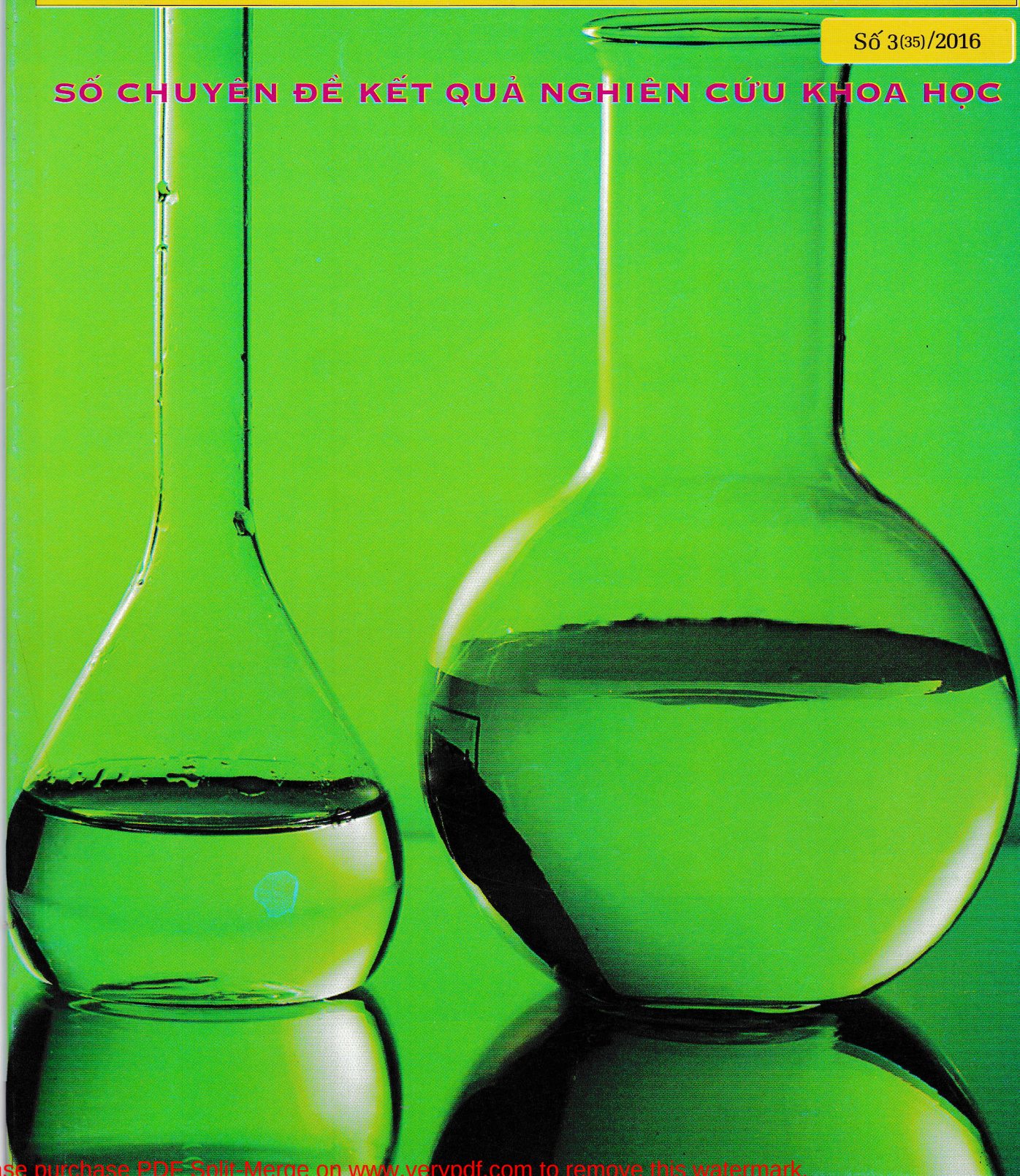


HÓA HỌC & ỨNG DỤNG

JOURNAL OF CHEMISTRY AND APPLICATION / TẠP CHÍ CỦA HỘI HÓA HỌC VIỆT NAM - ISSN1859-4069

Số 3(35)/2016

SỐ CHUYÊN ĐỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC



HÓA HỌC VÀ ỨNG DỤNG

JOURNAL OF CHEMISTRY AND APPLICATION

TẠP CHÍ CỦA HỘI HÓA HỌC VIỆT NAM

ISSN

1859-4069

2 tháng/số

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

NGUYỄN CƯỜNG, NGUYỄN ĐỨC CHUY,
TRẦN THÀNH HUẾ, LÊ QUỐC KHÁNH,
CHÂU VĂN MINH, ĐẶNG VŨ MINH,
TRẦN TRUNG NINH, NGUYỄN ĐĂNG
QUANG, HỒ VIỆT QUÝ, CHU PHẠM NGỌC
SƠN, TRẦN QUỐC SƠN, HỒ SĨ THOẢNG,
NGÔ THỊ THUẬN, QUÁCH ĐĂNG TRIỀU,
NGUYỄN XUÂN TRƯỜNG

Tổng Biên tập:

PGS, TS, NGUYỄN ĐĂNG QUANG

Phó Tổng Biên tập - Thư ký tòa soạn:

NGUYỄN HỮU ĐỨC

Trình bày:

TRẦN THỊ HOA

Tòa soạn:

139 Lò Đúc - quận Hai Bà Trưng - Hà Nội

ĐT/Fax: (04) 3 9 719 078

Email: tapchihoahocvaungdung@gmail.com

Giấy phép xuất bản:

Số 112/GP-BVHTT Bộ Văn hóa - Thông tin
cấp ngày 06/3/2002

In tại Công ty TNHH in ấn Đa Sắc
13 Ngọc Mạch - Xuân Phương
quận Nam Từ Liêm - Hà Nội

Giá: 30.000 đồng

Số chuyên đề

3(35)/2016

- ✧ Vũ Minh Tân, Võ An Quân, Lê Xuân Quế **1**
- ✧ Lê Văn Hòa, Nguyễn Thanh Hải, Đinh Thị Ngo **6**
- ✧ Huỳnh Gia Bảo **10**
- ✧ Nguyễn Bình Phương, Nguyễn Khánh Diệu Hồng **13**
- ✧ Võ Phi Hoàng Huy, Trần Hoàng Phương
Nguyễn Thị Thúy Duy, Huỳnh Thị Thảo Ly
Nguyễn Thị Phương Phong, Lê Ngọc Thạch **17**
- ✧ Đào Việt Thân, Thái Hồng Chương, Đào Quốc Tùy **21**
- ✧ Đàm Đức Trung, Lê Duy Bình **25**
