

芍药开花过程中花色和色素的变化

钟培星^{1,2}, 王亮生^{2,*}, 李珊珊^{2,3}, 徐彦军⁴, 朱满兰^{1,2}

(¹ 南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ² 中国科学院植物研究所北京植物园, 资源植物研发重点实验室, 北京 100093; ³ 中国科学院研究生院, 北京 100049; ⁴ 中国农业大学理学院, 北京 100193)

摘要: 以从内蒙古自治区赤峰市克什克腾旗引种的野生芍药 (*Paeonia lactiflora*) 为材料, 采用英国皇家园艺学会比色卡和分光色差计测量不同开花阶段的花色, 利用高效液相色谱—光电二极管阵列检测 (HPLC-DAD) 和高效液相色谱—电喷雾离子化—二级质谱联用技术 (HPLC-ESI-MS²) 定性定量分析其花色色素组分, 运用多元线性回归方法分析了花色与花瓣中色素组成之间的关系。结果表明: 开花过程中花色的明度增加, 红色减退, 彩度变小, 颜色由红紫 (N57A) 变为淡紫红色 (75C)。从其花瓣中共检出 6 种花青苷, 4 种黄酮苷和 15 种黄酮醇苷。其中两种花青苷 (芍药花素-3-没食子酰葡萄糖苷-5-葡萄糖苷、芍药花素-3-丙二酰葡萄糖苷-5-葡萄糖苷), 两种黄酮苷 (木犀草素-7-没食子酰葡萄糖苷、木犀草素-7-阿拉伯糖苷) 和 13 种黄酮醇苷在芍药中属首次报道。分析结果表明其花青苷的主要成分是芍药花素-3,5-二葡萄糖苷, 约占总花青苷含量 (total anthocyanins content, TA) 的 93.93%; 其花黄素 (包括黄酮和黄酮醇) 的主要成分是山奈酚-3-葡萄糖苷, 占总黄酮含量 (total flavones content, TF) 的 48.78%。不同的开花阶段, 从露色期到松瓣期 TA 含量略增加, 松瓣期后开始降低, TF 则先略减少后增加。多元回归结果显示, 芍药花素-3,5-二葡萄糖苷、槲皮素-3-葡萄糖苷、槲皮素-7-葡萄糖苷、异鼠李素-3-葡萄糖苷的含量与花色变化具有线性相关性。

关键词: 芍药; 花青苷; 类黄酮; 花色; 液质联用

中图分类号: S 682.1⁺2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 11-2271-12

The Changes of Floral Color and Pigments Composition During the Flowering Period in *Paeonia lactiflora* Pallas

ZHONG Pei-xing^{1,2}, WANG Liang-sheng^{2,*}, LI Shan-shan^{2,3}, XU Yan-jun⁴, and ZHU Man-lan^{1,2}

(¹ College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ² Beijing Botanical Garden, Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ³ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ⁴ College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: The floral colors and the pigments composition in six blooming phases of *Paeonia lactiflora* Pallas which was introduced from Hexigten, Inner Mongolia were determined. The floral color in different blooming stages was measured by the Royal Horticultural Society Colour Chart (R.H.S.C.C.) and a NF333 spectrophotometer. Its anthocyanins and other flavonoids were subsequently analyzed qualitatively and quantitatively by the high-performance liquid chromatography coupled with diode array

收稿日期: 2012-05-28; 修回日期: 2012-10-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771521)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wanglsh@ibcas.ac.cn)

detection (HPLC-DAD) and HPLC electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI-MS²). And the relationship between petal colors and anthocyanin contents was explored by multiple linear regression analysis. The results indicated that, during the blooming period, the floral lightness increased while the value of chroma decreased, and the floral color changed from red purple (N57A) to violet (75C). In all, 6 kinds of anthocyanins, 4 kinds of flavone glycosides (luteolin 7-*O*-galloylglucoside, luteolin 7-*O*-arabinoside) and 15 kinds of flavonol glycosides were detected from petals of *Paonia lactiflora* Pallas. Among these compounds, 2 kinds of anthocyanins (peonidin-3-*O*-galloylglucoside-5-*O*-glucoside, peonidin-3-*O*-malonylglucoside-5-*O*-glucoside), 2 kinds of flavone glycosides, and 13 kinds of flavonol glycosides were detected for the first time. The analysis showed that peonidin-3,5-di-*O*-glucoside (Pn3G5G) was the main anthocyanin which took up 93.93% of the total anthocyanins content (TA), while kaempferol-3-*O*-glucoside was the main flavonol glucoside with 48.78% of the total flavones content (TF). In addition, during the six blooming stages, TA increased slightly from the Pigmented stage to the Unfold-petal stage of flowering and decreased after that. On the contrary, TF decreased during the first two stages, and then increased continuously. At the last, the multiple linear regression analysis showed that the contents of Pn3G5G, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-glucoside, quercetin-7-*O*-glucoside were linear correlation with the floral color changing.

Key words: herbaceous peony; anthocyanin; flavonoid; floral color; HPLC-MS

近半个世纪以来人们对包括花青苷在内的多类黄酮进行了广泛而深入的研究(凌文华和郭红辉, 2009), 但对于芍药(*Paonia lactiflora* Pallas)花色素的研究尚处于起步阶段。Hosoki 和 Seo (1991)对部分日本芍药栽培品种、欧洲芍药栽培品种和中国芍药野生种花瓣的花青苷进行了研究, 从中检测出 6 种花青苷。Jia 等(2008a, 2008b)从 14 个芍药野生种和 41 个栽培品种中鉴定出了 8 种花青苷。王爱晶等(2009)从芍药切花中鉴定出 2 种花青苷。但对于芍药在开花过程中花青苷成分和含量变化与花色变化之间的关系却不清楚, 而且作为花色素重要组成部分的花黄素成分并未见相关报道。对其花色和色素组成关系的分析有助于阐明其在开花过程中花色变化的机理, 同时能为后续的芍药化学分类及种质鉴定研究提供参考。研究芍药在开花过程中不同色素成分种类和含量变化可以找到每种物质的阶段变化, 为科学研究和生产实践提供依据。本研究中综合利用 HPLC-DAD 及 HPLC-ESI-MS² 技术, 分析了该野生芍药的花色素成分及其在开花过程中的含量变化, 并分析了导致花瓣褪色的原因, 以期为进一步开展芍药花色形成的分子机制和花色育种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

中国科学院植物研究所北京植物园于 2006 年从内蒙古自治区赤峰市克什克腾旗(Hexigten Banner)引种栽培野生种芍药(*P. lactiflora*)。其小叶狭卵形, 叶边缘具白色骨质细齿, 两面无毛, 花数朵生于茎顶及上部叶腋间, 心皮 3 ~ 4 个, 且密生绒毛。选取生长环境相同, 长势一致, 花蕾数多的植株, 借鉴前人对芍药开花阶段的划分(成仿云 等, 2009), 于 2011 年 5 月中旬晴日上午 9 时左右采集露色期(pigmented stage)、松瓣期(unfold-petal stage)、暄蕾期(soft-bud stage)、初花期(initial-flowering stage)、盛花期(full-flowering stage)和谢花期(flower-wilting stage) 6 个开花阶段的花朵(图 1)。每个阶段采 3 朵(3 次重复)。

