

## Butilhidroxitoluol (BHT) kimutatása és meghatározása étkezési sertézsírban

ACZÉL ATTILA, SELMECI GYÖRGY, NOSKE OTTÓ\*  
ÉS MARIK MÁRIA

Megyei Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Szeged

Érkezett: 1972. március 17.

A szintetikus antioxidánsok közül a BHT *Raithel* (1), *Kraybill*, *Dugan* (2) és *Tollenaar* (3) szerint alkalmas különböző élelmiszerek, különösen a zsírok és zsírtartalmú készítmények eltarthatóságának növelésére és avasodásának meggátolására.

A BHT-t, mint avasodásgátló antioxidánst a Húsipari Tröszt 1970-ben vezette be Magyarországon az Egészségügyi Minisztérium Eü. Min. 51. 119/69. számú engedélye alapján.

A szintetikus antioxidánsok kimutatására és azonosítására az ismert módszerek közül a BHT-ra csak *Roos* (4) foszformolibdén-savas módszere és *Biefer*, *Hadorn* (5) Turnbull-kék reakciója alkalmazható, bár e két reakciónak az érzékenysége messze elmarad a más antioxidánsok (pl. BHA, gallátok) esetében tapasztaltaktól.

A BHT kimutatására a *Högl* és *Venger* (6) által a BHA-ra kidolgozott 2,6-diklórkinon-klórimid-es színreakció *Seher* (7) véleménye alapján nem megfelelő. *Högl* (6) szerint a BHA (butilhidroxianizol) alkoholos oldatban, a vizes bórax-oldat alkalitása mellett reagál a 2,6-diklórkinon-klórimiddel. A BHT-2,6-diklórkinon-klórimid reakcióhoz ez a pH-érték nem elegendő.

Vizsgálataink szerint a BHT alkoholos közegben, az alkoholos KOH-oldat alkalitása mellett reagál a 2,6-diklórkinon-klórimiddel. Az alkoholos fázis színe 50–100 ppm BHT jelenlétében kékeszöld, BHT hiányában barnás színű.

A reakció során keletkezett színanyag nem stabilis, ezért a zöld vagy kékeszöld alkoholos festékoldat színe néhány perc alatt barna színűvé változik. A reakció érzékenysége lehetővé teszi, hogy a BHT-re való kémlelést étkezési sertézsír esetén elvégezzük. (Az étkezési sertézsír BHT-tartalma max.: 100 ppm).

A BHT meghatározására először *Szalkowski* és *Garber* (8) dolgozott ki olyan eljárást, amely alkalmas 10–200 ppm BHT mérésére. E módszer alapja a BHT diazidinnel és salétromsavval végzett specifikus színreakciója, amely kolorimetriás mérésre alkalmas. *Johnson* (9) 1967-ben közölt módszere új utat nyitott az antioxidánsok meghatározásában. Közleményében leírja miként lehet nagy tisztaságú antioxidáns-frakciót nyerni növényi olajokból. A szerző BHT-nak növényi olajokból való kivonatolására analitikai tisztaságú pentánt és acetónitrilt javasol. Az extraktum tisztítását Woelm-savanyú alumínium-

\* Húsipari Tröszt, Iparági Laboratórium, Budapest.

oxiddal végzi, a kromatográfiásan tisztított BHT-oldatot 283 m/ $\mu$ -nál fotometrálja.

Munkánk során megkíséreltük a *Johnson* által növényi olajokra kidolgozott BHT meghatározást étkezési sertézsírra alkalmazni. A kísérletek során néhány egyszerűsítést és változtatást hajtottunk végre.

Az oldószer extrakció után a zsír-fázis leválasztására centrifugálást és kifagyasztást használtunk. Az extrakciót a robbanásveszélyes pentán helyett ciklohexánnal végeztük és a Woelm-alumíniumoxid helyett cellulózpor adsorbent használtunk.

Az általunk kidolgozott BHT-meghatározás lényege: a sertézsírból a BHT-t acetonitrillel kivonatoljuk, majd a zsírt (centrifugálás után) kifagyasztjuk. Az acetonitriles BHT-oldatot ciklohexánnal extraháljuk és a nem kívánatos ballasztanyagoktól cellulózporral töltött adszorbens-oszlopon megtisztítjuk, a tiszta BHT-oldatot spektrofotometráljuk.

Amint a 1. táblázaton is látható, a BHT sertézsírből átlagosan 100,7% értékben nyerhető vissza. Az általunk kidolgozott módszer szerint a BHT-meghatározás pontossága  $100,7 \pm 0,58$ , 100 ppm BHT bemérés esetében.

