

液相色谱法测定食品中抗氧化剂特丁基对苯二酚

桂学琴 (安徽大学现代实验技术中心, 安徽合肥 230039)

摘要 采用高效液相色谱法测定食品中的抗氧化剂特丁基对苯二酚(TBHQ)。样品经甲醇提取过滤后测定, 检测波长为280 nm, 流动相为乙腈-水(含1%的乙酸, 体积比为45:55), 结果表明, TBHQ回收率大于85%, 测定结果的相对标准偏差小于2%。该方法简单、快捷、准确, 可广泛应用于油脂及多种食品中TBHQ的检测。

关键词 食品; 特丁基对苯二酚; 抗氧化剂; 高效液相色谱

中图分类号 TS207 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)06-01577-01

Determination of Antioxidant TBHQ in Food by HPLC

GU Xue-qin (Center of Modern Experiment and Technology, Anhui University, Hefei, Anhui 230039)

Abstract A HPLC procedure was developed for the determination of tertiary butylhydroquinone (TBHQ) in food. After the sample was extracted with methanol and filtered it can be determined with HPLC. The detect wavelength was 280 nm, and the mobile phase was acetonitrile and H₂O (the ratio of volume was 45:55). The recovery of the TBHQ was upwards 85% and the relative standard deviation was less than 2%. The facile method was efficient, accurate and suitable for routine analysis of TBHQ in oil and foods.

Key words Foods; Butylhydroquinone (TBHQ); Antioxidant; HPLC

抗氧化剂是为了防止食品氧化变质, 具有保鲜作用的一种食品添加剂。抗氧化剂在食品中的添加必须符合卫生法的规定, 过量添加会损害人体健康。FAO/WHO(1995)对其暂定的每日允许摄入量(ADI)值为0~0.2 mg/kg, 允许使用在26类食品中, 最大允许使用量为200 mg/kg。我国于1992年批准使用TBHQ, GB2760-1996规定其最大使用限量为200 mg/kg, 允许在食用油脂、油炸食品、饼干、谷物食品、干货食品、薯片、糕点、干果罐头等中使用。

TBHQ虽可在食品中使用, 但针对TBHQ的测定方法尚不成熟准确。目前我国仅有用高效液相色谱法同时测定油脂中多种抗氧化剂的方法, 但这种方法仅适用于油脂, 其前处理过程繁琐, 溶剂乙腈毒性较强、价格较贵。为了填补国内检测食品中TBHQ方法空白, 笔者参考美国AOAC《油和脂肪里的抗氧化剂》测定、轻工行业标准QB2395《食品添加剂特丁基对苯二酚(TBHQ)》中方法的有关原理和技术, 建立了高效液相色谱法测定TBHQ的方法, 该方法简单、快捷、准确, 可广泛应用于油脂及干货食品等中TBHQ的检测。

