



高效液相色谱法测定乳清粉和黄油中过氧化苯甲酰

林海丹, 谢守新, 李为鹏, 陈秀明, 陈毓芳, 秦 燕, 邹志飞

(广东出入境检验检疫局 检验检疫技术中心, 广州 510623)

摘要:应用高效液相色谱法(HPLC)测定了乳清粉和黄油中过氧化苯甲酰的含量。对含脂肪较低的样品,可直接加入乙腈进行提取,经振荡和离心后取上清液,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液用于HPLC分析。对含脂肪较高的样品,须先用正己烷脱脂,然后用经正己烷饱和的乙腈提取3次,合并提取液经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤后供HPLC分析。采用Agilent TC C_{18} 色谱柱及由甲醇-水(65+35)混合液作为流动相进行分离,并在236 nm波长处进行紫外检测。过氧化苯甲酰的质量浓度在 $0.1\sim 1.0\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内与其相应的峰面积呈线性关系。方法的测定下限(10S/N)为 $1.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。以乳清粉及黄油样品为基体,用标准加入法在3个浓度水平(1, 5, 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)上对方法进行回收试验,测得回收率在96.6%~104.0%之间,测定值的相对标准偏差($n=6$)均小于7.0%。

关键词:高效液相色谱法; 过氧化苯甲酰; 乳清粉; 黄油

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2011)08-0949-02

HPLC Determination of Benzoyl Peroxide in Whey Powder and Butter

LIN Hai-dan, XIE Shou-xin, LI Wei-peng, CHEN Xiu-ming, CHEN Yu-fang, QIN Yan, ZOU Zhi-fei

(Technical Center of Inspection and Quarantine, Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China)

Abstract: HPLC was applied to the determination of benzoyl peroxide in whey powder and butter. Samples, with low fat-content were extracted directly with acetonitrile. After shaking and centrifuging, the supernatant was filtered with $0.45\ \mu\text{m}$ filtering membrane and the filtrate was used for HPLC analysis. Samples, with high fat-content, were first defatted with *n*-hexane, and then extracted thrice with acetonitrile (which has been saturated with *n*-hexane). The acetonitrile layers were combined, filtered and used for HPLC analysis. The Agilent TC C_{18} chromatographic column and the mobile phase of mixture of methanol and water (65 + 35) were used for the separation. UV-detection at the wavelength of 236 nm was adopted in measurements. Linear relationship between values of peak area and mass concentration of benzoyl peroxide was obtained in the range from 0.1 to 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Lower limit of determination (10S/N) was found at $1.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Using sample of whey powder and butter as matrixes, recovery was tested by addition of standard solution of benzoyl peroxide at 3 concentration levels (1, 5, 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), values of recovery found were in the range of 96.6%–104.0% with RSD's ($n=6$) less than 7.0%.

Keywords: HPLC; Benzoyl peroxide; Whey powder; Butter

收稿日期: 2010-07-13

基金项目: 广东省科技计划项目(2009B05070034); 中国检验检疫科学研究院资助项目(2009JK011)

作者简介: 林海丹(1970—), 女, 广东人, 高级工程师, 硕士, 主要从事食品中兽药残留和食品添加剂检测研究。

过氧化苯甲酰为无色结晶固体, 不溶于水, 微溶于乙醇, 溶于氯仿和醚类, 是一种起到漂白作用的食物添加剂。过氧化苯甲酰在食品中大多降解为还原产物苯甲酸, 过多摄入苯甲酸对人体肝脏产生危害。过氧化苯甲酰在干燥状态下易反应, 当撞击、受热、

摩擦时易爆炸。

我国卫生部 2011 年 4 号公告分布,自 2011 年 5 月 1 日起禁止在面粉生产中添加漂白剂。国际食品法典委员会(CAC)的规定过氧化苯甲酰作为乳清制品漂白剂,最大使用量 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,但不可用于乳清干酪和用作婴儿配方食品成分的乳清制品。

