

# 小麦粉中过氧化苯甲酰的定性和定量检测方法研究

张玉荣, 张德伟, 周显青, 刘月婷

(河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001)

**摘要:** 基于过氧化苯甲酰(BPO)在酸性加热条件下可氧化 $Fe^{2+}$ 生成 $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ 与二安替比林甲烷(DAPM)形成橙色络合物而显色的原理,建立了小麦粉中BPO快速定性分析的目视比色法和定量分析的分光光度法。研究了缓冲液用量、硫酸亚铁铵用量、DAPM用量、反应温度和反应时间对显色的影响,并对实验条件进行了优化。结果表明,在最优化实验条件下,显色体系的颜色随BPO浓度的升高而加深,色度值呈规律性变化,且在BPO浓度0 mg/L~12 mg/L范围内符合比尔定律,线性回归方程为 $\Delta A=0.036+0.110 C$  (mg/L),  $R^2=0.9996$ , 420 nm处表观摩尔吸光系数 $\epsilon=2.765\times 10^4$  L/(mol·cm)。该法用于实际样品的分析,目视比色法可快速确定BPO的含量范围,分光光度法检出限为0.016 mg/L,加标回收率为97.0~101.8%,相对标准偏差(RSD)小于5%。

**关键词:** 小麦粉; 过氧化苯甲酰; 快速检测; 目视比色法; 分光光度法

文章编号: 1673-9078(2014)1-170-174

## Qualitative and Quantitative Detection of Benzoyl Peroxide in Wheat Flour

ZHANG Yu-rong, ZHANG De-wei, ZHOU Xian-qing, LIU Yue-ting

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Based on the principle that  $Fe^{2+}$  is oxidized to  $Fe^{3+}$  by benzoyl peroxide (BPO) under acidic and heating conditions, and orange complex was generated by  $Fe^{3+}$  and diantipyryl methane (DAPM), visual colorimetry for fast qualitative analysis and spectrophotometric for quantitative analysis of BPO in wheat flour were built. In this paper, the experimental conditions of BPO detection method were optimized, and the experimental influencing factors including buffer solution content, ammonium ferrous sulfate content, DAPM content, reaction temperature and reaction time were studied. The results showed that under the optimum conditions, the color of the complex gradually deepened with the increase of BPO content, and chromatic values changed regularly. It was obeyed Beer's law when the concentration range of BPO was within 0~12 mg/L. The linear regression equation was  $\Delta A = 0.036 + 0.110 C$  (mg/L) with correlation coefficient of 0.9996, and the apparent molar absorption coefficient was  $2.765\times 10^4$  L/(mol·cm) at 420 nm. The recovery rate for spiked standards was 97.0~101.8%, with the relative standard deviation (RSD) less than 5%. The BPO content range was rapidly determined by visual colorimetry, and its detection limit was 0.016 mg/L.

**Key words:** wheat flour; benzoyl peroxide; rapid detection; visual colorimetry; spectrophotography

过氧化苯甲酰(BPO)是一种高反应性氧化有机物质,它的强氧化性对小麦粉有较好的增白和防腐作用,常作为小麦粉改良剂而使用<sup>[1]</sup>。但由于过氧化苯甲酰会破坏小麦粉中类胡萝卜素等营养成分,并且长期食用含有过氧化苯甲酰的小麦粉会增加人体肝脏代谢负担,对人体的健康产生不利影响<sup>[2]</sup>,因此,我国于2011年5月起禁止使用BPO作为小麦粉添加剂。但由于利益的驱使目前仍有部分小麦粉生产和经营商违法添加BPO。目前,小麦粉中BPO的检测方法主要有碘量法<sup>[3]</sup>、气相色谱法<sup>[4]</sup>、液相色谱法<sup>[5,6]</sup>、化学

