

基于氨丙基 SiO₂ 微球固相萃取-高效液相色谱法测定花生中白藜芦醇

周千¹, 喻理^{2*}, 马飞², 范伟¹, 覃静萍³, 肖航⁴,
郭时印¹, 张良晓^{2,5}, 唐忠海^{1*}

[1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 长沙 410000; 2. 中国农业科学院油料作物研究所, 农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 农业农村部油料及制品质量监督检验测试中心, 农业农村部油料产品质量安全风险评估实验室(武汉), 武汉 430062; 3. 湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410000; 4. 麻省大学阿莫斯特分校食品科学系, 马萨诸塞州阿莫斯特 01003; 5. 湖北省洪山实验室, 武汉 430070]

摘要: **目的** 建立一种固相萃取-高效液相色谱法测定花生中白藜芦醇含量的分析方法。**方法** 样品用 85% 乙醇提取, 用氨丙基 SiO₂ 微球材料填充固相萃取净化小柱富集, 乙醇作为淋洗溶液, 吹干后用 0.2 mL 甲醇定容检测。采用 C₁₈ 色谱柱, 以乙腈和水为流动相等度洗脱分离, 检测波长为 306 nm 检测。**结果** 该方法在 0.1~10.0 μg/g 的范围内, 白藜芦醇线性关系良好($r^2 > 0.999$), 检出限为 0.017 μg/g, 定量限为 0.056 μg/g; 加标回收率为 90.4%~107.2%, 相对标准偏差为 1.3%~8.4%。运用该方法对 30 份花生样品检测, 其白藜芦醇含量范围在 73.24~548.51 μg/kg 之间。**结论** 该方法灵敏度高、重复性好、成本低廉, 且操作简单、快速, 满足花生中白藜芦醇定量分析的要求。

关键词: 花生; 白藜芦醇; 固相萃取; 高效液相色谱法

Determination of resveratrol in peanut based on aminopropyl SiO₂ microspheres solid phase extraction-high performance liquid chromatography

ZHOU Qian¹, YU Li^{2*}, MA Fei², FAN Wei¹, QIN Jing-Ping³, XIAO Hang⁴,
GUO Shi-Yin¹, ZHANG Liang-Xiao^{2,5}, TANG Zhong-Hai^{1*}

[1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410000, China; 2. Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Quality Inspection and Test Center for Oilseed Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Quality and Safety Risk Assessment Laboratory of Oil Products of Ministry of Agriculture and Rural Areas (Wuhan), Wuhan 430062, China; 3. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410000, China; 4. Department of Food Science, University of Massachusetts, Amherst MA 01003, USA; 5. Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China]

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1600101)、财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-13)、湖南省自然科学基金项目(2022JJ30295)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFD1600101), the Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Affairs: National Technology System for Modern Agricultural Industry (CARS-13), and the Natural Science Foundation of Hunan Province (2022JJ30295)

***通信作者:** 喻理, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为纳米材料的农产品质量安全检测与控制研究。E-mail: yuli01@caas.cn
唐忠海, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养学。E-mail: tangzh@hunau.edu.cn

***Corresponding author:** YU Li, Ph.D, Professor, Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China. E-mail: yuli01@caas.cn

TANG Zhong-Hai, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, No.1, Nongda Road, Furong District, Changsha 410000, China. E-mail: tangzh@hunau.edu.cn

ABSTRACT: Objective To establish a analytical method for the determination of resveratrol in peanut by solid phase extraction-high performance liquid chromatography. **Methods** The samples were extracted with 85% ethanol, and then enriched by solid phase extraction purification column filled with aminopropyl SiO₂ microspheres, and ethanol was used as elution, blown dry, and detected by 0.2 mL methanol. A C₁₈ column was used for separation by equal degree elution with acetonitrile and water as flow, and the detector wavelength was 306 nm for detection. **Results** The method had a good linear relationship with resveratrol in the range of 0.1–10.0 μg/g ($r^2>0.999$), the limit of detection was 0.017 μg/g, and the limit of quantitation was 0.056 μg/g. The recoveries were 90.4%–107.2%, and the relative standard deviations were 1.3%–8.4%. The method was used to detect 30 peanut samples, and the content of resveratrol ranged from 73.24 μg/kg to 548.51 μg/kg. **Conclusion** The method has high sensitivity, good repeatability, low cost, simple and rapid operation, which can meet the requirements of quantitative analysis of resveratrol in peanuts.

