

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80904

枸杞果汁中多酚类化合物鉴定

蔡雯雯¹ 张根生¹ 山永凯² 张红城³ 乔江涛⁴

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150010; 2. 青海花赐生物科技有限公司, 青海 西宁 810000;
3. 中国农业科学院蜜蜂研究所资源昆虫高效养殖与利用全国重点实验室, 北京 100093;
4. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北 邯郸 056000)

摘要: [目的] 促进枸杞产品精深加工。[方法] 使用高效液相色谱—四极杆飞行时间串联质谱法对枸杞果汁中的多酚类化合物进行定性和定量分析。[结果] 在红枸杞果汁中共鉴定出 7 个多酚类化合物, 其中 5 个为酚胺类化合物, 2 个为黄酮类化合物; 在黑枸杞果汁中共鉴定出 8 个多酚类化合物, 3 个酚胺类化合物, 5 个黄酮类化合物 (其中花色苷类化合物 4 个)。对鉴定出的化合物进行了定量分析, 红枸杞果汁中酚胺类化合物占多酚类化合物的比例超过 80%; 而黑枸杞果汁中主要为黄酮类化合物。[结论] 红枸杞果汁和黑枸杞果汁在多酚类化合物的组成和功能特性上具有显著的物种差异性。

关键词: 多酚; 黑枸杞; 红枸杞; 定性; 定量; 高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱

Identification of polyphenolic compounds in wolfberry juice

CAI Wenwen¹ ZHANG Gensheng¹ SHAN Yongkai² ZHANG Hongcheng³ QIAO Jiangtao⁴

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150010, China; 2. Qinghai Huaci Biotechnology Co., Ltd., Xining, Qinghai 810000, China; 3. State Key Laboratory of Resource Insects, Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China; 4. School of Life Sciences and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056000, China)

Abstract: [Objective] This paper aims to promote the deep processing of wolfberry products. [Methods] High-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (HPLC-QTOF-MS/MS) was used to qualitatively and quantitatively analyze polyphenolic compounds in wolfberry juice. [Results] A total of seven polyphenolic compounds were identified in red wolfberry juice, including five phenolamides and two flavonoids; Eight polyphenolic compounds were identified in black wolfberry juice, including three phenolamides and five flavonoids (four of which were anthocyanins). Quantitative analysis of the identified compounds showed that phenolamides accounted for over 80% of the polyphenolic compounds in red wolfberry juice, while flavonoids were the dominant compounds in black wolfberry juice. [Conclusion] Red wolfberry juice and black wolfberry juice have significant species differentiation in the composition and functional properties of polyphenolic compounds.

Keywords: polyphenol; black wolfberry; red wolfberry; qualitative analysis; quantitative analysis; high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry

枸杞 (*Lycium chinense* Miller) 作为中国传统的药食同源植物, 因其丰富的营养成分和药理活性而备受关注^[1]。近年来, 枸杞果实中的生物活性物质, 尤其是多酚类化合物, 已成为研究的热点^[2]。多酚类化合物具有显著的抗氧化、抗衰老、抗炎等生物活性功能^[3], 不仅为食品行业提供了丰富的功能性成分, 还为药物研发提供了新的

思路。

目前, 有关枸杞产品的研究大多集中于枸杞干果或其提取物中的多酚类物质, 如王远等^[4]通过高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪测定黑枸杞干果中的多酚类物质; 吕海洋等^[5]采用四极杆串联飞行时间质谱 MSE 方法 (Q-TOF/MS^E) 分析宁夏枸杞果实中的多酚成分; 陈晨等^[6]

基金项目: 中国农业科学院创新工程项目 (编号: CAAS-ASTIP-2019-IAR); 国家蜂产业技术体系项目 (编号: CARS-44-KXJ19)

通信作者: 张根生 (1964—), 男, 哈尔滨商业大学教授。E-mail: hhht_0614@qq.com

收稿日期: 2024-09-03 改回日期: 2024-11-28

利用固相萃取结合 HPLC 测定了黑枸杞果汁中没食子酸等 6 种酚酸。尽管已有大量关于枸杞中多酚类化合物的研究,但目前针对枸杞果汁中多酚类化合物的系统研究相对较少,尤其是在定性定量分析方面尚存在一定的不足。

研究拟采用高效液相色谱—四极杆飞行时间质谱联用技术(HPLC-QTOF-MS/MS),对枸杞果汁中的多酚类化合物进行全面鉴定和定量分析,旨在为枸杞果汁的品质评价和功能开发提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

红枸杞果、黑枸杞果:市售;
 无水乙醇:分析纯,北京北化精细化学品有限公司;
 甲醇、乙酸:色谱纯,美国 Fisher 公司;
 乙酸:质谱纯,美国 Fisher 公司;
 咖啡酸、芦丁、矮牵牛素-3-O-芸香糖苷(反-对香豆酰)5-O-葡萄糖苷:质谱纯,上海源叶生物科技有限公司;
 所有试验用水为超纯水。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪:LC-6AD 型,日本岛津公司;
 四极杆—飞行时间质谱仪:6520 型,美国 Agilent 公司;
 台式离心机:Thermo Sorvall Biofuge Startos 型,美国 Thermo Fisher 公司;
 数控超声波清洗器:KQ-3200DE-6.0 L 型,昆山市超声仪器有限公司;
 分体式胶体磨:JM-F200 型,上海爱思杰制泵有限公司;
 分析天平:BSA124S-CW 型,德国 Sartorius 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理

