

HPLC 法分离苹果酸性多酚组分的研究

赵超敏, 车振明

(西华大学生物工程学院, 四川 成都 610039)

摘要: 对 HPLC 分离苹果酸性多酚组分(绿原酸、咖啡酸、P-香豆酸)的条件进行了研究。结果表明, 在 pH=2.0 和紫外检测器波长在 320 nm 的条件下, 流动相的醋酸与甲醇的比例为 4.3:5.7 (V/V)、流速为 1.00 mL/min、柱温为 20 °C 时各组分可得到良好分离。

关键词: 苹果; 酸性多酚; 高效液相色谱法

中图分类号: TS207.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)03-0283-02

Optimization of HPLC Detection Conditions of Acid Polyphenols in Apple

ZHAO Chao-min, CHE Zhen-ming

(School of Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China)

Abstract: The detection conditions of acid polyphenols in apple by HPLC were optimized. Result showed that, the acid polyphenols in apple juice solution (pH value of 2.0) were well separated and detected on a C₁₈ column (150×4.6 mm, 5 μm) at 20 °C with the UV detector at 320 nm. The mixture of methanol and acetic acid (4.3:5.7, V/V) was used as the best mobile phase at a flow rate of 1.00 mL/min.

Key words: apple; acid polyphenols; HPLC

苹果中的酸性多酚主要包括绿原酸、咖啡酸、P-香豆酸。因为绿原酸最大吸收波长为 320 nm, 故用传统的 280 nm 波长不易分离。为了使它们能很好分离, 最好的办法就是采用其最大吸收波长。故此本文在 320 nm 的波长上对苹果中的酸性多酚(绿原酸、咖啡酸、P-香豆酸)的分离条件进行了探讨, 以期为苹果深加工工艺技术的改进及苹果多酚的开发利用提供基础资料和参考依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

绿原酸、P-香豆酸、咖啡酸、甲醇、醋酸、乙酸乙酯。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱分析仪、Agilent 1100 化学工作站、Agilent 1100 VWD 可变波长检测器、ZORBAX SB C₁₈ 柱 150 mm×4.6 mm, 5 μm; FK-13 多用植物粉碎机; RE52CS 旋转蒸发器; 索氏抽提器。流动相: 醋酸-甲醇混合液。进样量: 20 μL。

1.3 溶液配制

按文献方法制配^[1], 溶液质量浓度为 20 μg/L, 溶液 pH 值为 2。

收稿日期: 2007-10-18

作者简介: 赵超敏(1979-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品安全与检测

通讯作者: 车振明教授

2 结果与讨论

2.1 流动相对分离度的影响

流动相对洗脱强度有重要的影响。在柱温 20 °C 和流速 1.00 mL/min 的条件下, 考查不同流动相对分离度的影响, 结果见图 1。

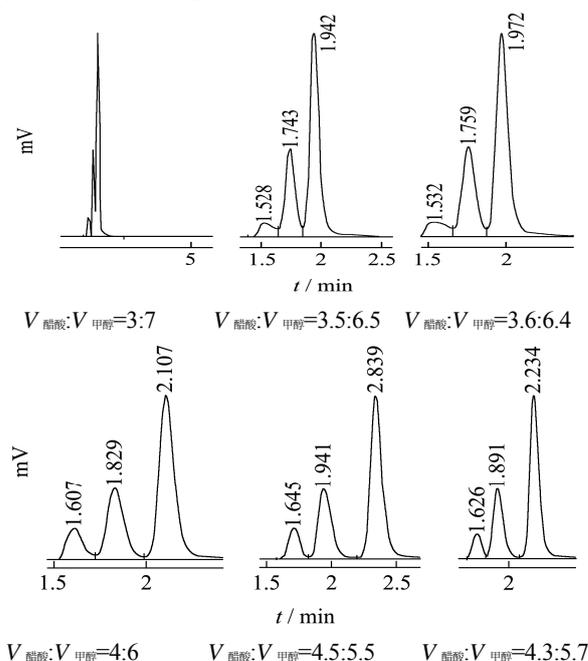


图 1 不同流动相比对混合样分离效果的影响

Fig.1 Effects of ratio of mobile phase on the separation

从图 1 可知, 流动相中的醋酸与甲醇的比例为

4.3:5.7 (V/V) 时色谱分离效果最好。

2.2 流速对分离度的影响

在色谱柱和流动相成份比例固定的情况下, 流动相的流速对分离效果有一定的影响。流速包括样品液上柱速度和洗脱速度。上柱速度太快, 多酚吸附不完全, 流速过低则容易引起多酚氧化。洗脱速度也一样, 过快多酚与洗脱液交换不完全, 过慢易导致多酚滞留, 不能很好分离和纯化。因此确定一个适宜的流速能最大程度的吸附和洗脱多酚。

