



油脂中苯并[a]芘的快速检测方法——高效液相色谱法

固相萃取柱：**HiCapt Benzo** 苯并芘专用柱 1000mg/6mL

液相色谱柱：**HiSep C18-T** 150 mm×4.6 mm i.d., 5 μm

本文应用维泰克科技（武汉）有限公司的 **HiCapt Benzo** 苯并[a]芘专用固相萃取柱，开发了食用油中苯并[a]芘的快速检测方法，该方法具有以下特点：

- 专利创新的苯并[a]芘专用萃取填料，有效去除食用油中的中性脂肪和维生素等基质干扰
- 回收率稳定、重现，克服了传统方法中氧化铝活性不稳定的缺陷
- 方法简单、快速、节省溶剂

1. 样品处理：

1.1 样品提取：（参考国标 GB/T **GB/T 22509-2008**）

称取 0.4g 食用油，取 2mL 正己烷溶解，涡混 1min，待净化。

1.2 固相萃取柱净化：**HiCapt Benzo** 苯并芘专用柱(1000mg/6mL)

- （1）活化：在 **HiCapt Benzo** 柱中依次加入 5mL 丙酮，2 mL 正己烷活化。
- （2）萃取：将待净化液加入 **HiCapt Benzo** 柱中（在柱中正己烷液面为 2mm 时上样，此过程不要使柱干涸），流出液弃去。
- （3）清洗：待上样液完全流出后，用 6mL 的异丙醇/正己烷（v/v=1:4，体积比）溶液淋洗，淋洗液弃去，将小柱抽干。
- （4）解吸：6mL 丙酮解吸，收集解吸液。
- （5）吹干及定容：解吸液 40℃氮气吹干，加入异丙醇 200μL 涡混 1 分钟，（定容体积可根据仪器的检出限调整为 100-500μL），待上机分析。

注意：

对于香油，或在第（5）步吹干后残留有较多油脂的样品，需要减少取样量（如取 0.2g 油样），重新进行样本处理。



2. 色谱条件:

色谱柱: HiSep C18-T (150 mm×4.6 mm i.d., 5 μm);

流动相: 乙腈/水溶液(88:12, v/v); 流速: 1 mL/min;

荧光检测器: 激发波长: 384nm 发射波长: 406nm;

柱温: 40℃; 进样量: 10 μL。

3. 苯并[a]芘标准溶液的配制

储备溶液的配制:

标准储备液 1: 称取苯并[a]芘 5mg, 用乙腈定容至 10mL, 配制成 500mg/L 的标准储备液供 HPLC 分析;

标准储备液 2: 称取苯并[a]芘 5mg, 用正己烷定容至 10mL, 配制成 500mg/L 的标准储备液供 SPE 试验;

将上述储备液密封后放置于 4℃ 冰箱中避光保存, 至少 6 个月内稳定。

工作溶液的配制:

取苯并[a]芘标准储备液 1 用乙腈稀释, 供 HPLC 分析;

取苯并[a]芘标准储备液 2 用正己烷稀释供 SPE 做添加回收试验, 如果没有储备液 2, 也可以取储备液 1, 吹干后再用正己烷定容, 供 SPE 做添加回收试验。

标准曲线:

将 500mg/L 的苯并[a]芘标准储备液 1 用乙腈稀释, 配制 0.5、1.0、20、40μg/L 的溶液, 绘制标准曲线。

4 结果

4.1 标准曲线与检出限

取 0.5, 1.0, 20.0, 40.0μg/L 4 个浓度的系列标准溶液进样分析, 以样品浓度为 Y 轴、峰面积为 X 轴进行线性回归, 所得标准曲线如图 1。线性范围为 0.5~40μg/L, 相关系数为 0.99999。

