

桂北地区不同品种、不同产地鲜罗汉果中总甙、甙 V 含量测定

刘金磊, 李典鹏*, 黄永林

(广西壮族自治区广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 分别采用紫外分光光度比色法(UV-vis)和高效液相色谱法(HPLC)测定了不同产地, 不同品种罗汉果中的总甙和甙 V 的含量。测定结果表明: 同一品种不同产地罗汉果中总甙含量、甙 V 成分变化不大, 不同品种的总甙、甜味成分 V 均有明显差别。

关键词: 罗汉果; 紫外分光光度法; HPLC; 总甙; 罗汉果甙 V

中图分类号: Q946.83 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)02-0281-04

Determination of mogrol glycosides and mogroside V content in the fresh fruit of some *Siraitia grosvenorii* varieties from different places in North Guangxi

LIU Jin-Lei, LI Dian-Peng*, HUANG Yong-Lin

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: Content of mogrol glycosides and mogroside V in some *Siraitia grosvenorii* varieties growing in different places were determined by using UV-vis and HPLC. The results showed that no significant differences existed in mogrol glycosides of the same *S. grosvenorii* variety growing in different places, but did in mogrol glycosides and sweet component of different varieties.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; UV-vis; HPLC; mogrol glycosides; mogroside V

罗汉果(*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey)为葫芦科罗汉果属的多年生宿根茎性藤本植物, 为广西桂北地区传统特产。罗汉果性凉, 味甘, 无毒, 有润肺止咳, 凉血润肠的功效, 特别是用作祛痰剂, 在治疗慢性气管炎、百日咳、胃肠疾病方面疗效显著(江苏新医学院, 1977), 成熟罗汉果富含罗汉果甜甙, 它是一种高甜度、低热量甜味剂, 因此罗汉果广泛应用于医药、饮料、调味剂(高山林等, 2000)。

罗汉果果实中主要化学成分是罗汉果皂甙(mogroside), 该类物质除少数为无甜味或苦味(罗汉果二糖甙和三糖甙)外, 大多为强甜味物质和微甜味物质, 其中罗汉果甙 V 为果实中含量和甜度(为蔗糖甜度的 256~344 倍)均较高的成分, 是主要的甜味成分(李典鹏等, 2004)。

随着罗汉果应用领域的拓宽, 市场需求量越来越大, 罗汉果的种植面积及地域越来越广, 种植品种

收稿日期: 2005-07-26 修回日期: 2005-09-22

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划(科发人教字[2002]101号); 广西科学基金(桂科基 0236052)[Supported by the Personnel Training Plan of West Light Foundation of the Chinese Academy of Sciences([2002]101); Natural Science Foundation of Guangxi (0236052)]

作者简介: 刘金磊(1980-), 男, 内蒙古赤峰市人, 研究实习员, 从事植物资源的开发利用研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: ldp@gxib.cn)

繁多,果实品质差别大,极大地影响了罗汉果深加工产品的质量。高山林等(2000)采用紫外分光光度法测定了不同重量(大、中、小)的罗汉果总甙含量,发现含量有一定差别,但至今未见有关对不同品种和产地的罗汉果鲜果进行有效成分分析的系统资料报道。本文采用香草醛—高氯酸试剂分光光度比色法、高效液相色谱法对同一品种不同产地、不同品种同一产地罗汉果进行总甙、甙 V 进行了对照含量测定,其结果对罗汉果的推广种植和种植品种的选择,以及罗汉果加工企业的原料采购有现实指导意义。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器

Agilent-1100 分析型高效液相色谱仪,包括二极管阵列多波长 DAD 检测器、四元梯度泵、在线真空脱气机、7725i 手动进样器、HP 化学工作站(美国 Agilent 公司);R-114 型旋转蒸发器(瑞士 Büchi 公司制造)。731 型分光光度计(上海第三分析仪器厂生产)。