发光法<sup>[7-8]</sup>、生物传感器法<sup>[9]</sup>、分光光度法<sup>[10,11]</sup>等。碘量法利用BPO与KI反应生成碘单质,用 $Na_2S_2O_3$ 进行定量滴定,此法检出限较高,一般只适用于BPO纯品的分析。气、液相色谱法均为国标所推荐,但气相色谱样品前处理麻烦,检测周期长。液相色谱仪器昂贵,不易普及。化学发光法利用BPO与化学试剂反应产生光辐射,通过化学发光仪感知其辐射强度来检测BPO含量,此法检测灵敏度高,检出限较低,但化学发光仪器不常见。生物传感器法利用传感器与BPO反应,再通过换能器将反应产生的变化量转化为电信号,从而实现对BPO的定性或定量检测,此法灵敏度较高,但生物传感器的制备较为麻烦。分光光度法具有仪器常见,操作简便等优点,目前已报道的分光光度法检测体系有BPO-KI-淀粉体系<sup>[10]</sup>、BPO- $Fe^{2+}$ -邻菲

收稿日期: 2013-09-02

作者简介: 张玉荣(1967-),女,教授,主要从事农产品储藏与品质分析  
通讯作者: 周显青(1964-),男,博士,教授,主要从事谷物科学及产后加工利用

罗啉体系<sup>[1]</sup>等。本文利用 BPO 的氧化性, 将  $\text{Fe}^{2+}$  氧化生成  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  与 DAPM 显色, 建立了一种新的 BPO 定性和定量的检测方法, 以实现小麦粉违禁添加剂 BPO 的快速检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

市售小麦粉: 购自郑州小麦粉市场; 过氧化苯甲酰标准液: 0.1 mg/mL 无水乙醇溶液; 硫酸亚铁铵:  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L; 乙酸-乙酸钠缓冲液: 0.1 mol/L 乙酸钠, 加适量乙酸调 pH 为 4.0; 二安替吡啉甲烷: 0.1 mol/L; 试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

### 1.2 主要仪器设备

722s 分光光度计: 上海精密科学仪器有限公司; 扫描仪: 上海中晶科技有限公司; 80-1 型离心机: 上海手术器械厂; AY120 型电子天平: Shimadzu Corporation Japan; HWS-30B 型恒温水浴锅: 上海百典设备仪器有限公司; 比色采集器: 用光学玻璃自制。

### 1.3 实验方法

取两只 10 mL 比色管, 一只加入一定量的 BPO 标准液或待检液, 另一只做空白。分别加入一定量的乙酸-乙酸钠缓冲液和硫酸亚铁铵溶液, 于一定温度下水浴反应一定时间, 取出冷却室温后, 加入一定量的 DAPM 溶液显色, 用蒸馏水定容至刻度。观察溶液颜色, 在一定波长下测其吸光度。

### 1.4 数据处理

采用 Origin 8.0 和 SPSS 13.0 对试验数据进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 显色体系的确立

由文献<sup>[2]</sup>可知, BPO 在一定条件下可氧化  $\text{Fe}^{2+}$  为  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  可与 DAPM 形成橙色络合物, 以此可研究建立一种基于  $\text{Fe}^{3+}$ -DAPM 显色体系间接测定小麦粉中 BPO 的方法。取 3 只 10 mL 比色管, 分别加入 0 mL、0.6 mL、1.0 mL BPO 标准液, 按 1.3 的步骤加入一定量的其他试剂。在波长 300~800 nm 范围内进行光谱扫描, 结果见图 1, 由图 1 可知, 3 个浓度下的吸收曲线极其相似, 在 420 nm 处均呈现出一个吸收峰且随着 BPO 加入量的增大吸光度逐渐增大, 并且增加量

