

HPLC测定植物油脂中苯并[a]芘含量

LC-055

摘要：建立了液相色谱法测定植物油中苯并[a]芘含量的方法。苯并[a]芘线性范围0.8~40.0 ng/mL，线性相关系数R达0.999以上，LOD和LOQ分别为0.07和0.22 ng/mL。

关键词：苯并(a) 植物油脂

苯并[a]芘属于多环芳烃类物质。多环芳烃是人们最早认识的一类化学致癌物，其中污染最广、含量最多、致癌性最强的就是苯并[a]芘。

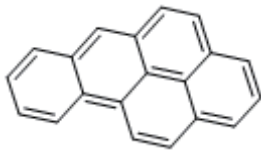


图1 苯并[a][Benzo(a)Pyrene]结构式

苯并[a]芘在自然界中分布极广，但主要存在于煤、石油、页岩油、焦油和沥青中，也可由一切含碳氢化物的燃料中产生。据报道，食用油中苯并[a]芘的污染来源可能来自以下几个方面：油料种子被污染，如茶农在柏油马路上晾晒茶籽，高温让融化的沥青混入茶籽中；采用浸出法制油时，溶剂质量不符合要求，轻汽油(作为溶剂)中含有较高的多环芳烃类，也可造成对油脂的污染；油脂在使用的过程中因油温过高，而且反复使用，致使油脂在高温下发生热聚，也可形成多环芳烃类物质。油脂中的苯并[a]芘可用碱炼法或高温脱除以活性碳吸附去除。

根据我国GB 2762-2005食品中污染物限量(256)及GB 2716-2005食用植物油卫生标准，植物原油、食用植物油中苯并[a]芘限量为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本文将采用HPLC测定植物油脂中的苯并[a]芘。

实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20AD(输液泵)，DGU-20A3(在线脱气机)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温)，RF-20AXS(荧光检测器)，CBM-20A(系统控制器)，LCsolution(色谱工作站)；苯并[a]芘，纯度99.6%，Cerilliant公司；乙腈，HPLC级，Merck公司；纯水，Millipore纯水机制得。

1.2 标准品溶液的配制及样品前处理

1.2.1 标准溶液配制

精确称取一定量的苯并[a]芘标准品经四氢呋喃溶解，定容，配制标准溶液浓度系列。

1.2.2 前处理步骤

参考GB/T 22509-2008动植物油脂苯并[a]芘测定，反相高效液相色谱法。

1.3 分析条件

流动相：乙腈/水 = 83/17(v/v)

流速：1.0 mL/min

进样体积：10 μL

色谱柱：Intersil ODS-SP 4.6 mm I.D.×250 mm
L., 5 μm

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

检测波长：Ex = 384 nm, Em = 406 nm

结果与讨论

2.1 线性范围和检出限

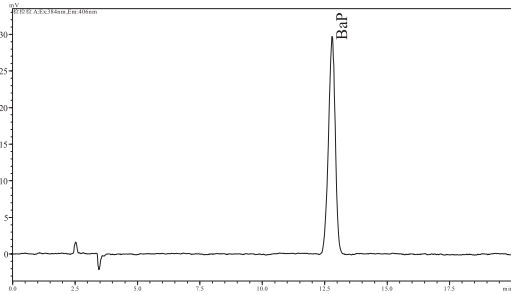


图2 苯并[a]芘标准溶液色谱图(4 ng/mL)

苯并[a]芘标准溶液浓度分别为0.8 ng/mL, 2.0 ng/mL, 4.0 ng/mL, 20 ng/mL, 40 ng/mL, 制作校准曲线, 标准曲线图如图3, 标准曲线方程见表1。

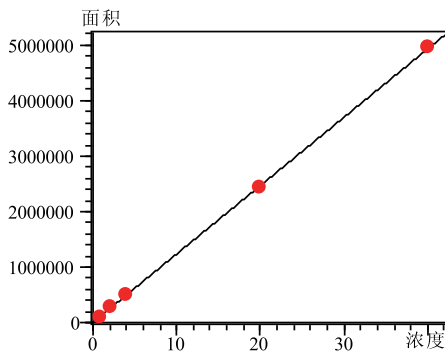


图3 苯并[a]芘的校准曲线

表1 苯并[a]芘标准曲线

| 组分 | Y=AX+B | | R |
|--------|--------|------|--------|
| | A | B | |
| 苯并[a]芘 | 123153 | 6775 | 0.9999 |

