

文章编号:1009-038X(2001)05-0506-04

番茄油树脂中番茄红素的 HPLC 测定

孙庆杰¹, 张运涛², 肖刚²

(1. 湖南金健米业股份有限公司, 湖南 常德 415000; 2. 无锡轻工大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用 HPLC 法研究了番茄油树脂中番茄红素的测定方法, 结果表明最佳的色谱分离条件为流动相采用 $V(\text{乙腈}):V(\text{甲醇}):V(\text{二氯甲烷})=7:7:2$ 的体系、检测波长 472 nm, 在此条件下可以很好地分离番茄红素、 β -胡萝卜素及其异构体, 番茄红素和 β -胡萝卜素的保留时间分别为 9~10 min 和 13~14 min. 保留时间和样品的重复性试验表明, 变异系数均低于 5%, 回收率范围在 98%~101% 之间.

关键词: 番茄油树脂; 番茄红素; 高效液相色谱; 测定

中图分类号: O 657.7

文献标识码: A

Determination of Lycopene in Tomato Oleoresin by HPLC

SUN Qing-jie¹, ZHANG Yun-tao², Xiao Gang²

(1. Hunan Jinjian Cereals Co. Ltd., Changde 415000, China; 2. School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract: The content of lycopene in tomato oleoresin was determined by HPLC. The results showed that the best mobile phase was acetonitrile; methanol; dichloromethane (7:7:2) detected at 472nm. The retention times of lycopene and beta-carotene were 9~10 minutes and 13~14 minutes respectively. The reproductive SD of lycopene was lower than 5 percent and the recovery rate was 98~101 percent.

Key words: tomato oleoresin; lycopene; HPLC; determination

番茄红素是红色番茄中的主要色素, 是番茄红色的主要原因. 番茄及其制品如番茄酱中番茄红素的测定方法主要采用比色法^[1], 尽管番茄油树脂中番茄红素也可用分光光度法测定, 但由于其它色素如 β -胡萝卜素等也有吸收, 使得结果不能准确反应番茄红素的含量. 采用 HPLC 法可以将番茄红素与其它色素完全分离, 从而可以准确定量. 目前, 已报导的 HPLC 法多为分析 β -胡萝卜素或果蔬中类胡萝卜素. 尚无 HPLC 法测定番茄油树脂中的番茄红

素的研究^[2~7].

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

番茄油树脂: 采用石油醚在 60 °C 条件下提取, 然后经真空浓缩制备; 番茄红素标样: SIGMA 公司产品; β -胡萝卜素标样: SIGMA 公司产品. SY-5000 型高压液相色谱仪: 北京分析仪器厂产品.

收稿日期: 2001-01-27; 修订日期: 2001-09-09.

作者简介: 孙庆杰(1970-), 男, 山东招远人, 工学博士, 高级工程师.

1.2 实验方法

1.2.1 番茄红素的标准溶液 将番茄红素标样用流动相溶解后,配制番茄红素的标准溶液。

1.2.2 样品制备 将番茄油树脂样品在 50 ℃ 恒温水浴中加热,同时搅拌充分混合均匀。称取 1 g 样品,精确到 ± 0.1 mg。将样品直接加入 100 mL 棕色容量瓶中。先加入少量二氯甲烷溶解样品,然后用流动相定容,混合均匀。

1.2.3 HPLC 分析测定 移取等量的样品,注入 HPLC 系统。设置初始参数为:色谱柱 RP-C18 柱;体积流量 0.9 mL/min;进样量 10 μ L;积分仪衰减 4;走纸速度 0.1 cm/min。

1.2.4 最佳吸收波长的选择 不同种类的类胡萝卜素吸收波长有一定差异,番茄红素有 3 个吸收峰,在石油醚或正己烷中的吸收波长按吸收强度依次为 472 nm, 505 nm, 446 nm; β -胡萝卜素的依次为 451 nm, 483 nm, 425 nm。本实验经多次研究确定 472 为吸收波长,在此条件下能很好地测定番茄红素、 β -胡萝卜素以及番茄红素的异构体。测定结果如图 1 所示。

1.2.5 流动相的选择 实验对不同流动相的不同配比进行了详细的研究。研究的流动相有 V(乙腈):

V(乙醇)为 70:30 和 80:20, V(乙腈):V(氯仿)为 92:8, V(乙腈):V(二氯甲烷):V(甲醇)为 75:25:0、70:20:10、60:35:5、85:10:5, V(乙腈):V(二氯甲烷):V(甲醇):V(水)为 7:2:7:0.6, V(乙腈):V(甲醇):V(二氯甲烷):V(正己烷)为 40:20:20:20 等,实验发现 V(乙腈):V(二氯甲烷):V(甲醇)为 7:2:7 时,可以很好地分离番茄红素和 β -胡萝卜素的异构体,结果见图 2。

