

高效液相色谱法测定甜菜红色素

孙世萍, 代 斌*, 洪成林
(石河子大学化学化工学院, 新疆 石河子 832003)

摘 要: 本文研究了高效液相色谱仪测定甜菜红色素含量的方法。采用 Shim-pack vp-ODS 色谱柱(150mm × 4.6mm i. d., 5μm), 流动相为 A: 甲醇、B: 2% 冰醋酸缓冲液(A:B =20:80 V/V), 流速 0.7ml/min, 检测波长为 535nm。甜菜红色素质量浓度在 0.0641~3.206mg/ml 范围内与峰面积呈良好线性关系, 相对标准偏差为 1.13%, 回收率为 97.58%~102.10%。本方法操作简便、灵敏、可靠、适用于甜菜红色素的分析测定。

关键词: 高效液相色谱; 甜菜红色素; 测定

Determination of Betalain by High Performance Liquid Chromatography

SUN Shi-ping, DAI Bin*, HONG Cheng-lin
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: A method for determination of betalain was described by high performance liquid chromatography. Shim-pack vp-ODS column(4.6mm i. d. ×150mm, 5μm) was used and mobile phase was MeOH:H₂O-HAc(20: 80) with flow rate of 0.7ml/min. The eluate was monitored at λ_{max}=535nm. The linearity was obtained over the range of 0.0641~3.206mg/ml (r = 0.9999). The determination limit was 0.064μg/ml. The average recovery of sample was in the range of 97.58%~102.10%, with relative standard deviation of 1.13%. The method was proved to be a simple, rapid and reliable way to determine the betalain concentration.

Key words high-performance liquid chromatography; betalain; determination

中国分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0215-03

收稿日期: 2005-04-27

*通讯作者

基金项目: 国家 863 计划项目(2001BA804A21)

作者简介: 孙世萍(1979-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物化学。

降低了, 所以在同样的提取时间内含硫化合物的浓度减少了。由此得知 NaCl 的添加量对提取得到的含硫化合物浓度起重要作用。本实验确定 90g/1000ml 的 NaCl 溶液为提取洋葱精油中含硫化合物的最适浓度。

3 结 论

通过单因素实验和对实验数据进行 SPSS 统计分析, 得出结论: 当洋葱浆液与 NaCl 溶液(90g/1000ml)的比例为 1:2、溶剂用量为 15ml 时, 提取得到的含硫化合物浓度较高。

参考文献:

[1] Maidment D C, Dembny Z, Watts D T. The antibacterial activity of 12 Allium against Escherichia coli [J]. Nutrition and Food Science, 2001,

31(5): 238-241.

[2] Sheela C G, Kumari K, Augusti K T, et al. Anti-diabetic effects of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats [J]. Planta Medica, 1995, 61(4): 356-357.

[3] William H B, John D F, Hashim E O, et al. Administration of raw onion inhibits platelet-mediated thrombosis in dogs [J]. Nutrition, 2001, 131(10): 2619-2622.

[4] Seo-young-Han, Ying-Hu, Anno-T, et al. S-propyl cysteine reduces the secretion of apolipoprotein B100 and triacylglycerol by HepG2 cells [J]. Nutrition, 2002, 18(6): 505-509.

[5] 王建军, 孙智华, 侯喜林. 洋葱油提取工艺的研究 [J]. 南京农业大学学报, 2003, 26(2): 20-23.

[6] 李红霞, 董晓楠, 丁明玉, 等. 四川凉山杜鹃挥发油成分的同时蒸馏萃取与 GC/MS 分析 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 78-81.

[7] 秦军, 陈桐, 吕晴. 同时蒸馏萃取气质联用法测定花椒挥发油成分 [J]. 贵州工业大学学报(自然科学版), 2001, 30(6): 4-6.

[8] 徐汝巽, 林祖铭. 芳香物质研究手册 [M]. 轻工业出版社, 1989. 21-22.

