

固体食品中苯并[α]芘提取及检测方法的改进

高 颖, 鲍晓瑾

(浙江省嘉兴市产品质量监督检验所 嘉兴 314050)

摘 要: 因传统的提取方法存在耗时长、有机溶剂使用量较大的缺点,且荧光法测定操作繁琐,本法希望通过改进提取方法及检测方法,达到既消除固体食品基质中干扰又为检测工作提高效率的目的。本实验先萃取固体样品中油样,继而从油样中提取苯并[α]芘,经高效液相色谱法测定后,由样品中脂肪含量换算得到苯并[α]芘在样品中含量。实验结果显示,平均加标回收率为98.3%,相对标准偏差为2.6%,检出限为0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该法可较大程度地清除固体样品杂质干扰,节省有机溶剂使用量,同时提高提取效率。

关键词: 固体样品; 油样; 苯并[α]芘; 高效液相色谱法

中图分类号: TS20 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 550.1030

Improvement of determination and extraction of 3,4-benzo(α)pyrene in solid food

Gao Qi, Bao Xiaojin

(Jiaxing Product Quality Supervision Testing Institute, Jiaxing 314050, China)

Abstract: The traditional extraction method is a time consuming method, and it has to be used with a great quantity of organic solvent. Furthermore, the paper chromatography part before the fluorimetric spectrometry is a very complicated job. The objective of this research is to increase efficiency and remove the most impurity interference in solid food by improve both extraction and determination method. 3,4-benzo(α)pyrene was extracted from oil samples which were obtained from solid food first, and the content of 3,4-benzo(α)pyrene can be calculated from the fat content of samples. The recovery of this method was 98.3%, RSD was 2.6% ($n=5$), and the detection limit of 3,4-benzo(α)pyrene was 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The result shows that this method can remove the most impurity interference in solid food sample, and it will save a lot of organic solvents without reducing the extraction efficiency.

Keywords: solid food sample; oil sample; 3,4-benzo(α)pyrene; HPLC

1 引 言

苯并[α]芘(B α P)普遍被认为是一种高活性致癌剂。主要由含碳有机物在高温下不完全燃烧产生。存在于煤焦油、各类碳黑和煤、石油等燃烧产生的烟气、香烟烟雾、汽车尾气中,以及焦化、炼油、沥青、塑料等工业污水中。地面水中

的苯并[α]芘除了工业排污外,主要来自洗刷大气的雨水。食品中苯并[α]芘主要的主要产生于加工和包装过程,如烤、炸、熏制和包装材料、印刷油墨中的多环芳烃污染。

苯并[α]芘(B α P)是一种性质相对较为稳定的多环芳烃类物质,不溶于水,微溶于乙醇、甲醇,溶于苯、甲苯、二甲苯、氯仿、乙醚、丙酮等。苯并[α]芘(B α P)在食品中存在的浓度比较低,

主要溶于食品中油脂成分中,一般以 mg/kg 单位计。食用植物油及其加热产物中均含有多环芳烃(PAHs),而且加热后多环芳烃(PAHs)含量显著增加。实验表明,食用植物油加温后苯并[α]芘 B α P 含量是加温前的 2.33 倍。目前,各种蔬菜亦受到不同程度环芳烃(PAHs)污染,其来源可能是根系吸收及叶面吸附。国际癌症研究机构(IARC,1973)曾报道西红柿中苯并[α]芘为 0.2 pg/kg,王爱玲等测定白菜和西红柿中苯并[α]芘分别为 1.310 ~ 12.316 μ g/kg 和 0.84 ~ 4.335 μ g/kg^[1]。

随着对苯并[α]芘(B α P)研究的日益广泛和深入,相关的提取和检测方法也在不断的改进和创新。传统的液液萃取存在溶剂用量大、对操作人员有害、易造成二次污染等缺点,已不能满足“绿色”化学的要求^[2]。近几年来,国内外学者尝试了多种多环芳烃的提取方法。

