

超高壓液相層析儀快速分析台灣蔬菜葉黃素之新方法

羅淑卿^{1,*} 鍾佩恩²

摘要

羅淑卿、鍾佩恩。2014。超高壓液相層析儀快速分析台灣蔬菜葉黃素之新方法。台灣農業研究 63(2):159–166。

葉黃素可延緩眼睛老化及黃斑部病變，但人體無法自行合成，需由飲食中補充。為建立快速分析葉黃素之方法與台灣常見市售蔬菜葉黃素含量之資料庫，本研究利用超高壓液相層析儀，使用管柱 ethylene bridged hybrid (BEH) C18，以氘甲烷和甲醇 (70:30) 之混合液為移動相，等位沖提流洗下，可在 5 min 之內定量標的物葉黃素。此外， α -及 β -胡蘿蔔素也可利用此方法一併分析定量。本研究分析結果顯示，50 件蔬菜樣本中葉黃素含量介於 0.16–1.77 mg g⁻¹ 乾重，其中葉黃素含量大過 1 mg g⁻¹ 乾重者有 8 件樣本，多屬深綠色之綠葉蔬菜，包括香菜、空心菜、油菜及芥藍等，其中以香菜葉含量最高，達 1.77 mg g⁻¹ 乾重。綠葉蔬菜之葉部含量高於莖部，且皆高於黃色蔬菜及淡色蔬菜，惟淡色蔬菜不被食用之深綠色外葉葉黃素含量大過食用部位。瓜果類蔬菜如大黃瓜，其綠色外皮含量亦高過於白色果肉組織，相差達 2.6 倍。藉由蔬菜外觀色澤和葉黃素含量差異，消費者可選用深綠色之綠葉蔬菜，以增加日常葉黃素攝取量。許多未食用之農業廢棄蔬菜，葉黃素含量高於食用部位，應可進一步作加值利用。

關鍵詞：葉黃素、蔬菜、超高壓液相層析儀。

前言

隨著科技進步，現代人接觸電視、電腦及手機的機會增多，螢幕所放出之藍光會穿透水晶體，造成視網膜光氧化傷害而發炎，致使老年性黃斑部病變提早發生 (aged-related macular degeneration; AMD)，視力會損壞、退化甚至失明。人體血漿中葉黃素 (lutein) 若維持一定濃度，有助於降低 AMD 之發生率 (Schleicher *et al.* 2013)。因為葉黃素可過濾藍光，避免視網膜受到光引起的氧化傷害 (Jung-hans *et al.* 2001)，而視網膜黃斑區域之黃斑色素 (macular pigment)，其主要為葉黃素累積而呈現黃色。此外，葉黃素為一良好的抗氧化劑，可清除活性氧及自由基，避免其對正常細胞之傷害，並抑制脂質過氧化，因此亦可延緩

AMD 之發生。另外，增加血漿中葉黃素含量，亦可降低化療後頭頸部鱗狀細胞癌 (squamous cell carcinoma) 的傷害 (Sakhi *et al.* 2010)。

葉黃素、 α -胡蘿蔔素 (α -carotene) 和 β -胡蘿蔔素 (β -carotene) 屬類胡蘿蔔素 (carotenoids)，三者結構相近，皆為植物色素。人體無法合成葉黃素，必須靠飲食攝入補充 (Semba & Dagnelie 2003)。目前飲食來源有二種，可為食物或坊間販賣之營養補充品 (Krinsky *et al.* 2003)。隨著生物科技發達，亦有學者著手培育高胡蘿蔔素之小麥品種，希望提高人類攝取機率 (Lachman *et al.* 2013)。

若能建立國產蔬菜中的葉黃素含量與分佈狀況資料庫，作為一項重要的健康飲食指標，將可提供消費者選擇飲食時之參考依據。本研究擬針對國人常食用之淡色及綠色品種蔬菜進

投稿日期：2014 年 3 月 6 日；接受日期：2014 年 4 月 23 日。

* 通訊作者：shuchin@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所農業化學組研究助理。台灣 台中市。

