

# 基质固相分散—HPLC 法快速测定 植物油中抗氧化剂

刘宏程<sup>1</sup>, 黎其万<sup>1</sup>, 佘 注<sup>1</sup>, 刘家富<sup>1</sup>, 杨廷书<sup>2</sup>

(1. 农业部农产品质量监督检验测试中心(昆明), 云南省农业科学院, 云南 昆明 650223;

2. 云南瑞升科技有限公司, 云南 昆明 650106)

**摘 要:** 采用基质固相分散萃取植物油中抗氧化剂叔丁基羟基茴香醚(BHA), 叔丁基对羟基甲苯(BHT), 特丁基对苯二酚(TBHQ)和没食子酸丙酯(PG), 经高效液相色谱进行分离。回收率在 85.8%~94.3%, 相对标准偏差为 2.1%~4.0%, 最低检测限为 2ng。

**关键词:** 植物油; BHA; BHT; TBHQ; PG; 基质固相分散; 高效液相色谱

Matrix Solid Phase Extraction-HPLC to Determine in Oil Antioxidant

LIU Hong-cheng<sup>1</sup>, LI Qi-wan<sup>1</sup>, ER Zhu<sup>1</sup>, LIU Jia-fu<sup>1</sup>, YANG Ting-shu<sup>2</sup>

(1. Supervision and Testing Center for Farm Product Quality, Ministry of Agriculture(Kunming), Yunnan Academy of Agriculture Science, Kunming 650223, China; 2. Yunnan Reascend Science and Technology Co. Ltd., Kunming 650106, China)

**Abstract:** An analytic method for simultaneous determination of BHA, BHT, TBHQ and PG in vegetable oil was developed by matrix solid phase dispersion (MSPD). The sample was separated with high-performance liquid chromatography. The recoveries range of determination is 85.8%~94.3%. The relative standard deviation (RSD) is 2.1%~4.0%. The detection limits are 2ng.

**Key words:** oil; BHA; BHT; TBHQ; PG; matrix solid-phase dispersion; HPLC

中图分类号: 0657.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0253-03

抗氧化剂是一类食品添加剂, 可防止和延缓食品的氧化而在油脂中大量添加。现国家标准规定了植物油中单种或者多种抗氧化剂的共同使用的限量标准。测定抗氧化剂的方法有薄层色谱, 比色法, 气相色谱法, 这些方法前处理烦琐, 多种抗氧化剂的分离测定困难。有文献<sup>[1-7]</sup>报道用 HPLC 检测多种抗氧化剂, 多采用液液分配直接进样, 需要接触大量有机溶剂; 柱层析或固相萃取(SPE)净化, 需要先对样品进行萃取和浓缩, 再通过柱层析或 SPE 净化, 这些样品前处理过程时间较长。随着技术的进步, 人们追求简单, 快速的样品前处理技术, 其中基质固相分散(matrix solid phase dispersion, MSPD)因其简便快捷(把萃取和净化合为一步)、样品和溶剂用量少等优点已经广泛用与动物组织和水果、蔬菜中农药残留的分析<sup>[8-10]</sup>。我们通过基质固相分散技术, 可以减少有机溶剂的用量, 减少环境污染, 缩短分析时间, 提高分析效率, 回收率在 85.8%~94.3%, 相对标准偏差为 2.1%~4.0%, 最低检测限为 2ng。完全能

满足食品检验的需要。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器及试剂

Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪, 配置四元泵溶剂淋洗系统、自动进样系统、2487 双通道紫外检测器; 旋转蒸发仪(Heidolph); 固相萃取装置(SUPELCO)及 C<sub>18</sub> 填料(Phenomenex); 超声清洗器。

叔丁基羟基茴香醚(BHA)、叔丁基对羟基甲苯(BHT)、特丁基对苯二酚(TBHQ)和没食子酸丙酯(PG)国家标准物质研究中心; 甲醇(Fisher, HPLC 级)、0.01mol/L 磷酸溶液, 经 0.45 μm 滤膜过滤。

### 1.2 色谱条件

色谱柱 Phenomenex Synergi RP-80 (4.6 × 250mm, 4 μm), 甲醇+0.01mol/L 磷酸梯度洗脱, 柱温 30℃, 流速 1.0ml/min, 检测波长 280nm, 进样 10 μl。

### 1.3 标准曲线

收稿日期: 2005-11-14

作者简介: 刘宏程(1975-), 男, 硕士, 主要从事食品安全研究。

配制浓度为0.2、1.0、2.0、10.0、20.0  $\mu\text{g/ml}$  的 BHA、BHT、TBHQ 和 PG 溶液, 取 10  $\mu\text{l}$  进样, 测定峰面积, 以峰面积对浓度作曲线。