(1) 枸杞果汁制作方法:选用成熟、完整、无损的枸杞果实,清洗后去除杂质。准确称取 10 g 清洗后的枸杞果实放入胶体磨中,并加入 100 mL 水。胶体磨以 3 500 r/min 的转速运作 5 min,循环 3 次,得到枸杞汁液。将枸杞汁液静置 2 h,用 80 目滤布过滤,分离出纯净的枸杞汁液,即为枸杞果汁。

(2) 枸杞果汁样品前处理:将 100 g 枸杞果汁倒入样品盘中,先将样品完全冷冻(温度控制在 -20 ℃ 以下)后进行真空冷冻干燥。具体的冷冻干燥温度及时间梯度见表 1。48 h 后取出真空冷冻干燥后的枸杞果汁,置于粉碎机中磨成粉末。准确称取 1 g 粉末置于样品管中,用 75% 乙醇溶解并定容至 10 mL 后于室温下超声 20 min,高速离心(11 000 r/min)15 min 后,过滤上清液并转移到分液漏

斗中,加入 10 mL 乙酸乙酯进行萃取。取上层澄清溶液转移到旋转蒸发仪(蒸发温度控制在 40 ℃)中,浓缩至 5 mL 左右倒入试管中,经过 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,用于 HPLC 分析。

表 1 真空冷冻干燥梯度

Table 1 Vacuum freeze drying gradient

阶段	温度/℃	时间/h	阶段	温度/℃	时间/h
1	-50.0	10	7	5.0	2
2	-40.0	2	8	10.0	2
3	-30.0	2	9	15.0	2
4	-20.0	2	10	20.0	2
5	-10.0	2	11	30.0	20
6	0.0	2			

1.3.2 色谱条件

(1) 红枸杞果汁:色谱柱为 Phenomenex Gemini C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为 2% 乙酸—水溶液(A)和 2% 乙酸—甲醇溶液(B);梯度洗脱程序见表 2;流动相总流量 0.7 mL/min;柱温 35 ℃;检测波长 270 nm;进样量 20 μL。

表 2 红枸杞果汁梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution procedure of red wolfberry juice

时间/min	流动相 B 体积分数/%	时间/min	流动相 B 体积分数/%
0~20	5~10	80~110	30~50
20~50	10~20	110~130	50~70
50~80	20~30	130~150	70~90

(2) 黑枸杞果汁:色谱柱为 Phenomenex Gemini C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为 2% 乙酸—水溶液(A)和 2% 乙酸—甲醇溶液(B);梯度洗脱程序见表 3;流动相总流量 0.7 mL/min;柱温 36 ℃;检测波长 280 nm;进样量 20 μL。

1.3.3 质谱条件 电喷雾离子化(ESI)离子源;喷射电压 4 kV;出口电压 130 V;加热温度 350 ℃;氮气流量

表 3 黑枸杞果汁梯度洗脱程序

Table 3 Gradient elution procedure of black wolfberry juice

时间/min	流动相 B 体积分数/%	时间/min	流动相 B 体积分数/%
0~10	2~5	60~90	40~60
10~30	5~20	90~110	60~75
30~60	20~40	110~135	75~90

11 L/min;碰撞气体:氦气;雾化气流量 80 mL/min;雾化器压力 40 MPa;质量扫描范围 m/z 100~1 200。

1.3.4 建立标准品标准曲线 分别称取一定量的咖啡酸、芦丁、矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷(反-对香豆酰)5-*O*-葡萄糖苷(纯度>98%)于 10 mL 容量瓶中,加入甲醇溶解配制成 0.1 mg/mL 的标准品储备液。用 0.22 μ m 滤膜过滤,每个标准品溶液在 1.3.2 和 1.3.3 的条件下分别以 1, 5, 10, 15, 20, 25 μ L 的体积进行上样分析。最终按照不同的上样量和色谱图上的不同峰面积进行线性回归分析,建立每个标准品的标准曲线^[7]。其中 4', 3''-*O*-二葡萄糖基-N¹-反式-咖啡酰基-N¹⁰-二氢咖啡酰基-亚精胺(4', 3''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd)、4', 4''-*O*-二葡萄糖基-N¹-反式咖啡酰基-N¹⁰-二氢咖啡酰基亚精胺(4', 4''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd)、枸杞亚精胺 E、枸杞亚精胺 F、4', 4''-*O*-二葡萄糖基-N¹, N¹⁰-反式-二咖啡酰基-亚精胺(4', 4''-*O*-di-Glc-N¹, N¹⁰-Di-*trans*-CFA-Spd)、N¹-反式咖啡酰-N¹⁰-二氢咖啡酰亚精胺(N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd)、N¹, N¹⁰-二咖啡酰亚精胺(N¹, N¹⁰-Di-CFA-Spd)、N¹-二氢咖啡酰-N¹⁰-反式咖啡酰亚精胺(N¹-DHCFA-N¹⁰-*trans*-CFA-Spd)的含量以咖啡酸计;7-*O*-葡萄糖基-芦丁(Qct-7-*O*-GlcG-RhaG)的含量以芦丁计;矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷(顺-对香豆酰)-葡萄糖苷-5-*O*-葡萄糖苷(Pet-3-*O*-RhaG (*cis*-*p*-CA)-GlcG-5-*O*-GlcG)、矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷(反-对香豆酰)-葡萄糖苷-5-*O*-葡萄糖苷(Pet-3-*O*-RhaG (*trans*-*p*-CA)-GlcG-5-*O*-GlcG)、矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷(顺-对香豆酰)5-*O*-葡萄糖苷(Pet-3-*O*-RhaG (*cis*-*p*-CA)-5-*O*-GlcG)、矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷(反-对香豆酰)5-*O*-葡萄糖苷(Pet-3-*O*-RhaG (*trans*-*p*-