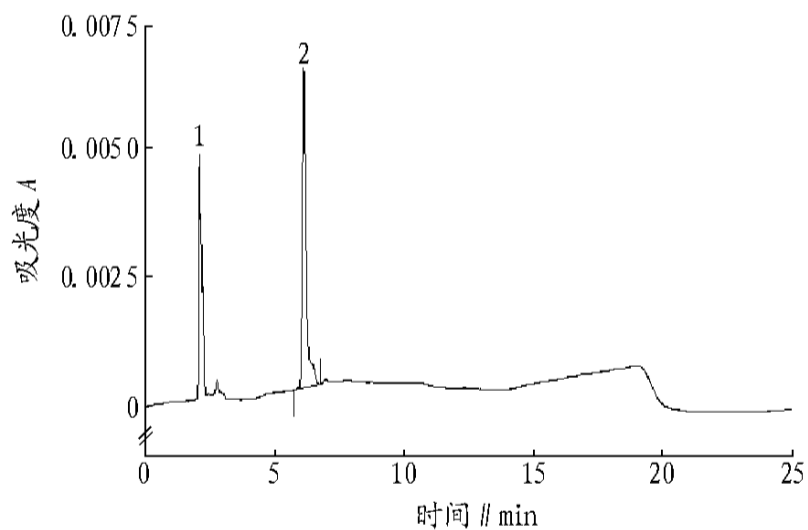
1 材料与方

1.1 主要仪器与试剂 高效液相色谱仪: Agilent 1100型, 紫外-可见光检测器; 真空旋转蒸发仪; 高速冷冻离心机; 精密天平: AT-204S, 感量为0.1 mg, 梅特勒-特利多公司; 粉碎机(或均质机); 微量进样器; 滤膜: 孔径为0.45 μm; 分液漏斗、梨型浓缩瓶、容量瓶; TBHQ标准样品: 纯度为99.8%, 美国Merck公司; TBHQ标准溶液(1.0 ng/ml): 准确称取适量的TBHQ, 用异丙醇-乙腈(1+1)溶解定容, 使用前根据需要再稀释成适当浓度的标准使用溶液, 避光冷藏保存; 正己烷、甲醇、乙酸: 分析纯, 用前在玻璃仪器内重蒸; 异丙醇、乙腈: 色谱纯; 实验用水为二次蒸馏超纯水。

1.2 色谱条件 色谱柱: HP ZORBAX XDBC₁₈柱(250 mm × 4.6 mm i.d., 4 μm); 流动相: 乙腈-水(含1%的乙酸, 体积比为45:55); 流动相流速: 1.0 ml/min; 柱温: 室温(25℃); 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μl。

1.3 实验步骤

(1) 标准曲线的绘制。准确移取一定量的TBHQ标准储备液于10 ml容量瓶中, 用异丙醇-乙腈(1+1)定容, 分别制备得0.025、0.05、0.1、0.25、1.0 ng/ml TBHQ标准溶液。将0.025、0.05、0.1、0.25、1.0 ng/ml的TBHQ标准使用溶液分别进样1 μl, 按给定条件测定。结果见图1。对峰面积和标准溶液的浓度进行线性回归(标准曲线见图2), 求得线性方程为: $Y = 0.021 \times 10^3 c - 1.58$, 相关系数 $r = 0.99983$ 。



注: 1. 溶剂峰; 2. TBHQ峰。

图1 TBHQ标准样品的色谱图

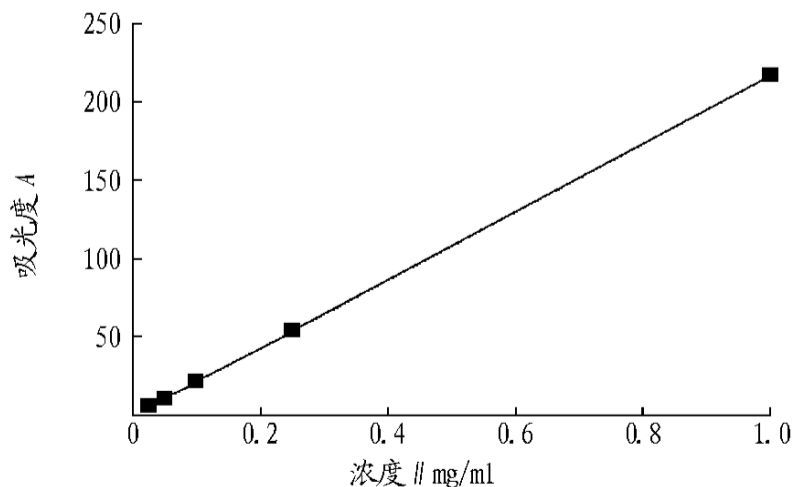


图2 TBHQ标准样品系列浓度的标准曲线

(2) 样品的处理与测定。准确称取10 g待测样品, 置于100 ml具塞烧瓶中, 用正己烷溶解后加入25 ml甲醇(干货食品、薯片、糕点等直接加甲醇), 振荡混合1 min, 于40℃水浴中放置3~5 min, 取出, 再振荡3~5 min, 放入冷水中冷却, 以

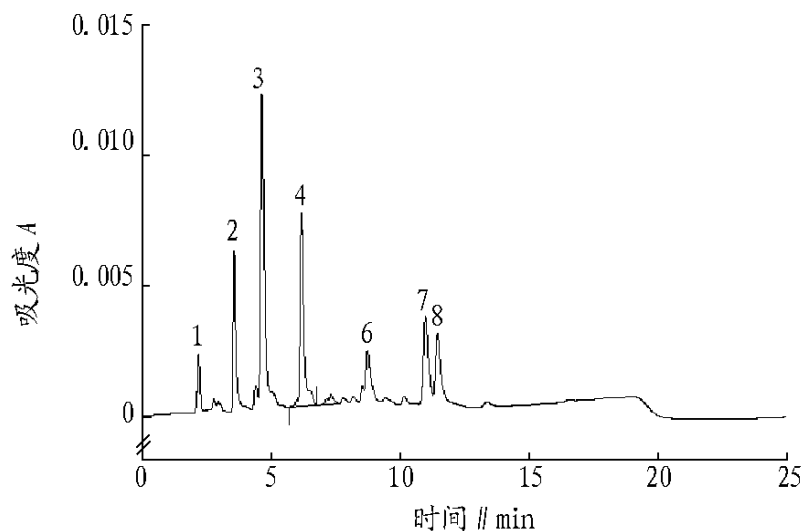
作者简介 桂学琴(1968-), 女, 安徽潜山人, 实验师, 从事分析测试技术研究。

