

正相高效液相色谱法测定植物油中维生素 E 的含量

LC-436

摘要： 本文利用岛津高效液相色谱仪，建立了食用油中维生素 E 的含量的正相高效液相色谱法。本方法参照《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》（GB 5009.82-2016）中第二法 食品中维生素 E 的测定 正相高效液相色谱法，酰胺基色谱柱（150 mm ×3.0 mm, ID. 1.7 μm）为分离色谱柱，采用荧光检测器进行检测，以外标法定量。与反相高效液相色谱法相比，该方法样品前处理操作简单，重复性好，满足相关标准的要求，可用于食用油中维生素 E 含量的检测。

关键词： 食用油 维生素 E 正相高效液相色谱

技术特点：

- ❖ 该方法稳定性高，重复性好，实现维生素 E 四种异构体的有效分离。
- ❖ 灵敏度高，相较于标准中 10 μL 的进样体积，本方案仅需进样 1 μL 即可满足标准要求。

维生素 E 又称生育酚（Tocopherol），是一类具有生物活性的、化学结构相似的酚类化合物的总称。自然界中已知的维生素 E 有 8 种，分别为两类维生素 E 的四种即 α、β、γ、δ 类似物，主要是根据苯并一氢吡喃上甲基取代物所在的位置和数量来划分的，其中 α-生育酚含量最高，生理活性也最高。

天然的维生素 E 广泛存在于广泛存在于植物的绿色部分以及禾本科种子的胚芽里，尤其在植物油中含量丰富，具有改善脂质代谢、预防动脉粥样硬化、抗衰老和抗癌等功能。食用植物油是居民摄入生育酚的重要来源。油料和食用油中生育酚的分析方法主要包

括高效液相色谱法、气相色谱法、薄层色谱法、比色法、电化学测定法、色谱质谱联用法等。在以上方法中，液相色谱法作为国家标准方法应用范围最广，主要包括正相液相色谱法和反向液相色谱法。其中，正相液相色谱法操作简单，仅需提取油脂后正己烷溶解过膜后即可上机检测。

本方法参照《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》（GB 5009.82-2016）中第二法 食品中维生素 E 的测定 正相高效液相色谱法》，建立了食用油中维生素 E 的相关分析方法。

实验部分

1.1 仪器

本文使用岛津 LC-20A 液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20Alite

输液泵 A、B：LC-20AT

检测器：RF-20A

自动进样器：SIL-20A

柱温箱：CTO-20A

工作站：LabSolutions Version 5.111

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：酰胺基色谱柱，150 mm ×3.0 mm, 1.7 μm

流动相：A：正己烷；

B：叔丁基甲基醚 - 四氢呋喃 - 甲醇混合液（20/1/0.1, v/v/v）

柱温：40°C

流速：0.5 mL/min

洗脱方式：等度洗脱，A：90%，B：10%

进样体积：1 μ L

运行时间：30 min

检测波长：激发波长 294 nm，
发射波长 328 nm

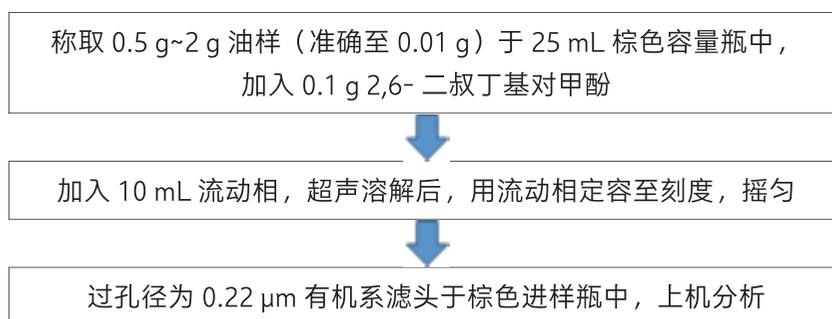
1.3 样品前处理

1.3.1 试剂与标准品

正己烷、叔丁基甲基醚、四氢呋喃、甲醇（色谱纯）；乙醇中 4 种维生素 E（ α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚）混标（坛墨质检）。

