

可食牡丹鲜花酶法制汁及主成分 HPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

向进乐^{1,3},赵胜娟^{1,3},马丽苹¹,金文刚²,费鹏^{1,3},樊金玲¹,朱文学^{1*}

1(河南科技大学 食品与生物工程学院,河南 洛阳,471023) 2(陕西理工大学 生工学院,陕西 汉中,723001)

3(河南省食品原料工程技术研究中心,河南 洛阳,471023)

摘 要 以“凤丹”牡丹鲜花为原料,研究酶处理制备牡丹鲜花汁工艺;采用高效液相色谱与四极杆飞行时间串联质谱(high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, HPLC-Q-TOF-MS-MS)联用技术分析牡丹鲜花汁中化学物质。结果表明,由果胶酶、纤维素酶和木瓜蛋白酶组成的复合酶制剂(质量比 1:2:1)能提高牡丹鲜花出汁率,达 22.3%。复合酶处理的条件为:酶添加量 0.15% (质量分数),酶解温度 50 ℃,酶解时间 90 min。鉴定了牡丹鲜花汁中的 20 个主要成分,包括 3 个有机酸、8 个酚酸、7 个黄酮以及 2 个单萜糖苷。酚酸和黄酮苷是牡丹鲜花汁中主要活性成分,主要以没食子酸、没食子酰葡萄糖、没食子酰单宁、芹菜素葡萄糖苷、芹菜素新橘皮糖苷和山奈酚二葡萄糖苷等形式存在。研究结果为牡丹鲜花制汁方法以及牡丹鲜花液态功能食品开发提供理论依据。

关键词 牡丹鲜花;复合酶法;制汁;没食子酸衍生物;黄酮苷

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)为毛茛科芍药属木本植物,有“花中之王”的美誉,分布于我国大部分地区,在洛阳、菏泽、彭州等地有大量种植^[1]。除作为重要的观赏植物,牡丹花还有很高的食用价值^[2-3]。研究人员通过大鼠亚慢性毒性试验^[4]和小鼠急性毒性试验^[5]证实了牡丹花的食用安全性。“凤丹”牡丹花于 2013 年经国家卫计委批准,正式成为新食品原料^[6],也是目前唯一被批准的花朵可食的牡丹品种。可食牡丹花营养丰富,包括糖分、有机酸、维生素和矿物质等,还含有酚酸、没食子单宁、黄酮、多糖等多种生物活性成分^[2,5,7-9]。牡丹花营养和保健食品的开发是延伸牡丹产业链的重要途径之一,已报道的牡丹花食品包括牡丹花茶、牡丹鲜花饼、牡丹花酸奶、牡丹花营养酒、牡丹花饮料、牡丹花脯等^[7,10]。

牡丹花的色系、品种繁多,较常作为药用,其药用成分的分析与鉴定的报道较多,鉴定的主要小分子活性成分有四类:(1)没食子酸及其衍生物,包括没食子酸、没食子酸甲酯、没食子酰葡萄糖苷、没食子单宁等^[9,11-13];(2)黄酮糖苷类,包括槲皮素糖苷、山奈酚糖苷、芹菜素糖苷、异鼠李亭糖苷、金圣草素糖苷等^[9,13-16];(3)花色苷类,包括矢车菊糖苷、天竺葵糖

苷、芍药花青苷等^[9,16-17];(4)单萜糖苷类,包括芍药苷、乙酰芍药苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、牡丹皮苷等^[11-13]。

“凤丹”牡丹属于白色系牡丹花,不含花色素^[9],具有食用安全性^[6]。闫慧娇等^[18]分离鉴定了“凤丹”花瓣中的 1 个黄酮类化合物(kaempferol-3,7-di-O-β-D-glucopyranoside),2 个没食子酸鞣质,分别为 1-O-galloyl-β-D-glucose 和 1,2,3,4,6-trigalloyl-β-D-glucose。付磊^[19]也报道了“凤丹”牡丹花的总酚、总黄酮含量以及抗氧化活性。但目前对可食用的“凤丹”牡丹花及其鲜花汁中的主要有机酸、多酚物质以及萜类等成分的系统鉴定的研究报道较少。

