

紫薯花青苷定性分析及其主要花青苷的制备与抗氧化活性研究

韩豪^{1*}, 刘明慧², 赵洋洋¹, 刘洛乐¹, 陈志远¹, 祁珊珊³, 梁引库¹

1(陕西理工大学, 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中, 723001) 2(宝鸡市农业科学研究所, 陕西 宝鸡, 721000)

3(陕西理工大学, 维生素 D 生理与应用研究所, 陕西 汉中, 723001)

摘 要 采用超高效液相-三重四级杆质谱仪(UPLC-MS/MS)对紫薯花青苷进行定性分析,共检测出 3 类 12 种花青苷,其苷元分别为飞燕草素、矢车菊素和芍药素,其中芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷含量最高,分别采用 AB-8 大孔树脂、聚酰胺和葡聚糖凝胶层析柱对其进行分离纯化,纯化后纯度可达 98%。并分别采用福林酚试剂法和测定清除 DPPH 自由基活性的方法,评价其抗氧化活性。可得出结论,芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷的抗氧化活性与其含量成正相关,相同苷元的酰基花青苷的活性高于非酰基花青苷,咖啡酸和对羟基苯甲酸可显著提高花青苷的抗氧化活性。该研究可为紫薯花青苷定性、分离纯化和活性研究奠定了基础。

关键词 紫薯;花青苷;定性分析;分离纯化;抗氧化活性

紫薯因富含花青苷而呈现紫色,花青苷不但具有鲜艳的色泽,还具有抗氧化、抗癌和抗炎等生物学活性^[1-4]。自然界中花青苷主要有 6 大类 500 多种,基本结构为 3,5,7-三羟基-2-苯基并吡喃,化学性质不稳定,A 环上 3,5 碳位易与酚羟基、有机酸或糖形成醚键、苷键或发生酰基化反应,成苷的糖类主要有葡萄糖、半乳糖和鼠李糖等单糖,还有芸香糖和槐糖等二糖类,有机酸通过糖的酯酰结合形式存在,酰基化最常见的酸为咖啡酸、对羟基苯甲酸、芥子酸、阿魏酸和丙二酸等^[5-9]。

据文献报道,紫薯花青苷有矢车菊素、芍药素和天竺葵素三类,主要为酰基花青苷^[10-12]。紫薯花青苷的主要纯化方法有溶剂萃取法、超滤法、大孔树脂柱层析法和制备液相法^[13-16],前 3 种方法难以获得高纯度花青苷,制备液相法可以获得高纯度的花青苷,但是产量太低,加工成本较高,无法满足花青苷生物活性的研究。由于紫薯花青苷种类较多,且纯化技术不成熟,标准品较少,尤其是酰基花青苷标准品,从而制约了酰基花青苷的结构鉴定、以及酰基花青苷生物活性和药理学研究,使得紫薯花青苷的研究主要以粗提物为主^[17-20]。

本研究拟采用超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用技术对紫薯花青苷进行定性分析,并筛选

出一套高效、低成本和污染小的纯化技术对紫薯主要花青苷进行分离纯化,并初步对其进行抗氧化活性评价。以期为解决酰基花青苷单体的定性、生物活性和药代动力学研究的瓶颈问题提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 材料

紫薯(秦紫薯 1 号),杨凌金薯种业有限公司。维生素 C(Vc)、矢车菊素-3-葡萄糖苷(Cy-3-glu)、飞燕草素-3-葡萄糖苷(Dp-3-glu)和芍药素-3-葡萄糖苷(Pn-3-glu)标准品,标准品的含量均 $\geq 98\%$,Sigma 公司。

1.1.2 主要试剂

色谱纯甲酸、乙腈和甲醇,霍尼韦尔公司;福林酚和 DPPH,上海源叶生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器

ACQUITY TQD 超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪,美国 waters;玻璃层析柱,江苏三爱斯科学仪器有限公司;UV2550 紫外可见分光光度计,日本岛津仪器有限公司;IKA 旋转蒸发仪,德国艾卡公司。

1.2 实验方法

1.2.1 紫薯花青苷粗提物的制备

将 1 kg 新鲜紫薯去皮后,切成厚度 2~4 mm,于 45℃下鼓风干燥,粉碎后过筛 40 目分子筛,得到 120 g 紫薯粉,加入体积分数 60% 乙醇溶液 1 000 mL,常

第一作者:硕士,讲师(本文通讯作者,E-mail:hanhao183@126.com)。

基金项目:陕西省教育厅专项项目(17JK0141)

