

实验技术与方法

高效液相色谱法测定食用油中抗氧化剂特丁基对苯二酚

陆 岩 张洁萍 王俊秋 周立春
(北京市药品检验所,北京 100035)

摘 要:目的 建立高效液相色谱法测定食用油中加入的抗氧化剂特丁基对苯二酚(TBHQ)含量的方法,并进行方法学验证。方法 将适量的供试品溶解于正己烷中,用乙腈分次萃取 TBHQ,将含有 TBHQ 的乙腈溶液进行色谱分析并计算含量。结果 TBHQ 色谱峰面积与浓度在 1~100 μg/ml 的范围内呈良好的线性关系($r=1.0000$);方法的最低检测限为 0.99 ng;定量限为 5.94 ng。TBHQ 的回收率为 94.97%~104.0%($RSD=2.83\%$)。结论 方法准确、灵敏、快捷。
关键词:氢醌类;抗氧化剂;植物油类;色谱法;液相

Determination of Antioxidant Tertiary-Butyl Hydroquinone in Edible Oil by
High Performance Liquid Chromatography
LU Yan, ZHANG Jie-ping, WANG Jun-qiu, ZHOU Li-chun
(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

Abstract: **Objective** To establish the method of high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of tertiary butyl hydroquinone (TBHQ) added in edible oil in order to correct method validation. **Method** The TBHQ of sample was dissolved in n-hexane, and extracted with acetonitrile, and determined by HPLC. **Results** The linear relationship between peak area and concentration of TBHQ was obtained at the range of 1~100 μg/ml ($r=1.0000$); The detection limit was 0.99 ng, and the quantify limit was 5.94 ng. Recovery was 94.97%~104.0%, and RSD was 2.83%. **Conclusion** The method could be accurate, sensitive and rapid.
Key word: Hydroquinones;Antioxidants;Plant Oils;Chromatography, Liquid

特丁基对苯二酚(TBHQ)是一种油溶性抗氧化剂,广泛用于食用油脂^[1],能阻止或延迟油脂氧化变质,因具有一定的急性毒性和慢性致癌作用而被限制使用(国家标准 TBHQ 的最大使用量为 0.2 g/kg^[2]),目前由于没有国家标准检验方法,食品中 TBHQ 的使用量没有得到有效控制。根据文献报道,对 TBHQ 的测定一般采用薄层法、比色法、气相色谱法和高效液相色谱法。由于薄层法和比色法为限量检查,且灵敏度低,目前已很少研究。作为广泛研究的色谱法^[3],其优势在于灵敏度高,定量准确。本研究采用高效液相色谱法检测食品中的 TBHQ,检测灵敏度较高,方法的前处理较简便,能将样品中的 TBHQ 与干扰成分有效分离,易于推广。

1 材料与方法

1.1 试剂

特丁基对苯二酚对照品(纯度 97.0%,批号 A0241290) ACROS 公司提供;A 食用油 A 有限公

司提供,批号 20070726;B 食用油 B 有限公司提供,批号 20070704;乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Agilent 1100 液相色谱仪;Anke TDL-40B 离心机;Heidolph 真空旋转蒸发仪。

1.3 色谱条件

色谱柱 SHISEIDO MG 4.6 mm×150 mm×5 μm;流动相 1%醋酸+乙腈(55+45,体积比);检测波长 280 nm;流速 1.0 ml/min;柱温(室温 25℃);进样量 20 μl。

1.4 方法

1.4.1 校正曲线 精密称取特丁基对苯二酚对照品 10.00 mg 置 100 ml 容量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,作为储备液(100 μg/ml);量取储备液 3.0、2.5、2.0、1.5、1.0 置 10 ml 容量瓶中,量取 1.0 ml 储备液(100 μg/ml)置 100 ml 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,使特丁基对苯二酚的浓度分别为 30、25、20、15、10 和 1 μg/ml,取上述 7 个浓度的溶液(包括储备液)各 20 μl,分别注入液相色谱仪中,测得色