进样0.4 ng/mL苯并[a]芘标准溶液, 如图4, 通过3倍信噪比及10倍信噪比, 计算苯并[a]芘的仪器检出限和定量限, 见表2。

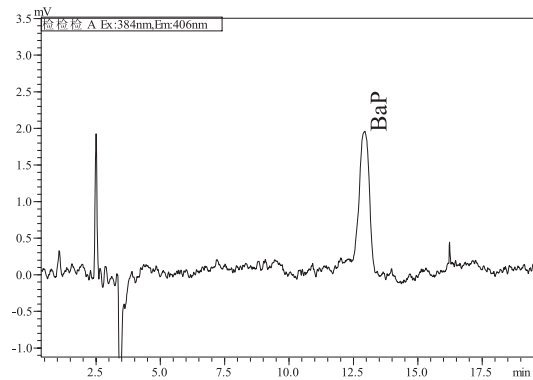


图4 苯并[a]芘标准溶液色谱图(0.4 ng/mL)

表2 苯并[a]芘的检出限和定量限

| 组分 | LOD(ng/mL) | LOQ(ng/mL) |
|--------|------------|------------|
| 苯并[a]芘 | 0.07 | 0.23 |

2.2 重现性试验

连续进样苯并[a]芘标准溶液, 浓度为4.0 ng/mL, 考察化合物的保留时间和峰面积重现性, 分析结果见表3, 保留时间RSD为0.025%, 峰面积RSD为0.64%。

表3 重现性实验结果(n=6)

| 组分 | NO. | 保留时间 (min) | 峰面积 |
|--------|-----|------------|--------|
| 苯并[a]芘 | 1 | 12.792 | 562991 |
| | 2 | 12.792 | 556580 |
| | 3 | 12.793 | 560445 |
| | 4 | 12.790 | 558299 |
| | 5 | 12.793 | 558852 |
| | 6 | 12.793 | 552392 |
| RSD% | | 0.025 | 0.64 |

2.3 回收率试验

取空白植物油脂样品, 加标10 μg/kg, 考察方法回收率。空白样品、样品加标色谱图见图5, 回收率结果见表4。样品加标回率在97.5%~111.2%。

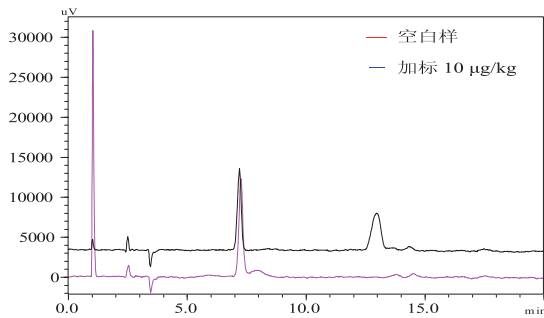


图5 样品加标色谱图

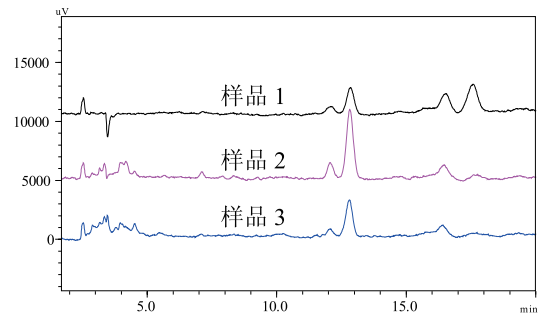


图6 样品色谱图

表4 回收率结果

| 组分 | 加标量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 回收率 (%) | 平均回收率(%) |
|--------|------------------------------------|------------|----------|
| 苯并[a]芘 | 10 | 97.5 | 104.6 |
| | | 111.2 | |
| | | 105.0 | |

表5 样品分析结果

| 化合物 | 含量($\mu\text{g}/\text{kg}$) | | |
|--------|-------------------------------|------|------|
| | 样品 1 | 样品 2 | 样品 3 |
| 苯并[a]芘 | 4.87 | 9.85 | 3.49 |

2.4 样品分析

按照1.2所述方法处理植物油脂阳性样品，样品色谱图见图6，分析结果见表5。

结论

本文采用液相色谱法检测植物油脂中的苯并[a]芘含量，线性范围0.8~40.0 ng/mL，线性相关系数R达0.999以上，LOD和LOQ分别为0.07和0.22 ng/mL，回收率在97.5~111.2%之间。