

高效液相色谱法检测植物油中苯并 [a] 芘的含量

杨晓燕 刘玉莲 张 伟 李小侠 郑建明

(江苏天瑞仪器股份有限公司 江苏 苏州 215300)

摘要: 建立并验证高效液相色谱法检测植物油中苯并 [a] 芘的含量。将植物油样品溶于正己烷中混匀, 用苯并 [a] 芘固相萃取柱净化, 用正己烷洗脱苯并 [a] 芘, 荧光检测器检测。苯并 [a] 芘在 0.1 ~ 100 μg/kg 浓度范围内线性相关系数 $r^2 = 0.9999$, 本方法平均回收率为 96.95% ~ 101.30%, 相对标准偏差 RSD 为 0.980% ~ 1.643%, 该方法检测限为 0.1 μg/kg。结论: 该方法检测植物油中苯并 [a] 芘含量准确、方便、快捷。

关键词: 苯并 [a] 芘; 高效液相色谱法; 植物油

中图分类号: TS227; O657.7⁺²

文献标识码: A

文章编号: 1008-021X(2011)05-0042-03

Determination of Benzo [a] pyrene in Vegetable Oils by High Performance Liquid Chromatography

YANG Xiao - yan , LIU Yu - lian , ZHANG Wei , LI Xiao - xia , ZHENG Jian - ming

(Jiangsu Skyray Instrument Co. , Ltd. , Suzhou 215300 , China)

Abstract: To establish and test a method of HPLC for determination of benzo [a] pyrene in vegetable oils. Samples were dissolved in hexane , used Cleanert BaP SPE column for purifying , hexane to elute , FLD detector to detect. The linear range for benzo [a] pyrene was 0.1 ~ 100 μg/kg , $r^2 = 0.9999$, this method average recoveries of B [a] P was 96.95% ~ 101.30% , RSD was 0.980% ~ 1.643% , and the method's detect limit was 0.1 μg/kg. The method for detected benzo [a] pyrene in vegetable oils was accurate , sensitive and rapid.

Key words: benzo [a] pyrene ; HPLC; vegetable oil

苯并 [a] 芘是带有 5 个环的多环芳烃 (PAHs) 化合物, 分子式为 $C_{20}H_{12}$, 相对分子质量为 252, 苯并 [a] 芘是第一个被发现的环境化学致癌物, 而且致癌性很强, 由于它对人体的严重危害, 引起了世界各国卫生及环境组织的高度重视, 所以它被列为环境污染致癌物检测工作中常规检测项目之一, 如下法规: 欧盟 76/769/EEC; 德国 GS 认证; 美国 US: EPA; 中国: GB, GB/T, GHZ。苯并 [a] 芘作为 PAHs 的代表, 它占致癌性 PAHs 1% ~ 20%。苯并 [a] 芘广泛分布于环境中, 可以在我们生活中的每一个角落发现, 任何有机物加工、废弃、燃烧或使用的地方都有可能产生 B [a] P, 其中还会通过石油开采与运输过程中的泄漏、含油污水灌溉和汽车尾气的排放及大气飘尘的沉降等途径污染环境。因此导致人类受环境污染物的胁迫风险加大, 患癌症的几率提高, 对人类健康和生态环境的危害十分巨大。

苯并 [a] 芘污染物已成为环境污染中极其重视的物质, 许多国家的动物实验证明, 苯并 [a] 芘具有致癌、致畸、致突变性, 因此对生活中植物油进行检测具有非常重要的科学意义。目前国内外研究测定苯并 [a] 芘含量的方法很多, 常用检测方法有紫外检测器液相色谱法^[1-3], 气相色谱法^[2], 气相色谱-质谱联用法^[2,4], 其中荧光检测器液相色谱法^[3]灵敏度高, 检测限低, 最低检测限可达 0.1×10^{-9} , 而国家对植物油中的限量标准为 10×10^{-9} ^[5], 因此选用荧光检测器对植物油中苯并 [a] 芘的检测占有绝对的优势, 本文在国标^[3]基础上, 通过进一步优化样品前处理方法和色谱条件, 对植物油中苯并 [a] 芘的含量进行检测, 准确度高、方法简单, 满足国内实验室对植物油中苯并 [a] 芘的检测要求。

1 实验部分

1.1 试剂

收稿日期: 2011-01-20

作者简介: 杨晓燕 (1982—), 女, 重庆人, 主要研究方向: 液相色谱在多行业中的应用。

乙腈、正己烷: 色谱纯(均为美国 TEDIA 试剂公司);

水: 超纯水(符合实验室一级用水标准);

