

番茄及其制品中番茄红素含量的 C₁₈-HPLC-PDA 定量分析

刘沐霖¹, 惠伯棣^{2,*}, 庞克诺¹

(1.新疆红帆生物科技有限公司, 新疆焉耆 841100; 2.北京联合大学应用文理学院, 北京 100083)

摘要:目的: 建立一种可靠的测定番茄及其制品中番茄红素含量的 C₁₈-HPLC-PDA 方法。色谱条件: 固定相为 DIAMONSIL™ 柱(Dikma Technologies, 250 × 4.6mm, 5 μm); 流动相 A 为乙腈:水(9:1); 流动相 B 为乙酸乙酯; 线性梯度洗脱: 在 15min 内, 流动相 B 由 0% 增为 100%(V/V), 随后 5min, 流动相 B 保持 100%; 流速 1.0ml/min, PDA 波长范围 260 ~ 600nm; 色谱图检测波长 471nm; 进样量 20 μl; 柱温 = 室温。结果: 此方法的定量限为 0.10 μg/ml, 质量浓度在 0.10 ~ 25.60 μg/ml 范围内浓度与组分峰面积的线性相关系数为 0.9994, RSD 为 2.6%, 回收率为 99.3%。结论: 这是一种番茄及其制品中番茄红素含量测定的可靠方法。

关键词: 番茄红素; 定量分析; HPLC

Quantitative Analysis of Lycopene from Tomato and Its Processed Products by C₁₈-HPLC-PDA

LIU Mu-lin¹, HUI Bo-di^{2,*}, PANG Ke-nuo¹

(1.Xinjiang Tomato Red Co. Ltd. of Biological Science and Technology, Yanqi 841100, China ;
2.College of Applied Arts and Sciences, Beijing Union University, Beijing 100083, China)

Abstract : Objective: This study aims to develop a reliable quantitative detection method of lycopene from tomato and processed products by C₁₈-HPLC-PDA. Chromatographic conditions: stationary phase DIAMONSIL™ column (Dikma Technologies, 250 × 4.6 mm, 5 μm); mobile phase A acetonitrile-water (9:1); mobile phase B ethyl acetate; linear gradient: an increased mobile phase B from 0 to 100% (V/V) in 15 minutes followed by 100% B for 5 minutes; flow rate 1.0 ml/min; PDA wavelength range 260 ~ 600 nm; monitoring wavelength on chromatogram 471 nm; injection volume 20 μl; column temperature: room temperature. Results: Minimum detection limit of this method is 0.10 μg/ml. In the range of 0.10 ~ 25.60 μg/ml, linear correlation coefficient between the concentration and peak area of lycopene fraction 0.9994 RSD 2.6%, recovery 99.3%. Conclusion: This method is reliable to detect lycopene amount from tomato and processed products quantitatively.

Key words : lycopene ; quantitative analysis ; HPLC

中图分类号: O629.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0453-03

番茄红素是一种在自然界中普遍存在类胡萝卜素。它不仅显示出很强的着色能力,还能在体内发挥出色的生物学功能,尤其是在防、治疾病功能方面,如:(1)较强的淬灭单线态氧和清除自由基能力,可避免细胞的氧化损伤;(2)促进细胞间的通讯连接;(3)阻止低密度脂蛋白(LDL)氧化;(4)预防和治疗前列腺疾病;(5)活化免疫细胞;(6)延缓衰老等。目前,番茄提取物已作为功能性食品和食品着色剂使用,具有满意的食品着色和体内保健效果。因此,番茄红素已成为消费者认可的营养素^[1]。

在人们的日常食物中,番茄及其制品(如:番茄酱、番茄汁、番茄果实萃取物制成的软胶囊等)是番茄红素的重要来源。检测其中番茄红素的含量是评价这些食品质量的重要内容^[2]。

