

高效液相色谱法测定小麦粉中过氧化苯甲酰的含量

LC-112

摘要: 本文使用岛津高效液相色谱仪,建立了小麦粉中过氧化苯甲酰含量测定的方法。本方法使用 C18 色谱柱,乙酸铵/甲醇=90/10 (v/v) 为流动相进行等度洗脱,二极管阵列检测器检测。过氧化苯甲酰在 5.0~100 mg/kg 的浓度范围内具有良好的线性,相关系数为 0.9998,方法检出限为 0.11 mg/kg,定量限为 0.36 mg/kg。对不同浓度的标准溶液进行精密度实验,连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.10% 和 2.27% 以下,表明仪器精密度良好。实际样品添加不同浓度,回收率为 96.8%~97.0%,结果表明方法准确可靠。

关键词: 小麦粉 过氧化苯甲酰 高效液相色谱 二极管阵列检测器

过氧化苯甲酰是一种面粉改良剂,它的强氧化性对面粉有显著增白和杀菌防腐作用,能改善面粉筋力和色泽,提高面粉的质量等级,由此带来明显的经济效益,是许多国家普遍使用的一种食品添加剂。但在面粉中过多地使用过氧化苯甲酰会破坏面粉的营养,导致面粉中的类胡萝卜素、叶黄素等天然成分丧失。长期过量食用后会肝脏造成严重的损害,加重肝脏负担,引发多种疾病;短期过量食用会使人产生恶心、头晕、神经衰弱等中毒现象,所以严格控制小麦粉中过氧化苯甲酰的添加量是必要的。目前不同国家和地区针对 BPO 的

法规不尽相同。美国对 BPO 在小麦粉中使用无最大使用量限制;加拿大规定 BPO 在小麦粉中最大使用量为 150 mg/kg;日本批准的最大使用量为 300 mg/kg;而欧盟禁止使用 BPO。2011 年 3 月 1 日我国卫生部等多部门发出公告,自 2011 年 5 月 1 日起,禁止在面粉中添加 BPO。

本文参考《GBT 22325-2008 小麦粉中过氧化苯甲酰的测定 高效液相色谱法》,采用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪,建立小麦粉中过氧化苯甲酰的测定方法,本方法具有灵敏度高、操作简便特点。

实验条件

1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A,包括 CBM-20A 系统控制器,LC-20AD×2 高精度溶液输送泵,DGU-20A3 在线脱气机,SIL-20AC 自动进样器,CTO-20AC 柱温箱,SPD-M20A 二极管阵列检测器。

1.2 分析条件

色谱柱:Shimadzu VP-ODS 4.6 mm I.D.×150 mm L., 5 μm

流动相:A - 20 mM 乙酸铵,B - 甲醇,A/B=90/10 (v/v)

流速:1.0 mL/min

洗脱方式:等度洗脱

柱温:40°C

检测波长:190~370 nm

进样量:10 μL

1.3 样品处理

1.3.1 苯甲酸基质工作曲线的配制

标准工作溶液配制:用甲醇配制 1 mg/mL 的标准溶液,用甲醇稀释成 25.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100.0 μg/mL、200.0 μg/mL、400 μg/mL、500.0 μg/mL 的标准溶液系列浓度点,参照《GBT 22325-2008 小麦粉中过氧化苯甲酰的测定 高效液相色谱法》进行基质加标,基质加标具体浓度见表 1。

表 1. 基质标准工作液浓度点(mg/kg)

名称	检测波长(nm)	浓度1	浓度2	浓度3	浓度4	浓度5	浓度6
苯甲酸	224	5	10	20	40	80	100

1.3.2 试样的制备

称取样品 5 g (准确至 0.1 mg) 于 50 mL 具塞比色管中, 加 10.0 mL 甲醇, 在涡旋混合器上混匀 1 min, 静置 5 min, 加 50% 碘化钾水溶液 5.0 mL, 在涡旋混合器上混匀 1 min, 放置 10 min。加水至 50.0 mL, 混匀, 静置, 离心, 吸取上清液通过 0.22 μm 滤膜, 滤液置于样品瓶中备用。

结果与讨论

2.1 标准谱图

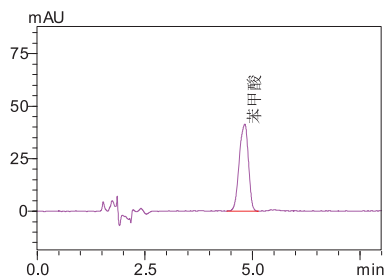


图 1. 苯甲酸浓度为 5 μg/mL 的色谱图

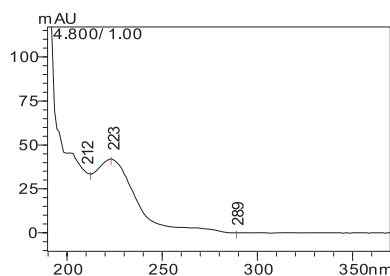


图 2. 苯甲酸的波长扫描光谱图

2.2 线性关系

由图 3 可以看出在 5–100 mg/kg 的浓度范围内, 苯甲酸的线性相关性良好, 相关系数为 0.9998, 以 5 mg/kg 进行低浓度实验, 计算方法检出限为 0.11 mg/kg, 定量限为 0.36 mg/kg。

