

# 高效液相色谱法测定莱芜花椒籽油中的没食子酸丙酯

张红波 王燕红

(山东省莱芜市食品药品检验检测中心,山东莱芜 271100)

**摘要** 建立了花椒籽油中没食子酸丙酯的高效液相测定方法。样品经凝胶渗透色谱净化、浓缩后,用 C18 柱为分离柱分离,以 0.5% 甲酸水-甲醇为流动相(体积比为 1:1),柱温 35 ℃,紫外检测器在波长 280 nm 条件下检测。结果表明,没食子酸丙酯在 0.02~0.40 mg/mL 范围内有良好的线性关系, $R^2=0.9996$ ,峰面积相对标准偏差为 2.09%( $n=6$ ),平均加标回收率为 98.55%。该方法简便,准确,有好的重复性,适合检测机构日常检测。

**关键词** 花椒籽油;没食子酸丙酯;高效液相色谱法

中图分类号 TS207.3 文献标识码 A 文章编号 1007-5739(2019)09-0211-02

## Determination of Propyl Gallate in Laiwu Prickly Ash Seed Oil by HPLC

ZHANG Hong-bo WANG Yan-hong

(Laiwu Food and Drug Inspection and Testing Center in Shandong Province, Laiwu Shandong 271100)

**Abstract** A method for determination of propyl gallate (PG) in prickly ash seed oil was developed by high performance liquid chromatography. The samples were purified and concentrated by gel permeation chromatography. The liquid chromatographic separation was performed on a C18 column. The mobile phase was 0.5% formic acid-methanol (1:1) with column temperature of 35 ℃, and the samples lastly detected at 280 nm through a UV detector. The results showed that the calibration curve was well linear between 0.02-0.40 mg/mL with the correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9996. The relative standard deviation (RSD) was 2.09% ( $n=6$ ), and the average recovery was 98.55%. The method is simple and accurate, it has good repeatability, which is suitable for routine testing.

**Key words** prickly ash seed oil; propyl gallate; HPLC

没食子酸丙酯(Propyl Gallate, PG),又名鞣酸丙酯,化学名为 3,4,5-三羧基苯甲酸丙酯,是一种油性酚型抗氧化剂<sup>[1]</sup>。目前,油脂及其制品中最常用的合成抗氧化剂主要有二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)、特丁基对苯二酚(TBHQ)及 PG<sup>[2]</sup>。PG 相较于 BHT、BHA 及 TBHQ 等油性抗氧化剂,因其低毒、安全性高等特点而广泛用于食用油、饲料、油炸食品、富脂饼干、罐头及腊肉制品中,是世界卫生组织(WTO)和联合国粮农组织(FAO)批准使用的优良油脂抗氧化剂之一<sup>[3]</sup>。我国《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760—2011)<sup>[4]</sup>规定,PG 可以在食品中限量使用,添加量一般在 0.1~0.4 g/kg 之间。但是,在食品中过度添加 PG 会对人体健康尤其是肾脏产生严重危害<sup>[5-6]</sup>,因此,必须加强食品中没食子酸丙酯的含量监控。目前,检测 PG 的常见方法有分光光度法<sup>[7-8]</sup>、薄层法、比色法<sup>[9]</sup>及液相色谱法<sup>[10-11]</sup>,但这些方法存在灵敏度不高、样品预处理复杂或操作繁琐等缺点。

花椒籽油是从花椒中提取的呈香、呈味物质的植物油,具有花椒特有的香气和麻味<sup>[12]</sup>。莱芜大红袍花椒在第三届中国农业博览会上被评为名牌产品。1971 年,莱芜被列为山东省花椒商品基地县。1998 年莱城区被命名为“中国花椒之乡”。但是,关于莱芜花椒籽油中没食子酸丙酯的测定,尚未见详细资料报道。本文以 GPC 为净化手段,结合高效液相色谱-紫外检测器对莱芜花椒籽油中 PG 进行检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

**1.1.1 试剂。**没食子酸丙酯标准品(德国 Dr.Ehrenstorfer 公司,纯度大于 99%),甲酸(HCOOH,色谱纯),甲醇(CH<sub>3</sub>OH,色谱纯),乙酸乙酯(CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),环己烷(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>),水来自实验室超纯水机,电导率大于 18 MΩ。

自实验室超纯水机,电导率大于 18 MΩ。

**1.1.2 主要仪器。**赛默飞高效液相色谱仪 U3000,凝胶渗透色谱仪,分析天平(感应量 0.1 mg)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 色谱条件。**色谱柱为 C18 柱(4.6 mm×250 mm);柱温为 35 ℃;检测波长为 280 nm;进样量为 10 μL;流动相为 0.5%甲酸水-甲醇(1:1),流速为 1.0 mL/min。

