

气相色谱-质谱法同时测定食用植物油中三种抗氧化剂

郭 岚^{1,2}, 谢明勇^{*1}, 鄢爱平², 万益群²

(1. 南昌大学食品科学教育部重点实验室, 南昌 330047;

2. 南昌大学分析测试中心, 南昌 330047)

摘 要:本文研究了用乙醇提取食用植物油中的丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)和叔丁基对苯二酚(TBHQ),并用气相色谱-质谱法对三种抗氧化剂进行分离与测定。方法的线性范围为0.100~20.0 mg/L,检出限为:BHA,3.33 μg/L;BHT,3.02 μg/L;TBHQ,37.9 μg/L。平均回收率为80.6%~123%,相对标准偏差为2.01%~8.77%。该方法具有简便、快速、准确、无毒等特点,应用于大豆油、花生油、芝麻油、菜籽油、茶油、食用调和油中的抗氧化剂的测定,结果令人满意。

关键词:抗氧化剂;食用植物油;同时测定;气质联用

中图分类号:O657.63

文献标识码:A

油脂在贮存时受氧气、水、光、热和微生物的影响,会逐渐水解和氧化变质,生成醛、酮、醇、碳氢化物、环氧化物及酸之类的低分子物质产生异臭异味,也有可能经聚合作用生成深色、有毒的聚合物,同时还会促使色素、香味物质和维生素氧化,这些都将影响油脂的质量,进而对人们的身体健康造成极大危害。如果在油脂中有针对性地加入一种能消除自由基的物质——抗氧化剂,就可以阻碍氧化反应的进行,达到阻止或延缓油脂氧化的目的,从而提高油脂的稳定性,延长油脂的贮存时间。丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)和叔丁基对苯二酚(TBHQ)是应用最广泛的抗氧化剂,但它们对人体均有一定的毒性^[1-3],所以对食用油中的抗氧化剂进行分析很有意义。

酚类抗氧化剂的检测方法有薄层色谱法、比色法、气相色谱法、液相色谱法、毛细管电泳法等^[4-7],这些方法样品前处理较为繁琐,而且干扰较多。气相色谱-质谱(GC-MS)联用因其能根据保留时间和特征碎片离子双重定性,有效地避免了干扰物的影响,极大地提高了检测的灵敏度和准确度,所以在食品有毒有害残留物质分析中的应用也越来越广泛。文献^[8-10]报道用气相色谱-质谱联用技术检测水、化妆品等中的BHA和BHT等,对于用GC/MS同时测定食用植物油中的BHA、BHT和TBHQ,尚未见公开报道。

本文用乙醇对食用植物油中的BHA、BHT和TBHQ进行提取,然后用GC-MS进行分离测定,干扰少,灵敏度高,应用于实际样品的测定,结果满意。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent6890N 气相色谱/5973innet 质谱联用仪(美国安捷伦公司),Agilent 气相色谱/质谱工作站(D.01.02),NIST02 质谱数据库;MS2 迷你振荡器(广州仪科实验室技术有限公司);TDL-5-A 低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

抗氧化剂标准溶液:分别准确称取0.1000 g BHA、BHT、TBHQ 标准品(均由 Supelco 公司提供)于100 mL 棕色容量瓶中,加少量无水乙醇溶解,最后用无水乙醇定容至刻度,配成三种抗氧化剂的标准储备

收稿日期:2006-04-25

修回日期:2006-07-18

基金项目:长江学者和创新团队发展计划项目(No. IRT0540);南昌大学测试基金资助项目(2005018)

通讯联系人:谢明勇,男,教授,博士生导师,研究方向:食品营养与安全。

液,浓度均为 1.0 mg/mL。然后分别用移液管移取 5.00 mL 上述溶液至 50 mL 棕色容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,配成混合标准溶液,此溶液中各种抗氧化剂的含量为 100 mg/L,置于冰箱 4 ℃内可保存一周。无水甲醇、无水乙醇、乙腈均为分析纯。