明显, 这表明该显色体系具有较高的灵敏度。因此, 选用 420 nm 处作为测定波长, 对该体系的显色条件进一步优化, 并考察其在优化条件下是否符合比尔定律。

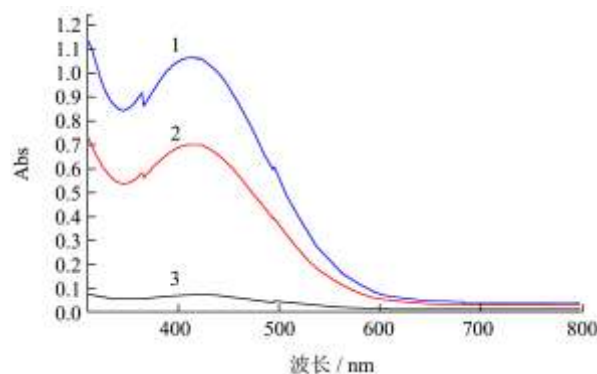


图 1 光谱吸收曲线

Fig.1 Absorption spectra of the color system

注: 1: 1.0 mL BPO+1.0 mL 硫酸亚铁铵+2 mL 缓冲液+2 mL DAPM; 2: 0.6 mL BPO+1.0 mL 硫酸亚铁铵+2 mL 缓冲液+2 mL DAPM; 3: 0 mL BPO+1.0 mL 硫酸亚铁铵+2 mL 缓冲液+2 mL DAPM。

### 2.2 最佳测定条件的选择

#### 2.2.1 缓冲液用量对显色的影响

缓冲液的加入可为反应介质提供酸性条件, 在硫酸亚铁铵、DAPM 加入量均为 1.0 mL, 60 °C 水浴反应 5 min 条件下, 研究乙酸-乙酸钠缓冲液加入量在 0 mL~2.0 mL 时显色体系吸光度的变化。结果如图 2。由图 2 可知, 显色体系吸光度在缓冲液加入量 0 mL~0.8 mL 范围内逐渐增加, 在 0.8 mL 用量时达到最大且在 1.0 mL~2.0 mL 范围内趋于稳定。实验选择 1.0 mL 加入量。

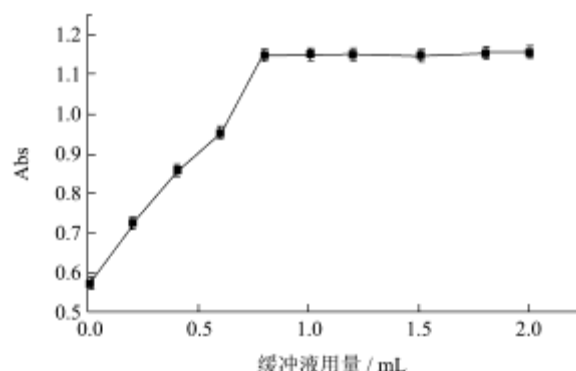


图 2 缓冲液用量对体系吸光度的影响

Fig.2 The influence of the dosage of buffer solution on the absorbancy of the system

#### 2.2.2 反应介质中 $\text{Fe}^{2+}$ 浓度对显色的影响

在缓冲液最佳用量, 其他条件同 2.2.1 的情况下, 研究了硫酸亚铁铵加入量在 0 mL~2.0 mL 时显色体系

吸光度的变化。结果(图3)表明,显色体系吸光度在硫酸亚铁铵用量0.8 mL时达到最大,在1.0 mL~2.0 mL范围内基本保持稳定。因此,选择1.0 mL作为最佳加入量。

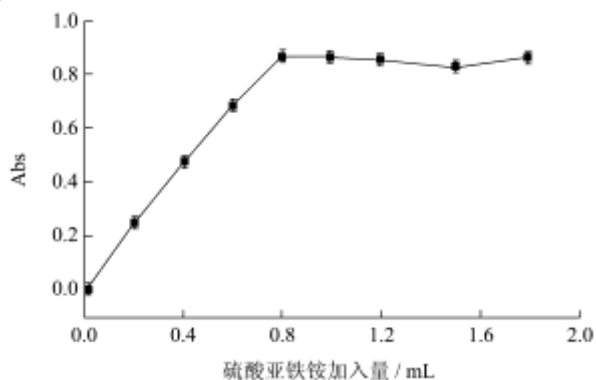


图3 硫酸亚铁铵用量对体系吸光度的影响

Fig.3 The influence of the dosage of ammonium iron sulfate on the absorbance of the system

