

食用油过氧化值快速检测试剂盒的研制及其性能评价

龚琴, 王芳斌*, 孙桂芳, 蒋建, 陈理, 肖敏, 刘赛, 陈雄

(湖南省食品质量监督检验研究院, 长沙 410117)

摘要: **目的** 研制一种新型的食用油中过氧化值快速检测的试剂盒。**方法** 探索合适的替代溶剂以及最佳的试剂配比; 依据 GB 5009.37-2003 原理制作标准比色卡, 在反应载体上进行显色反应, 通过目视比色快速判定待测油脂的过氧化值。在食用油常温存放的3个月内, 同时采用试剂盒方法和国标方法检测其过氧化值, 通过比较验证试剂盒的准确性和稳定性。**结果** 选择安全低毒的乙醇:异辛烷(70:30, V:V)作为试剂盒实验的混合溶剂, 在配置的简单载体上可快速进行显色反应, 可检测的过氧化值区间范围为0.5~20 meq/kg。试剂盒在常温下存放的3个月内都能保持较好的准确度和稳定性。**结论** 该试剂盒可用于食用油中过氧化值的快速筛查, 具有广泛的市场应用前景。

关键词: 过氧化值; 快速检测; 试剂盒; 食用油

Research and performance evaluation of rapid detection kits for the determination of peroxide value in oils

GONG Qin, WANG Fang-Bin*, SUN Gui-Fang, JIANG Jian, CHEN Li, XIAO Min, LIU Sai, CHEN Xiong

(Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha 410117, China)

ABSTRACT: Objective To develop a new type of rapid detection kit for the determination of peroxide value in oils. **Methods** The befitting alternative solvents and the best ratio of reagents were explored. The standard color card was established according to national standard method (GB 5009.37-2003) principle, and color reactions can be carried out through the reaction carrier, and then the peroxide value of oils was tested by the naked eye. In order to verify the accuracy and stability of this kit, the peroxide value of oil stored at room temperature for 3 months were obtained and compared by kit's method and national standard method. **Results** Ethanol and isooctane (70:30, V:V) which were safe and low-toxic were selected as mixed solvent of kit experiment. It was rapid to determine peroxide value through color reaction in easily accessible carrier. The test range was 0.5~20 meq/kg. This kit maintained high accuracy and stability during 3 months. **Conclusion** This kit can be applied for the rapid screening of peroxide value in oil, which has broad market prospects.

KEY WORDS: peroxide value; rapid detection; kit; fat and oil

*通讯作者: 王芳斌, 博士, 教授, 研究员级高级工程师, 主要研究方向为食品安全。

*Corresponding author: WANG Fang-Bin, Ph.D., Professor, Research Institute Senior Engineer, Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha 410117, China.

1 引言

过氧化值是指 1 kg 样品中的活性氧含量,它是反映油脂酸败程度的重要卫生指标之一。油脂受环境的影响可能发生自动氧化产生不稳定的过氧化物,再经过复杂的相互作用会生成醛、酮、酸等小分子挥发性物质或聚合物而难以被代谢,并对人的健康造成损害。因此,研究油脂过氧化值的检测方法具有重大意义^[1,2]。

目前过氧化值的检测方法主要是依据 GB/T 5538-2005^[3]中的碘量法,但此法需要采用冰醋酸和异辛烷等有机溶剂,对操作人员和环境都存在一定危害,且检测耗时长,因此目前许多学者致力于探索更快速便捷的检测方法来取代此法。高向阳等^[4]利用过氧化物氧化碘离子生成单质碘,与 Luminol-I₂ 化学发光反应相耦合,实现了过氧化值的测定;Takamura 等^[5]和 Li 等^[6]利用氢过氧化物在近红外光谱中不同的吸收或把氢过氧化物转化成其他的稳定吸收基团,实现对食用油中过氧化值的检测;此外还有硫氰酸铁法^[7]、二甲酚橙法^[8]、核磁共振法^[9]、液相色谱法^[10]和红外光谱法^[11]等方法,这些方法基本能达到较高的检测精度,但需要昂贵的相关检测仪器,对于检测条件以及检测人员的技术能力要求严苛,不能满足日常快速检测的需要。

