

HPLC 法测定番茄红素胶囊中番茄红素的含量

黄 琦,章佳叶,鲍欣萍,谢琦敏,赵 庭

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘 要: 建立了用 HPLC 法测定番茄红素含量的分析方法,采用 ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-甲醇-二氯甲烷(60:25:15),检测波长 472 nm,柱温 32 ℃。试验结果表明,番茄红素在 0.2~40 μg/mL 范围内线性关系良好($r=0.9996$),加标回收率大于 96.0%,并可同时分离番茄红素和共存的 β-胡萝卜素。该方法准确、可靠,适用于番茄红素胶囊中番茄红素的含量测定。

关键词: 番茄红素;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号: TQ460.72;O657.71

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2014)05-0368-03

Quantitative determination of lycopene from lycopene capsule by HPLC

HUANG Qi, ZHANG Jiaye, BAO Xinping, XIE Qimin, ZHAO Ting

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China)

Abstract: HPLC method was developed for the determination of lycopene by ODS column (150 mm×4.6 mm,5μm) under the conditions as: acetonitrile-methyl alcohol-dichloromethane(60:25:15)as the mobile phase, UV detection wavelength at 472 nm and column temperature at 32 ℃. Experimental results showed that lycopene has a good linear relation over the range of 0.2—40 μg/mL($r=0.9996$)and the average recovery is over 96.0 %. Lycopene and β-carotene are seperated well under the chromatographic conditions. The method proposed is accurate and reliable for determination of lycopene in lycopene capsule with satisfactory results.

Key words: lycopene; HPLC; quantitative determination

番茄红素是一种功能性食用天然色素,属于重要的类胡萝卜素,广泛存在于水果和蔬菜当中,尤其在番茄中的含量最高。番茄红素分子仅由碳、氢 2 种元素组成,含有多个共轭双键,分子式 $C_{40}H_{56}$,结晶纯

收稿日期: 2014-07-02

基金项目: 浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)(2013R415040)

作者简介: 黄 琦(1980—),女,河南省开封人,讲师,硕士,主要从事药物分析、食品分析研究。

品呈深红色。番茄红素有较强的抗氧化性,具有防治前列腺癌、肺癌、调节机体免疫等重要功能^[1-3],已成为国际上功能食品成分研究的一个关注热点^[4]。国家标准中番茄红素的测定方法是高效液相色谱法^[5],所采用的色谱条件出峰时间较长(保留时间约18 min),不适用于大批量样品的检测。本研究对国家标准中番茄红素测定用流动相加以改进,该色谱条件缩短了番茄红素的测定时间,并可分离同属于类胡萝卜素的番茄红素和 β -胡萝卜素,具有较强的实用性。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器,ODS 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm,5 μ m),北京普析通用 TU1800 紫外可见扫描仪,pHS-25 型酸度计。

番茄红素、 β -胡萝卜素对照品(纯度96.0%,上海江莱生物科技有限公司),甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 天地试剂公司),乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 天地试剂公司),二氯甲烷(色谱纯,美国 B & J 生产试剂公司),二氯甲烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),焦性没食子酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

2 试验方法及结果

2.1 检测波长的选择

取番茄红素对照品,精密称取,置于25 mL棕色容量瓶中用二氯甲烷溶解并定容,摇匀、稀释,配成质量浓度为2 μ g/mL溶液,以溶剂二氯甲烷为参比,在紫外可见扫描仪扫描得紫外光谱,见图1。根据番茄红素的紫外光谱特性,选择472 nm作为检测波长。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

十八烷基硅烷键合相为固定相;流动相为乙腈-甲醇-二氯甲烷(60:25:15),流速1.0 mL/min;检测波长472 nm;进样量10 μ L;柱温32 $^{\circ}$ C。精密称取番茄红素和 β -胡萝卜素对照品适量,置于棕色容量瓶中,加焦性没食子酸-二氯甲烷溶液(称取焦性没食子酸6.0 g,用二氯甲烷溶解并定容至100 mL)溶解并定容至刻度。用焦性没食子酸-二氯甲烷溶液稀释至25.0 μ g/mL,进样测试。番茄红素和 β -胡萝卜素的分离度应不小于1.0。

结果表明,色谱图中相邻两主成分色谱峰的分离度良好,见图2,理论塔板数按番茄红素峰计算大于3 000,系统适用性试验符合规定。番茄红素的保留时间为9.8 min。

2.3 标准曲线

2.3.1 番茄红素标准储备液的制备

精密称取番茄红素对照品2 mg,置10 mL棕色容量瓶中,加焦性没食子酸-二氯甲烷溶液溶解再用流动相稀释至刻度,混匀,现用现配。

2.3.2 标准曲线

精密吸取上述标准储备液10、50、250、500、1 000、2 000 μ L,置6个10 mL容量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即