苯并[a]芘标准物质: 纯度 > 99.0% (美国 Accustandard 公司);

Cleanert BaP 固相萃取柱: 22g/60mg(天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

LC310 高效液相色谱仪(江苏天瑞仪器股份有限公司), 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司], 超声波清洗器(张家港市神科超声电子有限公司), 超纯水机(南京易普易达科学发展有限公司), 涡旋混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)等。

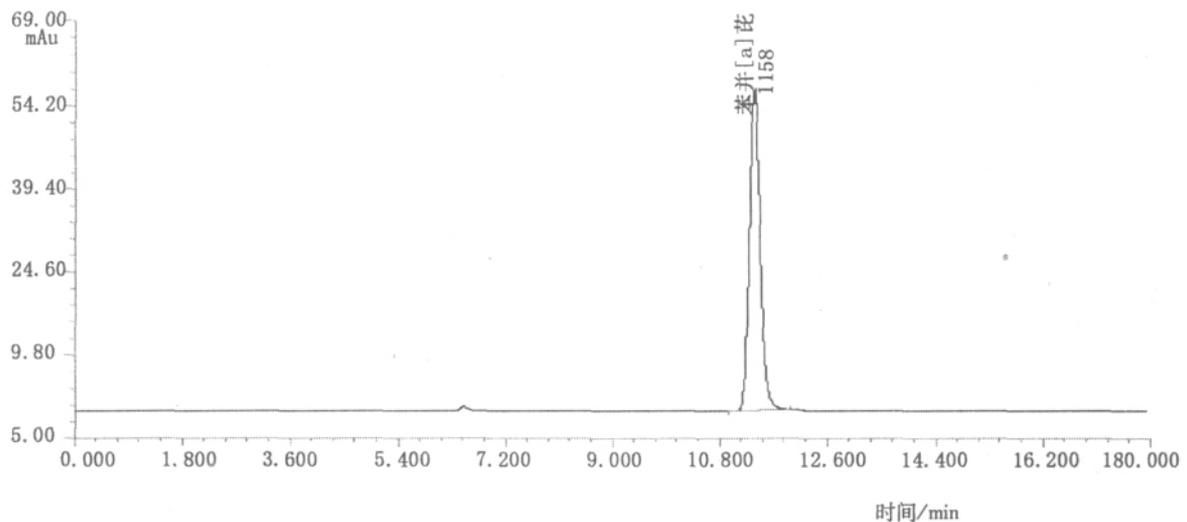


图1 苯并[a]芘液相色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard solutions for benzo(a) pyrene

1.5 样品前处理

取约 0.3g 的油样, 精密称定, 用 5mL 正己烷溶解, 放置于涡旋混合器上充分混匀。将充分混匀的油样添加到预活化好的 Cleanert BaP 固相萃取柱中, 注意操作过程中上筛板不能干涸。添加 80mL 正己烷, 用容积为 150mL 的蒸发皿接收, 直到 80mL 的正己烷完全自然滴出。如果苯并[a]芘回收率不高, 可以增加正己烷的洗脱体积, 最多可至 120mL。

将蒸发皿置于 60℃ 水浴中蒸发至干或用氮气吹干, 如果仍然有油滴无法蒸干, 说明净化不完全, 需要向油滴中添加 80mL 的正己烷制得新样, 取一根新柱重复上述净化过程; 如能完全蒸发至干, 则将残渣用正己烷定容于 5mL 容量瓶中, 摇匀, 用 0.45μm 的有机滤膜过滤, 存于玻璃样品瓶中, 上机测试。

1.3 分析条件

色谱柱: XB - C18 色谱柱(250mm × 4.6mm, 5μm), 上海月旭(材料)公司;

流动相: 乙腈;

流速: 0.7mL/min;

柱温: 30℃;

检测波长: 激发波长为 384nm, 发射波长为 406nm;

进样量: 10μL。

1.4 标准溶液的配制

用正己烷将苯并[a]芘标准品配制成 100μg/mL 的储备液, 使用时用正己烷稀释成浓度为 5.0μg/g 的标准溶液, 如图 1 所示。

实验过程有以下几点需注意: (1) Cleanert BaP 固相萃取柱的活化: 用约 30mL 正己烷将氧化铝柱预先活化, 活化过程直到氧化铝柱末端正己烷自然滴下约 5mL 为止。

(2) 在正己烷滴出的过程中, 柱体上要不断添加正己烷, 千万注意不能让正己烷低于柱子的上筛板, 避免空气进入柱子! 将先滴出的约 5mL 正己烷去除, 不予收集。

(3) 如用氮气吹干, 注意氮吹过程避免气流过大, 造成液体溅出。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化选择

