

一测搞定 | 9 种抗氧化剂同步检测，科诺美为食品安全护航

一、前言

食品抗氧化剂能阻止或延缓食品氧化变质、提高食品稳定性、延长贮存期。氧化不仅使食品中的油脂变质，而且还会使食品褪色、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。所以应合理使用抗氧化剂。

本应用方案参考《GB 5009.32-2016 食品中 9 种抗氧化剂的测定》，对某品牌的葵花籽油进行了 9 种抗氧化剂（没食子酸丙酯 PG、2,4,5-三羟基苯丁酮 THBP、叔丁基对苯二酚 TBHQ、去甲二氢愈创木酸 NDGA、叔丁基对羟基茴香醚 BHA、2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚 lonox-100、没食子酸辛酯 OG、2,6-二叔丁基对甲基苯酚 BHT、没食子酸十二酯 DG）的含量测定。

二、实验条件

1. 仪器设备：Leaps 超高效液相色谱仪

P60 输液泵、A10C 自动进样器、C10 柱温箱、D10 紫外检测器

2. 9 种抗氧化剂标准溶液的配制：

分别吸取 9 种抗氧化剂混标（浓度为 1 mg/mL）适量，用乙腈稀释至浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、400 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作溶液。

3. 样品前处理

3.1.1 试样提取



准确称取混合均匀的试样 1 g (精确至 0.01g) 于 50 mL 离心管中, 加入 3 mL 乙腈饱和的正己烷溶液溶解样品, 涡旋 1 min, 静置 10 min, 用 3 mL 含 AP (L-抗坏血酸棕榈酸酯) 的正己烷饱和的乙腈溶液涡旋提取 2 min, 3000 r/min 离心 5 min, 收集乙腈层于另一 50 mL 离心管中, 再重复使用 3 mL 含 AP 的正己烷饱和的乙腈溶液提取 4 次, 合并 5 次提取液, 待上样。同时做空白试验。

3.1.2 试样净化:

在 C18 固相萃取柱中装入约 2g 的无水硫酸钠, 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。将上述所有提取液 (3.1.1) 倾入柱中, 用 50 mL 的离心管收集流出液, 再以 15 mL 的乙腈: 甲醇 (2: 1) 洗脱, 一起收集氮吹。氮吹至 1 mL 左右, 转移至 10 mL 离心管中, 用少量乙腈润洗 50 mL 离心管 3 次, 合并后氮吹至 0.5 mL, 用乙腈定容至 2 mL, 涡旋 30 s, 过 0.22 μ m 微孔滤膜至进样瓶中, 供液相色谱测定。

三、色谱条件

1. 色谱柱: Lotus C18 (4.6 mm*250 mm, 5 μ m)
2. 柱温: 35 $^{\circ}$ C
3. 进样体积: 10 μ L
4. 波长: 280 nm
5. 流动相 A: 0.5 % 的甲酸溶液 流动相 B: 甲醇
6. 流速: 1.0 mL/min



7. 梯度表:

时间 (min)	A%	B%
0.0	50	50
9	50	50
15	20	80
20	20	80
38	11	89
40	50	50
45	50	50

四、实验结果

1. 9 种抗氧化剂标准溶液谱图

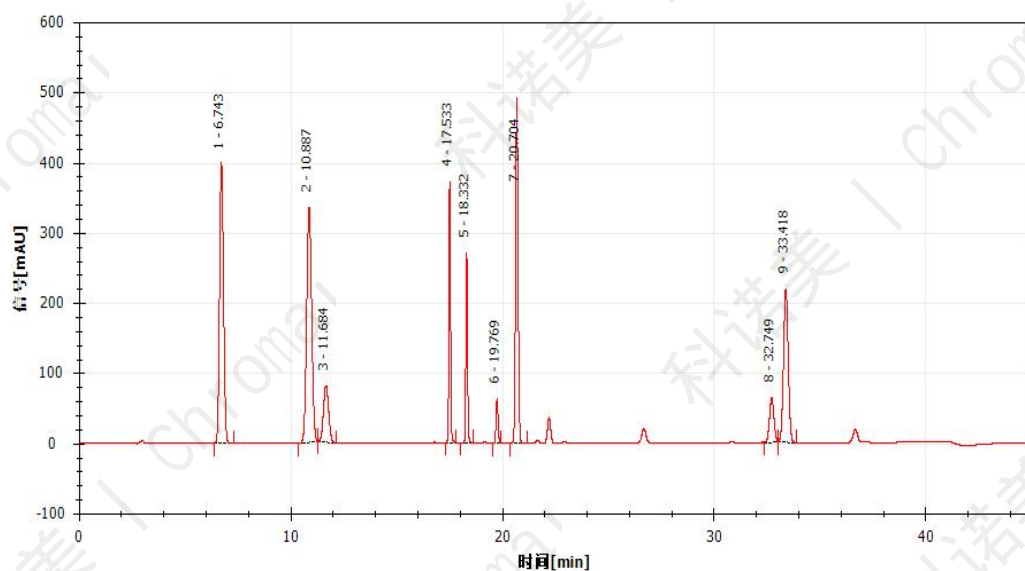


图 1 9 种抗氧化剂标准溶液色谱图



(1-PG; 2-THBP; 3-TBHQ; 4-BHA; 5-NDGA; 6-Ionox-100; 7-OG; 8-BHT; 9-DG)

