

# 高效液相色谱法测定菠萝中多酚类化合物\*

易湘茜 韦保耀 滕建文 高程海

(广西大学轻工与食品工程学院, 南宁, 530004)

**摘要** 利用高效液相色谱法(HPLC)分析了多酚类物质在菠萝果皮、果肉、果心中的含量及分布情况。色谱条件: 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈和 0.3% 醋酸溶液, 柱温为 25℃, 流速为 1.0 mL/min, 线性梯度洗脱, 检测波长为 280 nm。在此色谱条件下, 各组分均得到良好分离。经测定, 菠萝果皮中含有 4 种酚类物质, 为没食子酸、儿茶素、表儿茶素、阿魏酸, 含量较高; 果肉及果心中酚类物质为表儿茶素和阿魏酸, 含量较低。

**关键词** 菠萝, 多酚, 高效液相色谱

菠萝是我国热带和亚热带地区四大名果之一, 除鲜食外, 目前主要用于罐头、果汁及浓缩汁的加工。但由于酚类物质参与的酶促反应及其自身的化学氧化聚合, 常常造成果汁的褐变, 影响果汁的外观和品质。

常用的测定酚类物质的方法有紫外分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法和毛细管电泳法等, 其中紫外分光光度法和薄层色谱法只能测定总酚或某一类酚的含量, 不能确定具体的种类和含量。由于高效液相色谱具有流动相消耗少, 分析时间短, 结果准确、可靠等特点, 近几年来得到了迅速发展。目前国内外已有文献对苹果<sup>[1,2]</sup>、梨<sup>[3]</sup>、葡萄<sup>[4]</sup>、柑橘<sup>[5]</sup>等水果及其果汁中的酚类物质进行了测定, 但未见有采用液相色谱法对菠萝中酚类的测定。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与试剂

新鲜菠萝: 成熟的卡因品种, 市场购买。

乙腈, 色谱纯(Fisher 公司); 水为石英亚沸蒸馏水并用 Milli Q50(美国 Millipore 公司)超纯水仪处理, 电阻率≥18MΩ·cm; 醋酸、HCl、NaOH、乙酸乙酯均为分析纯; 绿原酸, 没食子酸, 阿魏酸, 儿茶素, 表儿茶素标样(纯度≥99%, Sigma 公司); 儿茶酚, 黄酮标品(纯度≥97%, Fluka 公司)。

### 1.2 仪器

电子分析天平(Mettler-toledo Group), UV-1601 紫外可见分光光度计(日本岛津), RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), SHB-III A 循环水多

用真空泵(郑州长城科工贸有限公司), pH 计, 组织捣碎机, Waters600 高效液相色谱(美国 Waters 公司), 自动进样器, 996 紫外二极管矩阵检测器, Millennium32 色谱管理软件。

### 1.3 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25℃; 流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 10.0 μL; 检测器: 紫外检测器; 检测波长: 280 nm。流动相: (A) 乙腈, (B) 质量分数 0.3% 醋酸溶液; 采用的梯度洗脱程序: 0~5 min, 20% A; 5.01~10.00 min, 90% A; 10.01~15.00 min, 10% A, 15.01~25.00 min, 20% A。

### 1.4 样品前处理<sup>[2]</sup>

菠萝皮(或果肉或果心)50 g, 加入 1 mL 6 mol/L 的 HCl, 在组织捣碎机内匀浆几分钟; 加 50 mL 的蒸馏水, 用 6 mol/L 的 HCl 调 pH 至 2.0; 然后每次加入 50 mL 的乙酸乙酯, 萃取 2 次, 搅拌 5 min, 离心, 分离出酯相和水相; 将水相用 1 mol/L 的 NaOH 调 pH 至 7.0, 每次加入 50 mL 的乙酸乙酯萃取 2 次, 分离出酯相。将酯相合并, 在 -18℃ 下冷冻 2h, 脱水, 用脱脂棉过滤, 将酯相在 30℃ 下旋转蒸干, 再用 5 mL 的甲醇定容。

### 1.5 测定方法

准确称取一定量的标准品用乙腈配置成不同浓度的溶液进行标准谱图及回归曲线的测定。经前处理的样品用 0.45 μm 针头过滤器过滤后, 在最佳测定条件进行 HPLC 分析。进样量为 10 μL, 根据测得各组分保留时间及紫外吸收谱图与标准图谱对比, 对所含酚类物质进行定性分析; 依据峰面积, 利用外标法由各标准品的回归方程计算样品浓度。