番茄红素的定量分析主要依靠对其电子吸收光谱的测量。采用电子吸收光谱法测定番茄红素含量的方法对于番茄红素人工合成品比较适宜,但用于番茄及其制品中番茄红素含量的检测时所得检测值往往大于真实值。其原因是番茄及其制品中除番茄红素外还含有其它类胡萝卜素,如 β-胡萝卜素。这些类胡萝卜素在检测波长

收稿日期: 2007-05-25

* 通讯作者

基金项目: 北京市自然科学基金对外合作项目(SZ200511417020)

作者简介: 刘沐霖(1965-), 工程师, 硕士, 主要从事化学工程研究。

下有一定的光吸收,导致检测值偏高。因此,采用色谱方法首先将番茄及其制品的萃取物中番茄红素与其它类胡萝卜素分离,排除其干扰,再对番茄红素组分进行检测是十分必要的。

HPLC 是分离类胡萝卜素类化合物最有效的色谱技术。在配备了二极管阵列检测器(PDA)的 HPLC 上可收集被分离的类胡萝卜素组分的电子吸收光谱,从而可直接对其定量。在过去的 20 年中, C₁₈ 固定相在分离类胡萝卜素的工作中得到大量的应用。尤其是在乙腈-水和乙酸乙酯流动相中番茄红素和其它类胡萝卜素的分离效果良好。因此,在本项研究中,应用 C₁₈-HPLC-PDA, 建立对番茄及其制品中番茄红素的定量检测方法。这一方法的形成将在番茄及其制品的质量评估、食品和生物材料中番茄红素的定量检测中有显著的现实意义^[3-5]。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

HPLC-PDA 梯度洗脱系统由 Waters 1575 和 Waters 2996 组成。色谱设备的重复性良好。

1.2 试剂

丙酮、二氯甲烷、石油醚(BP: 30~60) 分析纯试剂,北京化工厂;乙酸乙酯和乙腈 色谱纯试剂, Dikma Technologies 提供,使用前用 0.45 μm 的微孔滤膜(Millpore 公司)过滤。配制流动相所用的水为经过逆流渗透处理的超纯水。番茄红素参比样品(P/N: L9879)由 Sigma 公司提供,纯度为 90%~95%(W/W),使用前没有经过进一步纯化。

1.3 番茄及其制品

鲜番茄果实、番茄酱、番茄汁 市售;番茄红素软胶囊 新疆红帆生物科技有限公司提供。

1.4 标准工作液的配制

准确称取番茄红素参比样品 2mg, 加入 1ml 二氯甲烷溶解, 转移至 50ml 棕色容量瓶中, 用石油醚定容至 50ml, 配制成 36mg/L 的储备液, 保存于 -20℃ 冰箱中。使用前用石油醚配成含量适合的工作液, 用于 HPLC 分析。

1.5 样品制备

1.5.1 番茄果实

将 200~250g 果实切成碎块放入捣碎机中捣碎。捣碎时加入 1g 碳酸钠以中和细胞破碎时释放出的有机酸。收集果实匀浆。称取 1g 果实匀浆, 加少量石英砂和丙酮(4 倍, V/W)研磨, 研磨后静置, 用滴管小心移出上清液, 多次重复直至上清液和残渣均为无色。合并收集上清液, 用丙酮定容至 25ml。

1.5.2 番茄酱和汁

将 200~250g 番茄酱或汁置于 500ml 烧杯中。称取 1g 酱或汁, 加少量石英砂和丙酮(4 倍, V/W)研磨, 研磨后静置, 用滴管小心移出上清液, 多次重复直至上清液和残渣均为无色。合并收集上清液, 酱样品萃取物用丙酮定容至 100ml, 汁样品萃取物用丙酮定容至 25ml。