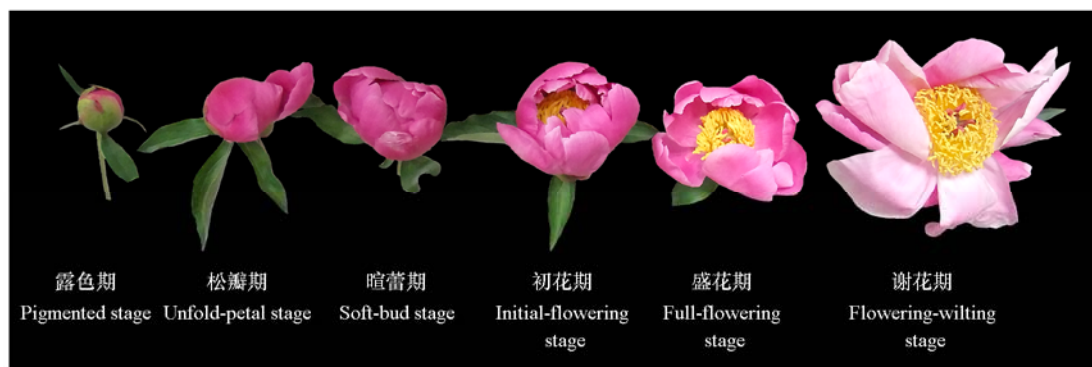


图 1 开花过程中的形态及花色

Fig. 1 Flower morphological and color during flowering

1.2 花色测定

用英国皇家园艺学会比色卡 (Royal Horticultural Society Colour Chart, R.H.S.C.C.) 与新鲜花瓣中间部分花色进行对比。参照 Zhang 等 (2007) 的方法用 NF333 型分光色差计 (spectrophotometer, 日本电色工业株式会社) 测定花色的明度 L^* 值、色相 a^* 、 b^* 值, 并计算彩度 C^* 和色相角 h 。 $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, $h = \arctan(b^*/a^*)$ 。 C^* 值表示到 L^* 轴的垂直距离, 距离越大, 彩度越大 (Wang et al., 2001)。

1.3 样品的保存及花色素提取

新鲜花瓣经精确测色后, 采用冷冻干燥法将其置于 FD-1T 真空冷冻干燥机中 (北京东方金瑞科技发展有限公司), $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 24 h 至恒重, 最后将完全干燥的花瓣置于干燥器中保存。

将干燥的花瓣研磨成粉末, 准确称取 0.1 g, 加入 3 mL 提取液 (甲醇: 盐酸: 水 = 70:0.1:29.9, 体积比, pH 2.08) (Yang et al., 2009) 于黑暗条件下 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸提 24 h, 期间每隔 6 h 用旋转振荡器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司, 江苏) 振荡 1 min。抽提液先用定性滤纸过滤。收集的滤液再用孔径 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的尼龙微孔滤器过滤后, 保存于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 用于花青苷与其他类黄酮的 HPLC-DAD 及 HPLC-ESI-MS² 定性定量分析。

1.4 花色素的定性分析

1.4.1 HPLC-DAD 分析

上述抽提液样品使用戴安 (Dionex HPLC-DAD) 系统进行定性分析。液相色谱系统包括: P680A LPG-4 型二元梯度泵, UltiMate 3000 自动进样器, TCC-100 色谱柱控温箱, DAD-100 二极管阵列检测器, Chameleon 6.60 工作站。色谱柱为日本 Tosoh 株式会社生产的 TSK gel ODS-80Ts QA 反相硅胶柱 ($4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}$, 粒径 $5\text{ }\mu\text{m}$, 日本 Tosoh 株式会社)。

分析条件: 流速 $0.8\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样体积 $10\text{ }\mu\text{L}$, $200 \sim 800\text{ nm}$ 范围内全波长扫描吸收光谱, 在 525 nm 和 350 nm 波长下一次性同时检测花青苷和花黄素。流动相组成为: A 相, 10% 甲酸水 (体积比); B 相, 甲酸: 乙腈: 水 = 10:40:50。分析时间 90 min。梯度洗脱程序为: 0 min, 85%A, 15%B; 30 min, 74%A, 26%B; 50 min, 40%A, 60%B; 80 min, 55%A, 45%B; 90 min, 85%A, 15%B。

1.4.2 HPLC-ESI-MS/MS² 分析

采用安捷伦 (Agilent 1100 LC/MSD Trap VL) 液质联用系统进行 HPLC-ESI-MS² 分析。液相色谱

谱分析条件、流动相组成、洗脱程序与上述 HPLC-DAD 分析相同。质谱分析条件：电喷雾离子化（ESI），离子阱分析器，全离子扫描，扫描范围（ m/z ）：100~1 000 u，花青苷采用正离子检测模式，花黄素采用正、负离子两种检测模式。毛细管电压 4 000 V，喷雾器压力 35 psi，干燥气（N₂），干燥温度 350 ℃。正离子模式下，毛细管出口电压为 120.4 V，毛细管偏移电压为 77.2 V；负离子模式下，毛细管出口电压为 -120.4 V，毛细管偏移电压为 -77.2 V。选择离子检测（SIM）方式监测选定离子的 MS² 碎片。用 LC/MSD Trap 软件（5.2 版本）分析质谱结果。

1.5 花色素的定量分析

运用 HPLC-DAD 方法，分别用 525 nm 与 350 nm 同时检测花瓣中花青苷和花黄素。采用标准品半定量法分别计算干花中含有的相对于标准品的花青苷和花黄素的含量（ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ ）（Wang et al., 2001）。其中花青苷标准品使用上海同田生物技术有限公司生产的矢车菊素-3-葡萄糖苷（cyanidin-3-*O*-glucoside, Cy3G），花黄素的标准品为中国药品生物制品检定所生产的槲皮素-3-芸香糖苷（quercetin-3-*O*-rutinoside, Rutin）。

2 结果与分析

2.1 开花过程中花色的变化

根据花色测定结果（表 1），该野生芍药在开花过程中花色的 R.H.S.C.C.值从露色期的 N57A（red-purple group）变到谢花期的 75C（purple group）。花色在开花过程中由红紫逐渐变为淡紫红色。花色在 CIE $L^*a^*b^*$ 表色系统坐标系上的分布： a^* 值由 44.86 变为 8.92， b^* 值从 11.50 变到 2.45， L^* 值从 32.29 变到 70.54，h 由 0.12°变为 0.29°。在露色期到盛花期 a^* 值、 b^* 值、 C^* 值略有增大但变化不大，红色略有增加。从盛花期到谢花期变化明显， L^* 增大， a^* 值、 b^* 值、 C^* 值急剧降低，明度明显增加，红色减退。

表 1 开花过程中不同阶段的花色变化
Table 1 Floral color changes during the blooming season

开花阶段 Blooming stage	R.H.S.C.C.	CIEL [*] a [*] b [*] 表色系统 CIEL [*] a [*] b [*] coordinate				
		L [*]	a [*]	b [*]	C [*]	h/°
露色期	N57A	32.29 ± 1.37 d	44.86 ± 0.90 a	5.42 ± 1.57 c	45.20 ± 0.91 b	0.12 ± 0.03 c
Pigmented stage						
松瓣期	N66A	36.54 ± 2.63 c	47.34 ± 0.84 a	7.50 ± 2.02 bc	47.97 ± 0.63 ab	0.16 ± 0.04 bc
Unfold-petal stage						
喧蕾期	N66B	38.79 ± 3.18 bc	44.45 ± 2.15 a	10.21 ± 2.06 ab	45.66 ± 1.72 b	0.23 ± 0.05 abc
Soft-bud stage						
初花期	N67B	41.84 ± 2.92 b	47.49 ± 2.93 a	11.50 ± 2.64 a	48.95 ± 2.41 a	0.24 ± 0.06 ab
Initial-flowering stage						
盛花期	73A	42.48 ± 2.23 b	45.58 ± 1.59 a	10.35 ± 1.36 ab	46.76 ± 1.56 ab	0.22 ± 0.03 abc
Full-flowering stage						
谢花期	75C	70.54 ± 2.04 a	8.92 ± 2.50 b	2.45 ± 0.71 d	9.31 ± 2.41 c	0.29 ± 0.12 a
Flower-wilting stage						

注：a、b、c 代表多重比较 SNK 检验在 $P = 0.05$ 显著性水平下的差异显著。
Note: a, b, c show the different significant differences at $P = 0.05$ level in SNK test.