本研究以“凤丹”牡丹鲜花为原料,通过酶法提高牡丹鲜花出汁率,可为牡丹花液态食品开发提供生产基料。采用高效液相色谱与四极杆飞行时间串联质谱(high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, HPLC-Q-TOF-MS-MS)联用技术分析可食牡丹鲜花汁中主要化学物质,以期可为可食牡丹花保健食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“凤丹”牡丹鲜花:采摘于河南科技大学牡丹园;果胶酶(20 U/mg)、纤维素酶(30 U/mg)、木瓜蛋白酶(50 U/mg):上海蓝季科技发展有限公司;Folin-Ciocal-

第一作者:博士,副教授(朱文学副教授为通讯作者,E-mail:zwx@haust.edu.cn)。

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:172102110019);河南省高校科技创新团队计划(编号:17IRTSTHN016)

收稿日期:2019-05-14,改回日期:2019-06-18

teu 试剂;上海荔达生物科技有限公司;没食子酸、没食子酸甲酯标准品、甲酸、色谱甲醇;Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

HWS-26 恒温水浴锅、恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司;台式离心机,湖南湘仪离心机仪器有限公司;打浆机,九阳卫厨有限公司;UV-2350 型紫外分光光度计,上海优尼科;Waters 2695 高效液相色谱仪(连接有二元泵、微型真空脱气机、自动进样器 717 plus、柱温箱、PDA 检测器、Q-TOF -MS 质谱检测器),美国 Waters 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 牡丹鲜花制汁工艺

工艺流程:

牡丹鲜花→清洗→蒸汽处理→加水破碎→酶解处理→榨汁→牡丹鲜花汁→离心→分析测定

技术要点:

牡丹鲜花清洗、沥干、蒸汽杀青处理 1 min,冷却备用;杀青后的牡丹花按原料:水 = 1:4 (质量比),加入纯水破碎打浆;牡丹花浆加入酶制剂进行处理,然后压榨取汁。

1.3.2 牡丹鲜花浆酶解工艺

(1)酶制剂的筛选:按牡丹鲜花浆液质量分别加入 0.1% (质量分数)的果胶酶、纤维素酶和木瓜蛋白酶,在 40 ℃ 水浴酶解 120 min 后压榨取汁,以空白(未进行酶水解)为对照,计算牡丹鲜花出汁率、测定牡丹鲜花汁总酚含量。

(2)酶制剂的配比:果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶按照 1:1:1,1:2:1,1:3:1,2:2:1 的质量比形成复合酶制剂,按总酶用量 0.1% (质量分数)加入牡丹花浆液,在 40 ℃ 水浴酶解 120 min,压榨取汁,计算出汁率。

(3)酶解温度:加入 0.1% (质量分数)的复合酶制剂,分别在 30、40、50、60 ℃ 水浴酶解 120 min,压榨取汁。

(4)复合酶制剂的加入量:将优化后的组合酶制剂分别加入不同量 0.1% ,0.15% ,0.2% ,0.25% (质量分数)的复合酶制剂,50 ℃ 水浴酶解 120 min,压榨取汁。

(5)酶解时间:添加 0.15% (质量分数)的复合酶制剂,50 ℃ 水浴酶解 30,60,90,120 min,压榨取汁,计算出汁率。

1.3.3 出汁率的计算

牡丹鲜花出汁率的计算参考向进乐等^[20]的方法,按照公式(1)计算:

$$\text{出汁率} / \% = \frac{\text{汁液质量}}{\text{鲜花质量} + \text{加水质量}} \times 100$$

(1)

1.3.4 总酚含量测定

牡丹鲜花汁总酚采用 Folin-Ciocalteu 比色法^[21]测定,以没食子酸作标准曲线,线性回归方程为 $y = 0.232\ 9x - 0.007\ 2$ ($R^2 = 0.996\ 3$)。总酚含量以没食子酸计 (mg/L)。

1.3.5 HPLC 色谱条件

Gemini 5 μ m C₁₈ 110A 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm Phenomenex, 美国)。柱温 35 ℃,进样量 10 μ L,流速 0.9 mL/min,分析时间 70 min,二极管阵列检测器 (DAD)在 210 ~ 600 nm 扫描。二元梯度洗脱液:流动相 A (0.1% 的甲酸水溶液),流动相 B (含 0.1% 甲酸的色谱甲醇),洗脱程序如表 1 所示。