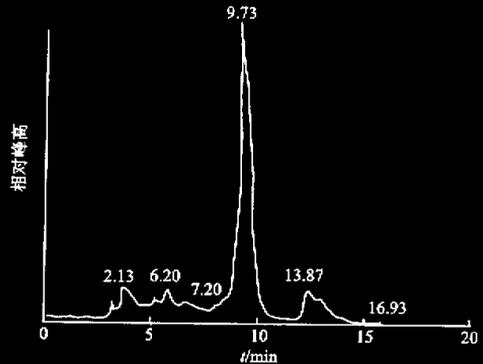


图 1 番茄油树脂的色谱图

Fig. 1 The HPLC chart of tomato oleoresin

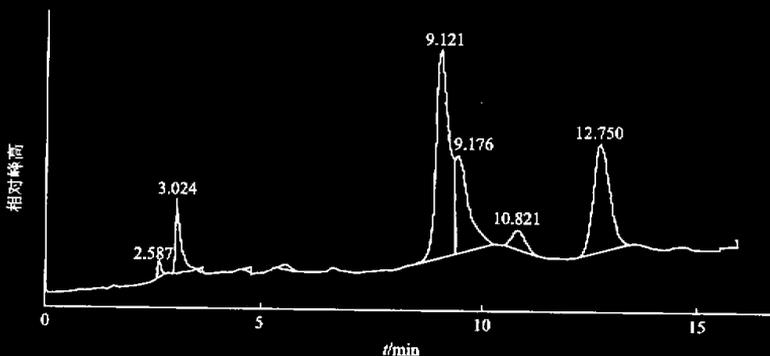


图 2 HPLC 法对番茄红素、 β -胡萝卜素及其异构体的分离

Fig. 2 The isolation of lycopene, beta-carotene and their isomers by HPLC

2 标准溶液的测定

2.1 标准曲线的绘制

分别取番茄红素和 β -胡萝卜素的标准溶液,采用 1、4、6、8、10 μ L 不同的进样体积,以相对峰面积为横坐标,以绝对进样量为纵坐标,绘制标准工作曲线。结果如图 3 和图 4 所示。番茄红素和 β -胡萝卜

素的线性相关系数依次为 0.9976 和 0.9995, 都呈良好的线性关系。

2.2 保留时间的重复试验

在实验的色谱条件下对番茄红素和 β -胡萝卜素进行 5 次重复实验,测定保留时间并进行统计分析,结果见表 1。番茄红素和 β -胡萝卜素的平均保留时间分别为 9.856 min 和 13.480 min,标准差依次为 0.149 和 0.054,变异系数 CV 分别为 1.51% 和

0.40%.

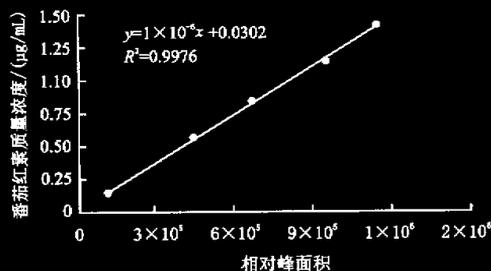


图3 番茄红素的标准曲线

Fig.3 The standard curve of lycopene

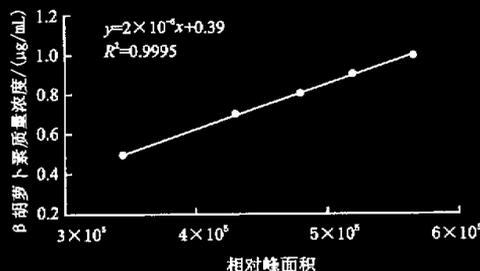
图4 β -胡萝卜素的标准曲线

Fig.4 The standard curve of beta-carotene

表1 番茄红素和 β -胡萝卜素的保留时间统计

Tab.1 The retention time of lycopene and beta-carotene

测定次数	番茄红素	β -胡萝卜素
	保留时间/min	保留时间/min
1	10.08	13.40
2	9.918	13.47
3	9.734	13.53
4	9.720	13.53
5	9.826	13.47
X	9.856	13.48
S.D.	0.149%	0.054%
C.V.	1.51%	0.40%

3 样品试验

3.1 重复性试验

取不同样品约5份,按相应的前处理操作步骤重复5次不同处理,经HPLC测定,表2表明不同浓度的番茄红素样品测得的变异系数在0.84%~4.13%,均小于5%,表明本实验具有良好的重复性。

表2 不同番茄红素样品测定的精度

Tab.2 The precision of different lycopene sample

测定次数	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5
1	0.678	0.944	1.566	2.634	3.237
2	0.641	0.945	1.493	2.632	3.282
3	0.660	0.945	1.578	2.580	3.348
4	0.674	0.944	1.542	2.668	3.495
5	0.672	0.925	1.579	2.740	3.564
X	0.665	0.941	1.549	2.650	3.385
S.D.	0.015%	0.0087%	0.013%	0.019%	0.1397%
C.V.	2.26%	0.92%	0.84%	3.40%	4.13%

