

植物油中 9 种抗氧化剂的净化与检测

北京莱伯泰科仪器股份有限公司

摘要:

本文建立了 GPC-HPLC 分离检测法, 去除油脂并同时测定植物油样品中叔丁基茴香醚 (BHA)、二丁基羟基甲苯 (BHT) 叔丁基对苯二酚 (TBHQ)、没食子酸丙酯 (PG)、2,4,5-三羟基苯丁酮 (THBP)、去甲二氢愈创木酸 (NDGA)、2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚 (Lonox-100)、没食子酸辛酯 (OG)、没食子酸十二酯 (DG) 共 9 种抗氧化剂。GPC 可有效去除植物油中油脂等大分子物质, 准确收集抗氧化剂, 采用 HPLC-UV 检测器, 检测波长为 280nm, 准确检测植物油中抗氧化剂含量。凝胶净化方法简单, 有效去除干扰物质, 保护分析仪器; HPLC-UV 检测结果准确, 具有良好的重复性。

前言:

食品抗氧化剂是能阻止或延缓食品氧化变质、提高食品稳定性和延长贮存期的食品添加剂。氧化不仅会使食品中的油脂变质, 而且还会使食品退色、变色和破坏维生素等, 从而降低食品的感官质量和营养价值, 甚至产生有害物质, 引起食物中毒。本文中测定的 9 中抗氧化剂均为人工合成油溶性抗氧化剂, 常用于添加在动植物油等人类食品中, 防止油脂变坏, 在食品中的使用量较少。本文采用 LabTech AutoClean 全自动凝胶渗析色谱净化系统对植物油进行净化, 根据分子排阻色谱原理可有效去除油脂等大分子干扰物质, 准确收集抗氧化剂, 采用 HPLC 法对其中含量进行检测, 方法简单、快捷, 不仅去除干扰峰对目标物的影响, 同时可大大保护分析仪器系统, 延长色谱柱使用寿命。

1、 实验部分:

1.1 仪器与试剂

AutoClean 全自动凝胶渗析色谱净化系统 (莱伯泰科有限公司, 美国, 波士顿)

LC1200 高效液相色谱 (安捷伦科技有限公司)

EV331 旋转蒸发器 (北京莱伯泰科仪器有限公司)

9 种抗氧化剂的标准品 ($\geq 99\%$)

甲醇 (色谱纯)

乙腈 (色谱纯)

乙酸乙酯 (色谱纯)

环己烷 (色谱纯)

甲酸 (色谱纯)

超纯水

1.2 标样和样品处理

1.2.1 混合标准储备液配制

按照下表分别准确称取 9 种抗氧化剂标准品 (精确至 0.1mg), 用乙腈定容至 1000mL, 配置成混合标准储备液, 于 4℃ 冰箱中避光保存。具体配置用量及浓度如下表所示:

北京莱伯泰科仪器有限公司

地址: 北京空港工业区

电话: 010-80486450(总部)/64973119(市场)

传真: 010-80486354(总部)/64974268(市场)

| | | | | | | | | | |
|-----------------|-----|-----|------|-----|------|------|-----------|-----|-----|
| | BHA | BHT | TBHQ | PG | THBP | NDGA | Lonox-100 | OG | DG |
| 用量(mg) | 400 | 400 | 200 | 200 | 1000 | 400 | 1000 | 200 | 400 |
| 浓度(μ g/ml) | 400 | 400 | 200 | 200 | 1000 | 400 | 1000 | 200 | 400 |

