

液相萃取 - 反相高效液相色谱法联用测定 植物油中的苯并芘

彭小东¹, 王欢², 李红洲¹, 王雪蓉¹, 陈大鹏¹, 张 建¹

(1. 贵州省产品质量监督检验院, 贵阳 550013; 2. 贵州工业职业技术学院, 贵阳 550008)

摘要:建立液相萃取 - 反相高效液相色谱法测定植物油中苯并芘的方法, 以乙腈饱和的正己烷 - 正己烷饱和的乙腈作为萃取试剂, 采用反相高效液相色谱仪对植物油中苯并芘的含量进行测定。所得线性方程 $Y = 0.717\ 823X + 0.159\ 747$, 相关系数 $r = 0.999\ 99$, 线性范围在 2 ~ 100 ng/mL, 当乙腈饱和的正己烷与正己烷饱和的乙腈体积比为 2:5 时 (即 4 mL 乙腈饱和的正己烷, 10 mL 正己烷饱和的乙腈), 其回收率在 82.62%, 精密度为 1.1%, 检出限为 0.4 μg/kg。该方法稳定、高效、检测成本低, 适用于植物油中苯并芘的检测。

关键词: 苯并芘; 反相高效液相色谱; 液相萃取

中图分类号: TS201; TS227

文献标识码: A

文章编号: 1003 - 7969(2018)10 - 0112 - 03

Determination of benzopyrene in vegetable oil by liquid - phase extraction - RP - HPLC

PENG Xiaodong¹, WANG Huan², LI Hongzhou¹, WANG Xuerong¹,
CHEN Dapeng¹, ZHANG Jian¹

(1. Institution of Supervision and Inspection Product Quality of Guizhou Province, Guiyang 550013, China;
2. Guizhou Industry Polytechnic College, Guiyang 550008, China)

Abstract: A method for determination of benzopyrene (BaP) in vegetable oil by liquid - phase extraction - reversed phase high performance liquid chromatography (RP - HPLC) was established. With *n* - hexane saturated by acetonitrile - acetonitrile saturated by *n* - hexane as extraction solvent, the content of BaP in vegetable oil was determined by RP - HPLC. The results showed that there was linear relationship between peak area and BaP mass concentration in the range of 2 - 100 ng/mL, the linear equation was $Y = 0.717\ 823X + 0.159\ 747$, and the correlation coefficient was 0.999 99. When the volume ratio of *n* - hexane saturated by acetonitrile to acetonitrile saturated by *n* - hexane was 2:5 (4 mL *n* - hexane saturated by acetonitrile, 10 mL acetonitrile saturated by *n* - hexane), the recovery rate was 82.62%, the precision was 1.1%, and the limit of detection was 0.4 μg/kg. The method was stable, efficient and low cost, and was suitable for the determination of BaP in vegetable oil.

Key words: benzopyrene; RP - HPLC; liquid - phase extraction

收稿日期: 2018 - 01 - 22; 修回日期: 2018 - 06 - 20

基金项目: 贵州省科学技术厅农业科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2017] 2549)

作者简介: 彭小东 (1988), 男, 助理工程师, 硕士, 研究方向为食品与发酵工程学 (E-mail) 41262641@qq.com。

通信作者: 张 建, 高级工程师, 硕士 (E-mail) 6630495@qq.com。

苯并芘 (BaP), 属多环芳烃类, 是一种高活性间接致癌物质^[1]。苯并芘主要通过吸入、食用、经皮吸收等途径侵入人体, 对人的眼睛、皮肤有刺激作用, 长期接触可能会致使 DNA 损伤, 导致细胞癌变。食品中苯并芘的来源广泛, 植物油中苯并芘的主要来源包括油料作物在晾晒和焙烤过程中因浸出阶段温度过高而产生^[2-3], 我国现行标准 GB 2762—

2017 对油脂及其制品的苯并芘限量为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ^[4]。

目前,对食品中苯并芘的检测,GB 5009.27—2016 采用中性氧化铝或分子印迹柱法^[5],即:前处理采用固相萃取,之后高效液相色谱进行检测分析,但还是存在商用固相萃取成本高、自制层析柱柱效不稳定的问题。本文通过查阅大量文献,结合日常试验,建立了液相萃取—反相高效液相色谱法测定植物油中苯并芘含量的方法,该方法稳定、高效,而且大大降低了试验成本。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