1.5.3 番茄红素胶囊内容物

将番茄红素软胶囊破壁, 收集内容物。称取内容物约 0.1g(准确至 0.0002g)于 50ml 锥形瓶中, 加入约 5~10ml 的二氯甲烷, 超声波震荡, 使其完全溶解, 将溶液移入 100ml 棕色容量瓶中, 用石油醚定容, 混匀。移取 2ml 溶液于 50ml 棕色容量瓶中, 用石油醚定容, 摇匀, -20℃ 充氮保存, 用于 C₁₈-HPLC-PDA 分析。分析前用 0.22 μm 滤膜过滤。

1.6 色谱条件

C₁₈ 固定相: DIAMONSIL™ 柱(Dikma Technologies, 250 × 4.6mm, 5 μm); 流动相 A: 乙腈:水=9:1; 流动相 B: 乙酸乙酯; 线性梯度洗脱: 在 15min 内, 流动相 B 由 0 增为 100%(V/V), 随后 5min 内, 流动相 B 保持 100%; 流速: 1.0ml/min, PDA 检测器波长设定范围: 260~600nm; 色谱图检测波长: 471nm; 进样量: 20 μl; 柱温: 室温。

1.7 数据处理

样品的制备与检测需重复六次, 取平均值, RSD < 5%。

注意事项:

(1) 除氧 使用氮气作为保护剂。溶液中的氧气可以被氮气通过毛细管深入到溶液中吹动赶走。

(2) 温度控制 高温可能会促使番茄红素分子发生 E/Z 异构化。因此, 番茄红素的操作和处理应该在尽可能低的温度下进行。大体积的溶液一般在不超过 40℃ 的水浴中用旋转蒸发器来减压浓缩。小体积(< 5ml)的溶液可直接用温和的氮气流吹拂来蒸发浓缩。含有番茄红素组分的溶液应该贮存在 -20℃ 的条件下。

(3) 避光 涉及番茄红素的必须避紫外线以及阳光。所有的操作都应该在散射的自然光或柔和的人工光下进行。溶剂应当贮存在暗色的玻璃瓶中。

(4) 避免酸 番茄红素与酸的接触应严格地避免。

(5) 试剂的纯度 尽可能的使用分析纯、色谱纯甚至光谱纯的试剂作溶剂。

(6) 避免高分子化合物的污染 不能使用塑料容器、吸管或塞子。塑料材料(如: 聚乙烯)有可能进入作为溶剂的有机试剂中。

2 结果与分析

2.1 参比样品的色谱行为和光谱特征

对番茄红素参比样品进行色谱分离获得参比样品的色谱图(图 1)和组分 I 的电子吸收光谱(图 2)。根据其色谱行为和光谱特征确定组分 I 为番茄红素。

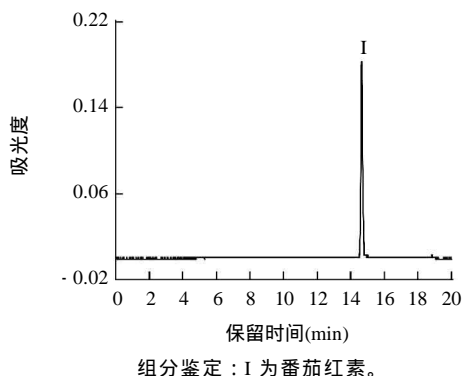


图 1 番茄红素参比样品 C₁₈-HPLC 色谱图

Fig.1 C₁₈-HPLC chromatogram of lycopene reference

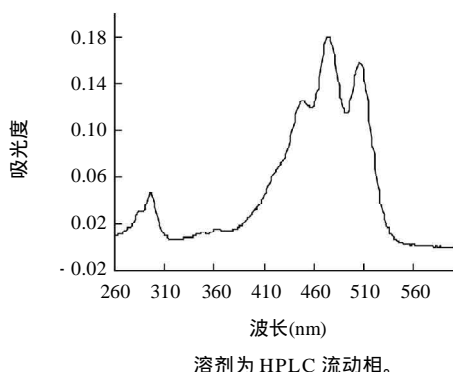


图 2 番茄红素参比样品电子吸收光谱图

Fig.2 Electronic absorption spectrum of lycopene reference

2.2 线性关系

用外标法在 C₁₈-HPLC-PDA 上测定番茄红素组分与其峰面积的线性关系。准确吸取一定体积的番茄红素标准储备液，配制九个不同质量浓度的标准样品。分别取 20 μl 进样，得到回归曲线(见图 3)，回归方程：