第一作者: 硕士研究生(韦保耀为通讯作者)。

\* 广西科技攻关项目资助(No. 桂科攻 0537007-7-1)

收稿日期: 2005-08-22, 改回日期: 2005-01-04

2 结果与讨论

2.1 分离条件的选择

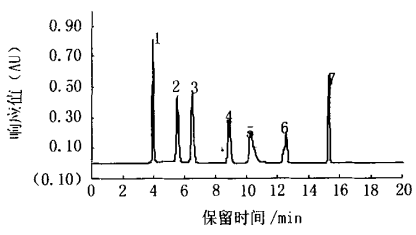
用乙腈-水作流动相时有些色谱峰稍拖尾,且有些物质(如黄酮)不出峰。这可能是因为酚羟基易产生电离,在固定相表面有双重的保留机制<sup>[7]</sup>。改用乙腈-0.3%醋酸溶液作流动相可使酚的电离被抑制,成为中性分子在反相条件下的疏水缔合物,使分离效果和峰型得到较大改善。酸浓度对其中一些酚类物质(尤其是对绿原酸)的出峰时间和峰型有很大的影响。最后综合考虑,按 0~5 min,20% A; 5.01~10.00 min,90% A; 10.01~15.00 min,10% A,15.01~25.00 min,20% A 的线性梯度条件可使样品中的待测组分达到基线分离。

2.2 检测波长的选择

分别用乙腈配置一定浓度的各个标准品,用 UV-1601 紫外可见分光光度计在 190~400 nm 波长内扫描各标准品的紫外吸收情况。结果显示,各多酚类物质在 280 nm 左右均有较大吸收,因此实验选择检测波长为 280 nm。

2.3 标准图谱

按分离条件,得到标准图谱如图 1 所示。可见,7 种酚类物质均达到了基线分离。



1-没食子酸,2-儿茶素,3-表儿茶素,4-儿茶酚,5-绿原酸,6-阿魏酸,7-黄酮

图 1 7 种多酚类物质的 HPLC-UV 色谱图

2.4 回归方程、相关系数及检出限的确定

根据信噪比 S/N=3,测得各组分最低检测浓度,以最低检测限的 4 倍浓度作为回归曲线的第一点,加倍选取浓度测定 7 个点,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制曲线,进行线性回归,计算相关系数,结果见表 1。从表 1 中可见,在此测定条件下,在各相应的线性范围内,相关系数 R 均大于 0.99,说明峰面积与浓度呈线性关系。

表 1 酚类物质在选定色谱条件下的标准曲线保留时间和检测限

酚类物质	标准曲线	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 /mg·L <sup>-1</sup>	保留时间 /min	检测限 /mg·L <sup>-1</sup>
没食子酸	y = 26 495x - 180 510	0.998 7	5 ~ 320	3.947	1
儿茶素	y = 8 921x - 161 397	0.998 9	20 ~ 1 280	5.526	4
表儿茶素	y = 6 855.8x + 53 997	0.998 8	20 ~ 1 280	6.493	4
儿茶酚	y = 9 209.5x + 3 763.2	0.996 5	10 ~ 640	8.870	2.5
绿原酸	y = 15 248x - 134 302	0.998 0	10 ~ 640	10.249	2.5
阿魏酸	y = 32 903x + 78 946	0.999 9	5 ~ 320	12.555	1
黄 酮	y = 60 032x + 10 659	0.999 6	2.5 ~ 160	15.294	0.5

2.5 回收率实验及精密度

准确称取相同样品 2 份,其中 1 份加入已知量多酚标样,另 1 份不加,每份样品平行测定 5 次,通过加入标准的测出量除以标准加入量计算回收率,并计算相对标准偏差,结果见表 2。由表 2 可知,本法的回收率在 97.8%~102.4% 之间,平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.7%~2.2% 精密度高,结果准确。

表 2 方法精密度及回收率

样 品	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	RSD/% (n = 5)
没食子酸	5.0	4.93	98.6	1.8
儿茶素	5.0	4.91	98.2	1.7
表儿茶素	5.0	4.89	97.8	1.9
儿茶酚	5.0	5.07	101.4	2.1
绿原酸	5.0	5.12	102.4	2.2
阿魏酸	5.0	4.94	98.8	1.8
黄 酮	5.0	5.04	100.8	2.1