收稿日期:2018-11-21,改回日期:2019-02-08

温超声提取 60 min,重复操作 2 次,合并所得上清液,离心,用旋转蒸发仪,将上清液浓缩至小体积,采用低温冷冻干燥后,得到紫薯花青苷粗提物 21.6 g,放置于 -18°C 保存,备用。

1.2.2 定性和定量方法

UPLC-MS/MS 的色谱和质谱参数,采用文献 [21] 中色谱和质谱参数。

准确称取 5 mg 冻干的样品,用体积分数 6% 甲酸水溶液溶解,并定容于 25 mL 的容量瓶中,再用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 的针头过滤器过滤,于 UPLC-MS/MS 测定。

采用超高效液相色谱柱分离,在 530 nm 处检测,质谱中的全扫描、多反应检测模式、子离子扫描和母离子扫描等扫描方式,确定待测物的质荷比、准分子离子和特征碎片离子,再与文献比对,从而对样品进行初步的定性分析。

以芍药素-3-葡萄糖苷为标准品,采用外标法对不同柱层析方法纯化后的样品进行定量分析。准确称取 9.60 mg 的芍药素-3-葡萄糖苷标准品,用 6% 甲酸水溶液定容于 25 mL 的容量瓶,得到 $384\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的标准母液,将该溶液经过逐级稀释,可得到质量浓度 19.2、38.4、57.6、76.8 和 $96\text{ }\mu\text{g/mL}$ 芍药素-3-葡萄糖苷标准溶液,采用 UPLC-MS/MS 检测。

1.2.3 紫薯中主要花青苷的制备

称取紫薯花青苷粗提物 100 mg,置于活化后的 AB-8 大孔树脂柱上,分别用 2 000 mL 纯水、800 mL 20% 乙醇、800 mL 40% 乙醇和 500 mL 60% 乙醇洗脱,收集 40% 乙醇和 60% 乙醇洗脱的溶液,浓缩后,采用低温冷冻干燥后,命名为 AB-8-1;再采用聚酰胺玻璃层析柱对其进行纯化,用 2 000 mL 无水乙醇溶液、1 000 mL 80% 乙醇溶液洗脱,收集 80% 乙醇的部分洗脱液,浓缩并冷冻干燥后,命名为 PA-1;最后采用葡聚糖凝胶玻璃层析柱进一步纯化后,命名为 Sep-1。采用 UPLC-MS/MS 对其进行定性和定量分析。

1.2.4 紫薯花青苷的抗氧化活性检测

1.2.4.1 还原能力检测

分别称取紫薯花青苷粗提物、AB-8-1、Sep-1 和芍药素-3-葡萄糖苷各 5 mg 置于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容至 10 mL。分别量取 $800\text{ }\mu\text{L}$ 样品溶液和甲醇(空白)于比色管中,并加入 3 mL 稀释 10 倍的福林酚试剂和 3 mL 60 g/L NaHCO_3 溶液混合。在 35°C 水浴 90 min 后,在 750 nm 处使用紫外可见分光光度计检测吸光度。

1.2.4.2 清除 DPPH 自由基活性检测

DPPH 乙醇溶液配制:取 0.020 g DPPH 溶于无水乙醇中,定容至 250 mL,避光保存。

分别称取紫薯花青苷粗提物、AB-8-1、Sep-1、芍药素-3-葡萄糖苷和维生素 C 各 5 mg,以体积分数 50% 的乙醇为溶剂,溶解并定容于 50 mL 容量瓶中。分别取编号为 1、2、3 三只试管,向 1 号管中加入 3 mL 50% 的乙醇溶液和 3 mL DPPH 乙醇溶液,命名为 A_1 ,向 2 号管中加入 3 mL 样品溶液和 3 mL 无水乙醇溶液,命名为 A_2 ,3 号管中加入 3 mL 样品溶液和 3 mL DPPH 乙醇溶液,命名为 A_3 ,摇匀后,避光放置 30 min,在 517 nm 下测定吸光值。做 3 个平行样,计算平均值和标准偏差。DPPH 自由基清除率的计算见公式(1):

$$\text{DPPH 自由基的清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_3 - A_2}{A_1}\right) \times 100 \quad (1)$$