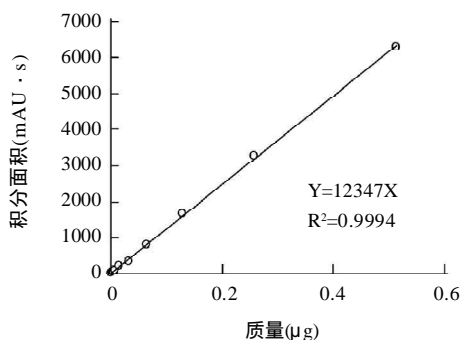


图 3 番茄红素组分的质量与其峰面积的线性关系

Fig.3 Linear correlation between amount and peak area of lycopene fraction

$Y=12347X$, $R^2=0.9994$, 线性区间为: 0.1 ~ 25.6 μg/ml。结果表明, 在该实验条件下, 番茄红素组分的质量与其峰面积线性关系良好。

2.3 检测下限

按信噪比为 2 计算检出下限。在此条件下番茄红素组分的检出下限为 0.01 μg/ml。

2.4 重复性分析

将番茄红素标准溶液平行测定六次, 计算各标准样品浓度的平均值和相对标准偏差(RSD), 结果见表 1。

表 1 重复性分析(n=6)
Table 1 Reproducibility assessment (n=6)

番茄红素检出浓度(mg/g)	61.4	60.6	61.2	60.9	60.8	60.5
平均值(mg/g)	60.9					
RSD(%)	2.6					

2.5 回收率分析

回收率实验采用加外标回收法。配制浓度为 10mg/g 的番茄红素参比样品溶液, 按 1:1(V/V)的比例添加到番茄红素软胶囊内容物萃取液中, 用氮气吹拂蒸发浓缩至体积减半。按前述方法处理样品并测定, 结果见表 2。

表 2 回收率分析(n=6)
Table 2 Recovery assessment (n=6)

参比样品添加量(mg/g)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
番茄红素检出浓度(mg/g)	71.1	70.8	70.6	71.0	71.0	70.5
回收率(%)	102	99.0	97.0	101	101	96.0
平均值(%)	99.3					
RSD(%)	2.0					

2.6 番茄及其制品中番茄红素含量测定

图 4 为番茄果实萃取物的 C₁₈-HPLC 色谱图。根据其色谱行为(保留时间)和光谱特征(最大吸收波长和光谱精细特征)与参比样品的比较, 组分 I 鉴定为番茄红素。根据已有的报道^[3-5], 组分 II 鉴定为 β-胡萝卜素。

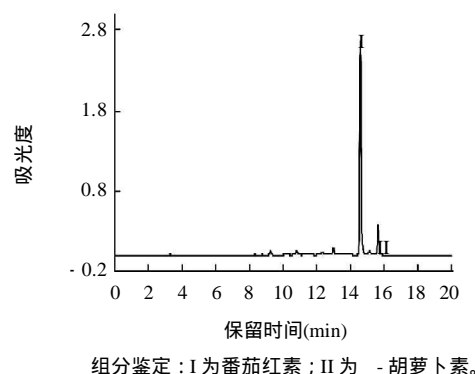


图 4 番茄果实萃取物的 C₁₈-HPLC 色谱图

Fig.4 C₁₈-HPLC chromatogram of tomato fruit extract

应用此方法对番茄果实及其制品中番茄红素含量的

气相色谱法快速检测白酒中醇和酯

王会锋, 李 瑾, 林秋萍

(农业部农产品质量监督检验测试中心, 河南 郑州 450002)

