

蓝莓中花色素及花色苷的检测

LCMS-IT-TOF-031

摘要：花色苷是在植物中广泛分布的类黄酮类物质，具有抗氧化等保健功能。使用 LCMS-IT-TOF 对蓝莓中的花色素以及花色苷成分进行分离检测，共推测得到 12 个花色苷类物质。

关键词：蓝莓 花色苷 花色素 LCMS-IT-TOF

花色苷是花色素与糖以糖苷键结合生成的一类化合物，广泛存在于植物的花、果实、茎、叶和根的细胞液中的类黄酮物质，使植物呈现红、紫红、蓝等不同的颜色。花色苷具有抗氧化、抗突变、抗肿瘤、预防心血管疾病等多种保健作用，同时也被广泛的用作食品色素。蓝莓，又称越橘，果实呈深蓝色，含有丰富的花色苷。本实验通过高效液相色谱对蓝莓花色素及花色苷进行分离，并使用离子阱飞行时间质谱对其中的花色素及花色苷进行初步的分析鉴别。

质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF
离子源：ESI(+)
离子源接口电压：4.5 kV
雾化气：氮气 1.5 L/min
干燥气：氮气 10 L/min
碰撞气：氦气
脱溶剂管温度：200℃
加热模块温度：200℃

仪器及实验过程

液相色谱条件

分析仪器：Prominence UFLC_{XR} 系统，包括 LC-20AD_{XR} × 2(输液泵)，SIL-20AC_{XR} (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，DGU-20A₃(在线脱气机)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，LCMS-IT-TOF (离子阱 - 飞行时间质谱) 和 LCMSsolution Ver.3.60(工作站)。

流速：0.8 mL/min，经分流阀 0.2 mL/min 进入质谱色柱：C18 150 × 4.6 i.d mm，5 μm

柱温：20℃

进样量：蓝莓提取液 2 μL

洗脱方式：梯度洗脱

流动相：A 水 +5% 甲酸 B 乙腈，

B 相初始浓度：10%

结果与讨论

对蓝莓提取液进行分析，520 nm 波长色谱图共分离得到 12 个谱峰，如图 1 所示。

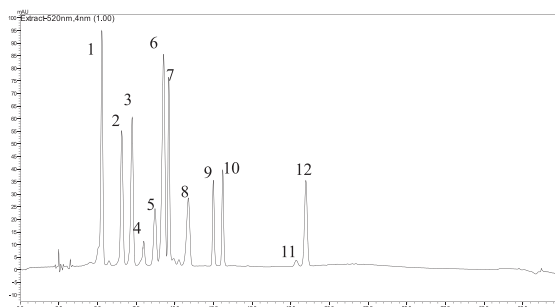


图 1 蓝莓提取物 520 nm 波长色谱图

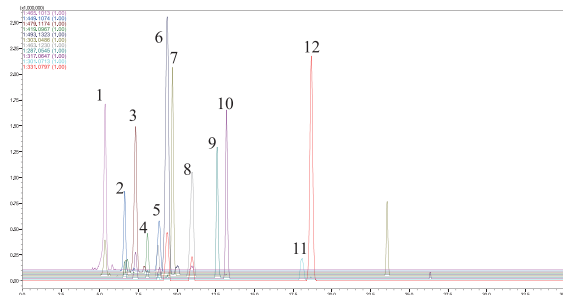


图 2 12 个谱峰的提取离子流图

采用离子阱飞行时间质谱，同时获得正离子模式下 12 个谱峰的多级质谱数据，图 2 为 12 个谱峰的提取离子流图，每个谱峰分子式预测结果及保留时间如表 1 所示。

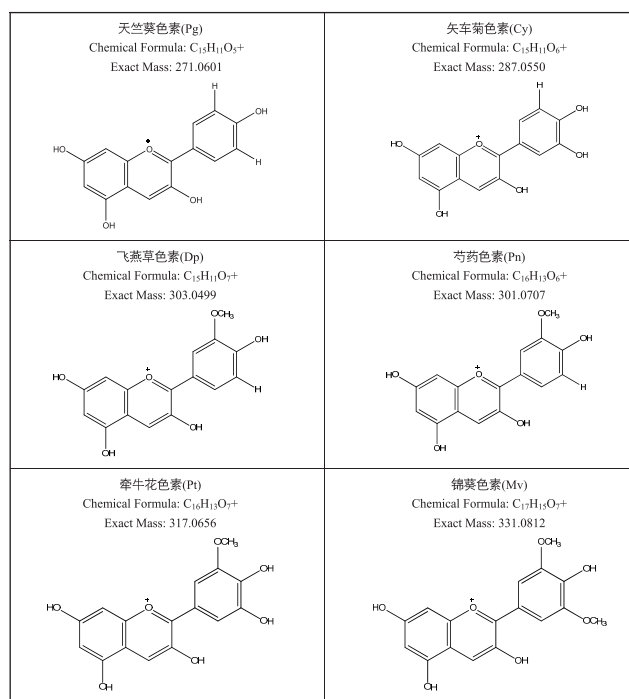
Time	Module	Action	Value
10.00	Pumps	B.Conc	20
15.00	Pumps	B.Conc	20
25.00	Pumps	B.Conc	50
30.00	Pumps	B.Conc	90
30.10	Pumps	B.Conc	10
40.00	Controller	Stop	

