

A butilhidroxitoluol (BHT) meghatározása étkezési sertészsírból

SELMECI GYÖRGY és ACZÉL ATTILA

Megyei Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Szeged

Érkezett: 1975. február 22.

A butilhidroxitoluol (BHT) étkezési zsírból történő meghatározására spektrofotometriás (1, 2), rétegekromatográfiás (3) és gázkromatográfiás módszerek ismereteseek (4, 5, 6).

A BHT-nak a zsírból való elkülönítése több lépéses liquid-liquid extrakció igényel. Az extrakció időigényes, kivitelezése nagy pontosságot kíván, a megszólási hányados értéke pedig több paramétértől függ. Az irodalmi adatok tanulságai szerint a BHT-nak zsírból történő kivonatolása 90–102% közötti kitermeléssel végezhető el.

Phillips 1957-ben és Sedlacek 1962-ben közzétett kísérleti tapasztalatai a BHT direkt fotometriás meghatározására irányították a figyelmet. Említett szerzők egyike sem adott azonban olyan módszert az analitikus kezébe, amely alkalmas a BHT-nak zsírból történő sorozatelemzésére.

A rutinanalízis céljára megfelelő módszer kidolgozása céljából először is megvizsgáltuk, hogy a BHT ultraibolya fényben, különböző oldószerekben milyen abszorpciós spektrumot ad. Kísérleti eredményeink kiegészítették Roosnak (7) és Sedlaceknek (8) azon tapasztalatait, amelyek a BHT izo-oktánban, etilalkoholban, kloroformban és toluoiban vizsgált abszorpciós spektrumával voltak kapcsolatosak.

A BHT abszorpciós spektrumát különböző dipólusmomentumú szerves oldószerben tanulmányoztuk. A 0 és $1,15 \cdot 10^{18}$ dipólusmomentum értékek közötti oldószerek közül a ciklohexánban, széntetrakloridban, kloroformban, n-pentánban és izo-oktánban a BHT abszorpciós spektruma karakterisztikus, az abszorpciós maximumok helye jól definiált és minden esetben két abszorpciós maximumot kapunk. Az első abszorpciós maximum 276, 278 és 281 nm-nél, a második pedig 283 és 284 nm-nél van. Az $1,15$ -től $4,41 \cdot 10^{18}$ dipólusmomentumú oldószerek közül n-propanolban, tetrahidrofuránban, piridinben, etilenglikolban, acetonban és nitrobenzolban BHT nem ad karakterisztikus abszorpciós spektrumot. Ugyanezen dipólusmomentum-tartományban levő néhány oldószerben azonban, így – a dipólusmomentum növekedés sorrendjében – az i-butanolban, n-butanolban, metilalkoholban, etilalkoholban, etilacetátban, acetonitrilben és dimetilszulfoxidban a BHT karakterisztikus abszorpciós spektrumot és 276, 277 és 278 nm-nél egy abszorpciós maximumot ad. Jégecetben, – amelynek dipólmomentuma $1,73 \cdot 10^{18}$ – a BHT-nak jellemző abszorpciós spektruma van két abszorpciós maximummal. Az abszorpciós maximumok 276 és 283 nm-nél jelentkeznek. (Vizsgálataink adatait az 1. táblázatban foglaltuk össze.)

Tapasztalatainkat összegezve megállapítható, hogy a BHT apoláros oldószerekben nyert abszorpciós spektrumában a második abszorpciós maximum i-oktánban 283 nm-nél, n-pentánban, ciklohexánban, kloroformban és széntetra-

