

# 植物油中苯并(a)芘含量的快速检测方法研究

黄媛

(福建省产品质量检验研究院, 国家加工食品质量监督检验中心, 福州 350001)

**摘要:** 建立一种快速灵敏测定植物油中苯并(a)芘含量的方法。采用四氢呋喃作为萃取溶剂, 样品溶解过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后直接注入高效液相色谱仪进行测定。结果表明: 方法在苯并(a)芘质量浓度 0.1 ~ 20 ng/mL 的范围内线性关系良好, 相关系数  $R^2$  为 0.999 9, 检出限为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 样品加标回收率在 93.5% ~ 102.5% 之间。该方法重现性好, 灵敏度高, 可对 6 类植物油中苯并(a)芘含量进行测定, 具有较强的实际应用价值。

**关键词:** 苯并(a)芘; 植物油; 快速检测; 高效液相色谱法

中图分类号: TS225.1; TS206.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2020)11-0073-04

## A fast method for the determination of benzo(a) pyrene content in vegetable oil

HUANG Yuan

(National Quality Supervision and Testing Center for Processed Food, Fujian Inspection and Research Institute for Product Quality, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** A fast, efficient and sensitive method for the determination of benzo(a) pyrene (BaP) in vegetable oil was established. The tetrahydrofuran was taken as extraction solvent, and sample solution was injected into the HPLC directly after filtering by 0.22  $\mu\text{m}$  filter membrane. The results showed that the method had good linearity in the range of 0.1 - 20 ng/mL for BaP, with the correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.999 9, and the detection limit and quantitation limit were 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively, the recovery rate of real sample spiked was 93.5% - 102.5%. This proposed method had been successfully applied to analyze BaP in six kinds of vegetable oils with good reproducibility and high sensitivity, and the method had a great practical application value.

**Key words:** benzo(a) pyrene; vegetable oil; fast detection; HPLC

苯并(a)芘(Benzo(a) pyrene, BaP)由5个苯环构成,是毒性最大的一种多环芳烃。研究证实,苯并(a)芘是一种间接致癌物,在体内潜伏期长,通过慢性累积可引起细胞病变,从而引发肺癌、皮肤癌、上消化道肿瘤等<sup>[1-3]</sup>。2005年,欧盟规定食用油中苯并(a)芘含量不得超过2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[4]</sup>。我国卫生和计划生育委员会规定,食用油中苯并(a)芘最大限量值为10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[5]</sup>。食用油是人们生活中的必需品,作为苯并(a)芘进入人体的主要来源,对其苯并(a)芘含量的监测与控制意义重大。

目前,植物油中苯并(a)芘的测定多采用荧光检测器,但在前处理上仍需过柱净化,存在成本高且过程烦琐的问题。本研究综合文献报道<sup>[6-7]</sup>,优化方法,建立了一种高效率、低成本测定植物油中苯并(a)芘含量的方法,具有较强的实际应用价值。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

苯并(a)芘标准品(o2si),上海安谱科技股份有限公司;四氢呋喃、二氯甲烷,国药集团化学试剂有限公司;乙腈,山东禹王和天下新材料有限公司;环己烷,赛默飞世尔科技有限公司;正己烷,默克股份两合公司;其他试剂均为分析纯,实验用水均为超纯水。

Waters e2695 高效液相色谱仪(配备荧光检测

收稿日期:2020-02-04;修回日期:2020-02-25

作者简介:黄媛(1991),女,助理工程师,硕士,研究方向为食品安全(E-mail)624265201@qq.com。

器);Ultimate XB-C18 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),月旭科技股份有限公司;IKA MS 3 basic 单发涡旋振荡器,上海沪粤明科学仪器有限公司;Sartorius BSA 224S 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;BaP 固相萃取柱(500 mg/6 mL),Agela Technologies Cleanert。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 标准溶液配制

准确移取 1.00 mL 苯并(a)芘标准品(100 μg/mL)于 50 mL 棕色容量瓶中,使用乙腈溶解并定容,得 2 μg/mL 标准储备液,置于 -18 °C 冷冻保存;取标准储备液用乙腈逐级稀释,得质量浓度分别为 0.1、0.2、1.0、5.0、20 ng/mL 的苯并(a)芘系列标准溶液。

### 1.2.2 样品前处理

本方法:称取 1.00 g 植物油样品于 10 mL 刻度管中,用萃取溶剂定容至 5 mL,涡旋混匀 30 s,过 0.22 μm 有机滤膜,上机测试。

国标方法:按 GB 5009.27—2016 方法进行样品处理。

### 1.2.3 液相色谱条件

A 相为水,B 相为乙腈,C 相为乙腈-四氢呋喃(体积比 1:1),流速 1.0 mL/min;进样量 10 μL;柱温 35 °C;激发波长 384 nm,发射波长 406 nm。本方法采用梯度洗脱(梯度洗脱程序见表 1)。国标方法流动相采用 10% A、90% B 等度洗脱。