1.2 试剂

色谱乙腈(美国 TEDIA 公司);甲醇、冰醋酸、香草醛、高氯酸试剂均为国产分析纯,重蒸蒸馏水为自制。

1.3 材料

罗汉果样品采集日期为 2004 年 8 月至 11 月,地点为广西桂北地区;均为生长在 80 d 后的成熟果,所采样品均由中国科学院广西植物研究所专家进行品种鉴定。鲜果采后直接冷冻干燥,粉碎,过 40 目筛,备用。罗汉果总甙、甙 V 对照品(本实验室自制,TLC 的 R_f 值、IR、UV、NMR 值均与文献值一致,液相色谱峰为单峰,纯度达到 98.8%);HPD-200 大孔树脂(山东鲁抗树脂厂生产)。

2 检测方法 with 色谱条件

2.1 总甙检测方法

香草醛—高氯酸试剂分光光度比色法。

2.2 罗汉果甙 V 检测方法

HPLC 法,色谱柱:ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm×150 mm,5 μ m);柱温:25 $^{\circ}$ C;流动相:乙腈—水(体积比 25:75);流速:1 mL/min;检测波长:203 nm;进样量:20 μ L。定量方法:外标法。在确

定了上述条件后,罗汉果甙 V 色谱峰与其它组分达到了良好分离。

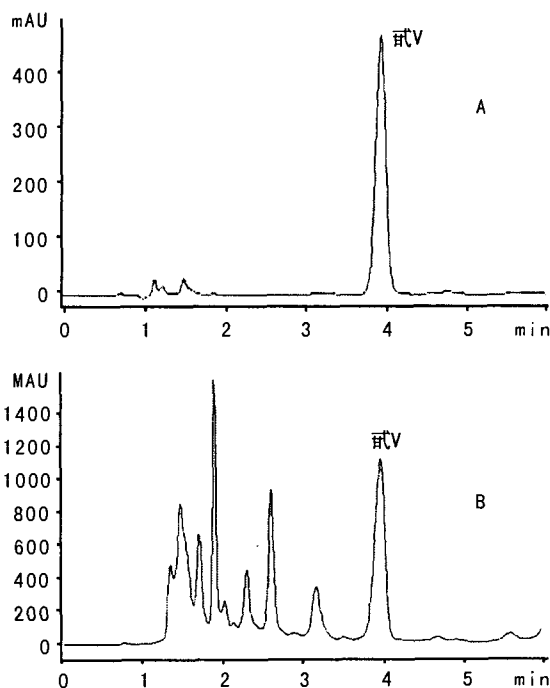


图 1 罗汉果甙 V 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatogram of mogroside V(A) and sample(B) of *S. grosvenorii*

3 结果与分析

3.1 对照品的制备

3.1.1 总甙对照品溶液的制备 精密称取罗汉果总甙对照品 10 mg,置于 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶液超声溶解,稀释至刻度摇匀,作对照品溶液备用。

3.1.2 甙 V 对照品溶液的制备 精密称取罗汉果甙 V 对照品 10 mg,置于 10 mL 容量瓶中,用流动相乙腈—水(体积比 25:75)溶液超声溶解,稀释至刻度摇匀,作对照品溶液备用。

3.2 供试品溶液的制备

3.2.1 总甙供试品溶液的制备(李锋等,2003) 选取成熟罗汉果 10 个,破碎、冷冻干燥 24 h,碾碎过 40 目筛,精密称取 1 g,20 mL 甲醇溶解回流提取 3 次(2、1、1 h),过滤,合并滤液回收至干,多次加入总量约 20 mL 的水超声溶解,溶液过 HPD-200 大孔吸附树脂,然后用蒸馏水洗至流出液无色,并以 80%乙醇溶液 60 mL 洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发至干,用甲醇定容至 50 mL 备用。

3.2.2 甙 V 供试品溶液的制备(李锋等,2003) 选取成熟罗汉果 10 个,破碎、冷冻干燥 24 h,碾碎过 40 目筛,精密称取 1 g,20 mL 甲醇溶解回流提取 3 次(2、1、1 h),过滤,合并滤液回收至干,多次加入总量约 20 mL 的水超声溶解,溶液过 HPD-200 大孔吸附树脂,然后用蒸馏水洗至流出液无色,并以 80%乙醇溶液 60 mL 洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发至干,以流动相乙腈:水(体积比 25:75)溶液少量多次的超声溶解,并定容至 25 mL 容量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为甙 V 供试品备用。