2.1.1 流动相比例的选择

由上可知, 苯并[a]芘属于多环芳烃 16p 中的

一种 结合以上提及的参考文献 将流动相选定为乙腈与水^[2-3]、甲醇^[1]、乙腈,当只改变流动相而其它条件不变时,从标样曲线对比可知以乙腈作为流动相谱图峰型较好,经过后期实验确认使用此色谱条件无杂质对样品检测产生干扰,因此选定纯乙腈为流动相。

2.1.2 流速的选择

在其它色谱条件稳定的状态下,改变流速,从色谱峰的相关信息可知流速在 0.5mL/min 至 1.2mL/min 范围内变化的现象为:0.5mL/min 至 0.7mL/min 中随流速的增加只有保留时间受影响较明显,但在流速 0.7mL/min 后随流速的递增,峰高、峰面积及理论塔板数都呈递减状态,因此选定 0.7mL/min 为最佳流速。

2.1.3 溶剂的选择

苯并[a]芘易溶于甲苯、丙酮、正己烷等溶剂。因苯并[a]芘含量的检测值较低,如溶剂在相应的出峰时间有溶剂峰,则对样品检测产生的干扰较大,因此选择合适的溶剂比较重要,从实验结果得知正己烷为最佳溶剂,既能完全溶解标样又不对样品检测带来干扰。

2.2 阴性和系统适用性实验

不加入样品,加入试剂,按样品处理方法进行测定,在组分相应保留时间处没有吸收;适当的更改色谱条件中的流动相比例、色谱柱品牌检测,均能符合相应的参数条件;理论塔板数以苯并[a]芘计,不得小于 10000。

2.3 标准曲线线性范围

配制苯并[a]芘的标准曲线浓度范围为 0.1 ~ 100μg/L,直接进样测定相应的峰面积,以苯并[a]芘浓度/相应峰面积做标准曲线,在给定的范围内,线性方程为 $Y = 658.67x - 94.573$ $r^2 = 0.9999$ 。

2.4 最小检测限

按照空白样品加标确定本方法最小检出限。配制含苯并[a]芘为 0,0.1,0.5,1.0μg/L 的加标样品,按本方法测定。在 S/N = 10 的条件下,本方法最低检测限为 0.1μg/kg。

2.5 精密度和重复性

取配制好的苯并[a]芘标准溶液,连续进样 6 针,计算苯并[a]芘保留时间的重现性,相对标准偏差为 0.082%;计算苯并[a]芘峰面积的精密性,相对标准偏差为 0.87%,均符合相关要求。

2.6 回收率实验

采用在实际样品中添加 0.1,0.5,10.0,50.0μg/kg 四个水平的添加回收率和精密性实验,每个水平重复 3 次,按本方法处理后分析,其平均回收率为 96.95% ~ 101.30%,RSD 为 0.980% ~ 1.643%。

2.7 实际样品的测试

采用此方法对部分植物油中苯并[a]芘的检测结果如表 1 所示。

表 1 样品检测结果
Table 1 Sample test results

	样品名称				
	葵花油	调和油	油烟机回收油	花生油	芝麻油
B[a]P 的含量 (μg/kg)	未检出	未检出	40	未检出	未检出
是否符合食用油 限量标准	是	是	否	是	是

3 结论

综上所述,本研究建立了植物油中苯并[a]芘含量测定方法。通过对部分植物油中苯并[a]芘的检测方法及回收率的测试,本方法灵敏度高,检测限低,能满足国内和国际对植物油脂中苯并[a]芘的测定要求;另外本方法前处理部分在国标的基础上进行优化,改用苯并[a]芘固相萃取柱净化,避免了自己装柱的麻烦和引起的偶然误差,从而使实验结果更可靠。

参考文献

[1] 北京环境保护监测中心. GB13198-91 水质六种特定多环芳烃的测定 高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.

[2] 中华人民共和国深圳出入境检验检疫局. SN/T 1877.1-2007 脱模剂中多环芳烃的测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

[3] 大连市产品质量监督检验所. GB/T 22509-2008 动植物油脂苯并(a)芘的测定 反相高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[4] 王旭东, 李楠, 王磊, 等. 固相萃取与气相色谱-质谱联用测定水中痕量多环芳烃[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(4): 25-27.

[5] 中华人民共和国卫生部. GB7104-94 食品中苯并(a)芘限量卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.

(本文文献格式: 杨晓燕, 刘玉莲, 张伟, 等. 高效液相色谱法检测植物油中苯并[a]芘的含量[J]. 山东化工, 2011, 40(5): 42-44.)