CA)-5-*O*-GlcG)的含量以 Pet-3-*O*-RhaG (*trans*-*p*-CA)-5-*O*-GlcG 计(通过物质的量比计算化合物的含量)。

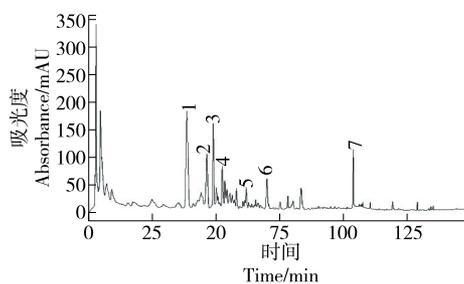
1.4 数据处理

所有试验均进行 3 次重复,定量检测结果数值以平均值±标准差的形式表示,并使用 SPSS 软件(版本 16.0, SPSS GmbH Software)进行分析。

2 结果与分析

2.1 红枸杞果汁中多酚类化合物 HPLC-QTOF-MS/MS 分析

红枸杞果汁样品的高效液相色谱图如图 1 所示。



1. 4', 3''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd 2. 4', 4''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰ 3. 枸杞亚精胺 E 4. 枸杞亚精胺 F 5. 4', 4''-*O*-di-Glc-N¹, N¹⁰-Di-*trans*-CFA-Spd 6. Qct-7-*O*-GlcG-RhaG 7. Rutin

图 1 红枸杞果汁的 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC pattern of red wolfberry juice

根据二级质谱信息(图 2 和图 3),结合天然产物高分辨质谱数据库及相关文献,对红枸杞果汁中的化合物进行确定,共鉴定出 7 个化合物,其中酰胺类化合物 5 个,黄酮类化合物 2 个(表 4)。

表 4 正离子模式下红枸杞果汁中的多酚类化合物[†]

Table 4 Polyphenolic compounds in red wolfberry juice in positive ion mode

峰号	保留时间/min	[M+H] ⁺ m/z	分子式	特征碎片离子 m/z	定性化合物
1	37.706	796.337 5	C ₄₃ H ₆₃ N ₃ O ₂₁	634.283 9, 472.237 3, 310.204 3, 220.086 6	4', 3''- <i>O</i> -di-Glc-N ¹ - <i>trans</i> -CFA-N ¹⁰ -DHCFA-Spd
2	47.395	796.343 4	C ₄₃ H ₆₃ N ₃ O ₂₁	634.288 1, 472.240 9, 310.202 9, 220.088 9	4', 4''- <i>O</i> -di-Glc-N ¹ - <i>trans</i> -CFA-N ¹⁰ -DHCFA-Spd
3	48.674	796.276 9	C ₄₃ H ₆₃ N ₃ O ₂₁	634.237 2, 472.210 8, 310.185 8, 220.078 9	枸杞亚精胺 E
4	52.888	796.271 8	C ₄₃ H ₆₃ N ₃ O ₂₁	634.234 5, 472.205 4, 310.183 0, 220.077 0	枸杞亚精胺 F
5	59.677	794.336 8	C ₄₃ H ₆₁ N ₃ O ₂₁	632.275 8, 470.235 3, 220.086 0	4', 4''- <i>O</i> -di-Glc-N ¹ , N ¹⁰ -Di- <i>trans</i> -CFA-Spd
6	77.844	773.209 1	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	611.155 1, 465.094 9, 303.042 2	Qct-7- <i>O</i> -GlcG-RhaG
7	100.510	611.135 6	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	465.085 8, 303.040 9	Rutin

2.1.1 酰胺类 由图 2 可知,峰 1 有质荷比为 796.337 5 [M+H]⁺准分子离子峰,连续断裂葡萄糖苷形成质荷比为 634.283 9 [M+H-Hex]⁺, 472.237 3 [M+H-2Hex]⁺, 310.204 3 [M+H-3Hex]⁺的碎片离子;峰 2 有质荷比为

796.343 4 [M+H]⁺准分子离子峰,连续断裂葡萄糖苷形成质荷比为 634.288 1 [M+H-Hex]⁺, 472.240 9 [M+H-2Hex]⁺, 310.202 9 [M+H-3Hex]⁺的碎片离子;峰 3 有质荷比为 796.276 9 [M+H]⁺准分子离子峰,连续断裂葡萄糖

