

# 荧光光谱法测定食品中二丁基羟基甲苯

张蔚, 冯娜, 李满秀\*

(忻州师范学院化学系, 忻州 034000)

**摘要:** **目的** 建立食品中二丁基羟基甲苯(BHT)荧光光谱测定法。**方法** 在  $\text{KMnO}_4$  溶液( $\text{pH}=2.5$ )中, 温度为  $75\text{ }^\circ\text{C}$  的水浴锅中加热 50 min 后, BHT 的氧化产物在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=292/342\text{ nm}$  处发射强荧光, 用荧光光度计测定。**结果** BHT 在  $1.32\sim 11.01\text{ mg/L}$  范围内, 其氧化产物的荧光强度与 BHT 浓度呈良好的线性关系, 相关系数  $r=0.992$ , 方法检出限为  $0.01\text{ mg/L}$ , 精密度为  $2.1\%$ 。**结论** 该方法有较高灵敏度和较好精密度, 可用于食品中 BHT 的检测。**关键词:** 荧光光谱法; 二丁基羟基甲苯; 高锰酸钾; 氧化

## Determination of butylated hydroxytoluene in food by fluorescence spectroscopy

ZHANG Wei, FENG Na, LI Man-Xiu\*

(Department of Chemistry, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of butylated hydroxytoluene (BHT) in food by fluorescent spectrometry. **Methods** The condition of pretreatment was  $1.0\times 10^{-4}\text{ mol/L}$  concentration of the  $\text{KMnO}_4$  solution ( $\text{pH}=2.5$ ),  $75\text{ }^\circ\text{C}$  water bath for heating 50 min. After being heated, BHT was oxidated and it emitted strong fluorescence at  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=292/342\text{ nm}$ . The results were determined by fluorimetry. **Results** There was a good linear relationship between fluorescence intensity and concentration of BHT in the range of  $1.32\sim 11.01\text{ mg/L}$  with the correlation coefficient of  $r=0.992$ . The limit of detection was  $0.01\text{ mg/L}$ , and the relative standard deviation was  $2.1\%$ . **Conclusion** The established method is sensitive and accurate, and it is suitable for the determination of BHT in food.

**KEY WORDS:** fluorescent spectrometry; butylated hydroxytoluene; potassium permanganate; oxidation

## 1 引言

二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)、没食子酸丙酯(PG)和叔丁基对苯二酚(TBHQ)是油脂及其制品中最常用的合成抗氧化剂<sup>[1]</sup>, 能够与自动氧化中的链增长自由基反应, 消灭自由基, 从而使链式反应中断。BHT 在抗氧化过程中既可以作为氢的给

予体也可以作为自由基俘获剂。由于 2,6 位上有 2 个强力推电子基团, 因此, BHT 具有很强的抗氧化效果, 能够较好延迟食物酸败。

世界卫生组织食品添加剂联合委员会(JECFA)把 BHT 的每日允许摄入量定在每千克体重  $0.3\text{ mg}$ 。对于成年人, 大致相当于每天  $20\text{ mg}$  左右。按照现行的中国食品添加剂国家标准, BHT 在不同食品中(包

基金项目: 山西省高等学校大学生创新创业训练项目(2015381)、忻州师范学院大学生科技创新项目(2015)

**Fund:** Supported by the Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of Shanxi Province (2015381) and the Students' Innovation Program of Xinzhou Teachers University (2015)

\*通讯作者: 李满秀, 教授, 主要研究方向为分子光谱分析。E-mail: Lmxxz@sohu.com

\*Corresponding author: LI Man-Xiu, Professor, Department of Chemistry, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034000, China. E-mail: Lmxxz@sohu.com

括油炸面)的用量一般为每千克油脂 0.2 g。由于 BHT 被发现抑制人体呼吸酶的嫌疑, 所以被认为是目前较有争议的食品添加剂。因此, 开展食品中 BHT 含量测定研究十分必要。

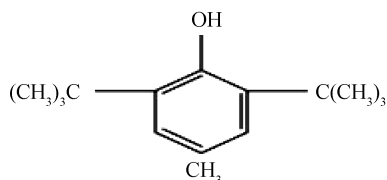


图1 BHT 结构式

Fig. 1 The structural formula of BHT

目前测定 BHT 的方法主要有气相色谱法<sup>[2]</sup>、高效液相色谱法<sup>[3-7]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[8-11]</sup>等, 由于受到方法本身灵敏度和线性范围等的限制, 使其应用带有一定的局限性<sup>[12]</sup>。目前, 未见有采用荧光光谱法测定 BHT 的文献报道, 我们发现在酸性条件下, 高锰酸钾能氧化二丁基羟基甲苯, 其产物具有良好的荧光特性, 且测得产物的荧光强度与加入二丁基羟基甲苯的量呈良好的线性关系, 在优化反应条件的基础上, 建立测定 BHT 的新方法, 该方法有较好的应用价值。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

