

HPLC 测定植物油脂中苯并[a]芘含量

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)芘 植物油脂

苯并[a]芘 (Benzo(a)Pyrene, CAS No. 50-32-8) 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。

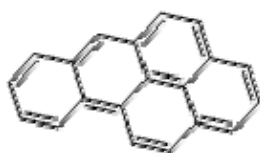


图 1 苯并[a]芘[Benzo(a)Pyrene]结构式

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炭吸附去除。

根据我国 GB 2762-2012 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 $\mu\text{g/kg}$ 。

本文将采用 HPLC 测定植物油脂中的苯并[a]芘。

1. 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 μ L

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

柱温：40℃

检测波长：Ex = 384 nm, Em = 406 nm

2. 结果与讨论

2.1 线性范围和检出限

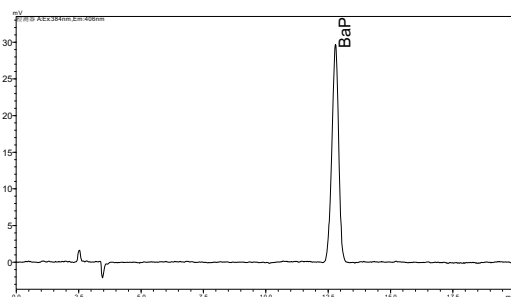


图2 苯并[a]芘标准溶液色谱图(4 ng/mL)

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。

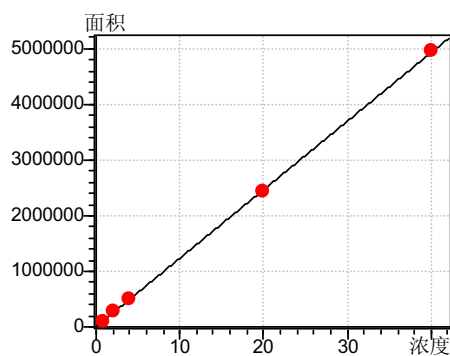


图3 苯并[a]芘的校准曲线

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。

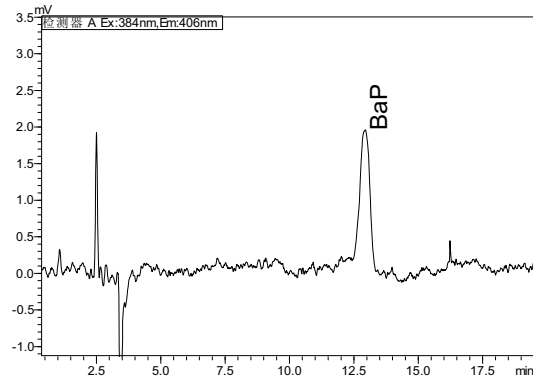


图 4 苯并[a]芘标准溶液色谱图(0.4 ng/mL)

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%。

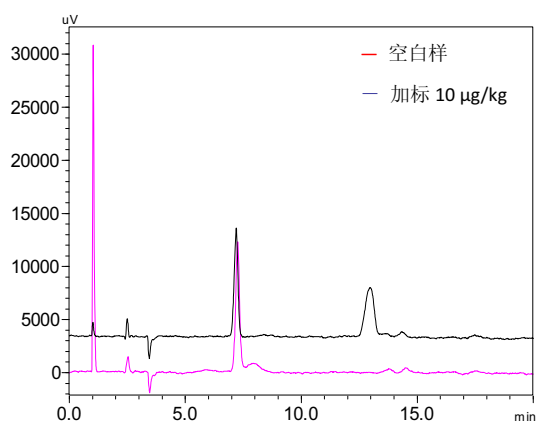


图 5 样品加标色谱图

表 4 回收率结果

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

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。

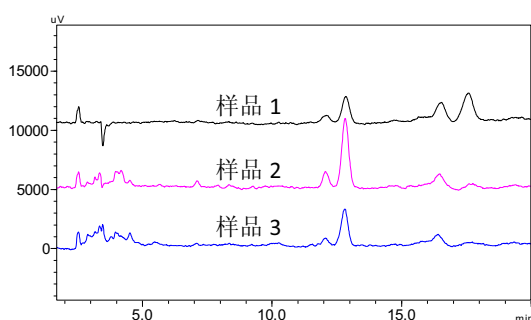


图 6 样品色谱图

表 5 样品分析结果

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

3. 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 范围分别为 0.07 和 0.22 ng/mL，回收率 97.5~111.2%。