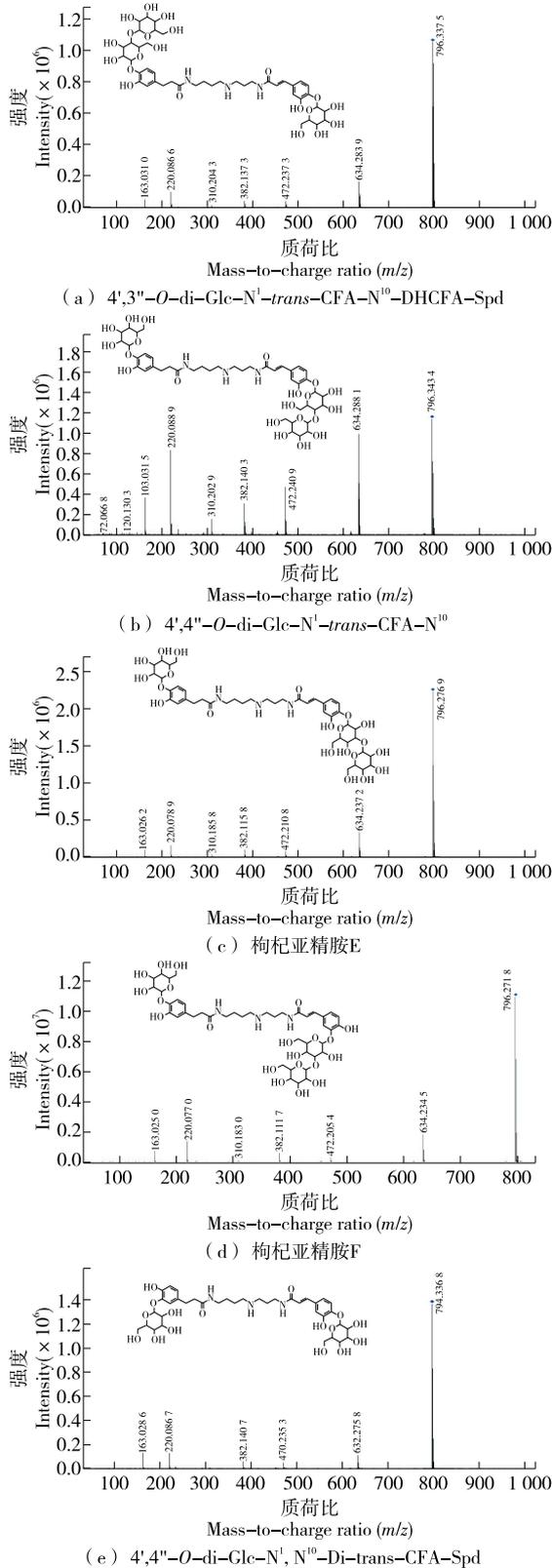


图 2 红枸杞果汁中酚胺类化合物 LC-MS/MS 质谱图
Figure 2 LC-MS/MS patterns of phenolamides in red wolfberry juice

糖苷质荷比为 634.237 2 [M+H-Hex]⁺, 472.210 8 [M+H-2Hex]⁺, 310.185 8 [M+H-3Hex]⁺ 的碎片离子; 峰 4 有质荷比为 796.271 8 [M+H]⁺ 准分子离子峰, 连续断裂葡萄糖苷形成质荷比为 634.234 5 [M+H-Hex]⁺, 472.205 4 [M+H-2Hex]⁺, 310.183 0 [M+H-3Hex]⁺ 的碎片离子, 根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[5,8] 确定, 峰 1, 2, 3, 4 分别为 4', 3''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd、4', 4''-*O*-di-Glc-N¹-*trans*-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd、枸杞亚精胺 E、枸杞亚精胺 F。峰 5 有质荷比为 794.336 8 [M+H]⁺ 的准分子离子峰, 连续断裂葡萄糖苷形成质荷比为 632.275 8 [M+H-Hex]⁺, 470.235 3 [M+H-2Hex]⁺ 的碎片离子, 根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[8] 确定, 峰 5 为 4', 4''-*O*-di-Glc-N¹, N¹⁰-Di-*trans*-CFA-Spd。

2.1.2 黄酮类 由图 3 可知, 峰 6 有质荷比为 773.209 1 [M+H]⁺ 的准分子离子峰, 断裂一分子葡萄糖苷生成质荷比为 611.155 1 [M+H-Hex]⁺ 的碎片离子, 再连续断裂一分子鼠李糖苷和葡萄糖苷生成 465.094 9 [M+H-Hex-Rha]⁺, 303.042 2 [M+H-Rha-2Hex]⁺ 的碎片离子。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[9] 确定, 峰 6 为 Qct-7-*O*-GlcG-RhaG。峰 7 有质荷比为 611.135 6 [M+H]⁺ 的准分子离子峰, 断裂一分子鼠李糖苷生成质荷比为 465.085 8 [M+H-Rha]⁺ 的碎片离子, 再断裂一分子葡萄

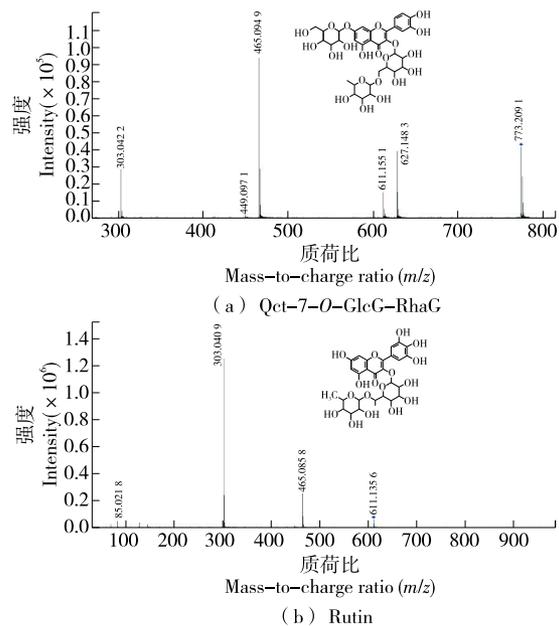
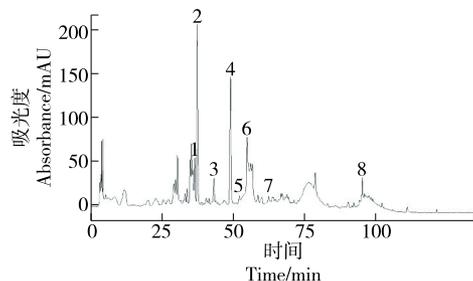


图 3 红枸杞果汁中黄酮类化合物的 LC-MS/MS 质谱图
Figure 3 LC-MS/MS patterns of flavonoids in red wolfberry juice

糖苷生成质荷比为 303.040 9 $[M+H-Rha-Hex]^+$ 的碎片离子。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[10-11] 确定, 峰 7 为 Rutin。