2.2 花色素定性分析

2.2.1 花青苷成分分析

依据花青苷的紫外—可见吸收特征，在 525 nm 波长下检测到 6 个花青苷色谱峰（图 2，A）。各花青苷紫外光谱特征及质谱数据总结见表 2。其中组分 a5：芍药花素-3-没食子酰葡萄糖苷-5-

葡萄糖苷 (peonidin-3-*O*-galloyl glucoside-5-*O*-glucoside, Pn3GloG5G) 和 a6: 芍药花素 - 3 - 丙二酰葡萄糖苷 - 5 - 葡萄糖苷 (peonidin-3-*O*-malonyl glucoside-5-*O*-glucoside, Pn3MloG5G) 两个花青苷在芍药中属首次发现。

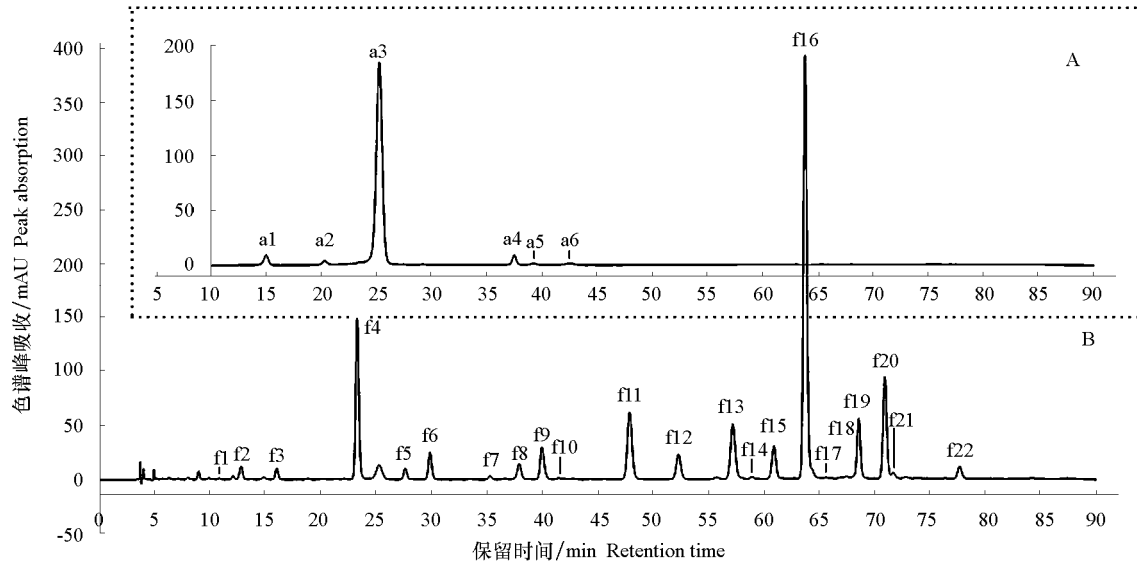


图 2 芍药中花青苷 (A, 检测波长 525 nm) 和花黄素 (B, 检测波长 350 nm) 的 HPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC chromatograms of anthocyanins (A, detected at 525 nm), anthoxanthins (B, detected at 350 nm) in *P. lactiflora*

表 2 芍药中花青苷的 HPLC-DAD、HPLC-ESI-MS² 分析及其结构推定
Table 2 HPLC-DAD, HPLC-ESI-MS² analysis and tentative identification of anthocyanins in petal of *P. lactiflora*

组分 Peak	保留时间/min Retention time	吸收波长/nm λ_{\max}	$A_{440}/A_{\text{vis-max}}$ /%	质谱信息/ (m/z) MS/MS ²	推定结果 Tentative identification	参考文献 References
a1	15.008	277.9, 513.5	17.83	611.0[M ⁺], 449.0, 287.0[Y ₀ ⁺]	矢车菊素 - 3, 5 - 二葡萄糖苷 Cy3G5G	Jia et al., 2008a, 2008b
a2	20.267	274.1, 498.3	25.92	595.0[M ⁺], 433.0, 271.0[Y ₀ ⁺]	天竺葵素 - 3, 5 - 二葡萄糖苷 Pg3G5G	Jia et al., 2008a, 2008b
a3	25.242	277.9, 515.4	17.29	625.0[M ⁺], 463.0, 301.0[Y ₀ ⁺]	芍药花素 - 3, 5 - 二葡萄糖苷 Pn3G5G	Jia et al., 2008a, 2008b
a4	37.475	279.8, 513.5	32.06	463.0[M ⁺], 301.0[Y ₀ ⁺]	芍药花素 - 3 - 葡萄糖苷 Pn3G	Jia et al., 2008a, 2008b
a5	39.142	283.6, 323.5, 517.3	13.38	777.2[M ⁺], 615.2, 463.1, 301.0[Y ₀ ⁺]	芍药花素 - 3 - 没食子酰葡萄糖苷 - 5 - 葡萄糖 Pn3GloG5G	
a6	42.433	239.9, 338.7, 515.4	19.28	711.1[M ⁺], 549.1, 463.0, 301.0[Y ₀ ⁺]	芍药花素 - 3 - 丙二酰葡萄糖苷 - 5 - 葡萄糖苷 Pn3MloG5G	

注: M: 糖苷分子; [M⁺]: 糖苷分子离子; Y₀: 苷元; [Y₀⁺]: 苷元分子离子。Cy: 矢车菊素; Pg: 天竺葵素; Pn: 芍药花素; Glo: 没食子酰基; G: 葡萄糖; Mlo: 丙二酰基。
Note: M: Glycoside molecular; [M⁺]: Glycoside molecular ion; Y₀: Aglycone; [Y₀⁺]: Aglycone molecular ion; Cy: Cyanidin; Pg: Pelargonidin; Pn: Peonidin; Glo: Galloyl; G: glucoside; Mlo: Malonyl.

二级碎片离子 m/z 287、 m/z 271、 m/z 301 分别是矢车菊素苷元、天竺葵素苷元和芍药花素苷元的特征质荷比。前 4 个组分在紫外 290 ~ 340 nm 波长范围内无特征吸收峰, 表明这些花青苷结构中没有酰基(Fossen & Andersen, 1998)。根据花青苷在 440 nm 下的吸光度与 $\lambda_{\text{vis-max}}$ 的比值($A_{440}/A_{\text{vis-max}}$)可判断糖苷的位置, 花青苷 - 3 - 糖苷的 $A_{440}/A_{\text{vis-max}}$ 约为 30%, 花青苷 - 3, 5 - 二糖苷的 $A_{440}/A_{\text{vis-max}}$

