

食用油中苯并(a)芘检测的样品前处理方法 ——相转移催化皂化法

孙长玲, 孙嘉彤, 胡蒋宁

(大连工业大学食品学院, 国家海洋食品工程与技术研究中心, 辽宁大连116034)

摘要:建立了食用油中苯并(a)芘的相转移催化皂化提取前处理方法,并结合高效液相色谱(HPLC-FLD)进行含量检测。结果表明:该方法检出限为0.2 ng/mL,定量限为0.7 ng/mL,苯并(a)芘平均回收率为96.15%~103.2%,相对标准偏差为2.61%~4.96%。该方法具有降低有机溶剂的消耗、降低检测成本、操作简单、检测时间短等优点,符合快速、便捷、准确及灵敏地检测食用油中苯并(a)芘要求。

关键词:食用油;相转移催化皂化;前处理;HPLC-FLD;BaP

中图分类号:TS221;O657.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)11-0113-03

Phase transfer catalyzed saponification pretreatment method of sample for the determination of benzo(a) pyrene in edible oil

SUN Changling, SUN Jiatong, HU Jiangning

(National Center of Seafood Engineering and Technology, College of Food Science, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China)

Abstract: A phase transfer catalyzed saponification pretreatment method for the determination of benzo(a) pyrene in edible oil by high performance liquid chromatography with FLD (HPLC-FLD) was established. The results showed that the detection limit of the method was 0.2 ng/mL, the quantification limit was 0.7 ng/mL, the average recovery was 96.15% - 103.2%, and the relative standard deviation was 2.61% - 4.96%. The method had the advantages of reducing the consumption of organic solvents, reducing detection costs, simple operation, short detection time, etc., and met the requirements for rapid, convenient, accurate and sensitive detection of benzo(a) pyrene in edible oil.

Key words: edible oil; phase transfer catalyzed saponification; pretreatment; HPLC-FLD; BaP

苯并(a)芘(BaP)常温下为淡黄色针状晶体,是一种含有5个苯环的多环芳烃,属于油脂中难降解的有毒有害化合物之一^[1]。BaP对人体的各种器官如肺、肝、皮肤和胃肠等均有影响,具有一定的致癌性和致病性^[2-4],因此应严格控制其在食品中的含量。BaP作为外源性危害物,广泛存在于烟熏食品、海洋食物及食用油中,尤其是食用油中含量较

多^[5-6]。目前各国对BaP在食用油中的最大允许含量也各不相同。我国食用油中BaP的最大允许量为10 μg/kg。国际橄榄油理事会推荐BaP的最大允许量为2 μg/kg。

在我国,现行食用油中BaP检测的前处理方法有GB/T 5009.27—2016《食品中苯并(a)芘的测定》中的中性氧化铝柱层析或苯并(a)芘分子印迹柱净化、SPE固相萃取法^[7]等,但国标法中油脂的前处理方法溶剂消耗较大,操作步骤烦琐,操作准确性及时长一定程度上取决于操作人员的熟练程度。SPE固相萃取法虽然操作相对简单,但是大规模检测BaP时,购买SPE小柱的成本将会大大增加。因

收稿日期:2020-03-16;修回日期:2020-07-18

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(2018YFC1602306)

作者简介:孙长玲(1994),女,硕士研究生,研究方向为食品安全检测(E-mail)2432666377@qq.com。

通信作者:胡蒋宁,教授,博士(E-mail)5103725@qq.com。

此,有必要开发新型、简单、快速富集方法用于检测油脂中 BaP。已有国外学者^[8-10]试图仅用少量有机试剂提取食用油中 BaP,然后利用二甲基亚砜将 BaP 从有机相中萃取出来,二甲基亚砜中 BaP 的分配系数用水来调整,从而达到分离 BaP 的目的。Pandey 等^[11]开发利用液液萃取和固相萃取柱,然后通过高效液相色谱仪荧光检测器进行检测。上述方法虽然节约了少量有机试剂,但其成本、有机试剂的消耗量以及环保方面并没有得到很好的解决,所以目前亟需开发一种有机试剂消耗量少、简单、快速、精确度高的油脂前处理方法。

本文建立一种经相转移催化皂化提取富集食用油中 BaP 技术,利用高效液相色谱(HPLC-FLD)检测方法进行 BaP 测定,并与现有常规方法进行了比较,以期在油脂中 BaP 的检测提供新的可能。

1 材料与方法

1.1 实验材料

油茶籽油(BaP 未检出),苯并(a)芘标准品、四丁基溴化铵、四氢呋喃均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,甲醇、无水乙醇均为色谱级分析试剂,氢氧化钾购自天津市大茂化学试剂厂,1-辛醇购自东京化成工业株式会社。

