

## 不同生长周期的罗汉果鲜果中甜甙 V 和总黄酮含量变化规律研究

陈全斌, 义祥辉, 余丽娟, 杨瑞云, 杨建香

(广西师范大学资源与环境学系, 广西桂林 541004)

**摘要:** 通过使用 HPLC 法对不同生长周期的罗汉果鲜果中罗汉果甜甙 V 和总黄酮的含量进行测定, 总结出罗汉果中罗汉果甜甙 V 和总黄酮含量的变化规律, 并对二者进行比较研究, 结果表明坐果 50 d 后, 罗汉果甜甙 V 的增加比较快, 80 d 后, 罗汉果甜甙 V 的含量趋于稳定; 随着生长周期的增加, 罗汉果总黄酮的含量增加, 40~50 d 中增长最快, 坐果约 50 d 后达到最高值, 从 60 d 开始总黄酮的含量迅速下降到 20 d 水平, 然后趋于稳定。

**关键词:** 罗汉果; HPLC; 罗汉果甜甙 V; 黄酮; 含量变化

**中图分类号:** Q946.83 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)03-0274-04

## Study on the variation of mogroside V and flavone glycoside in *Siraitia grosvenorii* fresh-fruits in different growth periods

CHEN Quan-bin, YI Xiang-hui, YU Li-juan,  
YANG Rui-yun, YANG Jian-xiang

(Department of Resources and Environmentology, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

**Abstract:** The content of mogroside V and flavone glycoside in *Siraitia grosvenorii* with different growth periods by was analysed HPLC, and the law of the variation in the contents of mogroside V and flavone glycoside was summarised. Comparative study of them was also taken. The result shows that the content of mogroside V increases rapidly after 50 days and gets stability after 80 days. The content of flavone glycoside increase rapidly from the 40th day to the 50th day, and reaches the highest after about 50 days. It declines to the level as the 20th day after 60 days and then gets stability.

**Key words:** *Siraitia grosvenorii*; HPLC; mogroside V; flavone glycoside; variation

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey), 植物学名为“光果木鳖”, 是葫芦科 (Cucurbitaceae) 罗汉果属植物的成熟果实, 为我国特有的经济、药用植物, 主要分布在两广、贵州、江西、湖南南部等地区 (路安民等, 1984)。罗汉果营养价值高, 含有丰富的果糖、蛋白质、氨基酸和多种维生素, 其性凉味甘, 无毒, 有润肺止咳、凉血、润肠通便的功效,

特别是用作祛痰剂, 在治疗百日咳、慢性气管炎、咽喉炎、胃肠疾病方面疗效显著 (中华人民共和国卫生部药典委员会, 1977; 广西壮族自治区卫生厅, 1983), 广泛应用于医药、饮料和调味品当中。其中所含甜度极高的甜味物质是一种低卡路里的理想天然甜味剂。

研究表明, 罗汉果的甜味物质即罗汉果甜甙是

收稿日期: 2004-04-05 修订日期: 2004-07-20

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科能 0443001-12)

作者简介: 陈全斌 (1957-), 男, 广西北流人, 高级工程师, 从事天然产品开发与研究。

葫芦烷三萜甙类化合物,其中甜甙 V 为罗汉果果实中含量和甜度(为蔗糖甜度的 256~344 倍)均较高的成分(成桂仁,1987)。目前为止,报道较多的就是罗汉果甙 V 的提取、精制工艺的研究,尚无人对鲜罗汉果中罗汉果甙 V 的变化规律进行深入讨论。近二十年来,黄酮类化合物日益引起人们的重视。国内外已经发现的黄酮类化合物有数千种,大多数具有显著生理药理活性(张德权等,1999),在医药上已经广泛应用,在功能食品开发方面越来越受到重视。斯建勇等(1994)在对鲜罗汉果的成分研究中,首次分离得到 2 个黄酮甙,即山奈酚-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖-7-O-( $\beta$ -D-葡萄糖基-(1-2)- $\alpha$ -L-鼠李糖甙)和山奈酚-3,7- $\alpha$ -L-二鼠李糖甙;有人进行了罗汉果中黄酮甙元的反相高效液相色谱测定研究(陈全斌等,2003)。本实验的研究是通过采集不同生长周期的罗汉果,用 HPLC 法对其中的罗汉果甙 V 及黄酮的含量进行测定,找出罗汉果甙 V 和黄酮的含量变化规律。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器 P200 II 型高效液相色谱仪(大连依利特),包括 P200 II 型高压恒流输液泵、UV200 II 型紫外可见可变波长检测器、Rheodyne 7725i 高压进样阀、EChrom 98 色谱工作站。