约为 15% (Harborne, 1963; Asen & Budin, 1966)。将各组分的 $A_{440}/A_{vis-max}$ 与文献 (Harborne, 1958a, 1958b; Jia et al., 2008a, 2008b) 对比, 结果表明 a1、a2、a3、a5、a6 这 5 个花青苷具有 3、5 位糖苷, 组分 a4 无 5 位糖苷。

a5 的苷元分子离子 m/z 777 ($[M]^+$) 释放出二级质谱的碎片离子 m/z 301, 为 Pn 苷元的特征质荷比。 m/z 777 ($[M]^+$) 到 m/z 615 丢失 162 u 为葡萄糖成苷后的分子量, m/z 615 到 m/z 463 相差 152 u, 为没食子酸酰化后的分子量。在牡丹中有芍药花-5-没食子酰葡萄糖苷的报道 (李崇晖, 2010)。a5 的二级质谱碎裂机理为: m/z 301 (Pn), m/z 463 [Pn + 葡萄糖 (m/z 162)], m/z 615 [Pn + 葡萄糖 (m/z 162) + 没食子酸 (m/z 152)], m/z 777 [Pn + 葡萄糖 (m/z 162) + 没食子酸 (m/z 152) + 葡萄糖 (m/z 162)]。a5 在 323.5 nm 下有特征吸收也显示其有酰基化, 所以判断其含有一个没食子酰化的葡萄糖。由于花青苷的 5 位糖苷最容易丢失 (Cuyckens & Claeys, 2004), 所以丢失不同位置糖苷后的碎片离子相对丰度不一样。 m/z 615 的相对丰度高于 m/z 463, 所以是 3 位连接没食子酰葡萄糖, 5 位连接葡萄糖, 从而推断 a5 为芍药花-3-没食子酰葡萄糖苷-5-葡萄糖苷 (Pn3GloG5G)。

a6 在 338.7 nm 下有特征吸收显示其有酰基化结构。a6 的 m/z 549 到 m/z 463 相差 86 u, 为丙二酸酰化后的分子量。因 m/z 549 的相对丰度高于 m/z 463, 所以是 3 位连接丙二酰葡萄糖, 5 位连接葡萄糖, 从而推断 a6 为芍药花素-3-丙二酰葡萄糖苷-5-葡萄糖苷 (Pn3MloG5G)。在洋葱中有芍药花素-3-丙二酰葡萄糖苷的报道 (Donner et al., 1997; Steimer & Sjöberg, 2011), 其含有 m/z 301 和 m/z 549 的碎片信息。Steimer 和 Sjöberg (2011) 对洋葱的研究中检测到了 m/z 301 和 m/z 711, 但其没有其它更进一步的证据而只推断其为 Pn + (2glu + malonyl)。

2.2.2 花黄素成分分析

经 HPLC 分析, 依据类黄酮的紫外—可见吸收光谱特征, 在 350 nm 波长下共检测到 22 个具有黄酮、黄酮醇特征光谱的色谱峰 (图 2, B)。详细 HPLC-DAD 和 HPLC-ESI-MS² 的数据见表 3。通过与文献比较质谱和紫外光谱的特征 (Mabry, 1970), 共发现 4 种苷元, 包括 1 种黄酮苷元: 木犀草素 (luteolin, 简称 Lu), 3 种黄酮醇苷元: 山奈酚 (kaempferol, 简称 Km)、槲皮素 (quercetin, 简称 Qu)、异鼠李素 (isorhamnetin, 简称 Is)。部分组分 (f1、f2、f7) 由于含量和纯度问题未能得到很好质谱结果而未能推定, 但其紫外吸收特征显示其为花黄素。最后推定出 4 种黄酮、15 种黄酮醇。除 f4 (Km3G7G) 和 f16 (Km3G) 外, 其他 17 种类黄酮均为首次在芍药中检出。

组分 f3、f8、f9、f11 的 ESI-(+)-MS 二级质谱碎片均有 m/z 303.0, 与 Qu 苷元离子的特征质荷比 $[Y_0^+]$ 一致, 为 Qu 的衍生物。组分 f4、f6、f10、f12 ~ f16、f18、f20、f21 的质谱碎片 m/z 287.0 与黄酮醇 Km 和黄酮 Lu 的苷元离子 $[Y_0^+]$ 一致。根据紫外吸收带 II 的 λ_{max} , Km 及其糖苷大多在 265 nm 左右, Lu 及其糖苷大多在 255 nm 左右 (中国科学院上海药物研究所, 1981)。另外根据不同位置羟基被糖基化后的蓝移规律, 组分 f4、f6、f13、f14、f16、f18、f20 被判定为 Km 衍生物, 组分 f10、f12、f15、f21 被判定为 Lu 的衍生物。组分 f5、f17、f19、f22 的二级质谱碎片均有 m/z 317.0, 与 Is 的苷元离子 $[Y_0^+]$ 一致, 为 Is 的衍生物。

组分 f9 和 f11 在正离子模式下都有 303.0 $[Y_0^+]$ 和 487.1 $[M + H + Na]^+$, 表明其为 Qu 的单葡萄糖苷。在负离子模式下, 类黄酮-3-糖苷和 7-糖苷中的自由基苷元离子 ($[Y_0-H]^\cdot$) 和苷元离子 ($[Y_0^-]$) 的相对丰度不同。当苷元的 3 位发生糖基化时 $[Y_0-H]^\cdot$ 的相对丰度大于 $[Y_0^-]$; 而 7 位发生糖基化的时候相反, $[Y_0^-]$ 的相对丰度要高一些 (阿布拉江·克依木, 2006)。f9 以 300.8 $[Y_0^-]$ 为主, f11 以 299.8 $[Y_0-H]^\cdot$ 为主, 所以 f9 为槲皮素-3-葡萄糖苷, f11 为槲皮-7-葡萄糖苷。并且 3-糖苷和 7-糖苷的紫外吸收特征波长不同, 类黄酮-7-糖苷的带 I 与 3-糖苷相比发生红移 (Markham, 1982)。f9 的带 I 为 365.3 nm 相比 f11 的 353.9 nm 红移了 11.4 nm。同理 f14 和 f16 分别被推定为山奈酚-7-葡萄糖苷和山奈酚-3-葡萄糖苷。

组分 f8、f10、f13、f17 一级质谱的分子离子峰 $[M+H]^+$ 经裂解后得到苷元离子 $[Y_0^+]$, 两者相差 314u, 为 $[M+H\text{-galloylhexose}]^+$ 的分子量, 是没食子酰化葡萄糖苷。所以 f8、f10、f13、f17 分别为槲皮-3-没食子酰葡萄糖苷、木犀草素-7-没食子酰葡萄糖苷、山奈-3-没食子酰葡萄糖苷、异鼠李素-3-没食子酰葡萄糖苷。

组分 f6 的结构解析: 在黄酮醇糖苷的二级质谱中, 负离子模式下准分子离子 $[M-H]^-$ 失去 3-位糖基产生 $[Y_0^{3-}]$, 而失去 7-位糖基产生 $[Y_0^{7-}]$ 。由于 $[M-H]^-$ 更容易失去 7-位上的糖基, 从而 $[Y_0^{3-}]$ 的相对丰度低于 $[Y_0^{7-}]$ (阿布拉江·克依木, 2006)。根据 f6 的 m/z 489.0 相对丰度大于 m/z 446.9 (表 3), 从而判断 f6 是山奈酚-3-丙二酰葡萄糖苷-7-葡萄糖苷而非山奈酚-3-葡萄糖苷-7-丙二酰葡萄糖苷。

表 3 芍药中花黄素的 HPLC-DAD, HPLC-ESI-MS² 分析及其结构推定

Table 3 HPLC-DAD, HPLC-ESI-MS² analysis and tentative identification of anthoxanthins in petal of *P. lactiflora*