### 2.2.3 DAPM 用量的选择

缓冲液、硫酸亚铁铵取最佳用量,其他条件不变,对DAPM用量在0 mL~2.0 mL时显色体系的吸光度进行测定,实验结果如图4。由图4可知,当DAPM加入量在0 mL~1.2 mL时,显色体系吸光度逐渐增大且在1.2 mL时达到最大,在1.5 mL~2.0 mL范围内基本保持稳定。实验选用1.5 mL加入量。

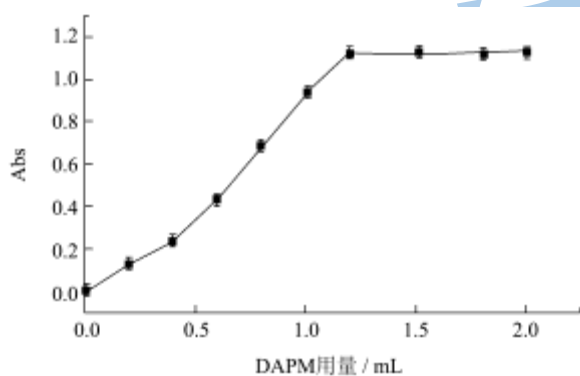


图4 DAPM 用量对体系吸光度的影响

Fig.4 The influence of the dosage of DAPM on the absorbance of the system

### 2.2.4 水浴反应温度的选择

在各试剂加入量为最佳用量条件下,研究水浴温度为30 °C~90 °C反应5 min时显色体系吸光度的变化。结果(图5)表明,水浴温度30 °C~60 °C时吸光度逐渐增加,60 °C水浴时吸光度最大,水浴温度大于60 °C时吸光度开始下降,因此,确定60 °C为最佳反应温度。

### 2.2.5 水浴反应时间的选择

其他条件均为最佳条件下,研究水浴反应时间0

min~30 min 范围内显色体系吸光度的变化,结果如图6。由图6可知,水浴反应前5 min 内吸光度逐渐增大,5 min~15 min 时吸光度基本保持稳定,反应时间大于15 min 时,吸光度开始逐渐下降,为了节约检测时间,实验选用5 min 作为水浴反应时间。

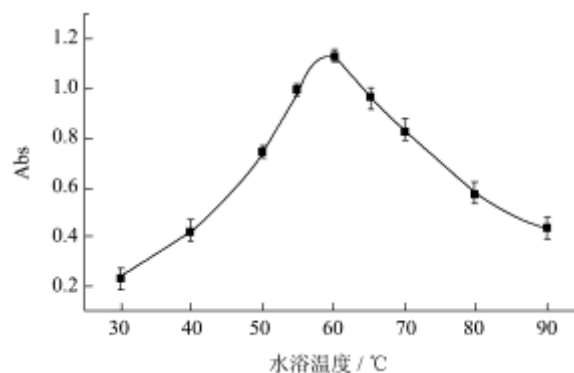


图5 反应温度对体系吸光度的影响

Fig.5 The influence of reaction temperature on the absorbance of the system

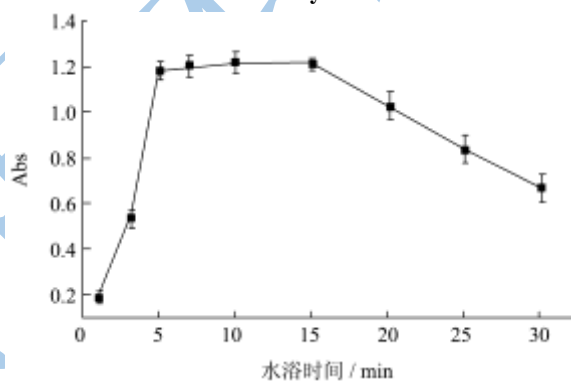


图6 水浴时间对体系吸光度的影响

Fig.6 The influence of water bath time on the absorbance of the system

通过上述实验,确立的最优实验方法为:取两只10 mL 比色管,一只加入一定量的BPO 标准液或待检液,另一只做空白。分别加入1.0 mL 的乙酸-乙酸钠缓冲液和硫酸亚铁铵溶液,于60 °C 下水浴反应5 min,取出冷却室温后,加入1.5 mL 的DAPM 溶液显色,用蒸馏水定容至刻度。