- ✧ Nguyễn Thị Tuyết Mai, Tạ Ngọc Dũng, Huỳnh Đăng Chính **31**
- ✧ Tạ Ngọc Dũng, Nguyễn Hải Đăng **35**
- ✧ Vương Chí Cường, Phạm Thanh Huyền **40**
- ✧ Đỗ Xuân Đồng, Trần Quang Vinh, Nguyễn Thị Nhiệm
Lê Thị Hoài Nam, Nguyễn Anh Vũ, Lê Văn Tiến **45**
- ✧ Dương Thị Giáng Hương, Nguyễn Thuận Minh
Trần Ngọc Hân, My Trần Hương Trà, Bùi Mạnh Hà **53**
- ✧ Nguyễn Trí Ngăn **57**
- ✧ Dương Nghĩa Bang **61**
- ✧ Lê Thế Tâm, Đinh Thị Huyền Trang **64**
- ✧ Phạm Văn Tuyền, Phan Thanh Hải, Đặng Văn Long
Đỗ Trung Hiếu, Chu Ngọc Châu, Nguyễn Thanh Bình
Nguyễn Thị Ngọc Quỳnh **68**
- ✧ Hồ Văn Ban, Nguyễn Lê Tuấn, Trương Công Đức
Lê Duy Thanh, Diệp Thị Lan Phương, Huỳnh Văn Nam **72**
- ✧ Hoàng Thị Hương Thủy, Lê Thị Thọ, Lê Thị Hoa
Vũ Hồng Nam, Lê Bá Thắng **76**

XÁC ĐỊNH α -TOCOPHEROL (VITAMIN E) TRONG MỘT SỐ NHO BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)

LÊ THẾ TÂM, ĐINH THỊ HUYỀN TRANG

Khoa Hóa học, Trường Đại học Vinh

SUMMARY

Vitamine E is a very important micronutrient for human. It has been reported to have antioxidant, anti-aging and a treatment for skin. Determined content Vitmine E by extraction method with non-polar solvents, and then the simple was determined by HPLC - FLD. The results obtained the method was exacted with determined content of vitamine E. The performance recovery of method about 90%. Content of Vitamine E in simples: ripe grapes in Viet Nam 100mg/kg, red grapes in China 99,81mg /kg, green grapes in Viet Nam 82,14mg /kg.

