



中华人民共和国国家标准

GB/T 21512—2008

食用植物油中叔丁基对苯二酚(TBHQ) 的测定

Determination of tert-butylhydroquinone(TBHQ) in edible vegetable oil

2008-03-18 发布

2008-08-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布



前 言

本标准参考美国官方分析化学师协会(AOAC)公定方法 983.15 (第十六版)《油脂和奶油中酚类抗氧化剂的测定 液相色谱法》、中国国家标准 GB/T 5009.30—2003《食品中叔丁基羟基茴香醚(BHA)与 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)的测定方法》、轻工行业标准 QB 2395—1998《食品添加剂 特丁基对苯二酚(TBHQ)》中的有关原理和技术内容,在试验的基础上,通过简化操作步骤,提高方法的可操作性和准确性而研究制定。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:北京市粮油食品检验所。

本标准主要起草人:阮玲、尚艳娥、吴琴、王郑平、夏天文。

食用植物油中叔丁基对苯二酚(TBHQ) 的测定

1 范围

本标准规定了采用气相色谱、液相色谱测定叔丁基对苯二酚(TBHQ)的原理、试剂、仪器和设备、分析步骤、结果计算及精密度。

本标准适用于较低熔点的食用植物油中 TBHQ 含量的测定。

本标准不适用于熔点高于 35℃ 以上的食用植物油中 TBHQ 含量的测定。

本标准定量限:气相色谱法为 0.001 g/kg,液相色谱法为 0.006 g/kg。

本标准中气相色谱法为仲裁方法。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5524 植物油脂检验 扦样、分样法

GB/T 15687 油脂试样制备

3 气相色谱法

3.1 原理

食用植物油中的 TBHQ 经体积分数为 80%乙醇提取、浓缩、定容后,用气相色谱仪测定,外标法定量。

3.2 试剂

除非另有说明,本标准所使用的试剂为分析纯,水为蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

3.2.1 95%乙醇。

3.2.2 无水乙醇。

3.2.3 二硫化碳。

3.2.4 80%乙醇溶液:量取 80 mL 95%乙醇和 15 mL 蒸馏水,将二液混合。

3.2.5 TBHQ 标准储备溶液(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取 TBHQ 基准试剂(相对分子质量 166.22,含量 $\geq 98.0\%$)0.100 0 g,放入小烧杯中,用 1 mL 无水乙醇溶解 TBHQ 晶体后,加入 5 mL 左右二硫化碳,转移到 100 mL 容量瓶中。再用 1 mL 无水乙醇洗涤烧杯后,加入 5 mL 左右二硫化碳,转移到容量瓶中,用二硫化碳至少洗涤 3 次烧杯,定容至 100 mL,配成浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TBHQ 标准储备液,置于棕色瓶中 4℃ 下保存,可保存 6 个月。

3.3 仪器和设备

3.3.1 气相色谱仪:具有氢火焰离子化检测器(FID)。

3.3.2 混合器:旋涡式混合器。

3.3.3 比色管:25 mL。

3.3.4 瓷蒸发皿:60 mL。

3.3.5 刻度试管:2 mL 或 5 mL。

3.3.6 微量注射器。

3.4 分析步骤

3.4.1 样品的扦样、分样和制备

按 GB/T 5524、GB/T 15687 执行。

3.4.2 试样处理

准确称取试样 2.00 g 于 25 mL 比色管中,加入 6 mL 80%乙醇溶液,置旋涡混合器上混合 3 s~5 s (或振摇 15 s),静置片刻,放入 90℃左右的水浴中加热促其分层,分层后立即将上层提取液用吸管转移到蒸发皿中(用吸管转移时切勿将油滴带人)。再用 6 mL 80%乙醇溶液重复提取试样两次,提取液一并加入蒸发皿中。将蒸发皿放在 80℃水浴上通风挥发或自然挥发至近干(切勿蒸干)。向蒸发皿中加入二硫化碳,少量多次洗涤蒸发皿中残留物,转移到刻度试管中,用二硫化碳定容至 2.0 mL,作为试样测定液。

