

## 检测分析

## UPLC 测定食用油中 10 种抗氧化剂

孟繁磊, 蔡玉红, 张国辉, 王巍巍, 杨建, 宋志峰

(吉林省农业科学院 农业质量标准与检测技术研究所, 长春 130033)

**摘要:**建立超高效液相色谱法同时测定食用油中没食子酸丙酯(PG)、2,4,5-三羟基苯丁酮(THBP)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、没食子酸异戊酯(IAG)、去甲二氢愈创木酸(NDGA)、叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚(Lonox-100)、没食子酸辛酯(OG)、2,6-二叔丁基对甲基苯酚(BHT)、没食子酸十二酯(DG) 10种抗氧化剂的方法。样品用乙腈饱和的正己烷溶解,正己烷饱和的乙腈萃取其中的抗氧化剂后,经C<sub>18</sub>柱分离,甲醇-1%乙酸溶液体系为流动相进行梯度洗脱,紫外检测波长280 nm处检测,外标法定量。结果表明:10种抗氧化剂在1~500 mg/L的范围内线性关系良好, $r$ 为0.998 7~0.999 6,测定低限不大于1.0 mg/kg;回收率为89.31%~100.20%, $RSD$ 在1.98%~5.78%之间。该方法准确、重复性好、灵敏度高,适合食用油中多种抗氧化剂的同时快速测定。

**关键词:**UPLC;食用油;抗氧化剂

中图分类号:TS227;O657

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)02-0134-04

## Determination of ten kinds of antioxidants in edible oil by UPLC

MENG Fanlei, CAI Yuhong, ZHANG Guohui, WANG Weiwei,

YANG Jian, SONG Zhifeng

(Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

**Abstract:** The method for simultaneous determination of ten kinds of antioxidants such as propyl gallate (PG), 2,4,5-trihydroxybenzoprostenone (THBP), *tert*-butylhydroquinone (TBHQ), isoamyl gallate (IAG), nordihydroguaiaretic acid (NDGA), *tert*-butyl *p*-hydroxyanisole (BHA), 2,6-di-*tert*-butyl-4-hydroxymethyl phenol (Lonox-100), octyl gallate (OG), 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-methylphenol (BHT), and dicarboxylic acid dodecyl ester (DG) was established by UPLC. The antioxidants were extracted by acetonitrile with *n*-hexane saturation from the samples dissolved by *n*-hexane with acetonitrile saturation, and they were separated by C<sub>18</sub> column with 1% acetic acid solution and methanol as mobile phase for gradient elution. The ultraviolet detection wavelength was 280 nm and quantitative analysis was achieved by the external standard method. The results showed that the ten kinds of antioxidants had good linear relationship ( $r=0.998\ 7-0.999\ 6$ ) and the low limit was less than 1.0 mg/kg. The recoveries and  $RSD$  were in the ranges of 89.31%–100.20% and 1.98%–5.78% respectively. The method was an accurate, reproducible and high sensitivity tool for simultaneous determination of various antioxidants in edible oil.

**Key words:** UPLC; edible oil; antioxidant

收稿日期:2017-07-06;修回日期:2017-12-07

基金项目:吉林省农业科技创新项目农产品质量安全创新团队(CXGC2017TD011)

作者简介:孟繁磊(1984),女,助理研究员,硕士,研究方向为农产品、食品质量安全研究(E-mail)mengfanlei622@163.com。

通信作者:宋志峰,副研究员,硕士(E-mail)mhsr@sina.com。

食用油贮存过程中很容易发生酸败现象,从而导致油脂变质。食用酸败的油脂会使人体产生一些不良的生理反应或者食物中毒。油脂的氧化是造成油脂变质的主因,要避免油脂氧化,必须从清除参与反应的氧或清除引发氧化反应的自由基着手。在油

脂中添加抗氧化剂来阻止氧化反应的发生是目前常用的方法<sup>[1-2]</sup>。抗氧化剂在一定的范围内可以使用,但如果使用过量会对人体造成伤害,所以很多国家对抗氧化剂的添加量有严格的限制,我国食品添加剂标准 GB 2760—2014 中明确规定了叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基对甲基苯酚(BHT)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)等在食品中的残留不超过 0.2 g/kg,日本禁止任何食品中添加 TBHQ,因此需要建立同时测定多种抗氧化剂的分析方法,来适应食用油检验的需要。