2.2 黑枸杞果汁中多酚类化合物 HPLC-QTOF-MS/MS 分析

黑枸杞果汁样品的高效液相色谱图如图 4 所示。



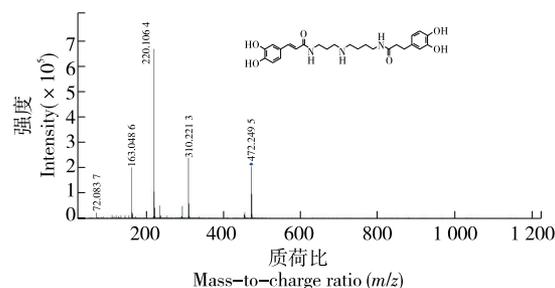
1. N^1 -*trans*-CFA- N^{10} -DHCFA-Spd 2. N^1, N^{10} -Di-CFA-Spd 3. N^1 -DHCFA- N^{10} -*trans*-CFA-Spd 4. Pet-3-*O*-RhaG (*cis-p*-CA)-GlcG-5-*O*-GlcG 5. Pet-3-*O*-RhaG (*trans-p*-CA)-GlcG-5-*O*-GlcG 6. Pet-3-*O*-RhaG (*cis-p*-CA)-5-*O*-GlcG 7. Pet-3-*O*-RhaG (*trans-p*-CA)-5-*O*-GlcG 8. Rutin

图 4 黑枸杞果汁的 HPLC 色谱图

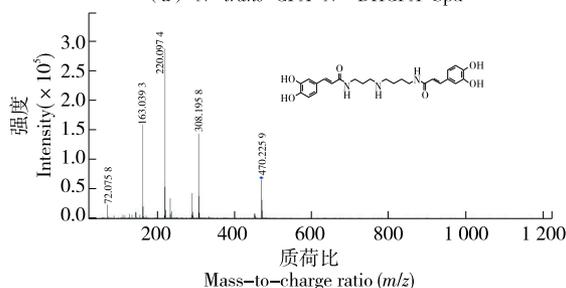
Figure 4 HPLC pattern of black wolfberry juice

根据图 5 和图 6 的二级质谱信息, 可以先确定化合物的相对分子质量, 再根据质谱图中的断裂情况可结合天然产物高分辨质谱数据库, 并查阅相关文献, 对黑枸杞果汁中的化合物进行确定。由表 5 可知, 黑枸杞果汁共鉴定出 8 个化合物, 其中酚胺类化合物 3 个, 黄酮化合物 5 个 (花色苷类化合物 4 个)。

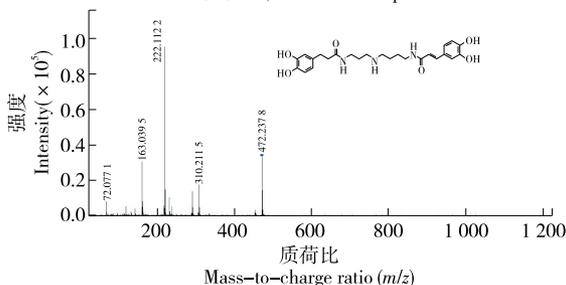
2.2.1 酚胺类 由图 5 可知, 峰 1 和峰 3 互为同分异构体, 断裂规律相同。峰 1 的准分子离子 $472.249 5 [M+H]^+$ 断裂产生了两个特征产物离子: 一个是质荷比 310.221 3 ($[M+H-162]^+$) 的碎片离子, 表示断裂一分子葡萄糖苷; 另一个是质荷比 163.048 6 ($[M+H-162-147]^+$) 的碎片离



(a) N^1 -*trans*-CFA- N^{10} -DHCFA-Spd



(b) N^1, N^{10} -Di-CFA-Spd



(c) N^1 -DHCFA- N^{10} -*trans*-CFA-Spd

图 5 黑枸杞果汁中酚胺类化合物的 LC-MS/MS 质谱图
Figure 5 LC-MS/MS patterns of polyphenolics in black wolfberry juice

子, 表示断裂一分子葡萄糖苷后又断裂一分子亚精胺。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[12] 确定, 峰 1、峰 3 分别为 N^1 -*trans*-CFA- N^{10} -DHCFA-Spd 和 N^1 -DHCFA- N^{10} -*trans*-CFA-Spd。

表 5 正离子模式下黑枸杞果汁中的多酚类化合物[†]

Table 5 Polyphenolic compounds in black wolfberry juice in positive ion mode

峰号	保留时间/min	$[M+H]^+ m/z$	分子式	特征碎片离子 m/z	定性化合物
1	36.073	472.249 5	$C_{25}H_{33}N_3O_6$	310.221 3, 163.048 6	N^1 - <i>trans</i> -CFA- N^{10} -DHCFA-Spd
2	37.337	470.225 9	$C_{25}H_{31}N_3O_6$	308.195 8, 163.039 3	N^1, N^{10} -Di-CFA-Spd
3	38.912	472.237 8	$C_{25}H_{33}N_3O_6$	310.211 5, 163.039 5	N^1 -DHCFA- N^{10} - <i>trans</i> -CFA-Spd
4	50.486	1 095.272 3	$C_{49}H_{59}O_{28}$	933.250 8, 479.119 7, 317.071 2	Pet-3- <i>O</i> -RhaG (<i>cis-p</i> -CA)-GlcG-5- <i>O</i> -GlcG
5	52.904	1 095.305 3	$C_{49}H_{59}O_{28}$	933.262 5, 479.125 8, 317.073 1	Pet-3- <i>O</i> -RhaG (<i>trans-p</i> -CA)-GlcG-5- <i>O</i> -GlcG
6	58.573	933.271 6	$C_{43}H_{49}O_{23}$	771.217 6, 479.102 4, 317.054 2	Pet-3- <i>O</i> -RhaG (<i>cis-p</i> -CA)-5- <i>O</i> -GlcG
7	61.454	933.271 6	$C_{43}H_{49}O_{23}$	771.210 3, 479.118 0, 317.725 0	Pet-3- <i>O</i> -RhaG (<i>trans-p</i> -CA)-5- <i>O</i> -GlcG
8	93.061	611.152 6	$C_{27}H_{30}O_{16}$	465.095 0, 303.044 5	Rutin