1.1.2 药品与试剂 罗汉果甙 V 标准品(桂林思特公司提供);乙腈(色谱纯);二次重蒸水;甲醇(重蒸);槲皮素标准品、山奈酚标准品(中国药品生物制品检定所)。

1.1.3 样品 不同生长周期的罗汉果鲜果样品(2003 年采于广西桂林永福县)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 罗汉果甙 V 含量的测定 标准溶液配制:准确称取罗汉果甙 V 样品(纯度 98.5%)7.26 mg,置入 10 mL 容量瓶中,用 70% 甲醇溶解,定容至刻度,摇匀备用,所含罗汉果甙 V 浓度为 0.715 mg/mL。

样品制备:分别取不同生长周期的罗汉果鲜果各 10 个,破碎,置于圆底烧瓶中,按固液比 1:8 加入蒸馏水,加热至沸,回流提取 1 h/次,共 3 次。水提液过滤后,经大孔吸附树脂吸附,然后用蒸馏水冲洗至流出液无色。以 80% 乙醇溶液洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发,得到罗汉果总甙提取物。分别准确称取不同生长周期的罗汉果总甙各 50 mg,分别放入

50 mL 容量瓶中,用 70% 甲醇溶解,定容至刻度,摇匀备用。

色谱条件为色谱柱:Shodex Asahipak NH<sub>2</sub> 柱(4.6 mm ID×250 mm,5  $\mu$ m);流动相:乙腈-水溶液(体积比为 78:22);流速:1.0 mL/min;检测波长:210 nm;检测灵敏度:0.08;柱温:室温;进样量:20  $\mu$ L。

样品中罗汉果甙 V 含量的测定:精确吸取标准溶液和不同生长周期罗汉果鲜果样品测试液 20  $\mu$ L,进样,按照上述色谱条件进行含量测定,测定罗汉果甙 V 的色谱峰面积积分值。外标法计算不同生长周期的罗汉果鲜果中罗汉果甙 V 的含量。

1.2.2 总黄酮含量的测定 标准溶液的配制:精密称取槲皮素、山奈酚标准品 10.6 mg,11.0 mg,分别以甲醇溶解并定容至 50 mL。准确吸取槲皮素标准溶液 0.2 mL,山奈酚标准溶液 1 mL,放入 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,得槲皮素、山奈酚的混合标准溶液,浓度分别为 4.24  $\mu$ g/mL,22  $\mu$ g/mL。

罗汉果鲜果测试液的制备:将鲜果破碎,用甲醇加热回流提取 3 次(1 h/次),提取液旋转蒸发至干,得罗汉果鲜果粗提物。粗提物经盐酸-甲醇液水解,得鲜果测试液。

色谱条件为色谱柱:Turner YWG C<sub>18</sub>(4.6 mm ID×250 mm,5  $\mu$ m);流动相:V(甲醇):V(水):V(磷酸)=60:40:0.3;流速:1.0 mL/min;检测波长:360 nm;灵敏度:0.08;柱温:室温;进样量:20  $\mu$ L。

样品中黄酮甙元含量的测定:分别精确吸取槲皮素、山奈酚的混合标准溶液和不同生长周期罗汉果鲜果样品测试液 20  $\mu$ L,进样,按照上述色谱条件进行含量测定,测定槲皮素、山奈酚的色谱峰面积积分值。外标法计算不同生长周期的罗汉果鲜果中槲皮素、山奈酚的含量。

