

高效液相色谱法分析检测虾青素*

应国清 王晓艳 沈寅初

(浙江工业大学生物工程系, 杭州, 310032)

摘 要 采用 HPLC 反相色谱法, 通过外标法定量测定了红法夫酵母和虾壳提取物中的虾青素含量, 计算公式为: $A = 29639C + 7060$ 。该方法的回收率为 98.0%~100.8%。

关键词 虾青素 红法夫酵母 虾壳 高效液相色谱

虾青素(astaxanthin)在临床上具有促进抗体产生, 增强宿主的免疫功能, 以及抗氧化、淬灭自由基的能力^[1]。对鱼类的生长繁殖有很重要的作用, 尤其是鲑鱼、鲟鱼食用了含有虾青素的饲料后, 虾青素积累在其皮肤和肌肉中呈红色, 这种鱼富含营养、色泽鲜艳, 口味好, 在欧美市场很受青睐, 其价格也要比普通的鱼高出许多倍。目前, 虾青素的市场销售额已达数亿美元, 市场前景十分广阔。因此, 虾青素的分析方法, 尤其是快速、简便、精确的分析方法也日益引起重视。我们拟采用高效液相反相色谱法初步建立了定性、定量分析虾青素的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

日本岛津 LC-10AS 系列(SCL-10A 控制器, LC-10AS 双泵, CTO-10A 柱温箱, SPD-10A 紫外检测仪, C-R6A 数据处理仪等)。色谱柱: 日本岛津 Shim-pack CLC-ODS, 5 μ m, ϕ 6 mm \times 150 mm。色谱条件: 流动相为 V(甲醇): V(乙腈): V(四氢呋喃) = 80:5:15, 经 Al(OH)₃ 脱水, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤、超声波脱气; 流量为 1 mL/min; 进样量为 10 μ L; 柱温为室温; 检测波长 474 nm。

1.2 试剂

虾青素(美国 Sigma 公司), 己烷(AR), 醋酸乙酯(AR), 甲醇(HPLC 级), 乙腈

(HPLC 级), 四氢呋喃(AR), 其他均为国产分析纯试剂。

1.3 样品制备

1.3.1 红发夫酵母中虾青素的提取

取一定量经离心收集的酵母菌, 用甲醇浸泡提取数次, 合并甲醇提取液, 用旋转真空蒸发器去除甲醇, 浓缩物再用 CCl₄ 溶解, 待测。

1.3.2 虾壳中虾青素的提取

取一定量经酸化处理的虾壳, 加入等体积的 CCl₄ 萃取, CCl₄ 相用旋转真空蒸发器去除 CCl₄, 浓缩物用无水吡啶溶解, 再加入一定量水, 静置过夜, 得到紫红色针状晶体, 取一定量用 CCl₄ 溶解, 待测。

1.4 虾青素标准溶液的配制

称取一定量虾青素标准品, 用甲醇配制质量浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μ g/mL 标准工作液。

2 结果与讨论

2.1 虾青素的色谱图及标准曲线

见图 1 和图 2。

2.2 方法回收率试验

经 4 次重复测定, 标准添加回收率如表 1 所示。

2.3 酵母菌提取液的色谱图

见图 3。

2.4 虾壳提取液的色谱图

* 第一作者: 硕士, 副教授。

浙江省院士基金项目(No. 2000268)

收稿时间: 2001-04-06, 改回时间: 2001-07-28

见图 4。

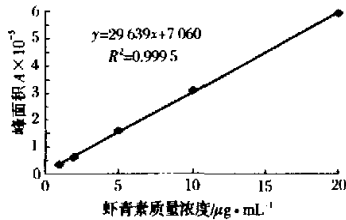


图 1 虾青素结晶品的标准曲线

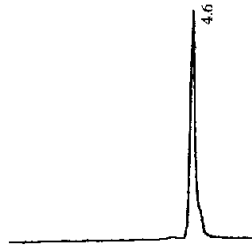


图 2 虾青素标准品的反相色谱图

表 1 虾青素的添加回收率

试验次数	添加量 /nmol	检出量 /nmol	回收率 /%
1	4.00	4.03	98.0~100.0
2	4.11	4.09	
3	8.00	7.87	
4	7.87	7.76	

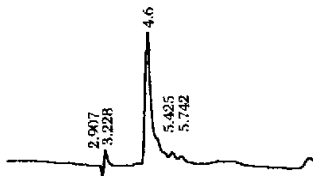


图 3 酵母菌提取液色谱图

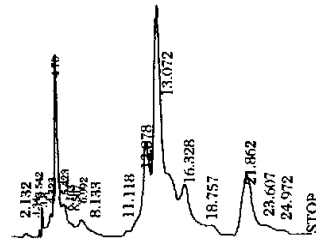


图 4 虾壳提取液色谱图

3 结 论

采用 C18 柱的反相色谱可定性、定量的分析虾青素。通过外标法,以虾青素标准品,定量计算出虾青素的含量。

参 考 文 献

- 1 Yuan J P, Chen F. J. Agric. Food Chem., 1998, 46, 3371~3375
- 2 Calo P et al. J. Agric. Food Chem., 1995, 43, 1396~1399
- 3 丁纯梅, 陶庭先, 吴之传. 化学世界, 1995, (8): 443~446
- 4 戴亦军, 秦怀兰, 袁生. 生物技术, 1996, 6(3): 41~45

The Determination of Astaxanthin by High Performance Liquid Chromatography

Ying Guoqing Wang Xiaoyan Shen Yinchu

(Department of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou, 310032)

ABSTRACT The concentrations of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* and shrimp shell were determined quantitatively by reversed-phase HPLC. As a result, a quantitative formula was given: $A = 29.639C + 7.060$. Recovery of the method was 98.0%~100.8%.

Key words astaxanthin, *Phaffia rhodozyma*, shrimp shell, HPLC