

# 食用油中5种合成抗氧化剂同时检测方法研究

赵冬吉

(海宁市食品农产品检验检测中心,浙江海宁314400)

**摘要:**建立了基于高效液相色谱的一种简单、快速、准确定量分析25份食用油中没食子酸丙酯(PG)、没食子酸十二酯(DG)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、丁基化羟基茴香醚(BHA)和二丁基羟基甲苯(BHT)5种合成抗氧化剂的方法。结果显示,5种合成抗氧化剂(PG、DG、TBHQ、BHA和BHT)的质量浓度在10~70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与色谱峰面积呈良好线性关系,相关系数均大于0.999,检出限为0.27~0.34  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,加标回收率为84.56%~101.12%,相对标准差在1.27%~4.82%之间。该方法具有良好的精确度和准确度,且在13 min内可完成5种合成抗氧化剂的分离,能够适用于食用油中合成抗氧化剂的检测分析。

**关键词:**食用油;合成抗氧化剂;高效液相色谱;同时检测

中图分类号:TS225;TQ646

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2021)02-0139-04

## Simultaneous detection of five synthetic antioxidants in edible oil

ZHAO Dongji

(Food and Agricultural Products Inspection and Testing Center of Haining, Haining 314400, Zhejiang, China)

**Abstract:** A simple, fast and accurate quantitative simultaneous detection of five synthetic antioxidants, including propylgallate (PG), dodecyl gallate (DG), *tert*-butylhydroquinone (TBHQ), butylhydroxyanisole (BHA), and butylated hydroxytoluene (BHT) in 25 edible oils, was established based on high performance liquid chromatography. The results showed that the mass concentration of five synthetic antioxidants was in good linear with the chromatographic peak area in range of 10–70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and the correlation coefficient was greater than 0.999. The detection limit and recovery rate were 0.27–0.34  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 84.56%–101.12%, respectively. The relative standard deviation was 1.27%–4.82%. The method had a good accuracy and precision and could separate the five synthetic antioxidants in 13 min, and it could be suitable for the detection and analysis of synthetic antioxidants in edible oils.

**Key words:** edible oil; synthetic antioxidant; high performance liquid chromatography; simultaneous detection

植物油脂因含有多不饱和脂肪酸在存储过程中易氧化酸败,产生不良风味以及潜在的致癌物质,不仅降低植物油脂的品质,甚至危害人体健康。为抑制和延缓油脂的氧化,油脂生产过程中通常会添加抗氧化剂以达到延长油脂货架期的目的<sup>[1]</sup>。抗氧化剂有天然抗氧化剂和合成抗氧化剂之分,合成抗氧化剂因其高性能、低成本等优点而被广泛地添加到食品中,如没食子酸丙酯(PG)、没食子酸十二酯(DG)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、丁基化羟基茴香

醚(BHA)和二丁基羟基甲苯(BHT)等。然而研究发现长期食用含有过量合成抗氧化剂的食品会对人体产生不利影响,因而几乎所有国家都对加工食品中合成抗氧化剂的添加有严格的限制,如:欧美等国家要求食品中单独使用或混合使用PG、TBHQ和BHT等合成抗氧化剂的终含量不超过0.01%或0.02%<sup>[2-3]</sup>;我国GB 2760—2014中规定合成抗氧化剂添加量不超过0.1 g/kg或0.2 g/kg。食品安全系美国计民生,且食品添加剂是目前消费者关注的焦点问题。因此,建立一种高效分析方法检测油脂中合成抗氧化剂的含量至关重要。