植物油:购自大连中实国实检测技术有限公司的内部质控样品,样品编号:CFAPA-QC011B-1, BaP 指定值为 $56.31 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

苯并芘标准品:Dr Ehrenstorfer GmbH 公司;乙腈、正己烷、环己烷:分析纯,国药集团公司;乙腈:色谱纯,德国默克公司;试验用水为经超纯水仪处理的一级水。

1.1.2 仪器与设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配荧光检测器):美国安捷伦公司;冷冻离心机:美国贝克曼库尔特公司;旋转蒸发器:东京理化器械株式会社;混匀振荡器:Heidolph 公司;固相萃取装置:美国安捷伦公司;Cleanert BaP 固相萃取柱($22 \text{ g}/60 \text{ mL}$): Agela Technologies Cleanert。

1.2 试验方法

1.2.1 液相色谱条件

色谱柱为 Zorbax SB-C18 柱($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm} \times 5 \mu\text{m}$);流动相为乙腈—水(体积比 88:12);流速 $1 \text{ mL}/\text{min}$;进样量 $10 \mu\text{L}$;柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$;荧光检测器,激发波长 384 nm ,发射波长 406 nm 。

1.2.2 标准储备液及标准溶液的配制

准确称取苯并芘标准物质 1.0 mg (精确至 0.1 mg)于 10 mL 容量瓶中,甲苯溶解并定容,得 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液,用色谱乙腈逐级进行梯度稀释,获得 $2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100 \text{ ng}/\text{mL}$ 标准工作液。

1.2.3 样品前处理

称取 0.50 g 植物油样品,加入萃取溶剂 10 mL ,振荡混匀 10 min , $5000 \text{ r}/\text{min}$ 离心 5 min ,重复萃取 2 次,合并萃取液至鸡心瓶中,减压浓缩至近干,准确加入 2 mL 乙腈(色谱级),涡旋溶解后,过 $0.22 \mu\text{m}$ 有机膜,待上机。

空白前处理,称取苯并芘阴性植物油样品 0.50 g ,其余均与样品的前处理一致。

1.2.4 计算公式

苯并芘含量的计算见下式:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V}{m \times d}$$

式中: X 为样品中苯并芘的含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$; C 为标准曲线定量的样品苯并芘质量浓度, ng/mL ; C_0 为空白的苯并芘质量浓度, ng/mL ; V 为定容体积, mL ; m 为样品质量, g ; d 为稀释倍数。

2 结果与分析

2.1 标准曲线及检出限

以 1.2.2 的苯并芘标准工作液质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,苯并芘标准曲线见图 1。由图 1 可知,苯并芘在 $2 \sim 100 \text{ ng}/\text{mL}$ 质量浓度范围内线性良好,回归方程: $Y = 0.717823X + 0.159747$,相关系数 $r = 0.99999$,以信噪比(S/N)的 3 倍计算检出限,在取样量为 0.50 g 时,苯并芘的检出限为 $0.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

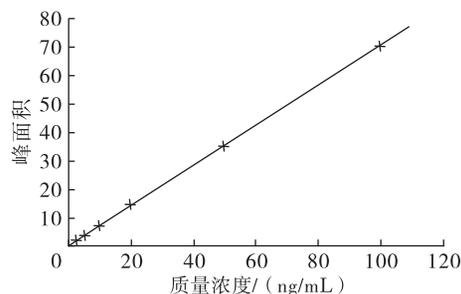


图 1 苯并芘标准曲线

2.2 萃取溶剂的筛选

试验选取正己烷、环己烷、乙腈、正己烷—乙腈,乙腈饱和的正己烷—正己烷饱和的乙腈作为液相萃取的溶剂,萃取溶剂均选用分析纯,按照 1.2.3 的方法进行前处理,通过对质控样品回收率的计算,比较几种溶剂的萃取效果,结果见表 1。

