

PHÂN TÍCH VITAMIN E TRONG MỘT SỐ SẢN PHẨM THỰC PHẨM VÀ THỰC PHẨM CHỨC NĂNG

ANALYSIS OF VITAMIN E IN SOME FOOD PRODUCTS AND FUNCTIONAL FOODS

Bùi Thị Lu¹, Phạm Thị Liên¹,
Khúc Thị Huế¹, Nguyễn Thị Thoa^{2,*}

TÓM TẮT

Bài báo này trình bày tổng quan về vitamin E, các phương pháp xác định vitamin E, khảo sát thiết lập điều kiện tối ưu để phân tích xác định vitamin E trong mẫu chuẩn và mẫu mầm đậu nành. Kết quả nghiên cứu cho thấy quy trình xử lý mẫu và điều kiện chạy HPLC để xác định hàm lượng α -tocopherol (Vitamin E) có bước sóng tối ưu là 300nm, thời gian lưu khoảng 7,5 - 8 phút.

Từ khóa: Vitamin E, điều kiện chạy HPLC, α -tocopherol, thực phẩm.

ABSTRACT

This paper presents an overview of vitamin E, methods of determining vitamin E, and investigating the optimal setting of electrolyte to analyze and determine vitamin E in standard samples and soybean samples. The study results showed that the process of sample treatment and running conditions of HPLC to determine the concentration of α -tocopherol (Vitamin E) with optimal wavelength is 300nm, the retention time is about 7.5 - 8 minutes.

Keywords: Vitamin E, running conditions for HPLC, α -tocopherol, foods.

¹Lớp Hóa 3 - K11, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: thoa0808@gmail.com

1. GIỚI THIỆU

Vitamin E ($C_{29}H_{50}O_2$) là một trong những hợp chất hữu cơ quan trọng, với vai trò như là chất chống lại và thu dọn các gốc tự do, vitamin E bảo vệ cơ thể làm giảm quá trình lão hóa chủ yếu ở da và tóc, hạn chế sự phát sinh của các bệnh nguy hiểm về tim, thần kinh, mắt chống lại tác động của các tia tử ngoại... Vitamin E tự nhiên tồn tại dưới 8 dạng khác nhau, trong đó có 4 tocopherol và 4 tocotrienol trong đó α -tocopherol là hoạt chất sinh học mạnh nhất. Trong thực phẩm, các nguồn phổ biến nhất chứa vitamin E là các loại dầu thực vật như dầu gấc, cọ dầu, hướng dương, ngô, đậu tương, ô liu, hạt ngũ cốc, cá béo, gan, trứng, chất béo của sữa, bơ, lạc, các loại rau lá xanh...

Hiện nay đã có nhiều phương pháp phân tích hàm lượng vitamin E với nhiều kỹ thuật khác nhau. Tuy nhiên khi áp dụng cho một số đối tượng thực phẩm thì có rất ít công trình công bố một cách tỉ mỉ và chi tiết. Với những lý do trên chúng tôi tiến hành định lượng α -tocopherol (vitamin

E) trong một số loại thực phẩm và thực phẩm chức năng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và dụng cụ

- Chuẩn vitamin E, KOH tinh thể, Axit ascorbic tinh thể, n-hexan, Acetonitril (ACN), Metanol.

- Máy HPLC Agilent 1260 Series - 6120 Single Quardrupole LC/MS, cân điện tử 4 số lẻ (Practum 224-1S, Sartorius, Đức), hệ thống chưng cất hồi lưu, bộ cô quay.

- Bình định mức 100mL, phễu chiết quả lê, bình cầu, bộ dụng cụ lọc mẫu, bộ dụng cụ lọc dung môi, màng lọc mẫu 0,45 μ m, màng lọc dung môi 0,45 μ m (hãng Agilent, USA), micropipet loại 20, 5000 μ L (hãng Gilson, France), ống đong 100ml.

2.2. Thiết lập điều kiện phân tích tối ưu cho hệ thống HPLC

Sau quá trình khảo sát, tỷ lệ thành phần pha động khác nhau với điều kiện sắc ký, chúng tôi đã lựa chọn được điều kiện chạy thích hợp như sau:

- Cột tách sắc ký: Zorbax Eclipse SB C18 (150 × 4,6mm, 5 μ m)
- Tốc độ dòng: 1,0mL/phút.
- Thể tích bơm mẫu: 5 μ L.
- Tổng thời gian chạy: 60 phút.
- Thành phần pha động: hệ dung môi Nước - Axeton nitril (ACN).

