

用反相高压液相色谱法对不同品种胡萝卜中 β -胡萝卜素含量的测定

刘 玲 金同铭

(北京蔬菜研究中心, 北京 100081)

摘 要 应用反相高压液相色谱法(RP-HPLC), 经 Nova-Pak C18 柱进行梯度洗脱, 在454nm处检测。测定29个不同品种胡萝卜中 β -胡萝卜素含量, 其总平均值为 $3.56\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ 。英国品种 Nantura 含量最高为 $6.92\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$; 4个品种中有2个品种 β -胡萝卜素含量超过 $6.0\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, 接近总平均值的2倍。中国和法国的品种 β -胡萝卜素的含量相对较低, 中国4个品种的总平均仅为测试样品总平均值的56%, 而法国的 B180品种含量用本实验方法无法检出, 含量低于 $7\text{ng} \cdot 100\text{g}^{-1}$ 。

关键词 胡萝卜 β -胡萝卜素 反相高压液相色谱

胡萝卜营养丰富, 含有大量的 β -胡萝卜素、糖、钙、磷、铁等, 很久以来就是婴幼儿的上等营养食品。近年来, 用胡萝卜制成的食品迅速增加, 已成为一种相当重要的特种营养食品, 其主要原因是胡萝卜中含有大量的 β -胡萝卜素, 它是维生素 A 的前体物质。 β -胡萝卜素本身无毒性, 即使大量摄入也不会导致中毒。不少研究者的研究证明, β -胡萝卜素血浓度与肺癌发生有关^[1], β -胡萝卜素的抗癌作用并不是它在体内断裂成两个维生素 A 分子, 而是由于 β -胡萝卜素自身具有生物活性, 它在体内能消除自由基, 抑制过氧化物的形成^[2]。

最适合应用于加工制品的胡萝卜原料, 应为色泽均匀、肉质好、 β -胡萝卜素含量高的品种^[3, 4]。本实验对29个不同品种胡萝卜中的 β -胡萝卜素进行了 HPLC 分析研究, 为胡萝卜育种、高营养防病保健食品的应用提供重要的科学依据, 并对加工食品胡萝卜原材料的选材, 有重要的指导意义。

1 材料和方法

1.1 试剂

1.1.1 四氢呋喃、乙酸乙酯、99%三乙胺(Aldrich Chem. Co.)、乙腈(CH_3CN), 均为分析纯。

1.1.2 高压液相色谱法对水的要求严格, 蒸馏水需经纯水装置(Milli-Q Lab. Millipore Co.)进行去离子处理, 使得比阻抗值(Resistivity)达到 $17\text{M}\Omega$ 以上。

1.1.3 HPLC 分析的流动相, 均先用 $0.45\mu\text{m}$ 的微孔过滤膜(Millipore Co.) 过滤, 去除微颗粒杂质, 使用前再经超声波发生器(Sine Sonic 150, 日本) 脱气 10min 。

1.2 材料

29个品种的新鲜胡萝卜样品, 均由北京蔬菜研究中心胡萝卜育种课题提供。

1.3 仪器

实验所用仪器为 WATERS 公司生产的 Maximax 820 高压液相色谱分析仪, 样品以自动进样器(WISP 712 Waters Co.) 方式定量进样。选用径向加压型 Nova-Pak C18 反相色谱柱, 柱前加用同型保护柱(Guard-Column), 以减少不溶物质对色谱柱的污染, 两台510型泵(Waters Co.) 输送, 进行梯度洗脱。洗脱后的组分用 E490紫外/可见光检测器在 454nm ⁶⁾ 处检测, 同时用990二极管阵列检测器在 $300\sim 600\text{nm}$ 波长范围作光谱扫描, 系统控制及数据收集和处理都由计算机完成。

1.4 方法

1.4.1 样品提取 采摘的鲜样用水洗净外表, 自然风干, 用不锈钢刀去茎, 切片, 样品混匀后, 称取 100g 。放入表面皿在真空冷冻干燥箱(TFD-550-5, 日本) 中冷干, 冷干样用样品磨粉碎, 干粉放入样品瓶充氮气, 避光, 低温保存。