按表 1 条件, 在不同的时间段调整流动相流速, 结果见图 2。

表 1 流动相不同流速对标准品混合样的分离效果的影响

单位: mL/min

Table 1 Effects of flow rate on the separation of standard samples

时间/min	0~1.5	1.5~1.7	1.7~2.0	2.0~3.0	3.0以后
实验 1	1.00	0.90	0.80	0.80	1.00
实验 2	1.00	1.20	1.10	1.00	1.00
实验 3	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
实验 4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

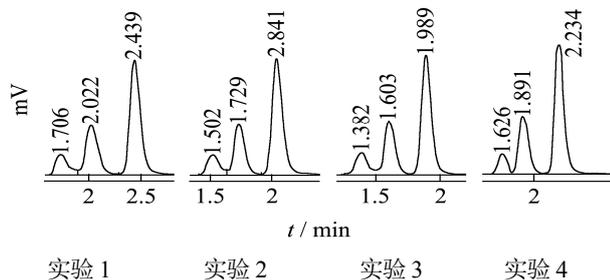


图 2 标准品混合样 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of standard samples

由图2知, 流速固定在恒速1.00 mL/min时效果最好。流速先减小后增大或流速太大时色谱图的分离效

果不好, 且流速的梯度变化对色谱图的分离影响不大。

2.3 柱温对分离度的影响

柱温也是影响色谱峰分离效果的因素之一。在流动相中 $V_{\text{醋酸}}:V_{\text{甲醇}}=4.3:5.7$ 和流速在 1.00 mL/min 的条件下考查柱温对标准品混合样的色谱分离效果的影响, 结果见图 3。

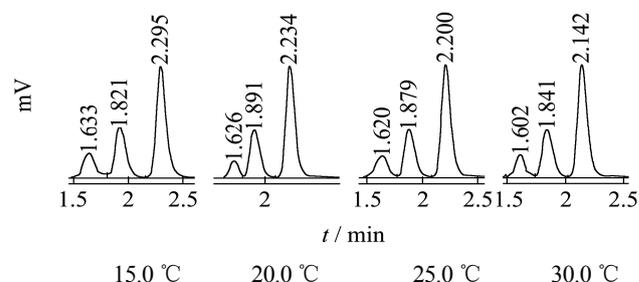


图 3 不同柱温对标准品混合样 HPLC 图谱的影响

Fig.3 Effects of column temperature on HPLC chromatogram of standard samples

从图 3 知, 柱温为 20.0 °C 时色谱峰分离效果最好。绿原酸、咖啡酸和 P-香豆酸的出峰时间分别为 1.620 min、2.234 min 和 1.879 min。

3 结论

在溶液 pH 为 2.0 和波长为 320 nm 的条件下, Agilent 1100 高效液相色谱分离苹果酸性多酚组分(绿原酸、咖啡酸、P-香豆酸)的最佳条件为: 流动相的醋酸与甲醇的比例为 4.3:5.7 (V/V)、流速为 1.00 mL/min、柱温为 20 °C 时各组分可得到良好分离。

参考文献

- [1] 杜中军. 苹果多酚HPLC测定方法及碱性磷酸酯酶在毕赤酵母中表达体系的建立. 山东农业大学博士论文, 2002
- [2] J. MacLeod and N. M.Pieris. Comparison of the volatile components of some mango cultivars. *Phytochemistry*[J], 1984,23, 361-366.
- [3] J. P. Bartley and A.Schwede. Volatile flavour components in the headspace of the Australian or "Bowen" mango[J]. *J. Food Sci.* 1987, 52, 353-355
- [4] A. J. MacLeod, G. Mac Leod, and C. H. Snyder. Volatile aroma constituents of mango (cv Kensington)[J]. *Phytochemistry*. 1988,27, 2189-2193.
- [5] Eloisa Helena A. Andrade, JoseH Guilherme S. Maia and Maria das Graias B. Zoghbi. Aroma Volatile Constituents of Brazilian Varieties of Mango Fruit[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2000,13, 27-33
- [6] M.Sakho, J.Crouzet, and S.Seck. Volatile components of African mango[J]. *J. Food Sci.* 1985,50, 548-550.
- [7] K. H.Engel, and R. Tressel. Studies on the Volatile Components of Two Mango Varieties[J]. *J. Agric.Food Chem.* 1983,31, 796-799.
- [8] 黄致喜,王慧辰. 萜类香料化学[M]. 北京:中国轻工出版社, 1999:6-385
- [9] 林翔云. 调香术[M]. 北京:化学工业出版社,2001

(上接第 280 页)

- [1] J. P. Bartley and A.Schwede. Volatile flavour components in the headspace of the Australian or "Bowen" mango[J]. *J. Food Sci.* 1987, 52, 353-355
- [2] A. J. MacLeod, G. Mac Leod, and C. H. Snyder. Volatile aroma constituents of mango (cv Kensington)[J]. *Phytochemistry*. 1988,27, 2189-2193.
- [3] Eloisa Helena A. Andrade, JoseH Guilherme S. Maia and Maria das Graias B. Zoghbi. Aroma Volatile Constituents of