表 1 本方法 HPLC 梯度洗脱程序

| 时间/min | A/% | B/% | C/% |
|--------|-----|-----|-----|
| 0.01   | 10  | 90  | 0   |
| 5.10   | 0   | 0   | 100 |
| 8.00   | 10  | 90  | 0   |
| 15.00  | 10  | 90  | 0   |

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取溶剂的选择

根据目标物的溶解性,试验分别使用正己烷、石油醚、环己烷以及四氢呋喃作为萃取溶剂进行萃取。结果表明:正己烷本底存在干扰,不利于目标物定性及定量;采用石油醚及环己烷时,苯并(a)芘出峰展

宽严重,且重现性较差;样品采用四氢呋喃萃取后,经色谱柱分离,苯并(a)芘峰型良好,且无杂质干扰。因此,确定四氢呋喃为萃取溶剂。

### 2.2 色谱条件的优化

采用乙腈、水作为流动相进行洗脱,在乙腈-水体积比为 90:10 时,苯并(a)芘分离效果最好,且分析时间较短。由于样品直接处理后即进样分析,色谱柱中可能会残留少量油脂,多次进样后易导致其柱效下降。因此,本研究尝试通过梯度洗脱的方式进行色谱分离。根据四氢呋喃对油脂极强的溶解性,在目标物出峰后,使用乙腈-四氢呋喃(体积比 1:1)对色谱柱进行冲洗,获得了较好的重复性。图 1 为 BaP 含量为 4.43 μg/kg 的植物油样品液相色谱图。

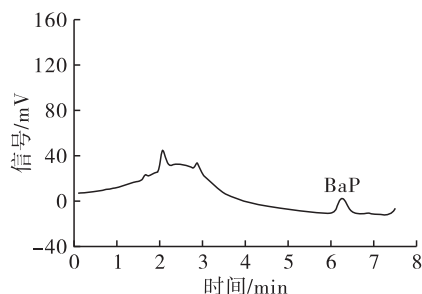


图 1 BaP 含量为 4.43 μg/kg 的植物油样品液相色谱图

### 2.3 方法学验证

#### 2.3.1 工作曲线、检出限及定量限

将苯并(a)芘系列标准工作液注入液相色谱仪,分别以 BaP 质量浓度对应得到的峰面积绘制工作曲线。结果表明,目标化合物在 0.1~20 ng/mL 范围内的线性关系良好,回归方程为  $Y = 1\,532\,460X + 11\,717$ ,相关系数( $R^2$ )为 0.999 9。方法的检出限和定量限分别以 3 倍和 10 倍信噪比来进行计算,得到检出限为 0.1 μg/kg,定量限为 0.3 μg/kg。

#### 2.3.2 回收率及精密度

随机抽取 6 份不同种类的植物油进行加标回收率试验。样品中添加适量苯并(a)芘标准溶液,得高、中、低 3 个质量浓度水平加标试样,涡旋混匀后按照本方法进行分析,每个添加水平平行测定 6 次,结果如表 2 所示。

表 2 植物油中 BaP 的加标回收率和相对标准偏差(RSD)(n=6)

| 样品   | 本底值/(μg/kg) | 加标量/(μg/kg) | 测定值/(μg/kg) | 回收率/% | RSD/% |
|------|-------------|-------------|-------------|-------|-------|
| 油茶籽油 | ND          | 2           | 1.87        | 93.5  | 3.12  |
|      |             | 5           | 4.88        | 97.6  | 2.01  |
|      |             | 10          | 10.02       | 100.2 | 1.33  |
| 花生油  | 2.3         | 2           | 4.23        | 96.5  | 2.13  |
|      |             | 5           | 7.42        | 102.4 | 1.42  |
|      |             | 10          | 12.18       | 98.8  | 1.66  |