第 1 种即为简单快速的固体样品前处理技术——超声提取法。它利用了超声波产生的强烈振动、高加速度、空化现象等效应,加速目标物进入萃取溶剂,从而缩短萃取时间并节省有机溶剂。但是在进行超声萃取时,容易出现超声死区。因此,超声提取的提取效率较传统的索氏提取偏低。

第 2 种是基于液相色谱分离机制的固相萃取。通过目标化合物在流动相与固定相之间的两相分配,实现对样品中有机化合物进行萃取、浓缩及纯化的前处理技术,现已广泛地运用于水和空气等多种样品^[3-5]的分析测定。但总的来说,目前商品化的吸附剂选择性仍然较差,在富集目标物的同时,大量基体干扰物也被富集进而影响到最后的色谱分析,高选择性的吸附剂仍有待开发。

其他的一些方法如微波辅助萃取^[6]、固相微萃取^[7-9]、超临界流体萃取^[10]、加速溶剂萃取^[11-12]、超声波萃取^[13-14]等方法不仅成本偏高,不适合一般检测机构,而且回收率也只在 75% 左右。

相比以上新方法,经典的索氏提取法仍不失为一种行之有效的办法。该方法提取效果好,回收率高。但其缺点为耗时(6 ~ 8 h),苯、甲苯或三氯甲烷等毒性较大的有机溶剂用量大等。本

实验以索氏提取法为基础对苯并[α]芘(B α P)的提取进行了改进,既提高了时间利用率,又减少了有毒有机溶剂的使用,同时也净化了基质本底,采用荧光检测器的高效液相色谱仪进行定量,可提高检测工作效率,适应大通量检测要求。

2 材料与方 法

2.1 仪器和试剂

2.1.1 仪器

HP1100 高效液相色谱仪;G1321 荧光检测器;德国 Heidolph 真空旋转蒸发仪;HH-S 数显恒温水浴锅;超声振荡器。

2.1.2 试剂

氢氧化钾-乙醇溶液: $c(\text{KOH}) \approx 1 \text{ mol/L}$ 。在 5 mL 水中溶解 6 g 氢氧化钾,然后用 95% (体积分数)乙醇稀释至 100 mL。溶液应为无色或浅黄色。

酚酞指示剂溶液:10 g/L 的 95% (体积分数)乙醇溶液。

石油醚(30 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$):分析纯。

乙醚:分析纯。

苯并[α]芘(B α P)标准工作溶液:由 12 mg/L 苯并[α]芘(B α P)标准储备溶液(国家标准物质研究中心),用甲醇稀释成 0.012 mg/L,所用试剂均为分析纯,水为去离子水。

2.2 样品处理

2.2.1 试样制备

肉制品等固体样品:均匀选取适当样品与三角烧瓶,用石油醚(30 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$)浸没,于超声振荡器上超声 10 min,滤出石油醚并在水浴锅中 60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温挥干石油醚,得到样品油样。

植物油样:摇匀即可。

称取 5 g 油样,精确至 0.01 g,至于 250 mL 烧瓶中。

2.2.2 皂化

加入 50 mL 氢氧化钾-乙醇溶液和一些沸石,烧瓶与回流冷凝管连接好后,在沸水浴中回流 30 min,停止加热,从冷凝管顶部加入 100 mL 水并旋转摇动。

2.2.3 提取

冷却后转移皂化液到 500 mL 分液漏斗,用 100 mL 乙醚分几次洗涤烧瓶和沸石,并将洗液倒入分液漏斗。摇动分液漏斗 1 min,静置分层,将下层皂化液放入第二只分液漏斗中。采用相同方法提取两次,合并乙醚提取液。

用每次 40 mL 的水溶液洗涤乙醚提取液至中性。

2.2.4 浓缩定容

将洗至中性的乙醚提取液部分转移至 250 mL 烧瓶中,在真空旋转蒸发仪上以 45℃、抽真空的条件下浓缩乙醚提取液至近干。最后以甲醇定容。用 0.45 μm 滤膜过滤后进样。