## 2 实验结果

### 2.1 不同生长周期的罗汉果鲜果中罗汉果甙 V 含量

2.1.1 色谱分离效果 在上述色谱条件下,标准液和经过制备后的样品液得到了充分的洗脱和良好的分离。罗汉果甙 V 在柱上的保留时间为 12.83 min,理论塔板数(N)为 8 443.53(n=3, RSD=1.20%);与邻近小峰间的分离度(Rs)为 1.42,拖尾因子(T)为 1.10。标准及样品色谱图见图 1、2。

2.1.2 样品的测定 外标法计算不同生长周期的罗

汉果中罗汉果甙 V 的含量,结果见表 1。

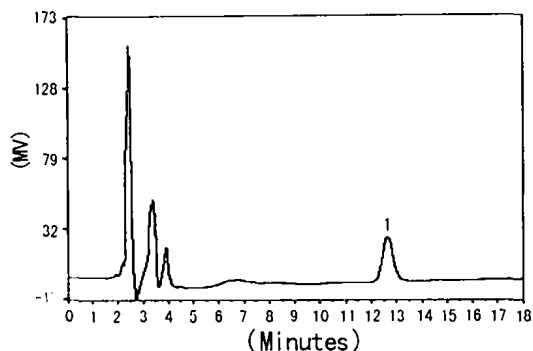


图 1 罗汉果甙 V 标准图谱

Fig. 1 Standard spectrum of *Siraitia grosvenorii* mogroside V

$t_R = 12.83 \text{ min}$

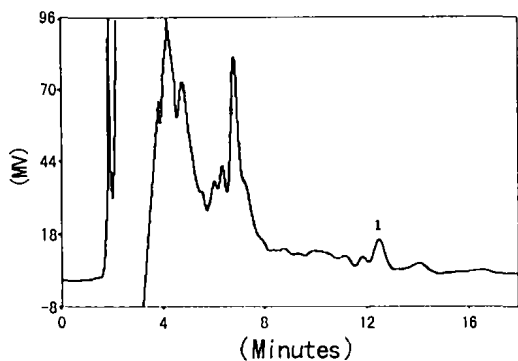


图 2 样品图谱

Fig. 2 Sample spectrum

$t_R = 12.80 \text{ min}$

表 1 不同生长周期的罗汉果中罗汉果甙 V 的质量

Table 1 Mogroside V mass of *Siraitia grosvenorii* in different growth period

生长周期(d) Growth period	罗汉果甙 V (mg/个) <i>Siraitia grosvenorii</i> mogroside V
10	9.67
20	13.25
30	25.19
40	29.68
50	34.53
60	49.70
70	91.70
80	113.15
90	117.83

## 2.2 不同生长周期的罗汉果鲜果中总黄酮含量的测定

2.2.1 色谱分离效果 在上述色谱条件下,标准液和经过制备后的样品液得到了充分的洗脱和良好的分离。槲皮素在柱上的保留时间为 6.75 min,山奈酚在柱上的保留时间为 10.44 min。理论塔板数(N)按槲皮素计算为 12 852( $n=3, RSD=0.88\%$ );与邻近小峰间的分离度( $R_s$ )为 1.67,拖尾因子(T)

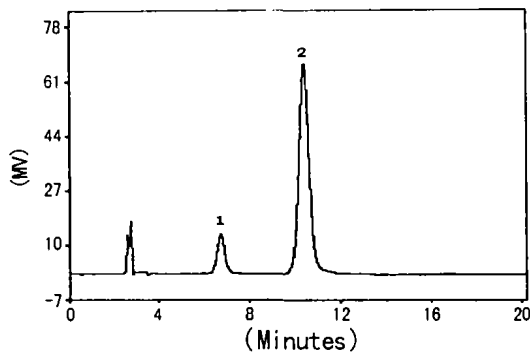


图 3 标准图谱

Fig. 3 Standard spectrum

$t_{R1} = 6.75 \text{ min}; t_{R2} = 10.44 \text{ min}; 1 = \text{Quercetin (槲皮素)}$ 。