行葉黃素含量分析，以建立市售蔬菜葉黃素之含量資料庫。

材料與方法

本試驗由市場收集白色、黃色及深綠色蔬菜作物為材料，分成莖或葉等不同部位，或是部分需削皮的蔬菜如大頭菜及大黃瓜，則依飲食習慣分成果肉及外皮等可食與未食部位。未食用之外葉乃菜市場菜販所丟棄之深綠色粗大未食用葉，分別進行乾燥磨粉。參考 Kha-chik *et al.* (1997) 的方法進行葉黃素萃取，萃取前先加入已知濃度的內部標準品 β -apo-8'-carotenal (以方便計算類胡蘿蔔素之實際含量)。每一樣本稱取 0.1 g 蔬菜粉，加入 3.7 mL 丙酮及 0.3 mL 去離子水，以超音波震盪機震盪 30 min。以 5,000 \times g 離心後，取上清液 2 mL，於 36°C 水浴環境下，利用氮氣將上清液吹乾。加入 0.1 mL 乙醚、2 mL 甲醇及 1 mL 15% KOH，振盪混勻後，以同法利用氮氣吹乾最上層的乙醚、甲醇。於 30°C 水浴下反應 2 h，期間取出搖晃混勻。加入水 1.5 mL 和正己烷 1.5 mL，振盪混勻 1 min，再加入 2 mL 正己烷，振盪混勻 1 min。將上層移至新的離心管，再加入 2 mL 正己烷，振盪混勻 1 min，將上層移至新離心管。收集 2 次正己烷萃取的有機層，以等體積的水清洗 4 次，吸取上層正己烷以氮氣吹乾，最後加 0.5 mL 氬甲烷回溶。進行定量分析前以 0.2 μ m 過濾膜過濾。添加定量之葉黃素、 α -胡蘿蔔素及 β -胡蘿蔔素之標準品於分析蔬菜樣本中，以計算其回收率。

葉黃素之定量分析利用超高壓液相層

析儀，機型為 ACQUITY UPLC，分析管柱為 C18 column (reversed phase chromatographic column, 150 mm \times 2.1 mm, Waters Co., USA)、檢出器為光電二極體陣列檢測器 (photodiode array detector; PDA)，檢測波長 450 nm，管柱溫度 40°C。以氬甲烷和甲醇 (70 : 30) 之混合液為移動相溶液，流速為 0.25 mL min^{-1} ，樣品注射量 5 μ L。葉黃素、 α -及 β -胡蘿蔔素標準品 (Sigma-Aldrich Chemical Co., St Louis, MO, USA)，純度 99.6%，購自友和貿易股份有限公司。

結果與討論

類胡蘿蔔素標準品配製為 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 之濃度，利用氬甲烷及甲醇為移動相，以等位沖提方式可同時分析及定量葉黃素、 α -及 β -胡蘿蔔素 (圖 1)。沖提出之順序及滯留時間分別為葉黃素 2.28 min、 α -胡蘿蔔素 15.87 min 及 β -胡蘿蔔素 16.85 min。每一類胡蘿蔔素標準品皆可建立良好之線性關係 ($R^2 = 0.99$) (圖 2)，此方法可在 17 min 內完成蔬果中，3 種結構相近之類胡蘿蔔素分離及定量。於類胡蘿蔔素標準曲線之線性範圍內，進行同日間 (within-day) 及異日間 (between-day) 試驗。配製的標準溶液於不同的 6 d 重覆注射 6 次，每次注射 5 μ L，將所得之數據 (retention time 及 peak area) 計算標準偏差 (standard deviation) 與變異係數 (coefficient of variation) (表 1)。Within-day 之滯留面積變異係數 (% CV) 分別為葉黃素 0.5、 α -胡蘿蔔素 0.4 及 β -胡蘿蔔素 0.74。Between-day 之滯留面積變異係數分別為葉黃

表 1. 葉黃素、 α -胡蘿蔔素及 β -胡蘿蔔素滯留時間及波峰面積之再現性。

Table 1. The reproducibility of retention time and peak area of lutein, α -carotene and β -carotene.