KEY WORDS: peanut; resveratrol; solid phase extraction; high performance liquid chromatography

0 引言

花生是我国重要的油料作物和经济作物^[1], 不仅含有必需脂肪酸、蛋白质、植物甾醇和脂溶性维生素, 还富含白藜芦醇等多酚化合物^[2-3]。白藜芦醇(resveratrol, Res), 又称芪三酚, 属于非黄酮类的多酚化合物, 是植物抗击逆境或遇到病原侵害时产生的抗毒素^[4]。自从 20 世纪 80 年代研究发现了法国人高热量高胆固醇饮食但心血管发病率较低的“法国悖论”现象后^[5], 白藜芦醇的生物活性和药理作用便受到国内外学者的广泛关注。研究发现, 白藜芦醇具有抗炎抑菌^[6]、抗氧化^[7]、抗癌^[8]、预防心血管疾病^[9]等多重保健作用。作为花生中的特征营养成分和质量评价指标之一, 准确检测其含量具有非常重要的意义。

目前, 花生中白藜芦醇的测定方法主要有: 高效液相色谱法^[10-11]、高效液相色谱-串联质谱法^[12-13]、气相色谱-串联质谱法^[14]、荧光光谱法^[15]和薄层荧光扫描法^[16]等。其中, 高效液相色谱法因具有速度快、效能高、灵敏准确和应用范围广等独特优势而被广泛用于花生中白藜芦醇的测定^[10-11]。花生的成分比较复杂, 而白藜芦醇含量较低, 因此检测前对样品进行前处理十分有必要。相比于传统的液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE), 固相萃取(solid phase extraction, SPE)因其有机试剂消耗少、分析物回收率高、重现性好、操作简便快捷等优点而成为当今应用于食品、医药、环境等众多领域的样品前处理技术之一^[17], 但商品化的 SPE 小柱价格昂贵, 一般为一次性消耗品且缺乏特异性。因此, 开发更加廉价易得、提取分离效率更高的固相萃取材料及前处理技术是一个非常重要的研究课题。

二氧化硅(SiO₂)因特有的多孔结构、与活性炭相近的比表面积和易于官能化、价格便宜等特点, 是近年来吸附分离领域应用较多的理想材料之一^[18], 氧化石墨烯(graphene oxide, GO), 即由石墨烯氧化得来, 表面有大量的羧基、羟基等官能团, 因而有大量且可修饰的活性位点,

是新型吸附材料代表之一^[19]。随着白藜芦醇的生理作用逐渐被证实, 针对白藜芦醇的检测方法也越来越多, 但将 SiO₂、氧化石墨烯等材料用于富集净化花生中白藜芦醇的研究却较少。

本研究设计合成了氨基基 SiO₂ 材料、四氧化三铁-氧化石墨烯和 SiO₂/氧化石墨烯纳米复合材料, 并分析其对花生中白藜芦醇的富集净化效果, 建立了基于氨基基 SiO₂ 微球材料填充固相萃取净化小柱, 结合高效液相色谱法检测花生中白藜芦醇含量的方法, 以期拓展氨基基 SiO₂ 微球材料在样品前处理的应用, 开发低廉高效的固相萃取材料, 也为花生中白藜芦醇含量检测提供分离效果更好、灵敏准确的检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花生样品由中国农业科学院油料作物研究所收集; 氨基基 SiO₂ 微球, 由球体科学有限公司(中国武汉)提供。

白藜芦醇标准品(纯度≥99%, 美国 Sigma 公司); 碳酸氢钠、抗坏血酸、三氯化铁六水合物、乙醇(分析纯)、冰乙酸(色谱纯)(国药集团化学试剂有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(美国 Waters 公司); AUY 220 万分之一电子天平(日本岛津公司); Thermo Scientific™ Prisma™ E 扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); RephiLe PURIST UV 超纯水机(上海乐枫生物科技有限公司); L550 台式低速大容量离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); SM-3010 粉碎机(德国 SOKANY 公司); vaco10 真空冷冻干燥机(德国 zirus 公司); MaxQ TM4450 台式恒温摇床(美国 Barnstead 公司);

BF-2000 型氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司); XMTD-7000 型水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司); Kylin-bell 旋涡混合器 VORTEX-5(中国其林贝尔仪器制造有限公司); 50 mL 具塞离心管(美国 Corning 公司); Transferpette® S 微量移液器(德国 BRAND 公司); 1 mL 无菌注射器(武汉市王冠医疗器械有限责任公司); 0.22 μm 有机系滤膜(美国 Millipore 公司); DQ-101 切片机(温岭市林大机械有限公司); 200 mL 聚四氟乙烯反应釜(济宁市翰业机械设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

精密称取白藜芦醇标准品 10.00 mg, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 配成 1000 mg/L 的标准储备液, -20°C 避光保存, 有效期 6 个月。临用时, 用甲醇逐级稀释成实验所需不同浓度的标准溶液。

1.3.2 吸附材料制备

(1) 氨丙基 SiO_2 材料制备

方法参照文献[20], 称取经氨丙基修饰的、过 400~500 目筛的 SiO_2 微球 10 g 置于 250 mL 烧杯中, 加入 100 mL 浓度为 0.05 mol/L 的盐酸, 混匀过夜, 使其充分溶胀。后分别用超纯水、甲醇洗涤, 重复 3 次, 真空干燥后得到 SiO_2 微球备用。