1.2 气相色谱-质谱条件

HP-5MS 熔融石英毛细管柱(30 m ×0.25 mm ×0.25 μm);进样口温度:250 ℃;进样量:1.0 μL,不分流进样;载气:高纯 He,37 cm/s(恒流);升温程序:60 ℃保留 2 min,10 ℃/min 升至 280 ℃,保留 1 min;GC/MS 接口温度:280 ℃;离子源:EI 源,电子轰击能量 70 eV;离子源温度:230 ℃;四极杆温度:150 ℃;EM 电压:1 200 V;溶剂延迟:10 min;数据采集方式:SIM;选择离子峰面积外标法定量。

1.3 样品处理

称取 1.0000 g 食用油样品于 10 mL 刻度离心管中,加 3 mL 无水乙醇混匀,2 min 后,以 4 800 r/min 离心 15 min,用吸管取无水乙醇层至 10 mL 比色管中,油层再用 3 mL 无水乙醇提取 1 次,合并无水乙醇层,并用无水乙醇定容至 10 mL,取 1.0 μL 直接进样,按 1.2 气相色谱-质谱条件进行分析。

2 结果与讨论

2.1 特征碎片离子的选择

分别用 10.0 mg/L 的 3 种抗氧化剂的标准溶液直接进行气相色谱-质谱分析,数据采集方式采用 Scan 模式,质荷比扫描范围:50~550 amu,得到三种抗氧化剂标准的质谱图,然后根据质谱图上各碎片离子的响应丰度,选择 4~6 个丰度较高、质荷比较大的离子进行 SIM 检测以保证检测结果的灵敏度和准确性。BHA 选择的特征碎片离子为 137、165、166、180,定量离子为 165;BHT 选择的特征碎片离子为 145、177、205、206、220,定量离子为 205;TBHQ 选择的特征碎片离子为 123、151、152、166、167,定量离子为 151。

2.2 提取溶剂的选择

实验研究了甲醇、乙醇和乙腈三种溶剂对植物油中抗氧化剂的提取效果。甲醇、乙醇、乙腈对这三种抗氧化剂提取的平均回收率分别为 85.7 %~108 %、80.6 %~123 %、73.0 %~96.1 %,表明三种溶剂均可用于植物油样品中三种抗氧化剂的提取。考虑到甲醇、乙腈是有毒的有机溶剂,不仅会对环境造成污染,而且对检验人员的健康造成危害,而乙醇的毒性明显低于甲醇和乙腈,因此本文选择乙醇作为提取溶剂。

2.3 样品前处理方法的优化

在确定乙醇作为提取溶剂后,本文对可能影响到抗氧化剂提取率的因素即溶剂总用量、混匀时间和提取次数用 $L_9(3^4)$ 的正交设计进行优化。

称取 1.0000 g 不含上述抗氧化剂的食用油样品 9 份,分别添加 0.5 mL 100 mg/L 的标准工作储备液,于快速混匀器上混匀 1 min,按表 1 中的因素、水平进行试验。比较表 1 中的 k 值,发现 BHA 的优化水平组合为 $C_2B_2A_3$,BHT 的优化水平组合为 $A_3C_3B_3$,TBHQ 的优化水平组合为 $B_2A_3C_2$ 。综合考虑各种抗氧化剂的提取效率与因素、水平的变化趋势,最终选定本实验的溶剂用量为 9 mL,分 2 次提取,每次混匀 2 min,即 $A_3B_2C_2$ 。

2.4 标准曲线、检出限、回收率及精密度

将标准工作储备液用无水乙醇分别稀释成浓度为 0.1、1.0、5.0、10.0、20.0 mg/L 的三种抗氧化剂的混合标准溶液,按 1.2 气相色谱-质谱条件进行分离测定,以各种抗氧化剂选定的定量离子的 RET 积分峰面积(A)对浓度(c)作标准曲线,得各种抗氧化剂的线性方程及相关系数分别为 BHA: $A = 68\,515c + 77\,926$, $r = 0.9991$;BHT: $A = 114\,528c + 334\,153$, $r = 0.9958$;TBHQ: $A = 43\,224c + 3\,717.1$, $r = 0.9998$ 。三种抗氧化剂在 0.1~20.0 mg/L 之间均有良好的线性关系。BHA、BHT 和 TBHQ 的检出限($S/N = 10$)分别为:3.33 μg/L、3.02 μg/L 和 37.9 μg/L。