甜菜红色素(Betalain)是一种甜菜苷类红色素,广泛存在于苋科、藜科、紫茉莉科、商陆科等的多种植物中^[1],具有无毒、安全、着色性好等特点,是一种天然的食品添加剂,具有很高的应用开发价值。目前对甜菜红素测定方法的研究日益增多,常用的方法有紫外-可见分光光度法^[2~4],薄层色谱法(TCL)^[4]等。这些方法各有其特点,紫外-可见分光光度法比较简单,但不能排除样品中其它色素成分的干扰,误差较大;TCL法测定过程复杂,分析时间长,不易定量,精密度差。用高效液相色谱分离测定甜菜红色素已有报道^[5~10],但多采用梯度洗脱,较为繁琐,同时采用的洗脱剂多为毒性较大的乙腈,不利于日常检测工作的需要。本文利用高效液相色谱仪对红甜菜及食品中甜菜红色素的测定方法的色谱条件、准确度、精密度以及样品处理进行了实验研究,以期建立其快速、灵敏、准确的检测方法,为国家建立甜菜红色素的检测标准提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

高效液相色谱仪 岛津公司; BS210S 型台式分析天平 北京赛多利斯天平有限公司; DL-360A 型超声波清洗器 上海之信仪器有限公司; SH/T0093型砂芯过滤装置 中国江苏; TGL-16B型台式离心机 上海安亭科技仪器厂; SHZ-C 型循环水式多用真空泵 巩义市英峪予华仪器厂; 0.22 μm 微孔滤膜等。

1.1.2 试剂

甜菜红色素标准品 南京天舒生物有限公司; 甲醇(色谱纯)、乙醇(分析纯)、冰醋酸(分析纯)、乙酸乙酯(分析纯)等; 实验用水为蒸馏水或重蒸水。

1.2 色谱条件

高效液相色谱仪系统(岛津公司): 配 LC-10ADvp 泵、二级管阵列检测器 SPD-M10Avp, 柱温箱 CT0-10Avp, CLASS-VP 工作站。色谱柱: Shim-pack vp-ODS (150mm \times 4.6mm i.d., 5 μm), 预柱: Shim-pack Gvp-ODS (10mm \times 4.6mm i.d., 5 μm), 流动相: A: 甲醇、B: 2% 冰醋酸缓冲液(A:B = 20:80 V/V), 流速 0.7ml/min, 检测波长: 535 nm, 柱温: 室温。

1.3 样品预处理

冰淇淋样品: 称取冰淇淋样品 1.338g, 加入 10ml 水, 用乙酸乙酯萃取除去油脂层, 加水定容至 25ml。经 0.22 μm 滤膜过滤, 待测。

红甜菜样品: 取红甜菜块根, 先用 2% 的亚硫酸氢钠溶液在 95~98 $^{\circ}\text{C}$ 热烫 10min 灭酶。称取一定量, 切碎, 用 70% 乙醇水溶液超声提取 20min, 过滤, 提取

液经 3000r/min 离心 20min, 再经 0.22 μm 滤膜过滤, 待测。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

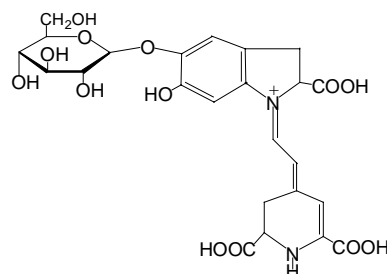
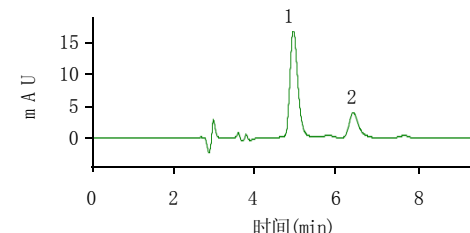
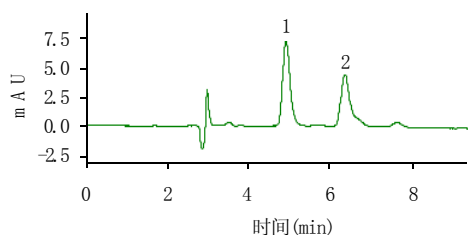


图1 甜菜红苷结构式
Fig.1 Structure of betanin

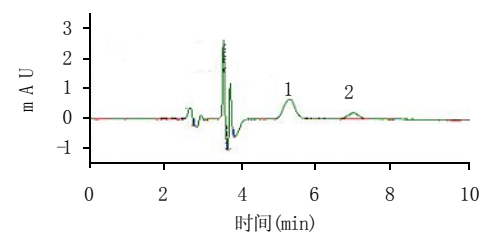
根据甜菜红苷的分子结构(图1), 其分子中含有醇羟基以及电负性较强的氧元素, 因此与水、醇有较强的氢键结合力, 甲醇、乙腈、水应是较理想的流动相, 考虑到乙腈的毒性较大, 实验选用不同配比的甲醇-冰醋酸缓冲液对标准品和样品进行分析, 采用等度洗脱的方法。实验结果表明: 甜菜红色素的分离受 pH 值条件的影响, 在 pH 值为 2.7 时分离效果较好; 同时当流动