(2) 四氧化三铁-氧化石墨烯制备

先取 40 mL 浓度为 0.1 mol/L 的 FeCl_3 水溶液加入到 80 mL 浓度为 0.45 mol/L 的 NaHCO_3 水溶液中, 后加入一个磁子, 磁力搅拌 30 min, 配成溶液 1; 另取 20 mL 浓度为 0.1 mol/L 的抗坏血酸溶液加到 40 mL 浓度为 2 mg/mL 的氧化石墨烯溶液中, 超声 30 min 后离心取上清, 配成溶液 2; 后将溶液 1 滴加到溶液 2 中再转移到 200 mL 聚四氟乙烯反应釜中, 150°C 水热反应 8 h, 待反应结束后自然冷却至室温, 弃去上清, 加超纯水离心洗涤; 最后通过真空冷冻干燥机于 -40°C 冷冻干燥得到终产物, 将产物研磨成粉末状备用^[21]。

(3) SiO_2 /氧化石墨烯纳米复合材料

称取预先制备的 3.5 g 氨丙基 SiO_2 微球加入 120 mL 浓度为 0.5 mg/mL 氧化石墨烯溶液中, 放入 40°C 的摇床中 180 r/min 振荡 24 h。待结束后静置弃上清, 并用超纯水多次洗涤, 直到上清液澄清透明。最后放入真空冷冻干燥机于 -40°C 冷冻干燥, 得到棕色粉末为 SiO_2 /氧化石墨烯纳米复合材料备用^[20]。

1.3.3 吸附材料表征

用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察 SiO_2 的微观形貌和特征, 并进行 X 射线能谱分析(energy dispersive spectroscopy, EDS), 对样品元素进行定量和定性分析; 用傅里叶红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)对 SiO_2 和吸附白藜芦醇后的

SiO_2 ($\text{SiO}_2\text{-Res}$)的微观结构特别是化学基团、化学键等进行分析。

1.3.4 样品溶液制备

选取成熟饱满、大小均一、无腐败损伤的花生仁 20 g 左右, 然后用切片机、粉碎机将样品捣碎成磨粉状, 过 40 目筛备用。参考 GB/T 24903—2010《粮油检验 花生中白藜芦醇的测定 高效液相色谱法》的提取方法, 称取花生粉末 5 g(精确至 0.001 g)于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入 60 mL 85% 乙醇溶液, 置于 80°C 水浴中提取 45 min, 不时振摇, 待提取完成后将溶液分批倒入 50 mL 离心管, 4000 r/min 离心 5 min, 合并上清液后进行固相萃取。

将 400 mg SiO_2 微球填充于 3 mL 固相萃取净化柱空柱中, 利用筛板将其固定。首先, 使用 5 mL 85%乙醇依次通过净化小柱淋洗活化材料, 移取 4 mL 样品溶液以 1.0 mL/min 流速进行上样; 完成上样过程后, 用 2 mL 乙醇将吸附于净化柱上的目标物冲洗下来, 收集所有的洗脱液氮吹至近干, 用 0.2 mL 甲醇复溶, 过 0.22 μm 滤膜后进高效液相色谱检测分析。

加标样品处理: 按上述国家标准方法移取 4 mL 样品溶液, 加入 100 μL 质量浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白藜芦醇标准溶液, 静置 0.5 h 后涡旋混匀, 以相同步骤进行前处理, 计算回收率。

1.3.5 色谱条件

Symmetry C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温箱温度为 30°C ; 流动相为: 乙腈:水:冰醋酸(25:75:0.09, V:V:V); 流速为 0.7 mL/min; 紫外检测波长设定为 306 nm; 样品进样量为 10 μL 。

1.3.6 数据分析

采用外标法定量, 根据白藜芦醇在高效液相色谱中的峰面积来定量样品中白藜芦醇含量。实验结果为 3 次平行实验均值, 用 Excel 2016 进行数据统计分析, 用 Origin 2019b 对数据进行制图分析。