2 结果与分析

2.1 紫薯花青苷的主要成分分析

通过超高效液相色谱柱对紫薯花青苷粗提液进行分离,并用 PDA 检测器在 530 nm 处进行测定,可得其主要花青苷有 12 种,如图 1 所示。

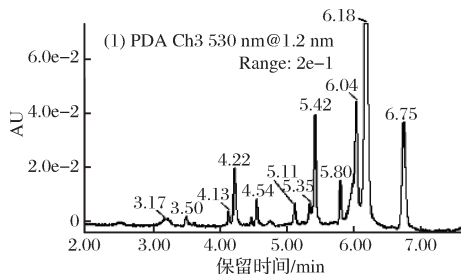


图1 紫薯花青苷粗提物色谱图

Fig. 1 Chromatography of anthocyanins in purple sweet potato crude extracts

以矢车菊素类 m/z 287 的特征离子峰,进行母离子扫描,结合 530 nm 处检测到的色谱图,得到 5 个矢车菊素类花青苷,保留时间分别为 3.50 min (m/z 449)、4.54 min (m/z 949)、5.35 min (m/z 935)、5.42 min (m/z 1055) 和 5.80 min (m/z 1111)。准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 449,特征碎片离子峰 m/z 287,通过标准品比对准定性该化合物为矢车菊素-3-葡萄糖苷。

准分子离子 m/z 949,特征碎片离子峰 m/z 787、 m/z 449 和 m/z 287。碎片离子 m/z 787, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖;碎片离子 m/z 449, $[M-(176+324)]^+$ 即丢失了 1 个阿魏酰-槐糖苷;碎片离子 m/z

287, $[M-(176+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的阿魏酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为矢车菊素-3-(阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 m/z 935, 特征碎片离子峰 m/z 773、 m/z 449 和 m/z 287。碎片离子 m/z 773, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 449, $[M-(162+324)]^+$ 即丢失了 1 个咖啡酰-槐糖苷; 碎片离子 287, $[M-(162+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的咖啡酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为矢车菊素-3-(咖啡酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 m/z 1 055, 特征碎片离子峰 m/z 893、 m/z 449 和 m/z 287。碎片离子 m/z 893, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 m/z 449, $[M-(162+120+324)]^+$ 即丢失了 1 个咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷; 碎片离子 m/z 287, $[M-(162+120+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为矢车菊素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 m/z 1 111, 特征碎片离子峰 m/z 949、 m/z 449 和 m/z 287。碎片离子 m/z 949, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖苷; 碎片离子 m/z 449, $[M-(162+176+324)]^+$ 即丢失了咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷; 碎片离子 m/z 287, $[M-(162+176+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖苷。推测其结构为矢车菊素-3-(咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

以芍药素类 m/z 301 的特征离子峰, 进行母离子扫描, 结合 530 nm 处检测到的色谱图, 得到芍药素类花青苷 6 个, 保留时间分别为 4.13 min (m/z 463)、4.22 min (m/z 907)、5.11 min (m/z 963)、6.04 min (m/z 949)、6.18 min (m/z 1069) 和 6.75 min (m/z 1125)。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 463, 特征碎片离子峰 m/z 301, 通过标准品比准确定性该化合物为芍药素-3-葡萄糖苷。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 907, 特征碎片离子峰 m/z 745、 m/z 463、 m/z 301, 碎片离子 m/z 745, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 463, $[M-(120+324)]^+$ 即丢失了 1 个对-羟基苯甲酰-槐糖苷; 碎片离子 301, $[M-(120+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的对-羟基苯甲酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。

推测其结构为芍药素-3-(对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 963, 特征碎片离子峰 m/z 801、 m/z 463、 m/z 301, 碎片离子 m/z 801, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 463, $[M-(176+324)]^+$ 即丢失了 1 个阿魏酰-槐糖苷; 碎片离子 301, $[M-(176+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的阿魏酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖, 推测其结构为芍药素-3-(阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 949, 特征碎片离子峰 m/z 787、 m/z 463、 m/z 301, 碎片离子 m/z 787, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 m/z 463, $[M-(162+324)]^+$ 即丢失了 1 个咖啡酰-槐糖苷; 碎片离子 m/z 301, $[M-(162+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的咖啡酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为芍药素-3-(咖啡酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 1 069, 特征碎片离子峰 m/z 907、 m/z 463、 m/z 301, 碎片离子 m/z 907, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 463, $[M-(120+162+324)]^+$ 即丢失了 1 个咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷; 碎片离子 m/z 301, $[M-(120+162+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷 (Pn-3-[caf-(p-cou)-sop]-5-glu)。