组分 Peak No.	保留时间/min Retention time	吸收波长/nm λ_{\max}	质谱信息 MS/MS ²		推定结果 Tentative identification	参考文献 References
			ESI(-)-MS (m/z)	ESI(+)-MS (m/z)		
f1	10.792	255.1, 329.2	n.a.	n.a.	未推定 Unknown	
f2	12.775	243.7, 342.5	n.a.	n.a.	未推定 Unknown	
f3	18.850	257.0, 353.9	625.0 $[M-H]^-$	303.0 $[Y_0^+]$, 465.0 $[M+H-162]^+$, 627.0 $[M+H]^+$, 649.0 $[M+H+Na]^+$	槲皮素-3,7-二葡萄糖苷 Qu3G7G	Sun et al., 2011
f4	23.250	266.5, 346.3	447.0 $[Y_0^{3-}]$, 609.0 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 449.0 $[Y_0^{3+}]$, 633.2 $[M+H+Na]^+$	山奈酚-3,7-二葡萄糖苷 Km3G7G	Li et al., 2009; Terreaux et al., 2002
f5	27.600	255.1, 352.0	476.9 $[Y_0^{3-}]$, 639.0 $[M-H]^-$	317.0 $[Y_0^+]$, 479.0 $[Y_0^{3+}]$, 663.2 $[M+H+Na]^+$	异鼠李素-3,7-二葡萄糖苷 Is3G7G	Li et al., 2009; Terreaux et al., 2002
f6	29.825	249.4, 266.5, 348.2	282.9 $[Y_0-2H]^-$, 446.9 $[Y_0^{3-}]$, 489.0 $[Y_0^{7-}]$, 651.0 $[M-H-CO_2]^-$, 695 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 449.0 $[Y_0^{3+}]$, 697.2 $[M+H]^+$, 719.2 $[M+H+Na]^+$	山奈酚-3-丙二酰葡萄糖 苷-7-葡萄糖苷 Km3MloG7G	
f7	35.258	255.1, 353.9	n.a.	n.a.	未推定 unknown	
f8	37.883	264.6, 353.9	299.9 $[Y_0-H]^-$, 615.0 $[M-H]^-$	303.0 $[Y_0^+]$, 639.1 $[M+H+Na]^+$	槲皮素-3-没食子酰葡萄糖苷 Qu3GloG	Li et al., 2009
f9	39.933	253.2, 365.3	300.8 $[Y_0^-]$, 462.9 $[M-H]^-$	303.0 $[Y_0^+]$, 465.1 $[M+H]^+$, 487.1 $[M+H+Na]^+$	槲皮素-7-葡萄糖苷 Qu7G	Li et al., 2009; Wang et al., 2001
f10	41.475	247.5, 344.4	599.0 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 601.0 $[M+H]^+$	木犀草素-7-没食子酰葡萄糖 苷 Lu7GloG	
f11	47.867	257.0, 353.9	299.8 $[Y_0-H]^-$, 462.9 $[M-H]^-$	303.0 $[Y_0^+]$, 487.1 $[M+H+Na]^+$	槲皮素-3-葡萄糖苷 Qu3G	Chen et al., 2012; Sun et al., 2011; Li et al., 2009
f12	52.275	245.6, 264.6, 348.2	593.0 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 433.1, 617.2 $[M+H+Na]^+$	Lu5G7Rha, Lu5Rha7G	
f13	57.192	268.4, 348.2	599.0 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 601.0 $[M+H]^+$, 623.1 $[M+H+Na]^+$	山奈酚-3-没食子酰葡萄糖 苷 Km3GloG	Li et al., 2009
f14	58.925	251.3, 266.5, 365.3	284.8 $[Y_0^-]$, 446.9 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 449.1 $[M+H]^+$, 471.1 $[M+H+Na]^+$	山奈酚-7-葡萄糖苷 Km7G	Li et al., 2009
f15	60.908	249.4, 348.2	431.0, 681.0 $[M-H-CO_2]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 433.0 $[Y_0^{3+}]$, 681.0 $[M+H]^+$, 703.0 $[M+H+Na]^+$	Lu5MloG7Rha, Lu5Rha7MloG	
f16	63.708	266.5, 346.3	283.8 $[Y_0^-]$, 446.9 $[M-H]^-$	287.0 $[Y_0^+]$, 449.1 $[M+H]^+$, 471.1 $[M+H+Na]^+$	山奈酚-3-葡萄糖苷 Km3G	Wu et al., 2012; Chen et al., 2012; Sun et al., 2011

续表 3

组分	保留时间/min	吸收波长/nm	质谱信息 MS/MS ²		推定结果	参考文献
Peak No.	Retention time	λ_{\max}	ESI(-)-MS (m/z)	ESI(+)-MS (m/z)	Tentative identification	References
f17	65.617	264.4, 354.3	629.0[M-H] ⁻	317.1[Y ₀ ⁺], 631.1[M+H] ⁺ , 653.2[M+H+Na] ⁺	异鼠李素-3-没食子酰葡萄糖苷 Is3GloG	Li et al., 2009
f18	67.458	268.4, 348.2	283.8[Y ₀ -H] ⁻ , 416.9[M-H] ⁻	287.0[Y ₀ ⁺], 441.1[M+H+Na] ⁺	山奈酚-3-阿拉伯糖苷 Km3Ara	Li et al., 2009
f19	68.558	251.3, 353.9	313.8[Y ₀ -H] ⁻ , 476.9[M-H] ⁻	317.0[Y ₀ ⁺], 501.1[M+H+Na] ⁺	异鼠李素-3-葡萄糖苷 Is3G	Chen et al., 2012; Li et al., 2009
f20	70.917	266.5, 348.2	284.0[Y ₀ -H] ⁻ , 488.9[M-H-CO ₂] ⁻ , 533 [M-H] ⁻	287.0[Y ₀ ⁺], 535.0[M+H] ⁺ , 557.1[M+H+Na] ⁺	山奈酚-3-丙二酰葡萄糖苷 Km3MloG	Sun et al., 2011
f21	71.683	249.4, 274.1, 348.2	416.9[M-H] ⁻	287.0[Y ₀ ⁺], 441.1[M+H+Na] ⁺	木犀草素-7-阿拉伯糖苷 Lu7Ara	
f22	77.675	249.4, 352.0	314.8[Y ₀ -H] ⁻ , 447[M-H] ⁻	317.0[Y ₀ ⁺], 471.1[M+H+Na] ⁺	异鼠李素-7-阿拉伯糖苷 Is7Ara	

注: n.a.: 未得到数据。M: 糖苷分子; [M]⁺: 糖苷分子离子; [M+H]⁺: 糖苷准分子离子; [M+H+Na]⁺: 糖苷分子加钠; Y₀: 苷元; [Y₀⁺]: 苷元分子离子; [Y₀+H]⁺: 苷元准分子离子。[Y₀³⁺]: 准分子离子峰丢失 3 位糖苷后的离子; [Y₀⁷⁺]: 准分子离子峰丢失 7 位糖苷后的离子; [M-H]⁻: 负谱下的准分子离子峰; [Y₀³⁻]: 准分子离子峰丢失 3 位糖苷后的负离子; [M-H-CO₂]⁻: 准分子离子峰丢失 CO₂ 后的负离子; [Y₀-H]⁻: 负谱下的苷元准分子离子。

Note: n.a.: Data were not available. M: Glycoside molecular; [M]⁺: Glycoside molecular ion; [M+H]⁺: Glycoside molecular ion add hydrogen; [M+H+Na]⁺: Glycoside molecular ion add sodium; Y₀: Aglycone; [Y₀⁺]: Aglycone molecular ion; [Y₀+H]⁺: Aglycone molecular ion add hydrogen; [Y₀³⁺]: Glycoside molecular ion loss the 3-Glucose; [Y₀⁷⁺]: Glycoside molecular ion loss the 7-glucose; [M-H]⁻: Glycoside molecular ion loss hydrogen; [Y₀³⁻]: Glycoside molecular ion loss the 3-Glucose; [Y₀⁷⁻]: Glycoside molecular ion loss the 7-glucose; [M-H-CO₂]⁻: Glycoside molecular ion loss CO₂.

