直接稀释进样快速检测食用植物油中抗氧化剂 BHA、BHT 和 TBHQ

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

云雯 *，邓美林，陈世奇，屠大伟
重庆市计量质量检测研究院，重庆市食品安全工程技术中心，国家农副加工产品及调味品质量监督检验中心，重庆 401123

引言

叔丁基羟基茴香醚（BHA）、二丁基羟基甲苯（BHT）和叔丁基对苯二酚（TBHQ）是油脂食品中三种常用的合成抗氧化剂，其作用是抑制或延缓食品氧化变质，提高食品的稳定性和延长保质期。由于其毒性较大，GB 2760-2011[1] 中规定 BHA、BHT 和 TBHQ 在油脂食品中最大使用量为 0.2 g/kg。目前常用仪器分析方法有气相色谱法[2]、气相色谱－质谱法[3]、胶束毛细管色谱法[4] 和液相色谱法[5] 等，前处理方法有凝胶色谱法，液液萃取法、固相萃取法和 QUECHERS 法等，这些前处理方法在不同程度上存在耗时、耗溶剂等缺点，以超临界 CO_2 为主要流动相的超高效合相色谱能对油脂样品进行适当的稀释后无须前处理可直接进样，具有分析时间快、消耗溶剂少的优势，在油脂样品中抗氧化剂快速分析上具有实际意义。

实验

2.1 仪器与试剂

沃特世（Waters®）UPC²® 合相色谱，配有 PDA 紫外检测器和 Empower® 色谱工作站（美国沃特世公司）；叔丁基对羟基茴香醚（BHA，纯度≥ 99 %），二叔丁基对甲酚（BHT，≥ 99 %）特丁基对苯二酚（TBHQ，纯度≥ 99 %），均购自美国 Chemservice 公司。正庚烷，异丙醇，甲醇，乙腈（HPLC 级，美国 Tedia 公司）。

2.2 标准溶液的制备

标准储备液：准确称取适量的 3 种抗氧化剂标准品，分别用正庚烷配制出浓度 1000 mg/L 的单标储备液，置于棕色瓶中，4 ℃冰箱中保存备用。

混合标准溶液：准确移取适量上述单标储备液与容量瓶中，用正庚烷：异丙醇（80:20）溶液定容至刻度，配制成 1、10、20、50、100、200 mg/L 的混合标准工作溶液。

2.3 样品前处理

准确称取 5 g（精确至 1 mg）样品于玻璃离心管中，用 5 mL 正庚烷：异丙醇（80:20）溶液稀释，混匀，过 0.22 μm 滤膜后上机。

2.4 色谱条件

色谱柱：	ACQUITY UPC² BEH 3.0×100mm，1.7 μm
柱温：	30 ℃
流动相 A：	CO_2
流动相 B：	甲醇：乙腈（50:50）
流速：	2 mL/min
ABPR：	2000 psi
检测波长：	285 nm
梯度系统程序：	0~5 min，B 相从 0 % 增加至 6 %；5~6 min B 相从 6 % 恢复至初始流动相。

结果与讨论

3.1 检测波长的选择

3 种抗氧化剂在 200 nm-400 nm 范围内均有紫外吸收，除了在 230 nm 处均有较强吸收外，其最大的吸收波长分别为 290 nm（BHA）、280 nm（BHA）、291 nm（TBHQ），因为植物油成分及干扰物多在 230 nm 有紫外吸收，并且吸收较强。综合考虑，选用 285 nm 作为 3 种抗氧化剂的最佳检测波长。

3.2 流动相 B 的选择

考察了不同比例甲醇和乙腈作为流动相 B。结果表明随着乙腈比例的增加，色谱分离度增加。通过分离实际样品，综合考虑，选择甲醇：乙腈 （50:50）作为流动相 B。3 种抗氧化剂标准品在选定色谱条件下的分离效果见图 1。