续表 2

| 样品  | 本底值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 加标量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 测定值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 回收率/% | RSD/% |
|-----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------|-------|
| 芝麻油 | 4.3                             | 2                               | 6.28                            | 99.0  | 1.03  |
|     |                                 | 5                               | 9.33                            | 100.6 | 1.22  |
|     |                                 | 10                              | 14.32                           | 100.2 | 2.05  |
| 大豆油 | 1.5                             | 2                               | 3.45                            | 97.5  | 3.08  |
|     |                                 | 5                               | 6.42                            | 98.4  | 2.59  |
|     |                                 | 10                              | 11.53                           | 100.3 | 1.06  |
| 橄榄油 | ND                              | 2                               | 1.88                            | 94.0  | 3.17  |
|     |                                 | 5                               | 4.89                            | 97.8  | 2.03  |
|     |                                 | 10                              | 10.12                           | 101.2 | 1.01  |
| 玉米油 | 0.7                             | 2                               | 2.75                            | 102.5 | 1.04  |
|     |                                 | 5                               | 5.68                            | 99.6  | 1.56  |
|     |                                 | 10                              | 10.54                           | 98.4  | 0.26  |

注:ND 为未检出。

由表2可知,本方法回收率在93.5%~102.5%之间,相对标准偏差低于3.17%,符合检测要求。

取植物油阳性样品,按本方法处理后进样分析,每日平行测定6次,连续测定3d,得到日间精密度为2.01%,日内精密度为1.67%,结果表明该方法

具有良好的精密度。

#### 2.4 实际样品测定

对市场流通的不同品牌的6种植物油进行随机监督抽查,按照本方法进行测定,结果如表3所示。

表3 6种植物油中苯并(a)芘含量的检测结果

| 样品   | 样品数(份) | 检出率/% | 检出范围/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 均值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 不合格率/%                        |                                |
|------|--------|-------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|      |        |       |                                  |                                | (>2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | (>10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |
| 油茶籽油 | 49     | 59.2  | 0.5~17.2                         | 1.95                           | 24.5                          | 2.0                            |
| 花生油  | 70     | 100   | 0.8~4.3                          | 2.04                           | 38.6                          | 0                              |
| 芝麻油  | 11     | 63.6  | 0.7~6.1                          | 1.47                           | 36.4                          | 0                              |
| 大豆油  | 60     | 40.0  | 0.6~1.6                          | 0.38                           | 0                             | 0                              |
| 橄榄油  | 12     | 0     | -                                | -                              | 0                             | 0                              |
| 玉米油  | 62     | 54.8  | 0.7~5.8                          | 1.27                           | 27.4                          | 0                              |
| 总计   | 264    | 62.1  | 0.5~17.2                         | 1.34                           | 22.7                          | 0.38                           |

由表3可知,264份样品中共有164份检出苯并(a)芘,检出率为62.1%,含量范围在0.5~17.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。其中,花生油均检出苯并(a)芘,橄榄油均未检出,6种植物油苯并(a)芘检出率高低顺序为花生油(100%)>芝麻油(63.6%)>油茶籽油(59.2%)>玉米油(54.8%)>大豆油(40.0%)>橄榄油(0%);按照

我国现行标准限量要求,检出不合格油茶籽油1份(>10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ),不合格率为0.38%;按照欧盟法规要求,检出60份植物油不合格(>2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ),不合格率为22.7%。

取代表性阳性油样10份(1#~10#),分别采用本方法及国标方法(GB 5009.27—2016)进行试验,方法对比及结果对比分别见表4、表5。

表4 植物油中苯并(a)芘不同测定方法比较

| 方法   | 样品前处理 |           |        |         | 检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 定量限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |
|------|-------|-----------|--------|---------|---------------------------------|---------------------------------|
|      | 取样量/g | 提取方法      | 溶剂消耗   | 时间消耗    |                                 |                                 |
| 本方法  | 1.0   | 溶剂提取      | 约4 mL  | 约2 min  | 0.1                             | 0.3                             |
| 国标方法 | 0.4   | 溶剂提取+过柱净化 | 约30 mL | 约30 min | 0.2                             | 0.5                             |

表5 不同方法测定植物油中苯并(a)芘含量比较

| 样品 | 苯并(a)芘含量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |      | 相对误差/% | 样品  | 苯并(a)芘含量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |      | 相对误差/% |
|----|--------------------------------------|------|--------|-----|--------------------------------------|------|--------|
|    | 本方法                                  | 国标方法 |        |     | 本方法                                  | 国标方法 |        |
| 1# | 1.52                                 | 1.55 | 1.95   | 6#  | 3.24                                 | 3.21 | 0.93   |
| 2# | 2.34                                 | 2.42 | 3.36   | 7#  | 0.89                                 | 0.94 | 5.46   |
| 3# | 1.22                                 | 1.30 | 6.35   | 8#  | 4.31                                 | 4.28 | 0.70   |
| 4# | 3.64                                 | 3.58 | 1.66   | 9#  | 6.41                                 | 6.57 | 2.47   |
| 5# | 5.32                                 | 5.31 | 0.19   | 10# | 3.73                                 | 3.64 | 2.44   |