组分 f12 和 f15 的[Y₀⁺]为 m/z 287 显示其苷元为 Km 或 Lu, 但其带 II 显示其为 Lu 的紫外吸收特征。f12 的质谱显示其含有一个葡萄糖和一个鼠李糖, 在牡丹花瓣中检测到有木犀草素-7-新橙皮糖的存在(Li et al., 2009), 无论是新橙皮糖还是芸香糖都应该能检测到 m/z 449 而不可能有 m/z 433.1, 但 f12 的正谱中能发现 m/z 433.1 而没有 m/z 449 的存在。在负谱中 m/z 431.1 和 m/z 447 的相对丰度都为 2.73 %显示其为两个单糖, 而且取代的位置的稳定程度相近。f15 的二级质谱碎片显示其含有一个丙二酰葡萄糖和一个鼠李糖, f12 和 f15 的带 I 都为 348.2 显示其不可能为 B 环被糖取代, 因为 B 环上被糖取代会引起紫移特别是带 I, 而 f12 和 f15 的带 I 没有明显的紫移。所以判断 f12 为木犀草素-5-葡萄糖苷-7-鼠李糖苷或木犀草素-5-鼠李糖苷-7-葡萄糖苷。f15 为木犀草素-5-丙二酰葡萄糖苷-7-鼠李糖苷或木犀草素-5-鼠李糖苷-7-丙二酰葡萄糖苷, 具体谁与 5 位和 7 位连接位置尚不能确定。

2.3 花色素定量分析

芍药中的色素含量在不同时期差异明显, 具体含量见表 4。组分 a3 (芍药花素-3, 5-二葡萄糖苷, Pn3G5G) 是花青苷中的主要成分, 约占总花青苷含量 TA 的 93.93%, 其他 5 种花青苷 (组分 a1、a2、a4、a5、a6) 含量很低。花黄素中的主要成分是组分 f16 (山奈酚-3-葡萄糖苷, Km3G), 占总黄酮含量 TF 的 48.78%, 其次为 f20 (山奈酚-3-丙二酰葡萄糖苷, Km3MloG)、f11 (槲皮素-3-葡萄糖苷, Qu3G)、f4 (山奈酚-3, 7-二葡萄糖苷, Km3G7G)、f19 (异鼠李素-3-葡萄糖, Is3G), 分别占 TF 的 10.68%、9.45%、8.95%、7.75%。在花黄素中, 山奈酚糖苷占总糖苷的 73.86%, 槲皮素糖苷占 10.97%, 异鼠李素糖苷占 10.29%, 木犀草素糖苷占 4.27%。总体上花青苷含量随着花开放的过程先略增加后减少, 在松瓣期达到最高含量 (3 403.40 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$)。在谢花期只有 1 082.62 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$, 其中 a4 (Pn3G) 在谢花期已经检测不到了。花黄素先略减后增加, 除 f8 (Qu3GloG)

和 f10 (Lu7GloG) 外其它花黄素在盛花期或谢花期含量达到最大值。其中 f9 (Qu7G) 的含量由露色期的 $58.60 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ 增加到谢花期的 $1257.65 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$, 约增加了 21.5 倍。相对含量 (相对于阶段总量) 由 0.14% 增加到 2.05%。其他花黄素在各个时期相对于 TF 的含量变化不大。

表 4 不同开花阶段芍药花瓣中花青苷和花黄素的含量

Table 4 The contents of glycosides of anthocyanins and anthoxanthin in different

blooming stage of *P. lactiflora*

/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$)

组分 Peak No.	露色期 Pigmented stage	松瓣期 Unfold-petal stage	喧蕾期 Soft-bud stage	初开期 Initial-flowering stage	盛花期 Full-flowering stage	谢花期 Flower-wilting stage
a1	118.74 ± 22.57	133.97 ± 9.49	121.91 ± 6.39	104.34 ± 22.65	79.31 ± 3.64	44.59 ± 3.57
a2	47.94 ± 6.84	64.02 ± 11.84	52.24 ± 5.04	42.36 ± 5.97	42.13 ± 2.68	33.39 ± 2.69
a3	2669.46 ± 587.75	3134.55 ± 166.41	2881.90 ± 224.32	2418.87 ± 700.78	1982.45 ± 184.52	1026.59 ± 276.71
a4	33.55 ± 2.42	82.67 ± 39.17	30.19 ± 0.52	28.63 ± 2.77	19.08 ± 2.77	-
a5	37.60 ± 2.96	41.82 ± 3.56	35.68 ± 0.28	35.80 ± 3.35	31.44 ± 0.76	20.58 ± 2.10
a6	69.00 ± 4.50	66.37 ± 11.49	64.26 ± 2.91	62.87 ± 5.34	57.58 ± 4.49	45.02 ± 6.03
f1	43.71 ± 5.15	37.07 ± 13.93	42.46 ± 2.08	42.01 ± 1.64	42.20 ± 0.64	51.62 ± 3.29
f2	95.81 ± 17.45	205.20 ± 132.69	112.93 ± 6.29	92.55 ± 20.27	81.29 ± 5.16	112.89 ± 26.27
f3	132.71 ± 20.23	205.13 ± 70.64	132.82 ± 14.71	139.49 ± 23.09	110.63 ± 5.16	163.56 ± 17.45
f4	3787.28 ± 795.42	4148.04 ± 612.53	3624.66 ± 583.81	3490.55 ± 711.27	3596.38 ± 108.00	5748.99 ± 110.74
f5	273.30 ± 34.22	326.65 ± 8.56	267.48 ± 29.69	310.01 ± 57.22	254.57 ± 11.28	464.69 ± 21.72
f6	803.53 ± 68.78	845.81 ± 61.75	693.88 ± 58.65	752.39 ± 58.41	771.27 ± 36.76	1028.68 ± 36.35
f7	134.88 ± 5.52	137.84 ± 24.07	113.78 ± 8.54	139.07 ± 11.21	116.41 ± 9.64	151.96 ± 12.38
f8	228.77 ± 12.47	406.78 ± 105.00	328.45 ± 21.60	253.70 ± 11.65	284.79 ± 11.72	327.47 ± 14.44
f9	58.60 ± 5.66	470.83 ± 539.04	43.72 ± 5.92	40.95 ± 2.90	45.12 ± 2.08	1257.65 ± 346.65
f10	38.93 ± 16.66	42.12 ± 1.89	44.39 ± 2.37	49.58 ± 6.60	41.21 ± 17.51	-
f11	4236.95 ± 890.84	3656.72 ± 902.11	4642.93 ± 362.69	4194.81 ± 958.18	3738.38 ± 210.94	5084.49 ± 445.93
f12	530.12 ± 95.52	662.23 ± 324.19	368.92 ± 56.02	355.11 ± 89.13	353.02 ± 36.53	697.29 ± 39.98
f13	1036.84 ± 103.80	1803.83 ± 410.92	1596.10 ± 66.42	1122.53 ± 76.50	1613.55 ± 24.82	2043.50 ± 88.30
f14	72.73 ± 5.68	68.36 ± 13.50	50.89 ± 1.36	74.05 ± 9.86	57.85 ± 19.86	93.57 ± 2.86
f15	1114.30 ± 111.73	1071.39 ± 190.09	997.74 ± 104.12	1002.01 ± 162.09	1179.75 ± 52.93	1191.66 ± 103.99
f16	21297.83 ± 5459.34	17979.13 ± 5347.84	22614.65 ± 3557.73	18052.35 ± 4500.32	21623.97 ± 1130.72	30681.14 ± 1183.76
f17	65.33 ± 0.52	50.90 ± 12.21	56.76 ± 5.36	58.23 ± 8.27	71.44 ± 3.85	71.13 ± 9.65
f18	63.98 ± 7.73	55.64 ± 7.89	56.77 ± 4.66	114.32 ± 5.52	135.41 ± 12.46	84.22 ± 54.88
f19	3102.31 ± 629.34	2720.24 ± 855.46	3347.41 ± 335.02	3274.12 ± 774.50	3304.82 ± 195.58	5058.83 ± 438.29
f20	4576.77 ± 325.02	4269.23 ± 962.38	4660.36 ± 231.94	4451.92 ± 182.06	5595.85 ± 148.98	5819.70 ± 194.29
f21	286.08 ± 19.80	264.82 ± 56.24	282.25 ± 10.72	273.73 ± 11.57	329.55 ± 7.61	320.35 ± 13.06
f22	761.81 ± 30.98	684.12 ± 208.71	716.59 ± 36.77	803.35 ± 45.34	805.99 ± 52.05	887.37 ± 77.81
TF	42742.56 ± 8485.11	40112.10 ± 7114.64	44795.96 ± 5332.05	39086.83 ± 7671.84	44153.45 ± 1816.68	61340.74 ± 1364.13
TA	2856.29 ± 626.98	3403.40 ± 197.76	3066.16 ± 232.85	2571.33 ± 739.34	2099.02 ± 196.11	1082.62 ± 293.13

- : 未检测到。

- : Not identified.