同样,峰 2 的准分子离子峰 470.225 9 [M+H]⁺ 断裂产生了两个特征产物离子:一是质荷比为 308.195 8 ([M+H-162]⁺) 的碎片离子,表示断裂一分子葡萄糖苷;另一个是质荷比为 163.039 5 ([M+H-162-147]⁺) 的碎片离子,表示断裂一分子葡萄糖苷后又断裂一分子亚精胺。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、结合化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[12] 确定,峰 2 为 N¹,N¹⁰-Di-CFA-Spd。

2.2.2 黄酮类 如图 6 所示,峰 4 和峰 5 两个化合物互为同分异构体,断裂规律相同。峰 4 的准分子离子峰 1 095.272 3 [M+H]⁺ 断裂产生了 3 个特征产物离子:一个是质荷比为 933.250 8 [M+H-162]⁺ 的碎片离子,表明断裂一个葡萄糖苷;一个是质荷比为 479.119 7 ([M+H-308-146-162]⁺) 的碎片离子,表明连续断裂了一分子芸香糖苷、香豆酰、葡萄糖苷;另一个则是质荷比为 317.071 2 ([M+H-162-308-146-162]⁺) 的碎片离子,对应于矮牵牛素阳离子^[13-14]。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[15] 确定,峰 4 为 Pet-3-O-RhaG(*cis-p*-CA)-GlcG-5-O-GlcG,峰 5 为 Pet-3-O-RhaG(*trans-p*-CA)-GlcG-5-O-GlcG。

峰 6 和峰 7 这两个化合物互为同分异构体,断裂规律相同。峰 6 有一个碎片离子 771 [M+H-2Hex]⁺,表明是 C-5 和 C-3 处分别断裂一个葡萄糖苷^[16],峰 6 的准分子离子峰 933.271 6 [M+H]⁺ 断裂产生 3 个特征产物离子:一个是质荷比为 771.217 6 ([M+H-Hex]⁺) 的碎片离子,表明断裂一个葡萄糖苷;一个是质荷比为 479.102 4 ([M+H-308-146]⁺) 的碎片离子,表示连续断裂了一分子芸香糖苷、香豆酰;另一个则是质荷比为 317.054 2 ([M+H-162-308-146]⁺),对应于矮牵牛素的阳离子。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[15-16] 确定,峰 6 为 Pet-3-O-RhaG(*cis-p*-CA)-5-O-GlcG,峰 7 为 Pet-3-O-RhaG(*trans-p*-CA)-5-O-GlcG。

峰 8 有质荷比为 611.152 6 [M+H]⁺ 的准分子离子峰,断裂一分子鼠李糖苷生成质荷比为 465.095 0 [M+H-Rha]⁺ 的碎片离子,再断裂一分子葡萄糖苷生成质荷比为 303.044 5 [M+H-Rha-Hex]⁺ 的碎片离子。根据化合物的中性碎片断裂规律、比对特征碎片离子、化合物的最大紫外吸收波长并结合相关文献^[10] 确定,峰 8 为 Rutin。