Item	Within-day (n = 6)				Between-day (n = 6)			
	Retention time		Peak area		Retention time		Peak area	
	X \pm SD ^z	% CV ^y	X \pm SD	% CV	X \pm SD	% CV	X \pm SD	% CV
Lutein	2.28 \pm 0.005	0.02	8344.5 \pm 12.6	0.50	2.29 \pm 0.01	0.31	7887.5 \pm 69.1	0.88
α -carotene	15.87 \pm 0.004	0.05	8527.3 \pm 32.6	0.40	15.86 \pm 0.18	1.11	8550.4 \pm 31.3	0.37
β -carotene	16.85 \pm 0.007	0.03	3147.8 \pm 23.2	0.74	16.84 \pm 0.18	1.08	3103.8 \pm 59.9	1.90

^z SD: standard deviation.

^y CV: coefficient of variation.

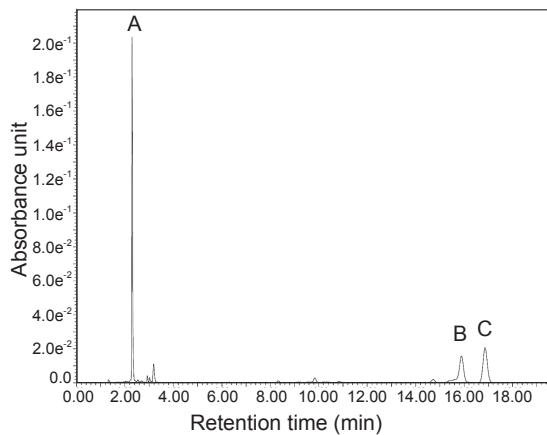


圖 1. (A) 葉黃素、(B) α -胡蘿蔔素及 (C) β -胡蘿蔔素標準品之 UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) 圖譜。

Fig. 1. The UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) profile of authentic lutein (A), α -carotene (B), and β -carotene (C).

素 0.88、 α -胡蘿蔔素 0.37 及 β -胡蘿蔔素 1.9，顯示其精確度 (precision) 良好。於市售蔬菜樣本中加入含葉黃素 0.3 μg 、 α -胡蘿蔔素 16.8 μg 及 β -胡蘿蔔素 0.32 μg 之對照標準品，以測定其回收率。測得平均回收率為 102.8、105.4 及 101.7%。

本研究成功利用 UPLC 精準及快速分離定量蔬菜的三種類胡蘿蔔素。由於類胡蘿蔔素具生理活性，對人體健康有益，因此過去有許多研究報告，探討以 HPLC (high-performance liquid chromatography) 儀器建立類胡蘿蔔素分析技術與方法。相較於傳統 HPLC，UPLC 儀器的改良使分析微量化合物上可較精準且快速。目前利用 HPLC 同時分析多種類胡蘿蔔素的資料中，多數方法分析時間需耗費 30–60 min，速度不及 UPLC，過程也需耗費大量有機溶劑 (Barua 2001; Aman *et al.* 2005; Dias *et al.* 2010; Gleize *et al.* 2012; Montesano *et al.* 2012)。相較於其他利用 UPLC 分析葉黃素之方法，本法使用溶劑簡單，若單以分析葉黃素為標的，分析時間可於 5 min 內完成 (Hung *et al.* 2011; Liu *et al.* 2011; Li *et al.* 2012)。由於整個分析過程只需少量有機溶劑甲醇及氘甲烷 (共 5 mL)，所以分析成本較傳統使用之 HPLC