Bảng 1. Hệ gradient pha động

Thời gian (min)	Nước	ACN
0	81	19
25	81	19
45	71	29
50	5	95
60	5	95

2.3. Chuẩn bị chất chuẩn

Cân 3g chuẩn vitamin E có thành phần là vitamin E acetat. Cho mẫu chuẩn vào bình cầu sạch, khô, thêm 50mL

MeOH và 0,3g axit ascorbic, sau đó thêm 5mL KOH 50%. Tiến hành xà phòng hóa bằng đun hồi lưu. Thời gian xà phòng hóa 25 phút ở nhiệt độ 85°C.

Sau khi xà phòng hóa để nguội thấy không xuất hiện vầng dầu trên bề mặt thì lọc lấy dung dịch cho vào phễu chiết. Rửa cặn bằng MeOH.

Chiết lấy α -tocopherol bằng dung môi *n*-hexan. Lặp lại quy trình chiết khoảng 3 với thể tích là 50ml. Rửa phần chiết thu được bằng nước cất đến trung tính (rửa 2 lần dùng khoảng 50ml). Làm bay hơi dịch chiết bằng bộ cô quay. Hòa tan phần cặn thu được sau cô quay bằng MeOH. Lọc bằng màng lọc 0,45 μ m cho vào vial và tiến hành đo trên thiết bị HPLC.

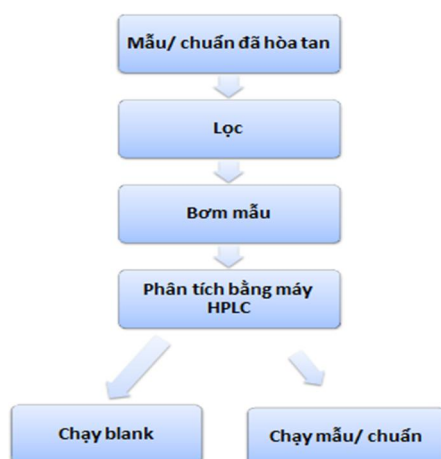
2.4. Quy trình xử lý mẫu mầm đậu nành

Mầm đậu nành được nghiền nhỏ, trộn đều, cân 2,99g mẫu. Cho mẫu vào bình cầu sạch, khô, thêm 50mL MeOH và 0,3g axit ascorbic, sau đó thêm 5mL KOH 50%. Tiến hành xà phòng hóa bằng đun hồi lưu. Thời gian xà phòng hóa 25 phút ở nhiệt độ 85°C.

Sau khi xà phòng hóa để nguội thấy không xuất hiện vầng dầu trên bề mặt thì lọc lấy dung dịch cho vào phễu chiết. Rửa cặn bằng MeOH.

Chiết lấy α -tocopherol bằng dung môi *n*-hexan. Lặp lại quy trình chiết khoảng 3 với thể tích là 50ml. Rửa phần chiết thu được bằng nước cất đến trung tính (rửa 2 lần dùng khoảng 50ml). Làm bay hơi dịch chiết bằng bộ cô quay. Hòa tan phần cặn thu được sau cô quay bằng MeOH. Lọc bằng màng lọc 0,45 μ m cho vào vial và tiến hành đo trên thiết bị HPLC.

2.5. Chạy HPLC để phân tích chuẩn vitamin E và mẫu mầm đậu nành



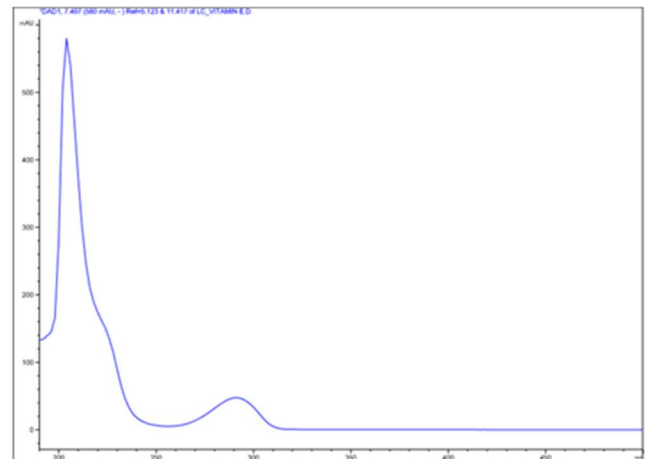
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua quá trình xử lý mẫu sau đó chạy HPLC của chuẩn Vitamin E và mẫu mầm đậu nành chúng tôi thu được các kết quả sau:

3.1. Kết quả xác định bước sóng tối ưu

Mỗi chất phân tích có lực tương tác với pha tĩnh và pha động khác nhau nên xuất hiện pic ở các thời gian lưu khác

nhau trong sắc ký đồ. Dựa vào thời gian lưu đặc trưng của từng chất và so phổ UV của chất phân tích với phổ UV của chất tham chiếu để định tính, xác định sự có mặt của hợp chất cần xác định trong mẫu phân tích.