A BHT abszorpciós spektruma különböző dipólusmomentumú szerves oldószerekben

| Sorszám | Oldószer neve | Dipólus momentum n. 10 ¹⁵ | Dielekt- romos állandó E | Karak- terisztikus absz. | Abszorpciós maximum | |
|---------|------------------|--|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------|-----|
| | | | | | nm | nm |
| 1 | n-pentán | 0 | 1,82 | + | 276 | 284 |
| 2 | i-oktán | 0 | 1,96 | + | 276 | 283 |
| 3 | c-hexán | 0 | 2,023 | + | 276 | 284 |
| 4 | Széntetraklorid | 0 | 2,23 | + | 281 | 284 |
| 5 | Kloroform | 1,15 | 4,70 | + | 278 | 284 |
| 6 | Jégecet | 1,73 | 6,19 | + | 276 | 253 |
| 7 | i-butanol | 1,63 | 17,70 | + | 277 | |
| 8 | n-butanol | 1,64 | 17,80 | + | 278 | |
| 9 | n-etilalkohol | 1,69 | 32,63 | + | 278 | |
| 10 | Etilalkohol | 1,70 | 25,00 | + | 278 | |
| 11 | Etilacetát | 1,81 | 6,03 | + | 278 | |
| 12 | Acetonitril | 3,94 | 37,50 | + | 276 | |
| 13 | Dimetilszulfoxid | 4,41 | 48,90 | + | 278 | |
| 14 | Triklóretilén | 0,84 | 3,40 | - | | |
| 15 | n-propanol | 1,64 | 19,70 | - | | |
| 16 | Tetrahydrofuran | 1,71 | 7,39 | - | | |
| 17 | Piridin | 2,25 | 13,30 | - | | |
| 18 | Lilénlikoi | 2,28 | 37,70 | - | | |
| 19 | Aceton | 2,95 | 20,70 | - | | |
| 20 | Nitrobenzol | 4,00 | 34,82 | - | | |

+ (karakterisztikus abszorpciós spektrum van)

- (karakterisztikus abszorpciós spektrum nincs)

kloridban pedig 284 nm-nél van. A poláros protonos oldószerekben, alkoholokban, alkoholok és karbonsavak vizes oldatában az abszorpciós maximum helye a spektrumban az apoláros oldószerekben mért értékhez képest 1–2 nm-es batokrom eltolódást tapasztaltunk. A nukleofil jellegű poláros oldószerek közül pedig csak acetonitrilben és dimetilszulfoxidban sikerült a BHT karakterisztikus abszorpciós spektrumát felvenni.

Megvizsgáltuk, milyen változást jelent a BHT abszorpciós spektrumában – néhány kifejezetten jó zsíroltó oldószerben (n-pentán, i-oktán, c-hexán, széntetraklorid és kloroform/- a zsír trigliceridjeinek jelenléte. Azt kaptuk, hogy ppm nagyságrendű BHT-t tartalmazó oldószeres zsíroltatban a BHT abszorpciós maximumainak helye változatlan. A BHT-t nem tartalmazó zsír trigliceridjeinek oldószeres oldatában azok abszorpciós maximuma 272 nm-nél van. A kloroformmal nyert kísérleti eredményeink összhangban vannak *Sedlacek* tapasztalataival, az i-oktánra és a c-hexánra vonatkozó megállapításaink pedig *Roos* és *Phillips* megfigyelésével egyeznek meg. A széntetrakloriddal végzett kísérletek eredményeivel új adatokkal egészítettük ki a BHT abszorpciós spektrumára vonatkozó eddigi ismereteket.

A BHT direkt fotometriás meghatározásához szerves oldószerként a n-pentán, izo-oktán, ciklohexán és széntetraklorid jöhet számításba. Az említett oldószerek mindegyike kiválóan oldja az étkezési zsírt, a BHT-t és a BHT mindegyikben karakterisztikus abszorpciós spektrumot ad. Kísérleteinkben oldószerként kloroformot, széntetrakloridot és ciklohexánt alkalmaztunk. A kiválasztás szempontjai: viszonylag magas forráspont, minimális tűzveszélyesség, alacsony ár és a ciklohexánnál a BHT abszorpciós maximuma helyén 100%-os optikai áteresztőképesség.

A BHT zsírok szerves oldószeres oldatából való direkt spektrofotometriás meghatározásának elvi vizsgálati alapja *Phillips* (1) azon megfigyelése volt, hogy a BHT étkezési zsír szerves oldószeres oldatából egyéb jelenlevő anti-oxidáns (BHA, nordihidroguaajaretsav, propilgallát, citromsav, monoizopropil-citrát, α -tokoferol) mellett, szilikagél adszorbensen gyengén adszorbeálódik és ciklohexánnal szelektíven eluálható és az abból fotometriásan mérhető.