2.3 多酚类成分定量分析

2.3.1 红枸杞果汁中多酚类成分定量分析 对红枸杞果汁的主要成分进行定量分析,结果如表 6 所示。

由表 6 可知,红枸杞果汁中多酚类化合物含量存在显著差异。含量最高的化合物是 4',3"-O-di-Glc-N¹-*trans*-

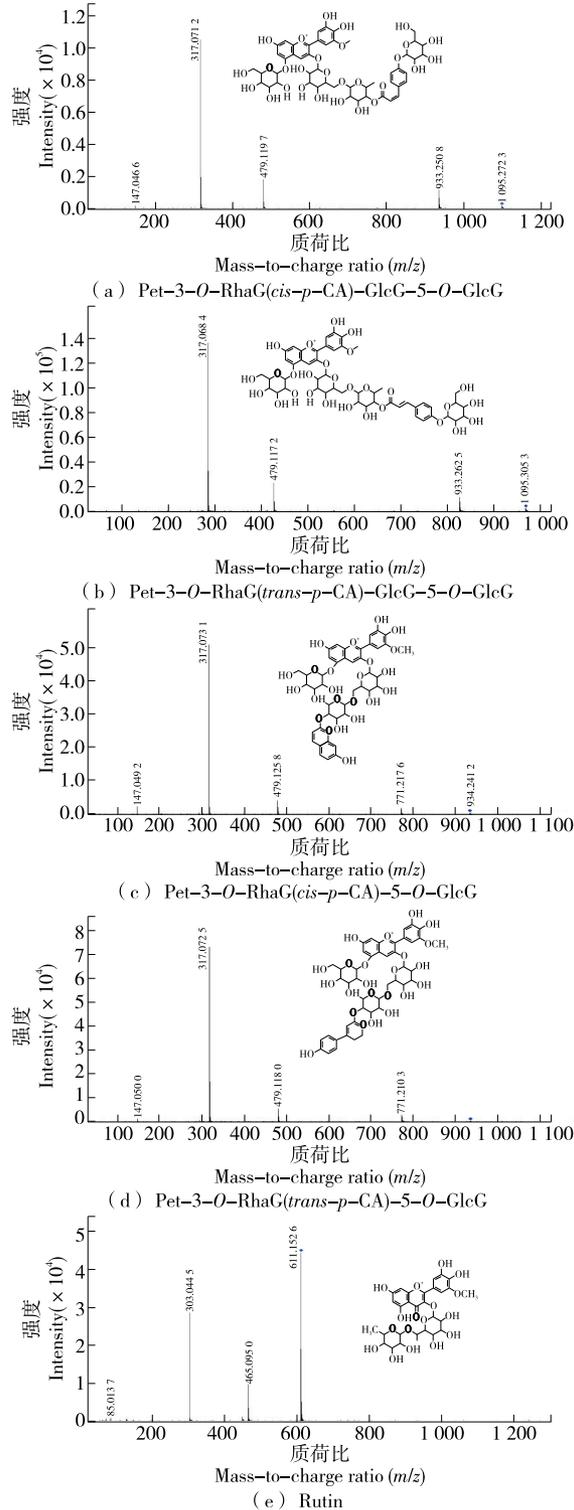


图 6 黑枸杞果汁中黄酮类化合物 LC-MS/MS 质谱图
Figure 6 LC-MS/MS patterns of flavonoids in black wolfberry juice

CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd, 质量分数为 11.782 9 mg/kg, 远高于其他化合物。这表明该化合物可能是红枸杞果汁中最

表6 红枸杞果汁中多酚类化合物含量测定

Table 6 Determination of polyphenolic compound content in red wolfberry juice

峰号	定性化合物	质量分数/ (mg·kg ⁻¹)
1	4', 3"-O-di-Glc-N ¹ -trans-CFA-N ¹⁰ -DHCFA-Spd	11.782 9±0.264 7
2	4', 4"-O-di-Glc-N ¹ -trans-CFA-N ¹⁰ -DHCFA-Spd	4.698 6±0.234 9
3	枸杞亚精胺E	5.293 6±0.264 7
4	枸杞亚精胺F	3.257 3±0.162 9
5	4', 4"-O-di-Glc-N ¹ , N ¹⁰ -Di-trans-CFA-Spd	0.682 8±0.034 1
6	Qct-7-O-GlcG-RhaG	1.119 7±0.056 0
7	Rutin	0.766 5±0.038 3

主要的多酚类成分。其次是4', 4"-O-di-Glc-N¹-trans-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd和枸杞亚精胺E,质量分数分别为4.698 6, 5.293 6 mg/kg。这两种化合物在红枸杞果汁中的含量也较为丰富。相比之下,其他化合物的含量较低,其中4', 4"-O-di-Glc-N¹, N¹⁰-Di-trans-CFA-Spd的含量最低,质量分数仅为0.682 8 mg/kg。黄酮类化合物虽然含量不高,但它们仍然是红枸杞果汁中重要的多酚类成分。这些数据表明,红枸杞果汁中主要的多酚类化合物是酚胺类化合物,而黄酮类化合物的含量相对较低。

2.3.2 黑枸杞果汁中多酚类成分定量分析 对黑枸杞果汁的主要成分进行定量分析,结果如表7所示。

表7 黑枸杞果汁中多酚类化合物含量测定

Table 7 Determination of polyphenolic compound content in black wolfberry juice

峰号	定性化合物	质量分数/ (mg·kg ⁻¹)
1	N ¹ -trans-CFA-N ¹⁰ -DHCFA-Spd	1.539 9±0.077 0
2	N ¹ , N ¹⁰ -Di-CFA-Spd	0.582 5±0.029 1
3	N ¹ -DHCFA-N ¹⁰ -trans-CFA-Spd	0.425 8±0.021 3
4	Pet-3-O-RhaG(<i>cis-p</i> -CA)-GlcG-5-O-GlcG	0.960 0±0.048 0
5	Pet-3-O-RhaG(<i>trans-p</i> -CA)-GlcG-5-O-GlcG	2.036 3±0.101 8
6	Pet-3-O-RhaG(<i>cis-p</i> -CA)-5-O-GlcG	1.308 9±0.065 4
7	Pet-3-O-RhaG(<i>trans-p</i> -CA)-5-O-GlcG	0.604 2±0.030 2
8	Rutin	0.338 9±0.017 0

由表8可知,黑枸杞果汁中的多酚类化合物含量差异显著。黄酮类化合物,特别是花色苷类化合物在黑枸杞果汁中占据了较大比例,其中Pet-3-O-RhaG(*trans-p*-CA)-GlcG-5-O-GlcG的含量最高,质量分数为2.036 3 mg/kg,

表明此化合物可能是黑枸杞果汁中主要的多酚类成分。其次, Pet-3-O-RhaG(*cis-p*-CA)-5-O-GlcG和 Pet-3-O-RhaG(*cis-p*-CA)-GlcG-5-O-GlcG的含量也较高,质量分数分别为1.308 9, 0.960 0 mg/kg。相比之下,芦丁的含量最低,质量分数仅为0.338 9 mg/kg。酚胺类化合物如N¹-trans-CFA-N¹⁰-DHCFA-Spd的质量分数为1.539 9 mg/kg,而其他两种酚胺类化合物的含量则相对较低,质量分数分别为0.582 5, 0.425 8 mg/kg。结果表明,黑枸杞果汁中以花色苷类黄酮化合物为主。酚胺类化合物在黑枸杞果汁中的含量较低,这与红枸杞果汁中酚胺类化合物占据主要成分的情况形成了鲜明对比。