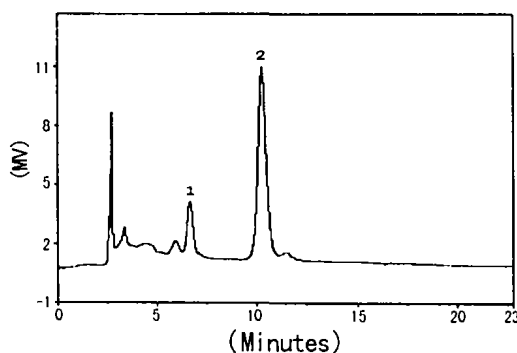


图 4 样品图谱

Fig. 4 Sample spectrum

$t_{R1} = 6.72 \text{ min}; t_{R2} = 10.41 \text{ min}; 2 = \text{Kaempferol (山奈酚)}$ 。

为 0.84。标准及样品色谱图见图 3、4。

2.2.2 样品的测定 将不同生长周期的罗汉果鲜果测试液进样 20  $\mu\text{L}$  进行分析,外标法计算不同生长周期的罗汉果鲜果中槲皮素和山奈酚的质量(表 2)。

表 2 不同生长周期的罗汉果鲜果中槲皮素和山奈酚的质量

Table 2 Quercetin and kaempferol mass of *Siraitia grosvenorii* fresh fruit in different growth period

生长周期 Growth Period(d)	数量 Amount (个)	槲皮素质量 Quercetin Mass(mg/个)	山奈酚质量 Kaempferol Mass(mg/个)
10	10	0.07	2.38
20	10	0.15	3.70
30	10	0.05	3.74
40	10	0.01	4.09
50	10	0.21	5.91
60	10	0.05	3.03
70	10	0.05	2.57
80	10	0.03	2.40
90	10	0.05	2.33

2.2.3 总黄酮含量的换算 参照《中华人民共和国药典》2000 年版,银杏叶提取物中总黄酮醇甙含量的计算方法(中华人民共和国卫生部药典委员会,

1997),以槲皮素和山奈酚的含量换算成罗汉果中总黄酮的含量,即罗汉果中总黄酮含量=(槲皮素含量+山奈酚含量)×2.51,得到结果见表 3。

### 2.3 罗汉果甙 V 与总黄酮含量变化规律比较

将不同生长周期的罗汉果鲜果中罗汉果甙 V 与总黄酮的含量变化规律进行比较(图 5),发现以坐果 50 d 作为转折点,鲜果中的甙 V 含量急剧上升,而总黄酮的含量下降。我们在生产实际中也发现,在坐果约 50 d 以前,均以苦味为主。随着生长周期的增加,罗汉果的味道逐渐由苦变甜。

## 3 结果与讨论

(1)罗汉果中甜甙 V 随生长周期增加,其含量也逐渐增加。坐果 50 d 以后,罗汉果甜甙 V 的含量增加比较快,80 d 达到最高值,而后趋于稳定。

罗汉果开花授粉后果实体积不断增大,纵径在

1~3 d 生长最快,以后逐渐减慢;横径以 9~15 d 生长最快,30 d 果实体积停止增大(董泽宏等,1998)。有人认为罗汉果在授粉 50~60 d 后开始采收(李荫昆等,1980),但我们通过实验发现,第 50 天后,罗汉果甙 V 的含量增加速度比较快。作为罗汉果中的主要甜味物质,甙 V 含量的多少直接影响到罗汉果品质的好坏。因此,我们认为在罗汉果体积停止增长后,尚有很长的甜甙积累期,其中的甜味物质在进入成熟期后才迅速增加。如果过早采收,则严重影响到罗汉果的质量。所以,罗汉果的采摘应在其完全成熟后再进行,一般 90 d 即可。