精确称取冷干粉 5.0000g , 用四氢呋喃提取至提取液无色, 5000rpm 室温离心 20min 。(CR5B2 HITACHI), 合并上

清定容至 50ml 容量瓶中, $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, 进行 HPLC 分析。全部操作过程均在钠光灯下完成, 以防止 β -胡萝卜素的光解。

1.4.2 标准曲线制备 5mg 包装 β -胡萝卜素标准样品(Sigma Co.), 用四氢呋喃定容在容量瓶中, 稀释成等梯度浓度系列, $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, $20\mu\text{l}$ 进样上机分析。

1.4.3 色谱分析条件 β -胡萝卜素标准样品及990二极管阵列检测器在 $300\sim 600\text{nm}$ 波长范围作光谱扫描同时监测样品。

色谱柱: Nova-Pak C18 $8\text{mm}\times 10\text{cm}$, $4\mu\text{m}$ (Waters Co.), 柱温: 室温。

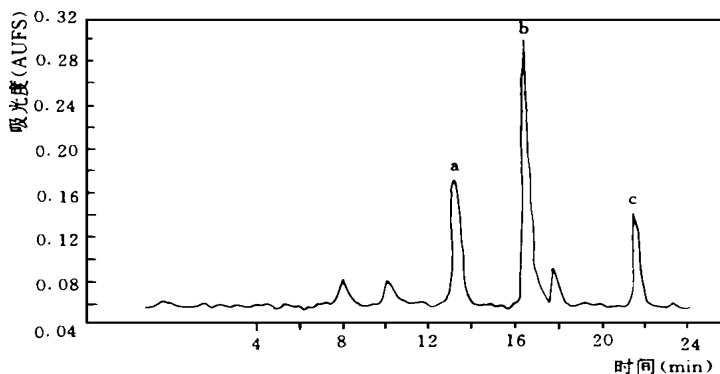
流动相: A: $\text{CH}_3\text{CN}\cdot\text{H}_2\text{O}=90:10$, 其中含有 0.1% 三乙胺; B: 100% 乙酸乙酯

洗脱梯度: 0 min. 100% B 0 % A 1.0 ml/min.

25 min. 0% B 100 % A 1.2 ml/min. 线性梯度洗脱

检测器: UV-VIS E490, 454nm , 0.1AUFS 。

进样法: 自动进样器, $20\mu\text{l}$ 。



a: 叶绿素 b b: 叶绿素 c: β -胡萝卜素

附图 样品 β -胡萝卜素的色谱分离图

2 结果与讨论

2.1 测定方法重复性及标准线性相关性

待测样品用 E490紫外/可见光检测器在454nm 处检测, 990二极管阵列检测器在 300 ~ 600nm 波长范围作光谱扫描, 在454nm 处同时作光谱检测, 用标准保留时间和光谱双相定标^[6, 61]。以 β -胡萝卜素标样量对峰面积作图, 含量为横坐标, 峰面积为纵坐标。经线性回归统计, 相关系数 $r=0.9997$ ($n=5$), 相关极显著; 向样品中添加 β -胡萝卜素标准样品后, 测其添加回收率为93.87 ~ 104.19; 重复性在1.17% ~ 4.34%; 最小检出限约为7ng(信噪比为2)。