表 1 二元梯度洗脱程序^[22]

Table 1 Binary gradient elution program		
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	96	4
18	82	18
35	70	30
58	58	42
70	40	60

1.3.6 质谱条件^[22]

飞行时间质谱 (Q-TOF-MS) 采用负离子模式 (ESI⁻),一级质谱扫描范围 100 ~ 1 500 m/z ,分辨率 5 000。全质谱扫描条件:毛细管电压 1.45 kV,锥孔电压 30 V;锥孔气体 (He) 和去溶剂化气体 (N₂) 流速分别设定为 45 L/h,900 L/h。离子化温度 120 ℃,去溶剂化温度 250 ℃。二级质谱碰撞能量设定为 20,30,45 V,获取 MS/MS 图。

1.3.7 统计分析

采用 DPS 6.55 进行数据处理,实验重复 3 次,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性差异以不同字母表示 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 牡丹鲜花酶处理制汁工艺优化

2.1.1 酶制剂的选择

酶处理能显著提高果蔬汁、茶汁等液态食品の出汁率、澄清度、营养和功能成分以及香气,在液态食品加工中有非常广泛的用途^[23-25]。常用的酶制剂主要是果胶酶、纤维素酶、蛋白酶、单宁酶以及 β -葡萄糖苷酶等^[23,26]。牡丹鲜花杀青后打浆,分别添加 0.1% (质量分数)的果胶酶、纤维素酶、木瓜蛋白酶,40 ℃

酶解 120 min,压榨取汁。计算出汁率,测定牡丹鲜花汁总酚含量。不同酶制剂对牡丹花出汁率和总酚含量的影响结果如表 2 所示。

表 2 不同酶制剂对牡丹花出汁率和总酚含量的影响

Table 2 Effects of different enzymes treatment on yield and total phenol content of peony juice

酶制剂	出汁率/%	总酚/(mg·L ⁻¹)
空白对照	61.4 ± 3.5 ^a	326.1 ± 18.0 ^a
果胶酶	67.1 ± 5.6 ^{bc}	311.7 ± 19.5 ^a
纤维素酶	71.5 ± 4.8 ^c	309.3 ± 14.8 ^a
木瓜蛋白酶	65.8 ± 3.8 ^b	318.2 ± 16.6 ^a

注:a,b,c 不同字母表示差异显著性($P < 0.05$)。下同。

由表 2 可以看出,3 种酶制剂均能显著提高牡丹鲜花出汁率,而总酚浓度差异变化不显著。由于牡丹鲜花汁液产量显著增加,说明酶处理能提高牡丹花酚类物质的得率。纤维素酶处理后牡丹鲜花出汁率最高。

2.1.2 酶制剂的复配

复合酶制剂的应用往往能起到协同效果,提高出汁率和产品质量^[23,25,27]。本研究从提高出汁率、减少沉淀、提高牡丹花鲜汁的稳定性,并一定程度上改善牡丹花鲜汁的风味品质等方面,研究了纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶复配制剂处理对牡丹花浆的影响。由表 2 可知,纤维素酶有更好的效果,故在复合酶配比时适当增大纤维素酶的比例,加酶质量为浆液质量的 0.1%。

复合酶制剂不同配比对出汁率的影响如图 1 所示。可以看出,果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶(质量比)为 1:2:1 和 2:2:1 出汁率较高。果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶 = 1:2:1(质量比)处理后,相比于未经酶处理,牡丹鲜花出汁率能提高约 20%。故本研究中以该复配比作为复合酶使用。

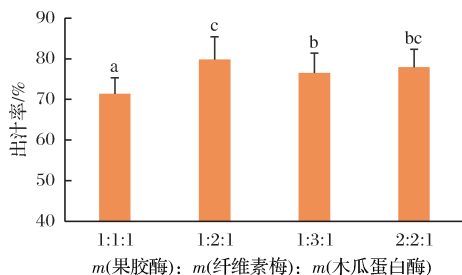


图 1 复合酶制剂不同配比对牡丹花出汁率的影响

Fig.1 Effects of formulations of compound enzyme treatment on yield of peony juice