#### 1.4 样品溶液制备及测定

准确称取 1.0g 样品于 100ml 烧杯中, 加入 1.0g  $\text{C}_{18}$  填料, 用玻璃棒搅匀, 在通风柜中放置 30min。取 10ml 注射器, 在其底部垫上滤纸, 将晾干后的  $\text{C}_{18}$  填料装入, 上层再垫一片滤纸, 并把填料轻轻压紧。用 5ml 90% 甲醇/水淋洗, 收集淋洗液, 准确定容 5ml, 经 0.2  $\mu\text{m}$  有机相滤膜过滤, 取 10  $\mu\text{l}$  进样, 测定峰面积, 按外标法定量。

## 2 结果与分析

### 2.1 淋洗剂的选择

由于反相键合硅胶( $\text{C}_{18}$ )对油、脂肪等极性小的物质有较强吸附, 因此淋洗剂极性越大,  $\text{C}_{18}$  吸附效果越好。为了尽可能减少油脂等杂质的干扰并得到最大回收率, 我们加入 0.5ml 含 40  $\mu\text{g/ml}$  的 BHA、BHT、TBHQ 和 PG 的标准混合溶液到样品中, 参照 1.4 样品处理方法, 分别以 50%、70%、90% 甲醇/水和 100% 甲醇作为淋洗剂, 测定洗脱液中 BHA、BHT、TBHQ 和 PG 的含量, 计算回收率, 结果如表 1, 从表 1 可知, 如果只需要检测 BHA、TBHQ 和 PG 使用 90% 甲醇/水作为淋洗剂可以得到很好的回收率, 如果只需要检测 TBHQ 和 PG 使用 70% 甲醇/水作为淋洗剂可以得到很好的回收率。

表 1 洗脱剂中甲醇含量对抗氧化剂回收率的影响

Table 1 Effect of concentration of methanol on recovery of antioxidant

洗脱剂	回收率(%)			
	BHA	BHT	TBHQ	PG
50% 甲醇	25	5	56	98
70% 甲醇	45	14	86	96
90% 甲醇	84	40	90	98
100% 甲醇	85	86	90	96

### 2.2 色谱分离条件的选择

由于 BHT 极性较小,  $\text{ODS}-\text{C}_{18}$  色谱柱对其吸附较强, 如按 0.01mol/L 磷酸+甲醇(30%+70%)的等度洗脱, BHT 在 28.635min 出峰, 如浓度太低( $<10\text{ng}$ )不出峰; 改为梯度洗脱 5 到 6min 由 0.01mol/L 磷酸+甲醇(30%+70%)变为 0.01mol/L 磷酸+甲醇(10%+90%), 6 到 14min 为 0.01mol/L 磷酸+甲醇(10%+90%), 14 到 15min 变为初始条件 0.01mol/L 磷酸+甲醇(30%+70%)可把 BHT 的出峰时间缩短到 18.952min, 还能把 BHT 的灵敏度提高两倍, 达到 5ng。

### 2.3 线性关系

BHA、BHT、TBHQ 和 PG 在 0~200mg/L 线性关系良好。在所选条件下, 回归方程分别为  $C=2.28e+003X+$

$1.55e+004(r=0.9992)$  (PG);  $C=9.37e+002X-1.09e+004(r=0.9997)$  (TBHQ);  $C=8.22e+002X-3.85e+004(r=0.9999)$  (BHA);  $C=4.23e+002X+2.55e+003(r=0.99979)$  (BHT)。最小检出限为 2ng, 标准谱图见图 1。

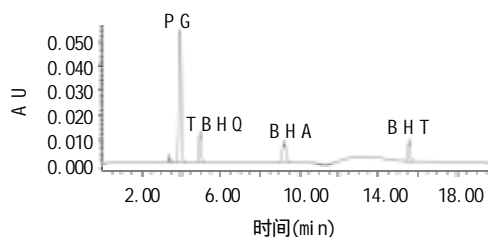


图 1 标准物质色谱图

Fig.1 Chromatogram of standard solution

### 2.4 准确度和精密度实验

取菜籽油和大豆油 5 份, 做重复实验。取菜籽油和大豆油各 5 份, 分别加入标准溶液 BHA、BHT、TBHQ 和 PG(40  $\mu\text{g/ml}$ ) 0.5ml, 进行回收率实验, 计算平均回收率, 见表 2。

表 2 植物油中抗氧化剂的回收率和 RSD(n=5)

Table 2 Recovery and RSD of antioxidant in plant oil sample(n=5)

样品名称	加标量( $\mu\text{g}$ )	BHA		BHT		TBHQ		PG	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
菜籽油	20	87.1	3.6	90.9	2.1	85.8	3.0	87.5	3.4
大豆油	20	90.9	4.0	93.7	3.8	91.5	3.6	94.3	3.6

### 2.5 样品测定

对某品牌进行绿色食品认证的菜籽油, 大豆油和花生油等 10 个样品, 分别按照上述方法进行处理和分析, 大部分检测出 TBHQ, 含量在 10~100mg/kg 之间, 未超过国家限量标准。图 2 为某品牌植物油检出 TBHQ 的色谱图, 含量为 20mg/kg。