2.2 各品种 β -胡萝卜素含量

表1 不同品种 β -胡萝卜素及其品质性状

材料编号	品 种	原 来 种 源	含 量 ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	干 重 ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	肉质根 类 型	肉质根 表 面	肉质根 颜 色
12-2	Nantes	墨西哥	3.27	11.01	短圆柱	光滑	桔黄
180-2	B 180	法 国	< 7ng	13.92	长圆锥	粗糙	白
57-2	Camillo	荷 兰	4.92	12.72	圆柱	粗糙	桔黄
60-2	Nantes Froto	荷 兰	3.83	10.79	圆柱	较光滑	深桔黄
181-2	Clairon	荷 兰	4.69	11.22	细长筒	光滑	深桔红
204-1	Candor	英 国	4.00	11.56	短圆柱	光滑	深桔黄
209-1	Cordia	英 国	2.94	11.21	长圆锥	较光滑	桔红
210-1	Nantura	英 国	6.92	12.52	细长筒	较光滑	桔红
211-1	Ch Comet	英 国	6.31	12.86	短圆锥	光滑	桔红
28-2	西安胡萝卜	中 国	1.52	13.63	圆柱	粗糙	紫红
39-2	红胡萝卜	中 国	0.89	11.89	长圆锥	粗糙	黄
217-1	小顶胡萝卜	中 国	5.14	11.59	短圆柱	较光滑	桔红
222-1	鞭杆红	中 国	0.38	13.63	长圆锥	粗糙	紫
58-1	Rola	日 本	4.65	12.34	短圆锥	较光滑	桔黄
59-1	Redco	日 本	5.15	13.25	短圆锥	较光滑	深桔黄
83-2	真正图分	日 本	2.24	11.34	长圆锥	光滑	桔红
159-2	金港四寸	日 本	3.68	11.65	短圆锥	光滑	深桔红
214-1	春时五寸	日 本	3.85	11.10	圆柱	光滑	桔红
216-1	新黑田五寸	日 本	3.00	10.50	短圆柱	光滑	桔红
78-1	W 33A	美 国	3.98	13.08	长圆锥	较光滑	桔红
80-2	W 133A	美 国	3.16	13.64	圆柱	较光滑	桔红
25-2	Scarlet Nantes	美 国	5.08	12.08	短圆柱	光滑	深桔黄
86-2	Danvers Halflong	美 国	3.42	13.60	圆柱	粗糙	深桔黄
97-2	Hicolor 9	美 国	2.37	13.82	细长筒	光滑	深桔黄
100-1	Red Cored Chantenay 503	美 国	3.60	13.06	短圆锥	较光滑	桔黄
102-2	Long Imperator 58	美 国	0.58	12.69	长圆锥	较光滑	桔红
107-2	Ch Andena	美 国	2.75	13.56	短圆锥	较光滑	深桔黄
108-2	Danvers 126	美 国	4.73	12.82	圆柱	较光滑	桔红
167-1	Beta III	美 国	6.16	14.45	细长筒	光滑	桔红

从表1可见, 29个胡萝卜品种的 β -胡萝卜素含量 $7\text{ng}\cdot 100\text{g}^{-1} \sim 6.92\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 范围, 以英国品种 Nantura 的含量最高, 为 $6.92\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$; 法国品种 B180的含量最低, 用本实验方法则无法检出, 在检出限 $7\text{ng}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 以下。英国另一品种 Ch Comet 和美国品种 Beta 也在6以上, 在被测样品中属于最好型。

表2 不同品种 β -胡萝卜素含量比较

β -胡萝卜素($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) 含量 总平均值(3.56) $\times 1.7$			β -胡萝卜素($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) 含量 总平均值(3.56) $\times 1.3$			β -胡萝卜素($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) 含量 总平均值(3.56)		
品种来源	品种名称	含量	品种来源	品种名称	含量	品种来源	品种名称	含量
英 国	Nantura	6.92	日 本	Redco	5.15	法 国	B 180	—
英 国	Ch Comet	6.31	中 国	小顶胡萝卜	5.14	中 国	鞭杆红	0.38
美 国	Beta	6.16	美 国	Scarlet Nantes	5.08	美 国	Long Imperator 58	0.58
			荷 兰	Camillo	4.92	中 国	红胡萝卜	0.89
			美 国	Danvers 126	4.73	中 国	西安胡萝卜	1.52
			荷 兰	Clairon	4.69	日 本	真正图分	2.24
			日 本	Rola	4.65	美 国	Hicolor 9	2.37
						美 国	Ch Andena	2.75
						英 国	Codia	2.94
						日 本	新黑田五寸	3.00
						美 国	W 133A	3.16
						墨西哥	Nantes	3.27
						美 国	Danvers Halfloy	3.42