2 结果与分析

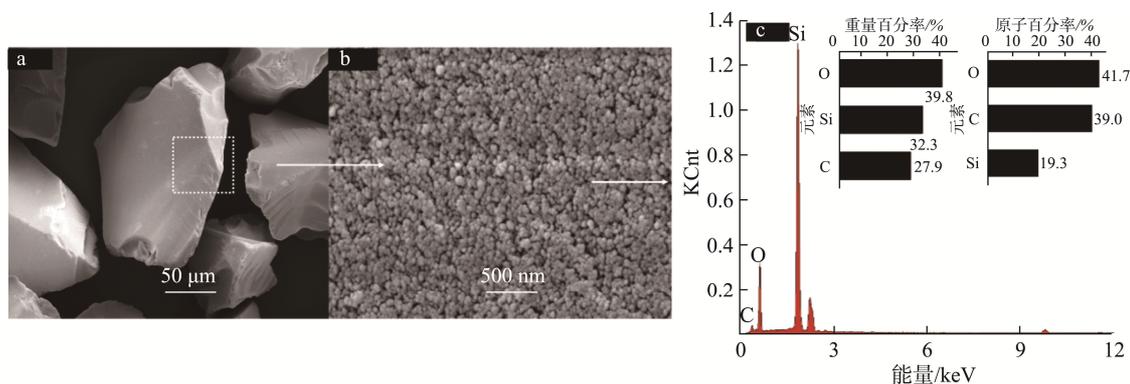
2.1 SiO_2 的表征分析

2.1.1 SEM-EDS 分析

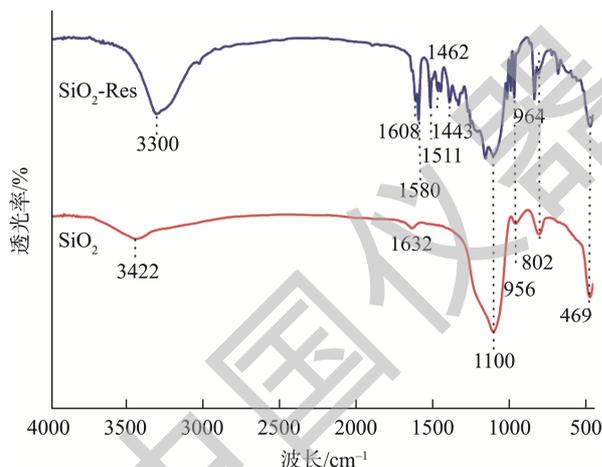
通过 SEM-EDS 分析, 不仅能看到 SiO_2 微球表面的微观形貌, 还能研究微球中的元素含量。如图 1a、b 所示, 随着放大倍数的增加, SiO_2 样品呈现出球形度较好的球状形貌; 此外, 样品的元素分布图(图 1c)显示, O 元素占比 41.7%, Si 元素重量占比 19.3%, 比例接近 2:1, 因而具有稳定的性质。

2.1.2 FTIR 分析

图 2 为空白 SiO_2 和吸附白藜芦醇后的 SiO_2 ($\text{SiO}_2\text{-Res}$) 的 FTIR 图谱。在图 2 中可以看到, SiO_2 和 $\text{SiO}_2\text{-Res}$ 在谱图上都有 SiO_2 的明显特征峰, 如在 3422 cm^{-1} 处有 -OH 振

图 1 SiO₂ 的 SEM (a、b) 和 EDS (c) 图Fig.1 SEM (a, b) and EDS (c) of SiO₂

动吸收峰, 1632 cm⁻¹ 处有 H-O-H 振动吸收峰、1100 cm⁻¹ 处有 -Si-O- 振动吸收峰、956 cm⁻¹ 处有 Si-OH 振动吸收峰、802、469 cm⁻¹ 处有 Si-O-Si 振动吸收峰^[22], 此外 SiO₂-Res 在谱图 3300、1608、964 cm⁻¹ 处上有较明显的白藜芦醇吸收峰, 3300 cm⁻¹ 处为 -OH 振动吸收峰, 1608 cm⁻¹ 处为苯环上的对应 C=C 吸收峰; 964 cm⁻¹ 则为反式 C=C 吸收峰^[23]; 表明白藜芦醇能够被 SiO₂ 以相互作用较强的化学方式吸附。

图 2 SiO₂ 和 SiO₂-Res 的 FTIR 图Fig.2 FTIR spectra of SiO₂ and SiO₂-Res

2.2 前处理方法优化

2.2.1 萃取材料的优化

花生基质复杂, 其富含的油脂、蛋白质等营养物质易对目标组分产生干扰, 不同的吸附材料其官能团种类和吸附位点数量不一样, 因此对样品的富集净化效果也不同。本研究选用氨丙基 SiO₂ 材料、四氧化三铁-氧化石墨烯和 SiO₂/氧化石墨烯纳米复合材料各 400 mg, 考察不同萃取材料对白藜芦醇富集效果的影响, 回收率如图 3a 所示。结果表明, 采用氨丙基 SiO₂ 作为固相萃取材料最合适, 回收

率最高。这可能是因为氧化石墨烯因含羟基、羧基、羰基、环氧基等多种含氧官能团及较大的比表面积而使其吸附选择性较差, 吸附的基质组分太多, 从而使回收率降低^[24-25]。

2.2.2 固相萃取柱空柱容量的优化

萃取净化过程中, 在萃取材料保持质量不变的条件下, 柱容量的大小影响材料的填充高度。材料填充过高, 因萃取过程传质慢而引起回收率的降低; 材料填充过低, 因塔板数不够、样品过柱较快未与材料成分接触而不能起到萃取净化效果。在本研究中, 根据市场上常见的萃取柱容量大小, 固定 400 mg 材料填充量, 依次考察了柱容量为 1、3、6 mL 时白藜芦醇的回收率, 结果如图 3b 所示。当萃取柱容量为 3 mL 时, 白藜芦醇回收率最高, 后随着柱容量的增大, 回收率明显降低, 所以将本研究萃取柱容量选择为 3 mL。