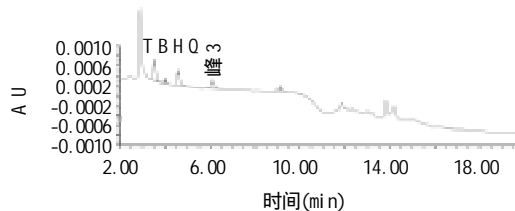


图 2 植物油样品色谱图

Fig.2 Chromatogram of plant oil sample

## 3 结论

用基质固相分散技术净化处理, 其优点有前处理简单, 对油脂的吸附效果好, 净化效率高, 试剂用量少, 有利于人体健康等。各类样品的回收率和精密度实验结果理想, 适用于植物油中 BHA、BHT、TBHQ 和 PG

# 反相液相色谱法测定杜仲叶中绿原酸

万春花<sup>1,2</sup>, 倪永年<sup>1</sup>, 龙洲雄<sup>2</sup>, 胡海山<sup>2</sup>, 鄢 兵<sup>2</sup>

(1. 南昌大学化学系, 江西 南昌 330047; 2. 江西省分析测试研究所, 江西 南昌 330029)

**摘 要:** 通过正交试验选择杜仲叶中绿原酸的最佳提取条件: 30% 甲醇回流 20 min, 用反相液相色谱法测定绿原酸含量: 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱, 流动相为甲醇-0.02% 磷酸溶液(体积比 22:78), 波长 327 nm, 流速 1.0 ml/min。绿原酸在 9.68~242 µg/ml 呈良好线性关系, 相关系数  $r$  为 0.9999, 本法快速、简单、准确、分离度好、回收率大于 95.9%。

**关键词:** 杜仲叶; 绿原酸; 反相液相色谱法; 正交试验

## Determination of Chlorogenic Acid in Eucommia Ulmoides Olive Leaves by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography

WAN Chun-hua<sup>1,2</sup>, NI Yong-nian<sup>1</sup>, LONG Zhou-xiong<sup>2</sup>, HU Hai-shan<sup>2</sup>, YAN Bing<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330029, China;

2. Jiangxi Institute of Analysis and Testing, Nanchang 330029, China)

**Abstract:** The conditions for the extracting chlorogenic acid in the Eucommia Ulmoides Olive leaves were optimized by the orthogonal test as follows: continuous extraction by 30% methanol for 20 minutes; determined by RP-HPLC. The chlorogenic acid was separated on Kromasil C<sub>18</sub> column, with CH<sub>3</sub>OH~0.02% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (22:78) at a flow-rate of 1.0 ml/min and detected at UV 327 nm. The calibration curve was linear in the range of 9.68~242 µg/ml ( $r=0.9999$ ). This method is simple, rapid and accurate with good separation, and the recoveries are above 95.9%.

**Key words:** Eucommia Ulmoides Olive leaves; chlorogenic acid; reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC); orthogonal test

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0255-03

收稿日期: 2005-11-14

作者简介: 万春花(1972-), 女, 副研究员, 主要从事营养功效成分及有害成分分析。

的测定方法。

参考文献:

- [1] 湛社霞, 藏李纳. 三元溶剂体系 HPLC 法测定 BHT、BHA、山梨酸和苯甲酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(4): 464.
- [2] 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.
- [3] 胡小钟, 余建新. 油脂中九种抗氧化剂的反相高效液相色谱法分离和测定[J]. 分析科学, 2000, 16(1): 23.
- [4] PAGE B D, CHARBONNEAU C F. Liquid chromatographic determination of seven antioxidants in dry food[J]. J Assoc Off Anal Chem, 1989, 72(2): 259-265.
- [5] PAGE B D. High performance liquid chromatographic determination of

seven antioxidants in oil and lard: collaborative study[J]. J Assoc Off Anal Chem, 1983, 66(3): 727-745.

- [6] 李桂凤, 郝征红, 董淑敏. 高效液相色谱法测定食品中抗氧化剂 BHA、BHT、PG [J]. 色谱, 1998, 16(3): 276.
- [7] 蔡玉枝, 苏文周. 高效液相色谱法快速测定食品中抗氧化剂 BHA、BHT [J]. 分析测试学, 1998, 17(4): 77.
- [8] BARKER S A. Matrix solid phase dispersion[J]. J Chromatogr A, 2000, 885: 115.
- [9] FERNANDEZ M, PICO Y, MANES J. Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid phase dispersion and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2000, 871: 43.
- [10] NAVARRO M, PICO Y, MARIN R, et al. Application of matrix solid phase dispersion to determination of a new generation of fungicides in fruit and vegetables[J]. J Chromatogr A, 2002, 968: 201.