1.3.2 试样处理

按照下图所示流程进行样品前处理。



■ 结果讨论

2.1 标准色谱图

维生素 E 标准溶液色谱图见图 1，化合物信息见表 1。

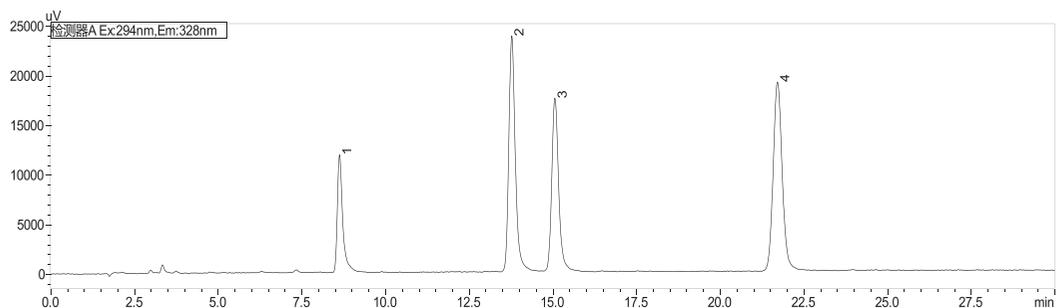


图 1 维生素 E 标准溶液色谱图（1.00 μ g/mL）

表 1 化合物信息

No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	α -生育酚	Alpha-tocopherol	10191-41-0	8.631
2	β -生育酚	Beta-tocopherol	148-03-8	13.777
3	γ -生育酚	Gamma-tocopherol	54-28-4	15.064
4	δ -生育酚	Delta-tocopherol	119-13-1	21.715

2.2 校准曲线和检出限

按照标准配置标准溶液，该标准系列中 4 种生育酚浓度分别为 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、2.00 $\mu\text{g/mL}$ 、4.00 $\mu\text{g/mL}$ 、6.00 $\mu\text{g/mL}$ 。本法采用外标法定量，以峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标绘制校准曲线，计算直线回归方程。以 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液计算 4 种维生素 E (α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚) 的检出限，按照 3.3 倍噪声计算，4 种维生素 E 仪器检出限为 0.01 ~ 0.03 $\mu\text{g/mL}$ ，结果见表 2，优于标准要求。

表 2 线性方程、相关系数及检出限

No.	化合物	线性方程	相关系数	准确度 (%)	仪器检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	α -生育酚	$Y = (159701)X + (-16487.5)$	0.9974	92.0-108	0.03
2	β -生育酚	$Y = (342154)X + (-11729.9)$	0.9996	97.3-103.5	0.01
3	γ -生育酚	$Y = (253004)X + (-28668.83)$	0.9996	96.8-102.9	0.01
4	δ -生育酚	$Y = (388242)X + (-9734.30)$	0.9981	93.8-107.7	0.01

