

检测分析

植物油中苯并(a)芘含量测定方法的建立

周青燕, 邹燕娣, 包李林, 熊巍林, 林俞霞, 张谦益

(道道全粮油股份有限公司, 国家油菜籽加工技术研发分中心, 湖南 岳阳 414000)

摘要:采用先皂化再层析洗脱的方法对样品进行前处理,建立了高效液相色谱法测定植物油中苯并(a)芘含量的方法。结果表明:建立的方法加标回收率为99.5%~106%,RSD为0.68%~3.6%,前处理具有成本低(<10元/样)、耗时短(60 min),试剂无水乙醇无毒、环保的优点,适用于大批量植物油中苯并(a)芘含量的测定。

关键词:苯并(a)芘;植物油;高效液相色谱;前处理

中图分类号:O657.7;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)11-0137-03

Establishment of method for determination of benzo(a) pyrene content in vegetable oil

ZHOU Qingyan, ZOU Yandi, BAO Lilin, XIONG Weilin,
LIN Yuxia, ZHANG Qianyi

(National R & D Center for Rapeseed Processing, Daodaoquan Grain & Oil Shares Co., Ltd., Yueyang 414000, Hunan, China)

Abstract: A method for determination of benzene (a) pyrene content in vegetable oil by high performance liquid chromatography was established using sample pretreatment of saponification and chromatographic elution. The results showed that the standard addition recovery and RSD of this method were 99.5% - 106% and 0.68% - 3.6% respectively, and pretreatment method had the advantages of low cost (less than ¥10 per sample), short time (60 min), non-toxic and environmental protection (ethanol), which was applicable to large quantities of vegetable oil in the determination of benzo(a) pyrene content.

Key words: benzo (a) pyrene; vegetable oil; high performance liquid chromatography; pretreatment

苯并(a)芘是一类具有间接强致癌作用的多环芳烃有机化合物^[1-3]。食用油作为日常生活中的必需品,其苯并(a)芘含量检测已成为检测机构中常见的检测项目之一。目前,国内检测苯并(a)芘的权威的方法(GB/T 5009.27—2016)采用中性氧化铝柱和苯并(a)芘分子印迹柱作为植物油的前处理,这两种前处理方法回收率高,具有良好的准确性,但因为是市场商品,具有成本高的缺陷。据了解,一次性中性氧化铝柱20~40元/根,一次性苯并

(a)芘分子印迹柱30~60元/根。本文旨在寻求一种准确性高、成本低、无毒的苯并(a)芘前处理方法,为植物油中苯并(a)芘含量的测定提供方法参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

氢氧化钾、无水乙醇:分析纯;0.5 mol/L KOH - 无水乙醇溶液;石油醚:分析纯;甲醇、正己烷:色谱纯;超纯水;氧化铝(100~200目):层析专用;ProE-lutBap 植物油中苯并(a)芘专用固相萃取小柱:中性氧化铝,填料粒径15~75 μm,22 g/60 mL,迪马公司;4.95 g/mL 苯并(a)芘标准品:中国计量科学研究院;试验中所用的油样均由道道全粮油股份有限公司提供。

收稿日期:2018-03-13;修回日期:2018-07-30

基金项目:湖南省重点研发计划项目(2017NK2212)

作者简介:周青燕(1972),女,助理工程师,主要从事植物油的质量检测管理工作(E-mail)2316775356@qq.com。

通信作者:邹燕娣,工程师,硕士研究生(E-mail)527488691@qq.com。

1.1.2 仪器与设备

安捷伦 1260 型高效液相色谱仪(配荧光检测器),RE-201 型旋转蒸发仪,HGC-12A 氮吹仪,HH-8 型数显恒温水浴锅,玻璃层析柱(长 47 cm,内径 1.0 cm,带砂芯配旋塞)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验原理

中性氧化铝(Al_2O_3)适合分离碱性物质,采用一级 Al_2O_3 为固相萃取柱填料,其吸附性能最强,尤其是极性越强的物质,对其吸附性能越强。本试验中先对植物油中甘油酯进行皂化反应,将非极性的脂肪酸酯转变为强极性的强碱弱酸性脂肪酸钾,而苯并(a)芘属于非极性,且在碱性条件下稳定,因而在皂化反应中未损失。在固相萃取时,脂肪酸钾被牢牢吸附,再用适量乙醇洗脱苯并(a)芘。