2.2.3 材料填充量的优化

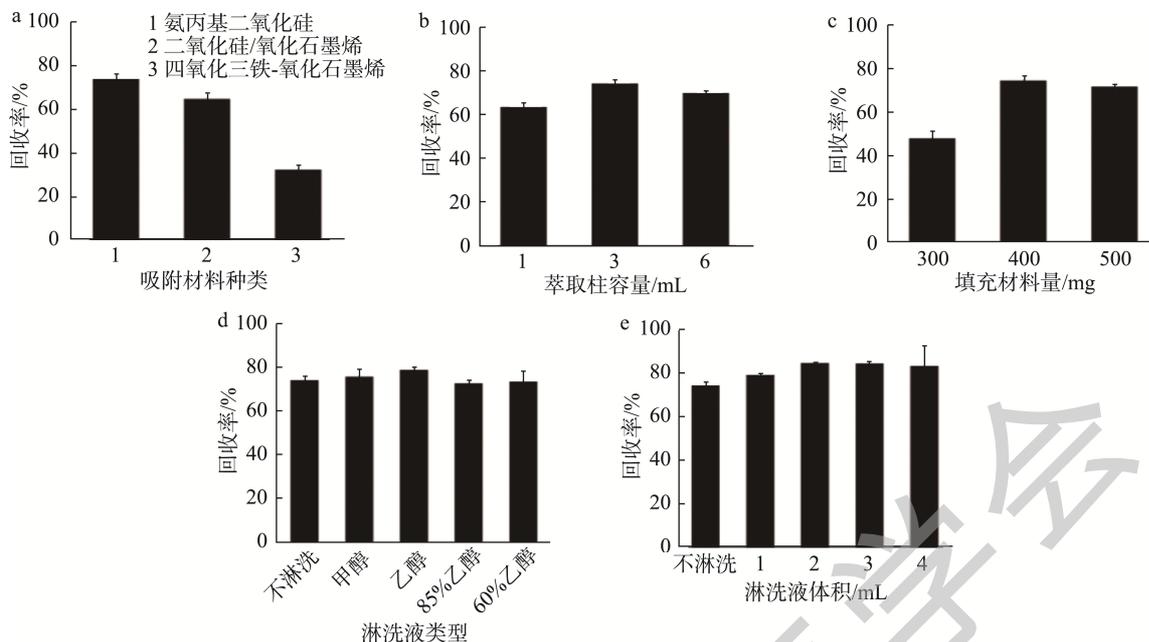
适当的萃取材料填充可以有效地减少目标物的残留。保证合适的材料填充高度, 既能节省成本, 又能提高萃取净化效率。本研究选择萃取柱容量为 3 mL, 依次考察了材料填充量为 300、400、500 mg 时白藜芦醇的回收率, 结果如图 3c 显示, 在材料填充量为 400 mg 的条件下, 白藜芦醇回收率达到最大值, 故选择 400 mg。

2.2.4 淋洗液类型的优化

为了获得理想的回收率, 进一步考察了用甲醇和不同浓度乙醇溶剂对净化柱上残留的白藜芦醇的洗脱效果。固定空柱容量为 3 mL, 材料填充量为 400 mg, 考察了 4 种淋洗液(甲醇、乙醇、85%乙醇、60%乙醇, 1 mL)对白藜芦醇回收率的影响。结果如图 3d 所示, 乙醇淋洗效果最好, 回收率最高。因此在后续的研究中, 选用乙醇溶液作为淋洗液。

2.2.5 淋洗液体积的优化

分别用 1、2、3、4 mL 乙醇溶液对固相萃取柱进行洗脱, 研究不同体积的乙醇溶液洗脱对白藜芦醇回收率的影响。结果如图 3e 所示, 洗脱溶液体积为 2 mL 时, 白藜芦醇的回收率最高可达到 85.16%。乙醇属于质子性溶剂, 可

图 3 优化前处理条件($n=3$)Fig.3 Optimization of the pretreatment conditions ($n=3$)

与物质形成氢键,增强洗脱效果,足够的乙醇可以有效地将萃取材料上残留的分析物充分洗脱下来;但乙醇作为有机试剂,过多使用不仅会浪费试剂、造成对环境的污染,而且还会增加固相萃取和氮吹时间,还可能将其他干扰杂质洗脱下来,最终影响目标物质的分析。因此本研究综合考虑,选择 2 mL 作为固相萃取最佳洗脱溶液用量。

2.3 线性关系与方法检出限

对不同浓度的白藜芦醇标准溶液进行定量分析,绘制标准曲线,并考察方法的检出限(limit of detection, LOD)、定量限(limit of quantification, LOQ)及线性范围等,重复测定 3 次。以白藜芦醇标准溶液浓度(X , $\mu\text{g/g}$)作横坐标,峰面积(Y)作纵坐标,采用 7 点法进行线性方程回归分析。结果显示,以 3 倍信噪比($S/N=3$)和 10 倍信噪比($S/N=10$)计算目标物的检出限和定量限,分别为 0.017 $\mu\text{g/g}$ 和 0.056 $\mu\text{g/g}$;此方法在白藜芦醇浓度为 0.1~10.0 $\mu\text{g/g}$ 之间时,白藜芦醇标准溶液浓度与峰面积呈良好的线性关系,线性方程为 $Y=41.406X-3.369$,相关系数 $r^2=0.9994$ 。