准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 1 125, 特征碎片离子峰 m/z 963、 m/z 463、 m/z 301, 碎片离子 m/z 963, $[M-162]^+$ 即丢失了 1 个葡萄糖; 碎片离子 m/z 463, $[M-(162+176+324)]^+$ 即丢失了 1 个咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷; 碎片离子 m/z 301, $[M-(162+176+324)-162]^+$ 即丢失了 1 个 3 号位的咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷和 1 个 5 号位葡萄糖。推测其结构为芍药素-3-(咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。

以飞燕草素类 m/z 303 的特征离子峰, 进行母离子扫描, 结合 530 nm 处检测到的色谱图, 得到 1 个飞燕草素类花青苷, 保留时间分别为 3.17 min。从其对应质谱图, 得到准分子离子 $[M]^+$ 为 m/z 465, 特征碎片离子峰 m/z 303, 通过标准品比对, 可得该化合物为飞燕草素-3-葡萄糖苷。

综上所述, 经检测, 紫薯中共含 3 类 12 种花青苷类物质, 如表 1 所示。

表 1 紫薯花青苷的定性结果

Table 1 Qualitative results of anthocyaninsin purple sweet potato

序号	保留时间/ min	化合物名称	准分子离子 (<i>m/z</i>)	碎片离子 (<i>m/z</i>)	参考文献
1	3.17	飞燕草素-3-葡萄糖苷	465	303	标准品准确定性
2	3.50	矢车菊素-3-葡萄糖苷	449	287	标准品准确定性
3	4.13	芍药素-3-葡萄糖苷	463	301	标准品准确定性
4	4.22	芍药素-3-(对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	907	745/463/301	[10-11]
5	4.54	矢车菊素-3-(阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	949	787/449/287	[10-11]
6	5.11	芍药素-3-(阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	963	801/463/301	[10-11]
7	5.35	矢车菊素-3-(咖啡酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	935	773/449/287	[10-11]
8	5.42	矢车菊素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	1 055	893/449/287	[10-11]
9	5.80	矢车菊素-3-(咖啡酰-阿魏酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	1 111	949/449/287	[10-12]
10	6.04	芍药素-3-(咖啡酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	949	787/463/301	[10-11]
11	6.18	芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	1 069	907/463/301	[10-12]
12	6.75	芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷	1 125	963/463/301	[10-12]

2.2 紫薯中主要花青苷的纯化

通过对紫薯花青苷的定性分析,紫薯主要花青苷的保留时间为 6.18 min,经过初步定性分析为芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷。以芍药素-3-葡萄糖苷浓度为横坐标,峰面积为纵坐标拟合标准工作曲线,回归方程 $Y = 7.381\ 1X - 178.5$ ($R^2 = 0.999\ 86$)。通过计算可得紫薯花青苷粗提液、AB-8-1 和 Sep-1 中芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷的含量分别为 38.9%、83.1% 和 98%。

2.3 紫薯主要花青苷抗氧化活性

由表 2 可知,芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷含量 38.9%、83.1% 和 98% 的 3 个样品,其还原力分别为 0.256、0.402 和 0.611,芍药素-3-葡萄糖苷和 Vc 的还原能力为 0.485 和 0.633。清除 DPPH 自由基能力分别为 9.54%、34.2% 和 74.9%,芍药素-3-葡萄糖苷和 Vc 清除 DPPH 自由基能力分别为 45.5% 和 77.4%。还原力和清除 DPPH 自由基能力与芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷含量呈正相关,因此可初步判定紫薯主要抗氧化成分为花青苷类化合物。相同含量的芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷和芍药素-3-葡萄糖苷的抗氧化活性比对,得到相同苷元的酰基花青苷的活性高于非酰基花青苷,可见咖啡酸和对羟基苯甲酸有提高其酰基花青苷抗氧化活性的作用,且芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷的还原力和清除 DPPH 自由基能力接近 Vc,可见该化合物具有较高的抗氧化活性。

表 2 不同含量花青苷的抗氧化活性

Table 2 Antioxidant activity of anthocyanins in different contents

样品	Pn-3-[caf-(p-cou)-sop]-5-glu 含量/%	还原能力 吸光度	清除 DPPH 自由基清除率/%
紫薯花青苷粗提物	38.9	0.256 ± 0.012	9.54 ± 0.03
AB-8-1	83.1	0.402 ± 0.019	34.2 ± 0.04
Sep-1	98	0.611 ± 0.023	74.9 ± 0.04
Pn-3-glu	98	0.485 ± 0.011	45.5 ± 0.06
Vc	98	0.633 ± 0.021	77.4 ± 0.03