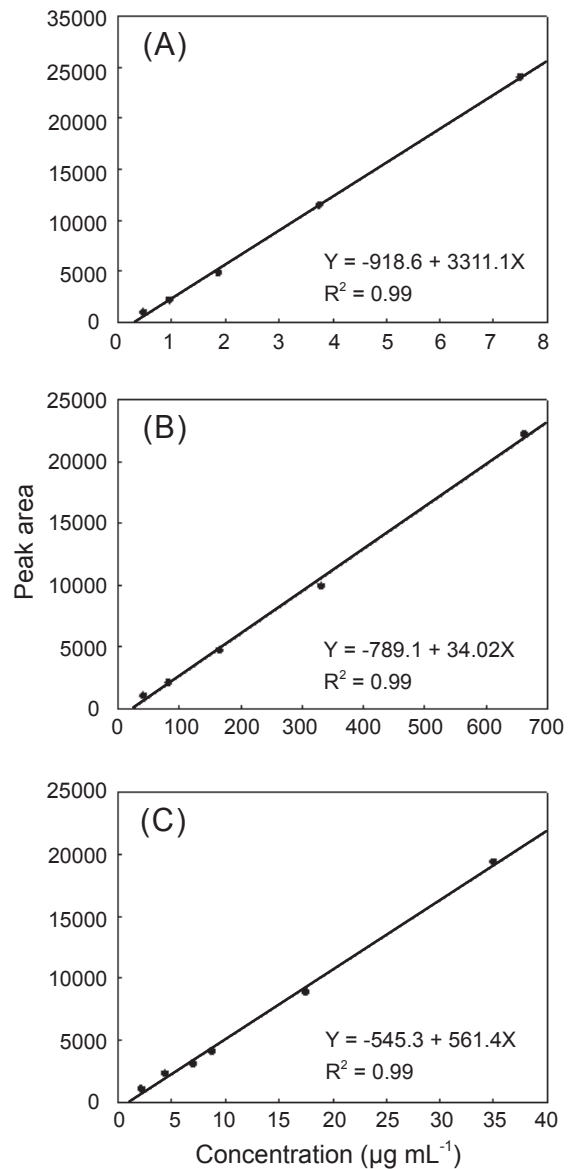


圖 2. 類胡蘿蔔素之 (A) 葉黃素、(B) α -胡蘿蔔素及 (C) β -胡蘿蔔素標準品檢量線。

Fig. 2. Linearity of response of authentic lutein (A), α -carotene (B), and β -carotene (C).

為低，產生的廢液又少，對環境友善。若分析標的需延伸至胡蘿蔔素，亦可增加移動相速度進一步縮短整個分析時間。在葉黃素波峰出現後，伴隨 3.19 min 處有一小波峰 (圖 1)，依文獻推測可能為玉米黃素 (zeaxanthin) 或其它 lutein isomer，至於結構為何需進一步鑑定

(Aruna & Baskaran 2010; Liu *et al.* 2011; Fu *et al.* 2012)。

以上述之葉黃素分析條件，進行國內常食用之 24 種蔬菜中葉黃素含量調查，並於分析過程中添加內部標準品 β -apo-8'-carotenal 以校正葉黃素的測定值 (表 2)。表中未註明莖或葉者，則以全株計算。結果顯示葉黃素含量介於 0.16–1.77 mg g⁻¹ 乾重。所有檢測樣本中以香菜葉葉黃素含量最高，達 1.77 mg g⁻¹ 乾重。葉黃素含量大過 1 mg g⁻¹ 乾重者有共有 8 件樣本，除了香菜葉外，其他如香菜全株 (1.42 mg g⁻¹ 乾重)、川七 (1.28 mg g⁻¹ 乾重)、九層塔 (1.2 mg g⁻¹ 乾重)、小茴香 (1.17 mg g⁻¹ 乾重)、芥藍菜葉 (1.25 mg g⁻¹ 乾重) 及本島茼蒿 (1.05 mg g⁻¹ 乾重)，外觀多屬深綠色之綠葉蔬菜。其他高葉黃素含量之蔬菜，介於 0.69–0.87 mg g⁻¹ 乾重，如茼蒿 (0.8 mg g⁻¹ 乾重)、空心菜 (0.69 mg g⁻¹ 乾重)、油菜 (0.6 mg g⁻¹ 乾重) 及菠菜 (0.87 mg g⁻¹ 乾重) 等。而許多綠葉蔬菜之葉部葉黃素又較全株或莖部含量為高，如空心菜葉 (0.83 mg g⁻¹ 乾重)、油菜葉 (0.84 mg g⁻¹ 乾重) 等。綠葉蔬菜類葉黃素含量多數高於黃色蔬菜及淡色蔬菜，但淡色蔬菜之外葉不食用部位，如花椰菜等，而葉片呈現越深綠者，葉黃素含量越高，皆大過食用部位，相差約 0.32 mg g⁻¹ 乾重。瓜果類蔬菜如大黃瓜，其未食用之綠色外皮含量亦高過於白色果肉組織，約 0.53 mg g⁻¹ 乾重，兩者相差達 2.6 倍，可見許多未食用之農業廢棄蔬菜，葉黃素含量明顯高過食用部位。黃色蔬菜如南瓜，葉黃素含量也不低 (0.52 mg g⁻¹ 乾重)，或許因本試驗選擇綠皮種的南瓜所致。