随着科学技术和检测仪器的的发展,多种快速、可视化的检测仪器已被广泛应用于油料和油脂的检测^[12]。于夕娟^[13]利用分光光度法测定食品油脂中过氧化值。陈瑶等^[14]采用有机微孔滤膜和活化硅胶作固相载体显色测定油炸食品的过氧化值,检测结果与吸光度法的测定结果无显著性差异。目前市售的过氧化值快速检测试剂盒存在检出限高、比色卡显色梯度不明显、准确度不够等方面的不足,本研究以 GB/T 5009.37-2003(4.2.2 比色法)^[15]为基础对过氧化值快速检测试剂盒进行深入研究,旨在研发出更经济便捷、准确实用的过氧化值快速检测试剂盒。

2 材料与方 法

2.1 原 料

大豆油、菜籽油、芝麻油、茶油、调和油、玉米油、花生油、橄榄油和葵花籽油,均购于商超。

2.2 仪器与试剂

TU-1900 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司);还原铁粉、氯化亚铁、硫氰酸钾(分析纯,国药集团);三氯甲烷、甲醇、乙醇、异辛烷(色谱纯,上海安谱公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 国标方法

参照 GB/T 5009.37-2003(4.2.2 比色法)^[15]测定过氧

化值。

2.3.2 试剂盒方法

(1) 试剂盒组成

过氧化值快速检测试剂盒如图 1 所示,由试剂 A、试剂 B、反应杯、比色卡、胶头滴管组成。

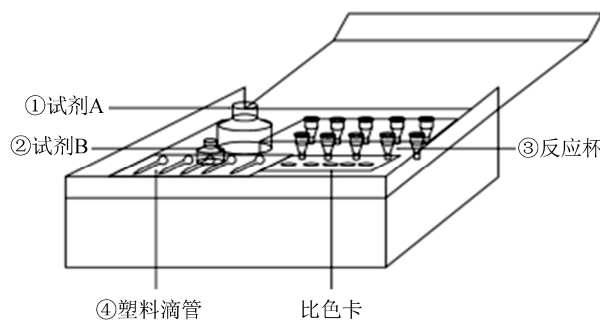


图 1 过氧化值快速检测试剂盒的组成

Fig. 1 The composition of peroxide value rapid detection kit

(2) 试剂盒的使用方法

使用胶头滴管从试剂 A 中取 5 mL 溶剂加入反应杯中,然后用指定的胶头滴管取 1 滴待测油样也加入反应杯中,轻轻摇晃反应杯使其混匀。在反应杯中加入一滴试剂 B,充分混匀显色 2 min 后即可与标准比色卡进行比色,读取对应的过氧化值区间。

(3) 标准溶液的制备

分别精密吸取铁标准使用溶液(10 μg/mL)0、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL(各自相当于铁离子质量 0、2.0、5.0、10.0、20.0、30.0、40.0 μg)于干燥的 10 mL 比色管中,用三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)混合溶剂稀释至刻度,混匀。加 1 滴(约 0.05 mL)硫氰酸钾溶液(300 g/L),混匀。室温(10~35 ℃)下准确放置 5 min 后,移入 1 cm 比色皿中,以三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)混合溶剂为参比,于波长 500 nm 处测定吸光度,以标准各点吸光度减去零管吸光度后绘制标准曲线。

