

高效液相色谱法测定混合环糊精中 α -环糊精的含量

毛勇, 邓媛, 李皎

(陕西省微生物研究所, 西安 710043)

摘要: 环糊精在工业生产中的产物是由 α -CD, β -CD, γ -CD 和糖类等混合而组成, α -CD 相对于 β -CD, γ -CD 具有更小的空腔, 更适于包结相对较小分子量的化合物。目前在实际工作中 α -环糊精的测定主要利用紫外分光光度计显色法进行, 由于混合环糊精中还含有 β , γ -CD 及麦芽糊精, 互相间有很大干扰, 耗时长, 操作复杂。为准确测定产物中 α -CD 的含量, 本研究利用高效液相色谱法测定混合环糊精中 α -环糊精的含量。色谱柱为 Spherigel C₆H₅ (5 μ m 300 \times 3.9mm), 采用流动相为 v(甲醇): v(水) (5: 95) 溶液进行洗脱, 流速为 1.0mL/min, 检测器为示差折光检测器, 柱温 40 $^{\circ}$ C。 α -环糊精的线性范围为 0.1mg/mL~10mg/mL, 加样回收率 (n=6) 为 98.46%, RSD (n=6) 0.12%。本方法简便、灵敏、准确, 可用于 α -环糊精的含量测定和质量控制。

关键词: α -环糊精; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: Q539 文献标识码: A 文章编号: 1006-2513(2010)03-0237-03

Study of HPLC in the determination of α -Cyclodextrin within mixed-cyclodextrins

MAO Yong, DENG Yuan, LI Jiao

(Shaanxi Microbiology Institute, Xi'an 710043)

Abstract Cyclodextrins in industrial productions is a mixture of α -CD, β -CD, γ -CD and sugars. Compared to β -CD, γ -CD, the cavity of α -CD is smaller and more suitable for the inclusion of smaller molecular weight compounds. At present, the determination of α -cyclodextrin is mainly carried out by UV spectrophotometry. This method is time-consuming and complicated due to the multitude of interferences from β , γ -CD and maltodextrin in the mixed CD. This study established a rapid and accurate determination of α -Cyclodextrin by HPLC (high performance liquid chromatograph). The Spherigel C₆H₅ column (5 μ m 300 \times 3.9mm) was applied using methanol-water (5: 95 v/v) as the solvent, the flow rate was 1.0mL/min (Column temperature 40 $^{\circ}$ C). The results were obtained that quantitative linear range of α -Cyclodextrin was 0.1mg/mL~10mg/mL, average recovery rate (n=6) was 98.46% and RSD (n=6) was 0.12%. The method is specific, sensitive and simple for the determination of α -Cyclodextrin and may be useful in quality controls.

Key words α -Cyclodextrin; HPLC; determination

收稿日期: 2009-05-18

作者简介: 毛勇 (1964-), 陕西省微生物研究所助理研究员, 主要从事仪器分析检测工作。

环糊精是由环状糊精葡萄糖基转移酶 (CGTase) 作用于直链淀粉生成的一系列由吡喃葡萄糖单元组成的环状化合物。 α -环糊精 (α -Cyclodextrin, 简称 α -CD) 是由 6 个葡萄糖单元通过 α -1, 4 糖苷键环状相连接的结晶体 (见图 1), 其整个分子呈圆台结构, 外部羟基具有亲水作用, 空腔内部为疏水性空间, 因此环糊精具有和其他分子形成包结物的能力, 从而在食品、医药、日用品、化学工业和农业中有着广泛的应用^[1]。

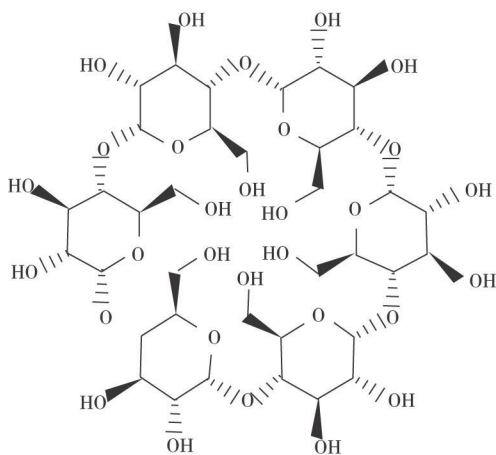


图 1 α -环糊精结构图

目前, 环糊精的应用主要集中于 β -环糊精, α -环糊精仅处于研究阶段, 国内没有工业化生产。但由于 α -环糊精空腔内部小, 可以针对性包结相对较小分子量的化合物, 并且 α -环糊精还具有一定生理活性, 可以在体内产生多种有益的作用, 它不仅抑制肠道中有害杂菌生长, 而且还有助于抑制餐后血糖的升高, 有望成为一种新兴的保健食品原料, 具有光明的市场前景^[3]。