目前,国家标准中有关小麦粉中过氧化苯甲酰的测定有气相色谱法^[1]和高效液相色谱法^[2],都是将过氧化苯甲酰还原为苯甲酸来定量。因乳制品天然存在少量苯甲酸使检测结果偏高。对于有苯甲酸本底的乳清样品,难以准确定量过氧化苯甲酰。目前,我国仍未批准过氧化苯甲酰作为漂白剂用于乳制品。因此,有必要建立乳制品中过氧化苯甲酰原形的检测方法,为进口食品监督部门把关提供技术支持。本工作对乳清粉和黄油中过氧化苯甲酰的原形检测进行了系统地研究,对过氧化苯甲酰稳定性和样品提取溶剂进行筛选,建立高效液相色谱法测定乳清粉和黄油中过氧化苯甲酰的方法。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20A 高效液相色谱仪;Sigma 3-16PK 冷冻离心机;IKA MS 3 涡旋振荡器;Heidolph promax 2020 往复式振荡混匀器;Mill-Q 超纯水器。

过氧化苯甲酰标准溶液:称取过氧化苯甲酰标准品(纯度为 80%,采用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫代硫酸钠溶液标定^[3]) 125 mg,于 100 mL 容量瓶中,用乙腈配成 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准储备溶液,使用时用乙腈稀释至所需浓度。

甲醇、乙腈为色谱纯;丙酮、碘化钾、硫代硫酸钠均为分析纯;试验用水为超纯水。

1.2 仪器工作条件

Agilent TC C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);流动相为甲醇-水 (65+35) 溶液,流量为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为 $35 \text{ }^\circ\text{C}$,进样体积为 $20 \mu\text{L}$,检测波长为 236 nm。

1.3 试验方法

称取乳清粉试样 2.00 g 于 50 mL 离心管中,加入乙腈溶解并定容至 20 mL ,涡旋混匀 1 min ,振荡提取 10 min ,以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速离心 5 min ,取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜,滤液供液相色谱测定。

称取黄油试样 2.00 g 于 50 mL 离心管中,加入

正己烷 5 mL (如果溶解不完全,需置于水浴 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 加热溶解),加入正己烷饱和乙腈 10 mL ,涡旋混匀 1 min ,以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速离心 5 min ;吸取乙腈层溶液于另一离心管中,正己烷层用 4 mL 正己烷饱和乙腈重复提取两次;合并乙腈层于 50 mL 离心管,并以乙腈定容至 20 mL ,过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜,滤液供液相色谱测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

采用甲醇-磷酸溶液和甲醇-水作为流动相均能达到良好的分离效果。试验用 Agilent TC C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$),以甲醇-水 (65+35) 溶液为流动相,在过氧化苯甲酰保留时间附近无干扰峰。检测波长选择过氧化苯甲酰的最大紫外吸收波长 236 nm 。过氧化苯甲酰标准溶液液相色谱图见图 1。

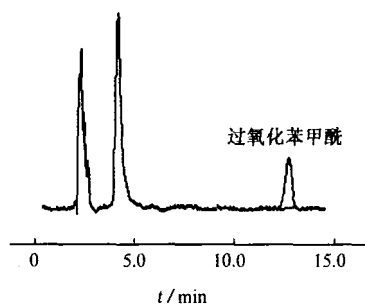


图 1 过氧化苯甲酰标准溶液液相色谱图 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Fig. 1 Chromatogram of benzoyl peroxide standard

2.2 标准溶液介质的选择

过氧化苯甲酰在水、醇等环境中易还原为苯甲酸,配制时需注意溶液的选择。试验对过氧化苯甲酰在各种溶液中的稳定性、贮存时间和响应值进行考察。结果表明:过氧化苯甲酰在乙腈介质中两周内稳定,在甲醇介质中 3 h 内降解了 50%,在无水乙醇介质中 2 h 内降解了 80%,在水中 3 h 内降解了 85%,在甲醇-水溶液中 3 h 内降解了 75%。在乙醇-水溶液中 3 h 内降解了 83%,试验选择标准溶液介质为乙腈。

2.3 提取剂的选择

过氧化苯甲酰在乙腈中稳定,乙腈又可起到沉淀蛋白的作用,因此,乙腈是个很好的提取溶剂。试验选择乙腈作为提取剂。

(下转第 954 页)