F-4500 型荧光分光光度计(日本日立公司); KQ-400KDE 型大功率数控超声波清洗器(昆山市超声波清洗器); FE20 型 pH 计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); AL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); HH-2 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

BHT(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)储备液: 称取 0.2204 g BHT 用无水乙醇溶解, 移至 100 mL 容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 配成  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 的 BHT 储备液。

高锰酸钾(分析纯, 天津市化学试剂三厂), 其他试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。

### 2.2 实验方法

在 25 mL 比色管中, 依次加入 2.0 mL 2.2 mg/L BHT 标准溶液、2.0 mL pH 2.0 的盐酸和 2.0 mL

$1.0 \times 10^{-4}$  mol/L  $\text{KMnO}_4$  溶液, 用 95% 乙醇稀释 10 mL, 振荡均匀, 在 75 °C 的水浴锅中加热 50 min 后取出, 冷却至室温, 测定其荧光光谱, 记录 342 nm 处的荧光强度。

## 3 结果与讨论

### 3.1 反应体系荧光光谱

在实验条件下 BHT 能被  $\text{KMnO}_4$  溶液氧化, 其氧化产物具有良好的荧光性能, 在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=292/342$  nm 处发射强荧光, 激发和发射光谱如图 2 所示。

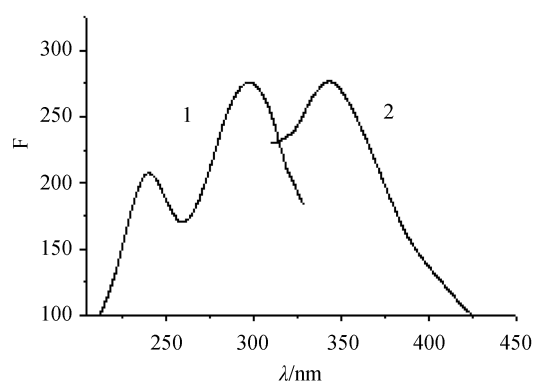


图2 BHT 氧化产物的荧光光谱图

(1. 激发光谱; 2. 发射光谱)

Fig. 2 Fluorescence spectrogram of oxidation products of BHT (1. excitation spectrum. 2. emission spectrum)

### 3.2 $\text{KMnO}_4$ 浓度对荧光强度的影响

移取 2.0 mL 2.2 mg/L BHT 溶液 4 份, 按实验方法在不同浓度的  $\text{KMnO}_4$  条件下测定其荧光强度。结果表明: 当  $\text{KMnO}_4$  溶液浓度分别为  $1.0 \times 10^{-2}$ 、 $1.0 \times 10^{-3}$ 、 $1.0 \times 10^{-4}$ 、 $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时, 其荧光强度分别为 90、97、181、133,  $\text{KMnO}_4$  浓度为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 反应体系的荧光强度最大, 确定其为反应时该溶液的浓度, 用量为 2.0 mL。

### 3.3 酸度对荧光强度的影响

移取 2.0 mL 2.2 mg/L BHT 溶液 4 份, 按实验方法在不同 pH 条件下测定其荧光强度, 见图 3。结果表明: 当溶液的 pH=2.5 时, 该反应体系的荧光强度最大, 故反应中加入 2.0 mL pH 2.0 的盐酸, 使反应体系 pH=2.5。

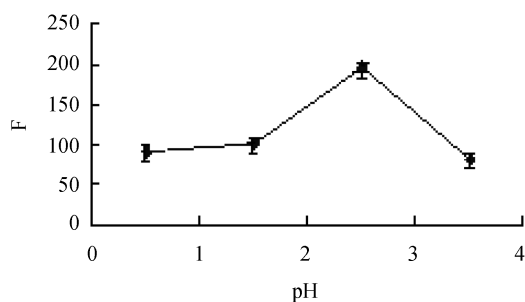


图 3 酸度对荧光强度的影响

Fig. 3 The effect of pH on fluorescence intensity

### 3.4 反应温度对荧光强度的影响

移取 2.0 mL 2.2 mg/L BHT 溶液 7 份, 按实验方法在不同温度反应后测定其荧光强度, 结果见图 4。结果表明: 温度为 75 °C 反应后, 该体系的荧光强度最大, 确定反应温度为 75 °C。