2.2.5 测定条件

色谱柱:乙腈:水=88:12

柱温:30℃

流速:1 min/mL

发射波长:406 nm;激发波长:384 nm

进样量:50 μL

3 结果与讨论

3.1 标准曲线线性范围

将逐级稀释的标准溶液分别进样 50 μL ,结果经线性回归分析后,线性范围为 0 ~ 96 ng/mL,

回归方程(y 为峰面积, x 为浓度, $\mu\text{g/mL}$) $y = 4151.58606x - 0.1546$;线性相关系数为 1.00000。

3.2 方法检出限

配制含苯并[α]芘浓度为 0.0015 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液进样,进样量为 50 μL ,以信噪比(S/N) = 3 计算,得方法检出限 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 。

3.3 方法回收率和精密度

称取同一空白油样 5 份各 5 g,每份加入定量的苯并[α]芘标准物质 30 ng/g,按样品制备方法操作,经高效液相色谱仪测定 5 份样品的加标回收率见表 1。从表 1 中可以看出,样品的平均加标回收率为 98.3%,相对标准偏差为 2.6%。加标样品的色谱图见图 1。

表 1 回收率及精密度测定结果

Table 1 The recovery and precision of results

编号	加标量 (ng/g)	实测含量 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)
1	30	29.6	98.7	2.6
2	30	29.1	97.0	
3	30	30.3	101	
4	30	29.3	97.3	
5	30	29.1	97.0	
平均	30	29.5	98.3	

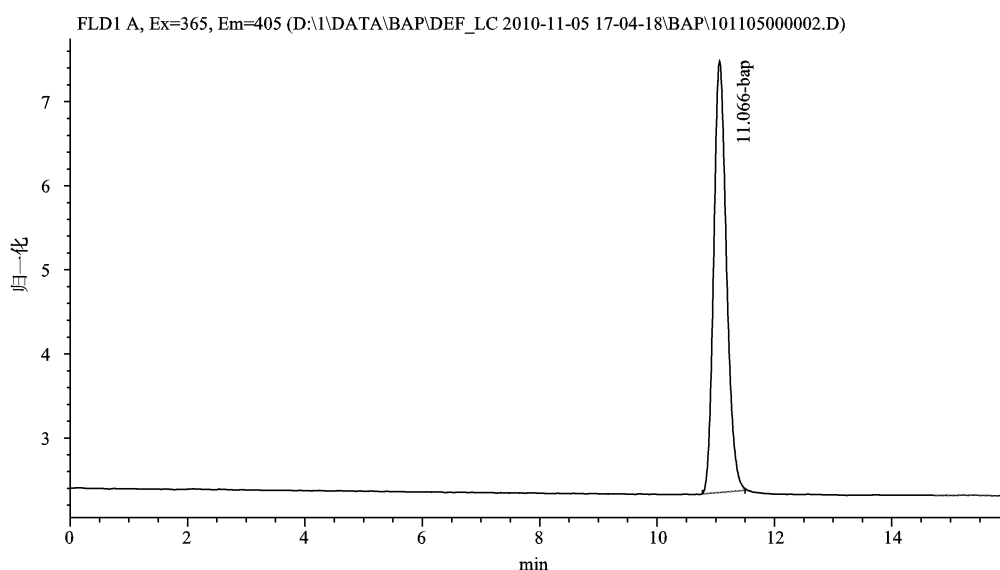


图 1 加标油样(加标量为 30 ng/g)的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of oil sample with 30 ng/g 3,4-benzo(α)pyrene

4 结 论

本文通过对经典索氏提取法的改进,建立了提取并测定食品中苯并[α]芘(B α P)的新方法。相比传统的索氏提取法,本法的优点是:1)缩短了前处理时间,简化提取步骤。从索氏提取法的6~8 h缩短至1 h内完成;2)减少了有毒有机溶剂的使用。以往的提取用的是三氯甲烷、苯或甲苯等毒性较大的有机溶剂,多操作人员的健康危害很大,而本法只用到有机溶剂中毒性较小的乙醚来提取,并且乙醚沸点较低,浓缩用时非常短;3)在提取过程中同时完成了净化步骤。一般的食品基质比较复杂,干扰物多。由于苯并[α]芘(B α P)是油溶性物质,因此本法通过萃取固体样品中的油样,从一开始就将目标物从食品本体基质中分离出来,从根本上去除了样品中的其他干扰物,皂化后的样液非常澄清;4)该法的回收率为98.3%,检出限为0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,符合国标中对食品中苯并[α]芘(B α P)的检测要求。