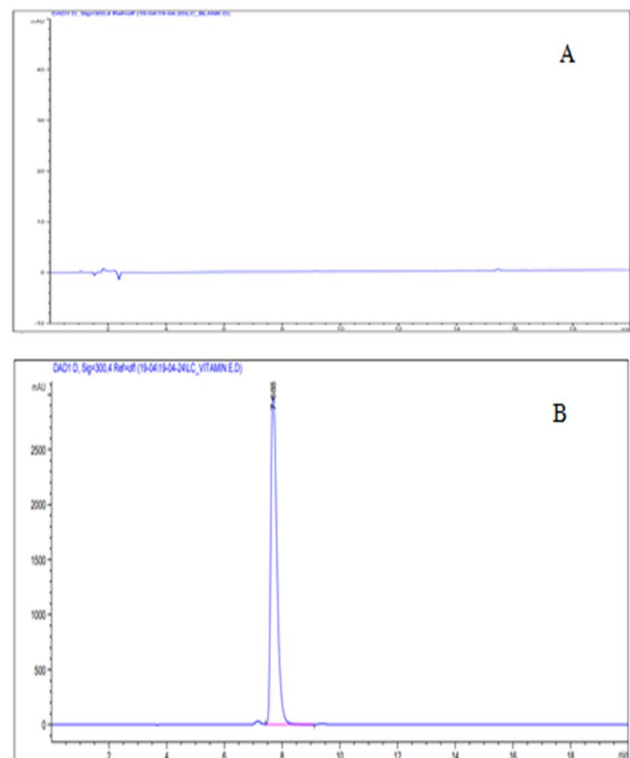
Hình 1. Phổ UV của chuẩn vitamin E

Dựa vào bước sóng hấp thụ cực đại các chất tham chiếu, tiến hành lựa chọn bước sóng 300nm để phân tích định lượng α -tocopherol.

3.2. Kết quả phân tích mẫu chuẩn

Để xác định thời gian lưu và bước sóng hấp thụ cực đại đặc trưng cho mỗi chất phân tích tiến hành chạy sắc ký riêng từng chất tham chiếu trong cùng điều kiện đã khảo sát.

Thời gian lưu của α -tocopherol trong khoảng: 7,5 - 8 phút

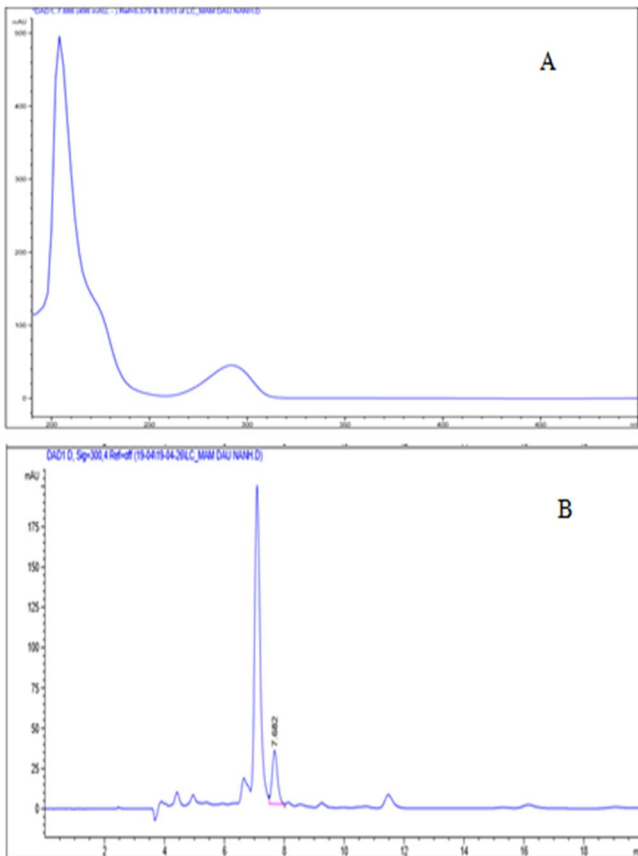


Hình 2. Sắc ký đồ UV 300nm của mẫu Blank (A), chuẩn α -tocopherol (B)

Khi tiến hành chạy sắc ký mẫu Blank và chất tham chiếu độc lập trong cùng một điều kiện chạy sắc ký để xác định thời gian lưu và bước sóng hấp thụ cực đại đặc trưng thu được sắc ký đồ của chất tham chiếu (hình 2). Pic sắc ký của chất tham chiếu thu được là một pic đơn, có hình dáng cân đối ra ở thời gian lưu xác định. Vì vậy điều kiện phân tích sắc ký đã chọn là phù hợp để định tính và định lượng α -tocopherol trong mẫu.

