

# Application News

## No. L501

超临界流体色谱法  
Supercritical Fluid Chromatography

### 使用离线 SFE-SFC-PDA 分析市售营养辅助食品中的维生素 E

Analysis of Vitamin E in a Commercial Supplement by Offline SFE/SFC/PDA

维生素 E 也被称为生育酚，是一种脂溶性维生素，也是一种可以在人体内产生抗氧化作用的重要化学物质。生育酚根据甲基的数量和位置分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$  等 4 种。 $\alpha$ -生育酚的抗氧化作用的活性最强，所以市售的维生素制剂等众多营养辅助食品中都会添加  $\alpha$ -生育酚。由于是高脂溶性成分，所以使用超临界流体对生育酚进行迅速简便地萃取备受瞩目。本文向您介绍使用超临界流体对  $\alpha$ -生育酚进行萃取 (SFE) 的过程。

#### ■ 离线 SFE 系统

Offline SFE System

在已发布的应用报告中介绍了在线 SFE-SFC 系统有很多希望与 SFC 以外的现有分析方法进行组合使用的需求。因为样品的处理简单，SFE 领域也受到了瞩目。SFE 具有以下特点：

1. 通过超临界流体的高透过性和高扩散进行迅速高效萃取
2. 在温和的温度条件、遮光处理下萃取不稳定化合物
3. 与溶剂萃取相比成本低
4. 萃取过程完全自动化
5. 萃取样品容易处理
6. 支持各种分析方法

图 1 所示为离线 SFE 系统的流路结构。

由图可知，背压控制单元 BPR 的上游在超临界状态下，控制 SFE 单元内的阀，通过将超临界流体封入容器的静态萃取和使其通过容器的动态萃取，可以迅速高效地萃取目标成分。

输液系统采用了配置低压 GE 梯度比例阀的 HPLC 用泵，可以自动调整每个样品的改性剂类型（包含来自捕获柱的洗脱液，最多 4 种）和二氧化碳的浓度，从而在最佳条件下进行萃取。萃取物被保留在捕获柱中，将输液泵的低压阀切换为对应捕获柱中洗脱溶剂的模式并进行洗脱，使用馏分收集器收集目标组分到试管中。

#### ■ $\alpha$ -生育酚的 SFE 分析

SFE Treatment for  $\alpha$ -Tocopherol

实测样品即市售营养辅助食品，其胶囊内容为膏状，具有吸湿性，可使用岛津公司销售的 SFE 用脱水剂

“MIYAZAKIHydro-Protect” 1 g 与 275 mg 膏状物混合，再将其填充到 SFE 萃取容器中（图 2）。

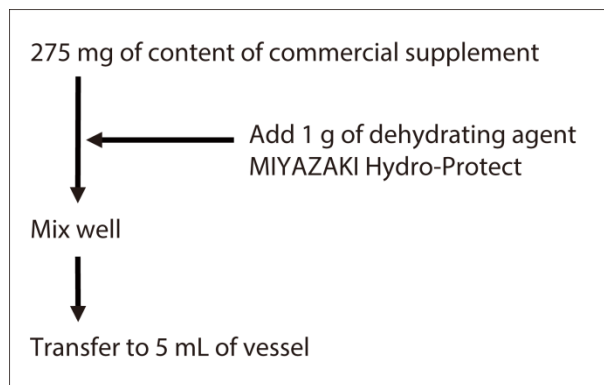


图 2 对营养辅助食品进行 SFE 的前处理准备步骤  
Preliminary Pretreatment for Supplement Sample Before SFE

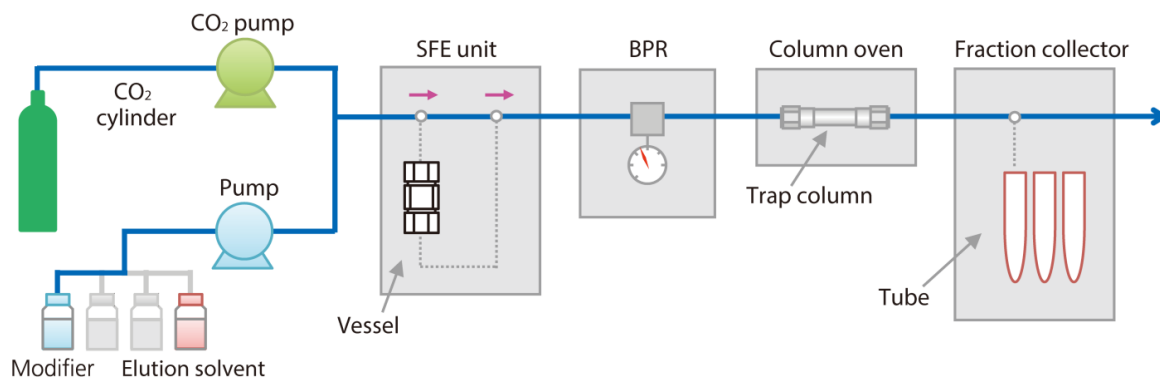


图 1 离线超临界流体萃取 (SFE) 系统的流路结构  
Flow Diagram of Supercritical Fluid Extraction (SFE) System

表 1 为 SFE 条件。选择 Shim-pack UCX-SIL 作为分析柱，对在线 SFE-SFC 分析中的各种条件进行优化，按照下表 2 中所示的条件进行了分析。