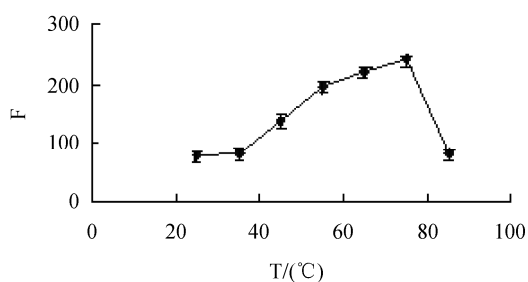


图 4 反应温度对荧光强度的影响

Fig. 4 The effect of temperature on the fluorescence intensity

### 3.5 反应时间对荧光强度的影响

移取 2.0 mL 2.2 mg/L BHT 溶液 7 份, 按实验方法在不同反应时间下测定其荧光强度, 结果见图 5。结果表明: 当反应时间为 50 min 时, 该反应体系的荧光强度最大, 确定反应时间为 50 min。

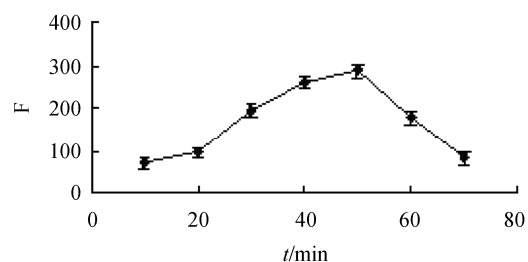


图 5 反应时间对荧光强度的影响

Fig. 5 The effect of time on the fluorescence intensity

### 3.6 增敏剂对反应体系的影响

本研究考察了十二烷基硫酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、 $\beta$ -环糊精等 3 种增敏剂对 BHT 反应体系荧光强度的影响。结果表明, 增敏剂对该反应体系影响不明显, 故反应中不用增敏剂。

### 3.7 共存物质的影响

当 BHT 浓度为 2.2 mg/L, 相对误差  $\pm 5\%$  时, 考察  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Cl}^-$  (浓度均为  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L) 对体系荧光强度的影响。结果表明, 常见离子不干扰测定。

### 3.8 方法分析特性

在 25 mL 比色管中加入不同体积 2.2 mg/L BHT, 按实验方法反应后测定其荧光强度, 记录数据绘制标准曲线。结果表明: BHT 在 1.32~11.01 mg/L 范围之内, 其氧化产物的荧光强度与浓度呈良好的线性关系, 回归方程为  $Y=39.71X+194.75$ , 相关系数  $r=0.992$ , 方法的检出限 ( $S/N=3$ ) 为 0.01 mg/L。对 8 份 2.2 mg/L BHT 溶液平行测定后, 其相对标准偏差为 2.1%, 表明该方法的精密度好。

### 3.9 样品测定

方便面中含有较多的脂肪、香辛料, 本研究采用甲醇、乙醇和乙腈作为提取溶剂进行试验。用乙腈和乙醇直接提取时, 将方便面中许多杂质提取出来, 在荧光检测时干扰 BHT 分析。用甲醇提取样品杂质少<sup>[6]</sup>, 不影响 BHT 测定。

称取 15 g 方便面溶解在 100 mL 95% 甲醇中, 放置 24 h, 过滤并将滤液稀释至 100 mL 容量瓶中, 取此样品溶液按最佳条件进行实验, 测定结果见表 1。

表 1 样品分析结果 ( $n=5$ )Table 1 Analytical results of samples ( $n=5$ )

样品	测定值 (mg/L)	加入量 (mg/L)	总测定值 (mg/L)	回收率 (%)
方便面 1	7.48	3.0	10.10	87.3%
方便面 2	6.72	3.0	9.47	91.7%