表 1 不同萃取溶剂苯并芘的回收率

萃取溶剂	测定值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	本底值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	质控样指定值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%
环己烷	—	162.10	—	—
正己烷	43.12	6.24	—	65.49
乙腈	34.64	未检出	56.31	61.52
正己烷—乙腈(1 mL—10 mL)	37.48	未检出	—	66.56
乙腈饱和的正己烷—正己烷饱和的乙腈(1 mL—10 mL)	40.70	未检出	—	72.28

由表 1 可知,环己烷作为萃取溶剂,其苯并芘本底值过高,因此不考虑作为萃取溶剂;其他萃取溶剂的苯并芘回收率大小顺序为:乙腈饱和的正己烷 - 正己烷饱和的乙腈 > 正己烷 - 乙腈 > 正己烷 > 乙腈,所以选择乙腈饱和的正己烷 - 正己烷饱和的乙腈作为萃取溶剂。

2.3 不同溶剂配比的优选及方法精密度

表 2 不同溶剂比例下苯并芘的回收率和精密度

乙腈饱和的正己烷与正己烷饱和的乙腈体积比	测定值/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均值/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	本底值/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	质控样指定值/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%	RSD/%
1:5(2 mL - 10 mL)	39.23				69.67	
	40.20	40.04	未检出		71.39	1.87
	40.70				72.28	
	46.36				82.33	
2:5(4 mL - 10 mL)	47.10	46.53	未检出		83.64	1.10
	46.12			56.31	81.90	
	48.56				79.63	
	47.72	48.04	3.72		78.14	0.94
3:5(6 mL - 10 mL)	47.85				78.37	
	52.92				75.94	
	48.94	51.16	10.16		68.87	4.95
国标法(中性氧化铝柱)	51.63				73.65	

由表 2 可知,当乙腈饱和的正己烷与正己烷饱和的乙腈体积比为 2:5 时,回收率最高,3:5 次之;1:5 时,最低。试验发现,当正己烷添加量在 1~4 mL 时,本底值为 0,随着正己烷比例的增加,试剂中苯并芘的本底值也逐渐增大。因此,选择二者比例为 2:5,即乙腈饱和的正己烷 4 mL,正己烷饱和的乙腈 10 mL 时,其回收率最高,平均回收率为 82.62%,较国标法的回收率高,且没有试剂本底值的干扰。

在精密度方面,由乙腈饱和的正己烷 - 正己烷饱和的乙腈作为萃取溶剂的精密度良好,精密度在 0.94%~1.87%,而按国标法处理的样品,其精密度水平较低(4.95%)且苯并芘本底值较高,可能是因为层析柱效不稳定及试验过程中用了大量的正己烷作为洗脱液所致。

综合比较,当乙腈饱和的正己烷与正己烷饱和的乙腈体积比为 2:5 时(即 4 mL 乙腈饱和的正己烷,10 mL 正己烷饱和的乙腈),没有苯并芘本底值的干扰,同时还提高了精密度和回收率。

3 结论

本试验采用液相萃取法进行前处理,用高效液

相 2.2 可知选用乙腈饱和的正己烷 - 正己烷饱和的乙腈作为萃取溶剂苯并芘的回收率最高,因此进一步对其配比进行优化:先加入乙腈饱和的正己烷,振荡混匀 5 min,之后加入 10 mL 正己烷饱和的乙腈振荡 10 min,后续处理同 1.2.3,同时按照国标 GB 5009.27—2016 的方法对同一样品进行平行分析,结果见表 2。

相色谱,荧光检测器测定样品中苯并芘的含量,结果表明:样品经 4 mL 乙腈饱和的正己烷振荡混匀 5 min 后,加入 10 mL 正己烷饱和的乙腈,涡旋振荡 10 min,重复萃取 2 次,平均回收率可达 82.62%,精密度的 1.1%,检出限为 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法相比 GB 5009.27—2016 的测定方法,节约了试验成本,提高了回收率和精密度,适用于植物油中苯并芘含量测定。

参考文献:

- [1] 刘宁,沈明浩. 食品毒理学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007.
- [2] 李进伟,王兴国,金青哲. 食用油中苯并芘的来源检测和控制[J]. 中国油脂,2011,36(6):7-11.
- [3] 宋怡城. 植物油中苯并芘检测及产生机理研究[J]. 农产品加工,2015(5):11-13.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中污染物限量:GB 2762—2017[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品中苯并(a)芘的测定:GB 5009.27—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.