3.3 总甙、甙 V 含量的测定

3.3.1 标准曲线的制备 (1)总甙标准曲线的制备:精密吸取罗汉果总甙对照品 10、20、30、40、50 μL 置

于磨口具塞试管中,挥干溶剂,加入新配制的 5%香草醛—冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸溶液 0.8 mL,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保温 15 min,取出后用冰水迅速冷却,加入 5 mL 冰醋酸摇匀,放置 10 min,于 590 nm 波长处测定吸光度值 A。得标准曲线回归方程为: $A=0.0021C+0.0106(r=0.9995)$ 。结果表明,罗汉果总甙含量的测定在 $3.5\sim0.6\times10^2\mu\text{g}$ 范围内呈线性关系。(2)甙 V 标准曲线的制备:精密吸取罗汉果甙 V 对照品 2.0、4.0、8.0、12.0、16.0、20.0 μL 注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,记录峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $Y=206.02X+26.626(r=0.9992)$ 。

结果表明,罗汉果甙 V 含量的测定在 2.5~1.2

表 1 同一品种不同产地罗汉果总甙、甙 V 含量检测结果
Table 1 The total mogroside and mogroside V content of the same *Siraitia grosvenorii* variety from different places

品种 Variety	产地 Locality	总甙含量(%) Rate of total mogroside	甙 V 含量(%) Rate of mogroside V	甙 V 占总 甙百分比(%) Rate of mogroside V/total mogroside
青皮果(压蔓) Qingpi fruit(Press the vine)	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.82a	1.62	57.4
	临桂五通 Wutong, Lingui	2.85a	1.68	58.9
	永福县郊 Suburb, Yongfu	3.06ab	1.73	56.5
	临桂茶洞 Chadong, Lingui	2.82b	1.68	59.5
	临桂宛田 Wantian, Lingui	3.21ab	1.70	52.9
	临桂两江 Liangjiang, Lingui	2.76d	1.38	50.0
青皮果(组培) Qingpi fruit(Tissue culture)	永福龙江 Longjiang, Yongfu	3.06b	1.68	54.9
	桂林郊区 Suburb, Guilin	3.12a	1.73	55.4
	桂林资源 Ziyuan, Guilin	2.92af	1.59	54.4
	桂林兴安 Xingan, Guilin	2.88B	1.67	57.9
	桂林荔浦 Lipu, Guilin	3.00a	1.72	57.3
	桂林龙胜 Longshang, Guilin	3.01b	1.62	53.0
	桂林临桂 Lingui, Guilin	3.11A	1.76	56.6
	柳州融安 Rongan, Liuzhou	2.88AB	1.63	56.5
	桂林龙胜 Longshen, Guilin	2.48a	1.50	60.40
红毛果(扦插) Hongmao fruit(Cuttage)	临桂宛田 Wantian, Lingui	2.70Ab	1.60	59.25
	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.64ab	1.67	63.26

注:不同字母表示差异显著程度,小写字母表示 $P<0.05$,大写字母表示 $P<0.01$ 。下同。
Note: The small and capital letters express $P<0.05$ and $P<0.01$ respectively. The same as follows.

$\times10^2\mu\text{g}$ 范围内呈线性关系。

3.3.2 样品中总甙、甙 V 含量的测定 (1)样品中总甙的测定:精密量取 3 份罗汉果供试品溶液 1 mL,至磨口试管中,挥干溶剂,加入新配制的 5%香草醛—冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸溶液 0.8 mL,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保温 15 min,取出后用冰水迅速冷却,加入 5 mL 冰醋酸摇匀,放置 10 min,于 590 nm 波长处测

定吸光度值 A,同时设空白对照,根据标准曲线计算样品总甙含量。(2)样品甙 V 的测定:精密吸取罗汉果甙 V 供试样品溶液 20 μL ,注入液相色谱仪中按上述色谱条件进行检测,将所测定的峰面积代入回归方程,计算所含甙 V 的含量。

3.4 罗汉果总甙与甙 V 含量测定结果

我们对同一品种(青皮果和红毛果)不同产地和

同一产地(永福龙江和临桂宛田)不同品种进行总甙和甙 V 的含量测定,总甙所测数据进行 SPSS 方差数理分析,结果见表 1 和表 2。

4 讨论

(1) 采用香草醛—高氯酸试剂紫外分光光度比

色法与 HPLC 检测同一品种不同产地、同一产地不同品种罗汉果中总甙及甙 V 的含量进行了检测并作了比较。结果表明:同一品种不同产地总甙、甙 V 含量有一定差异,但不显著,但同一产地不同品种罗汉果中总甙及甙 V 的含量差异较明显,这说明罗汉果果实的品质受地域影响不大,适合大范围的推广种植,但需选择优良品种。