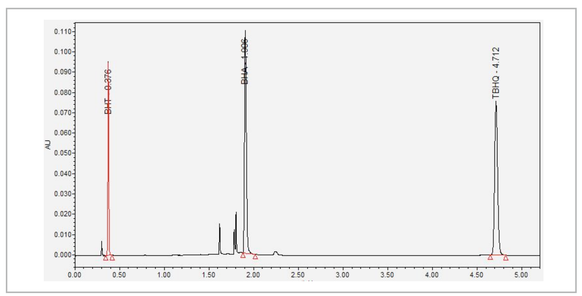

图1. 3种抗氧化剂标准品的色谱分离图

3.3 线性关系及检出限

按照 2.4 色谱条件，对 1、10、20、50、100、200 mg/L 的混合标准工作液进行色谱分析，以 3 种抗氧化剂在 285 nm 处的响应值（峰面积）为纵坐标，质量浓度为横坐标进行线性回归。设定目标物质检出限（LOD）为 S/N=3，定量下限（LOQ）为 S/N=10。3 种抗氧化剂的线性方程、检出限和定量下限如表 1 所示。 结果显示，3 种抗氧化剂在 1~200 mg/L 浓度范围内呈良好的线性关系（相关系数 R^2 ＞ 0.99），检测限分别为 0.1、0.1、0.2 mg/kg。

表 1. 3 种抗氧化剂的线性范围、线性方程、检出限及定量下限

Antioxidant	Liner Range mg/L	Regression Equation	R^2	LOD mg/kg	LOQ mg/kg
BHT	1-200	$Y=6.83\times10^2X + 9.61\times10^2$	0.998	0.1	0.4
BHA	1-200	$Y=1.67\times10^3X + 1.89\times10^3$	0.998	0.1	0.4
TBHQ	1-200	$Y=1.77\times10^3X + 1.92\times10^3$	0.997	0.2	0.6

3.4 实际样品加标检测

为了考察该方法的实际检测效果，将该方法应用于不同种类食用植物油的加标样品检测，结果如图 2。从图中可以看出，该方法能对不同种类植物油中的 3 种抗氧化剂具有良好的分离效果，并 5 分钟内实现目标峰的分离，能用于实际样品中 BHA，BHT，TBHQ 的检测，结果令人满意。

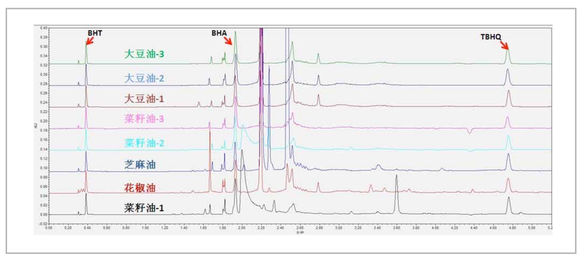

图2

结论

本文建立了一种通过直接稀释进样检测食用植物油中 3 种抗氧化剂的合相色谱法。该方法避免由复杂的前处理带来试验结果的不确定性。通过直接稀释进样，节省检测时间并降低了成本，具有简便快速、灵敏度高、重现性好等特点。为食品中抗氧化剂的检测提供了一种快速、经济、实用的新方法，具有良好的应用前景。

参考文献

[1] GB2760-2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
[2] 叶坚等 . 气相色谱法同时测定食品中 BHA、BHT、TBHQ[J]. 中国卫生检验杂志 . 2008, 18 (6): 1082-1083
[3] 乐振峰等 . 气相色谱 - 质谱法测定 XO 酱中 BHA、BHT 和 BHQ[J]. 中国粮油学报 . 2004, 19 (5)：83-85
[4] Guan Y, Chu Q, Fu L, Ye J, J. Chromatogr. A, 2005, 1074: 201-204.
[5] Chen M, Xia Q, Liu M, Yang Y. J. Food Sci., 2011, 76 (1)98-103

如需下载此海报，请访问*WWW.WATERS.COM/POSTERS*

©2013 Waters Corporation