β -胡萝卜素含量达到或超过29个样品总平均值(3.56) 1.7 倍的有3个品种; 超过29个样品总平均值 1.3 倍以上的有7个品种; 低于29个样品总平均值的有13个品种(见表2), 其余6个品种的 β -胡萝卜素含量均介于总平均值的 $1 \sim 1.3$ 倍之间。

2.3 原种来源国间 β -胡萝卜素含量比较

表3 不同品种来源国 β -胡萝卜素含量比较

原品种来源国	样品数量	β -胡萝卜素含量 ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	含水量 ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	β -胡萝卜素平均含量 ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	平均含水量 ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)
英 国	4	2.94 ~ 6.92	88.79 ~ 87.14	5.04	87.96
荷 兰	3	3.83 ~ 4.92	89.21 ~ 87.28	4.48	88.42
日 本	6	2.24 ~ 5.15	89.50 ~ 86.75	3.76	88.30
美 国	10	0.58 ~ 6.16	87.92 ~ 85.55	3.58	86.72
中 国	4	0.38 ~ 5.14	88.41 ~ 86.37	1.98	87.32

从表3原种来源国看, 英国的4个品种中有2个品种的 β -胡萝卜素的含量超过 $6.0\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, 并且4个品种的平均含量也超过了 $5.0\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, 为29个样品总平均值(3.56) 的 1.4 倍, 是被测样品中最好的; 荷兰3个品种 β -胡萝卜素的含量, 相对比较均衡都在 $4\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 左右, 且平均含量接近平均值的 1.3 倍; 日本和美国的品种 β -胡萝卜素的含量相当, 平均含量比总平均值略高, 属于中间型; 中国的4个品种, 除了小顶胡萝卜品种的含量在 $5.14\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 外, 其余三个品种的含量均普遍偏低, 平均值只有 0.93 , 仅为29个样品总平均值的 26% , 从整体水平上看平均含量在 $1.98\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, 属于较差型。

从 β 胡萝卜素的平均含量看: 英国> 荷兰> 日本、美国> 中国; 从平均含水量看: 美国< 中国、英国< 日本、荷兰。因此, 综合这两项指标看: 英国品种 β 胡萝卜素的含量高且含水量也相对较低, 是一个适合应用于食品加工的很好材料, 值得推广。

参 考 文 献

- 1 蓝旅滨等. 肺癌患者血清维生素 A 及 β 胡萝卜素水平与免疫功能的研究. 营养学报, 1990, 12(3): 228
- 2 Burton GW, 张修全译. 类胡萝卜素的抗氧化剂作用. 国外医学分子生物学分册, 1990, 12(1): 42
- 3 杜明. 果蔬汁饮料工艺学. 北京: 农业出版社, 1992, 82~101
- 4 寥显珍等. 胡萝卜汁加工与储存过程中 β 胡萝卜素含量稳定性的研究. 北京食品科学, 1992, 153: 52
- 5 叶惟冷等. 高压液相色谱法分析牛乳中脂溶性维生素和 β 胡萝卜素. 色谱, 1992, 10(4): 240
- 6 熊凤麒等. 蔬菜中 β 胡萝卜素的反相液相色谱测定法. 营养学报, 1993, 15(4): 444

Determination of β -carotene in Different Carrot Varieties by Reversed-Phase High Pressure Liquid Chromatography

Liu Ling Jin Tongming

(Beijing Vegetable Research Center, Beijing 100081)

Abstract Reversed-phase high-pressure liquid chromatography (RP-HPLC) in 454nm was used to determine the content of β -carotene for 29 different carrot varieties, and the total average content was found to be $3.56\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$. β -carotene content of nantura from U. K. was the highest, $6.92\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ of U. K. varieties, 2 exceeded $6.0\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ which were 2 times of the total average. Chinese and French varieties were relatively low. The total average of 4 Chinese varieties was only 56% of that of the samples, while French B180 was the lowest, lower than $7\text{ng} \cdot 100\text{g}^{-1}$ which could not be detected by this method.

Key words: Carrot; β -carotene; Reversed-phase high-pressure chromatography