表 2 不同品种同一产地罗汉果总甙、甙 V 含量检测结果
Table 2 The total mogroside and mogroside V content of *Siraitia grosvenorii* varieties from the same places

品种 Variety	产地 Locality	总甙含量(%) Rate of total mogroside	甙 V 含量(%) Rate of mogroside V	甙 V 占总甙量(%) Rate of mogroside V/total mogroside
青皮果 Qingpi fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.82b	1.68	59.57
野红果 Yehong fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.47ab	1.12	45.34
爆棚果 Bopeng fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.45AB	1.43	50.36
红毛果 Hongmao fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.64A	1.27	48.11
长滩果 Changtan fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	3.36af	1.94	57.73
油桐果 Yutong fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.75b	1.07	38.91
冬瓜果 Donggua fruit	永福龙江 Longjiang, Yongfu	2.95Ab	1.72	58.30
青皮果 Qingpi fruit	临桂宛田 Wantian, Lingui	3.32B	1.73	52.11
油桐果 Yutong fruit	临桂宛田 Wantian, Lingui	3.20ab	0.91	28.43
红毛果 Hongmao fruit	临桂宛田 Wantian, Lingui	2.47a	0.81	32.79
冬瓜果 Donggua fruit	临桂宛田 Wantian, Lingui	2.85af	1.82	63.85

(2) 从品种来看,长滩果和冬瓜果的果实品质较好,总甙和甙 V 含量均较高,现今市面上品种大多为青皮果,产量高,易于繁殖,总甙和甙 V 含量较高,适合于大面积推广。

(3) 从结果来看,成熟的青皮果中其甙 V 相对含量均占总甙的 50% 以上,为罗汉果中主要甜味成分,但其他品种(如油桐果和红毛果甙 V)相对含量偏低。现今通用的罗汉果质量控制方法是采用比色法测定罗汉果总甙含量,但总甙标准不统一,所以测定结果也相差较大。且总甙只反映一个总皂甙量,并不实际反映单体甙类成分的含量,罗汉果果实中除甜味成分外尚有少量的无味或苦味成分(李典鹏等,2004),因此有必要对罗汉果的质量控制标准,测定方法作进一步规范化。

参考文献:

江苏新医学院. 1977. 中药大辞典[M]. 北京:上海科学技术出版社
李锋,李典鹏,蒋水元,等. 2003. 罗汉果栽培与开发利用[M].

北京:中国林业出版社

- Gao SL(高山林), Wang H(汪红). 2000. The technique on extraction and content determination of saponin from *Momordica grosvenorii* (罗汉果皂甙的含量测定)[J]. *Nat Product Res Development* (天然产物研究与开发), 13(2): 36—39
- Helena C Makapugay, N P Dhammika Nanayakkara, et al. 1985. High-performance Liquid Chromatographic analysis of the major sweet drinciple of Lo Han Kuo fruits[J]. *J Agric Food Chem*, 33: 348—350
- Kasai R, Nie Ruiliu, Nashi K, et al. 1989. Sweet cucurbitane-glycosides from fruits of *Siraitia siamensis* (Chi-zi Luo-han-guo) [J]. *Chem Pharm Bull* 53(12): 3 347—3 349
- Li DP(李典鹏), Chen YY(陈月园), Pan ZH(潘争红), et al. 2004. Study on variation of mogrol glycosides from fruits of *Siraitia grosvenorii* in different grow ages (不同日龄罗汉果甙类变化研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), 24(6): 546—549
- Matsumoto K, Kassai R, et al. 1990. Minor Cucurbitane-Glycosids from fruits of *Siraitia grosvenorii* [J]. *Chem Pharm Bull*, 38(7): 2 030—2 032
- Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. 1983. Studies on the constituents of *Fructus Momordicae* (I) [J]. *Yakugaku Zasshi*, 103: 1 154