HPLC 标准使用液：取混合标准储备液 1mL，用乙腈定容至 10mL 容量瓶，待 HPLC 检测使用，现用现配。

1.2.2 样品的制备

植物油使用前需保证无残渣，油品干净透亮。

样品储备液：准确称取植物油 10g(精确至 0.1mg)，用乙酸乙酯：环己烷(1:1, 体积比)定容至 100.0mL，混合均匀。

空白样品：取 5mL 样品储备液，用乙酸乙酯：环己烷 (1:1) 定容至 10mL 容量瓶。

加标样品：取 5mL 样品储备液，加入 1mL 混合标准储备液，用乙酸乙酯：环己烷 (1:1) 定容至 10mL 容量瓶。

1.2.3 样品净化

将空白样品、加标样品分别经凝胶渗透色谱 Autoclean 净化，收集流出液，旋转蒸发浓缩至近干，用乙腈定容至 2mL，进高效液相色谱分析。

GPC 的参数设置：

溶剂：乙酸乙酯：环己烷=1:1 (体积比)

流量：5mL/min

检测波长：280nm

收集范围：7min-17.5min

上样量：2mL

1.3 检测仪器的检测条件

1.3.1 色谱条件

高效液相色谱：

色谱柱：Agilent C₁₈ (250 mm X4.6 mm, 5 μ m)

流速：1mL/min

流动相：A: 0.5%甲酸水溶液, B: 甲醇

梯度程序

| 时间 (min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) |
|----------|----------|----------|
| 0 | 50 | 50 |
| 5 | 50 | 50 |
| 15 | 20 | 80 |
| 20 | 20 | 80 |
| 25 | 10 | 90 |
| 27 | 50 | 50 |
| 30 | 50 | 50 |

检测波长：280nm

柱温：35℃

进样量：5 μ L

北京莱伯泰科仪器有限公司

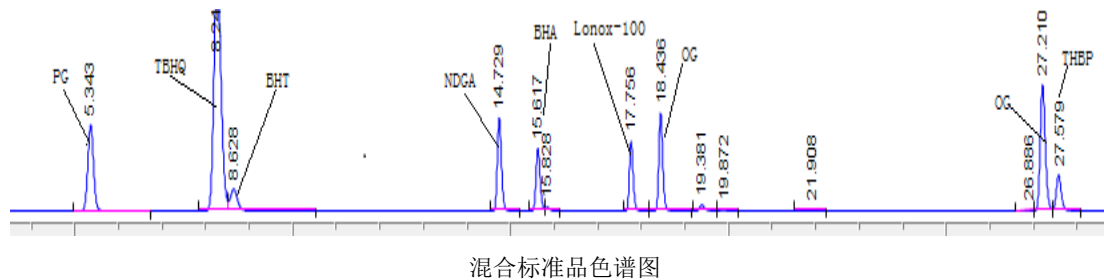
地址：北京空港工业区

电话：010-80486450(总部)/64973119(市场)

传真：010-80486354(总部)/64974268(市场)