3.3. Kết quả phân tích mẫu mầm đậu nành

Tiến hành thực nghiệm theo quy trình ta thu được phổ UV và sắc ký đồ UV của mẫu mầm đậu nành như hình 3.



Hình 3. Phổ UV (A) và sắc ký đồ UV (B) của mẫu mầm đậu nành

So sánh sắc ký đồ mẫu được bơm cùng thể tích và cùng nồng độ với chất chuẩn. Ta thấy tín hiệu của α -tocopherol trong mẫu được phát hiện tương tự như trong chuẩn α -tocopherol dựa trên sự trùng thời gian lưu R_t giữa detector LC được ghi tín hiệu ở bước sóng 300nm.

4. KẾT LUẬN

Qua quá trình phân tích vitamin E trong một số sản phẩm thực phẩm và thực phẩm chức năng, nghiên cứu thu được những kết quả như sau:

Tim hiểu về đặc điểm, thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của vitamin E.

Đã tìm hiểu về cơ sở lý thuyết phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC.

Tiến hành thực nghiệm thiết lập được điều kiện sắc ký HPLC phân tích định tính α -tocopherol.

Tiến hành thực nghiệm xây dựng phương pháp xử lý mẫu chuẩn vitamin E và mẫu mầm đậu nành bằng phương pháp xà phòng hóa nhằm tách, định tính α -tocopherol.

Từ đó kết luận điều kiện chạy HPLC trên là phù hợp để định tính và định lượng α -tocopherol trong mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Jian Bo Wan, Peng Li, Shaoping Li, Yitao Wang, Tina Ting Xia Dong, Kari Wah Keung Tsim, 2006. *Simultaneous determination of 11 saponins in Panax notoginseng using HPLC-ELSD and pressurized liquid extraction..*
2. Phạm Luận, 2014. *Phương pháp phân tích sắc ký và chiết tách.* NXB Bách khoa, Hà Nội.
- [3]. Lê Thị Mùi, 2009. *Bài giảng phân tích công cụ.* Đại học Sư phạm Đà Nẵng.
- [4]. https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_E
- [5]. Nguyễn Thị Hoa, 2016. *Nghiên cứu xác định hàm lượng vitamin E trong viên nang bằng phương pháp Von - Ampe hòa tan.* Đại học Thái Nguyên.
- [6]. Đậu Thị Loan. *Định lượng tocopherol (vitamin E) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).* Luận văn thạc sĩ Hóa học Chuyên ngành Hóa phân tích, Trường Đại học Vinh.
- [7]. Hà Duyên Tư. *Phân tích Hóa học Thực phẩm.* Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
- [8]. Trần Thị Ánh Nguyệt, Đoàn Vũ Tố Uyên, Nguyễn Đức Thịnh. *Khảo sát hàm lượng vitamin D3 và vitamin E trong các sản phẩm sữa bột trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh năm 2000.*
- [9]. http://case.vn/viVN/87/88/117/details.case?fbclid=IwAR3AvHJNCvDuHg3UC4EOVSRMUE0aY8Arx87EY1TyN7pjyjoMxy_j4j9oxeE
- [10]. https://vi.wikipedia.org/wiki/S%E1%BA%AFc_k%C3%BD_%E1%BB%8Fng_hi%E1%BB%87u_n%C4%83ng_cao?fbclid=IwAR2FdMaai1P1jllYmiH33Z5i5EAnm2ZN4NcrpoxgxBc0H-Qyjjx_bPy62GZ8
- [11]. https://en.wikipedia.org/wiki/Highperformance_liquid_chromatography?fbclid=IwAR2h3DbmYv7rYCX11PI3_5i8qH4mTDSzvWsigmRZZ7i0AcmvrlUm_EvSY4k
- [12]. <https://www.chemguide.co.uk/analysis/chromatography/hplc.html?fbclid=IwAR2PbNau7011CjH56xPAPWIAH0tldwKtEywwYOyZSkjdokXk0s6Hw0kxx2c>
- [13]. *Giáo trình Các phương pháp phân tích điện hóa.* Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.