2.4 方法重现性、回收率与精密度

为考察方法的精密度和准确度,在分析样品中添加低浓度(0.1 $\mu\text{g/g}$)、中浓度(0.5 $\mu\text{g/g}$)、高浓度(1.0 $\mu\text{g/g}$) 3 个

水平的标准物质,对其进行日内精密度、日间精密度、加标回收率测定。日内精密度是对一天内样品连续 6 次重复测定结果计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD);日间精密度是样品连续 6 d 测定结果所求的 RSD;加标回收率是加标样品连续 3 次测量结果所求平均值,结果见表 1。由表 1 可知,不同浓度的加标回收率保持在 90.4%~107.2%,日内和日间精密度均小于 8.5%。因此,该方法具有良好的精密度和准确度,能对样品中白藜芦醇进行准确定量分析。

2.5 与报道文献方法的对比

将本研究建立的方法与 GB/T 24903—2010、NY/T 3342—2018《花生中白藜芦醇及白藜芦醇苷异构体含量的测定 超高效液相色谱法》和 NY/T 2641—2014《植物源性食品中白藜芦醇及白藜芦醇苷的测定 高效液相色谱法》标准方法比较,结果见表 2。固相萃取步骤简单,灵敏性至少高出一个数量级以上,色谱分离效果更好。与花生中白藜芦醇检测中应用较多的氧化铝萃取材料比较^[32],成本更低,回收率较高,灵敏度也较高,方法更可靠。表明本方法灵敏、可靠,为今后花生中白藜芦醇的含量测定提供了一种实用、廉价的方法。

表 1 方法的回收率和精密度($n=6$)
Table 1 Recoveries and precision of the method ($n=6$)

化合物	回收率/%			日内精密度/%			日间精密度/%		
	0.1 $\mu\text{g/g}$	0.5 $\mu\text{g/g}$	1.0 $\mu\text{g/g}$	0.1 $\mu\text{g/g}$	0.5 $\mu\text{g/g}$	1.0 $\mu\text{g/g}$	0.1 $\mu\text{g/g}$	0.5 $\mu\text{g/g}$	1.0 $\mu\text{g/g}$
白藜芦醇	107.2	99.5	90.4	5.7	3.7	1.3	8.4	3.4	5.6

表 2 不同基质中白藜芦醇检测方法比较

Table 2 Comparison of resveratrol detection methods in different matrices

基质	样品前处理	检测技术	LOQ/($\mu\text{g/g}$)	回收率/%	参考文献
红酒	SPE (C ₁₈ 柱)	毛细管电泳	0.130	-	[26]
红酒	荧光共振能量转移	荧光光谱	-	93.2~105.3	[27]
葡萄	LLE	高效液相色谱	0.062	平均 85.1	[28]
花生皮	LLE	高效液相色谱	0.200	100~108	[29]
花生	SPE(氧化铝柱)	高效液相色谱	0.090	99.9	[30]
花生	SPE(氧化铝粉)	高效液相色谱	0.090	89.4~103.9	[31]
花生	LLE	高效液相色谱	0.330	-	GB/T 24903—2010
花生	LLE	高效液相色谱	3.000	-	NY/T 3342—2018
花生	LLE	高效液相色谱	3.000	-	NY/T 2641—2014
花生	SPE(自制柱)	高效液相色谱	0.056	90.4~107.2	本实验

注: -表示数据缺失。

2.6 实际样品检测

分别选择产地为新疆、辽宁、湖北, 10 个花生品种共 30 份花生样品, 采用本研究建立的方法进行检测分析, 每个样品做 3 个平行。结果如表 3 所示, 新疆、辽宁和湖北的花生中白藜芦醇的含量范围分别为 73.24~198.19 $\mu\text{g/kg}$ 、87.54~548.51 $\mu\text{g/kg}$ 和 89.18~303.67 $\mu\text{g/kg}$, 表明不同产地花生中白藜芦醇含量差异较大。

表 3 花生样品中白藜芦醇的含量($\mu\text{g/kg}$)
Table 3 Content of resveratrol in peanuts ($\mu\text{g/kg}$)

花生品种	新疆	湖北	辽宁
豫花 37	140.01	123.71	461.36
中花 6 号	101.39	89.18	142.91
花育 917	198.19	186.85	260.70
花育 23	193.51	151.35	272.61
花育 25	123.45	137.12	87.54
冀花 16	113.97	247.55	548.51
粤油 256	73.24	98.21	90.22
远杂 9102	80.02	303.67	106.48
白沙 1016	133.46	139.01	271.84
天府 24	125.55	112.05	438.34