收稿日期 2006-12-06

(下转第1584页)

(上接第1577页)

3 000 r/min 离心5 min, 吸取上清液。重复提取3次, 合并甲醇提取液, 置于梨型浓缩瓶中, 低温浓缩后, 用异丙醇定容至10 ml, 摇匀。经0.45 μm 滤膜过滤后, 直接进样, 于280 nm 检测, 色谱图如图3所示。峰面积用外标法定量。



注:1. 溶剂峰;4. TBHQ 峰;2、3、6、7、8 为其他抗氧化剂峰或食品基质峰。

图3 食品样品的色谱图

2 结果与分析

2.1 前处理条件的选择 测定TBHQ的样品处理比较复杂, 特别是在TBHQ含量较低时, 从复杂的基体中提取时, 其他干扰组分也会同时被提取出来。TBHQ微溶于水, 易溶于醇, 具有热稳定性差、极性弱的特点, 提取时为了避免使用毒性较强的乙腈, 改用甲醇作溶剂。采用低温冷冻分离, 以使油脂凝固, 去除干扰物质。为减少损失, 在浓缩分析前应将萃取液在低温中储存, 浓缩时应注意控制温度不宜过高, 浓缩时间不能过长。待测样品浓缩定容后应立即测试, 这样TBHQ回收率相对较高。

2.2 检测波长的选择 由于样品中可能含有其他类抗氧化剂, 经波长扫描得到TBHQ在280 nm处检测具有高的灵敏度和选择性, 故选择检测波长为280 nm。

2.3 流动相的选择 当采用无梯度的乙腈-水作流动相

时不能很好地将样品中可能含有的杂质分开。由于TBHQ 2个酚羟基上的活泼氢具有较强的极性, 在流动相中加入改性剂乙酸后, 会增加流动相的极性, 有利于降低抗氧化剂在色谱柱上的保留时间, 而且酸性环境有利于抗氧化剂的稳定, 因此可以改善峰型, 缩短出峰时间。实验研究了流动相中HAc含量变化对分离效果的影响, 发现当流动相中含1% HAc时, TBHQ分离很好, 因此选用乙腈-水(含1%的乙酸, 体积比为45:55)作为流动相进行测定。

2.4 添加回收实验 在经过测定的已知TBHQ含量的4份样品(含量分别为0.247 1、0.230 1、0.398 2、0.605 2 μg/ml)中, 分别添加1.0、2.0、4.0、10.00 μg/ml的系列标准使用液各1 ml, 在给定的实验条件下进行处理, 最后分别将溶液定容至10 ml, 在同样的色谱条件下进样, 测定结果见表1。

表1 回收实验结果

添加水平 μg/ml	回收量 μg/ml	回收率 %
0.1	0.094 1	94.1
0.2	0.186 7	93.3
0.4	0.383 7	95.1
1.0	0.878 8	87.9

2.5 精密度实验 分别称取6份油脂, 按给定条件测定, 样品1、2、3、4、5、6的测定结果分别为:87.6、91.4、89.2、88.5、93.7、90.3 ng/kg, 平均值90.1 ng/kg, RSD为1.9%。

3 结语

用高效液相色谱检测多种食品中的TBHQ, TBHQ在样品中的最低检出限为0.11 μg/ml, 回收率大于85%, 相对标准偏差小于2%。该方法操作简单, 准确度和精密度高, 适用于多种食品中TBHQ的检测要求。

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: 746-768.
- [2] 天津进出口商品检验局. 各国食品添加剂[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1989: 531.
- [3] 进出口油脂中抗氧化剂的测定——液相色谱法[Z]. SN T 1050 2002.
- [4] 进出口油脂中抗氧化剂的测定[S]. 中国轻工行业标准, QB 2395-1998.