目前抗氧化剂的检测方法主要有高效液相色谱法<sup>[3-6]</sup>、气相色谱法<sup>[7-8]</sup>、液相色谱-质谱法<sup>[9-12]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[13-15]</sup>。其中液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法使用的仪器价格较高,方法不容易普及。本文建立了超高效液相色谱法同时测定食用油中没食子酸丙酯(PG)、2,4,5-三羟基苯丁酮(THBP)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、没食子酸异戊酯(IAG)、去甲二氢愈创木酸(NDGA)、叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基-4-羟基苯酚(Lonox-100)、没食子酸辛酯(OG)、2,6-二叔丁基对甲基苯酚(BHT)、没食子酸十二酯(DG) 10种抗氧化剂的方法。相对于高效液相色谱法,超高效液相色谱法分析时间更短,灵敏度更高,适用于食用油中多种抗氧化剂的同时测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大豆油、花生油、玉米油、葵花籽油、橄榄油、菜籽油购买自超市。

乙腈、甲醇、正己烷:色谱级,赛默飞世尔科技公司;乙酸:分析纯,广州分析试剂厂;PG(纯度 99.2%)、THBP(纯度 99.3%)、TBHQ(纯度 99.0%)、IAG(纯度 99.4%)、NDGA(纯度 99.6%)、BHA(纯度 98.7%)、Lonox-100(纯度 99.4%)、OG(纯度 99.0%)、BHT(纯度 99.1%)、DG(纯度 99.2%):北京坛墨质检科技有限公司。

H-Class 超高效液相色谱仪:Waters 公司;RVO6-ML 旋转蒸发器:德国 IKA 公司;GENIUS 3 涡旋混匀器:德国 IKA 公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

标准储备液:分别称取 10 种抗氧化剂 50.0 mg,用甲醇溶解定容至 50 mL,摇匀,4℃避光保存。混合标准工作液:分别准确量取标准储备液,用甲醇稀释成 1、10、20、50、100、500 mg/L 6 个质量浓度水平的 10 种抗氧化剂的混合标准工作液,现用现配。

#### 1.2.2 样品处理

称取食用油样品 1.00 g 于具塞离心管中,加入乙腈饱和的正己烷 5 mL,涡旋混匀 2 min,再加入 10 mL 正己烷饱和的乙腈,涡旋混匀 2 min,静置分层,将乙腈层转入浓缩瓶,重复萃取 2 次,合并乙腈层,在 40℃下旋转蒸发浓缩至近干,加入 2 mL 甲醇溶解,过 0.22 μm 滤膜,供 UPLC 分析。

#### 1.2.3 超高效液相色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm);流动相:A 相为甲醇,B 相为 1% 乙酸溶液;梯度洗脱程序:0~2 min,30% A;2~9 min,30%~80% A;9~13 min,80% A;柱温:40℃;检测波长:280 nm;进样量:5 μL。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取溶剂的选择

考察研究的 10 种抗氧化剂多为极性物质,易溶于极性较强的油脂和有机溶剂,本试验在 1 号大豆油样品中以 10 mg/kg 的添加水平,先用乙腈饱和的正己烷溶解其中抗氧化剂,然后比较了以正己烷饱和的乙腈、甲醇、二氯甲烷为提取溶剂的提取效果,结果见表 1。

表 1 不同提取溶剂提取抗氧化剂的回收率 %

抗氧化剂	正己烷饱和的乙腈	甲醇	二氯甲烷
PG	99.90	95.12	89.12
THBP	98.61	96.16	88.16
TBHQ	98.81	92.36	82.36
IAG	99.80	93.46	83.46
NDGA	89.31	85.19	80.19
BHA	97.00	93.11	88.11
Lonox-100	93.71	90.56	84.56
OG	99.40	92.41	80.41
BHT	96.54	92.42	88.42
DG	97.37	94.29	72.29

由表 1 可知,使用正己烷饱和的乙腈进行提取的回收率为 89.31%~99.90%,使用甲醇进行提取的回收率为 85.19%~96.16%,使用二氯甲烷进行提取的回收率为 72.29%~89.12%,所以本试验选择回收率较高的正己烷饱和的乙腈作为提取溶剂。

### 2.2 流动相的选择

本试验考察了甲醇-水和甲醇-乙酸溶液作为流动相对 10 种抗氧化剂分离效果的影响。结果表明,流动相为甲醇-乙酸溶液时 10 种抗氧化剂的分离效果较好。又考察了流动相中乙酸含量不同时抗氧化剂的分离情况。结果表明,随着流动相中乙酸含量的增加,各个抗氧化剂的保留时间缩短,当乙酸含量为



## 2.5 样品测定

应用所建立的方法对12个不同品种的食用油样品中的抗氧化剂进行了测定,结果见表4。由表4可知,除了2个橄榄油外其余10个样品中均检出

了不同含量的PG、THBP、TBHQ、OG、BHT、BHA、Lonox-100,而且多数是一种油脂中检出多种抗氧化剂,其中PG、BHT、BHA检出率较高。

表4 实际样品的抗氧化剂含量测定结果( $n=3$ )