A BHT meghatározás pontossága 100 ppm BHT bemérése esetén 1. táblázat

Mérések száma	Átlagosan visszanyert BHT ppm	Egyedi hiba f	Hibanegyzet $f^2$	Hibanegyzet összege $\Sigma(f^2)$ Középtérték középhibája $F_m$
1	100,7	-2,1	4,41	$\Sigma(f^2) = 43,67$ $F_m = \sqrt{\frac{\Sigma(f^2)}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{43,67}{132}} = 0,58$
2		-0,8	0,64	
3		+2,6	6,76	
4		-0,4	0,16	
5		-0,1	0,01	
6		-0,8	0,64	
7		+2,6	6,76	
8		-0,1	0,01	
9		-0,8	0,64	
10		-0,8	0,64	
11		+3,6	12,96	
12		+3,2	10,24	

Eredmény:

$$E_m = 100,7 \pm 0,58$$

## Kísérleti rész

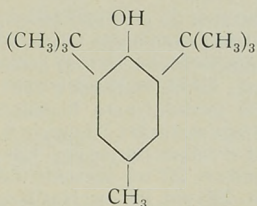
### I. BHT fizikai és kémiai tulajdonságai (1):

BHT = 2,5-di-(tercier-butil)-4 metil-fenol

(Más elnevezések: Jonol, Topanol OC)

Összegképlet:  $C_{15}H_{24}O$

Ms.: 220, 34



### Fizikai tulajdonságok

A BHT színtelen, kristályos, 69,2 °C° olvadáspontú anyag. Vízben és alkáliák vizes oldatában nem oldódik. Zsírban, szénhidrogénekben és acetonitrilben már szobahőmérsékleten jól oldható.

### Kémiai tulajdonságok

Formailag fenol, de a fenolokra jellemző kémiai tulajdonságokat az o- és o'-helyzetben levő két, nagy térigényű tercier-butil csoport miatt nem mutatja (pl. alkáliákban oldhatatlan).

A BHT fény, melegítés és levegőn való állás közben nem bomlik, nem képez oldhatatlan oxidációs termékeket (10).

Az ICI-minőségű anyag víztartalma: 0,1%, hamutartalma 0,01%.

## II. BHT kimutatása étkezési sertézsírban (11)

### Reagensok

1. 0,05%-os 2,6-diklórkinon-klórimid etanolos oldata
2. 0,5 n etanolos KOH-oldat
3. 96%-os etanol.

A homogenizált zsírmintából 5 g-ot 5 ml 96%-os etilalkoholban 50 °C-on elkeverünk, majd az elegyet jól összerázzuk. Néhány perc állás után az így nyert emulzió két fázisra válik. Az alkoholos fázishoz 0,3 ml 0,05%-os alkoholos diklórkinon-klórimid oldatot és 0,25 ml (= 10 csepp) 0,5 n alkoholos KOH-oldatot pipetázunk. BHT jelenlétében az alkoholos fázis színe zöld, vagy kékeszöld színű lesz. A keletkezett színanyag instabilis, csak néhány percig állandó, majd barna színűvé változik. A BHT hiányában fenti reakció barna színanyag keletkezéséhez vezet.

## III. BHT meghatározása étkezési sertézsírban

### Reagensok és készülékek

1. BHT (= Butilhidroxitoluol)
2. acetonitril (= metilcianid) at., frissen desztillálva
3. Ciklohexán at.
4. Nátriumklorid: 2%-os vizes oldat
5. Nátriumsulfát, izzított at.
6. Cellulózpor: Cellulose powder, Whatman

7. Kromatografáló oszlop: az üvegcső hossza 20 cm, belső átmérője 1,5 cm, az oszlop felül izzított nátriumszulfáttal zárva.
8. Spektrofotométer: Spektromom 201, illetve Specord UV VIS regisztráló spektrofotométer.

### Meghatározás kivitelezése

A homogenizált zsírmintából 25 g-ot 150 ml-es centrifugacsőbe mérünk és a zsírt vízfürdőn addig melegítjük, amíg higan folyós állományú lesz. Az olvadékhoz 40 C°-nál nem magasabb hőmérsékleten 50 ml acetonitril pipettázunk, majd az elegyet alaposan összerázzuk. Az oldószernek a zsírtól való elválasztása céljából az emulziót 5 percig 2000 fordulat/perc fordulatszámmal centrifugáljuk. A centrifugacsöveket a zsír kifagyasztására 30 percig 0 C°-on tartjuk.