2.6 样品分析结果

按 1.3 中样品前处理方法处理进样分析,菠萝果皮、果肉、果心样品的色谱图见图 2,分析结果见表 3。

结果显示,菠萝中各个部分均含有表儿茶素,其含量多少依次为:果皮>果肉>果心;果皮中还含有较多的儿茶素和阿魏酸及少量的没食子酸;均没有检测出儿茶酚、绿原酸及黄酮。

3 结 论

(1) 本实验建立了 1 种用高效液相色谱法测定菠萝中酚类物质的方法,采用乙腈-0.3%醋酸水溶液为流动相,进行梯度洗脱,能将几种酚类物质完全分离,该方法准确、可靠、重现性好。

(2) 在此条件下测定,得出菠萝果皮中含有 4 种酚类物质,即没食子酸、儿茶素、表儿茶素、阿魏酸,含

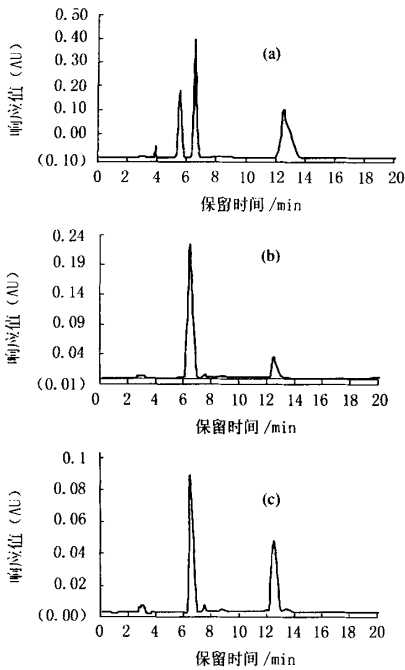
量较高;而菠萝果肉及果心主要含有表儿茶素和阿魏酸 2 种小分子酚类物质,且含量比果皮的低很多。

(3)本实验确定了菠萝果皮、果肉及果心中酚类

物质的种类和含量,为进一步分析菠萝及菠萝加工过程中酚类物质对褐变和混浊等的影响奠定了理论基础。

表 3 菠萝果皮、果肉、果心样品的酚类物质含量 mg/kg

序 号	样 品	没食子酸	儿茶素	表儿茶素	儿茶酚	绿原酸	阿魏酸	黄 酮
1	新鲜菠萝果皮	1.00	29.0	44.8	—	—	17.2	—
2	新鲜菠萝果肉	—	—	21.4	—	—	1.59	—
3	新鲜菠萝果心	—	—	11.3	—	—	2.15	—



a-果皮,b-果肉,c-果心  
图 2 样品分析色谱图

参 考 文 献

1 吴燕华,刘文力,阎 红,等. 高效液相色谱法测定苹果中的酚类物质[J]. 分析化学研究简报,2002,7:826~828

2 Domingo Blanco Gomis, Natalia Fraga Palomino, Juan José Mangas Alonso .Capillary liquid chromatographic determination of neutral phenolic compounds in apple juices[J]. Analytica Chimica Acta,2001, 426: 111~117

3 Dilek Tanoven, Aziz Eksi .Phenolic compounds in pear juice from different cultivars[J]. Food Chemistry,2005, 93: 89~93

4 于 贞,赵光鳌,李记明,等. 用 HPLC 法测定干红葡萄酒中的酚类物质[J]. 酿酒,2002,29(2):88~89

5 Guanghou Shui, Lai Peng Leong .Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002,977: 89~96

6 胡秋芬,杨光宇,黄章杰,等. 微柱高效液相色谱法测定金银花中的多酚类物质[J]. 分析化学研究简报,2005.(1): 69~72

Determination of the Phenolic Compounds in Pineapple  
by High Performance Liquid Chromatography

Yi Xiangxi Wei Baoyao Teng Jianwen Gao Chenghai

(College of Light Industry and Food, Guangxi University, Nanning 530004,China)

**ABSTRACT** The content of phenolic compounds in pineapple peel, core and pulp were studied by high performance liquid chromatography(HPLC) on a C18column(250 mm×4.6 mm,5 μm).The mobile phase was acetonitrile with 0.3% acetic acid solution, The compositions were separated completely under the condition of: flow rate 1.0 mL/min,column temperature 25℃, 280 nm wavelength of detector. The determination results show that there were four hydrone phenolic compounds in pineapple peel, galic acid, catechin, epicatechin, and felinic acid; while in pineapple pulp and core,only little epicatechin and felinic acid were detected.

**Key words** pineapple, phenolic compounds, high performance liquid chromatography