摘 要: 气相色谱法快速检测白酒中的六种醇和两种酯。在 0.06 ~ 3.3g/L 之间有很好的线性范围, $R=0.999$ 以上; 回收率为 90% ~ 99%; 检出限为 0.2 ~ 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 。此方法在生产监控过程中快速、简便。

关键词: 醇; 酯; 气相色谱法

Fast Quantitative Determination of Alcohol and Ester in Distilled Spirit by Gas Chromatography

WANG Hui-feng, LI Jin, LIN Qiu-ping

(Agricultural Product Analyzing Center, Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Rapid determination of 6 kinds of alcohol and 2 kinds of ester in distilled spirit by GC was studied. The linear range was in 0.06 ~ 3.3 g/L, and its correlation coefficient was $R=0.999$. The recovery rate was 90% ~ 99%. The detection limit was 0.2 ~ 1.5 $\mu\text{g/ml}$. This method is simple and fast in production monitoring process.

Key words: alcohol; ester; GC

中图分类号: O657.71

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0456-03

白酒的主要成分是醇类, 醇类中除乙醇外, 还有少量的仲丁醇、正丙醇、异丁醇、正丁醇、异戊醇等, 通常称它们为杂醇油^[1]。杂醇油是酒的芳香成分之一, 对酒的风味很有影响, 但含量过高, 对人们有毒害作用, 它的中毒和麻醉作用比乙醇强, 能使神经系统充血, 使人头痛, 其毒性随分子量增大而加剧, 其中以异丁醇、异戊醇的毒性较大。

甲醇也是白酒生产中的有害物质之一, 甲醇对人体的毒性作用较大。白酒饮用过多, 甲醇在体内有积蓄作用, 不易排出体外, 所以极少量的甲醇也能引起慢

性中毒。发生急性中毒时, 会出现头痛、恶心、胃部疼痛、视力模糊等症状, 继续发展可出现呼吸困难, 呼吸中枢麻痹, 昏迷甚至死亡。慢性中毒主要表现为粘膜刺激症状、眩晕、昏睡、头痛、消化障碍、视力模糊和耳鸣等, 以致双目失明。

酯类是具有芳香的化合物, 在各种香型白酒中起着重要作用, 是形成酒体香气浓郁的主要因素, 己酸乙酯、乳酸乙酯和乙酸乙酯是白酒的重要香味成分。所以在白酒的生产和勾兑中及时检测以上指标, 是质量控制所必须的。通过大量的实验, 用一根毛细管柱, 在

收稿日期: 2007-06-15

作者简介: 王会峰(1982-), 研究实习员, 本科, 主要从事食品安全检测。

表3 番茄及其制品中的番茄红素含量

Table 3 Lycopene amount of tomato and processed products

样品	番茄红素含量(mg/g)	备注
番茄果实	0.08	
番茄酱	0.34	同一产品随机抽样
番茄汁	0.09	同一产品随机抽样
番茄红素软胶囊内容物	60.31	同一产品随机抽样

测定结果见表3。

参考文献:

- [1] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学及生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 261-265.
- [2] 李京, 惠伯棣, 裴凌鹏. 番茄红素-被关注的功能因子[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 461-464.
- [3] 惠伯棣, 欧阳清波, 曾悦. 植物食品中类胡萝卜素的高压液相色谱检测[J]. 中国食品添加剂, 2002(5): 72-82.
- [4] 李京, 惠伯棣, 裴凌鹏. 番茄果实成熟过程中类胡萝卜素含量的变化[J]. 中国食品学报, 2006, 6(2): 122-125.
- [5] 惠伯棣, 李京, 孙拿拿, 等. 番茄和胡萝卜中类胡萝卜素的 C_{30} 与 C_{18} HPLC 分离[J]. 中国食品卫生杂志, 2006(4): 289-292.