Kísérleti tapasztalataink alapján megállapítottuk, – *Phillips* tapasztalataitól eltérően –, hogy 50%-os ciklohexános zsíroldatból a BHT oszlopkromatográfiára célra készített, Merck „Kieselgél”-en igen gyengén kötődik, és ilyen körülmények között az adszorbens egyszerű ciklohexános átöblítése is elégséges a BHT kinyerésére, ami a *Phillips*-féle elucióval szemben 75%-os oldószermegtakarítást jelent. A BHT-t a kromatográfiásan megtisztított ciklohexános zsíroldatból 284 nm-nél fotometráltuk 50%-os ciklohexános zsíroldattal szemben. A kísérleti eredmények továbbá azt is mutatták, hogy a ciklohexános zsíroldat kromatografálását nem kell nitrogén-atmoszférában végezni, a BHT oxidatív nem változik meg, amint azt *Phillips* hitte.

A direkt fotometriás BHT meghatározásra végzett kísérleteink során beigazolódt, hogy viszonylag tömény ciklohexános zsíroldatból, alkalmas adszorbenssel végzett oszlopkromatográfiás tisztítással a BHT a zsír ciklohexános oldatával szemben közvetlenül és nagy pontossággal fotometrálható. Ezek a tapasztalatok a BHT direkt fotometriás meghatározására egy az irodalomban eddig nem tanulmányozott új analízis-módszert eredményeztek. A ciklohexános zsíroldat kromatográfiás tisztítása nagyon lényeges. Más adszorbensek, a poli-amid, cellulózpor és alumíniumoxid alkalmazása nem vezetett eredményre.

A kifejlesztett direkt fotometriás BHT-meghatározás alkalmazását 10–100 ppm BHT koncentráció mellett vizsgáltuk meg. Megállapítottuk, hogy 50 ppm alatt a módszer nagy eltéréssel adja vissza a bemért BHT mennyiségét, viszont a módszer 50 és 100 ppm BHT koncentráció között alkalmas a BHT kvantitatív meghatározására (2. táblázat).

2. táblázat

10–100 ppm BHT meghatározása étkezési sertészsírból

| Sor-szám | A zsír BHT tartalma ppm | A mért extinkció értéke | A mért extinkcióhoz tartozó BHT ppm | A visszanyert BHT mennyisége %-ban |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 10,0 | 0,038 | 16,0 | 160,0 |
| 2 | 20,0 | 0,043 | 19,0 | 95,0 |
| 3 | 30,0 | 0,052 | 24,0 | 80,0 |
| 4 | 40,0 | 0,063 | 29,5 | 73,7 |
| 5 | 50,0 | 0,110 | 54,0 | 108,0 |
| 6 | 60,0 | 0,125 | 62,0 | 103,0 |
| 7 | 70,0 | 0,138 | 68,5 | 98,0 |
| 8 | 80,0 | 0,160 | 80,0 | 100,0 |
| 9 | 90,0 | 0,195 | 98,0 | 108,0 |
| 10 | 100,0 | 0,193 | 97,5 | 97,5 |
| 11 | 150,0 | | | |

A törvényes előírások (9) szerint az étkezési sertészsír maximálisan 100 ppm BHT-t tartalmazhat. A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy az általunk kidolgozott analízis-módszer mennyire alkalmas ezen határérték meghatározására. A 3. táblázaton részletezett adatok szerint a vizsgálati zsírba mért 100 ppm BHT 97,5–105,5 ppm szélsőértékek között volt visszanyerhető. A módszer pontossága: $\pm 0,843\%$, a szórás értéke: $\pm 0,859$.

100 ppm BHT direkt fotometriás meghatározása étkezési sertézsír ciklohexános oldatából

| Sor-szám | A zsír BHT tartalma ppm | A mért extinkció értéke | A mért extinkcióhoz tartozó BHT ppm | Középérték ppm | Középérték középhibája |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------|----------------|------------------------|
| 1 | 100,0 | 0,193 | 97,5 | | |
| 2 | 100,0 | 0,197 | 99,0 | | |
| 3 | 100,0 | 0,208 | 105,0 | | |
| 4 | 100,0 | 0,202 | 102,0 | | |
| 5 | 100,0 | 0,205 | 103,5 | | |
| 6 | 100,0 | 0,205 | 103,5 | | |
| 7 | 100,0 | 0,199 | 100,0 | | |
| 8 | 100,0 | 0,193 | 97,5 | | |
| 9 | 100,0 | 0,203 | 102,5 | | |
| 10 | 100,0 | 0,209 | 105,5 | | |
| 11 | 100,0 | 0,205 | 103,5 | 101,8 | ± 0.859 |