## 4 结论

本文研究了高锰酸钾氧化 BHT 产物的荧光特性, 建立了荧光测定 BHT 的新方法, 测定了方便面中 BHT 含量, 结果较为满意。该方法操作简便快速, 具

有较好的灵敏度和选择性,在食品中抗氧化剂监测方面有一定的应用价值。

### 参考文献

- [1] 张翠兰. 抗氧化剂BHT和食品级BHT国内市场应用情况[J]. 石化技术, 1997, (4): 251-253.  
Zhang CL. Domestic market for antioxidant BHT and its application [J]. Petrochem Ind Technol, 1997, (4): 251-253.
- [2] 游飞明, 翁其香. 气相色谱法快速测定油脂及加工食品中的BHA、BHT、TBHQ[J]. 福建分析测试, 2005, 4(14): 2290-2291.  
You FM, Weng QX. Rapid determination of BHA, BHT, TBHQ in oil and oil products by gas chromatography [J]. Fujian Anal Test, 2005, 4(14): 2290-2291.
- [3] 余涛, 叶坚. 高效液相色谱同时测定食品中 BHA、BHT、TBHQ 方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(12): 2136-2137.  
Yu T, Ye J. Determination of BHA, BHT and TBHQ in foods by high-performance liquid chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2007, 17(12): 2136-2137.
- [4] 俞晔, 刘一军, 舒永兰. HPLC法测定花生酱中BHA、BHT和TBHQ[J]. 食品科技, 2008, 8(3): 67-68.  
Yu Y, Lu YJ, Shu YL. Detection for BHA, BHT and TBHQ in peanut butter by HPLC [J]. Food Sci Technol, 2008, 8(3): 67-68.
- [5] 伍先绍, 柳永英, 赖丽琼. 液相色谱法同时快速测定植物油中TBHQ、BHA、BHT探讨[J]. 粮食与油脂, 2012, (4): 26-30.  
Wu XS, Liu YY, Lai LQ. Discussion on HPLC fast determination method of TBHQ, BHA and BHT content in vegetable oils [J]. Cereal Oil, 2012, (4): 26-30.
- [6] 周蓉, 陈铭学, 牟仁祥, 等. 反相高效液相色谱法同时测定食品中抗氧化剂 TBHQ、BHA 与 BHT[J]. 中国调味品, 2012, 37(10): 80-83.  
Zhou R, Chen MX, Mo RX, *et al.* Simultaneous determination of TBHQ, BHA and BHT in food by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. China Cond, 2012, 37(10): 80-83.
- [7] 申世刚, 董文静, 周建科. 油炸薯条中酚类抗氧化剂的高效液相色谱法测定[J]. 食品工业科技, 2008, 08: 270-271.  
Shen SG, Dong WJ, Zhou JK. Determination of phenolic antioxidants in fried potato by HPLC [J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 08: 270-271.
- [8] 岳振峰, 蓝芳, 谢丽琪. 气相色谱—质谱法测定 XO 酱中BHA、BHT 和 TBHQ[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(5): 205-207.  
Yue ZF, Lan F, Xie LQ. Determination of BHA, BHT and TBHQ in XO sauce by GC-MS [J]. Chin Cereal Oil Assoc, 2004, 19(5): 205-207.
- [9] 湛嘉, 俞雪钧, 黄伟, 等. 复杂基质食品中 7 种添加剂的气相色谱/质谱检测方法[J]. 分析科学学报, 2008, 24(6): 729-731.  
Zhan J, Yu XJ, Huang W, *et al.* A simple method for the simultaneous determination of 7 food additives in foods with complex matrices by GC/MS [J]. J Anal Sci, 2008, 24(6): 729-731.
- [10] 鞠福龙, 李东刚, 李春娟. GC-MS-SIM 法同时分析饮料中防腐剂和抗氧化剂[J]. 现代科学仪器, 2010, 1: 77-79.  
Ju FL, Li DG, Li CJ. Simultaneous testing preservatives and antioxidants in beverages by ion trap GC-MS-SIM [J]. Mod Sci Instrum, 2010, 1: 77-79.
- [11] 李春娟, 鞠福龙, 李东刚. GC-MS 法同时检测葡萄酒中 10 种防腐剂和抗氧化剂[J]. 中国酿造, 2009, 207(6): 149-152.  
LI CJ, Ju FL, Li DG. Simultaneous testing 10 preservatives and antioxidants in wine by GC-MS [J]. China Brew, 2009, 207(6): 149-152.
- [12] 岳振峰, 谢丽琪, 吉彩霓. 油脂及其制品中 BHA、BHT、PG 和 TBHQ 快速测定方法的研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(10): 49-50.  
Yue ZF, Xie LQ, Ji CN. A study on rapid determination method for BHA, BHT, PG, and TBHQ in oil and containing oil products [J]. Food Ferment Ind, 2002, 28(10): 49-50.

(责任编辑: 李振飞)

### 作者简介



张 蔚, 本科生, 主要研究方向为化学专业。

E-mail: 251379559@qq.com



李满秀, 教授, 主要研究方向为分子光谱分析。

E-mail: Lmxxz@sohu.com