Keywords: Food, grape, High-performance liquid chromatography, Vitamin, α -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherols.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trái nguồn cung cấp vitamin phổ biến rộng rãi, trong đó nho được xem như nền văn hóa như “nữ hoàng trái cây” từ nhiều thế kỷ. Quả nho rất tốt cho sức khỏe của con người, thúc đẩy phyto - chất dinh dưỡng, như chất chống oxy hóa poly-phenol, vitamin và khoáng chất. Một nghiên cứu của các tình nguyện viên khỏe mạnh thấy rằng uống chiết xuất hạt cây nho đã tăng đáng kể nồng độ của chất chống oxy hóa trong máu của họ. Chất chống oxy hóa là những chất phá hủy các gốc tự do - các hợp chất có hại trong cơ thể gây tổn hại DNA

và thậm chí gây chết tế bào. Các gốc tự do được cho là góp phần vào quá trình lão hóa, cũng như ảnh hưởng đến tim mạch... Hiện nay đã có nhiều phương pháp phân tích hàm lượng α -tocopherol với nhiều kỹ thuật khác nhau. Tuy nhiên có rất ít công trình công bố một cách chi tiết phân tích α -tocopherol trong hạt nho bằng phương pháp HPLC. Với những lý do trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu xác định α -tocopherol trong hạt nho bằng phương pháp HPLC.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Hóa chất và thiết bị

Cột sắc ký: cột sắc ký XDB - C₁₈ 4,6×150mm, 5 μ m; cân phân tích chính xác $\pm 0,1$ mg; máy siêu âm, con từ, bếp từ, thiết bị lọc, các dụng cụ thủy tinh cần thiết khác. Màng lọc dung môi 0,45 μ m, hóa chất: methanol loại tinh khiết phân tích đạt tiêu chuẩn cho HPLC, chất chuẩn α -tocopherol (HPLC).

2. Phương pháp lấy mẫu, xử lý mẫu

Mỗi mẫu được lấy đem đựng vào túi sạch, bảo quản lạnh, đưa về phòng thí nghiệm được lưu giữ trong hộp nhựa kín, bảo quản ở nhiệt độ 0°C. Tại phòng thí nghiệm, mẫu được tiến hành xử lý sơ bộ bằng máy nghiền mẫu sau đó được xử lý tiếp bằng phương pháp chiết với dung môi methanol để thu được dịch chiết

chứa chất phân tích và được phân tích bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Agilent 1100.

3. Kỹ thuật thực nghiệm

Điều kiện sắc ký

Cột sắc ký: cột sắc ký XDB-C18, pha động 100% methanol, nhiệt độ lò cột 30°C, tốc độ dòng 0,5 μ l/phút, detector FLD bước sóng đầu dò 293-326nm.

Xác định khoảng tuyến tính và đường chuẩn của α -tocopherol

Dãy chuẩn α -tocopherol được khảo sát có nồng độ như sau: 1; 5; 10; 20; 50(ppm). Tiến hành chạy trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) từ kết quả thu

thu được bảng 1 chúng tôi đã xây dựng phương trình hồi quy của đường chuẩn α -tocopherol theo diện tích