作者简介:陆岩 女 主管药师

谱峰面积。对峰面积和对照品溶液的浓度进行线性回归,求得线性方程。

1.4.2 试样处理与测定 取供试品10.000 0 g,置100 ml 容量瓶中,加入正己烷 20 ml,振摇溶解后,加入乙腈 20 ml,振摇混合 1 min,在40 ℃水浴中放置 30 min,取出,再振摇 30 min,低温冷冻 10 min,以3 000 r/min离心 5 min,缓缓倒入分液漏斗中,静置 10 min,收集乙腈层。用乙腈重复提取 2 次,每次 20 ml,合并乙腈提取液,置真空旋转蒸发仪的浓缩瓶中,在40 ℃浓缩至 2~5 ml,用乙腈转移至 25 ml 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,作为测试溶液。精密量取 20 μl 测试溶液,注入液相色谱仪中,测得色谱峰面积,按校正曲线的回归方程计算含量。

2 结果

2.1 校正曲线

以对照品溶液的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制校正曲线,得到回归方程: $y = 16.474x - 1.7132$,相关系数 $r = 1.0000$,表明特丁基对苯二酚在浓度 1~100 μg/ml 的范围内呈良好的线性关系。

2.2 精密度

按照样品的制备方法,分别制备 6 份测试溶液,进样后计算测定结果。6 次平行测定结果的相对标准偏差为 1.22%,表明本方法具有良好的精密度。

2.3 加标回收试验

取 9 份已知含量的食用油10.000 0 g置 100 ml 容量瓶中,另取特丁基对苯二酚对照品 10.00 mg 置 100 ml 容量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀。分别取 4.0、5.0 和 6.0 ml 各 3 份,加入上述含食用油的 100 ml 容量瓶中。结果见表 1。

2.4 最低检测限和定量限

2.4.1 最低检测限 取供试品10.000 0 g,按照样品的制备方法配制成供试品溶液,精密量取 1 ml,置 200 ml 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,进样 10 μl,记录色谱图,信噪比为 3,特丁基对苯二酚的最低检测限为 0.99 ng。

表 1 加标回收结果 (n=9)						
试样编号	原含量 (μg/ml)	加标量 (μg/ml)	测定量 (μg/ml)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	20.04	16.31	15.78	96.75		
2	20.24	16.31	16.44	100.8		
3	20.78	16.31	15.49	94.97		
4	20.34	20.39	20.74	101.7		
5	20.10	20.39	20.91	102.6	100.3	2.83
6	20.03	20.39	20.71	101.6		
7	20.33	24.47	25.46	104.0		
8	21.28	24.47	24.68	100.9		
9	20.53	24.47	24.41	99.75		

2.4.2 定量限 取供试品10.000 0 g,按照样品的制备方法配制成供试品溶液,精密量取 1 ml,置 200 ml 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,进样 60 μl,记录色谱图,信噪比为 10,特丁基对苯二酚的定量限为 5.94 ng。

2.5 特丁基对苯二酚溶液的稳定性

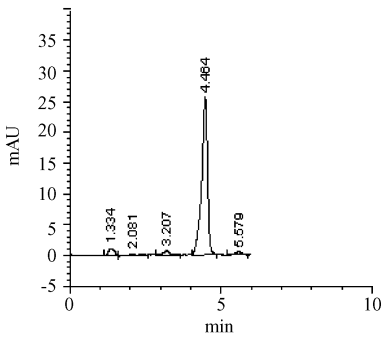
将特丁基对苯二酚对照品溶液连续注入液相色谱仪中,记录峰面积,表 2 结果表明,溶液至少可以在 15 h 内保持稳定。

表 2 溶液的稳定性试验结果		
时间(h)	峰面积(mAU)	RSD(%)
0	1.568×10^4	
11	1.573×10^4	0.16
15	1.571×10^4	

