

文章编号:1001—7380(2022)01—0054—04

## 基于 HPLC 的‘关山’樱花嫩红素成分 ——异樱花苷和樱花亭的定量分析

付 涛<sup>1</sup>,黄增芳<sup>2</sup>,施 源<sup>1</sup>,徐金华<sup>3</sup>,沈雨铠<sup>1</sup>,王志龙<sup>1</sup>

(1. 宁波城市职业技术学院/浙江园林绿化技术协同创新中心,浙江 宁波 315100;2. 宁波市林场,浙江 宁波 315100;  
3. 嵊州市景观园林绿化有限公司,浙江 绍兴 312400)

**摘要:**为了准确测定樱花中有关嫩红素主要成分的含量,该研究以我国南方主栽樱花品种‘关山’为试验材料,利用 HPLC 法对其花瓣干品内的嫩红素——异樱花苷和樱花亭进行定量分析。结果表明,在最适色谱条件下,异樱花苷的回归方程为  $Y = 554.895353X + 1567.125008$  ( $R^2 = 0.99980996$ ),樱花亭的回归方程为  $Y = 221.578696X + 308.044811$  ( $R^2 = 0.99246515$ )。试验的精密性、稳定性、重复性和加样回收率结果均为良好。最终样品进样得到‘关山’樱花干品中异樱花苷平均含量为  $539.97 \mu\text{g/g}$ ,但未检测到樱花亭含量。该研究结果为提高我国樱花资源的应用范围及我国樱花资源的开发、利用,提供一定的依据。

**关键词:**‘关山’樱花;嫩红素;异樱花苷;樱花亭;HPLC

中图分类号:O652.63;Q946.82;S685.99 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2022.01.009

## Quantitative analysis of isosakuranin, sakuranetin in *Prunus lannesiana* ‘Alboresea’ based on HPLC

Fu Tao<sup>1</sup>, Huang Zengfang<sup>2</sup>, Shi Yuan<sup>1</sup>, Xu Jinhua<sup>3</sup>, Shen Yukai<sup>1</sup>, Wang Zhilong<sup>1</sup>

(1. Ningbo Key Laboratory of Landscape Plant Development/ Ningbo City College of Vocational Technology, Ningbo 315100, China;  
2. Ningbo Forest Farm, Ningbo 315100, China;  
3. Shengzhou Landscape & Landscaping Company Limited, Shaoxing, 312400, China)

**Abstract:** To accurately determine the content of main components of emodin in cherry blossom, this study used *Prunus lannesiana* ‘Alboresea’ planted for main variety in South China as experimental material, isosakuranin and sakuranetin were quantitatively analyzed by HPLC. Results showed that under the optimum chromatographic conditions, the regression equation of isosakuranin was concluded as  $Y = 554.895353X + 1567.125008$  ( $R^2 = 0.99980996$ ), and that of sakuranetin as  $Y = 221.578696X + 308.044811$  ( $R^2 = 0.99246515$ ). The precision, stability, repeatability and sample recovery of the experiment were satisfactory. The average content of isosakuranin was determined as  $539.97 \mu\text{g/g}$  in *P. lannesiana* ‘Alboresea’ dry petal product but sakuranetin was not detected. This results could improve the application scope of cherry resources and provide a basis for the development and utilization of cherry resources in China.

**Key words:** *Prunus lannesiana* ‘Alboresea’; Emodin; Isosakuranin; Sakuranetin; HPLC

嫩红素也被称为红花漂红素,具有重要的护肤、养肤和治肤的功能。天然嫩红素常见于西红花、人参和桑白皮等名贵中药,具有活血化瘀、缓解干燥暗沉状况、激活表皮细胞活性、促进细胞代谢再生、恢复正常的血液循环、分解沉淀的黑色素、抑