**1.2.2 标准溶液的配制。**称取 PG 标准品 0.1 g(精确至 0.1 mg),用甲醇溶解于 100 mL 棕色容量瓶中,配制成 1 mg/mL 的标准储备液,放置于-4 ℃冰箱中避光保存。使用甲醇将该储备液逐级稀释为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.40 mg/mL 的标准工作液。

**1.2.3 样品前处理。**称取花椒籽油样品 0.5 g 于 10 mL 容量瓶中,以乙酸乙酯和环己烷混合溶液(体积比为 1:1)定容至刻度,待净化。将 10 mL 待净化液加入凝胶渗透色谱(GPC)进样管中在线浓缩,于 40 ℃下旋转蒸发至干,加入 2 mL 甲醇定容,过 0.22 μm 有机系滤膜,供液相色谱测定。同时做空白试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理条件的优化

样品运行前,需对全自动凝胶渗透色谱系统的洗脱条件进行选择。以 5.0 mL/min 流速洗脱,以紫外检测器测油脂及 PG 的流出时间。由紫外吸收谱图可知,油脂以及一些大分子物质在 7 min 内已基本分离洗脱完毕。本文最终决定采用 8.5~16.0 min 作为流动相收集时间。

### 2.2 液相色谱条件的选择

对流动相流速、检测波长及柱温等色谱条件进行了选择,经多次试验,流动相流速为 1 mL/min,检测波长 280 nm,柱温 35 ℃时,分离效果及目标物的峰形都较理想。图 1 为 PG 在最优化色谱条件下的液相色谱图。

**作者简介** 张红波(1977-),女,山东莱芜人,副高级中药师,从事药品检验方面的工作。

**收稿日期** 2019-01-16

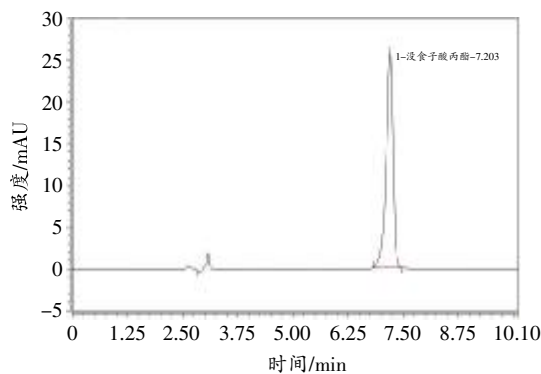


图1 PG在最优化色谱条件下的液相色谱图

### 2.3 标准曲线绘制

按 1.2.1 的色谱条件,对 0.02~0.40 mg/mL 浓度范围内的标准工作液进行测定,以峰面积  $y$  为纵坐标、浓度  $x$  为横坐标绘制线性曲线。结果显示,在此浓度范围内浓度和峰面积之间有良好的线性关系。没食子酸丙酯的标准曲线如图 2 所示,回归方程为  $y=0.265 0x-0.592 9$ ,相关系数为 0.999 6,检出限为 2 mg/kg,相对标准偏差为 0.15%。

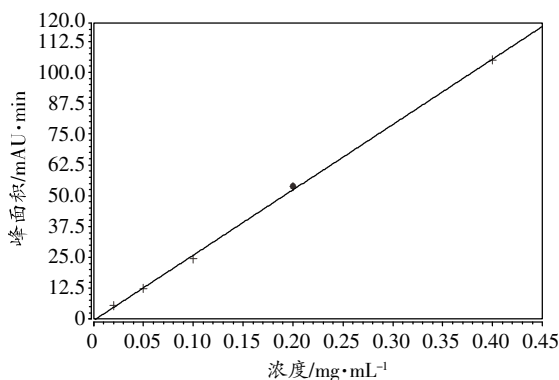


图2 没食子酸丙酯的标准曲线

### 2.4 精密度测定

取 0.20 mg/mL 标准溶液,按选定的试验条件连续测试 6 次,结果如图 3 所示,峰面积及保留时间的相对标准偏差分别为 2.09%和 0.22%(表 1)。