参 考 文 献

- [1] MORET S, CONTE L S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods [J]. *Chromatogr A*, 2000, 882: 245-253.
- [2] 何燕, 冯琳. 多环芳烃的样品前处理技术研究进展[J]. *重庆师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 24(3): 64-68.
HE Y, FENG L. The review of sample pretreatment techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science Edition*, 2007, 24(3): 64-68.
- [3] BUSETTI F, HEITZ A, CUOMO M. Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1102: 104-115.
- [4] XIE M X, XIE F, DENG Z W. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in aerosol by solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrum[J]. *Talanta*, 2003, 60: 1245-1257.
- [5] CORTAZAR E, BARTOLOME L, DEUSTO M, et al. Comparison of solid phase extraction saponification and gel permeation chromatography for the clean-up of microwave-assisted biological extracts in the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1128: 10-16.
- [6] 李娟, 赵永刚, 周眷宏. 微波萃取-高效液相色谱法测定环境空气总悬浮颗粒物中16种多环芳烃[J]. *环境监测管理与技术*, 2004, 12(6): 24-26
LI J, ZHAO Y G, ZHOU J H. To detect 16 kinds of PAHs in TSP in ambient air with microwave extraction-HPLC[J]. *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2004, 12(6): 24-26.
- [7] GARCIA FALCON M S, GONZALEZ AMIGO S, LAGE YUSTY M A, et al. Determination of benzo[α]pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLG-FL [J]. *Food Additives and Contaminants*, 1999, 16(1): 9-14.
- [8] GARCIA FALCON M S, GONZALEZ AMIGO S, LAGE YUSTY M A, et al. Enrichment of benzo[α]pyrene in smoked food products and determination by high-performance liquid chromatography-fluorescence detection [J]. *Journal of chromatography A*, 1996, 753: 207-215.
- [9] GARCIA FALCON M S, GONZALEZ AMIGO S, LAGE YUSTY M A, et al. Determination of benzo[α]pyrene in smoking-flavour agents water-soluble liquid smoke by second derivative constant-wavelength synchronous spectrofluorimetry [J]. *Talanta*, 1996, 43: 659-664.
- [10] 张莘民, 程滢. 超临界流体萃取技术在我国有机污染分析中的应用[J]. *环境科学研究*, 2000, 13(6): 22-25.
ZHANG X M, CHENG Y. Application of supercritical fluid extraction in organic pollutant analysis in China [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2000, 13(6): 22-25.
- [11] YUSÁ V, PARD O, MRTÍ P, et al. Application of accelerated solvent extraction followed by gel performance chromatography and high-performance liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussel tissue [J]. *Food Additives and Contaminants*, 2005, 22(5): 482-489.
- [12] WANG G D, LEE A S, LEWIS M, et al. Accelerated solvent extraction and gas chromatography/mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples [J]. *Journal*

- of Agriculture and Food Chemistry, 1999, 47: 1062-1066.
- [13] CHEN J, CHEN S. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat [J]. Food Chemistry, 2005, 90:461-469.
- [14] CHEN B H, WANG Y S, CHIU C P. Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography[J]. Agric. Food Chem, 1996, 44:2244-2251.

作者简介



高颀,女,工程师,毕业于上海水产大学食品科学与工程系食品检验专业,现为浙江省嘉兴市产品质量监督检验所食品与农产品中心主任助理,研究方向为食品安全检测。

E-mail: yerico@126.com

Gao Qi, female, engineer, who was graduated from Shanghai Ocean University in food science and engineering for food inspection. Presently she is the director assistant of the food and agricultural center in Zhejiang Jiaxing Product Quality Supervision Testing Institute, and her research direction is food safety testing.