2.4 开花过程中花色素含量的变化

在开花过程中, 总花青苷含量 TA、总黄酮含量 TF 从露色期到盛花期变化不大, 谢花期变化剧烈 (图 3)。花色素的总量 TA 由露色期的 $2856.29 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ 增加到松瓣期的 $3403.40 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$, 随后下降, 到谢花期降至最低 $1082.62 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ 。花黄素含量 TF 前 5 个时期略有波动, 到谢花期急剧升高。

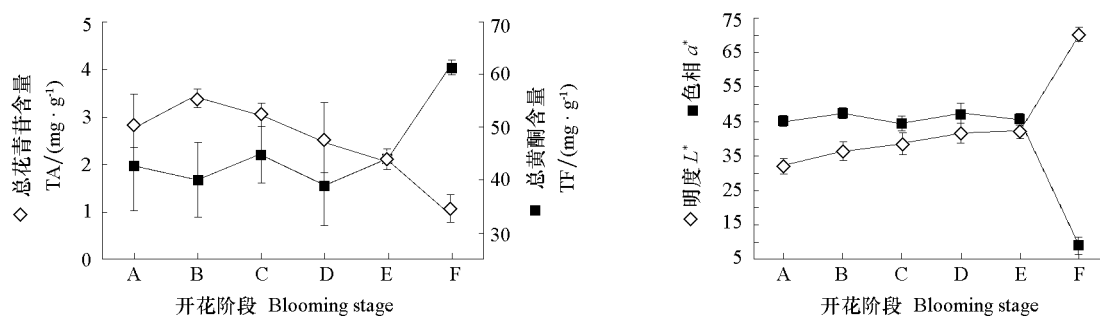


图3 开花过程中不同阶段色素含量和花色的变化

A: 露色期; B: 松瓣期; C: 暄蕾期; D: 初花期; E: 盛花期; F: 谢花期。

Fig. 3 Pigments composition and floral color changed during the blooming season

A: Pigmented stage; B: Unfold-petal stage; C: Soft-bud stage; D: Initial-flowering stage;

E: Full-flowering stage; F: Flower-wilting stage.

为了进一步研究色素组成与花色的关系,以描述花色的变量 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C^* 、 h 作为因变量,以花青苷的主要成分 a3,花黄素的主要成分 f4、f9、f11、f16、f19 和 f20 共 7 个因素作为自变量,进行了多元线性回归分析。采用逐步引入—剔除法 (stepwise)。

$$L^* = 30.336 + 0.172 f9 + 0.043 f19 - 0.030 a3, \text{ 调整 } R^2 = 0.924, P = 0;$$

$$a^* = 54.750 - 0.176 f9 - 0.048 f19 + 0.030 a3, \text{ 调整 } R^2 = 0.956, P = 0;$$

$$C^* = 55.262 + 0.041 a3 - 0.208 f9 - 0.043 f11, \text{ 调整 } R^2 = 0.968, P = 0.$$

由于判定系数 R^2 的值会随进入回归方程的自变量的个数的增加而增大,而调整判定系数—调整 R^2 (Adjusted R Square) 能修正 R^2 的这种误差。由方程的回归系数 R 和显著程度 P 可以看出,芍药的花色与色素组分之间存在极显著的相关 ($P < 0.01$),且回归方程系数的绝对值大小可直接判断色素组成对花色贡献的大小。

明度 L^* 值表示花色的明亮程度,回归方程表明 f9 (Qu7G) 和 f19 (Is3G) 与 L^* 呈正相关, a3 (Pn3G5G) 与 L^* 呈负相关。在开花过程中,由于花青苷含量降低,花黄素含量升高从而使芍药在开花过程中明度增加。

色相 a^* 值正的方向反映花瓣红色程度, a^* 值越大,花色越红。回归方程表明 f9 (Qu7G) 和 f19 (Is3G) 与色相 a^* 值呈负相关。a3 (Pn3G5G) 与色相 a^* 值呈正相关。在开花过程中,花青苷含量降低,花黄素含量升高,尤其是 f9 (Qu7G) 的升高是导致芍药在开花过程中红色减退的重要原因。

彩度 C^* 与 a3 (Pn3G5G) 成正相关,与 f9 (Qu7G) 和 f11 (Qu3G) 成负相关。芍药在开花过程中 Pn3G5G 含量的降低,花黄素尤其是 Qu7G 含量的增加是导致彩度 C^* 降低的主要原因。在芍药中作为辅助色素的黄酮、黄酮醇表现出减色效应。

3 讨论

3.1 种间色素组成比较

在芍药中发现的 6 种花青苷中前 4 种 (Cy3G5G、Pg3G5G、Pn3G5G、Pn3G) 已有相关报道。前人在法国品种 ‘Sarah Bernhardt’ 中检测到 Pg3G, 欧洲野生芍药中检测到 Pn3G5Ara, 新疆芍药 (*P. anomala*) 检测到 Cy3G5Gal, 川赤芍 (*P. anomala* subsp. *veitchii*) 检测到的 Pg3G5Gal, ‘玉墨楼’ 中检测到 Cy3G (Hosoki & Seo, 1991; Jia et al., 2008a, 2008b)。这几种花青苷在芍药中尚未发现。

而芍药中的 Peonidin-3-*O*-galloyl glucoside-5-*O*-glucoside、Peonidin-3-*O*-malonyl glucoside-5-*O*-glucoside 未见报道。可见不同品种间的色素构成有很明显的差异, 因此对芍药花色素的研究可对芍药的化学分类及种质鉴定提供依据。芍药花瓣中花黄素的研究比较少, 只发现过有 Km3G 和 Km3G7G 的报道(张继振 等, 1998)。芍药中还发现了其他两种黄酮(Lu7GloG、Lu7Ara)和 13 种黄酮醇(Qu3G7G、Is3G7G、Km3MloG7G、Qu3GloG、Qu7G、Qu3G、Km3GloG、Km7G、Is3GloG、Km3Ara、Is3G、Km3MloG、Is7Ara), 且均为首次报道。

3.2 花色变化原因

芍药在开花过程中整体上花色明度增加, 红色和彩度都降低。研究发现这与花青苷和花黄素的含量有关。TA 降低和 TF 升高使花瓣表现出褪色现象。其中 Pn3G5G 含量的降低, Qu3G、Qu7G、Is3G 含量的增加是主要原因。色素含量的降低可能是由于花朵开放后暴露在日光和空气下引起色素的降解和氧化。另外, 花瓣面积的扩大速度比色素的合成速度要快, 也可能导致单位面积色素含量下降(安田 齐, 1989)。可见要使芍药保持鲜艳的红紫色, 就要增加 Pn3G5G 的含量, 降低 Qu3G、Qu7G、Is3G 的含量。

作为传统中药的芍药根中含有芍药苷等多种药物成分, 具有扩张血管、降压镇痛、清热解痉的作用(成明亮 等, 2007)。牡丹花瓣中的槲皮素糖苷、山奈酚糖苷、木犀草素糖苷显示出很强的抗氧化活性(Li et al., 2009)。从试验中发现芍药花瓣中含有大量的黄酮苷和黄酮醇苷类化合物。从综合利用角度看, 芍药除作园林观赏外, 还具有一定的药用开发前景。