3 结 论

本研究利用实验室自制的氨丙基 SiO₂ 微球材料固相萃取净化小柱, 通过优化前处理条件, 建立了一种萃取材料为 SiO₂ 微球材料固相萃取, 高效液相色谱法检测花生仁中白藜芦醇含量的方法。氨丙基 SiO₂ 微球材料与其他传统的萃取材料及商品柱相比, 具有成本低、回收率高、稳定性好等优点。该方法的检出限为 0.017 $\mu\text{g/g}$, 定量限为 0.056 $\mu\text{g/g}$ 。不同白藜芦醇添加量的加标回收率为 90.4%~107.2%, 相对标准偏差为 1.3%~8.4%, 表明本方法具有灵敏高效、准确可靠的优点, 满足花生中白藜芦醇定量分析的要求, 有

效地解决了现有方法中色谱分离效果差、灵敏度低、回收率不高的问题。在实际检测新疆、辽宁和湖北花生中的白藜芦醇后, 发现了同一花生品种在不同产区种植其白藜芦醇的含量差异较大, 出现这一现象的原因可能是白藜芦醇为次生代谢产物, 其含量的积累与生长环境(土壤、气候及当地微生物)等多个因素有关。

参考文献

- [1] 王瑞元. 我国花生生产、加工及发展情况[J]. 中国油脂, 2020, 45(4): 1-3.
WANG RY. Production, processing and development of peanut in our country [J]. China Oils Fats, 2020, 45(4): 1-3.
- [2] 庞磊, 郑嘉宜, 刘伯业. 花生蛋白改性技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(21): 7042-7048.
PANG L, ZHENG JY, LIU BY. Research progress on the modification technology of peanut protein [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(21): 7042-7048.
- [3] 张颖, 刘义梅. 虎杖中白藜芦醇提取工艺研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1884-1889.
ZHANG Y, LIU YM. Research progress on the extraction process of resveratrol from *Polygonum cuspidatum* [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 1884-1889.
- [4] 徐慧静, 牛建娜, 杨树, 等. 液相色谱-质谱法检测保健食品中白藜芦醇及白藜芦醇苷[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1150-1155.
XU HJ, NIU JN, YANG X, et al. Determination of resveratrol and resveratrol glucoside in health food by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(4): 1150-1155.
- [5] LORGERIL M, SALEN P. Wine ethanol, platelets, and Mediterranean diet [J]. Lancet, 1999, 353(9158): 1067.
- [6] HE S, YAN X. From resveratrol to its derivatives: New sources of natural antioxidant [J]. Curr Med Chem, 2013, 20(8): 1005-1017.
- [7] FANG J, LUO L, KE Z, et al. Polydatin protects against acute cholestatic liver injury in mice via the inhibition of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress [J]. J Funct Foods, 2019, 55: 175-183.
- [8] POTTER GA, PATTERSON LH, WANOGHO E, et al. The cancer preventative agent resveratrol is converted to the anticancer agent piceatannol by the cytochrome P450 enzyme CYP1B1 [J]. Brit J Cancer, 2002, 86(5): 774-778.
- [9] LI J, ZHONG Z, YUAN J, et al. Resveratrol improves endothelial dysfunction and attenuates atherogenesis in apolipoprotein E-deficient

- mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 67: 63–71.
- [10] 宋健, 林瑾, 李星, 等. 花生种子及花生植株各部位白藜芦醇含量的测定[J]. *食品科技*, 2019, 44(6): 331–335.
SONG J, LIN J, LI X, *et al.* Determination of resveratrol content in peanut seed and parts of peanut plant [J]. *Food Sci Technol*, 2019, 44(6): 331–335.
- [11] KIM C, WRIGHT L, TILLMAN N, *et al.* Peanut antioxidants: Part 1. Genotypic variation and genotype-by-environment interaction in antioxidant capacity of raw kernels [J]. *LWT*, 2014, 57(1): 306–311.
- [12] FAN E, ZHANG K, JIANG S, *et al.* Analysis of trans-resveratrol in grapes by micro-high performance liquid chromatography [J]. *Anal Sci*, 2008, 24(8): 1019–1023.
- [13] LIMMONGKON A, PANKAM J, SOMBOON T, *et al.* Evaluation of the DNA damage protective activity of the germinated peanut (*Arachis hypogaea*) in relation to antioxidant and anti-inflammatory activity [J]. *LWT*, 2019, 101: 259–268.
- [14] 韩寒冰, 王明阳, 马超, 等. HPLC-DAD 和 UPLC-MS/MS 对蔓花生中二苯乙烯类化合物的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26(5): 699–703, 712.
HAN HB, WANG MY, MA C, *et al.* Simultaneous determination of stilbene compounds in *Arachis duranensis* by HPLC-DAD and UPLC-MS/MS [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2014, 26(5): 699–703, 712.
- [15] 宋吉英, 汪琪琦, 王艳丽. 基于鲁米诺-白藜芦醇荧光体系检测花生衣中的白藜芦醇和苷[J]. *化学试剂*, 2022, 44(1): 97–101.
SONG JY, WANG QQ, WANG YL. Detection of resveratrol and glycosides in peanut coat based on fluorescence system of luminol-resveratrol [J]. *Chem Reagent*, 2022, 44(1): 97–101.
- [16] 韩小丽, 邵鹏, 李明静, 等. 薄层荧光扫描法测定花生茎中白藜芦醇的含量[J]. *天然产物研究与开发*, 2006, (4): 628–630.
HAN XL, SHAO P, LI MJ, *et al.* Determination of resveratrol in peanut stem by thin layer chromatography fluorescence scanning [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2006, (4): 628–630.
- [17] FEDOTOV PS, MALOFEEVA GI, SAVONINA EY, *et al.* Solid-phase extraction of organic substances: Unconventional methods and approaches [J]. *J Anal Chem*, 2019, 74(3): 205–212.
- [18] MORITZ M, GESZKE-MORITZ M. The effect of SBA-15 surface modification on the process of 18 β -glycyrrhetic acid adsorption: Modeling of experimental adsorption isotherm data [J]. *Materials*, 2019, 12(22): 3671.
- [19] SONTAKKE AD, PURKAIT MK. A brief review on graphene oxide nanoscrolls: Structure, synthesis, characterization and scope of applications [J]. *Chem Eng J*, 2021, 420(P1): 129914.
- [20] YU L, MA F, DING X, *et al.* Silica/graphene oxide nanocomposites: Potential adsorbents for solid phase extraction of trace aflatoxins in cereal crops coupled with high performance liquid chromatography [J]. *Food Chem*, 2018, 245: 1018–1024.
- [21] 喻理, 李培武, 杨代斌, 等. 一种磁性石墨烯复合材料及其制备方法和应用: 中国, CN108722350B [P]. 2021-01-01.
YU L, LI PW, YANG DB, *et al.* Magnetic graphene composite material and preparation method and application thereof: China, CN108722350B [P]. 2021-01-01.
- [22] 郑金颖, 耿艳楼, 赵新强, 等. 氨基基功能化二氧化硅的制备及结构表征[J]. *功能材料*, 2008, (9): 1562–1566.
ZHENG JY, GENG YL, ZHAO XQ, *et al.* Synthesis and characterization of aminopropylated silica [J]. *J Funct Mater*, 2008, (9): 1562–1566.
- [23] 张红玉, 王成章, 原姣姣, 等. 牡丹籽壳中白藜芦醇的分离及结构表征[J]. *中国油脂*, 2017, 42(2): 116–119.
ZHANG HY, WANG CZ, YUAN JJ, *et al.* Isolation and structure characterization of resveratrol from peony seed shell [J]. *China Oils Fats*, 2017, 42(2): 116–119.
- [24] NIDHI D, BABU SM, INDRA B, *et al.* A review on recent advancements on removal of harmful metal/metal ions using graphene oxide: Experimental and theoretical approaches [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 858(P1): 159672.
- [25] 张倩, 唐利斌, 李汝劼, 等. 氧化石墨烯的制备还原及应用进展[J]. *红外与毫米波学报*, 2019, 38(1): 79–90.
ZHANG Q, TANG LB, LI RJ, *et al.* Graphene oxide: Progress in preparation, reduction and application [J]. *J Infrared Millim Waves*, 2019, 38(1): 79–90.
- [26] DOBIASOVA Z, PAZOUREK J, HAVEL J. Simultaneous determination of trans-resveratrol and sorbic acid in wine by capillary zone electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2002, 23(2): 263–267.
- [27] LI CP, TAN S, YE H, *et al.* A novel fluorescence assay for resveratrol determination in red wine based on competitive host-guest recognition [J]. *Food Chem*, 2019, 283: 191–198.
- [28] FAN E, ZHANG K, JIANG S, *et al.* Analysis of trans-resveratrol in grapes by micro-high performance liquid chromatography [J]. *Anal Sci*, 2008, 24(8): 1019–1023.
- [29] RESURRECCION AVA. Development of a reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) procedure for the simultaneous determination of phenolic compounds in peanut skin extracts [J]. *Food Chem*, 2009, 117(2): 356–363.
- [30] LEE SS, LEE SM, KIM M, *et al.* Analysis of trans-resveratrol in peanuts and peanut butters consumed in Korea [J]. *Food Res Int*, 2004, 37(3): 247–251.
- [31] XU S, LUO H, CHEN H, *et al.* Optimization of extraction of total trans-resveratrol from peanut seeds and its determination by HPLC [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(6): 1024–1031.
- [32] 郝旭晨, 董燕婕, 范丽霞, 等. 花生中白藜芦醇和白藜芦醇苷的提取及含量测定[J]. *中国食物与营养*, 2020, 26(3): 27–30.
HAO XC, DONG YJ, FAN LX, *et al.* Extraction and determination of resveratrol and resveratrol glycoside in peanuts [J]. *Food Nutr China*, 2020, 26(3): 27–30.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



周 千, 硕士研究生, 主要研究方向为食品营养与检测。

E-mail: qianzhou_zq@163.com



喻 理, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为纳米材料的农产品质量安全检测与控制研究。

E-mail: yuli01@caas.cn



唐忠海, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养学。

E-mail: tangzh@hunau.edu.cn