目前用于定量分析油脂中合成抗氧化剂的方法有比色法、电化学法、气相色谱和高效液相色谱法

收稿日期:2020-04-17;修回日期:2020-09-16

作者简介:赵冬吉(1985),男,工程师,主要从事食品检测分析方面的工作(E-mail) hnzhaodj@163.com。

等<sup>[4-5]</sup>。比色法灵敏度有限,电化学法分析合成抗氧化剂时存在伏安图重叠峰而限制了其检测范围<sup>[6-7]</sup>,而气相色谱和高效液相色谱法相对成熟,但气相色谱法前处理复杂,多种抗氧化剂同时存在时无疑增加了分析时间<sup>[8]</sup>,正相-高效液相色谱法已成为定量检测食用油中合成抗氧化剂最常用的分析方法<sup>[9]</sup>。本研究以25份油脂样品为研究对象,通过超声辅助提取合成抗氧化剂,旨在建立一种简单、快速、高效和重现性以及重复性高的同时测定油脂中PG、DG、TBHQ、BHA和BHT5种合成抗氧化剂的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

植物油(编号1~5)、调和油(编号6~9)、氢化油(编号10~13)、人造黄油(编号14~17)、黄油(编号18~21)、煎炸油(编号22~25)等25份食用油样品,购于当地市场。乙酸、氯仿、2-丙醇、乙腈,色谱纯,南京化学试剂股份有限公司;碘化钾、硫代硫酸钠等均为国产分析纯;PG(≥98%)、DG(≥98%)、TBHQ(≥98%)、BHA(≥98%)、BHT(≥99%),上海国药集团化学试剂有限公司。

Agilent1290 Series液相色谱仪(配有UVD检测器和Zorbax Eclipse Plus C18色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)),美国安捷伦公司;BS224S型分析天平,赛多利斯科学有限公司;Milli Q纯水器,美国Millipore公司;VM-100旋转混合仪;743型Metrohm油脂氧化稳定性测试仪,瑞士万通。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

分别精确称取0.0500 g PG、DG、TBHQ、BHA和BHT标准品于烧杯中,用2-丙醇-乙腈(体积比1:1)溶解后定溶于50 mL容量瓶中,配制成PG、DG、TBHQ、BHA和BHT质量浓度分别为1 mg/mL的标准储备液。

准确吸取一定量上述5种合成抗氧化剂标准储备液于10 mL容量瓶中,用2-丙醇-乙腈(体积比1:1)稀释定容,配制质量浓度分别为0、10、20、30、40、50、60、70 μg/mL的系列混合标准工作溶液,冷藏保存备用。

#### 1.2.2 标准工作曲线制作

分别移取10 μL系列混合标准工作溶液,进液相色谱仪测定,以5种合成抗氧化剂的质量浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。

#### 1.2.3 色谱条件

Agilent1290 Series液相色谱仪。流动相A(5%

乙酸的水溶液)和流动相B(5%乙酸的乙腈溶液)经0.22 μm聚丙烯膜过滤后使用超声浴脱气30 min。梯度洗脱程序见表1,流速1 mL/min;柱温40℃;检测波长280 nm;进样体积10 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	50	50
5	70	30
8	90	10
13	90	10

#### 1.2.4 样品预处理

将固体油脂(置于40℃水浴中加热熔化)或液体油脂样品充分混合均匀后,精确称取5.000 g于200 mL锥形烧瓶中,加入30 mL 2-丙醇-乙腈溶液(体积比1:1),涡旋1 min混合均匀,在超声功率为300 W条件下处理20 min后,于4 000 r/min条件下离心15 min,取上层液,加入萃取剂(2-丙醇-乙腈溶液,体积比1:1)定容至10 mL,备用。

#### 1.2.5 样品测定

在Zorbax Eclipse Plus C18萃取柱中装入约2 g无水硫酸钠,用5 mL甲醇活化萃取柱,再以5 mL乙腈平衡萃取柱,弃去流出液。将样品提取液倾入柱中,弃去流出液,再以5 mL乙腈-甲醇混合溶液(体积比2:1)洗脱,收集所有洗脱液于试管中,40℃下旋转蒸发至干,加2 mL乙腈定容,过0.22 μm有机滤膜,在1.2.3色谱条件下进行测定。按下式计算样品中抗氧化剂含量。

$$m_{SA} = \frac{C_{std} \times A_{SA}}{m \times A_{std}} \times V \quad (1)$$

式中: $m_{SA}$ 为样品中抗氧化剂的含量,mg/kg; $A_{SA}$ 为样品色谱图中相应抗氧化剂的峰面积; $A_{std}$ 为标准品色谱图中相应抗氧化剂的峰面积; $C_{std}$ 为标准品相应抗氧化剂的质量浓度,μg/mL; $m$ 为样品质量,g; $V$ 为稀释体积,mL。