由於科技進步，使用液晶螢幕機會增加，人體對葉黃素的需求提升，因此許多研究報告特別針對作物葉黃素含量進行探討，包括蔬果 (Murillo *et al.* 2010; Kao *et al.* 2012)、小麥 (Lachman *et al.* 2013)、油料作物 (Habib *et al.* 2013) 及香料植物 (Aruna & Baskaran 2010)。可見許多國家研究當地作物的葉黃素含量，希望能增加自己國民攝取量以及健康。台灣蔬菜葉黃素含量，分析結果顯示與 Kao *et al.* (2012) 相同，以香菜葉葉黃素含量最高，香辛類之配菜

九層塔含量亦高於其他蔬菜。

以本研究結果對照國外學者所收集的分析樣本，不論作物類別為何，葉黃素仍以深綠色葉之作物含量較高 (Ishiguro & Yoshimoto 2005; Aruna & Baskaran 2010; Chandrika *et al.* 2010; Murillo *et al.* 2010)。本研究中葉黃素含量與文獻資料不完全相符，可能為蔬菜中的類胡蘿蔔素含量會因為蔬菜品種、部位、採收時間、種植條件及環境氣候造成差異 (Ishiguro & Yoshimoto 2005)。各類蔬菜經化學分析結果配合外觀顏色之差異，大致可歸納出葉黃素含量高低不同之蔬菜組群。消費者在過度使用眼睛的情形下，可大約由蔬菜外觀色澤差異，選得葉黃素含量較高且喜愛或習慣性食用的蔬菜食用，藉以補充體內所需葉黃素，以達身體保健目的 (Burgos *et al.* 2009)。

文獻指出每天攝取 6–14 mg 的葉黃素，能有效降低 50% 的 AMD 發生機率 (Alves-Rodrigues & Shao 2004)。以本研究結果計算成人葉黃素建議攝取量，以較不受颱風影響的空心菜為例，所測得葉黃素含量為 0.57 mg g⁻¹ 乾重，以一般蔬菜含水量 95% 計算，表示每天攝食空心菜 200 g 即可達到葉黃素的建議攝取量。若食用芥藍菜等葉黃素含量更高之蔬菜，只需約 100 g 即可。地瓜葉也是台灣的盛產蔬菜，依學者研究結果顯示其葉黃素含量為 31.5–42.6 mg 100 g⁻¹ 鮮重 (Ishiguro & Yoshimoto 2005; Kao *et al.* 2012)，亦顯示每日每人只需攝食約 100 g，即可達葉黃素建議攝取量。依文獻指出許多水果亦含高量的葉黃素，藉以攝取水果補充葉黃素，亦為一好方法 (Perry *et al.* 2009; Murillo *et al.* 2010)。

由結果顯示，許多未食用之農業廢棄蔬菜，如大黃瓜皮或蔬菜外葉，葉黃素含量高過食用部位，在糧食短缺及葉黃素對人體重要性日漸提升之現況下，這些廢棄蔬菜未來應可進一步作多元化之加值利用。另外，目前許多研究致力於生質能源之發展，未來若能配合生質能源之製程將葉黃素萃取出純化，以作為醫學保健產品之原料等多項應用，亦為一良好的量產葉黃素模式。

本研究以甲醇及氘甲烷為移動相之等位沖

表 2. 國人常食用之蔬菜葉黃素含量表。

Table 2. Lutein content (mg g^{-1} dry weight) of vegetables commonly consumed in Taiwan.