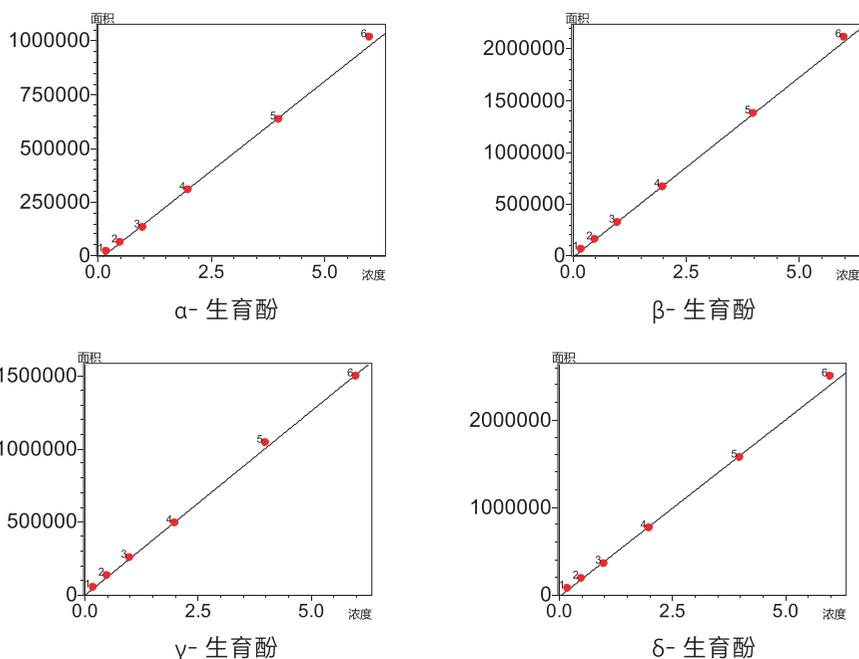


图 2 4 种维生素 E 校准曲线

2.3 重复性实验

取 4 种维生素 E 浓度分别为 3.00 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液平行测定 6 次，考察方法的精密度。结果表明保留时间 RSD 在 0.14%~0.16% 之间，峰面积 RSD 在 2.01%~2.86% 之间。结果如下表 3 所示，色谱图见图 3。

表 3 重复性实验结果 (n=6)

No.	α- 生育酚		β- 生育酚		γ- 生育酚		δ- 生育酚	
	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积
1	8.637	480893	13.808	1029103	15.096	745,622	21.762	1188608
2	8.650	490927	13.826	1030636	15.116	735,325	21.782	1197898
3	8.644	491661	13.820	1053491	15.112	760,098	21.791	1217714
4	8.619	506676	13.783	1069419	15.071	760,388	21.721	1220261
5	8.624	515808	13.781	1099263	15.067	780,264	21.710	1244455
6	8.629	510151	13.801	1094086	15.089	774,805	21.770	1250418
平均值	8.634	499353	13.803	1062667	15.092	759,417	21.756	1219892
RSD (%)	0.14	2.71	0.14	2.86	0.14	2.24	0.16	2.01

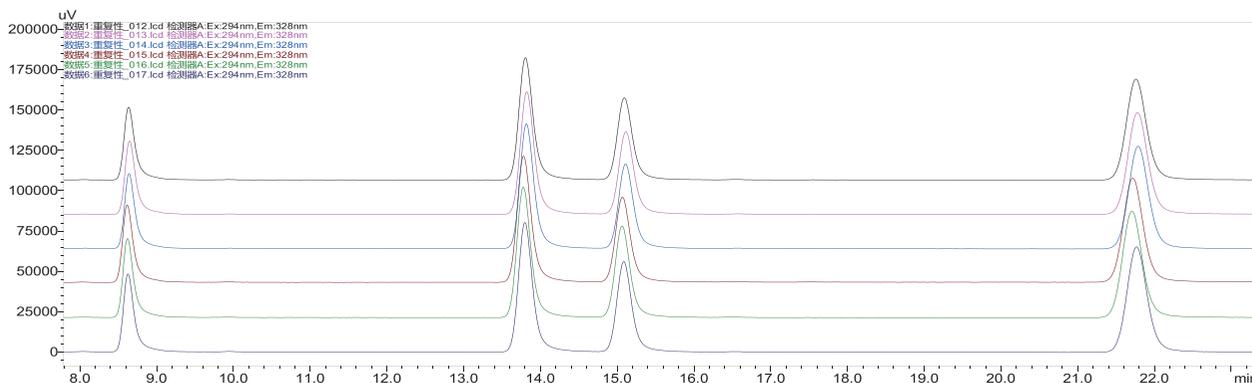


图 3 重复性实验色谱图 (n=6)