3 结论

采用高效液相色谱—四极杆飞行时间串联质谱技术,系统地对红枸杞和黑枸杞果汁中所含多酚类化合物进行了定性和定量研究,共鉴定出15个多酚类成分。两种枸杞果汁的多酚类化合物组成存在显著差异:红枸杞果汁中主要为酚胺类化合物,其中4', 3"-O-二葡萄糖基-N¹-反式咖啡酰基-N¹⁰-二氢咖啡酰基亚精胺含量最高,质量分数为11.7829 mg/kg,而黑枸杞果汁中则富含黄酮类化合物,特别是花色苷类化合物,其中矮牵牛素-3-O-芸香糖苷(反-对香豆酰)-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷的含量最高,质量分数为2.036 3 mg/kg。研究仅对红枸杞和黑枸杞果汁中所含多酚类化合物进行了鉴定,这些多酚类化合物的生物功能活性还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 胡婷婷, 刘苏情, 沈梦雅, 等. 枸杞子药食产品现状及发展趋势[J]. 信阳农林学院学报, 2021, 31(4): 105-109.
HU T T, LIU S Q, SHEN M Y, et al. The status and development trend of Chinese wolfberry product as medicine and food[J]. Journal of Xinyang Agriculture and Forestry University, 2021, 31(4): 105-109.
- [2] 李应萍, 刘菲, 张涿淘, 等. 黑枸杞多酚类化合物研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(13): 214-224.
LI Y P, LIU F, ZHANG L T, et al. Polyphenols of *Lycium ruthenicum* Murr.: a review[J]. Food Research and Development, 2024, 45(13): 214-224.
- [3] 舒雨竹, 姚文博. 枸杞活性物质的提取工艺优化及活性测定[J]. 中国调味品, 2024, 49(9): 114-119.
SHU Y Z, YAO W B. Optimization of extraction process of active substances from *Lycium barbarum* and determination of activity[J]. China Condiment, 2024, 49(9): 114-119.
- [4] 王远, 刘洋, 张金磊, 等. HPLC-MS/MS法测定黑枸杞中9种酚酸[J]. 农产品加工, 2023(15): 53-55.
WANG Y, LIU Y, ZHANG J L, et al. Determination of 9

- phenolic acids in *Lycium barbarum* Murray by HPLC-MS/MS [J]. *Farm Products Processing*, 2023(15): 53-55.
- [5] 吕海洋, 幸岑臻, 高梦笛, 等. 宁夏枸杞多酚 Q-TOF/MS^E 分析及对细胞抗氧化能力的影响 [J]. *核农学报*, 2017, 31(2): 298-306.
- LV H Y, XING C C, GAO M D, et al. Characterization of polyphenols from *Lycium barbarum* L. fruit by Q-TOF/MS^E and its antioxidant activity in cell culture systems [J]. *Journal of Nuclear Agriculture Sciences*, 2017, 31(2): 298-306.
- [6] 陈晨, 文怀秀, 赵晓辉, 等. 固相萃取快速测定黑果枸杞果汁中酚酸类化合物 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(7): 896-898.
- CHEN C, WEN H X, ZHAO X H, et al. Fast determination of phenolic acids in *Lycium ruthenicum murr* juice by solid phase extraction and HPLC [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(7): 896-898.
- [7] 冯洲旭, 张根生, 孔令杰, 等. 向日葵蜂花粉中酚酸类化合物定性定量分析 [J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(5): 177-183.
- FENG Z X, ZHANG G S, KONG L J, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolamides in sunflower bee pollen [J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(5): 177-183.
- [8] ZHOU Z Q, FAN H X, HE R R, et al. Lycibarbarspermidines A-O, new dicaffeoylspermidine derivatives from wolfberry, with activities against alzheimer's disease and oxidation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(11): 2 223-2 237.
- [9] INBARAJ B S, LU H, KAO T H, et al. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 51(3): 549-556.
- [10] ZHANG G, CHEN S S, ZHOU W, et al. Rapid qualitative and quantitative analyses of eighteen phenolic compounds from *Lycium ruthenicum* Murray by UPLC-Q-Orbitrap MS and their antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2018, 269: 150-156.
- [11] 马雪. 枸杞多酚类化合物提取工艺及成分识别研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2022: 46.
- MA X. Study on the extraction process and component identification of polyphenolic compounds from *Lycium barbarum* [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2022: 46.
- [12] 王淑娟. 枸杞子二咖啡酰亚精胺类衍生物对胆固醇-24-羟化酶的抑制作用研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2020: 51.
- WANG S J. Study on the inhibitory effect of Lycibarbarspermidines on cholesterol-24-hydroxylase [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2020: 51.
- [13] WANG Y P, FU J X, YANG D. *In situ* stability of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murray [J]. *Molecules*, 2021, 26(23): 7 073.
- [14] 王宁博. 黑果枸杞的多酚提取工艺、质量评价及其生物活性研究 [D]. 西安: 西北农林科技大学, 2022: 27.
- WANG N B. Study on extraction process, quality evaluation and bioactivity of polyphenols of *Lycium ruthenicum* Murr [D]. Xi'an: Northwest A & F University, 2022: 27.
- [15] 甘小娜, 王辉俊, 李廷钊, 等. 黑果枸杞化学成分的 UPLC-Triple TOF/MS 分析及其总花色苷类含量测定 [J]. *食品科学*, 2021, 42(18): 185-190.
- GAN X N, WANG H J, LI Y Z, et al. *Lycium ruthenicum* Murray fruit: chemical composition analysis by ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple time of flight mass spectrometry and determination of total anthocyanins [J]. *Food Science*, 2021, 42(18): 185-190.
- [16] JIA Q Q, DONG Q X, SANG Q N, et al. Rapid qualitative and quantitative analyses of anthocyanin composition in berries from the Tibetan Plateau with UPLC-quadruple-orbitrap MS and their antioxidant activities [J]. *European Journal of Mass Spectrometry*, 2020, 26(4): 301-308.