3.4.3 色谱参考条件

色谱柱:玻璃柱,内径 3 mm,长 3 m,填充涂布 2% OV-1 固定液的 80 目~100 目 Chromosorb W AW DMCS。

仪器条件:检测器和进样口温度 250℃,柱温 180℃。氮气压力 250 kPa,氢气压力 65 kPa,空气压力 55 kPa。

3.4.4 测定

3.4.4.1 制作标准曲线

准确移取 TBHQ 标准储备溶液 0.0 mL、2.5 mL、5.0 mL、7.5 mL、10.0 mL、12.5 mL 于 50 mL 容量瓶中,用二硫化碳定容,制备成浓度为 0 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、150 μg/mL、200 μg/mL、250 μg/mL 的标准溶液,用微量注射器由低到高依次准确吸取不同浓度的标准溶液 2 μL 注入气相色谱仪测定。以 TBHQ 峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

3.4.4.2 试样测定

用干净的微量注射器准确吸取 2 μL 测定液,注入气相色谱仪测定,取试样的 TBHQ 峰面积与标准曲线比较定量。

3.5 结果计算

试样中的叔丁基对苯二酚(TBHQ)含量按式(1)进行计算:

$$X_1 = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_1 ——试样中的叔丁基对苯二酚(TBHQ)含量,单位为克每千克(g/kg);

c ——由标准曲线上查出的试样测定液中相当于 TBHQ 的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

3.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算术平均值的 10%。

4 液相色谱法

4.1 原理

食用植物油中的 TBHQ 经体积分数为 95%乙醇提取、浓缩、定容后,用液相色谱仪测定,外标法定量。

4.2 试剂

4.2.1 甲醇:色谱纯。

4.2.2 乙腈:色谱纯。

4.2.3 36%乙酸:分析纯。

4.2.4 95%乙醇:分析纯。

4.2.5 异丙醇:分析纯,重蒸馏。

4.2.6 异丙醇-乙腈混合液: $V(\text{异丙醇})+V(\text{乙腈})=1+1$ 。

4.2.7 TBHQ 标准储备溶液($1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取 TBHQ 基准试剂(相对分子质量 166.22,含量 $\geq 98.0\%$) $0.050\ 0\ \text{g}$,放入小烧杯中,用异丙醇-乙腈混合液溶解,转入 50 mL 容量瓶中,再用少量混合液洗涤烧杯 3 次,转入容量瓶中,用异丙醇-乙腈混合液定容至 50 mL,配成浓度为 $1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TBHQ 标准储备液,置于棕色瓶中 $4\ ^\circ\text{C}$ 下保存,可保存 6 个月。

4.2.8 TBHQ 标准稀释液($100\ \mu\text{g}/\text{mL}$):准确移取 TBHQ 标准储备液 $10.00\ \text{mL}$ 于 $100\ \text{mL}$ 容量瓶中,用异丙醇-乙腈混合液定容至 $100\ \text{mL}$,置于棕色瓶中 $4\ ^\circ\text{C}$ 下保存。

4.3 仪器

4.3.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列或紫外检测器。

4.3.2 蒸发器:真空旋转蒸发器。

4.3.3 混合器:旋涡式混合器。

4.3.4 具塞试管, $10\ \text{mL}$ 、 $25\ \text{mL}$ 。

4.3.5 浓缩瓶。

4.3.6 微量注射器。

4.4 分析步骤

4.4.1 样品的扦样、分样和制备

按 GB/T 5524、GB/T 15687 执行。

4.4.2 试样处理

准确称取试样 $2.00\ \text{g}$ 于 $25\ \text{mL}$ 比色管中,加入 $6\ \text{mL}$ 95%乙醇溶液,置旋涡混合器上混合 $3\ \text{s}\sim 5\ \text{s}$ (或振摇 $15\ \text{s}$),静置片刻,放入 $90\ ^\circ\text{C}$ 左右水浴中加热促其分层,分层后立即将上层提取液用吸管转移到浓缩瓶中(用吸管转移时切勿将油滴带入)。再用 $6\ \text{mL}$ 95%乙醇溶液重复提取试样两次,合并提取液于浓缩瓶内,该液可放在冰箱中储存约 $16\ \text{h}$ 。

乙醇提取液在 $40\ ^\circ\text{C}$ 下, $10\ \text{min}$ 内,用真空旋转蒸发器浓缩至约 $1\ \text{mL}$,将浓缩液转移至 $10\ \text{mL}$ 试管中,用异丙醇-乙腈混合液至少洗涤 3 次浓缩瓶,定容至 $10\ \text{mL}$,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤于小瓶中,作为试样测定液。

4.4.3 色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱, $250\ \text{mm}\times 4.6\ \text{mm}$ (内径)。