#### 1.2.6 数据分析

采用Excel 2013进行数据统计,利用SPSS 22.0中的方差分析(ANOVA)进行统计分析, $p < 0.05$ 为显著水平。平行实验3次,结果以“平均值 ± 标准偏差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 混合标准品液相色谱图

按照1.2.3色谱条件对质量浓度为50 μg/mL的PG、DG、BHA、BHT和TBHQ的混合标准工作溶液进行分析,结果如图1所示。由图1可知,在本实验条件下13 min内可高效分离出5种抗氧化剂,其

出峰顺序为 PG、TBHQ、BHA、DG 和 BHT。本研究完全洗脱时间比目前文献报道的同时测定多种类似抗氧化剂的时间短,如汪强等<sup>[10]</sup>分离 TBHQ、BHA 和 BHT 以及 Kim 等<sup>[11]</sup>分离 PG、TBHP、TBHQ、OG、BHA、DG 和 BHT 混合抗氧化剂的完全分离时间约为 30 min。

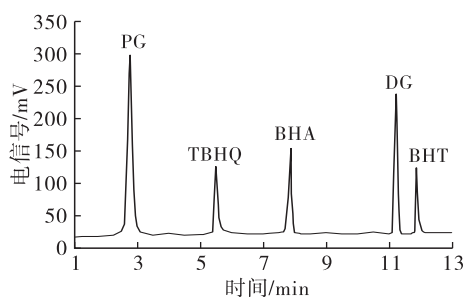


图1 5种合成抗氧化剂混合标准品的色谱图

## 2.2 线性方程及检出限

按照 1.2.3 色谱条件对 5 种混合标准工作溶液进行测定,得到标准工作曲线和线性方程,对样品平行测定 6 次,计算标准偏差( $s$ ),并以 3 倍的标准偏差( $s$ )与标准曲线斜率( $k$ )的比值作为方法的检出

限,结果见表 2。

表2 5种合成抗氧化剂的线性方程和检出限

标准品	线性范围/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	线性方程	相关 系数	检出限/ ( $\mu\text{g/kg}$ )
PG	10 ~ 70	$y = 47.9587x + 61.3653$	0.9991	0.27
TBHQ	10 ~ 70	$y = 17.0658x + 11.3633$	0.9997	0.31
BHA	10 ~ 70	$y = 20.0408x + 0.6133$	0.9997	0.30
DG	10 ~ 70	$y = 40.3396x - 21.9721$	0.9998	0.29
BHT	10 ~ 70	$y = 9.9813x + 8.9467$	0.9998	0.34

由表 2 可知,5 种抗氧化剂的质量浓度在 10 ~ 70  $\mu\text{g/mL}$  范围内与色谱峰面积的线性关系良好,相关系数均大于 0.999,5 种抗氧化剂的检出限为 0.27 ~ 0.34  $\mu\text{g/kg}$ 。

## 2.3 精密度和回收率

准确称取大豆油、花生油、菜籽油和橄榄油 4 种空白样品若干份,每份各 5 g,分别添加质量浓度为 50、100、200  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准工作液 1 mL 于样品中,每组实验至少测定 6 次,结果如表 3 所示。