2、 结果与讨论

2.1 混合标准品液相色谱图



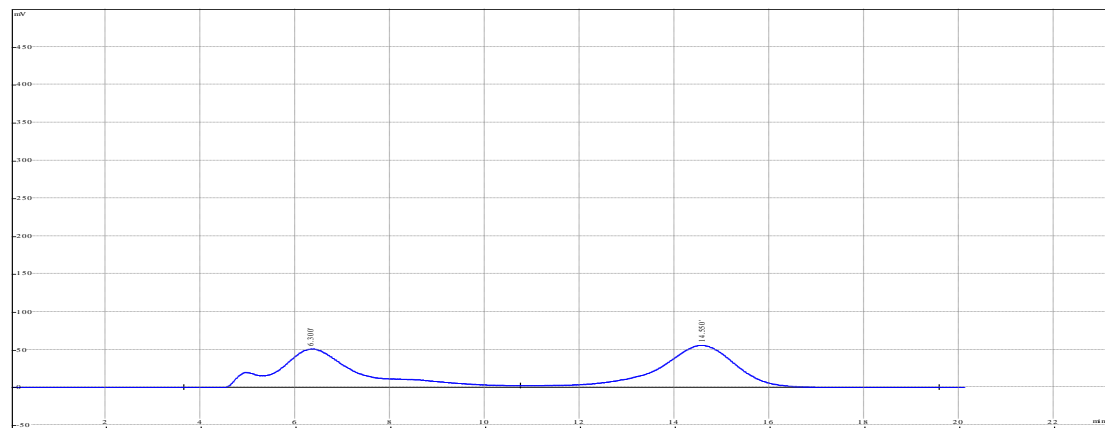
混合标准品色谱图

出峰顺序依次为：PG、TBHQ、BHT、NDGA、BHA、Lonox-100、OG、DG、THBP、

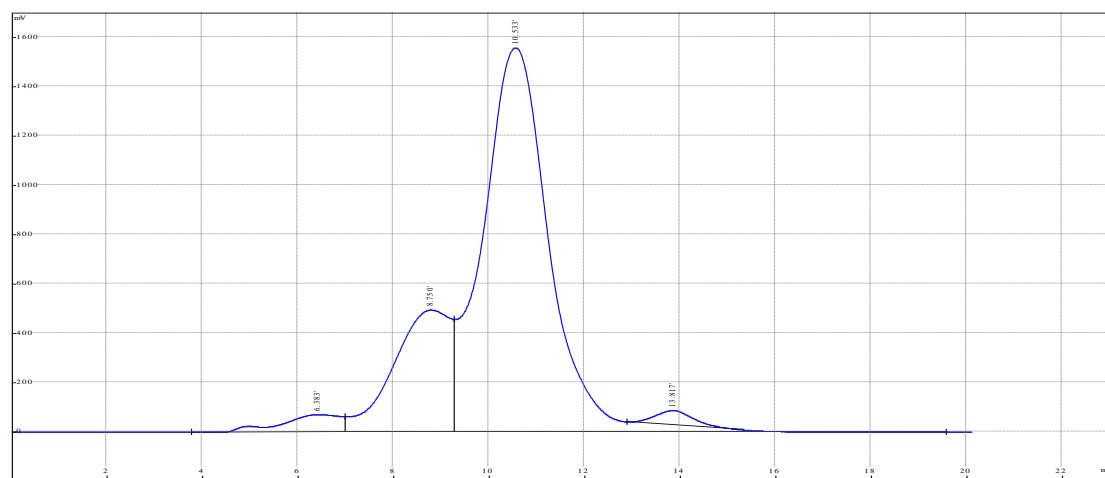
2.2 实际样品原液检测结果和加标样品回收率计算

2.2.1 空白样品、加标样品经 GPC 净化色谱图。

凝胶净化系统是根据分子体积的大小将干扰分析的大分子及小分子物质去除，同时收集待分析组分，从而达到样品净化的目的。从下图凝胶净化色谱图中分析得出：抗氧化剂的收集时间为 7min-17.5min，在 7min 前大分子物质基本流出。故 AutoClean 全自动凝胶渗析色谱净化系统可有效去除玉米油中大分子物质对抗氧化剂的干扰。



空白样品的 GPC 谱图



加标样品的 GPC 谱图

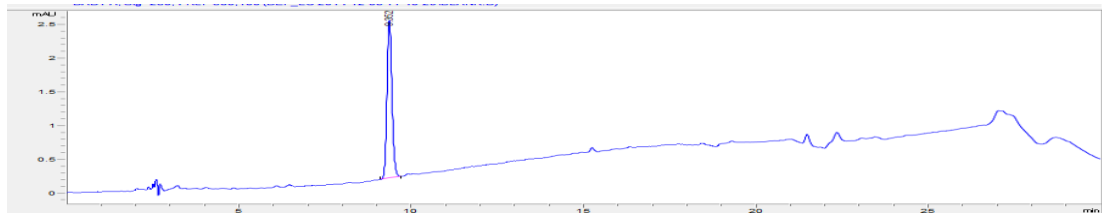
北京莱伯泰科仪器有限公司

地 址：北京空港工业区

电 话：010-80486450(总部)/64973119(市场)