1260 II 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦,配有荧光检测器),DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,超声清洗机,涡旋振荡器,98-2 强磁力搅拌器,电子天平。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱条件

流动相为色谱级甲醇-蒸馏水(体积比 95:5),等度洗脱,流速 0.8 mL/min;FLD 检测器,激发波长 384 nm,发射波长 406 nm;柱温箱温度为室温;进样量 10 μ L。

1.2.2 标准曲线的绘制

利用色谱级甲醇配制质量浓度分别为 1.562 5、3.125、6.25、12.5、25 μ g/mL 的 BaP 标准溶液,按 1.2.1 色谱条件进行分析,以标准溶液的质量浓度为横坐标,标准溶液的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.3 样品的前处理

称取 0.25 g 油茶籽油于 25 mL 玻璃小瓶中,加入 4 mol/L 氢氧化钾溶液 8 mL、1 mol/L 四丁基溴化铵(TBAB)溶液 200 μ L、无水乙醇 2 mL,在恒温加热磁力搅拌器中,80 $^{\circ}$ C、800 r/min 搅拌 10 min 后,冷却至室温。再加入 1 mL 四氢呋喃和 500 μ L 1-辛醇,在室温下 800 r/min 磁力搅拌萃取 15 min 后,静

置。用注射器抽取上清液用甲醇定容至 5 mL,摇匀,过膜,待测。

1.2.4 BaP 含量测定

将 1.2.3 前处理样品注入高效液相色谱仪进样瓶中,按照 1.2.1 色谱条件进行分析,将对应色谱峰峰面积带入标准曲线方程中,计算 BaP 含量,并计算 BaP 回收率。

1.2.5 回收率和精密度实验

称取 0.25 g 油茶籽油于 25 mL 玻璃小瓶中,加入 1 mL 一定质量浓度的 BaP 标准溶液,采用 1.2.3 和 1.2.4 方法处理分析测定 BaP 含量。设置空白对照,进行 3 个水平的检测,每组实验重复 6 次。计算加标回收率及相对标准偏差(RSD)。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线、检出限和定量限

按照 1.2.2 方法绘制 BaP 标准曲线,得到的线性方程为 $y = 327.85x - 274.14$, $R^2 = 0.9989$ 。BaP 质量浓度在 1.562 5 ~ 25 μ g/mL 之间与峰面积具有良好的线性关系,以信噪比为 3 计算的检出限为 0.2 ng/mL,以信噪比为 10 计算的定量限为 0.7 ng/mL。

2.2 前处理条件的优化

2.2.1 四氢呋喃体积的优化

在 0.25 g 油茶籽油中分别添加 0.125、0.062 5、0.031 25 μ g/mL 的 BaP 标准溶液 1 mL,按照 1.2.3 方法在其他条件不变的情况下分别添加 0.5、1、1.5 mL 四氢呋喃进行萃取,按 1.2.4 方法分析并计算 BaP 回收率,考察四氢呋喃体积对 BaP 回收率的影响,结果如图 1 所示。

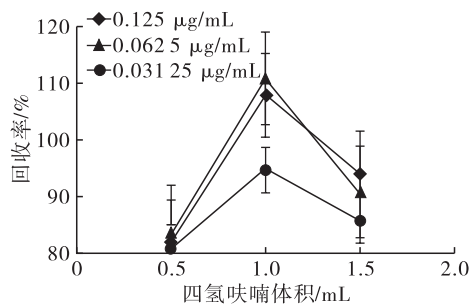


图 1 四氢呋喃体积对 BaP 回收率的影响

由图 1 可知,在四氢呋喃体积为 1 mL 时 BaP 回收率最高,因此选取四氢呋喃的体积为 1 mL。

2.2.2 萃取方式的选择

在 0.25 g 油茶籽油中分别添加 1 mL 质量浓度为 0.125、0.062 5、0.031 25 μ g/mL 的 BaP 标准溶液,按照 1.2.3 方法在其他条件不变的情况下,分别选用超声 15 min、涡旋分散 15 min 和磁力搅拌 15 min 3 种方式进行萃取,按 1.2.4 方法分析并计算

BaP 回收率,考察 3 种萃取方式对 BaP 回收率的影响,结果如图 2 所示。

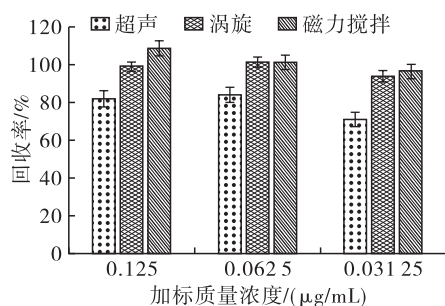


图 2 不同萃取方式对 BaP 回收率的影响

由图 2 可知,超声、涡旋分散和磁力搅拌的 BaP 回收率分别为 70.87% ~ 84.27%、93.42% ~ 101.78%、96.83% ~ 109.59%。磁力搅拌的 BaP 回