注:图中不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$)。下同。

2.1.3 复合酶处理温度

酶处理温度对酶制剂的催化活力有显著影响,不同酶制剂以及复合酶制剂的最佳催化能力不同^[27]。以 2.1.2 中优化的果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶 = 1:2:1 的复合酶制剂处理牡丹鲜花浆,不同温度条件复合酶处理对出汁率的影响如图 2。可以看出,30 ~ 60 ℃,相比 30 ℃,较高的酶解温度能显著提高牡丹鲜花出汁率。酶解温度在 50 ℃ 时出汁率最高,其次是 40 ℃,两者无显著差异。

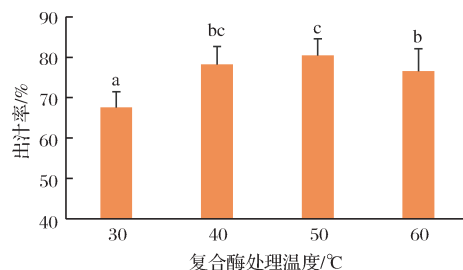


图 2 复合酶处理温度对牡丹花出汁率的影响

Fig.2 Effects of temperature of compound enzyme treatment on yield of peony juice

2.1.4 复合酶的添加量

复合酶添加量(质量分数)从 0.10% 提高 0.25%,随着酶制剂使用量的增加,牡丹花出汁率显著升高,结果如图 3,当加酶量超过 0.15% 后出汁率升高不明显。考虑到加工成本,选择添加复合酶制剂质量分数为 0.15%。

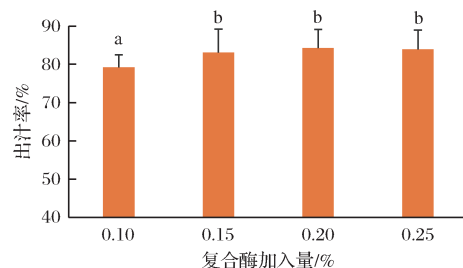


图 3 复合酶制剂添加量对牡丹花出汁率的影响

Fig.3 Effects of amount of compound enzyme on yield of peony juice

2.1.5 复合酶处理时间

复合酶处理时间对牡丹花出汁率的影响如图 4 所示。随着酶制剂酶解时间延长,牡丹花出汁率逐渐升高,具有显著差异。但酶解时间超过 90 min,延长出汁率提高效果不显著。考虑到生产效率,酶解时间宜选用 90 min。经过复合酶处理 90 min,牡丹鲜花出汁率提高 22.3%。

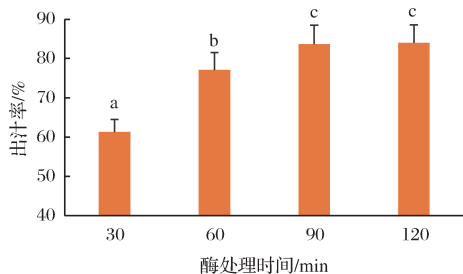


图4 复合酶处理时间对牡丹花出汁率的影响

Fig. 4 Effects of hydrolysis time on yield of peony juice

2.2 牡丹鲜花汁主要成分的 HPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

牡丹花富含多酚、单萜糖苷等功效物质。牡丹鲜花汁液化学组分经高效液相色谱分离、二极管阵列检测器(DAD)扫描,总离子流图(TIC)和基峰图(BPC)如图5所示。飞行时间质谱仪在负离子模式下(TOF-

MS-ESI⁻)扫描结果如图6所示。根据各个组分二级质谱碎片信息以及DAD光谱图,结合标准物质以及文献报道,鉴定了20个主要色谱峰,包括有机酸、酚酸、黄酮和单萜糖苷,鉴定结果如表3所示。