(A) 标准品



(B) 红甜菜



(C) 冰淇淋样品

1 为甜菜红苷 2 为甜菜红苷异构体

图2 甜菜红苷标准品及样品的色谱图
Fig.2 HPLC chromatogram of betalain

相中甲醇含量大于90%时,出峰时间太短,甜菜红苷与其异构体难以分离;当甲醇含量小于70%时,出峰时间较长,且容易造成拖尾。通过对流动相中甲醇-缓冲液配比的多次调整,最终确定甲醇:2%冰醋酸缓冲液的配比为20:80,此时不仅具有较好的分离度,而且分离时间较短(见图2)。

2.2 标准曲线及检出限

精密称取一定量的甜菜红标准品,用双蒸水溶解,配制不同浓度的标准溶液,绘制标准曲线。在浓度为0.0641~3.206mg/ml时,以进样浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得线性回归方程为: $Y = 57870X + 8718.2$ $r = 0.9999$ ($n=6$)。以基线噪声的2倍对应的浓度为方法的检出限,本方法的检出限为0.064μg/ml。

2.3 回收率测定

准确称取含甜菜红色素的食品一定量,加入不同量的标准品,按样品测试操作,分别测定样品本底值和加标样品值,进行加标回收实验,本实验的加标回收率为97.58%~102.09%。

2.4 方法精密度

取同一甜菜红色素标准品溶液,分别进样5次,每次进样20μl,测定峰面积。经计算其峰面积的相对标准偏差RSD=1.13%。

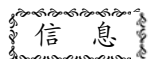
3 结 论

以上结果表明,本方法在运用于甜菜红色素检测

时,在精密度,准确度及检出限等方面都能满足日常检测工作的需要,同文献报道的高效液相色谱法相比,采用了等度洗脱,简化了操作步骤,洗脱剂采用了甲醇代替乙腈,毒性和成本降低,适合在日常检测工作中推广。

参考文献:

- [1] 李邦俊,周命焱,夏盛先,等.鸡冠花中甜菜红色素的提取及稳定性的应用研究[J].江西化工,1997,(3):10-15.
- [2] 武朝军,邵长春,等.甜菜红色素的研究[J].内蒙古石油化工,1997,23(2):24-28.
- [3] 武成荣,刘松青.甜菜红提取工艺及理化性质[J].中国食品添加剂,1998,(4):4-6.
- [4] GB 8271-87[S].
- [5] 刘小玲,许时婴,王璋.火龙果色素的基本性质及结构鉴定[J].无锡轻工大学学报,2003,22(3):62-66.
- [6] José A Fernández-López, Luis Almela. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 913: 415-420.
- [7] Willibald Schliemann, Yizhong Cai. Betalains of celosia argentea[J]. Phytochemistry, 2001, 58: 159-165.
- [8] Cai Yizhong, Sun Mei, Harold Corke, et al. Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from celosia argentea[J]. J Agric Food Chem Phytochemistry, 2001, 49: 4429-4435.
- [9] Benoit Schoefs. Determination of pigments in vegetables[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1054: 217-226.
- [10] Dieter Dieter Strack, Thomas Vogt, Willibald Schliemann. Recent advances in betalain research [J]. Phytochemistry, 2003, 62: 247-269.



ND³/₄±Ã÷È«¹ÊÊ³Æ·¶ÔÈîÄêÁä½×¶µÄÈÈ¶¼ÊÇ¼ÑÆ.

美国马里兰州立大学的老年人营养学家-助理教授Nadine Sahyoun的最新研究表明,在老年人群中,那些吃粗粮而不是精粮的人可能患上糖尿病和心脏病的机率较小。此外,他们和不吃粗粮的人群相比,因心血管疾病死亡的概率要低。

在1月份发表于《美国临床营养杂志》的一篇论文中,Sahyoun的研究小组对吃粗粮食物如何影响老年人的代谢综合症作了阐述。代谢综合症是一种以葡萄糖和胰岛素代谢紊乱、中度肥胖和高血压为特征的病症。通过研究超过500名60岁以上老年人的三日食谱,研究小组得出:吃粗粮越多,患有代谢综合症的机率显著减小。

在美国,与增加糖尿病和心血管疾病患病机率相联系的消化综合症的患病率正日益增加。据统计在60岁以上的老年人中大概有40%的男人和51%的女人被消化综合征所困扰。

经研究,在一个男人平均年龄为72岁,女人为73岁的被调查小组中,那些每天吃三顿诸如全谷面包,麦片和糙米饭的全谷食物的人,要比那些一天吃不了一顿粗粮食物的人患消化综合症的可能性要低。