α -环糊精是混合环糊精的主要成分, 目前在实际工作中 α -环糊精的测定主要利用分光光度计显色法进行, 由于混合环糊精中还含有 β 、 γ -CD 及麦芽糊精, 互相间有很大干扰, 耗时长, 操作复杂^[4-7]。本研究利用高效液相色谱法测定混合环糊精中 α -环糊精的含量, 具有操作简便, 干扰小, 灵敏度高优点, 只需要在一般的高效液相色谱上就能进行。

1 主要材料和仪器设备

1.1 材料

甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧试剂); 超纯水; α -环糊精 (标样, 购于 Sigma 公司); 样品 (西安敬业生物药物科技有限公司)。

1.2 仪器设备

美国科学系统公司 Series III 液相色谱仪; 色谱柱 (Spherigel C₆H₅ 5 μ m 300 \times 3.9mm); 检测器 (K-2301 型示差检测器); ACO-3102 真空脱气泵; OV-2000 柱温箱; Anastar 色谱工作站; 微孔过滤器。

2 色谱条件及适用性试验

2.1 色谱条件

色谱柱: Spherigel C₆H₅ 5 μ m 300 \times 3.9mm;
流动相: 甲醇 : 水 (5 : 95 v/v);
流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μ L; 柱温: 40 $^{\circ}$ C。

2.2 适用性试验

精密吸取标准溶液, 注入色谱仪, α -环糊精的理论塔板数 4200, 峰不对称因子 A_s 为 1.08, 重复性 RSD 0.12%, 表明系统适用性良好。

3 试验方法

3.1 标准样液的配制

精确称取 α -环糊精标样 0.100g, 用超纯水定容至 10mL, 配成浓度为 10mg/mL 的标准溶液。然后分别稀释成 4mg/mL、2mg/mL、1mg/mL、0.5mg/mL、0.1mg/mL、0.05mg/mL 标准溶液。

3.2 供试品溶液的配制

精确称取 α -环糊精样品 0.100g, 用超纯水定容至 50mL, 配成浓度为 2mg/mL 的溶液, 用微孔过滤器过滤即得。

3.3 精密度试验

精密吸取 3.1 中的标准溶液 (2mg/mL), 连续进样 6 次, 测 α -环糊精峰面积, 结果见表 1。

表 1 方法的精密度测定

测定次数	1	2	3	4	5	6
峰面积	185743	185490	185297	185692	185161	185352
\bar{A}	185456					
RSD (%)	0.12					

测定结果表明, 用本方法测定 α -环糊精, 具有较好的重复性, RSD (%) 为 0.12 表明仪器精密度良好。

3.3 回收率试验

称取已知含量的样品 6 份, 各约 1g 定容至 10mL, 精确加入加入 0.5mg/mL 的标准溶液 2mL, 测定结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

测定次数	称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	实际测得含量 /mg	回收率
1	1.0539	2.0867	1.0390	3.1066	97.68%
2	1.0122	2.0042	1.0390	3.0277	98.51%
3	1.0325	2.0443	1.0390	3.0617	97.92%
4	0.9982	1.9764	1.0390	3.0055	99.03%
5	0.9915	1.9632	1.0390	2.9941	99.22%
6	1.0238	2.0271	1.0390	3.0493	98.38%
平均回收率					98.46%
RSD%					0.62%

3.4 检测浓度的线性范围

分别配制浓度为 0.1mg/mL、0.5mg/mL、1mg/mL、4mg/mL、10mg/mL 的 α -环糊精标准溶液, 进样 20 μ L 根据峰面积和浓度绘制曲线图 (见图 3)。

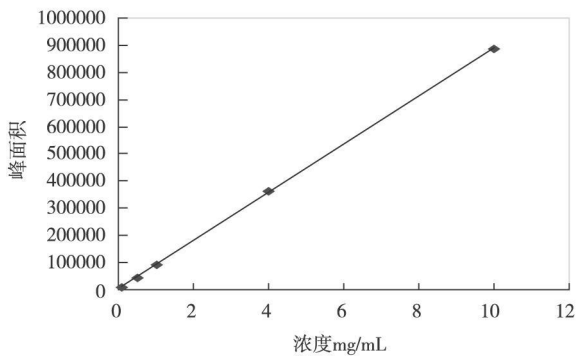
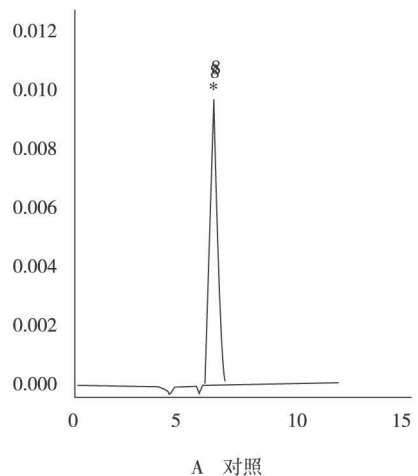