### 2.3 分光光度法标准曲线与检出限

在最优化实验条件下,准确吸取一系列的不同浓度的BPO 标准液于10 mL 比色管中,按照建立的操作方法,在420 nm 处测其吸光度。结果(图7)表明,显色反应与BPO 含量在0 mg/L~12 mg/L 范围内符合比尔定律,线性回归方程为  $\Delta A = 0.036 + 0.110 C$  (mg/L),  $R^2 = 0.9996$ 。11 次空白试验标准差  $S_b = 5.72 \times 10^{-4}$ ,由3 倍标准偏差除以工作曲线斜率,得出本法

检出限为  $1.56 \times 10^{-2}$  mg/L。

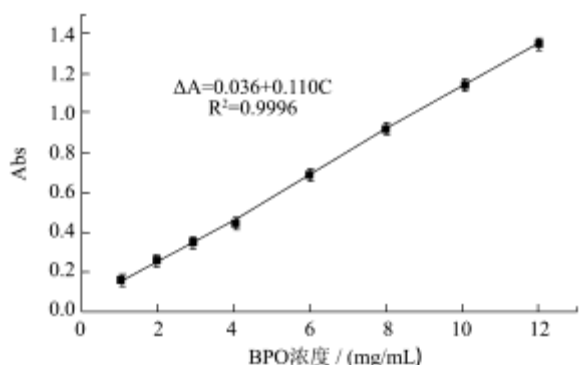


图7 BPO 测定的标准曲线

Fig.7 The standard curve in the process of determination of BPO

## 2.4 目视比色法标准比色带

取一系列不同浓度梯度的 BPO 标准液，按照建立的操作方法进行显色试验，取适量的显色溶液于比色采集器中，利用扫描仪进行图像扫描，对采集到的图像按照 BPO 浓度大小显示的颜色依此排列，读取其色度值，并考察 BPO 添加量与显色体系色度值的关系（图 8）。按照显色体系颜色的渐变规律进行图像拟合，得到 BPO 含量的标准比色带(图 9)。

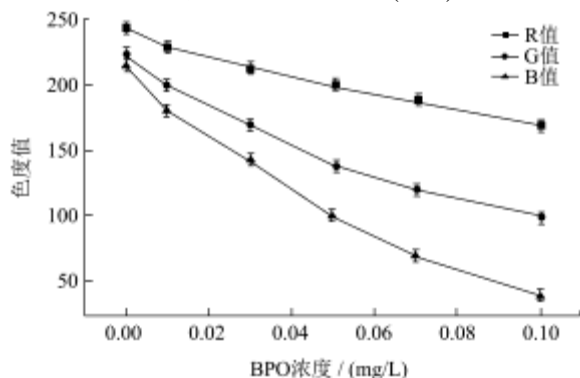


图8 BPO 添加量与色度值的关系

Fig.8 Relationship between BPO content and chromatic value



图9 BPO 含量标准比色带

Fig.9 The standard color chart of BPO content

根据图 8，显色后的溶液的 R、G、B 值随 BPO 添加量的升高而降低，并呈一定的线性关系，且溶液的颜色逐渐变深。当 BPO 浓度由 0 g/kg 上升到 0.03 g/kg 时，R、G、B 值下降均超过 30，颜色变化明显，肉眼即可分辨。所以，本文提出以目视比色法大致确定 BPO 含量范围的定性分析方法。

## 2.5 干扰实验

在最优化实验条件下，按试验方法测定 0.01 mg/L BPO，相对误差  $\pm 5\%$  内，10 倍  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Cl^-$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$ 、 $S^{2-}$ 、 $NO_3^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、Vc 等离子均不干扰测定。二氧化钛会影响显色，但由于样品处理的方式为无水乙醇提取并离心，所以排除其干扰。可见本法抗干扰能力较强。