制黑色素的再生等功能。然而,由于原材料大多是名贵中药,生产成本较高,价格也较为昂贵,普通消费者难以消费。此外,近年来,化学合成嫩红素也多用于化妆品、护肤品等产品中,但化学合成成分具有刺激性,并不适合所有人群,安全性不高。因

收稿日期:2021-12-05;修回日期:2021-12-27

**基金项目:**浙江省教育厅一般科研项目“樱花嫩红素的高效提取工艺研究”(ZWT20098);大学生科技创新资助项目“樱花嫩红素的超声波辅助提取工艺探究及其应用”

**作者简介:**付 涛(1988-),男,安徽定远人,实验师,硕士。研究方向为植物资源开发。E-mail:819969334@qq.com

此,亟需寻找到一种廉价的原材料用于天然嫩红素的提取。

嫩红素广泛分布于樱属植物体内,日本等发达国家研究较为成熟,市场上已有相关产品,如有名的 JAMAY 樱花嫩红素,此外,日本在樱花食品、生活用品上应用也很广泛,如樱花糕、樱花茶、樱花香皂、樱花沐浴液等产品,但国内研究还很少。我国樱属植物种类世界第一,但绝大部分资源尚未得到有效开发,目前,我国樱花产业仅局限于景观应用,食用、药用、保健产品以及生活用品等方面还未有应用,因此,国内有关樱花嫩红素的研究还极少见报道。日本晚樱品种‘关山’在我国南方尤其浙东地区适应性强,无明显病虫害发生,花量极大且为重瓣花,产量较高,且在我国南方地区种植比较广泛,是非常好的樱花嫩红素提取原材料。

异樱花苷和樱花亭是樱花嫩红素的主要活性成分,本研究以我国南方主栽樱花品种——‘关山’进行樱花嫩红素异樱花苷和樱花亭的定量分析,旨在提高我国樱花资源的应用范围,为我国樱花资源的开发、利用提供一定的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2021 年 4 月下旬,在宁波城市职业技术学院校园内陆续采集‘关山’盛花期的花,然后利用干燥箱低温(36—38 ℃)烘干,装入密封袋 4 ℃冰箱保存、备用。

### 1.2 方法

利用 METTLER TOLEDO 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)准确称取干样品 12.00 mg,在容量瓶中加入 70%甲醇 1 mL 并定容至 100 mL,提取 24 h,过滤获得滤液,然后稀释 10 倍,用 1 次性注射器抽取提取样液经 0.45 μm 水系滤膜过滤后待测。标准品为异樱花苷和樱花亭(上海源叶生物科技有限公司, HPLC ≥ 98%) 2 种标准品均配制初始质量浓度为 2 000 ng/mL 的母液。分别进行单标进样与混标进样。单标进样是为了确定每种物质的出峰时间;混标进样可以大大减少进样次数,节省试验时间,降低试验误差,可更好地建立准确的标准曲线;等质量浓度等体积混合成混标,得到 1 000 ng/mL 的混标溶液,然后依次稀释成 1 000,

500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 1 ng/mL 等 9 个质量浓度梯度的混标溶液。进样仪器为日本岛津高效液相色谱仪(HPLC)CTO-20A(日本岛津公司), HPLC 条件主要包括:色谱柱 C18 柱,柱温为 35 ℃,进样量为 5 μL,流速为 0.3 mL/min,其中流动相和流动相梯度详见表 1。最后获得色谱峰,以各物质色谱峰面积相应的标准品质量浓度求回归方程和相关系数。标准曲线建立后,根据样品中各物质的出峰面积,运用回归方程求得质量浓度,再依据计算式  $1\,000X/12$  求得干样品中嫩红素质量含量(μg/g)。式中,  $X$  表示测定物的质量浓度(ng/mL), 1 000 代表样品稀释到 1 000 mL, 12 代表样品干品质量 12 mg。