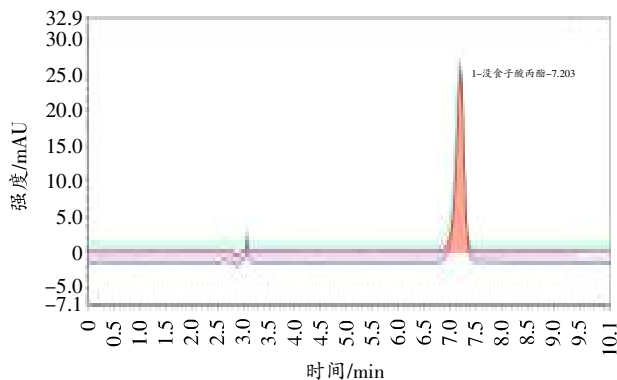


图3 没食子酸丙酯的精密度测定

### 2.5 加标回收率测定

称取适量样品,按线性范围加入一定量的没食子酸丙酯标准物质,按照 1.2.3 中的方法处理后,进行加标回收试验。从表 2 可以看出,在该分析条件下没食子酸丙酯的平均加标

表1 精密度试验结果

PG 测定值/mg·mL <sup>-1</sup>	保留时间/min	峰面积
0.20	7.203	4.422 0
0.20	7.207	4.440 7
0.20	7.207	4.437 8
0.20	7.203	4.529 6
0.20	7.178	4.312 9
0.20	7.172	4.279 0
相对标准偏差/%	0.220	2.090 0

表2 加标回收试验

样品编号	测量本底值 mg·mL <sup>-1</sup>	加标量 mg·mL <sup>-1</sup>	实测值 mg·mL <sup>-1</sup>	回收率 %	平均回收率/%	相对标准偏差/%
1	0	0.025 0	0.024 7	98.8	98.55	2.25
2	0	0.050 0	0.051 0	102.0		
3	0	0.100 0	0.098 5	98.5		
4	0	0.150 0	0.145 5	97.0		
5	0	0.250 0	0.238 5	95.4		
6	0	0.350 0	0.348 6	99.6		

回收率为 98.55%,相对标准偏差为 2.25%,测定结果准确可靠,完全满足日常检测要求。

### 2.6 样品测定

本试验的样品采购于超市、饭店等场所,共计 12 份花椒籽油,在被测样品中标识含有没食子酸丙酯的样本均有检出,未标识含有没食子酸丙酯的样品均低于检出限,按照《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760-2011)<sup>[4]</sup>最大使用量为 0.1 g/kg 的限度要求,无过量添加。

### 3 结论与讨论

本方法以 0.5%甲酸水-甲醇为流动相(体积比为 1:1),紫外检测器波长 280 nm,一次进样,10 min 内可完成花椒籽油中没食子酸丙酯的测定,没食子酸丙酯在 0.02~0.40 mg/mL 范围内有良好的线性关系, $R^2=0.999 6$ ,峰面积相对标准偏差为 2.09%( $n=6$ ),平均加标回收率为 98.55%。可见,该方法精密度好、快速简便、分离效果好,适合检测机构日常检测。

### 4 参考文献

- [1] 李丽,王芳,王科玲,等.食用油中没食子酸丙酯的纳米银催化-高碘酸钠-鲁米诺化学发光测定法[J].环境与健康杂志,2015,32(3):263-265.
- [2] 李因,姜子涛,李荣.食品中没食子酸丙酯的定量分析研究进展[J].食品研究与开发,2007,28(9):172-175.
- [3] 张霞,李杰,陈丹云.没食子酸丙酯及其衍生物的合成研究进展[J].河北化工,2004(5):18-19.
- [4] 中华人民共和国卫生部.食品添加剂使用标准:GB/T 2760-2014[S].北京:中国标准出版社,2014.
- [5] 蔡俊峰.凝胶渗透色谱法测定植物油中没食子酸丙酯[J].质量技术监督研究,2013(6):7-10.
- [6] 马腾达,王慧玲,周凤霞,等.没食子酸丙酯在食品检测中的研究新进展[J].吉林农业,2018(2):64.
- [7] 殷日昌,寇相波,刘国全.食用油中 PG 的测定[J].中国油脂,2000,25(2):58.
- [8] 杨秀军.氯金酸分光光度法测定食用油中微量没食子酸丙酯[J].粮油食品科技,2016,24(2):73-75.
- [9] 中国食品添加剂生产应用工业协会.食品添加剂分析检验手册[M].北京:中国轻工业出版社,1999:47-48.
- [10] RAFECAS M, GUARDIOLA F, ILLERA M, et al. Liquid chromatographic de-termination of phenolic antioxidants in bakery products[J]. J Chromatogr A, 1998, 822:305-309.
- [11] PERRIN C, MEYER L. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in dry foods by reversed-phase HPLC with photodiode array detection[J]. Food Chem, 2002, 77:93-100.
- [12] 胡银川,李明元.花椒油醇提工艺优化及水提醇提成分分析比较[J].中国调味品,2010,35(7):93-95.