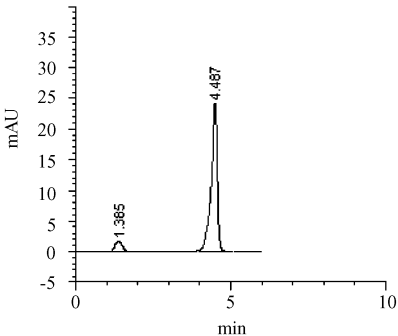
2.6 试样的测定

由图 1、图 2 可见,该方法可使 TBHQ 与干扰成分有效分离。对 4 份测试样进行检测,结果见表 3。

表 3 试样的测定结果 mg/100 g		
	试样编号	测定值
A 食用油 批号:20070726	1	4.379
	2	4.478
B 食用油 批号:20070704	1	4.919
	2	4.936



保留时间 1.334 的色谱峰为溶剂峰;
保留时间 4.484 的色谱峰为 TBHQ。
图 1 实测样品的典型色谱图



保留时间 1.385 的色谱峰为溶剂峰;
保留时间 4.487 的色谱峰为 TBHQ。
图 2 标准品色谱图

3 讨论

3.1 流动相 pH 的影响 由于被测组分含有两个羟基,显弱酸性,在流动相中使用乙酸可以增加流动相的极性,有利于抗氧化剂的稳定。

3.2 检测波长的选择 经紫外光谱扫描,特丁基对苯二酚溶液在 280 nm 波长处有最大吸收,因此选择检测波长为 280 nm。

3.3 试样的前处理 在从油脂中提取特丁基对苯二酚的过程中,由于特丁基对苯二酚的热稳定性差,极性弱,因此采用极性强的乙腈作为溶剂,采用低温加热(40 ℃ 水浴)溶解。正己烷和乙腈的比重较接

近,为了得到良好的分离,将混合液低温冷冻 10 min,使油脂层易于与乙腈层分离。浓缩采用 40 ℃ 真空旋转蒸发,以避免特丁基对苯二酚的氧化。

参考文献

[1] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 北京:化学工业出版社,1997: 746.

[2] GB 2760—2007. 食品添加剂使用卫生标准[S].

[3] QB 2395—1998. 进出口油脂中抗氧化剂的测定[S].

[收稿日期:2008-05-18]

中图分类号:R15;TS207.3;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2008)05-0421-03

《中国食品卫生杂志》2009 年征订启事

《中国食品卫生杂志》(ISSN 1004-8456/CN 11-3156/R)系中华预防医学系列杂志,公开发行,双月刊,96 页。所设栏目论文部分有:论著、实验技术与方法、监督管理、调查研究、综述、食物中毒、CAC 专栏、网络信息等;法规文件部分刊登有关食品卫生的国家法律、法规、标准、行政答复、通告等。读者可以通过本刊及时掌握国家新颁布的食品卫生法律、法规,了解最新食品卫生科研成果,解决工作中遇到的问题,提高论文水平。

本刊可通过邮局订阅,邮发代号:82-450;亦自办发行并常年办理订阅。

自办发行办法如下:2009 年《中国食品卫生杂志》全年售价 87 元(含邮费)。从邮局汇款请注明订阅册数、详细的收件人地址、单位、邮编、姓名;通过银行汇款的单位,请在汇款的同时寄函或电传我所以以下内容,订阅册数、详细收件人地址、邮编、单位、姓名,以便准确邮寄。

希望挂号投寄期刊的用户,每期杂志需加挂号费 3 元,全年挂号费 18 元,并请在寄款时同时说明要求挂号。

汇款地址:北京市宣武区南纬路 29 号 《中国食品卫生杂志》编辑部

邮 编:100050

联系人:姜人怡

电 话:(010)83132658

电 传:(010)83132658

银行汇款:工商银行北京潘家园支行

账 号:0200022709008904285

户 名:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 请注明“《中国食品卫生杂志》订阅款”

《中国食品卫生杂志》编辑部

2008 年 9 月