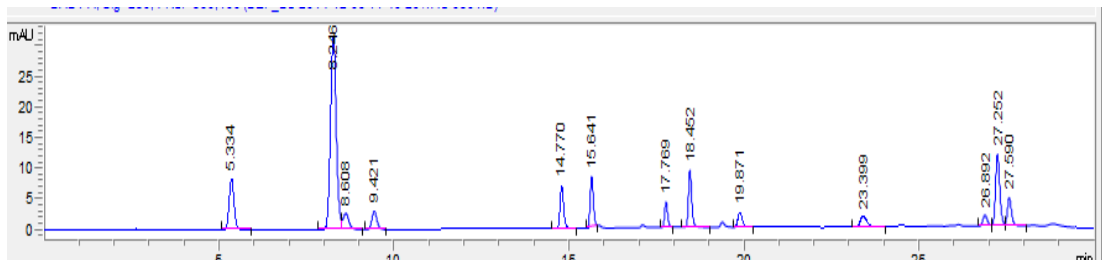
传 真：010-80486354(总部)/64974268(市场)

2.2.2 空白样品经 GPC 净化后 HPLC 检测结果

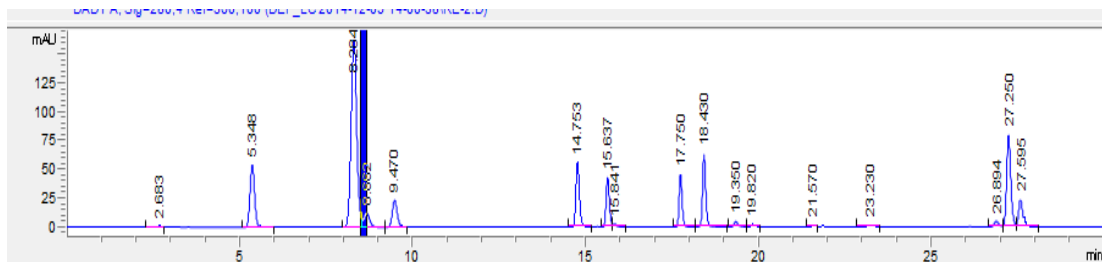


由色谱图可知，空白样品中并无目标检测物即 9 种抗氧化剂的存在。

2.2.3 加标样品经 GPC 净化后 HPLC 检测回收率计算



标准使用液检测结果



加标样品检测结果

根据标准使用液、加标样品及空白样品所得谱图结果，计算可得到9中抗氧化剂的加标回收率，如下表所示：

| 组分 | 加标回收率 (%) | | | |
|-----------|-----------|-------|-------|-------|
| | 一 | 二 | 三 | 平均 |
| PG | 88.56 | 90.25 | 88.96 | 89.26 |
| TBHQ | 91.88 | 92.79 | 92.08 | 92.25 |
| BHT | 74.82 | 79.11 | 75.29 | 76.41 |
| NDGA | 87.82 | 86.97 | 87.83 | 87.54 |
| BHA | 93.52 | 95.27 | 92.88 | 93.89 |
| Lonox-100 | 88.04 | 89.22 | 88.71 | 88.66 |
| OG | 91.80 | 92.77 | 92.09 | 92.22 |
| DG | 90.12 | 91.22 | 90.19 | 90.51 |
| THBP | 90.35 | 90.04 | 90.73 | 90.37 |

结论:

本文建立了 GPC 净化-HPLC 检测法测定玉米油中 9 种抗氧化剂的分析方法。AutoClean 全自动凝胶渗析色谱净化系统可有效去除玉米油中大分子物质,保护分析仪器系统,同时得到稳定分析结果,加标样品回收率除 BHT 为 76.41%外,其余组分均在 90%左右。GPC-HPLC 法检测玉米油中抗氧化剂的方法简单快速,回收率较高且稳定,检测结果准确,可用于快速检测,同时此法也为检测油脂食品中 9 种抗氧化剂提供方法参考。

撰稿人: 康锐

北京莱伯泰科仪器有限公司

地 址: 北京空港工业区

电 话: 010-80486450(总部)/64973119(市场)

传 真: 010-80486354(总部)/64974268(市场)