3 结果与分析

3.1 溶剂的选择

GB/T 5009.37-2003(4.2.1 比色法)使用的溶剂为三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)的混合溶剂,由于三氯甲烷在光照下遇空气逐渐被氧化生成剧毒的光气并且有刺激性气味,难以将其用于快速检测试剂盒,因此需要探索合适的溶剂作为代替品。考虑到溶剂的毒性、溶解性和显色效果,尝试用乙醇:异辛烷(70:30, V:V)混合溶剂代替三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)。因为乙醇和异辛烷都属于低毒试剂,两者的互溶性较好,而且其混合溶剂的刺激性气味较弱。

选择三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)和乙醇:异辛烷(70:30,

V:V)两种混合溶剂,分别采用国标方法在 0~40 μg 铁离子质量范围内做标准曲线。乙醇和异辛烷为溶剂测定的标准曲线线性方程 $Y=0.0638X-0.0059$, $r^2=0.9994$; 三氯甲烷和甲醇为溶剂测定的标准曲线线性方程为 $Y=0.0633X-0.0195$, $r^2=0.9993$ 。由此看出,两种溶剂下的标准曲线线性都较好,相关系数均能达到 0.999,这说明采用乙醇:异辛烷(70:30, V:V)作为溶剂可以达到和国标方法采用三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V)作溶剂相同的显色效果,而且更加经济和环保,因此可选择乙醇异辛烷的溶剂组合作为试剂盒的溶剂。

3.2 最佳试剂配比

为了筛选最佳的溶剂比例,选取标准曲线的中间点(10 μg)和一个标准油品作为实验对象,探索 4 种不同比例的乙醇和异辛烷(60:40、70:30、80:20、90:10, V:V)混合溶剂与国标方法(三氯甲烷:甲醇(70:30, V:V))检测结果的差异。从表 1 可以看出,当乙醇和异辛烷的比例为 70:30 时,标准点的吸光度与国标方法最为接近,而且样品的过氧化值也最接近国标方法,因此将试剂盒最佳溶剂配比确定为乙醇:异辛烷=70:30(V:V)。

3.3 标准比色卡的制作

确定溶剂的种类、最佳比例后,通过调整铁标准溶液加入量来制作标准比色卡。在显色载体上加入不同浓度的

铁标准溶液,选取显色明显的浓度区间,在对应梯度的显色区域下方标注对应的油脂过氧化值量,标准比色卡如下图 2 所示,标准比色卡的颜色从浅粉色到深红色渐变。

3.4 准确性实验

同时采用试剂盒方法和国标方法检测 10 个不同油样的过氧化值,结果见表 2。从表 2 可以看出,10 个油样的国标方法检测结果均在试剂盒方法检测结果的区间范围内,对于接近区间临界点的油脂(4 号、5 号和 10 号),试剂盒的检测结果和国标方法检测结果也基本一致,说明试剂盒可以准确测定 0.5~20 meq/kg 区间不同油脂的过氧化值。

3.5 稳定性实验

为考查试剂盒在室温环境下的稳定性能,制作一批试剂盒置于室温环境下保存 3 个月,每间隔一段时间同时采用试剂盒方法和国家标准方法对 5 种不同油样的过氧化值进行检测,每个样品测定 3 次。通过比较两种方法测试结果的一致性来判定试剂盒的准确性,结果见表 3。由表 3 可知,在 3 个月内国标方法所检测的油脂过氧化值基本都在快速试剂盒检测的范围内,对于部分过氧化值接近区间临界点的油样,试剂盒的判断结果也较为准确。这表明试剂盒在常温下存放的 3 个月内稳定性良好,可用于油脂中过氧化值的半定量检测。

表 1 不同比例溶剂的试剂盒法与国标方法检测结果比较($n=3$)

Table 1 Comparison of testing results between detection kit with different proportion of solvents and standard method ($n=3$)

不同比例溶剂组合	铁离子标准溶液/ μg	标准油品过氧化值/(meq/kg)
乙醇和异辛烷 60:40	10.8296	5.42 \pm 0.2
乙醇和异辛烷 70:30	9.7605	5.20 \pm 0.2
乙醇和异辛烷 80:20	9.6229	5.02 \pm 0.3
乙醇和异辛烷 90:10	9.4182	4.95 \pm 0.2
国标方法检测结果	10.0125	5.27 \pm 0.4