Vegetable name	Scientific name	mg g^{-1} D. W.	Remarks
Coriander	<i>Coriandrum sativum</i> L.	1.42 ± 0.21	
Coriander leaf	<i>C. sativum</i> L.	1.77 ± 0.20	
Coriander stem	<i>C. sativum</i> L.	0.61 ± 0.03	
Chinese knot weed	<i>Polygonum chinensis</i> L.	1.28 ± 0.11	
Basil	<i>Ocimum basilicum</i> L.	1.20 ± 0.03	
Common dill	<i>Anethum graveolens</i> L.	1.17 ± 0.11	
Black mustard	<i>Brassica nigra</i> (L.) W. D. J. Koch	1.10 ± 0.07	
Black mustard leaf	<i>B. nigra</i> (L.) W. D. J. Koch	1.25 ± 0.10	
Black mustard stem	<i>B. nigra</i> (L.) W. D. J. Koch	0.60 ± 0.11	
Lettuce	<i>Lactuca sativa</i> L.	1.05 ± 0.09	
Garland chrysanthemum	<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	0.80 ± 0.02	
Prickly-seeded spinach	<i>Spinacia oleracea</i> L.	0.78 ± 0.06	
Prickly-seeded spinach leaf	<i>S. oleracea</i> L.	0.87 ± 0.01	
Prickly-seeded spinach stem	<i>S. oleracea</i> L.	0.57 ± 0.02	
Edible rape	<i>Brassica campestris</i> L.	0.60 ± 0.05	
Edible rape leaf	<i>B. campestris</i> L.	0.84 ± 0.10	
Edible rape stem	<i>B. campestris</i> L.	0.48 ± 0.08	
Asparagus lettuce	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>asparagina</i> Bailey	0.78 ± 0.01	
Chinese leek	<i>Allium tuberosum</i> Rottl. ex K. Spreng.	0.71 ± 0.12	
Pumpkin	<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne ex Lam.	0.52 ± 0.16	
Bell pepper	<i>Capsicum annuum</i> var. <i>annuum</i> Grossum group	0.44 ± 0.08	
Mustard	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czerniak. et Coss.	0.65 ± 0.05	
Mustard leaf	<i>B. juncea</i> (L.) Czerniak. et Coss.	0.77 ± 0.04	
Mustard stem	<i>B. juncea</i> (L.) Czerniak. et Coss.	0.37 ± 0.01	
Water convolvulus	<i>Ipomoea aquatica</i> Forssk.	0.69 ± 0.05	
Water convolvulus leaf	<i>I. aquatica</i> Forssk.	0.83 ± 0.04	
Water convolvulus stem	<i>I. aquatica</i> Forssk.	0.57 ± 0.01	
Bayam selaseh	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	0.60 ± 0.03	
Bayam selaseh leaf	<i>A. caudatus</i> L.	0.94 ± 0.03	
Bayam selaseh stem	<i>A. caudatus</i> L.	0.43 ± 0.05	
Welsh onion	<i>Allium fistulosum</i> L.	0.53 ± 0.02	
Welsh onion leaf	<i>A. fistulosum</i> L.	0.69 ± 0.02	
Pak-choi	<i>Brassica campestris</i> L. ssp. <i>Chinensis</i> (L.) Mak.	0.47 ± 0.12	
Pak-choi leaf	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>Chinensis</i> (L.) Mak.	0.55 ± 0.10	
Pak-choi stem	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>Chinensis</i> (L.) Mak.	0.39 ± 0.03	
Turnip pulp	<i>Brassica campestris</i> L. ssp. <i>rapifera</i> Metzg.	0.47 ± 0.06	
Turnip peel	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>rapifera</i> Metzg.	0.59 ± 0.01	Inedible
Turnip leaf	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>rapifera</i> Metzg.	0.75 ± 0.05	Inedible
Cauliflower	<i>Brassica oleracea</i> L. Botrytis Group	0.56 ± 0.01	
Cauliflower outer leaf	<i>B. oleracea</i> L. Botrytis Group	0.88 ± 0.11	Inedible

表 2. 國人常食用之蔬菜葉黃素含量表 (續)。

Table 2. Lutein content (mg g⁻¹ dry weight) of vegetables commonly consumed in Taiwan. (continued)

Vegetable name	Scientific name	mg g ⁻¹ D. W.	Remarks
Cabbage	<i>Brassica oleracea</i> L.	0.49 ± 0.05	
Cabbage outer leaf	<i>B. oleracea</i> L.	0.54 ± 0.03	Inedible
Cucumber	<i>Cucumis sativus</i> L.	0.32 ± 0.07	
Cucumber peel	<i>C. sativus</i> L.	0.85 ± 0.09	Inedible
Pai-tsai	<i>Brassica campestris</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Olsson	0.42 ± 0.05	
Pai-tsai leaf	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Olsson	0.52 ± 0.03	
Pai-tsai outer leaf	<i>B. campestris</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Olsson	0.63 ± 0.08	Inedible
Amaranth	<i>Amaranthus mangostanus</i> L.	0.24 ± 0.01	
Amaranth leaf	<i>A. mangostanus</i> L.	0.27 ± 0.07	
Amaranth stem	<i>A. mangostanus</i> L.	0.16 ± 0.08	