表3 回收率实验结果

抗氧化剂	加标量/ ( $\text{mg/kg}$ )	大豆油		花生油		菜籽油		橄榄油	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
PG	10	89.62	2.34	88.76	1.56	88.97	3.67	89.23	4.82
	20	94.12	1.56	95.38	2.41	96.15	3.24	94.87	1.34
	40	99.45	2.83	100.38	2.87	98.94	3.89	99.45	2.49
TBHQ	10	95.73	2.34	94.54	2.44	95.12	2.67	96.24	3.67
	20	98.34	2.89	97.59	3.53	98.31	2.41	98.19	2.43
	40	100.87	2.24	99.57	2.81	100.92	2.74	101.12	3.89
BHA	10	94.18	2.87	93.89	3.16	93.57	3.64	94.52	2.67
	20	96.62	1.27	96.82	1.89	97.18	2.89	95.89	3.29
	40	99.12	3.56	98.55	2.69	99.78	3.45	98.16	2.68
DG	10	84.56	1.45	85.26	2.58	85.18	2.56	86.05	2.67
	20	91.34	1.67	90.37	3.56	91.16	4.25	90.55	3.19
	40	97.65	3.56	98.23	1.59	97.51	2.57	98.06	2.56
BHT	10	92.18	2.65	92.83	3.76	92.01	2.06	91.56	3.71
	20	94.23	4.13	94.89	1.67	94.05	3.18	93.95	2.42
	40	96.29	1.87	95.76	2.48	96.07	3.15	95.73	3.59

由表 3 可知,PG 的加标回收率为 88.76% ~ 100.38%、TBHQ 为 94.54% ~ 101.12%、BHA 为 93.57% ~ 99.78%、DG 为 84.56% ~ 98.23%、BHT 为 91.56% ~ 96.29%,测定结果的相对标准偏差(RSD)在 1.27% ~ 4.82% 之间,这些结果表明该方法具有良好的精确度和准确度。

## 2.4 实际样品中合成抗氧化剂含量

按本实验方法对 21 份商品油样和 4 份煎炸油样中合成抗氧化剂含量及种类进行了分析,结果如

表 4 所示。

由表 4 可看出,所有样品中检测的合成抗氧化剂含量结果均小于 200  $\text{mg/kg}$ ,符合 GB 2760—2014 中规定合成抗氧化剂不超过 0.2  $\text{g/kg}$  的规定。除 4 个黄油样品未检测到合成抗氧化剂外,其他大部分测试样品中都检测到了 TBHQ,此外在人造黄油 4 个样品中均发现 PG 与 TBHQ 混合使用的情况。由上述结果可知 TBHQ 是油脂中最常见的合成抗氧化剂,原因可能是与 BHA 和 BHT 相比,TBHQ 对油脂

的抗氧化作用较强,而与 PG 和 DG 相比, TBHQ 更经济实惠。黄油中未检测到合成抗氧化剂,这可能与黄油生产标准有关,如伊朗等国家规定黄油及其制品不允许添加合成抗氧化剂<sup>[12]</sup>。

表 4 25 个油样中合成抗氧化剂含量及种类

样品	合成抗氧化剂含量/(mg/kg)	种类
植物油 1	169.78 ± 0.29	TBHQ
植物油 2	137.12 ± 1.48	TBHQ
植物油 3	105.89 ± 0.97	TBHQ
植物油 4	98.67 ± 1.64	BHT
植物油 5	100.15 ± 1.23	TBHQ
调和油 6	86.78 ± 0.97	TBHQ
调和油 7	86.92 ± 1.83	TBHQ
调和油 8	77.65 ± 1.36	TBHQ
调和油 9	80.65 ± 2.54	TBHQ
氢化油 10	85.16 ± 1.41	TBHQ
氢化油 11	77.69 ± 1.94	TBHQ
氢化油 12	81.34 ± 3.17	TBHQ
氢化油 13	69.02 ± 1.67	TBHQ
人造黄油 14	174.63 ± 1.94	PG、TBHQ
人造黄油 15	165.38 ± 1.88	PG、TBHQ
人造黄油 16	170.45 ± 1.37	PG、TBHQ
人造黄油 17	175.33 ± 1.51	PG、TBHQ
黄油 18	0	-
黄油 19	0	-
黄油 20	0	-
黄油 21	0	-
煎炸油 22	86.31 ± 0.96	TBHQ
煎炸油 23	83.97 ± 1.27	TBHQ
煎炸油 24	76.12 ± 2.24	TBHQ
煎炸油 25	75.04 ± 0.69	TBHQ