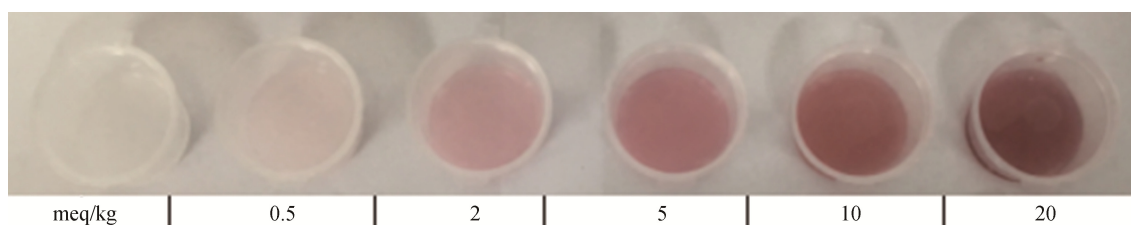


图 2 过氧化值标准比色卡

Fig. 2 The standard color card of peroxide value

表2 试剂盒准确性实验
Table 2 The accuracy experiment of kit

油样序号	国标方法检测结果/(meq/kg)	试剂盒检测范围的最小值/(meq/kg)	试剂盒检测范围的最大值/(meq/kg)
1号葵花籽油	1.25	0.5	2
2号大豆油	3.52	2	5
3号菜籽油	4.26	2	5
4号芝麻油	2.85	2	5
5号茶油	5.82	5	10
6号调和油	16.25	10	20
7号玉米油	0.94	0.5	2
8号花生油	8.29	5	10
9号橄榄油	11.35	10	20
10号茶油	20.35	20	20

表3 试剂盒稳定性实验
Table 3 The stability experiment of kit

存放时间	检测方法	大豆油/(meq/kg)	菜籽油/(meq/kg)	花生油/(meq/kg)	芝麻油/(meq/kg)	调和油/(meq/kg)
2周	国标方法	3.25	12.18	1.36	2.15	6.78
	试剂盒测试范围	5~10	10~20	0.5~2	2	5~10
1个月	国标方法	4.17	13.15	1.9	2.89	6.89
	试剂盒测试范围	2~5	10~20	2~5	2~5	5~10
2个月	国标方法	4.98	13.79	2.34	3.11	7.15
	试剂盒测试范围	5	10~20	2~5	2~5	5~10
3个月	国标方法	5.06	14.12	2.76	3.55	7.36
	试剂盒测试范围	5	10~20	2~5	2~5	5~10

4 结论

本研究研制的过氧化值快速检测试剂盒具备如下优点: (1)操作简捷, 使用方便。试剂盒小巧方便携带, 而且使用方法简单可行。(2)准确度高且稳定性好, 在常温下存放3个月以内的试剂盒都保持较好的稳定性和较高的准确度。(3)试剂盒检出限远远低于市售同类过氧化值检测试剂盒, 而且检测区间在0.5~20 meq/kg之间, 能满足不同等级油脂中过氧化值的检测需求。(4)比色卡不同区间显色梯度明显, 可减少视觉误差对结果的影响。(5)相关试剂对环境和实验操作人员更加安全, 不局限于在实验室环境下使用。

本研究研制的过氧化值快速检测试剂盒可广泛应用于食品安全控制的各个环节, 达到对油脂品质进行快速筛查的目的。无论是消费者、生产者还是监管部门都可以使用此试剂盒来半定量检测油脂的过氧化值含量, 其应用前