对 1 000 ng/mL 混标溶液平行测定 3 次,通过计算标准偏差来考察其测定的精密性;对 1 000 ng/mL 混标溶液在 0, 4, 8, 12 h 分别测定 1 次,通过计算标准偏差来考察其测定的稳定性;对待测的樱花提取液,同一样品平行测定 3 次,通过计算标准偏差来考察其测定的重复性。在已测样品中(本底量  $A_0$ )准确加入已知量的标准品(加入量  $A_1$ ),然后再进行检测获得测出量( $A_2$ ),依据表达式  $[A_2/(A_0 + A_1)] \times 100$  计算回收率(%)<sup>[1]</sup>。

表 1 流动相和流动相梯度

流动相	时间/min						
	0.00	0.50	2.00	2.50	3.00	3.50	5.00
A(0.1%甲酸-水溶液)/%	90	90	70	5	5	90	90
B(乙腈)/%	10	10	30	95	95	10	10

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线建立

取 1 000 ng/mL 异樱花苷单标进样,出峰时间大致在 3.35 min,同理樱花亭出峰时间大致在 3.63 min。由图 1 可知,异樱花苷和樱花亭彼此分离,峰形对称,效果较好。以峰面积( $Y$ )对质量浓度( $X$ )进行线性回归,得回归方程:异樱花苷  $Y = 554.895\,353X + 1\,567.125\,008$  ( $R^2 = 0.999\,809\,96$ ),线性范围 1—1 000 ng/mL;樱花亭  $Y = 221.578\,696X + 308.044\,811$  ( $R^2 = 0.992\,465\,15$ ),线性范围 1—1 000 ng/mL。异樱花苷(如图 2-A)及樱花亭(如图 2-B)标准曲线呈良好的线性关系。

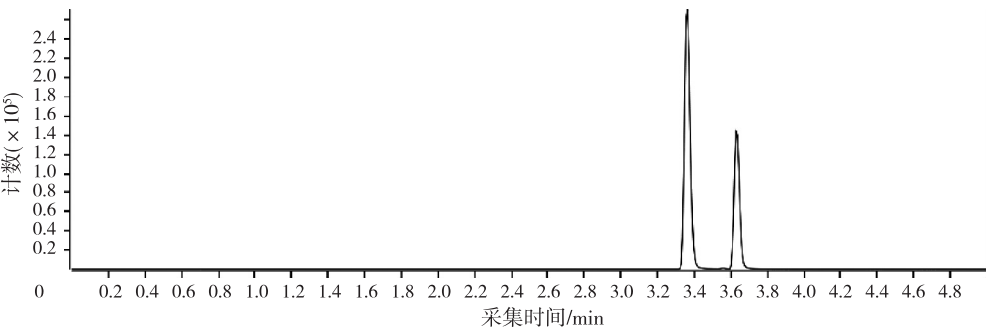
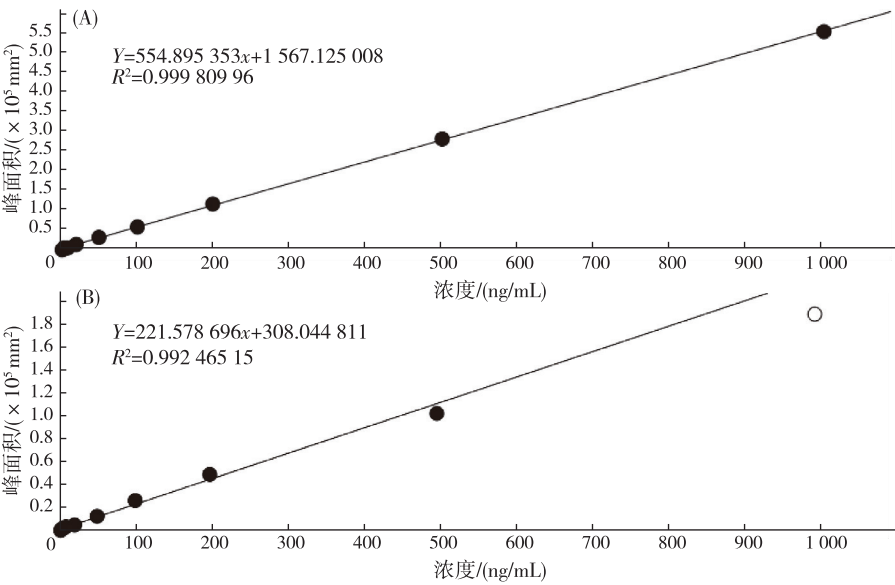