提方式可同時分析及定量葉黃素、 α -及 β -胡蘿蔔素等 3 種類胡蘿蔔素化合物。所建立的台灣常食用的蔬菜之葉黃素含量資料庫，可作為國人選擇健康飲食的參考依據。

誌謝

本研究報告承行政院農委會農業試驗所生技組李雅琳博士協助校稿得以完成本文，特申謝忱。

引用文獻

- Alves-Rodrigues, A. and A. Shao. 2004. The science behind lutein. *Toxicol. Lett.* 150:57–83.
- Aman, R., J. Biehl, R. Carle, J. Conrad, U. Beifuss, and A. Schieber. 2005. Application of HPLC coupled with DAD, APcI-MS and NMR to the analysis of lutein and zeaxanthin stereoisomers in thermally processed vegetables. *Food Chem.* 92:753–763.
- Aruna, G. and V. Baskaran. 2010. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β -carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance. *Food Chem.* 123:404–409.
- Barua, A. B. 2001. Improved normal-phase and reversed-phase gradient high-performance liquid chromatography procedures for the analysis of retinoids and carotenoids in human serum, plant and animal tissues. *J. Chromatogr. A.* 936:71–82.
- Burgos, G., E. Salas, W. Amoros, M. Auqui, L. Munoa, M. Kimura, and M. Bonierbale. 2009. Total and individual carotenoid profiles in *Solanum phureja* of cultivated potatoes. I. Concentrations and relationships as determined by spectrophotometry and HPLC. *J. Food Compos. Anal.* 22:503–508.
- Chandrika, U. G., B. M. L. B. Basnayake, I. Athukorala, P. W. N. M. Colombagama, and A. Goonetilleke. 2010. Carotenoid content and *in vitro* bioaccessibility of lutein in some leafy vegetables popular in Sri Lanka. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 56:203–207.
- Dias, M. G., L. Oliveira, M. F. G. Camões, B. Nunes, P. Versloot, and P. J. M. Hulshof. 2010. Critical assessment of three high performance liquid chromatography analytical methods for food carotenoid quantification. *J. Chromatogr. A.* 1217:3494–3502.
- Fu, W., M. Magnúsdóttir, S. Brynjólfson, B. Ø. Pálsson, and G. Paglia. 2012. UPLC-UV-MSE analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. *Anal. Bioanal. Chem.* 404:3145–3154.
- Gleize, B., M. Steib, M. André, and E. Reboul. 2012. Simple and fast HPLC method for simultaneous determination of retinol, tocopherols, coenzyme Q10 and carotenoids in complex samples. *Food Chem.* 134:2560–2564.
- Habib, H. M., H. Kamal, W. H. Ibrahim, and A. S. A. Dhaheri. 2013. Carotenoids, fat soluble vitamins and fatty acid profiles of 18 varieties of date seed oil. *Ind. Crops Prod.* 42:567–572.
- Hung, P. V. and W. D. Hatcher. 2011. Ultra-performance liquid chromatography (UPLC) quantification of carotenoids in durum wheat: Influence of genotype and environment in relation to the colour of yellow alkaline noodles (YAN). *Food Chem.* 125:1510–1516.
- Ishiguro, K. and M. Yoshimoto. 2005. Content of an eye-protective nutrient lutein in sweetpotato leaves. In II International Symposium on sweet potato and Cas-