编号	PG	THBP	TBHQ	IAG	NDGA	BHA	Lonox-100	OG	BHT	DG
1		4.23 ± 0.89	-	-	-	-	-	-	-	-
2	6.09 ± 0.29	-	-	-	-	10.34 ± 0.25	-	-	6.90 ± 0.49	-
3	5.41 ± 0.41	-	-	-	-	-	-	-	14.50 ± 0.49	-
4	-	-	-	-	-	9.34 ± 0.49	-	4.20 ± 0.43	-	-
5	-	-	5.68 ± 0.25	-	-	-	-	-	10.10 ± 0.65	-
6	8.99 ± 0.49	-	-	-	-	-	-	-	8.56 ± 0.42	-
7	-	-	-	-	-	10.34 ± 0.25	-	-	-	-
8	-	8.46 ± 0.25	-	-	-	-	-	8.25 ± 0.52	-	-
9	-	-	-	-	-	-	5.21 ± 0.49	-	8.25 ± 0.52	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	5.56 ± 0.38	-	5.66 ± 0.41	-	-	-	-	-	7.89 ± 0.79	-

注:1~3为大豆油;4~5为花生油;6~7为玉米油;8~9为葵花籽油;10~11为橄榄油;12为菜籽油。

## 3 结论

本方法建立了超高效液相色谱同时测定食用油中PG、TBHQ、THBP、IAG、NDGA、BHA、Lonox-100、OG、BHT、DG 10种抗氧化剂的方法,样品先用乙腈饱和的正己烷溶解,然后用正己烷饱和的乙腈萃取其中的抗氧化剂,经C<sub>18</sub>柱分离,甲醇-1%乙酸溶液体系为流动相进行梯度洗脱,紫外检测波长280 nm处检测,外标法定量。用该方法测定10种抗氧化剂具有分离效果好、简便快速、结果可靠等特点,能够满足食用油中抗氧化剂的日常监控。使用该方法对市售的12个食用油样品测定发现,一种油脂同时添加多种抗氧化剂的现象较为明显,其中PG、BHT、BHA检出率较高。

## 参考文献:

[1] 王亚萍,方学智,聂明,等. 几种抗氧化剂对山茶油的氧化抑制作用研究[J]. 中国油脂,2010,35(1):47-50.  
 [2] 赵巧,过世东. 不同抗氧化剂在饲用牛油中的效果比较[J]. 中国油脂,2010,35(8):21-24.  
 [3] 刘年丰,涂一名,夏虹,等. 高效液相色谱法测定油脂中抗氧化剂BHA、TBHQ[J]. 分析科学学报,2003,19(6):549-551.  
 [4] 李兴根,乔勇升,韩芷玲,等. 高效液相色谱测定食品中的7种抗氧化剂[J]. 分析测试学报,2012,31(10):1319-1324.  
 [5] 蔡发,段小娟,牟志春,等. 高效液相色谱法同时测定食品中的12种抗氧化剂[J]. 食品科学,2010,31(8):207-211.

[6] SAAD B, SING Y Y, NAWI M A, et al. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC[J]. Food Chem, 2007, 105(1):389-394.  
 [7] 刘旭,任正东,潘静,等. 气相色谱法快速测定食用油中3种抗氧化剂[J]. 中国油脂,2011,36(9):85-87.  
 [8] 曾亚丽. 气相色谱内标法测定动物油脂中抗氧化剂[J]. 现代食品科技,2010,26(8):904-906.  
 [9] 张勋,刘韬,吴连鹏,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定多种食品中7种酚类抗氧化剂和对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. 食品与发酵工业,2016,42(11):206-211.  
 [10] 张璐,孔祥虹,李建华,等. 固相萃取-超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定食品中13种抗氧化剂[J]. 分析实验室,2014(1):43-47.  
 [11] 李秀勇,牟峻,刘惠涛,等. 超高效液相色谱-质谱法测定油脂中的10种抗氧化剂[J]. 分析化学,2008,36(3):369-372.  
 [12] 凌云,储晓刚,张峰,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定调味料中的17种防腐剂和抗氧化剂[J]. 色谱,2011,29(8):723-730.  
 [13] 邢寒竹,王霞,陈相峰,等. 分散液液微萃取-气相色谱-串联质谱快速分析食用油中的酚类抗氧化剂[J]. 分析化学,2015,43(3):409-413.  
 [14] 曹淑瑞,徐芬,张雷,等. 凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法同时测定食品中3种抗氧化剂[J]. 食品科学,2013,34(12):160-164.  
 [15] 陈琦,黄峻榕,凌云,等. 全二维气相色谱/飞行时间质谱快速定性筛查食品中32种防腐剂和抗氧化剂[J]. 分析化学,2011,39(5):723-727.