收率最高,因此选用磁力搅拌作为萃取方式。

2.3 回收率及精密度

在油样中分别添加质量浓度为 0.125、0.0625、0.0312 $\mu\text{g/mL}$ 的 BaP 标准溶液 1 mL,按 1.2.3 方法进行前处理后,按 1.2.4 方法测定 BaP 含量,计算回收率和精密度,结果见表 1。

表 1 方法的回收率和精密度

加标量/ μg	检测平均值/ μg	回收率/%	RSD/%
0.125	0.129	103.20	4.96
0.0625	0.061	97.60	3.49
0.0312	0.030	96.15	2.61

由表 1 可知,方法的回收率为 96.15% ~ 103.2%, RSD 在 2.61% ~ 4.96% 之间,符合痕量分析要求。

2.4 方法对比(见表 2)

表 2 相转移催化皂化法与其他测定方法结果比较

方法	基质	溶剂用量/mL	回收率/%	RSD%	前处理时间/h	文献来源
相转移催化皂化法	食用油	11.7	96.15 ~ 103.20	2.61 ~ 4.96	0.5	本研究
SPE 固相萃取柱	油脂	>30	79.0 ~ 94.9	6.4 ~ 13.1	2 ~ 3	[11]
SPE(MIPs)	水、咖啡	>15	72.5 ~ 96.5	3.2 ~ 6.6	4	[12]
中性氧化铝柱(国标方法)	油脂	>30	101.7 ~ 101.9	2.44	1 ~ 2	[13]

由表 2 可见,与国标方法及 SPE 方法相比,本研究方法回收率高、溶耗低、用时短,更加环保,可以满足油脂中 BaP 含量快速测定的要求。

3 结论

本研究建立了提取、富集食用油中苯并(a)芘的相转移催化皂化前处理方法,并利用高效液相色谱进行检测。结果表明,所用的前处理方法操作简单,耗时短,检出限为 0.2 ng/mL,定量限为 0.7 ng/mL,相对标准偏差在 2.61% ~ 4.96% 之间,重复性好,回收率达 96.15% ~ 103.2%,符合高效、快速检测食用油中苯并(a)芘的检测要求。

参考文献:

- [1] 王欣,周智慧,赵晓联. 苯并[α]芘危害性及其检测技术[J]. 粮食与油脂,2011,24(3):48-49.
- [2] 安社娟,陈家堃,陈学敏. 多环芳烃致癌的分子毒理学研究进展[J]. 国外医学:卫生学分册,2005,32(1):10-13.
- [3] 叶萌,刘秉慈,杜宏举,等. 苯并芘诱导人胚肺成纤维细胞 cyclinD1、CDK4 和 E2F-1/4 的表达改变[J]. 卫生研究,2006(2):135-138.
- [4] GARRY S, NESSLARY F, ALIOUAT E, et al. Assessment of genotoxic effect of benzo[a]pyrene in endotracheally treated rat using the comet assay[J]. Mut Res, 2003(122):33-43.
- [5] ALARCÓN F, BÁEZ M E, BRAVO M, et al. Screening of edible oils for polycyclic aromatic hydrocarbons using microwave-assisted liquid-liquid and solid phase

- extraction coupled to one- to three-way fluorescence spectroscopy analysis[J]. Talanta, 2012, 100:439-446.
- [6] AMIRHASSAN A, MEHDI B, MINA S. Magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using a graphene oxide/ Fe_3O_4 @ polystyrene nanocomposite[J]. Microchim Acta, 2018,185(8):393-399.
- [7] WANG G L. Determination of benzo(a)pyrene in edible vegetable oil by high performance liquid chromatography[J]. J Food Quality,2007,30:300-308.
- [8] ABDULKADER A, KUNHI A. Determination of benzo(α)pyrene by GC/MS/MS in retail olive oil samples available in Qatar[J]. Food Add Contam, 2003, 20(12):1164-1169.
- [9] GE D, YANG L, WANG C, LEE E, et al. A multi-functional oil-water separator from a selectively pre-wetted superamphiphobic paper[J]. Chem Commun,2015, 51:6149-6152.
- [10] LAI J P, NIESSNER R, KNOPP D. Benzo[a]pyrene imprinted polymers: synthesis, characterization and SPE application in water and coffee samples[J]. Anal Chim Acta,2004,522(2):137-144.
- [11] PANDEY M K, MISHRA K K, KHANNA S K, et al. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed edible oils and their likely intake in the Indian population[J]. J Am Oil Chem Soc, 2004, 81(12):1131-1136.