2. 线性关系及检出限

表 1 抗氧化剂标准曲线结果表

化合物	浓度范围 (µg/mL)	回归方程	相关系数	检出限 (µg/mL)
PG	20~400	$Y=26.555X-37.185$	0.9999	0.025
THBP	20~400	$Y=28.099X-53.530$	0.9999	0.025
TBHQ	20~400	$Y=7.1080X-15.173$	0.9996	0.094
BHA	20~400	$Y=9.8525X-2.9473$	0.9999	0.068
NDGA	20~400	$Y=7.4238X+1.9728$	0.9999	0.087
Ionox-100	20~400	$Y=2.1391X-1.9096$	0.9999	0.310
OG	20~400	$Y=20.587X-24.922$	0.9999	0.033
BHT	20~400	$Y=4.6248X-3.2760$	0.9999	0.145
DG	20~400	$Y=17.190X-31.743$	0.9999	0.040

3. 重复性

将 100 µg/mL 浓度的溶液重复进样 6 次, 重复性结果如表 2 所示

表 2 抗氧化剂重复性结果表

化合物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
PG	0.10	0.34
THBP	0.09	0.44
TBHQ	0.09	0.82



BHA	0.01	0.29
NDGA	0.01	0.35
lonox-100	0.02	0.29
OG	0.02	0.44
BHT	0.04	0.90
DG	0.04	0.30

4. 回收率

对某品牌的葵花籽油进行测试,9种抗氧化剂均未检出。在样品中添加 25 µg/mL 的 9 种抗坏血酸,回收率结果如表 3 所示。

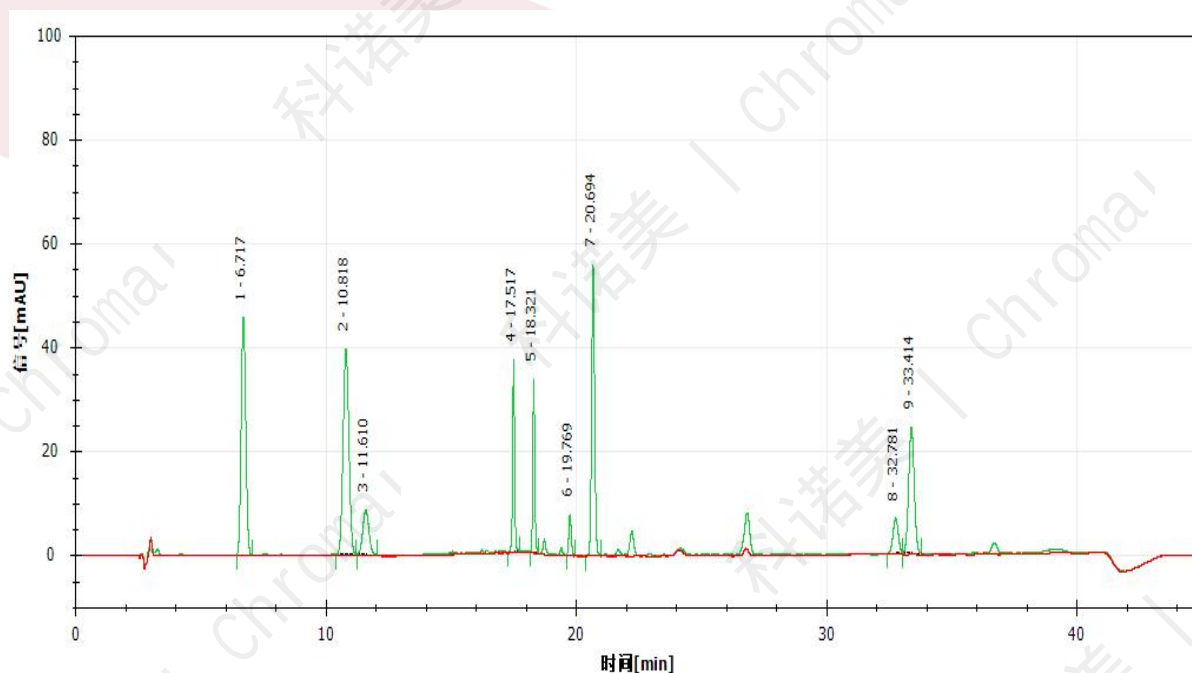


图 2 9 种抗氧化剂样品空白 (红色) 和样品加标 (绿色) 色谱图



表 3 加标回收率结果表

化合物	回收率%
PG	94.32
THBP	99.40
TBHQ	91.16
BHA	83.72
NDGA	97.88
lonox-100	102.20
OG	97.20
BHT	87.56
DG	96.32

五、 结论

本方案采用科诺美 Leaps 超高效液相色谱仪，参考《GB 5009.32-2016 食品中 9 种抗氧化剂的测定》，进行了食品中 9 种抗氧化剂的方法学考察，线性良好，相关系数均大于 0.999；保留时间重复性均小于 0.15%，峰面积重复性均小于 1.00%；葵花籽油中 9 种抗氧化剂加标回收率在 83.72%~102.20%之间；本方法操作简单，稳定性好，灵敏度高，适用于食品中 9 种抗氧化剂的测定。