3 结论

本实验从紫薯中检测出 3 类 12 种花青苷类物质,其苷元分别为飞燕草素、矢车菊素和芍药素,其中飞燕草素类花青苷未见报道,在秦紫薯 1 号中未检出天竺葵素类花青苷^[10-12]。飞燕草素-3-葡萄糖苷、矢车菊素-3-葡萄糖苷和芍药素-3-葡萄糖苷通过标准品准确定性分析,其余 9 种为酰基花青苷,葡萄糖、槐糖是主要糖苷,阿魏酸、对-羟基苯甲酸和咖啡酸 3 种有机酸与槐糖发生酰基化反应。

经过柱层析法,AB-8 大孔树脂、聚酰胺和葡聚糖凝胶 3 种填料连用方法对紫薯中主要花青苷进行纯化,芍药素-3-(咖啡酰-对羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷经纯化后含量可达 98%。本实验所采用的大孔树脂、聚酰胺、葡聚糖凝胶联用技术纯化花青苷类化合物,具有含量高、成本低和污染小的特点。

采用福林酚试剂法和清除 DPPH 自由基法,对比研究了不同层析填料纯化后花青苷的抗氧化活性,结果表明,紫薯样品中芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲

酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷的纯度与抗氧化活性呈正相关,表明紫薯样品的抗氧化活性主要是紫薯花青苷在起作用。相同含量的芍药素-3-(咖啡酰-对-羟基苯甲酰-槐糖苷)-5-葡萄糖苷和芍药素-3-葡萄糖苷的抗氧化活性比对,得到相同苷元的酰基花青苷的活性高于非酰基花青苷,可见咖啡酸和对羟基苯甲酸有提高其酰基花青苷的抗氧化活性的作用。由于紫薯花青素具有多个酚羟基,且含有多个酰化基团,酰基化花青素结构中的孤对电子可以作为氢供体,因而具有清除活性氧自由基的能力,从而表现出较强的抗氧化性能^[17-20]。糖苷键有利于提高花青苷的稳定性,酰基花青苷与非酰基花青苷相比具有结构稳定,抗氧化活性强的特点^[22-26],紫薯花青苷主要为酰基花青苷,因此在食品加工和保健品领域具有广泛的开发和应用前景。

参 考 文 献

- [1] LIW L, YU H Y, ZHANG X J, et al. Purple sweet potato anthocyanin exerts antitumor effect in bladder cancer [J]. *Curr Oncol Rep*, 2018, 40(1): 73–82.
- [2] LI J, SHI Z, MI Y. Purple sweet potato color attenuates high fat-induced neuroinflammation in mouse brain by inhibiting MAPK and NF- κ B activation [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 4 823–4 831.
- [3] CAI Z, SONG L, QIAN B, et al. Understanding the effect of anthocyanins extracted from purple sweet potatoes on alcohol-induced liver injury in mice [J]. *Food Chem*, 2018, 245: 263–470.
- [4] ZHANG Z F, LU JUN, ZHENG Y L, et al. Purple sweet potato color attenuates hepatic insulin resistance via blocking oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in high-fat-diet-treated mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24: 1 008–1 018.
- [5] ZHANG X, YANG Y, WU Z, et al. The modulatory effect of anthocyanins from purple sweet potato on human intestinal microbiota *in vitro* [J]. *J Agr Food Chem*, 2016, 64: 2 582–2 590.
- [6] HU J T, CHEN G P, ZHANG Y J, et al. Anthocyanin composition and expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in kidney bean pod [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2015, 97: 304–312.
- [7] KARAKAYA S, SIMSEK S, EKER A T, et al. Stability and bioaccessibility of anthocyanins in bakery products enriched with anthocyanins [J]. *Food Funct*, 2016, 7(8): 34–37.
- [8] KAHKONEN M P, HEINONEN M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons [J]. *J Agr Food Chem*, 2003, 51(4): 628–633.
- [9] ALI H M, ALMAGRIBI W, ALRASHIDI M N, et al. Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structureactivity relationship and synthesis [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 1 275–1 282.
- [10] LEEM J, PARK J S, CHOI D S, et al. Characterization and quantitation of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes cultivated in Korea by HPLC-DAD and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS [J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61: 3 148–3 158.
- [11] HE W, ZENG M M, CHEN J, et al. Identification and quantitation of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes cultivated in China by UPLC-PDA and UPLC-QTOF-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2016, 64: 171–177.
- [12] ZHAO J G, YAN Q Q, XUE R Y, et al. Isolation and identification of colourless caffeoyl compounds in purple sweet potato by HPLC-DAD-ESI/MS and their antioxidant activities [J]. *Food Chem*, 2014, 161: 22–26.
- [13] JULIA M, ENRIQUE J, DÍAZ M, et al. Recovery of anthocyanins using membrane technologies: A review [J]. *Cri Rev Anal Chem*, 2018, 48(3): 143–175.
- [14] CRISTIN T, HORTON D, SAM A, et al. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 881: 403–410.
- [15] ZHU Z Z, LIU Y, GUAN Q Y, et al. Purification of purple sweet potato extract by dead-end filtration and investigation of membrane fouling mechanism [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2015, 8: 1 680–1 689.
- [16] JARI H, HENGAMEH F, ANSSI V, et al. Extraction and purification of anthocyanins from purple-fleshed potato [J]. *Food Bioprod Pr*, 2016, 99: 136–146.
- [17] HU, Y J, DENG L Q, CHEN J W, et al. An analytical pipeline to compare and characterise the anthocyanin antioxidant activities of purple sweet potato cultivars [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 46–54.
- [18] KANO M, TAKAYANAGI T, HARADA K, et al. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2005, 69(5): 979–988.
- [19] REYES L F, MILLER J C, CISNEROS-ZEVALLOS L, et al. Antioxidant capacity, anthocyanins and total phenolics in purple-and red-fleshed potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes [J]. *Food Chem*, 2005, 82: 271–277.
- [20] PAULA A C, LUTFIYE E, RYAN C, et al. Pre-heating