References

- Asen S, Budin P. 1966. Cyanidin 3-arabinoside-5-glucoside, an anthocyanin with a new glycosidic pattern, from flowers of 'Red Wing' azaleas. *Phytochemistry*, 5 (6): 1257 - 1261.
- Chen sha, Wu Ben-hong, Fang Jin-bao, Liu Yan-ling, Zhang Hao-hao, Fang Lin-chuan, Guan le, Li Shao-hua. 2012. Analysis of flavonoids from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves using high performance liquid chromatography/photodiode array detector tandem electrospray ionization mass spectrometry and an extraction method optimized by orthogonal design. *Journal of Chromatography A*, 1227: 145 - 153.
- Cheng Fang-yun, Gao Shui-ping, Yu Xiao-nan. 2009. Stage identification and morphological types of bud maturity or flowering in *Paeonia lactiflora* cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (4): 611 - 613. (in Chinese)
- 成仿云, 高水平, 于晓南. 2009. 芍药花蕾成熟及开花的阶段划分与形态类型. *园艺学报*, 36 (4): 611 - 613
- Cheng Ming-liang, Lü Chang-ping, Mo Ning-jie, Liu Lin-yan, Yi Qing. 2007. Research progress of *Paeonia lactiflora*. *Forest Inventory and Planning*, 32 (3): 44 - 49. (in Chinese)
- 成明亮, 吕长平, 莫宁捷, 刘林艳, 易 清. 2007. 芍药的研究进展. *林业调查规划*, 32 (3): 44 - 49.
- Cuyckens F, Claeys M. 2004. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of Mass Spectrom*, 39: 1 - 15.
- Donner H, Gao L, Mazza G. 1997. Separation and characterization of simple and malonylated anthocyanins in red onions, *Allium cepa* L. *Food Research International*, 30 (8): 637 - 643.
- Fossen T, Andersen O M. 1998. Cyanidin 3-*O*-(6''-succinyl- β -glucopyranoside) and other anthocyanins from phragmites australis. *Phytochemistry*, 49 (4): 1065 - 1068.
- Harborne J B. 1958a. Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochem Journal*, 70 (1): 22 - 28.
- Harborne J B. 1958b. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. *Journal of Chromatography A*, 1: 473 - 488.
- Harborne J B. 1963. Plant polyphenols IX. The glycosidic pattern of anthocyanin pigments. *Phytochemistry*, 2 (1): 85 - 97.
- Hosoki T, Seo M. 1991. Flower anthocyanins of herbaceous peony. *Bull Fac Agr Shimane Univ*, 25: 11 - 14.
- Jia Ni, Shu Qing-yan, Wang Dan-hua, Wang Liang-sheng, Liu Zheng-an, Ren hong-xu. 2008a. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry in herbaceous peony species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133 (3): 418 - 426.

- Jia Ni, Shu Qing-yan, Wang Liang-sheng, Du Hu, Xu Yan-jun, Liu Zheng-an. 2008b. Analysis of petal anthocyanins to investigate coloration mechanism in herbaceous peony cultivars. *Scientia Horticulturae*, 117 (2): 167 - 173.
- Keyume Ablajian. 2006. Study on the mass spectrometric analytical method of flavonoid glycosides [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Chinese Academy of Medical science & Peking Union Medical College. (in Chinese)
- 阿布拉江·克依木. 2006. 黄酮苷类天然产物的质谱分析方法研究 [博士论文]. 北京: 中国协和医科大学.
- Li Chong-hui, Du Hui, Wang Liang-sheng, Shu Qin-yan, Zheng Yuan-run, Zhang Jing-jing, Zhang Jie, Yang Rui-zhen, Ge Yu-xuan. 2009. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* Section Moutan) yellow flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 8496 - 8503.
- Li Chong-hui. 2010. The flavonoid composition in tree peony petal and their effects on the coloration [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Institute of Botany, the Chinese Academy of Science. (in Chinese)
- 李崇晖. 2010. 牡丹花瓣黄酮成分分析及其对花色的影响 [博士论文]. 北京: 中国科学院植物研究所.
- Ling Wen-hua, Guo Hong-hui. 2009. Anthocyanidin of flora. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 凌文华, 郭红辉. 2009. 植物花色苷. 北京: 科学出版社.
- Mabry T J. 1970. The systematic identification of flavonoids. New York: Springer-Verlag.
- Markham K R. 1982. Techniques of flavonoid identification. London, Britain: Academic Press: 5 (6): 37 - 51.
- Phytochemistry Laboratory, Shanghai Institute of Materia Medica, CAS. 1981. Identification handbook of flavonoid compounds. Beijing: Science Press: 448 - 475. (in Chinese)
- 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 1981. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京: 科学出版社: 448 - 475.
- Seeram N P, Bourquin L D, Nair M G. 2001. Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4924 - 4929.
- Steimer Sarah, Sjöberg Per J R. 2011. Anthocyanin characterization utilizing liquid chromatography combined with advanced mass spectrometric detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (7): 2988 - 2996.
- Sun Fang, Shen Li-ming, Ma Zhong-jun. 2011. Screening for ligands of human aromatase from mulberry (*Mori alba* L.) leaf by using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 126: 1337 - 1343.
- Terreaux C, Wang Q, Ioset J, Ndjoko K, Grimminger W, Hostettmann K. 2002. Complete LC/MS analysis of a *Tinneveli senna* pod extract and subsequent isolation and identification of two new benzophenone glucosides. *Planta Med*, 68 (4): 349 - 354.
- Wang Ai-jing, Liu Xiao-dong, Liu Xiang-huan, Yang Yang, Wang Feng-ji. 2009. Purification and identification of red pigment in Chinese herbaceous peony flowers. *Journal of Northeast Forestry University*, 37 (5): 74 - 76. (in Chinese)
- 王爱晶, 刘晓东, 刘香环, 杨 扬, 王奉吉. 2009. 芍药花红色素的分离及初步鉴定. *东北林业大学学报*, 37 (5): 74 - 76.
- Wang Liang-sheng, Shiraishi A, Hashimoto F, Aoki N, Shimizu K, Sakata Y. 2001. Analysis of petal anthocyanins to investigate flower coloration of Zhongyuan (Chinese) and Daikon Island (Japanese) tree peony cultivars. *Journal of Plant Research*, 114 (1113): 33 - 43.
- Wu Chun-yan, Xu Hai-rong, Héritier J, Andlauer W. 2012. Determination of catechins and flavonol glycosides in Chinese tea varieties. *Food Chemistry*, 132: 144 - 149.
- Yang Rui-zhen, Wei Xiao-lei, Gao Fen-fang, Wang Liang-sheng, Zhang Hui-jin, Xu Yan-jun, Li Chong-hui, Ge Yu-xuan, Zhang Jing-jing, Zhang Jie. 2009. Simultaneous analysis of anthocyanins and flavonols in petals of lotus (*Nelumbo*) cultivars by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216 (1): 106 - 112.
- Yasuda H. 1989. The riddle of the flower color. Zhang Zhi-cheng, Tong Li, Trans. Beijing: China Forestry Publishing House: 137 - 149. (in Chinese)
- 安田 齐. 1989. 花色之谜. 张志承, 佟 丽, 译. 北京: 中国林业出版社: 137 - 149.
- Zhang Jing-jing, Wang Liang-sheng, Shu Qing-yan, Liu Zheng-an, Li Chong-hui, Zhang Jie, Wei Xiao-lei, Tian D K. 2007. Comparison of anthocyanins in non-blotches and blotches of the petals of Xibei tree peony. *Scientia Horticulturae*, 114 (2): 104 - 111.
- Zhang Ji-zhen, Sun Li-ming. 1998. The progress on chemical ingredients of herbaceous peony. *Journal of Yanbian University: Natural Science*, 24 (3): 63 - 70. (in Chinese)
- 张继振, 孙黎明. 1998. 芍药化学成分的研究进展. *延边大学学报: 自然科学版*, 24 (3): 63 - 70.