流动相:(A)甲醇-乙腈混合液 [$V(\text{甲醇})+V(\text{乙腈})=1+1$];(B)5% 乙酸水溶液($100\ \text{mL}$ 水加 $5\ \text{mL}$ 36%乙酸)。

柱箱温度: $40\ ^\circ\text{C}$ 。

波长: $280\ \text{nm}$ 。

流速: $2\ \text{mL}/\text{min}$ 。

洗脱梯度: $0\ \text{min}\sim 8\ \text{min}$ 流动相(A)从 30% 线性增至 100%, $8\ \text{min}\sim 14\ \text{min}$ 流动相(A)100%, $14\ \text{min}\sim 17\ \text{min}$ 流动相(A)从 100% 降至 30%。

4.4.4 测定

4.4.4.1 制作标准曲线

准确移取 TBHQ 标准使用液 0.0 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL,于 10.0 mL 容量瓶中,用异丙醇-乙腈混合液定容至 10 mL,制备成浓度为 0 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL 的标准溶液,用微量注射器由低到高依次准确吸取不同浓度的标准溶液 20 μL 注入液相色谱仪测定。以 TBHQ 峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

4.4.4.2 试样测定

用干净的微量注射器准确吸取 20 μL 测定液,注入液相色谱仪测定,取试样的 TBHQ 峰面积与标准曲线比较定量。

4.5 结果计算

试样中的 TBHQ 含量按式(2)进行计算:

$$X_2 = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

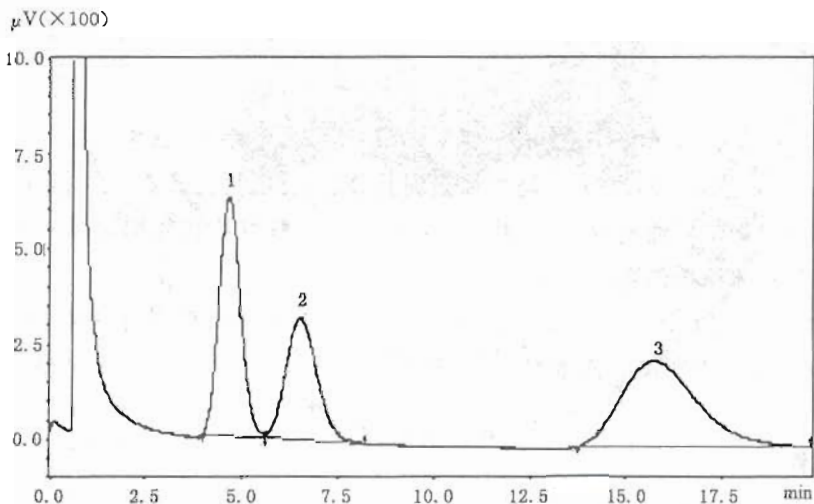
- X_2 ——试样中的 TBHQ 含量,单位为克每千克(g/kg);
- c ——由标准曲线上查出的试样测定液中相当于 TBHQ 的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

4.6 精密度

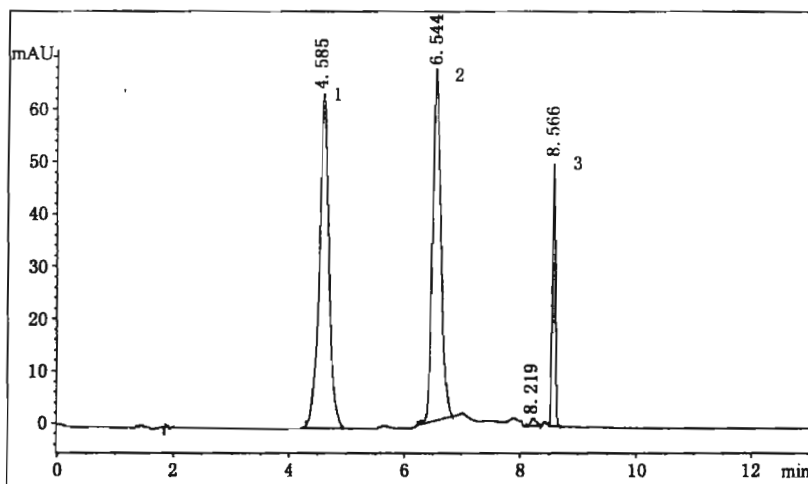
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算术平均值的 10%。

4.7 色谱图



- 1——BHT;
- 2——BHA;
- 3——TBHQ。

图 1 气相色谱图



- 1—TBHQ;
- 2—BHA;
- 3—BHT.

图 2 液相色谱图