- sava: Innovative technologies for commercialization. *Acta Hort.* 703:253–256.
- Junghans, A., H. Sies, and W. Stahl. 2001. Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 391:160–164.
- Kao, F. J., Y. S. Chiu, M. J. Tsou, and W. D. Chiang. 2012. Effects of Chinese domestic cooking methods on the carotenoid composition of vegetables in Taiwan. *LWT-Food Sci. Technol.* 46:485–492.
- Khachik, F., P. S. Bernstein, and D. L. Garland. 1997. Identification of lutein and zeaxanthin oxidation products in human and monkey retinas. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38:1802–1811.
- Krinsky, N. I., J. T. Landrum, and R. A. Bone. 2003. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annu. Rev. Nutr.* 23:171–201.
- Lachman, J., K. Hejtmánková, and Z. Kotiková. 2013. Tocols and carotenoids of einkorn, emmer and spring wheat varieties: Selection for breeding and production. *J. Cereal Sci.* 57:207–214.
- Li, H., Z. Deng, R. Liu, S. Loewen, and R. Tsao. 2012. Ultra-performance liquid chromatographic separation of geometric isomers of carotenoids and antioxidant activities of 20 tomato cultivars and breeding lines. *Food Chem.* 132:508–517.
- Liu, H., Y. Zhang, Q. Li, Y. Zou, J. Shao, and S. Lan. 2011. Quantification of lutein and zeaxanthin in marigold (*Tagetes erecta* L.) and poultry feed by ultra-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 34:2653–2663.
- Montesano, D., O. Gennari, S. Seccia, and S. Albrizio. 2012. A simple and selective analytical procedure for the extraction and quantification of lutein from tomato by-products by HPLC–DAD. *Food Anal. Methods* 5:710–715.
- Murillo, E., A. J. Meléndez-Martínez, and F. Portugal. 2010. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. *Food Chem.* 122:167–172.
- Perry, A., H. Rasmussen, and E. J. Johnson. 2009. Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *J. Food Compos. Anal.* 22:9–15.
- Sakhi, A. K., S. K. Bøhn, S. Smeland, M. Thoresen, G. B. Smedshaug, J. Tausjø, A. Svilaas, A. Karlsen, K. M. Russnes, T. Svilaas, and R. Blomhoff. 2010. Post-radiotherapy plasma lutein, alpha-carotene and beta-carotene are positively associated with survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Nutr. Cancer* 62:322–328.
- Schleicher, M., K. Weikel, C. Garber, and A. Taylor. 2013. Diminishing risk for age-related macular degeneration with nutrition: A current view. *Nutrients* 5:2405–2456.
- Semba, R. D. and G. Dagnelie. 2003. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health? *Med. Hypotheses* 61:465–472.

An Improved Ultra Performance Liquid Chromatography Method for Analyzing Lutein Content of Vegetables in Taiwan

Shu-Chin Lo^{1,*} and Pei-En Chung²

Abstract

Lo, S. C. and P. E. Chung. 2014. An improved ultra performance liquid chromatography method for analyzing lutein content of vegetables in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 63(2):159–166.

Lutein can mitigate eyes' aging and macular degeneration, but cannot be synthesized in the human body. It must be supplemented from diet. An efficient method for separation and quantification of lutein was developed to establish the database of lutein contents of various commercial vegetables in Taiwan. By ultra performance liquid chromatography, lutein can be analyzed within 5 min using ethylene bridged hybrid (BEH) C18 as a column and an isocratic elution solution of acetonitrile/methanol (70 : 30, v/v) at a flow rate 0.25 mL min⁻¹. The α -carotene and β -carotene could also be determined simultaneously. The results showed that lutein contents ranged between 0.16 to 1.77 mg g⁻¹ dry weights among 50 vegetable samples. The lutein contents of eight samples were higher than 1 mg g⁻¹ dry weight, and most of them were dark green leafy vegetables, including coriander, water spinach, rapeseed and Chinese kale. The highest was coriander's leaves, up to 1.77 mg g⁻¹ dry weight. The contents of lutein in the dark green leafy parts were higher than the stems of the yellow and white vegetables. However, the contents of lutein in leaves of the inedible parts of white vegetables were higher than the edible parts. The lutein content of cucumber peel was higher than the pulp up to 2.6 times. According to the differences between vegetable colors and lutein contents, consumers can choose dark green leafy vegetables to increase daily intake of lutein. The content of lutein in the inedible parts of vegetables, usually regarded as agricultural wastes, is higher than in the edible parts. Therefore, these wastes are valuable for value-adding applications in the future.

Key words: Lutein, Vegetables, Ultra performance liquid chromatography.

Received: March 6, 2014; Accepted: April 23, 2014.

* Corresponding author, e-mail: shuchin@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellow, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

² Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.