称取不含上述三种抗氧化剂的食用油样品 1.00 g,分别添加三种抗氧化剂标准 1.00 μg、20.0 μg 和 100 μg,充分混匀,然后按 1.3 样品处理对样品进行提取,每个水平平行进行 6 次实验,平均回收率和相对标准偏差(RSD)见表 2。三种抗氧化剂在三个添加水平的平均回收率分别为:BHA:93.0 %~113 %,BHT:96.3 %~113 %,TBHQ:80.6 %~123 %,能够满足食用植物油中三种抗氧化剂同时测定的要求。

Table 1 Assignment of factors and levels of the optimization experiments using an $L_9(3^4)$ orthogonal array design along with the recoveries

Trial No.	A volume of ethanol (mL)	B mixing time (min)	C number of extraction	Recovery (%)		
				BHA	BHT	TBHQ
1	3	1	1	78.64	69.98	73.81
2	3	2	2	90.10	74.22	82.32
3	3	3	3	82.71	85.03	74.01
4	6	1	2	91.33	85.15	75.04
5	6	2	3	94.32	96.65	78.04
6	6	3	1	80.29	85.76	75.72
7	9	1	3	91.83	104.11	79.36
8	9	2	1	87.45	90.08	79.42
9	9	3	2	89.98	107.56	80.18
BHA	K_1	251.45	261.80	246.38	Optimization strategy : $C_2B_2A_3$	
	K_2	265.94	271.87	271.41		
	K_3	269.26	252.98	268.86		
	$k_1 = K_1/3$	83.82	87.27	82.13		
	$k_2 = K_2/3$	88.65	90.62	90.47		
	$k_3 = K_3/3$	89.75	84.33	88.62		
	R	5.93	6.29	8.34		
BHT	K_1	229.23	259.24	245.82	Optimization strategy : $A_3C_3B_3$	
	K_2	267.56	260.95	266.93		
	K_3	301.75	278.35	285.79		
	$k_1 = K_1/3$	76.41	86.41	81.94		
	$k_2 = K_2/3$	89.19	86.98	88.98		
	$k_3 = K_3/3$	100.58	92.78	95.26		
	R	24.17	6.37	13.32		
TBHQ	K_1	230.14	228.21	228.95	Optimization strategy : $B_2A_3C_2$	
	K_2	228.80	239.78	237.54		
	K_3	238.96	229.91	231.41		
	$k_1 = K_1/3$	76.71	76.07	76.32		
	$k_2 = K_2/3$	76.27	79.93	79.18		
	$k_3 = K_3/3$	79.65	76.64	77.14		
	R	2.58	3.86	2.86		

Table 2 Recoveries of the spiked antioxidants from rap oil

Antioxidants	Amount added (μg)		Amount found (μg)					Average recovery (%)	RSD (%)
BHA	1.00	0.9545	0.8965	0.9183	0.9567	0.8883	0.9667	93.0	3.62
	20.0	19.65	23.93	23.21	22.03	23.93	22.98	113	7.16
	100	99.96	97.74	97.97	93.59	97.06	97.80	97.4	2.14
BHT	1.00	1.135	1.021	1.045	1.065	0.9861	1.018	104	4.92
	20.0	19.77	23.75	23.80	21.94	23.49	22.92	113	6.88
	100	98.10	96.35	97.40	92.64	95.98	97.16	96.3	2.01
TBHQ	1.00	1.228	1.112	1.252	1.303	1.211	1.302	123	5.73
	20.0	15.51	19.24	19.13	18.39	18.78	20.31	92.8	8.77
	100	79.16	82.04	83.48	80.09	81.15	77.95	80.6	2.48

2.5 抗氧化剂稳定性试验

由于抗氧化剂本身易被氧化,因此需对实验中配制的标准溶液的稳定时间进行考察。用 1.0 g/L 标准储备液,配成 1.0、10.0、100.0 mg/L 三种浓度,每 2 h 分别取 1.0 μL 按 1.2 气相色谱-质谱条件对抗氧化剂进行测定,结果表明,1.0 mg/L、10.0 mg/L 和 100.0 mg/L 的抗氧化剂标准溶液在 8 h 之内的峰面积变化不超过 5 %,因此,在样品提取及 GC-MS 测定的过程中,不会由于抗氧化剂的易氧化性而对实验结果产生显著影响。