1.2.2 本方法

(1)皂化:称取 0.4 g(精确至 0.000 1 g)的油样于 250 mL 平底烧瓶中,加入 5 mL 0.5 mol/L 的 KOH-无水乙醇溶液,置于 70 °C 水浴中搅拌皂化 15 min。

(2)氧化铝柱的装备:在 20 mL 无水乙醇中加入 10 g 中性氧化铝,并将悬浮液倒入玻璃柱中,使氧化铝自然沉降,打开活塞放出溶剂,待液面达到氧化铝顶层时关闭活塞。

(3)苯并(a)芘的洗脱:将平底烧瓶中的皂化物移至装好的玻璃层析柱中,用 250 mL 平底烧瓶收集流出液,流速为 2 mL/min,待皂化液流完后,加入 30 mL 无水乙醇洗脱,待流尽,将收集的洗脱液旋转蒸发浓缩至近干,用 2~3 mL 石油醚清洗平底烧瓶,并移入样品瓶中,在氮吹仪下浓缩近干,准确吸取 1 mL 甲醇到样品瓶中,经 0.45 μm 滤膜过滤后上机检测。

1.2.3 GB/T 5009.27—2016

(1)提取:称取 0.4 g(精确到 0.000 1 g)油样,加入 5 mL 正己烷,旋涡混合 0.5 min,待净化。

(2)净化方法:采用 ProElutBaP 植物油中苯并(a)芘专用固相萃取小柱,用 30 mL 正己烷活化柱子,待液面降至柱床时,关闭底部旋塞。将待净化液转移进柱子,打开旋塞,以 1 mL/min 的速度收集净化液到茄形瓶,再加入 50 mL 正己烷洗脱,继续收集净化液。将净化液在 40 °C 下旋蒸至约 1 mL,转移至色谱仪进样小瓶,在 40 °C 氮气流下浓缩至近干。用 1 mL 正己烷清洗茄形瓶,将洗涤液再次转移至色谱仪进样小瓶并浓缩至干。准确吸取 1 mL 乙腈到色谱仪进样小瓶,过 0.45 μm 微孔滤膜后供液相色

谱测定。

1.2.4 色谱条件

色谱柱:C18 柱(5 μm ,250 mm×4.6 mm);流动相为甲醇-水(体积比 90:10),流速 1.0 mL/min;进样量 20 μL ;柱温 30 °C;荧光检测器参数设定:激发波长 384 nm,发射波长 406 nm;外标法定量。

1.2.5 标准曲线的绘制

将苯并(a)芘标准储备液(0.495 $\mu\text{g}/\text{mL}$),用甲醇分别稀释得到 0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL 标准溶液,临用现配。摇匀后过 0.45 μm 有机滤膜。按照 1.2.4 色谱条件分析,以标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

线性回归方程为: $A = 1.554 \times C + 0.222$,相关系数 $r = 0.9997$ 。方法的最低检出限为基线 3 倍所对应的质量浓度,该方法的检出限为 0.04 ng/mL。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离

在本试验色谱分析条件下,样品中的苯并(a)芘与杂质能较好地分开,杂质峰少,不干扰测定。苯并(a)芘的保留时间为 11.29 min。色谱分离结果见图 1。将质量浓度为 20 ng/mL 的标准溶液同一天内重复测定 6 次并取平均值计算精密度,测得变异系数为 0.34%,说明其精密度和重现性较好。

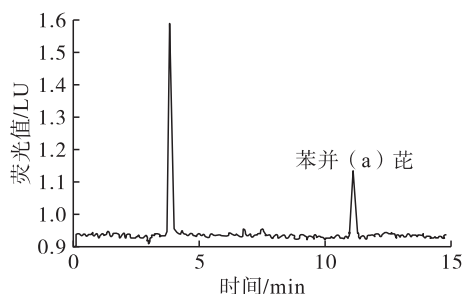


图 1 苯并(a)芘的分离效果

2.2 方法回收率

以不含苯并(a)芘的一级葵花籽油为本底,分别加入低(1.0 ng/mL)、中(5.0 ng/mL)、高(20.0 ng/mL)3个水平的苯并(a)芘标准溶液 1 mL,分别按照 1.2.2、1.2.3 方法处理样品并上机测定,每个加标样水平进行 3 次平行测定,计算两种方法的回收率和相对标准偏差(RSD)。测定结果见表 1。