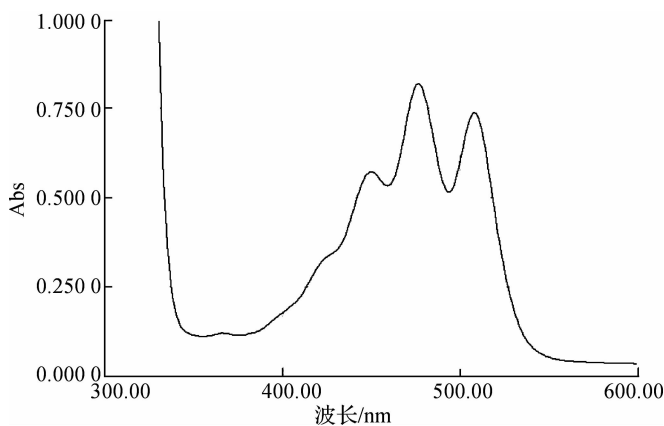


图1 番茄红素的紫外扫描谱图

Fig. 1 UV spectrum of lycopene

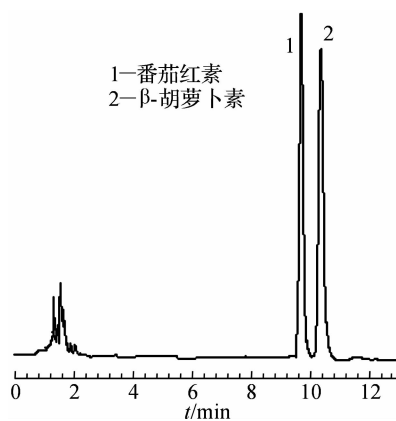


图2 系统适用性试验色谱图

Fig. 2 Chromatogram of system suitability test

配成番茄红素质量浓度为 0.2、1.0、5.0、10.0、20.0、40.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液。照上述色谱条件测定。经回归计算,色谱峰面积(A)与质量浓度(c)在番茄红素质量浓度为 0.2~40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈现良好的线性关系,其线性回归方程: $A=267\,095c-11\,821$, $r=0.999\,6$ 。

2.4 进样精密度

取番茄红素质量浓度为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液 10 μL 进样,连续测定 6 次,计算得其相对标准偏差(RSD)为 1.76%。

2.5 检测限

取上述制备标准曲线用最低质量浓度的番茄红素溶液,采用逐步稀释法,检测限以信噪比 $S/N=3$ 确定。结果表明,番茄红素的检测限为 0.2 ng。

2.6 加标回收率试验

取已知含量的番茄红素胶囊 10 份作为基质,分别测定 0.2 mg/g 和 1.0 mg/g 2 个添标水平下番茄红素的加标回收率,并计算相对标准偏差。每个水平测定 5 次,回收率及精密度结果见表 1。结果表明,该方法具有较好的准确度和精密度。

表 1 加标回收率($n=5$)

Table 1 Recovery of standard addition ($n=5$)

番茄红素添标水平 $w/$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	平均加标回收率/%	RSD/%
0.2	96.5	3.9
1.0	98.1	3.5

2.7 稳定性试验结果

取 20 $\mu\text{g/mL}$ 的番茄红素标准品溶液,在 0~8 h 内每间隔 1 h 依法进样测定峰面积,计算 RSD 值。结果表明,番茄红素在室温(25 $^{\circ}\text{C}$ 以内)条件下,4 h 内是稳定的。4 h 内色谱峰面积的 RSD 为 2.27%。

2.8 样品含量测定

取市售番茄红素胶囊若干,分别取 0.2 g,精密称定,按照国家标准 GB/T 22249—2008《保健食品中番茄红素的测定》中的试样制备方法制备样品^[5],按照 2.2 节色谱条件进样测定,记录色谱图(图 3),计算样品中番茄红素含量。结果表明,所检测样品的番茄红素含量均在标示含量的 95%~105%。

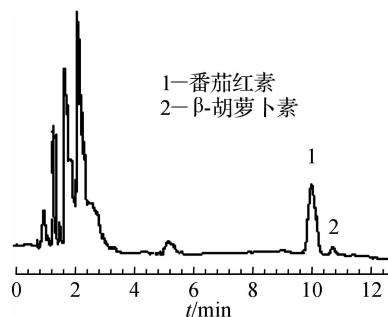


图 3 番茄红素胶囊样品色谱图

Fig. 3 Chromatogram of lycopene capsule

3 结 语

本研究建立了 HPLC 法测定番茄红素。因为番茄红素还原性强,容易被氧化,标准溶液和样品溶液需现配现用,溶解番茄红素的溶液加入焦性没食子酸可以延缓番茄红素的分解。国家标准中番茄红素测定用流动相由甲醇和乙腈组成(50:50);本研究在此基础上添加了二氯甲烷,提高了乙腈比例,升高柱温,可以缩短番茄红素的出峰时间,有利于大批量样品的测定。在该色谱条件下,番茄红素和 β -胡萝卜素可以分离(分离度 >1.0),可避免 β -胡萝卜素的干扰。该方法能准确、快速地测定番茄红素胶囊中番茄红素的含量,也可用于含番茄红素的蔬果及相关保健品中番茄红素的测定。

参考文献:

- [1] Palozza P, Simone R E, Catalano A, et al. Tomato lycopene and lung cancer prevention: from experimental to human studies[J]. Cancers, 2011, 3(2): 2333-2357.
- [2] Rao A V, Rao L G. Carotenoids and human health[J]. Pharmacological Research, 2007, 55(3): 207-216.
- [3] 曾瑶池, 穆桂萍, 黄淑芬, 等. 番茄红素对高糖所致内皮祖细胞功能障碍的保护作用及机制初探[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(1): 19-23.
- [4] 郭军玲, 路新国. 番茄红素的研究开发及在食品中的应用[J]. 粮食与食品工业, 2013, 20(4): 58-61, 66.
- [5] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. GB/T 22249—2008, 保健食品中番茄红素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.