- and polyphenol oxidase inhibition impact on extraction of purple sweet potato anthocyanins[J]. Food Chem, 2015, 180: 227–234.
- [21] 刘彩芬, 秦公伟, 韩豪, 等. UPLC-MS/MS 分析不同品种蓝莓中的花青苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 62–68.
- [22] ZHAO C L, CHEN Z J, BAI X S, et al. Structure-activity relationships of anthocyanidin glycosylation [J]. Mol Divers, 2014, 18(3): 687–700.
- [23] HUSSEIN M A, WAFAR A, MONA N A, et al. Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structure-activity relationship and synthesis[J]. Food Chem, 2016, 194: 1 275–1 279.
- [24] DA SILVA P F, PAULO L, BARBAFINA A, et al. Photoprotection and the photophysics of acylated anthocyanins [J]. Chem, 2012, 18(12): 3 736–3 744.
- [25] JUDIT R H, ANDREA N, ERIKA F, et al. Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.) [J]. Food Chem, 2016, 194: 222–229.
- [26] NOBUHIRO S, YUZO N, YOSHIHIRO O, et al. The role of acyl-glucose in anthocyanin modifications [J]. Molecules, 2014, 19(11): 18 747–18 766.

Qualitative analysis, isolation and antioxidant activity of anthocyanins in purple sweet potato

HAN Hao^{1*}, LIU Minghui², ZHAO Yangyang¹, LIU Luole¹,
CHEN Zhiyuan¹, QI Shanshan³, LIANG Yinku¹

1 (Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resources, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

2 (Baoji Institute of Agricultural Sciences, Baoji 721000, China)

3 (Vitamin D Research Institute, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

ABSTRACT Ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to identify and analyze chemical structures of anthocyanins in purple sweet potato. There were 12 types of anthocyanins detected and could be divided into three main categories: cyanidins, peonidins, and delphinidins. Peonidin-3-(caffeoyl-p-hydroxybenzoyl-sophoroside)-5-glucoside was the major component, which was then isolated and purified by AB-8 macroporous resin, polyamide and dextran gel column, and the purity was up to 98%. Moreover, the antioxidant activity of the purified peonidin-3-(caffeoyl-p-hydroxybenzoyl-sophoroside)-5-glucoside was determined by folin-phenol reagent method and its scavenging effect on DPPH free radicals. The results showed that its antioxidant activity was positively dose-dependent, and acyl anthocyanins had higher activity than non-acyl anthocyanins with the same aglycone, which may be due to the presence of caffeic acid and p-hydroxybenzoic acid in their structures. Overall, this research lays a foundation for qualitative analysis, isolation and studying antioxidant activities of anthocyanins in purple sweet potato.

Key words purple sweet potato; anthocyanins; qualitative analysis; isolation and purification; antioxidant activity