2.2.1 有机酸

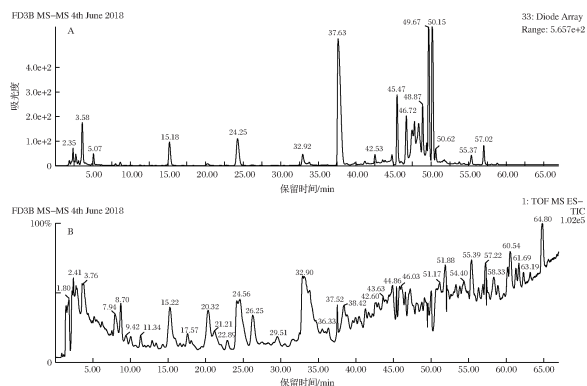
成分1的保留时间最短,根据一级质谱[M-H]⁻ *m/z* 175,DAD显示在265 nm处有最大吸收,结合参考文献^[28],鉴定该成分为抗坏血酸。抗坏血酸是牡丹花中的重要水溶性维生素之一^[3],说明牡丹鲜花榨汁后Vc得到保留。成分2一级质谱[M-H]⁻ *m/z* 133,二级质谱碎片 *m/z* 115[M-H-H₂O]⁻;成分3的一级质谱[M-H]⁻ *m/z* 191,二级质谱碎片 *m/z* 115[M-H-CO₂-2×H₂O]⁻,结合参考文献^[29]可以判断成分2和3分别为苹果酸和柠檬酸。可以看出牡丹鲜花汁主要有机酸为Vc、苹果酸和柠檬酸。

表3 牡丹鲜花汁主要化学成分的质谱信息和鉴定结果

Table 3 MS/MS information and identified phytochemical compounds in peony juice

成分	保留时间/min	[M-H] ⁻ 相对分子质量	最大吸收波长/nm	分子式	碎片离子[M-H] ⁻ (强度)	定性化合物
1	2.35	175	265	C ₆ H ₈ O ₆		抗坏血酸
2	2.73	133		C ₄ H ₆ O ₅	115	苹果酸
3	3.05	191		C ₆ H ₈ O ₇	111	柠檬酸
4	3.58	331	278	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	271(18),211(18),169(45),125(15)	没食子酰葡萄糖
5	5.07	169	270	C ₇ H ₆ O ₅	125	没食子酸 ^a
6	15.18	183	270	C ₈ H ₈ O ₅	168(25),124(100)	没食子酸甲酯 ^a
7	24.25	449	285/330	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	421(20),287(100),259(88),243(8),215(12),179(10),151(10),125(23)	圣草酚葡萄糖苷
8	32.92	479	231/272	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	449(100),431(8),327(20),165(17),121(80)	芍药苷
9	37.63	609	265/345	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	447(60),327(8),285(70),283(72),255(10)	山奈酚-3,7-O-二葡萄糖苷
10	42.53	335	278	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	183(100),168(8),124(40)	没食子酰没食子酸甲酯
11	45.47	939	274/359	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	787(6),769(30),617(12),601(5),465(6),447(6),431(6),295(6),277(6)169(20)	五-O-没食子酰葡萄糖
12	46.72	1 091	280	C ₄₈ H ₃₄ O ₃₀	469(100),393(6),317(4),295(5),241(6),169(65),125(30)	六-O-没食子酰葡萄糖 1
13	47.43	1 091	280	C ₄₈ H ₃₄ O ₃₀	939(100),787(8),769(40),617(10),599(4),447(6),431(4),169(5)	六-O-没食子酰葡萄糖 2
14	47.77	1 091	280	C ₄₈ H ₃₄ O ₃₀	939(100),787(8),769(40),617(10),599(4),447(6),431(4),169(5)	六-O-没食子酰葡萄糖 3
15	48.87	447	266/365	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285(65),284(40),257(20),151(40)	木犀草素-7-O-葡萄糖苷
16	49.38	599	267/339	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₅	563(20),447(10),313(22),285(30),282(20),269(20),169(40),125(10)	山奈酚-3-O-没食子酰葡萄糖苷
17	49.67	431	267/340	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	268(100),269(40)	芹菜素-7-O-葡萄糖苷
18	50.15	577	267/340	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	269(100)	芹菜素-7-O-新橘皮糖苷
19	50.62	447	265/346	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285(30),284(52),255(66),227(52)	山奈酚-3-O-葡萄糖苷
20	55.37	629	221/298	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₄	583(30),553(68),535(12),431(15),177(4),165(12),121(100)	牡丹皮苷 B
21	57.02	493	223/308		447(100),315(2),149(30),191(10),221(5),131(8),119(8)	未知