图 1 混标色谱图(1 000 ng/mL)



A:异樱花苷标准曲线;B:樱花亭标准曲线  
图 2 2 种樱花嫩红素标准曲线

2.2 精密度、稳定性、重复性和加样回收率实验

1 000 ng/mL 混标溶液重复进样 3 次,结果表明异樱花苷和樱花亭峰面积的 *RSD* 分别为 0.85% 和 1.46%,表明精密度较好。

同样用 1 000 ng/mL 混标溶液在 0,4,8,12 h 进样,结果表明在 12 h 内色谱峰面积无明显变化,异樱花苷和樱花亭峰面积的 *RSD* 分别 1.21% 和 1.38%,表明 12 h 内稳定性较好。

取样品溶液 3 份,进样测定各物质的量。结果异樱花苷平均质量分数分别为 520.80 μg/g,樱花亭未检测出,异樱花苷 *RSD* 为 0.85%,表明重复性较好。

在稀释 10 倍的样品溶液中准确加入已知量的标准品(10 μg),然后再进行检测获得测出量。结果异樱花苷和樱花亭的平均回收率分别为 101.45%和 100.24%,*RSD* 分别为 1.43%和 1.52%,

说明加样回收率结果较好。

2.3 样品测定

由图 3 可知,样品色谱图只出 1 个峰,该峰为异樱花苷对于的色谱峰,而樱花亭未出现对应色谱峰。将异樱花苷对应色谱峰面积(5 162.147 mm<sup>2</sup>)带入异樱花苷回归方程,得到异樱花苷质量浓度,换算得到‘关山’樱花干品中异樱花苷平均含量为 539.97 μg/g,未检测到樱花亭成分含量。

3 结论与讨论

目前,国内在樱花的繁殖栽培方面、品种分类以及分子标记等方面的研究报道相对较多。如王贤荣<sup>[2]</sup>、杨明艳等<sup>[3]</sup>和李晓玲等<sup>[4]</sup>在扦插繁殖、嫁接繁殖和组织培养等方面做了大量工作;严春风等<sup>[5]</sup>、伊贤贵等<sup>[6]</sup>、顾宇等<sup>[7]</sup>在樱花形态学分类、孢粉学和细胞分类学等方面研究较为深入;宛甜