景广阔。

参考文献

- [1] 侯景芳, 李桂霞, 李奕然, 等. 浅谈油脂酸败及储存[J]. 农产品加工, 2013, (6): 60-62.
Hou JF, Li GX, Li YR, *et al.* Discussion on the oil rancidity and storage [J]. Acad Period Farm Prod Proc, 2013, (6): 60-62.
- [2] Choe E, Min DB. Mechanisms and factors for edible oil oxidation [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2006, 5(4): 169-186.
- [3] GB/T 5538-2005 动植物油脂过氧化值的测定[S].
GB/T 5538-2005 Determination of peroxide value in animal and vegetable fats and oils [S].
- [4] 高向阳, 刘炎超, 王慧荣, 等. Luminol-I₂化学发光体系测定食用油中过氧化值的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 318-320.
GAO XY, Liu YC, Wang LY, *et al.* Study on determination of peroxide value in cooking oils by Luminol-I₂ chemiluminescence system [J]. Food Sci, 2008, 29(2): 318-320.
- [5] Takamura H, Hyakumoto N, Endo N, *et al.* Determination of lipid

- oxidation in edible oils by near-infrared spectroscopy [J]. *J Near Infrared Spectrosc*, 1995, (3): 219–226.
- [6] Li H, Van De Voort FR, Ismaila A, *et al.* Determination of peroxide value by Fourier transforms near-infrared spectroscopy [J]. *J Am Oil Chem Society*, 2000, 77(2): 137–142.
- [7] Jiang Z, Wool lard A, Wolff S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe^{2+} in the presence of xylenol orange comparison with the TBA assay and an iodometric method [J]. *Lipids*, 1991, 26(10): 853–856.
- [8] 张荣华, 陈瑶. 食用油脂过氧化值检测方法的研究[J]. *粮食与食品工业*, 2012, (6): 97–100.
Zhang RH, Chen Y. Research on detection methods of peroxide value in edible oils [J]. *Grain Food Ind*, 2012, (6): 97–100.
- [9] Pajunen TI, Koskela H, Hase T, *et al.* NMR properties of conjugated linoleic acid (CLA) methyl ester hydroperoxides [J]. *Chem Phys Lipids*, 2008, 154(2): 105–114.
- [10] Bauer-Plank C, Steenhorst-Slikkerveer L. Analysis of triacylglyceride hydroperoxides in vegetable oils by nonaqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. *J Am Oil Chem Society*, 2000, 77(5): 477–482.
- [11] Yu X, Du S, Van De Voort FR, *et al.* Automated and simultaneous determination of free fatty acids and peroxide values in edible oils by FTIR spectroscopy using spectral reconstitution [J]. *Anal Sci*, 2009, 25(5): 627–632.
- [12] 相朝清, 焦健, 侯丽霞, 等. 油脂检测技术的发展现状[J]. *农产品加工学刊*, 2010, 199(2): 88–91.
Xiang CQ, Jiao J, Hou LX, *et al.* Status of oil detection technology [J]. *Acad Period Farm Prod Process*, 2010, 199(2): 88–91.
- [13] 于夕娟. 分光光度法测定食品油脂中过氧化值的研究[J]. *预防医学论坛*, 2009, 15(9): 860–862.
Yu XJ. Research on the determination of peroxide value in food fat [J]. *Prev Med Trib*, 2009, 15(9): 860–862.
- [14] 陈瑶, 安铁梅, 刘冬蕊, 等. 固相比色快速检测油炸食品中油脂过氧化值[J]. *粮油食品科技*, 2012, 20(5): 33–35.
Chen Y, An TM, Liu DR, *et al.* Rapid determination of peroxide value in fried foods by solid-phase colorimetry [J]. *Grain Oil Food Sci Technol*, 2012, 20(5): 33–35.
- [15] GB/T 5009.37-2003 食用植物油卫生标准的分析方法[S].
GB/T 5009.37-2003 Methods for analysis of hygienic standards of edible oil [S].

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



龚 琴, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 277691593@qq.com



王芳斌, 博士, 教授, 研究员级高级工程师, 主要研究方向为食品安全。