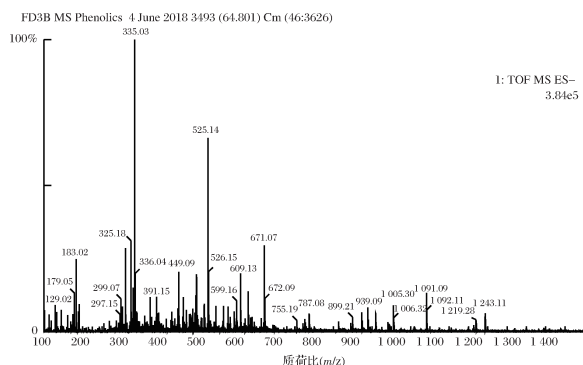
注:^a通过标准品鉴定,其他成分通过与文献比较质谱和光谱信息判定。



A-总离子流图;B-基峰图

图5 牡丹鲜花汁化学组分的总离子流(TIC)和基峰(BP)图

Fig. 5 Total ion chromatography and base peak chromatography of phytochemicals in peony juice

图6 牡丹鲜花汁化学组分 TOF-MS-ESI⁻ 图Fig. 6 TOF-MS-ESI⁻ chromatography of phytochemicals in peony juice

2.2.2 没食子酸衍生物

成分5的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 169,根据二级质谱信息与没食子酸标准品对照,鉴定为没食子酸。成分4的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 331;二级质谱主要碎片为 $[M-H]^-$ m/z 169,是母离子丢失一个己糖基(162 Da),其紫外光谱特征与成分5基本相同,成分4鉴定为没食子酰葡萄糖^[13]。成分6一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 183,二级质谱主要碎片 $[M-H]^-$ m/z 168、 m/z 124,与标准品对照,鉴定为没食子酸甲酯。成分10的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 335;二级质谱主要碎片 $[M-H]^-$ m/z 183,是母离子丢失一个没食子酰基(152 Da);其紫外光谱特征与没食子酸甲酯基本相同,成分10鉴定为没食子酰没食子酸甲酯。

成分11一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 为939,二级质谱碎片 $[M-H]^-$ m/z 787、 m/z 769 分别为母离子丢失 m/z 152 Da、 m/z 170 Da,其他碎片信息显示该成分为含多个没食子酰基的化合物,其紫外光谱特征也与没

食子酸基本相同;根据文献^[30],成分11 鉴定为5-*O*-没食子酰葡萄糖。成分12~14 的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 均为1 091,二级质谱主要碎片 $[M-H]^-$ m/z 939,是母离子丢失 m/z 152 Da 的结果,其他子离子碎片信息与成分11 一致,根据文献^[30-31],成分12~14 鉴定为6-*O*-没食子酰葡萄糖异构体。从BP图(图5)可以看出,没食子单宁为牡丹鲜花汁中含量较为丰富的多酚物质。

2.2.3 黄酮糖苷

成分7一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 449,二级质谱碎片 $[M-H]^-$ m/z 287 为母离子丢失1个己糖基 m/z 162 Da 的结果。结合其紫外光谱特征,可以判断成分7 为黄酮糖苷。根据参考文献^[32],成分7 鉴定为圣草酚葡萄糖苷。成分9 一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 609,二级质谱主要碎片 $[M-H]^-$ m/z 447、 m/z 285 为母离子连续丢失2个己糖基 m/z 162 Da 的结果。DAD 扫描显示典型的黄酮紫外光谱特征,鉴定成分7 为山奈酚-3, 7-*O*-二葡萄糖苷^[13]。成分15、16、19 同样具有黄酮类化合物典型的紫外光谱特征。根据质谱信息比对文献^[13,15],成分15、16、19 分别鉴定为木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷,山奈酚-3-*O*-没食子酰葡萄糖苷,山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷。成分17 的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 431,二级质谱碎片 $[M-H]^-$ m/z 268、 m/z 269 为母离子丢失1个己糖基 m/z 162 Da 的结果,成分17 鉴定为芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷^[13]。成分18 的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 577,二级质谱碎片 $[M-H]^-$ m/z 269 为母离子丢失1个脱氧己糖-己糖基 m/z 308 Da 的结果,成分18 鉴定为芹菜素-7-*O*-新橘皮糖苷^[15]。黄酮糖苷为牡丹花主要活性成分^[9,15],牡丹鲜花汁中黄酮成分以山奈酚和芹菜素的糖苷化合物为主。