3.2 回收率试验

取样品5份,用流动相溶解,分别全部转入5只100 mL棕色容量瓶中,再分别加入不同体积(1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL)的番茄红素标准溶液(500 mg/L),用流动相定容。每个样品溶液,按前述最佳色谱条件平行测定5次,计算回收率。番茄红素的回收率(%) = [加标后测定量(g) - 加标前测定量(g)] / [标准番茄红素添加量(g) / 样品质量(g)]

表3 HPLC法测定的番茄红素回收率

Tab.3 The reproductive result of lycopene by HPLC

测定次数	标样质量/ μ g			
	500	1 000	1 500	2 000
1	104.1	96.8	99.9	100.2
2	105.7	107.1	94.5	100.0
3	95.5	98.7	100.8	97.5
4	97.1	102.9	97.9	101.8
5	98.9	97.0	101.0	105.4
X	100.3	100.5	98.8	101.0
S.D.	4.44	4.43	2.71	2.91
C.V.	4.43	4.41	2.74	2.88

由表3可见,番茄红素的回收率范围在98%~101%之间,统计分析结果也较好(变异系数低于5%)。

以上研究结果表明,番茄红素和 β -胡萝卜素保留时间的精密度,样品测定的重复性及回收率试验均符合分析要求,各实验结果准确可靠。

3.3 番茄油树脂中番茄红素及 β -胡萝卜素质量分数计算

番茄油树脂中番茄红素的含量

番茄油树脂中番茄红素的质量分数(%) =

$$\frac{Y \times V}{W \times 10\,000} \times 100\%$$

Y:从标准曲线查得 10 μL 进样中番茄红素的质量浓度($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

V:试样定容的体积(mL)

W:试样的重量(g)

10 000:转换系数

β -胡萝卜素质量分数的计算

番茄油树脂中 β -胡萝卜素质量分数(%) =

$$\frac{Y \times V}{W \times 10\,000} \times 100\%$$

Y:从标准曲线查得 10 μL 进样中番茄红素的质量浓度($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

V:试样定容的体积(mL)

W:试样的重量(g)

10:进样量(μL)

10^{-2} :将 μL 转换为 mL

10^{-6} :将 μg 转换为 g

不同番茄油树脂样品中番茄红素和 β -胡萝卜素的定量结果如表 5 所示。

表 4 中的样品是番茄皮在放置不同时间后提取的,由于番茄红素在番茄皮中不稳定,放置时间越长,番茄油树脂中番茄红素的浓度越低。从表中可知,番茄油树脂中主要为番茄红素, β -胡萝卜素的

含量很少,只占番茄红素的 2%~6% 左右。

表 4 不同番茄油树脂样品中番茄红素和 β -胡萝卜素的质
量分数

Tab.4 The contents of lycopene and beta-carotene in differ-
ent tomato oleoresin samples %

样品	番茄红素 质量分数	β -胡萝卜素 质量分数	β -胡萝卜素占番茄 红素的质量分数
样品 1	0.22	0.013	5.91
样品 2	0.50	0.014	2.80
样品 3	0.92	0.019	2.07
样品 4	2.50	0.126	5.04
样品 5	3.60	0.116	3.22

4 结 论

HPLC 法可分离出番茄红素的异构体,从而更加准确地对番茄红素定量。通过对大量的流动相的筛选,确定以 V(乙腈):V(甲醇):V(二氯甲烷) = 7:2:7 为流动相,采用 RP-C18 柱,流速为 0.9 mL/min,检测波长为 472 nm,番茄红素的出峰时间为 9~10 min, β -胡萝卜素的出峰时间为 13~14 min。样品的测定可在 15 min 内完成。

参考文献:

- [1] 黄伟坤编著,食品检验与分析[M].北京:中国轻工业出版社,1989.
- [2] 王强,韩雅珊.食品中多种类胡萝卜素的测定(HPLC法)[J].营养学报,1997,19(2),212~215.
- [3] PETER, RUEDI. HPLC-a powerful tool in carotenoid research[J]. *Pure Appl Chem*, 1995, 57 (5):973~800.
- [4] ISABEL M, MINGUEZ-Mosquera, *et al.* Detection of bixin, lycopene, canthaxanthin and b-apo-8'-can/rotenal in products derived from red pepper[J]. *Journal of AOAC International*, 1995, 78(2):491~496.
- [5] TONUCCI H, HOLDEN M, *et al.* Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products[J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43: 579~586.
- [6] BUSHWAY R J. Separation of carotenoids in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography[J]. *J Liquid Chromatogr*, 1985, 8:1527~1547.

(责任编辑:朱明,杨萌)