表 1 α-生育酚的 SFE 条件  
SFE Conditions for α-Tocopherol

<b>离线 SFE:</b>	
萃取容器	: 5 mL
萃取溶剂	: 超临界 CO <sub>2</sub> 流体
流速	: 5 mL/min
温度	: 40 °C
背压调节器压力	: 15 MPa
萃取时间	: 15 min (静态 2 min → 动态 3 min) × 3 次
<b>分析柱和降压条件</b>	
分析柱	: Shim-pack VP-ODS (50 mm L × 4.6 mm I.D.)
柱温	: 60 °C
降压时间	: 10 min (15 - 25 min)
<b>回收条件</b>	
洗脱溶剂	: 己烷
流速	: 2 mL/min
柱温	: 60 °C
馏分时间	: 3.5 min (25-28.5 min)

## 营养辅助食品中 α-生育酚的 SFE 评估

SFE Evaluation of α-Tocopherol in a Commercial Supplement

对通过 SFE 获得的 α-生育酚萃取物进行 SFC 分析和萃取评估。表 2 为分析条件。另外，使用己烷将萃取物定容为 10 mL 后，用于 SFC 分析。图 3 为代表性的 SFC 色谱图。

表 2 α-生育酚的 SFC 分析条件  
SFC Conditions for α-Tocopherol

<b>SFC 条件:</b>	
色谱柱	: Nacalai COSMOSIL Cholester (250 mm L × 4.6 mm I.D., 5 mm)
流速	: 3 mL/min
改性剂	: 异丙醇
时间程序	: 2 % (0 min)-20 % (10 min)-50 % (10-12 min)
柱温	: 40 °C
背压调节器压力	: 15 MPa
进样体积	: 2 mL

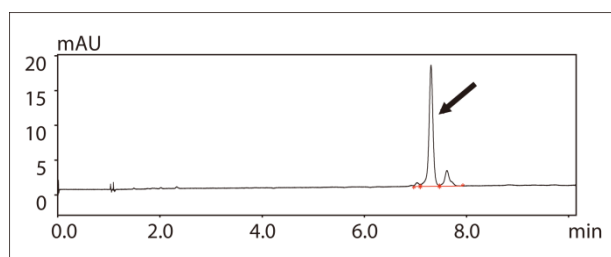


图 3 对 SFE 分析得到的营养辅助食品中的 α-生育酚进行 SFC 分析  
SFC Analysis of α-Tocopherol Obtained by SFE from a Commercial Supplement

对通过 SFE 获得的 α-生育酚，我们按照表 2 所示的条件进行 SFC 分析以评估萃取工艺。结果显示，在样品浓度为 0.5 μg/L 到 2.0 μg/L 的范围内线性良好，表 3 表明 1.0 μg/L 浓度的样品保留时间、峰面积和峰高均得到了高度重复性。

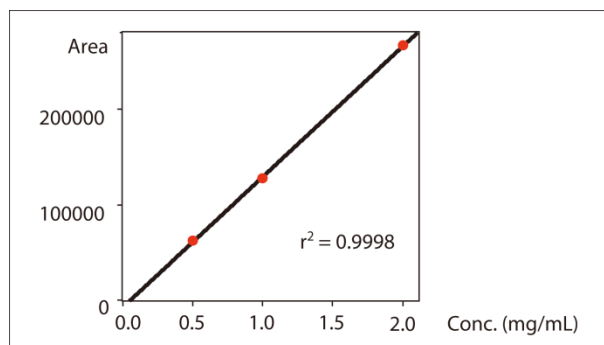


图 4 SFC 分析得到的标准 α-生育酚的线性  
Linearity for Standard α-Tocopherol Obtained by SFC

表 3 α-生育酚标样的 SFC 分析重复性 (n=6)  
Repeatability for Standard α-Tocopherol Obtained by SFC (n=6)

No	Retention Time (min)	Area	Height
Average	7.242	127,338	19,682
RSD(%)	0.057	0.573	0.274

表 4 为通过 SFE 处理得到的 α-生育酚的重复性和相对理论值 (7.4 mg) 的回收率；图 5 是多个色谱图的重叠谱图。由此可知，只需进行一次萃取即可得到良好的回收率和重复性，说明离线 SFE 分析对于维生素 E 类的萃取是极其有效的方法。

表 4 SFE 得到的营养辅助食品中 α-生育酚的重复性和回收率  
Repeatability and Recovery of α-Tocopherol in a Commercial Supplement Using SFE

No	Conc. (mg/mL)	Recovery (%)
1	0.776	104.46
2	0.780	105.00
3	0.772	103.92
4	0.790	106.35
5	0.761	102.44
6	0.758	102.04
Average	0.773	
RSD(%)	1.549	

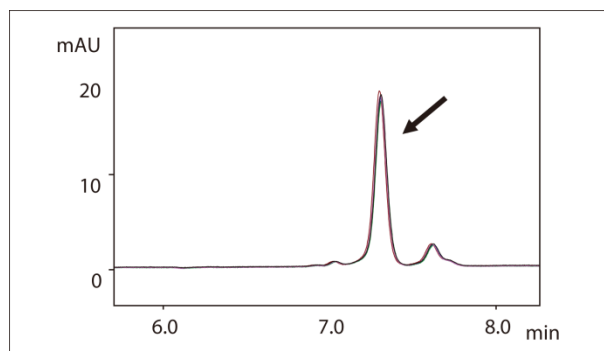


图 5 SFE 提取的 α-生育酚的重叠色谱图  
Overlaid Chromatograms for α-Tocopherol After SFE