4. táblázat

100 ppm BHT direkt fotometriás meghatározása étkezési sertézsír kloroformos és széntetrakloridos oldatából

| Sor-szám | A zsír BHT tartalma ppm | A visszanyert BHT mennyisége ppm | |
|----------|-------------------------|----------------------------------|-----------------|
| | | kloroform | széntetraklorid |
| 1 | 100,0 | 154,0 | 106,5 |
| 2 | 100,0 | 81,0 | 106,5 |
| 3 | 100,0 | 64,5 | 126,0 |
| 4 | 100,0 | 195,0 | 156,0 |
| 5 | 100,0 | 140,5 | 213,0 |

A ciklohexán mellett megvizsgáltuk a BHT meghatározása szempontjából a kloroform és széntetraklorid alkalmasságát is. Amint az a 4. táblázaton látható, a 100 ppm BHT-t tartalmazó étkezési zsír analízise igen eltérő eredményeket szolgáltatott. Kloroform esetén az elemzett BHT mennyisége 64,5 ppm-től 195,0 ppm-ig, széntetrakloridnál pedig 106,5 ppm-től 213,0 ppm-ig váltakozott. E két oldószer nem használható a BHT kvantitatív meghatározásához.

Kísérleti rész

A BHT fizikai és kémiai tulajdonságai

Kémiai elnevezése:

2,5-di-tercier-butil-4-metil-fenol

Kereskedelmi elnevezések:

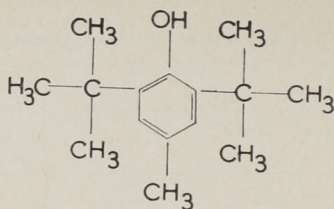
Topanol O, Topanol OC, JONOI

Molekulásúly: 220,34

Összegképlet: $C_{15}H_{24}O$

Szerkezeti képlet:

Fizikai tulajdonságok:



A BHT szintelen, kristályos anyag, olvadáspontja $69,2^{\circ}\text{C}$. Vízben és alkáliák vizes oldatában nem oldódik, viszont zsirokban, olajokban, szénhidrogénekben és acetonitrilben szobahőmérsékleten jól oldható.

Kémiai tulajdonságok:

A fenolokra jellemző kémiai tulajdonságokat az O – és O' – helyzetben levő két nagy térigényű tercier – butil csoport miatt nem mutatja (így pl. alkáliákban oldhatatlan). A BHT fény, melegítés és levegőn való állás közben nem bomlik. Az élelmiszeripari célokra leggyakrabban használt ICI-gyártmányú anyag víztartalma: 0,1%, hamutartalma: 0,01%.

A BHT-nak étkezési sertézsírból történő kimutatásához és azonosításához szükséges reagensek és eszközök

ciklohexán a. lt.

főzőpohár, 25 cm^3

mérőlombik, 25 cm^3

analitikai mérleg

spektrofotométer, Specord UV VIS vagy Spektromom 204

kvarcküvetta, 1 cm

A BHT-nak étkezési sertézsírból történő meghatározásához szükséges reagensek és eszközök

ciklohexán, a. lt.

Kieselgel 0,05 – 0,20 mm (70 – 325 mesh ASTH f. d. ie)

Säulen-Chromatographie (MERCK)

Nátriumsulfát, vízmentes a. lt.

2,6-di-terc.-butil-p-krezol a. lt. (SCHUCHARDT)

főzőpohár, 25 cm^3

mérőlombik, 50 cm^3

kromatografálócső, $20 \times 1,5\text{ cm}$

analitikai mérleg

spektrofotométer SPECORD UV VIS vagy Spektromom 204

kvarcküvetta, 1 cm

A) *A BHT kimutatása és azonosítása étkezési sertézsírból:*

1. *Átlagminta vétele:*

A vizsgálandó étkezési sertézsírból a megfelelő mennyiséget vékonyan üveglapra négyzet formában kiterítjük és az átlagmintavétel szabályai szerint, átlósan mintát veszünk. Az átlagminta mennyisége lehetőleg 100 g legyen.