(2)随着生长周期的增加,罗汉果中总黄酮的含量增加,40~50 d 中增长最快,坐果约 50 d 后达到最高值,从 60 d 开始总黄酮的含量迅速下降到 20 d 水平,然后趋于稳定。罗汉果若以黄酮含量作为品质指标,坐果 50 d 时应迅速采集。

表 3 不同生长周期的罗汉果鲜果中总黄酮含量

Table 3 Flavone mass of *Siraitia grosvenorii* fresh fruit in different growth period

生长周期 Growth period(d)	10	20	30	40	50	60	70	80	90
总黄酮含量 Content of flavone(mg/个)	6.17	9.67	9.51	10.31	15.36	7.74	6.58	6.10	5.98

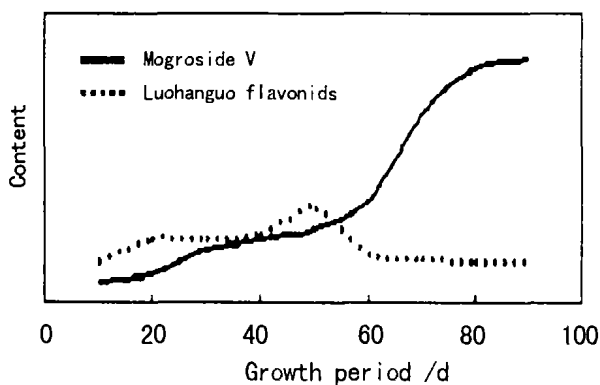


图 5 罗汉果甙 V 与总黄酮含量变化规律比较

Fig. 5 Comparison of changing regulation between glucoside V and flavonoids in *Siraitia grosvenorii* fruit

(3)在罗汉果中同时存在甜甙和黄酮两种物质,一个味甜,一个味苦。从图 5 看出,50 d 时,当黄酮含量达到最高,而甜甙 V 的形成还处于平缓期,此时以苦味为主;而到 80 d 后,甜甙 V 的含量达到最高值,而黄酮的含量下降到最低值,此时以甜味为主,此结果与实际相符。

### 参考文献:

广西壮族自治区卫生厅. 1983. 广西中药志第二辑[M]. 南宁: 广西壮族自治区人民出版社,195.

- 中华人民共和国卫生部药典委员会. 1977. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 348;1985,181;1990,184.
- 李荫昆, 林盛秋, 刘宗汉. 1980. 广西特产药物—罗汉果[J]. 中草药, 11(8):368—371.
- 董泽宏, 余靖. 1998. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社; 2 842—2 849.
- Cheng GR(成桂仁). 1987. The survey study on the sweet components of Luohanguo(罗汉果甜味成分的研究概况)[J]. *Guihaia*(广西植物), 7: 285.
- Chen QB(陈全斌), Yang RY(杨瑞云), Yi XH(义祥辉), et al. 2003. Determination of flavone in Luohanguo fresh fruits and its glycosides by RP-HPLC(RP-HPLC 法测定罗汉果鲜果及甜甙中总黄酮含量)[J]. *Food Science*(食品科学), 24(5): 133—135.
- Lu AM(路安民), Zheng ZG(张志耕). 1984. *Momordica grosvenorii* genus of China(中国罗汉果属植物)[J]. *Guihaia*(广西植物), 4(1): 27—33.
- Si JY(斯建勇), Chen DH(陈迪华), Chang Q(常琪). 1994. Isolation and structure determination of flavonol glycosides from the fresh fruits of *Siraitia grosvenorii*(鲜罗汉果中黄酮甙的分离及结构测定)[J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 29(2): 158—160.
- Zhang DQ(张德权), Tai JX(台建祥). 1999. Survey on research and application of bioflavonoids(生物类黄酮的研究及应用概况)[J]. *Food and Fermentation Industries*(食品与发酵工业), 25(6): 52—57.