2.2.4 单帖糖苷

成分8和20 的一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 479、 m/z 629,二级质谱主要碎片与文献^[13]报道结果一致,鉴定为芍药苷和牡丹皮苷B。成分21 色谱峰响应值也较高,可能为牡丹花中极性较弱的化合物,一级质谱 $[M-H]^-$ m/z 493,但本研究未能鉴定。

3 结论

可食“凤丹”牡丹鲜花经蒸汽杀青、打浆后,添加果胶酶、纤维素酶、蛋白酶法处理可以提高牡丹鲜花出汁率。由果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶以质量比1:2:1 组成的复合酶制剂能显著提高牡丹鲜花出汁率,复合酶处理条件为:酶添加量0.15% (质量分

数),酶解温度 50 ℃,酶解时间 90 min。复合酶法制备的牡丹鲜花汁可以作为牡丹花液态食品生产基料。

高效液相色谱与四极杆飞行时间串联质谱(HPLC-Q-TOF-MS-MS)联用技术可用于定性分析牡丹鲜花汁中主要生物活性物质,鉴定了牡丹鲜花汁中的 20 个主要成分,其中 3 个有机酸、8 个酚酸、7 个黄酮、1 个芍药苷以及 1 个牡丹皮苷。酚酸和黄酮苷是牡丹鲜花汁中主要活性成分,主要包括没食子酸、没食子酰葡萄糖、5-*O*-没食子酰单宁、6-*O*-没食子酰单宁、芹菜素 7-*O*-葡萄糖苷、芹菜素 7-*O*-新橘皮糖苷和山奈酚-3,7-*O*-二葡萄糖苷等。

参 考 文 献

- [1] 杨振晶,张秀省,褚鹏飞. 牡丹开发应用研究进展[J]. 北方园艺, 2015(16):184-187.
- [2] 张佩佩,潘运国,韩伟,等. 牡丹的营养价值及其开发利用研究[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(8):26-28.
- [3] 史国安,郭香凤,包满珠,等. 不同类型牡丹花的营养成分及体外抗氧化活性分析[J]. 农业机械学报, 2006, 37(8):111-114.
- [4] 谢韬,范文今,杨鸿武. 牡丹花的亚慢性毒性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(13):1 868-1 870.
- [5] 吕燕妮,江志杰,郭玉东. 丹凤牡丹花功能性成分及急性毒性的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9):67-70.
- [6] 关于批准裸藻等 8 种新食品原料的公告[J]. 中国食品添加剂, 2013(6):229-233.
- [7] 田给林,赵贵红. 牡丹鲜花在食品中的应用现状及展望[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(4):187-190.
- [8] MA L JIAO K, LUO L. Characterization and macrophage immunomodulatory activity of two polysaccharides from the flowers of *Paeonia suffruticosa* Andr[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 124:955-962.
- [9] FAN J, ZHO W, KANG H, et al. Flavonoid constituents and antioxidant capacity in flowers of different Zhongyuan tree peony cultivars [J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1):147-157.
- [10] 罗磊,刘云宏,朱文学,等. 低糖牡丹花脯加工工艺研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(5):264-268.
- [11] 闫慧娇,赵伟,耿岩玲,等. 牡丹花化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(12):2 056-2 059.
- [12] OGAWA K, et al. Constituents of flowers of Paeoniaceae plants, *Paeonia suffruticosa* and *Paeonia lactiflora* [J]. Phytochemistry Letters, 2015, 12:98-104.
- [13] LI J, KUANG G, CHEN X, et al. Identification of chemical composition of leaves and flowers from *Paeonia rockii* by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS [J]. Molecules, 2016, 21(7):947-953.
- [14] ZHAO D, TANG W, HAO Z, et al. Identification of flavonoids and expression of flavonoid biosynthetic genes in two coloured tree peony flowers [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 459(3):450-456.
- [15] LI C, DU H, WANG L, et al. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia Section Moutan*) yellow flowers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18):8 496-8 503.
- [16] HUA M, MA H, TAN R, et al. Determination of anthocyanins and flavonols in *Paeonia delavayi* by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection[J]. Analytical Letters, 2018, 51(15):2 331-2 339.
- [17] WANG L S, SHIRAIISHI A, HASHIMOTO F, et al. Analysis of petal anthocyanins to investigate flower coloration of Zhongyuan (Chinese) and daikon island (Japanese) tree peony cultivars [J]. Journal of Plant Research, 2001, 114(1):33-43.
- [18] 闫慧娇,王志伟,陈燕平,等. 凤丹牡丹花瓣化学成分研究[J]. 山东科学, 2017, 30(3):12-16.
- [19] 付磊. ‘凤丹’牡丹花色色素组成成分及抗氧化能力分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015.
- [20] 向进乐,杜琳,李欣,等. 拐枣醋半固态-液态发酵工艺研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(7):160-164;159.
- [21] 向进乐,罗磊,马丽苹,等. 木瓜酒和木瓜醋发酵工艺及其有机酸组成分析[J]. 食品科学, 2016, 37(23):191-195.
- [22] XIANG J, APEA-BAH F B, NDOLOV U, et al. Profile of phenolic compounds and antioxidant activity of finger millet varieties[J]. Food Chemistry, 2019, 275:361-368.
- [23] 王瑾,冯作山,洪梅玲,等. 响应面法优化复合酶解制取赤霞珠葡萄汁工艺[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3):141-146;152.
- [24] 张丽华,赵光远,吴顺红,等. 酶解对植物乳杆菌发酵红枣汁品质的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(14):132-137.
- [25] 周绍迁,郭洪涛,郭振忠,等. 醇香酶解绿茶浓缩液工艺研究[J]. 饮料工业, 2012, 15(8):6-12.
- [26] 郑宝东,曾绍校. 酶处理对绿茶浸提液成分及膜过滤通量影响的研究[J]. 农业工程学报, 2003, 19(6):212-214.
- [27] 吕春玲,张英,姜绍通. 响应面试验优化桑葚汁复合酶解制备工艺及微滤技术对其品质的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(18):41-46.