2. *Az átlagmintából történő kimérés elvégzése*

Az átlagmintát csiszolt dugós üvegbe, vagy jól záródó műanyag tégelybe tesszük. A vizsgálatot lehetőleg azonnal, de legkésőbb 24 órán belül kezdjük meg. Az előkészített mintát a vizsgálatig $+10^{\circ}\text{C}$ alatt tároljuk.

3. A minta bemérése

A meghatározáshoz az átlagminta belsejéből 2–3 cm élhosszúságú kockát vágunk ki, s ebből 0,1 g pontossággal végezzük a bemérést.

4. A BHT kimutatása és azonosítása

Az 1–3 pontokban leírtak szerint előkészített átlagmintából 5 g-ot analitikai mérlegen 0,1 g pontossággal, 25 cm³-es főzőpohárba mérünk, majd 50–60 °C-os vízfürdőn a zsírt megolvasztjuk. Az olvadékot 10 ml ciklohexánban feloldjuk, az oldatot 25 cm³-es mérőlombikba mossuk és azután az oldószerrel jelig kiegészítjük.

Egyidejűleg antioxidánst nem tartalmazó étkezési zsírt az előzőekben leírtak szerint ciklohexánban feloldunk, az oldatot „vakoldatként” használjuk. A feltételezésünk szerint BHT-t tartalmazó étkezési zsír ciklohexános oldatából, 240–320 nm hullámhossztartományban felvesszük a BHT abszorpciós spektrumát a „vakoldattal” szemben. 10–15 ppm BHT jelenlétében már jól értékelhető karakterisztikus abszorpciós spektrumot kapunk, 276 és 284 nm-nél jelentkező két maximummal.

5. táblázat

A BHT ciklohexános oldatának extinkciója különböző BHT koncentráció mellett

| Sorszám | Az oldat BHT tartalma ppm | A mért extinkció |
|---------|---------------------------|------------------|
| 1 | 2 | 0,026 |
| 2 | 4 | 0,045 |
| 3 | 6 | 0,065 |
| 4 | 8 | 0,083 |
| 5 | 10 | 0,102 |
| 6 | 12 | 0,122 |
| 7 | 15 | 0,150 |
| 8 | 18 | 0,180 |
| 9 | 20 | 0,199 |
| 10 | 22 | 0,215 |
| 11 | 25 | 0,247 |

B) A BHT meghatározása étkezési sertészsírból

1. A minta előkészítése

Az előkészített mintából 10 g-ot analitikai mérlegen, 0,0001 g pontossággal, 25 cm³-es főzőpohárba mérünk, majd 50–60 °C-on vízfürdőn a bemért zsírt megolvasztjuk. Az olvadékhoz 10 cm³ ciklohexánt adunk és alapos elkeverés után a felhasználásig vízfürdőn állni hagyjuk.

2. Kromatografáló oszlop készítése

20×1,5 cm-es kromatografáló üvegcsőbe 7,5 g Kieselgel a adszorbenst mérünk, az oszlopot gyenge szívással tömörítjük és 0,5 g vízmentes nátrium-szulfátot rétegzünk rá.

3. Kromatografálás, mérés

Az előkészített oldatot az oszlopra felvisszük, az adszorbensbe történő beszivódás után kevés ciklohexánnal utánmossuk, az oldatot 50 cm³-es mérőlombikban felfogjuk, az oldószerrel jelig kiegészítjük. Az oldat extinkcióját 1 cm-es küvettában, 284 nm-nél vakpróbával szemben meghatározzuk.

A vakoldatot a fentiek szerint készítjük el, a vizsgálandó anyag helyett antioxidáns nem tartalmazó sertézsírt alkalmazva.

4. Kalibrációs görbe készítése

0,0100 g BHT-t 100 cm³-es mérőlombikba mérünk, ciklohexánban feloldjuk, majd az oldatot jelig kiegészítjük. Az így előkészített alapoldatból 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 22 és 25 ppm-es bemérést készítünk és az oldatok extinkcióját 1 cm-es küvettában 284 mm hullámhossznál meghatározzuk. A kapott extinkció értékeket a bemért antioxidáns mennyiségek függvényében ábrázoljuk (5. táblázat).