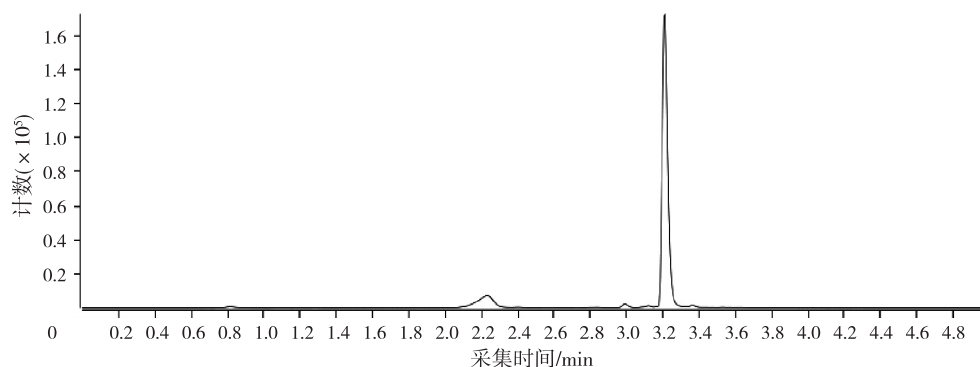


图3 样品色谱图

等<sup>[8]</sup>、商韬等<sup>[9]</sup>和张琼<sup>[10]</sup>利用分子标记技术对我国樱属植物进行了相关研究。然而国内对樱花化学成分和提取物的研究不多,仅在樱花色素提取工艺优化<sup>[11]</sup>、樱叶挥发油化学成分分析<sup>[12]</sup>、樱花提取物体外抗氧化<sup>[13-14]</sup>等方面有一些研究。在樱花用于产品研发方面,更是凤毛麟角。如刘晓伟等<sup>[15]</sup>利用樱花制备一种复合果酱和陆伟等<sup>[16]</sup>公布一种樱花糕点的制备方法。总的来说,国内樱花还主要应用于园林景观方面,其产品研发方面还远远落后于日本等发达国家。

本研究利用 HPLC 法同时测定盛花期‘关山’樱花中嫩红素——异樱花苷和樱花亭的含量,准确定量测定出了异樱花苷含量为 539.97  $\mu\text{g/g}$ ,樱花亭低于检测限而未测出。表明盛花期的‘关山’樱花中异樱花苷含量较高,可作为樱花嫩红素主要成分加以提取,用于化妆品、护肤品和面膜等产品的主要成分。本试验为后续樱花嫩红素化学成分的提取和应用提供了一定的理论基础。

#### 参考文献:

- [1] 付 涛,吴月燕,刘 蓉,等.“鄞红”葡萄及其突变体果实中糖和酸的分析[J].中国食品学报,2015,15(9):250-255.
- [2] 王贤荣.国产樱属分类学研究[D].南京:南京林业大学,1997.
- [3] 杨明艳,李兴明,杨发军,等.冬樱花嫁接繁殖试验[J].农业研究与应用,2012(2):17-19.
- [4] 李晓玲,卢绪志,边 震,等.山樱花组培快繁技术研究[J].林业科技,2014(5):1-3.
- [5] 严春风,徐 梁,赵 绮,等.樱属景观植物资源分类研究[J].浙江林业科技,2017,37(1):20-25.
- [6] 伊贤贵.武夷山樱属资源调查及开发利用研究[D].南京:南京林业大学,2007.
- [7] 顾 宇,史港影,李 祯,等.樱属植物核型参数及种间亲缘关系分析[J].南京林业大学学报(自然科学版),2014,(S1):25-29.
- [8] 宛 甜,蔡宇良,冯 瑛,等.野生毛樱桃 SSR 遗传多样性和遗传结构分析[J].西北植物学报,2013,33(8):1544-1550.
- [9] 商 韬,王贤荣,南程慧,等.基于 SSR 标记的迎春樱自然居群遗传多样性分析[J].甘肃农业大学学报,2013,12(6):104-109.
- [10] 张 琼.樱属观赏品种资源调查及部分种与品种 SSR 分析[D].南京:南京林业大学,2013.
- [11] 荀 兰,郁建平.超声辅助提取樱花色素工艺优化[J].食品工业科技,2013(4):256-258.
- [12] 翁仕洋,成露露,查 文,等.日本晚樱叶挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J].安徽农业科学,2013,41(7):3111-3112.
- [13] 张云青,尹颂超,张 赛.樱花提取物的体外抗氧化功能及安全性研究[J].皮肤性病诊疗学杂志,2013,20(6):392-395.
- [14] LEE B B, CHA M R, KIM S Y, et al. Antioxidative and anticancer activity of extracts of cherry (*Prunus serrulata* var. *spontanea*) blossoms[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2007, 62(2):79-84.
- [15] 刘晓伟,王彦花.樱花雪梨低糖复合果酱的研制[J].农产品加工(下),2017(2):14-17.
- [16] 陆 伟,彭才锋.樱花糕点及其制备方法:中国,CN 103651688 A[P]. 2014.