2.4 实际样品中生育酚的含量及组成

分别称取紫苏油毛油和小麦胚芽油毛油按照样品前处理步骤进行样品前处理取后进行分析。紫苏油毛油、小麦胚芽油毛油中 4 种维生素 E 含量如表 4 所示。

表 4 实际样品中生育酚的含量及组成 单位: mg/100 g

样品	生育酚含量				生育酚总含量
	α- 生育酚	β- 生育酚	γ- 生育酚	δ- 生育酚	
紫苏油毛油	1.72	0.32	48.2	1.00	51.24
小麦胚芽油毛油	222.7	95.1	3.97	0.29	322.06

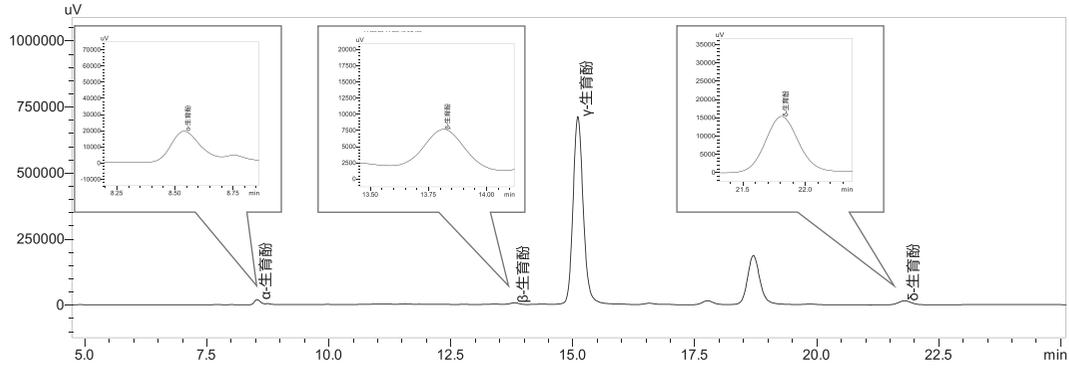


图 4 紫苏油毛油样品色谱图

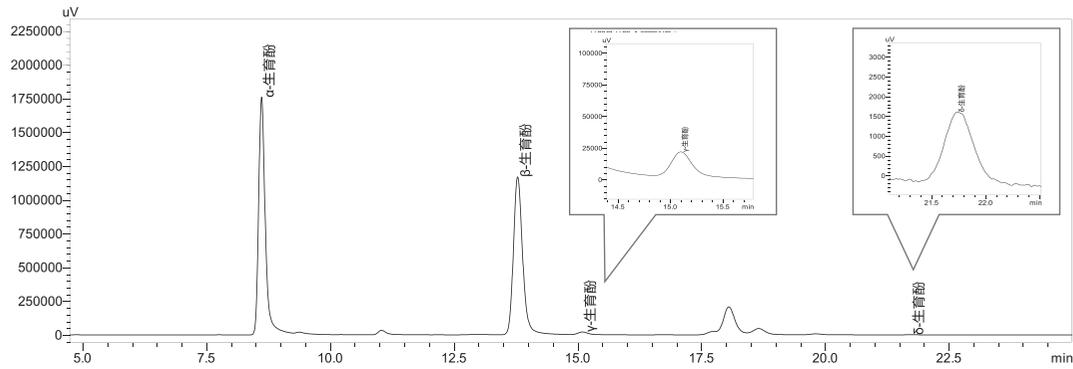


图 4 紫苏油毛油样品色谱图

■ 结论

本文参考《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》(GB 5009.82-2016) 中第二法 食品中维生素 E 的测定 正相高效液相色谱法, 建立了一种测定食用油中维生素 E 的检测方法。该方法检测灵敏度高, 重复性好, 该方法满足标准要求, 可供相关行业参考。

岛津应用云