A zsírtól az acetonitrilt elválasztjuk és egy 500 ml-es választótölcsérbe töltjük. A megdermedt zsírt kétszer 20 ml acetonitrillel mossuk. Az összegyűjtött acetonitriles BHT-oldathoz 250 ml 2%-os NaCl-oldatot és 90 ml ciklohexánt adunk, majd az elegyet intenzíven összerázzuk. Öt perc szobahőmérsékleten való állás után a felső oldószeres fázis élesen elválik az alsó, vizes fázistól. A felső, ciklohexános fázist elválasztás után kis mennyiségű izzított nátriumszulfáton szárítjuk. Tíz perc állás után nátriumszulfátot kiszűrjük és kétszer 10 ml ciklohexánnal átmoszuk. Az egységesített ciklohexános BHT-oldat térfogatát 10 torr nyomáson, 35 C°-os vízfürdőhőmérsékleten rotafilmbepárlón kb. 5 ml-re csökkentjük.

A kb. 5 ml térfogatú BHT-oldatot 1,5 g cellulózport tartalmazó, 20 cm hosszú és 1,5 cm belső átmérő kromatografáló oszlopon engedjük át. A cellulóz-oszlop utánmosására 20 ml ciklohexánt használunk. A 100 ml-es mérőlombikba gyűjtött eluátumot ciklohexánnal kiegészítjük és az oldat extinkcióját 276 m/ $\mu$ -nál mérjük.

2. táblázat

BHT nélküli és BHT tartalmú sertészsír extrakt extinkciói

Mérések száma	Sertészsír extrakt extinkciója (BHT nélkül) $E_{zsír}$			100 ppm BHT tartalmú sertészsír extrakt extinkciója $E_{BHT}$			A visszanyert BHT ppm
	$E_{min}$	$E_{max}$	$E_{\text{átlag}}$	$E_{min}$	$E_{max}$	$E_{\text{átlag}}$	
1	0,039	0,067	0,052	0,320	0,349	0,334	98,6
2	0,024	0,025	0,025	0,310	0,313	0,311	99,9
3	0,024	0,026	0,025	0,319	0,322	0,321	103,3
4	0,022	0,025	0,024	0,311	0,312	0,312	100,3
5	0,023	0,025	0,024	0,311	0,311	0,311	100,6
6	0,024	0,025	0,025	0,310	0,313	0,311	99,9
7	0,024	0,026	0,025	0,319	0,322	0,321	103,3
8	0,022	0,025	0,024	0,312	0,312	0,312	100,6
9	0,024	0,024	0,024	0,311	0,311	0,311	99,9
10	0,023	0,025	0,024	0,308	0,313	0,311	99,9
11	0,024	0,025	0,024	0,324	0,326	0,325	104,3
12	0,024	0,025	0,024	0,322	0,323	0,322	103,9

A kapott extinkcióból a visszanyert BHT ppm értéket

$$\text{BHT ppm} = 5 + 332 E_m$$

képletel határozzuk meg. A képletben szereplő  $E_m = E_{\text{BHT}} - E_{\text{zsír}}$ , ahol

$E_{\text{BHT}}$  = az antioxidánst tartalmazó zsírmintából készült ciklohexános BHT-oldat extinkciója

$E_{\text{zsír}}$  = a zsír extinkciója BHT nélkül.

Pl. az 2. táblázaton látható 6. mérésnél a sertészsír extrakt extinkciója 0,025, a 100 ppm BHT tartalmú sertészsír extrakt extinkciója 0,311, a 100 ppm BHT hozzáadásából adódó extinkció növekedés

$$E_m = 0,311 - 0,025 = 0,286,$$

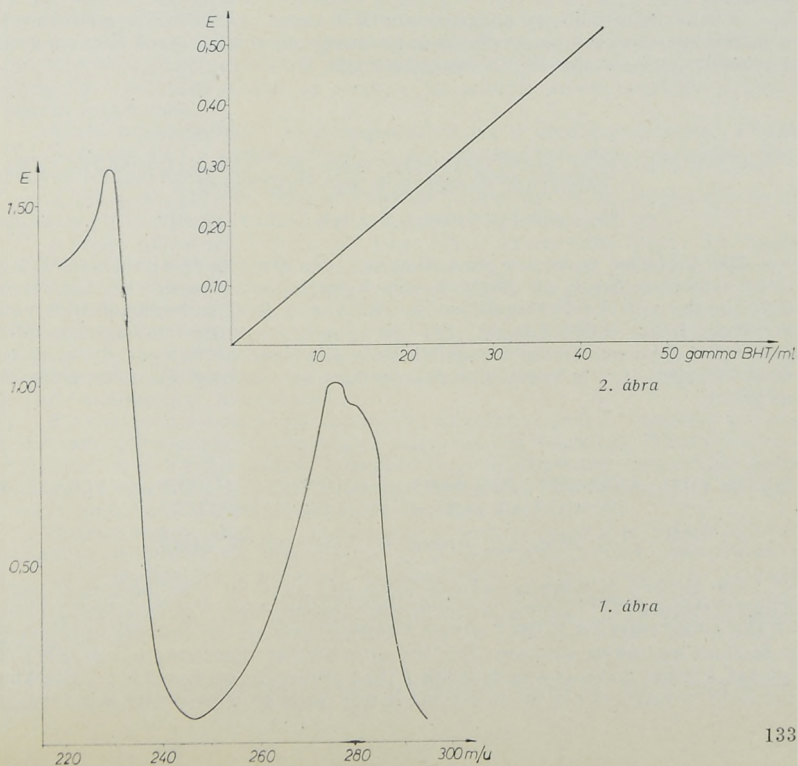
a visszanyert BHT ppm érték pedig:

$$\text{BHT ppm} = 5 + 332 \cdot 0,286 = 99,9.$$

#### Kalibrációs görbe felvétele:

A kalibrációs görbe az 1. ábrán látható. A görbe felvételéhez ciklohexános BHT-oldatot használtunk, az alkalmazott koncentrációk: 4, 10, 20, 40 és 100 gamma/ml BHT.

A BHT ciklohexánban felvett UV-spektruma a 2. ábrán látható, két karakterisztikus dublettet mutató görbét kaptunk.



- (1) *Raithel, H.*: L.U.L. 95, 246, 1952.
- (2) *Kraybill, H. R., Dugan, L. R.*: J. agric. Food Chem. 2, 81, 1954.
- (3) *Tollenaar, F. D., Vos, H. J.*: Fette u. Seifen 58, 112, 1956.
- (4) *Roos, J. B.*: Niederschrift einer internationalen Sachverständigen-Besprechung in Kulmbach vom 30. 7. bis 1.8. 1957.
- (5) *Biefer, K. W., Hadorn, H.*: Mitt. Lebensmitteluntersuch. Hyg. 47, 445, 1956.
- (6) *Högl, O., Wenger, F.*: Mitt. Lebensmitteluntersuch. Hyg. 45, 335, 1954.
- (7) *Seher, A.*: Fette u. Seifen 60, 1144, 1958.
- (8) *Szalkowski, C. R., Garber, J. B.*: J. agric. Food Chem. 10, 490, 1962.
- (9) *Johnson, D. P.*: Journal of the A. O. A. C. 50, 1298, 1967.
- (10) Shell Chemical Corp: Chem. Engin. 58, 196, 1951.
- (11) *Wurziger, J., Chandra, U.*: Fleischwirtsch. 11, 926, 1959.

## ВЫЯВЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУТИЛОВОГО ГИДРОКСИТОЛУОЛА (БГТ) В ПИЩЕВОМ СВИННОМ ЖИРЕ

*A. Aczel, Džë. Šelmeći, O. Noške и M. Marik*

Автор для выявления бутилового гидрокситолуола в пищевом свином жире применяли метод Вурзигера и Хандра. Основой выявления служила цветная реакция БГТ в спиртовом растворе КОХ с 2,6-дихлорхинон-хлоримид-ом.

Для количественного определения БГТ авторы разработали новый метод с помощью которого возможно соответствующей точностью и надёжностью проверить содержание БГТ в свином жире.

## NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON BUTYLHYDROXITOLUOL (BHT) IM TAFEL-SCHWEINESCHMALZ

*A. Aczél, Gy. Selmeçi, O. Noske und M. Marik*

Die Verfasser wendeten zum Nachweis von Butylhydroxitoluol (BHT) in Tafel-Schweineschmalz die Methode von Wurziger und Chandra an. Der Nachweis beruht auf der Farbreaktion des BHT mit 2,6-Dichlorchinon-Chlorimid in alkoholischer KOH Lösung. Für die quantitative Bestimmung des BHT arbeiteten die Verfasser eine neue Methode aus, welche die Kontrollierung des BHT-Gehaltes von Schweinefett mit genügender Genauigkeit, zuverlässig ermöglicht.

## DETECTION AND DETERMINATION OF BUTYL HYDROXYTOLUENE IN PIG FAT FOR HUMAN CONSUMPTION

*A. Aczél, Gy. Selmeçi, O. Noske and M. Marik*

The method of Wurziger and Chandra was used for the detection of butyl hydroxytoluene (BHT) in pig fat for human consumption. The detection is based on the colour reaction of BHT with 2,6-dichloroquinone chloroimide in ethanolic potassium hydroxide solution. For the quantitative determination of BHT in pig fat a novel method was developed that proved to be suitable for checking the BHT content of pig fat in a reliable way with an appropriate accuracy.