- [28] 刘真真,齐沛沛,王新全,等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱测定果蔬中维生素 C[J]. 色谱, 2016, 34(11):1 048 - 1 054.
- [29] JIMÉNCHEZ-SÁNCHEZ C, LOZANO-SÁNCHEZ J, GABALDÓN-HERNÁNDEZJA, et al. RP-HPLC-ESI-QTOF/MS2 based strategy for the comprehensive metabolite profiling of *Sclerocarya birrea* (marula) bark[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 71:214 - 234.
- [30] BARRETO J C, TREVISANMT S, HULLW E, et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of Mango (*Mangifera indica* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(14):5 599 - 5 610.
- [31] BERARDINI N, CARLE R, SCHIEBER A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18(19):2 208 - 2 216.
- [32] AMMAR S, DELMARCONTRERAS M, BELGUITH-HAD-RICH O, et al. New insights into the qualitative phenolic profile of *Ficus carica* L. fruits and leaves from Tunisia using ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and their antioxidant activity [J]. RSC Advances, 2015, 5(26):20 035 - 20 050.

Juice production from fresh tree peony flower by enzyme treatment and its phytochemical identification by HPLC-Q-TOF-MS/MS

XIANG Jinle^{1,3}, ZHAO Shengjuan^{1,3}, MA Liping¹, JIN Wengang²,
FEI Peng^{1,3}, FAN Jinling¹, ZHU Wenxue^{1*}

1 (College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

2 (School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

3 (Henan Engineering Research Center of Food Material, Luoyang 471023, China)

ABSTRACT Feasibility of fresh edible peony flower as raw material was explored in liquid functional food production. Juice from fresh 'Fengdan Bai' peony flower was obtained by enzymatic treatment followed by phytochemical profile investigated by high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. The results showed that the yield of peony flower juice was improved by 22.3% through treatment with a combination of pectinase, cellulase and papain (in a ratio of 1:2:1). The optimized enzyme treatment condition was at 50 °C for 90 min with 0.15% enzyme. There were 20 components identified in peony flower juice, including three organic acids, eight phenolic acids, seven flavonoids and two monoglycosides. Phenolic acids and flavonoid glycosides were the main active components and were mainly in the forms of gallic acid, galloyl glucose, gallotannins, apigenin glucoside, apigenin neohesperidoside and kaempferol glucoside. The results provide a basis for processing technology of peony flower juice as well as its application in liquid functional foods.

Key words peony flower; enzyme treatment; juice; gallic acid derivatives; flavonoid glycoside