图 3 α -环糊精的标准曲线

α -环糊精的标准曲线表明, α -环糊精浓度在 0.1mg/mL~10mg/mL 的范围内线性关系良好。经计算, 其相关系数 R 为 0.9998 标准工作曲线的回归方程为 $Y = 88768X + 2256.5$

3.5 样品测定

取 3 批样品, 按 3.2 项下的方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液, 注入液相色谱仪, 色谱图见图 4 计算结果见表 3。



A 对照

(下转第 231 页)

三次平行试验的测定值如表 3 所示。根据《食品添加剂使用卫生标准》中的规定,柠檬黄色素在冷冻饮品中最大使用量为 $0.05\text{g/kg}^{[5]}$,即 50mg/kg 可见,该样品中柠檬黄的含量远低于限量值。

表 3 菠萝味雪糕合成色素含量测定结果

试验号	峰面积 (mAu [*] s)	柠檬黄 含量 (mg/Kg)	柠檬黄含量 平均值 (mg/Kg)	相对标准 偏差 (%)
1	715.57324	7.70		
2	769.32812	8.27	8.09	4.18
3	772.55420	8.30		

3 结论

(1) 用碱性硫酸铜法处理的样品各种人工合

成色素的平均回收率为 $72.04\% \sim 82.64\%$, 相对标准偏差为 $1.48\% \sim 3.50\%$ 。此法精密度良好, 但准确度较差。

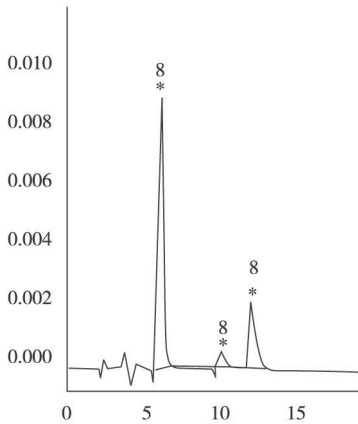
(2) 用乙酸锌-亚铁氰化钾法处理的雪糕样品各种人工合成色素的平均回收率为 $81.62\% \sim 95.73\%$, 相对标准偏差为 $1.46\% \sim 3.19\%$ 。此法加标回收率较高, 准确度和精密度良好。

(3) 用乙酸锌-亚铁氰化钾预处理法进行样品测定, 柠檬黄含量为 8.09mg/kg 未超出《食品添加剂使用卫生标准》中规定的最大使用量 0.05g/kg (50mg/kg)^[5]。

参考文献:

- [1] GB/T5009 35- 2003, 食品中合成着色剂的测定 [S].
- [2] SB/T10007- 1999, 冷冻饮品分类 [S].
- [3] GB/T5009 28- 2003, 食品中糖精钠的测定 [S].
- [4] GB/T5009 7- 2003, 食品中还原糖的测定 [S].
- [5] GB2760- 2007, 食品添加剂使用卫生标准 [S].

(上接第 239 页)



B 样品

图 2

表 3 样品含量测定结果

样品	平均含量 (%)	RSD (%)
1	37.5	0.52
2	25.2	0.85
3	31.5	1.02

4 结论

(1) 采用 Spherigel C₆ H₅ 色谱柱, 比例为

95 : 5 的水和甲醇为流动相, 在 1.0mL/min 的流速下测定 α -环糊精, 具有分离时间短, 分离效果好, 灵敏度高, 而且成本低, 安全性高等优点;

(2) 本法平均回收率达到 98.5% , 在 $0.1\text{mg/mL} \sim 10\text{mg/mL}$ 的范围内线性关系良好。

因此, 本文建立的高效液相色谱测定 α -环糊精的方法具有普遍的适用性, 可以为其产品的研究和质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 童林荟. 环糊精化学-基础与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [2] 曹新志, 明红梅. 高效液相色谱法测定麦芽糖基- β -环糊精的含量 [J]. 四川理工学院学报 (自然科学版), 2007, 20 (2): 89-91
- [3] Yukio T. NamuraH, OkabeM. A new reactor system for selective production of α -cyclodextrin with specific adsorbent [J]. Fermentation and Bioengineering 1991, 71 (6): 413-417.
- [4] 刘虹, 顾正彪, 洪雁, 等. 甲基橙褪色分光光度法定量测定 α -环糊精 [J]. 中国粮油学报, 2008 23 (5): 186-189
- [5] 陈国亮, 柴华丽, 杨琦. β -CD 测定方法的研究 [J]. 化学试剂, 1990, 12 (5): 308-310
- [6] 刘燕华. 分光光度法测定 β -CD [J]. 日用化学工业, 1990, 35 (6): 35-37
- [7] 胡锦涛. 分光光度法测定微量环糊精 [J]. 淀粉与淀粉糖, 1992 (4): 51-53.