属在矿物晶格中量也不同,不同混合酸对不同类型土壤中重金属元素的测定具有一定的影响,其中对铬的影响最大。完全消解体系(方法3和方法4)的测定结果普遍要比不完全消解体系(方法1和方法2)高。所以对于ICP-AES测定土壤中重金属,混合酸需要针对土壤类型、重金属元素种类等因素进行选择。

参考文献:

- [1] CHARLESW O S, EVERETT M, MC C R, et al. A comparative study of heavy metal concentration and distribution in deposited street dust in a large and small urban area: Birmingham and Coventry, West Midlands, U K[J]. Environmental International, 2003 (29):563-573.
- [2] 魏振林,李禾,芮玉奎. X射线荧光光谱法分析癌症村土壤主量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2008,28(11): 2706-2707.
- [3] 杜锐,侯正伟,张光吉. 两种土壤中五种有毒元素的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2001,21(5):729-730.
- [4] 江锦花,柯世省. 海洋沉积物中重金属含量测定样品前处理方法研究[J]. 齐鲁渔业, 2005,22(6):17-20.

- [5] 黄智伟,王宪,邱海源,等. 土壤重金属含量的微波法与电热板消解法测定的应用比较[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2007,46(增刊):103-110.
- [6] 李海峰,王庆仁,朱永官. 土壤重金属测定两种前处理方法的比较[J]. 环境化学, 2006,25(1):108-109.
- [7] FAN Wu-hui, WANG Wen-xiong, CHEN Jing-shun. Geochemistry of Cd, and Zn in highly contaminated sediments and its influences on assimilation by marine bivalves[J]. Environ Sci Technol, 2002, 36: 5164-5171.
- [8] SIN S N, CHUA H, LO W, et al. Assessment of heavy metal cations in sediments of Shing Mun river, Hong Kong[J]. Environment international, 2001,26: 297-301.
- [9] SHEN Jin, LIU En-feng, ZHU Yu-xing, et al. Distribution and chemical fractionation of heavy metals in recent sediments form Lake Taihu, China[J]. Hydrobiologia, 2007,581:141-150.
- [10] 张素荣,曹星星. 对比不同消解方法测定土壤中重金属[J]. 环境科学技术, 2004,27(增刊):49-51.
- [11] 中国环境总站. 土壤元素的近代分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992.

(上接第950页)

2.4 净化条件的选择

对于乳清粉样品用乙腈提取,高速离心沉淀蛋白,取上清液过滤上机。对于油脂含量高的样品(黄油),采用乙腈-正己烷液液分配去除脂肪。

2.5 标准曲线和检出限

按试验方法对过氧化苯甲酰标准溶液系列进行测定,其质量浓度在 $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与峰面积呈线性关系,线性回归方程为 $y = 7.75 \times 10^4 \rho - 4.30 \times 10^3$,相关系数为0.999 8。对乳清粉和黄油的空白样品进行测定,当信噪比大于10时,方法的测定下限为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.6 回收试验

选用乳清粉和黄油空白样品,分别加入过氧化苯甲酰标准溶液,按试验方法处理后测定,回收试验结果见表1。

方法符合GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》对检测方法确认的回收率和精密度等技术要求,操作简便、重现性好,方法适用于乳制品中过氧化苯甲酰的测定。

表1 回收试验结果(n=6)

Tab. 1 Results of test for recovery

样品名称	标准加入量 $w/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	回收量 $w/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	回收率 /%	RSD /%
乳清粉	1.0	1.01	101.0	5.8
	5.0	4.84	96.9	3.0
	10.0	9.66	96.6	6.7
黄油	1.0	1.04	104.0	2.1
	5.0	4.98	99.6	1.0
	10.0	9.90	99.0	2.7

参考文献:

- [1] GB/T 18415-2001 小麦粉中过氧化苯甲酰的测定方法[S].
- [2] GB/T 22325-2008 小麦粉中过氧化苯甲酰的测定 高效液相色谱法[S].
- [3] GB 19825-2005 食品添加剂 稀释过氧化苯甲酰[S].