5. Az eredmény kifejezése

Az eredményt mg/kg-ban adjuk meg az alábbi képlet szerint:

$$\text{mg BHT/kg zsír} = a \cdot 5000$$

ahol a az 1 cm-es küvettába mért extinkció értéknek megfelelő, a kalibrációs görbéről leolvasott BHT mennyisége mg-ban kifejezve.

IRODALOM

- (1) Marjorie A., Phillips, Hinkel, R. D.: *Agricultural and Food Chemistry*, 5, (5), 379, 1957.
- (2) Szalkowski, C. R., Garber, J. B.: *Agricultural and Food Chemistry*, 10 (6), 490, 1962.
- (3) Sher, A.: *Mikrochim. Acta*, 308, 1961.
- (4) Takahasi, D. M.: *J. A. O. A. C.* 50, 880, 1967.
- (5) Takahasi, D. M.: *J. A. O. A. C.* 53, 39, 1970.
- (6) Fuchs, G., Larsson, B.: *National Food Administration*, Stockholm, 1974.
- (7) Ross, Ir. J. B.: *Die Fleischwirtschaft* 11, 667, 1959.
- (8) Sedláček, R. N. B. A. J.: *Fette Seifen Anstrichmittel* 64, 683, 962, 1962.
- (9) Eü. Minisztérium 51. 119/69. sz. rendelete Magyarország

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУТИЛГИДРОКСИТОЛУОЛА (БГТ) В ПИЩЕВОМ СВИНОМ ЖИРЕ

Дь. Шелмеци, А. Ацел

Авторы исследовали спектр абсорбции БГТ в органических растворителях с разным дипольным моментом. Установили, что в некоторых растворителях и в растворах содержащих органические растворители жира — с разным дипольным моментом. Установили, что в некоторых растворителях и в растворах содержащих органические растворители жира БГТ дает характерный спектр абсорбции. Циклогексановый раствор пищевого свиного жира содержащего БГТ подходящий для непосредственного фотометрического определения бутилгидрокситолуола, на основании которого авторы разработали метод количественных предельных величин.

BESTIMMUNG DES BUTYLHYDROXYTOLUOLS IN ESSBAREM SCHWEINEFETT

Gy. Selmeci und A. Aczél

Das Absorptionsspektrum von Butylhydroxytoluol (BHT) wurde in über verschiedene Dipolmomente verfügenden organischen Lösungsmitteln untersucht. Es wurde dabei festgestellt, dass das BHT in einigen Lösungsmitteln und in den Lösungen von einigen Fetten in organischen Lösungsmitteln ein charakteristisches Absorptionsspektrum aufweist. Eine Lösung von BHT-enthaltendem essbaren Schweinefett in Cyclohexan war zur unmittelbaren photometrischen Bestimmung des BHT-Gehaltes geeignet. Auf diesem Grund wurde eine quantitative Grenzwertmethode entwickelt.

DETERMINATION OF BUTYL HYDROXYTOLUENE IN EDIBLE PIG FAT

Gy. Selmeci and A. Aczél

The absorption spectrum of butyl hydroxytoluene (BHT) was investigated in a number of organic solvents having different dipole moments. It was found that BHT gives a characteristic absorption spectrum in certain solvents and in the solution of fat in certain organic solvents. The cyclohexane solution of edible pig fat containing BHT proved to be suitable for the direct photometric determination of BHT. On this basis, a quantitative limit-value method was developed for BHT determination.

LE DOSAGE DU BUTYL-HYDROXYTOLUÈNE (BHT) DANS LE LARD DE PORC ALIMENTAIRE

Gy. Selmeci et A. Aczél

Les auteurs ont étudié les spectres d'absorption du BHT dans des solvants organiques à différents moments de dipôle. On a établi que dans quelques solvants et dans la solution du lard dans des solvants organiques le BHT donne des spectres d'absorption caractéristiques. La solution au cyclohexane du lard de porc alimentaire contenant du BHT se prête, par contre, au dosage photométrique directe du BHT qui a permis aux auteurs de développer une méthode quantitative à valeur limite.