由表4可知:相对于国标方法,本方法增大了取样量,降低了可能由取样带来的随机误差;在前处理上耗时短,有机溶剂使用量小,且无需过柱净化,大大降低检测成本。本方法在检出限及定量限上均低于国标方法,灵敏度满足检测要求。由表5可知,10份样品中,两种方法相对误差小于等于6.35%,符合标准中不得高于20%的要求。说明本方法适用于植物油中苯并(a)芘含量的测定。

### 3 结论

本研究采用直接萃取法,对植物油中苯并(a)芘含量进行测定。本方法在苯并(a)芘质量浓度0.1~20 ng/mL范围内线性关系良好,相关系数( $R^2$ )为0.9999,检出限为0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,样品加标回收率在93.5%~102.5%之间。与国标方法(GB 5009.27—2016)比较,本方法快速简便,低消耗低成本,在回收率和精密度上均满足要求,可用于植物油中苯并(a)芘的高通量检测,具有较强实际应用价值。

#### 参考文献:

[1] ZHANG J, CHANG L, JIN H, et al. Benzopyrene promotes lung cancer A549 cell migration and invasion through up -

regulating cytokine IL8 and chemokines CCL2 and CCL3 expression[J]. *Exp Biol Med*, 2016, 241(14): 1516 - 1523.

- [2] CHEN Y, HUANG Y, HUANG C, et al. Benzo[a]pyrene repressed DNA mismatch repair in human breast cancer cells[J]. *Toxicology*, 2013, 304: 167 - 172.
- [3] MARTORELL I, PERELL G, MARTICID R, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain; temporal trend [J]. *Environ Int*, 2010, 36(5): 424 - 432.
- [4] Commission regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011. Amending regulation(EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs [EB/OL]. [2020 - 02 - 04]. <http://down.foodmate.net/standard/sort/44/28363.html>.
- [5] 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.
- [6] 江露, 汪善良. 反相高效液相色谱法测定植物油中苯并(a)芘的研究[J]. *食品科学技术学报*, 2017, 35(5): 91 - 94.
- [7] 彭小东, 王欢, 李红洲, 等. 液相萃取 - 反相高效液相色谱法联用测定植物油中的苯并(a)芘[J]. *中国油脂*, 2018, 43(10): 112 - 114.

(上接第61页)

#### 参考文献:

[1] 石修璞, 赵浩如. 鸦胆子油的研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2010, 25(3): 240 - 242.

[2] HUANG Y F, ZHOU J T, QU C, et al. Anti-inflammatory effects of *Brucea javanica* oil emulsion by suppressing NF- $\kappa$ B activation on dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 389 - 398.

[3] 中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部药典委员会, 1997.

[4] 赵楠, 韩凤娟, 王桂媛, 等. 鸦胆子油乳抗肿瘤机制及其临床应用研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2014, 25(5): 738 - 741.

[5] SHI W R, LIU Y, WANG X T, et al. Antitumor efficacy and mechanism in hepatoma H22-bearing mice of *Brucea javanica* oil[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015(4): 217494 [2020 - 02 - 11]. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/217494>.

[6] WANG D, QU X, ZHUANG X, et al. Seed oil of *Brucea javanica* induces cell cycle arrest and apoptosis via reactive

oxygen species-mediated mitochondrial dysfunction in human lung cancer cells[J]. *Nutr Cancer*, 2016, 68(8): 1394 - 1403.

- [7] 仲晗实, 康宇, 刘元法, 等. 鸦胆子油的乙酯化工艺研究[J]. *中国油脂*, 2018, 43(9): 112 - 115.
- [8] 韩珂, 叶丽卡, 吴传斌. X线造影剂碘化油的性能评价[J]. *广东药学院学报*, 2013, 29(6): 620 - 624.
- [9] 程红岩. 肝癌介入治疗的现状与展望[J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(1): 3 - 8.
- [10] 杨兆琪, 仲晗实, 康宇. 一种具有抗癌效果的鸦胆子碘化油及其制备和应用: CN107308191A[P]. 2017 - 11 - 03.
- [11] 刘润哲, 彭桦, 梅连平, 等. 脂肪酸乙酯的制备与纯化[J]. *粮食与食品工业*, 2010, 17(5): 22 - 25.
- [12] 程楠. 鱼油脂肪酸乙酯制备及分离纯化研究[D]. 天津: 天津大学, 2013.
- [13] 姚宏燕. 奇亚籽油制备多不饱和脂肪酸乙酯的工艺研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2019.
- [14] 赵德华. 量子化学在同系物萃取分离机理研究中的应用[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2017.