### 3 结论

本研究基于高效液相色谱建立了一种简单、快速、准确定量分析食用油中 PG、DG、TBHQ、BHA 和 BHT 5 种合成抗氧化剂的方法。结果显示,5 种合成抗氧化剂的质量浓度在 10 ~ 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内与色谱峰面积呈良好的线性关系,相关系数均大于 0.999,检出限为 0.27 ~ 0.34  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,加标回收率为 84.56% ~ 101.12%,相对标准差在 1.27% ~ 4.82% 之间,表明该方法具有良好的精确度和准确度,且可在 13 min 内完成合成抗氧化剂的检测。采用该方法对市售植物油、调和油、氢化油、人造黄油、黄油、煎炸油等 25 份食用油样进行检测发现,除黄油样品外,大部分测试样品中都检测到了 TBHQ,在人造黄油样品中均发现 PG 与 TBHQ 混合使用的情况。本实验方法简单、快速,能有效检测食用油中添

加的合成抗氧化剂。

### 参考文献:

- [1] 王洁, 邹惠玲, 夏攀登, 等. 植物油脂氧化及其氧化稳定性研究进展[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(4): 207 - 210.
- [2] Commission Regulation (Eu) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives[J]. Official J Eur Union, 2011, L 295: 1 - 177.
- [3] Code of federal regulations (CFR) title 21: food and drugs [M]. Washington, DC: Office of the Federal Register, 2015.
- [4] 张国文, 胡兴, 丁花芳, 等. 国内食品添加剂分析方法研究进展[J]. 分析试验室, 2018, 37(12): 1478 - 1488.
- [5] 刘杨, 申孟, 杨宏苗, 等. 食品中抗氧化剂检测技术的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(3): 25 - 27.
- [6] HOYOS - ARBELÁEZ J, VÁZQUEZ M, CONTRERAS - CALDERÓN J. Electrochemical methods as a tool for determining the antioxidant capacity of food and beverages: a review[J]. Food Chem, 2017, 221: 1371 - 1381.
- [7] ROBLEDOS N, ZÓN M A, CEBALLOS C D, et al. Qualitative and quantitative electroanalysis of synthetic phenolic antioxidant mixtures in edible oils based on their acid - base properties[J]. Food Chem, 2011, 127(3): 1361 - 1369.
- [8] 王萍, 郭金英, 任国艳, 等. 气相色谱法同时检测含油脂食品中 BHA、BHT 和 TBHQ 的改进[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 79 - 81.
- [9] LI J, BI Y, SUN S, et al. Simultaneous analysis of *tert* - butylhydroquinone, *tert* - butylquinone, butylated hydroxytoluene, 2 - *tert* - butyl - 4 - hydroxyanisole, 3 - *tert* - butyl - 4 - hydroxyanisole,  $\alpha$  - tocopherol,  $\gamma$  - tocopherol, and  $\delta$  - tocopherol in edible oils by normal - phase high performance liquid chromatography[J]. Food Chem, 2017, 234: 205 - 211.
- [10] 汪强, 殷宪超, 阮艺静, 等. 高效液相色谱法测定食用油中抗氧化剂的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2019, 55(10): 1215 - 1218.
- [11] KIM J M, CHOI S H, SHIN G H, et al. Method validation and measurement uncertainty for the simultaneous determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils commonly consumed in Korea [J]. Food Chem, 2016, 213: 19 - 25.
- [12] RASHIDI L, SHABANI Z. Physicochemical analysis of margarine, butter and butter oil samples of Iran's markets [J]. J Pharm Health Sci, 2017, 5(2): 151 - 160.