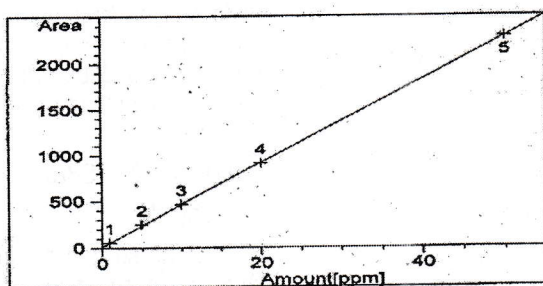
peak có dạng như sau:

$$y = 8,6233 + 143,84$$

$$R^2 = 0,9997$$

Bảng 1: Diện tích peak của α -tocopherol tương ứng với từng nồng độ chuẩn

Nồng độ chuẩn (ppm)	Diện tích peak	a	b	R ²
1	53,89987	143,84	8,6233	0,9997
5	246,64784			
10	462,66498			
20	911,91278			
50	2287,03296			



Hình 1. Đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích peak và nồng độ chuẩn α -tocopherol

Chuẩn bị mẫu

Mỗi mẫu nhỏ cân chính xác 3 gam, sau đó đem đi nghiền nhỏ, thêm 25ml methanol rồi khuấy trong vòng 1 giờ (sử dụng con từ và bếp từ). Sau đó gạn lấy dịch

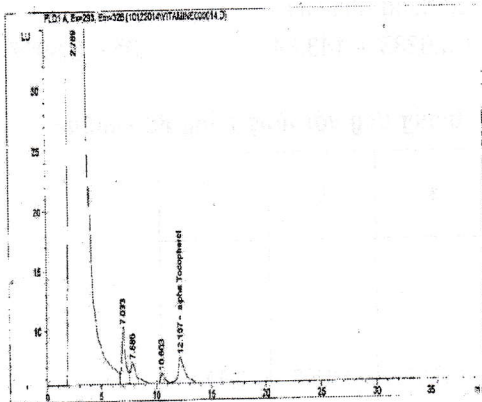
chiết. Tiếp tục thêm 25ml methanol vào phần cặn, khuấy tiếp 1 giờ rồi gạn lấy dịch chiết, gạn dịch chiết lọc qua giấy lọc, bơm qua đầu lọc, cho vào vial và đem đi phân tích.

III. KẾT QUẢ VÀ THÍ NGHIỆM

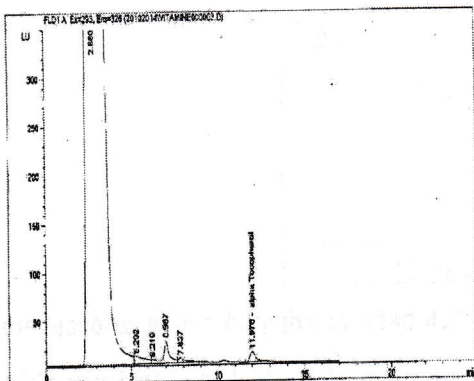
1. Xác định hàm lượng chuẩn α -tocopherol trong mẫu các mẫu nhỏ

Bảng 2: Kết quả phân tích hàm lượng α -tocopherol trong các mẫu nhỏ

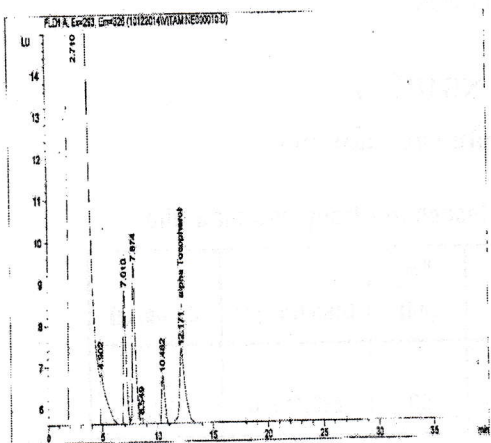
Mẫu	Các mẫu	C ₀ (ppm)	Khối lượng mẫu (g)	V _{dm} (ml)	Diện tích pic	C (mg/kg)
1	Nho chín Việt Nam	6,03203	3,0015	50	282,11310	100,48
2	Nho đỏ Trung Quốc	5,99177	3,0018	50	280,27841	99,81
3	Nho xanh Việt Nam	4,93203	3,0021	50	231,99168	82,14



Hình 2. Sắc đồ mẫu nho xanh Việt Nam



Hình 3. Sắc đồ mẫu nho chín Việt Nam



Hình 4. Sắc đồ mẫu nho đỏ Trung Quốc

Sau khi tiến hành phân tích các mẫu nho trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), chúng tôi thu được kết quả ở bảng 2 và hình 2, 3, 4.