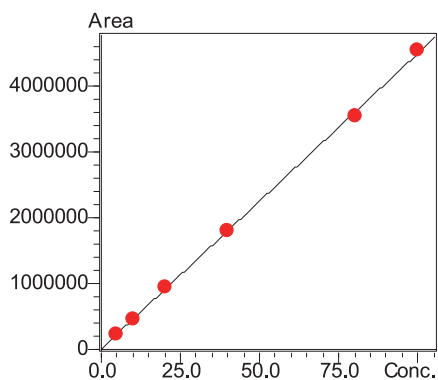


图 3. 苯甲酸的基质标准曲线

$$Y = (44752.9)X + (12497.5) \quad R=0.9998$$

2.3 精密度实验

对不同浓度的混合标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 2 所示。结果显示不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%–0.10% 和 0.24%–2.27% 之间, 仪器精密度良好。

表 2. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	RSD% (5 µg/mL)		RSD% (40 µg/mL)		RSD% (100 µg/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	4.807	237872	4.800	1645782	4.729	8633400
2	4.815	237303	4.804	1635146	4.727	8680785
3	4.813	246450	4.798	1649872	4.735	8652563
4	4.820	250787	4.797	1649071	4.736	8678084
5	4.814	247922	4.800	1688351	4.737	8678841
6	4.820	246365	4.800	1689527	4.734	8685678
RSD%	0.10	2.27	0.05	1.40	0.09	0.24

2.4 基质加标实验

按照 1.3.2 所述步骤处理空白小麦粉, 图 4 为空白基质色谱图, 图 5 为基质加标的样品色谱图, 由图可知, 小麦粉基质并未干扰到目标物的定量。小麦粉中添加不同浓度标样计算回收率结果见表 3。

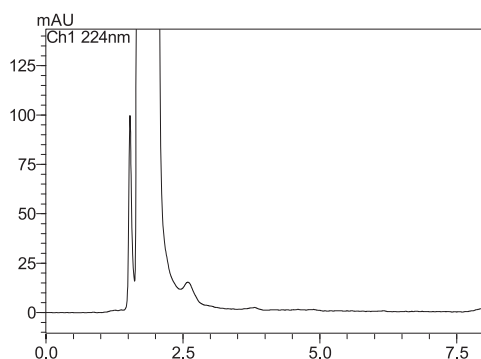


图 4. 空白小麦粉色谱图

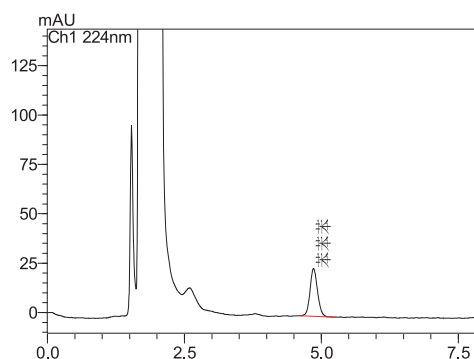


图 5. 小麦粉基质加标 5 mg/kg 的色谱图

表 3. 加标样品回收率(n=3)

样品名称	加标量(mg/kg)	苯甲酸(mg/kg)	过氧化苯甲酰 (mg/kg)	回收率(%)
小麦粉	5	4.85	4.81	97.0
	40	38.7	38.4	96.8

注: 由苯甲酸换算至过氧化苯甲酰 (BPO) 的换算系数: 0.992

结论

本实验使用岛津高效液相色谱仪 (LC-20A), 建立了小麦粉中过氧化苯甲酰含量测定的方法。过氧化苯甲酰在 5–100 mg/kg 的浓度范围内具有良好的线性相关性, 相关系数为 0.9998, 方法检出限为 0.11 mg/kg, 定量限为 0.36 mg/kg, 灵敏度高于《GBT 22325–2008 小麦粉中过氧化苯甲酰的测定 高效液相色谱法》。往空白基质添加不同浓度标准溶液, 回收率范围为 96.8%–97.0%, 结果表明方法准确可靠。

附录: 过氧化苯甲酰的中英文名称、分子式、相对分子质量及 CAS 号

中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS号
过氧化苯甲酰	Benzoyl peroxide	C ₁₄ H ₁₀ O ₄	242.23	94-36-0