2.6 样品测定

应用建立的方法对市售的大豆油、茶油、花生油、芝麻油、食用调和油和菜籽油进行测定,结果见表 3。表中结果显示:大部分的食用油均检测出添加有 TBHQ,其含量均低于我国标准所允许的最大添加量 200

mg/ kg^[11]。从检测结果也反映出,在国内食用植物油里所添加的抗氧化剂中,毒性偏强的 BHA、BHT 正逐渐被毒性较小的 TBHQ 所替代。

Table 3 Analytical results of antioxidant in edible vegetation oil samples(n = 5)			
Samples	Results (mean ±SD) (mg/ kg)		
	BHA	BHT	TBHQ
Soybean oil	ND	ND	25.6 ±1.85
Tea oil	ND	ND	1.00 ±0.02
Peanut oil	ND	ND	11.4 ±0.28
Edible blended oil-1	ND	ND	52.8 ±3.84
Edible blended oil-2	ND	ND	1.55 ±0.08
Sesame oil	ND	ND	ND
Rap oil	ND	ND	ND

ND: Not detected.

参考文献:

[1] Franchi-Micheli S,Della Corte L ,Puliti R ,Giovannini MG,Zilletti L ,Marconi M ,Sgaragli G P. Boll. Soc. Ital Biol. Sper. [J] ,1980 ,56(23) :2521.

[2] van Esch G J. Food Chem. Toxicol. [J] ,1986 ,24(10-11) :1063.

[3] Branen A L. J. Am. Oil Chem. Soc. [J] ,1975 ,52:59.

[4] Analysis Center of Chinese Academy of Forestry(中国林业科学研究院分析中心). Modern Practicality Instrument Analytical Technique(现代实用仪器分析方法) [M]. Beijing(北京) :Chinese Forestry Press(中国林业出版社) ,1994 :104.

[5] YANG Min-hua ,L IN Hsiu-jung ,Choong Youk-Meng. Food Research International[J] ,2002 ,35 :627.

[6] Dopico- Garc ía M S,L ópez-Vilari ñ J M ,Gonz ález-Rodr íguez M V. Talanta[J] ,2005 ,66 :1103.

[7] HU Xiao-zhong(胡小钟) ,YU Jian-xin(余建新) ,QIAN Hao-ming(钱浩明) ,N I Lan-sun(倪澜蓀) ,SHAO Jun-jie(邵俊杰). Journal of Analytical Science(分析科学学报) [J] ,2000 ,16(1) :23.

[8] Tombese N B ,Freije H. Journal of Chromatography A[J] ,2002 ,963 :179.

[9] Fries E ,P üttmann W. Water Tesearce[J] ,2002 ,36 :2319.

[10] ZHANG Wei-ya(张伟亚) ,WU Cai-ying(吴采樱) ,WANG Cheng-yun(王成云) ,YANG Zuo-jun(杨左军) ,L IU Li(刘 丽). Chinese Journal of Chromatography(色谱) [J] ,2002 ,20(2) :178.

[11] GB 2760-1996. Hygienic Standardization for the Use of Food Additives(食品添加剂使用卫生标准) [S].

Simultaneous Determination of Three Antioxidants
in Edible Vegetation Oil by GC-MS

GUO Lan^{1,2} , XIE Ming-yong ^{*1} , YAN Ai-ping² , WAN Yi-qun²

(1. Key Laboratory of Food Science of Ministry of Education , Nanchang 330047;
2. Center of Analysis and Testing of Nanchang University , Nanchang 330047)

Abstract : A simple , quick and accurate method for the simultaneous determination of BHA , BHT and TBHQ has been developed. BHA , BHT and TBHQ usually used in edible vegetation oil were extracted by alcohol and then separated and detected by GC-MS in 25 minutes. The linear range of the detection changed from 0.1 mg/ L to 20.0 mg/ L (*r* = 0.9958~0.9998) . The detection limits of BHA , BHT and TBHQ were 3.33 μg/ L , 3.02 μg/ L and 37.9 μg/ L , respectively. The recoveries were in the range of 80.6 %~123 % with the RSD values below 8.77 % . The method has been applied to the simultaneous determination of BHA , BHT and TBHQ in edible vegetation oil samples with satisfactory results.

Keywords : Antioxidants ; Edible vegetation oil ; Simultaneous determination ; GC-MS