2. Đánh giá phương pháp định lượng

a. Giới hạn phát hiện (limit of detection- LOD)

Giới hạn phát hiện (LOD) được định nghĩa là nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích mà có tín hiệu sắc ký lớn gấp 3 lần tín hiệu đường nền. $LOD = \text{tín hiệu chiều cao pic/nhiều đường nền} \geq 3$.

Từ đó xác định giới hạn phát hiện của phương pháp $LOD = 0,01922\text{ppm}$.

b. Giới hạn định lượng (limit of quantity- LOQ)

Giới hạn định lượng (LOQ) là nồng độ nhỏ nhất đo được của phương pháp, đó là nồng độ tối thiểu của một chất trong một nên mẫu xác định mà thiết bị có thể đo đúng được với một RSD% quy định nồng độ chất phân tích mà cho tín hiệu gấp 10 lần tín hiệu đường nền.

$$LOQ = 10 \times SB/b$$

Trong đó:

b là hệ số góc của phương trình hồi quy, SB là độ lệch chuẩn của mẫu trắng, cũng được xác định theo phương trình hồi quy. Như vậy theo phương trình hồi quy ta có: $LOQ = 0,06406\text{ppm}$.

c. Đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp

Độ thu hồi của phương pháp cũng được xác định bằng cách tiến hành phân tích 3 lần lặp lại đối với mẫu hạt nho xanh Việt Nam đã được tiến hành tách chiết theo quy trình xử lý và phân tích mẫu với nồng độ thêm chuẩn là 2ppm. Kết quả thu được ghi ở bảng 3.

Qua kết quả phân tích cho thấy, hiệu suất thu hồi cao, tỷ lệ % tìm lại chất phân tích Htb (%) = 89,012% đáp ứng yêu cầu phân tích.

Bảng 3: Kết quả xác định hiệu suất thu hồi của phương pháp

Mẫu	Số lần	m (g)	C _m (g)	C _{s+m} (ppm)	C _{so} (ppm)	H%
Nho xanh Việt Nam	1	3,0021	82,14	83,9112	2	88,56
	2	3,0028	82,12	83,9025	2	89,125
	3	3,0030	82,17	83,917	2	89,35

IV. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp xác định α -tocopherol bằng phương pháp HPLC, với các điều kiện sắc ký như ở trên.

Đã tiến hành đánh giá phương pháp định lượng và cho thấy phương pháp thỏa mãn tính thích hợp của hệ thống sắc ký, có độ chính xác và đặc hiệu cao.

Đã xác định được α -tocopherol trong hạt một số loại nho ngoài thị trường: nho xanh Việt Nam, nho chín Việt Nam và nho đỏ Trung Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Nhân. *Dinh dưỡng học*. Nxb Nông nghiệp, 2005.
2. Phạm Luân. *Cơ sở lý thuyết phân tích sắc ký lỏng hiệu suất cao*. Đại học quốc gia Hà Nội, 1999.

3. Mai Tất Tố, Vũ Thị Trâm, Đào Thị Vui, Lê Phan Tuấn (2007). *Dược lý học*, tập 2. Trường Đại học Dược Hà Nội.

4. Tiêu chuẩn Quốc gia: 8276 : 2010. *Xác định vitamin E bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, định lượng α -, β -, γ -, và δ -tocopherol*. Nxb Hà Nội, 2010.

5. Thompson, J.N., Hatina, G., 1979. *Determination of tocopherols and tocotrienols in foods and tissues by high performance liquid chromatography*, Journal of Liquid Chromatography 2, 327-344.

6. Pehrsson, P.R., Haytowitz, D.B., Holden, J.M., 2003. *The USDA's National Food and Nutrient Analysis Program: update 2002*. Journal of Food Composition and Analysis 16, 331-341.

7. Jiyeon Chun, Junsoo Lee, Lin Ye, Jacob Exler, Ronald R. Eitenmiller. *Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet*. Journal of Food Composition and Analysis 19 (2006) 196-204. ♣

Người phản biện: PGS, TS NGUYỄN KHẮC NGHĨA

HOAN NGHÈNH BẠN ĐỌC PHÊ BÌNH BÁO!