由表 1 可知,按照本试验方法和 GB/T 5009.27—2016 处理样品,本试验方法的苯并(a)芘回收率范围为 99.5%~106%,RSD 为 0.68%~3.6%;国标的苯并(a)芘回收率范围为 96.9%~120%,RSD 为 3.40%~5.78%。表明本试验方法对食用油中苯并(a)芘含量分析具有良好重复性,回收率高而稳定,

且方法前处理较简单(皂化 15 min→层析萃取 30 min→旋转蒸发 5 min→氮吹浓缩 10 min→定容),耗时 60 min,洗脱试剂无毒(无水乙醇),成本低(<10

元/样),适合大批量试验,有利于企业大规模监控生产过程中的苯并(a)芘含量。

表1 苯并(a)芘的回收率结果

方法	加标量/ (ng/mL)	实测值/(ng/mL)				回收率/%	RSD/%
		1	2	3	平均值		
本试验方法	1.0	1.10	1.05	1.03	1.06	106.0	3.60
	5.0	5.01	4.98	5.06	5.02	100.4	0.80
	20.0	19.87	19.77	20.04	19.90	99.5	0.68
GB/T 5009.27—2016	1.0	1.20	1.15	1.25	1.20	120.0	3.40
	5.0	5.10	5.42	5.87	5.46	109.2	5.78
	20.0	20.31	19.10	18.74	19.38	96.9	3.46

2.3 样品的测定

采用本方法对不同植物油检测其苯并(a)芘含量,结果见表2。

表2 本方法测定的不同植物油苯并(a)芘含量结果

样品	编号	含量	样品	编号	含量
大豆油	1	0.65	油茶籽油	1	1.35
	2	0.89		2	2.02
	3	0.99		3	3.05
菜籽油	1	1.56	芝麻油	1	2.45
	2	3.56		2	2.37
	3	5.35		3	2.42
花生油	1	0.68	棕榈油	1	1.25
	2	0.98		2	1.35
	3	2.40		3	1.54
食用调和油	1	0.35	葵花籽油	1	2.31
	2	0.38		2	2.41
	3	0.42		3	2.56

由表2可知,抽检的大豆油、菜籽油、花生油、食用调和油、油茶籽油、芝麻油、棕榈油、葵花籽油共

24个样品,苯并(a)芘含量均未超国家标准限值10 μg/kg。

3 结论

研究了测定植物油中苯并(a)芘含量的高效液相色谱法。结果表明,本试验方法的回收率为99.5%~106%,RSD为0.68%~3.6%,说明本试验方法的重复性较好,回收率高而稳定,且成本低(<10元/样),前处理耗时60min,试剂(无水乙醇)无毒环保,适合大批量试验,更有利于企业大量监控生产过程中的苯并(a)芘含量,确保植物油的质量安全。

参考文献:

- [1] 罗皓,唐焕文,杜进林,等. 苯并(a)芘的毒性及其致癌机制研究现状[J]. 实用预防医学, 2011, 18(4): 772-773.
- [2] 王广峰. 苯并芘对人体的危害和食品中苯并芘的来源及防控[J]. 菏泽学院学报, 2014, 36(2): 66-70.
- [3] 吴丹. 食品中苯并芘污染的危害性及其预防措施[J]. 食品工业科技, 2008, 29(5): 309-311.

告

读

者

为更好地服务于广大读者,《中国油脂》杂志社常年办理《中国油脂》逾期补订和过刊订阅业务;常年办理油脂专业书籍邮购业务,书目、代号、价格请查阅近期《中国油脂》杂志社专业书籍征订广告。

订阅、邮购地址:西安市劳动路118号,《中国油脂》杂志社读者服务部
邮编:710082 电话:029-88653162 联系人:潘亚萍