表 1 12 个化合物分子式预测结果

#	保留时间 (min)	实测值 m/z	理论值 m/z	绝对误差 (mDa)	相对误差 (ppm)	可能的分子式
1	5.35	465.1013	465.1028	-1.5	-3.23	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
2	6.61	449.1074	449.1078	-0.4	-0.89	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁
3	7.30	479.1174	479.1184	-1.0	-2.09	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂
4	8.10	419.0967	419.0973	-0.6	-1.43	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀
5	8.79	449.1074	449.1078	-0.4	-0.89	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁
6	9.36	493.1323	493.1341	-1.8	-3.65	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂
7	9.72	303.0486	303.0499	-1.3	-4.29	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
8	10.96	463.1230	463.1235	-0.5	-1.08	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁
9	12.59	287.0545	287.0550	-0.5	-1.74	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
10	13.17	317.0647	317.0656	-0.9	-2.84	C ₁₆ H ₁₂ O ₇
11	17.94	301.0713	301.0707	0.6	1.99	C ₁₆ H ₁₂ O ₆
12	18.56	331.0797	331.0812	-1.5	-4.53	C ₁₇ H ₁₄ O ₇

根据文献报道,花色素具有天竺葵、矢车菊色素、飞燕草色素、芍药色素、牵牛花色素、锦葵色素等 6 种常见的结构,如表 2 所示。

表 2 常见花色素的基本骨架结构



根据已知 6 种花色素的分子式预测结果,化合物 7、9、10、11、12 检测得到的分子量与已知结果一致,因此,推测化合物 7、9、10、11、12 分别为飞燕草色素、矢车菊色素、牵牛花色素、芍药色素和锦葵色素。

其它化合物则分别为相应的花色素骨架和不同的糖结合生产的花色苷。根据实验数据,连接的糖主要为 2 大类,中性丢失分别为 162 Da 和 132 Da,经分子式预测软件进行预测,得到图 3、图 4 显示的结果,推测为六碳糖和五碳糖,具体糖的种类还需进一步分析。



图 3 162 Da 中性丢失预测结果

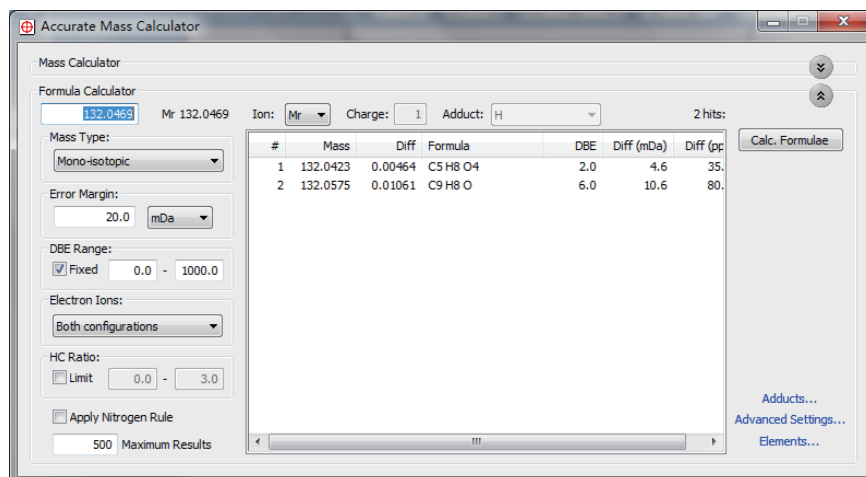


图 4 132 Da 中性丢失预测结果

根据上述分析结果并结合多级质谱数据，对蓝莓提取物中的花色苷成分进行分析，得到如表 3 所示的分析结果。

表 3 12 个化合物正离子模式多级质谱数据及预测结果

#	保留时间 (min)	分子式	MS ¹	MS ²	MS ³	可能的结果
1	5.35	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465.1013	303.0476	257.0391	飞燕草色素六碳糖苷
2	6.61	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.1074	287.0528	213.0525	矢车菊色素六碳糖苷
3	7.30	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	479.1174	317.0617	302.0415	牵牛花色素六碳糖苷
4	8.10	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	419.0967	287.0504	213.0427	矢车菊色素五碳糖苷
5	8.79	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.1074	317.0616	302.0396	牵牛花色素五碳糖苷
6	9.36	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	493.1323	331.0768	299.0561	锦葵色素六碳糖苷
7	9.72	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.0486	257.0421	-	飞燕草色素
8	10.96	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463.1230	331.0770	299.0563	锦葵色素五碳糖苷
9	12.59	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0545	213.0534	-	矢车菊色素
10	13.17	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	317.0647	302.0401	-	牵牛花色素
11	17.94	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.0713	286.0489	-	芍药色素
12	18.56	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	331.0797	299.0547	-	锦葵色素

结论

使用 LCMS-IT-TOF 对蓝莓提取物进行分析, 对其中的花色素以及花色苷成分进行分析, 得到相应的预测结果, 为未知花色素及花色苷的鉴别分析提供有力的依据。