## 2.6 样品分析

### 2.6.1 BPO 提取条件的选择

过氧化苯甲酰微溶于水，溶于乙醇、丙酮、乙醚等有机溶剂。但由于丙酮、乙醚均有一定的毒性，对人体有害，且无水乙醇脂溶性较差，不易带入脂溶性杂质，所以实验选用无水乙醇提取。用无水乙醇作为提取剂，在最优化实验条件下，BPO 加标量为 60 mg/kg 时，考察了采用离心分离时振荡提取和超声提取 BPO 回收率随时间的变化，结果如图 10。由图 10 可知，超声提取速率较快，在 5 min 时回收率即达到最大，而振荡提取 10 min 时回收率达到最大，但超声提取时间超过 5 min 后回收率下降明显，振荡提取在一定时间内回收率趋于稳定。所以，实验选用无水乙醇振荡提取 10 min。

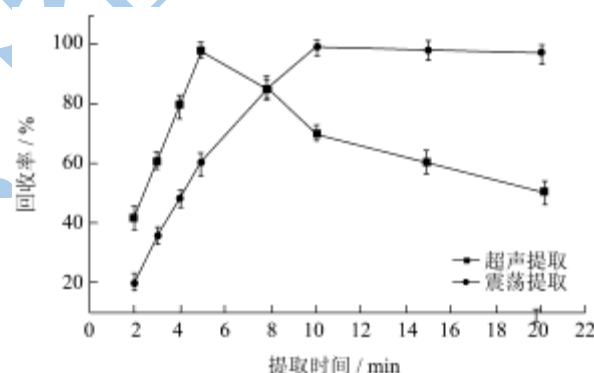


图10 两种提取方式 BPO 回收率随时间的变化

Fig.10 Recovery rates change with time by two extraction methods

表 1 两种分离方式的 BPO 回收率 (n=6)

Table 1 Influence of different extraction ways on BPO recovery rates (n=6)

加标量 / (mg/kg)	过滤分离回收率 / %	过滤分离 RSD / %	离心分离回收率 / %	离心分离 RSD / %
30	87.92	3.11	97.42	2.74
60	90.63	2.94	99.22	1.61
100	85.13	2.62	98.54	2.53







采用振荡提取，分别实验了 BPO 加标量 30 mg/kg、60 mg/kg、100 mg/kg 时，过滤分离和离心分离时 BPO 的回收率，结果如表 1。根据表 1，离心分离的回收率要明显大于过滤分离。所以，确定最佳

BPO 提取条件为: 无水乙醇振荡提取 10 min, 离心分离。

### 2.6.2 加标回收实验

表 2 实际样品 BPO 含量测定结果 (n=6)

Table 2 Recovery rates of BPO in spiked samples (n=6)

样品 编号	分光光度法 测定本底值 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	显色体 系颜色 显示	分光光度 法测定总 量(mg/kg)	回收率 /%	RSD /%
1	0	30		29.14	97.13	1.91
2	0	50		50.94	101.88	2.32
3	0	80		79.12	98.90	1.84
4	26.12	30		54.71	97.49	2.42
5	40.63	50		89.83	99.12	3.14
6	68.34	80		148.74	100.27	2.93

在最优化实验条件下, 进行 BPO 样品测定和加标回收率分析, 结果 (表 2) 表明, 根据显色后溶液的颜色与标准比色带进行对比, 得出 BPO 大致含量范围, 并与分光光度法测定的 BPO 含量对比, 说明目视比色法具有一定的准确性。分光光度法测定样品的回收率为 97~102%, RSD 为 1.9~3.1%。

