收率试验

次数	样品		对照品		样品+对照品	回收率 /%
	峰面积	峰面积 平均值/2	峰面积	峰面积 平均值/2	峰面积 /mv·min	
1	1 008.79	514.58	1 115.36	564.44	1 079.53	100.09
2	1 036.33		1 120.72		1 074.24	99.15
3	1 009.06		1 129.67		1 093.74	102.61
4	1 074.63		1 162.25		1 071.99	98.75
5	1 017.00		1 116.35		1 075.20	99.32
RSD/%	2.70		1.73		0.81	1.55

注:回收率=(待测样品和标准品的混和液的峰面积-待测样品的峰面积平均值的一半)/标准品峰面积平均值的一半。

### 2.6 罗汉果切片中苷V含量的变化

将每个待测样品重复进样3次,检测结果如表4。从表4可知,鲜罗汉果甜苷V的含量约在0.30~0.40之间,采后存放过程中甜苷V含量还会逐步增加,但趋势是先快后慢(图4),前7d增加了[(0.3643-0.3232)/0.3232]×100%=12.7%,而后7d只增加了[(0.3818-0.3643)/0.3232]×100%=5.4%。

表4 罗汉果样品的检测结果

时间/d	样品编号	峰面积 平均值(n=3)	鲜罗汉果切片中苷V的		苷V含量 平均值/%
			切片质量/g	质量含量/%	
0 d(第1组)	P1-1	1 215.60	24.3423	0.3060	0.3232
	P2-1	1 035.84	19.5823	0.3239	
	P3-1	1 200.98	19.8257	0.3627	
	P4-1	1 300.47	26.6150	0.3000	
7 d(第2组)	P1-2	940.21	16.4769	0.3492	0.3643
	P2-2	973.63	16.3559	0.3644	
	P3-2	940.41	14.7932	0.3890	
	P4-2	1 921.42	33.2860	0.3544	
14 d(第3组)	P1-3	917.81	15.3183	0.3667	0.3818
	P2-3	884.00	13.6521	0.3961	
	P3-3	1 069.30	16.2912	0.4020	
	P4-3	1 307.00	22.0468	0.3624	

注:苷V质量百分含量%=[(峰面积-5.8119)/4 059.9]×0.001×1×250/切片质量×100%。

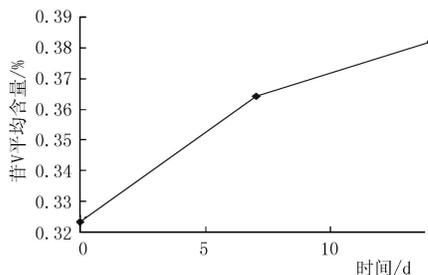


图4 苷V含量14d内变化趋势

### 3 讨论

采用RP-HPLC分析测定法测定罗汉果甜苷V,标准曲线在0.0005~0.02 mg呈线性关系( $R^2=0.9997$ ),平均回收率达100.15%,RSD为1.55%(n=5),说明此法可用于生产中测定罗汉果甜苷V,该研究对采后贮存期的罗汉果的甜苷V变化趋势作了初步的测定分析,结果可用来指导果农在合适时间采摘罗汉果,并进行适当存放,以避免过迟采摘烂到果园,或避免采后马上烘烤处理而使罗汉果甜苷V达不到最大产量而造成人为浪费。因此,该试验对于提高罗汉果甜苷V的产量有一定指导价值。

#### 参考文献

- [1] 李典鹏,张厚瑞.广西特产植物罗汉果的研究与应用[J].广西植物,2000,20(3):270-276.
- [2] 路安民,张志耕.中国罗汉果属植物[J].广西植物,1984,4(1):27-33.
- [3] 卢凤来,刘金磊,黄永林,等.高效液相色谱法同时测定罗汉果中的六种葫芦烷三萜类皂苷[J].色谱,2008,26(4):504-508.
- [4] 黄丽婕,苏小建,何星存,等.固相萃取-高效液相色谱法快速测定罗汉果甜苷V的含量[J].食品研究与开发,2008,29(10):84-87.
- [5] 黎海彬,王崑,李俊芳,等.罗汉果的化学成分与应用研究[J].食品研究与开发,2006,27(2):85-87.
- [6] 李典鹏,陈月圆,潘争红,等.不同生长期罗汉果苷类成分变化研究[J].广西植物,2004,24(6):546-549.

## Study on the Change of Mogrosin V Concentration

### in *Siraitia Grosvenorii* Fruits During Postharvest Storage by Using RP-HPLC

LIANG Chen-qin<sup>1</sup>, ZHOU Xian-li<sup>1</sup>, LIU Lin-wen<sup>2</sup>, SU Xiao-jian<sup>2</sup>, XU Qin<sup>1</sup>

(1. Guilin Medical College Guilin, Guangxi 541004; 2. College of Environment and Resource Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004)

**Abstract:** To study the change of the content of mogrosin V in *Siraitia grosvenorii* fruits in its postharvest storage process. The sample was detected by RP-HPLC, and by using these methods the content of mogrosin V in postharvest *Siraitia grosvenorii* fruits were detected. The results showed that the content of mogrosin V of 1, 7 d and 14 d postharvest *Siraitia grosvenorii* fruits respectively reached 0.3232%, 0.3643% and 0.3818%, whereas the mogrosin V increased gradually during the postharvest storage of *Siraitia grosvenorii* fruits but after 7 d the change was slower.

**Key words:** mogrosin V; postharvest storage; RP-HPLC; content change