### 3 结论

本文根据  $Fe^{3+}$  与 DAPM 的高灵敏度显色原理, 建立了一种 BPO 快速定性和定量检测的新方法, 并对实验条件进行了优化。确立的最优化实验条件为: 无水乙醇振荡、离心提取, 1.0 mL 硫酸亚铁铵溶液, 1.0 mL 乙酸-乙酸钠缓冲液, 1.5 mL DAPM 溶液, 60 °C 水浴下反应 5 min。在最优化试验条件下, 显色体系的颜色随过氧化苯甲酰含量的变化而变色明显, 可通过观察显色后溶液的颜色对比标准比色带大致确定 BPO 含量范围。分光光度法最大吸收波长为 420 nm, 线性范围为 0 mg/L~12 mg/L, 检出限为  $1.56 \times 10^{-2}$  mg/L, 用于样品分析加标回收率为 97.0~101.8%, RSD 为 1.8~3.1%。上述方法简单易行, 适合于基层单位根据实际需要进行快速定性或定量检测, 以有效控制 BPO 的违法添加。

### 参考文献

- [1] Simic M G, Karel M. Autoxidation in Foods and Biological systems [M]. New York: Plenum Press, 1979
- [2] CHEN Wei, SHI Wen, LI Zhao, et al. Simple and fast fluorescence detection of benzoyl peroxide in wheat flour by N-methoxy rhodamine-6G spirolactam based on consecutive chemical reactions [J]. Anal. Chim. Acta., 2011, 708(1/2): 84-88

- [3] 刘晓庚. 倍数光度滴定法测定过氧化苯甲酰的研究 [J]. 中国粮油学报, 2006, 21(6): 168-171  
Liu Xiao-geng. Determination of Benzoyl Peroxide by Multiplying Photometry [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2006, 21(6): 168-171
- [4] 陈惠波, 范燕斐. 小麦粉中过氧化苯甲酰的色谱测定法的比较与改进 [J]. 现代食品科技, 2010, 26(8): 907-908  
Chen Hui-bo, Fan Yan-fei. Comparison and Improvement of HPLC and GC Methods for Detection of Benzoyl Peroxide in Wheat Flour [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(8): 907-908
- [5] Mu G, Liu H, Gao Y, et al. Determination of benzoyl peroxide as benzoic acid in wheat flour by capillary electrophoresis compared with HPLC [J]. Journal of the science of food and agriculture, 2012, 92(4): 960-964
- [6] Yukiko A O, Chikako Y, Naoki S, et al. Determination of benzoyl peroxide and benzoic acid in wheat flour by high-performance liquid chromatography and its identification by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1040: 209-214
- [7] Wada M, Inoue K, Ihara A, et al. Determination of organic peroxides by liquid chromatography with on-line postcolumn ultraviolet irradiation and peroxy oxalate chemiluminescence detection [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 987(1/2): 189-195
- [8] Liu W, Zhang Z J, Yang L. Chemiluminescence microfluidic chip fabricated in PMMA for determination of benzoyl peroxide in flour [J]. Food Chemistry, 2006, 95(4): 693-698
- [9] Wang J. Electrochemical biosensors: Towards point-of-care-cancer diagnostics [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2006, 21(10): 1887-1892
- [10] 吴迎春, 聂峰. 面粉中过氧化苯甲酰检测方法研究 [J]. 陕西理工学院学报, 2010, 26(2): 55-57  
Wu Ying-chun, Nie Feng. Determination of Benzoyl Peroxide in Flour by Spectrophotometry [J]. Journal of Shanxi University of Technology, 2010, 26(2): 55-57
- [11] 裴翠锦, 姚国光. 紫外分光光度法测定面粉中的过氧化苯甲酰 [J]. 计量与测试技术, 2008, 35(2): 46-49  
Pei Cui-jin, Yao Guo-guang. Determination of Benzoyl Peroxide in Wheat flour by Ultraviolet Spectrophotometry [J]. Metrology & Measurement Technique, 2008, 35(2): 46-49
- [12] 董丙成, 陈学琴, 程梅, 等. 二安替替林甲烷光度法快速测定铜合金中的铁 [J]. 莱钢科技, 2009, 3: 74-75  
Dong Bing-cheng, Chen Xue-qin, Cheng Mei, et al. Fast

Determination of Iron in Copper Alloy by Diantipyryl  
Methane Photometric Method [J]. Laigang Science &

Technology, 2009, (3): 74-75

现代食品科技