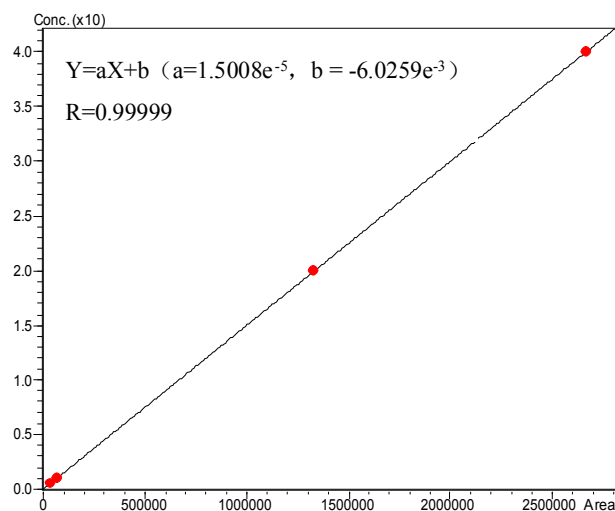


图1 苯并[a]芘的标准曲线

检出限：以3倍信噪比计算本方法苯并[a]芘的检出限为0.06ug/kg。

4.2 回收率和精密度

分别加入低、中、高3种质量浓度的苯并[a]芘标准溶液于食用油样品中，然后按照本实验方法进行测定，回收率为89.5~98.3%（见表1）。图2为添加苯并[a]芘的食用油样品的色谱图。从该图可以看出，没有杂质干扰，且该方法具有较好的日内及日间精密度（见表1），其标准偏差分别小于5.55%和4.71%。

表 1：大豆油的回收率和日内、日间精密度

分析物	样品空白 (µg/kg)	添加水平 (µg/kg)	回收率 (%)	RSD%	
				日内(n=5)	日间(n=3)
苯并[a]芘	2.47	2.5	92.8	5.55	4.04
		5.0	98.3	3.48	3.24
		10.0	89.5	2.79	4.71



表 2: 香油的回收率和日内、日间精密度

分析物	样品空白 ($\mu\text{g/kg}$)	添加水平($\mu\text{g/kg}$)	回收率 (%)
苯并[a]芘	未检出	2.0	101.0
		5.0	94.7
		10.0	94.9

表3: 菜籽油的空白及回收率

分析物	空白($\mu\text{g/kg}$)	添加水平($\mu\text{g/kg}$)	回收率 (%)
苯并[a]芘	3.49	2.0	107.6
		5.0	109.3
		10.0	108.1

表4: 茶油的空白及回收率

分析物	空白($\mu\text{g/kg}$)	添加水平($\mu\text{g/kg}$)	回收率 (%)
苯并[a]芘	3.28	2.0	96.7
		5.0	98.6
		10.0	100.3

表5: 橄榄油的空白及回收率

分析物	空白($\mu\text{g/kg}$)	添加水平($\mu\text{g/kg}$)	回收率 (%)
苯并[a]芘	0.11	2.0	91.6
		5.0	94.7
		10.0	90.5

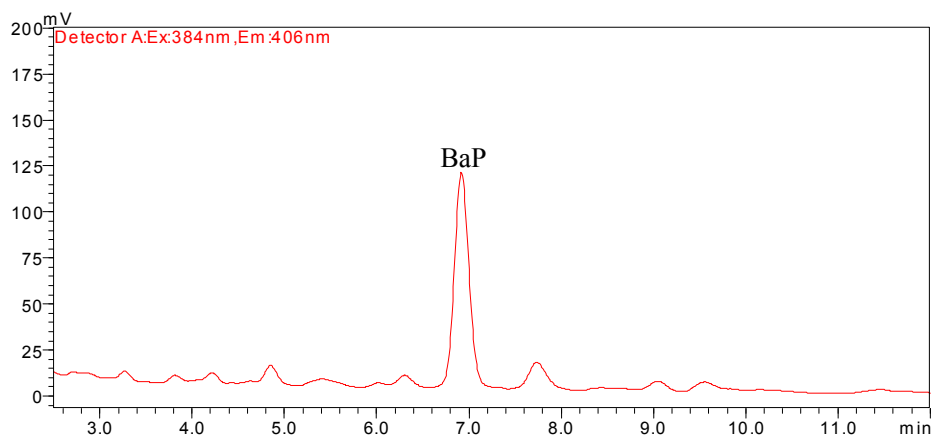


图2 5μg/kg植物油加标样品色谱图

5. 测试结果的表示

苯并吡含量按下式计算：

$$w = \frac{c \times V}{m}$$

式中：

- ω：样品中苯并吡含量，单位为微克每千克（ug/kg）；
c：从标准工作曲线得到的待测液中苯并吡的浓度，单位为ng/mL；
V：待测液定容体积，单位为毫升（mL）；
m：样品质量，单位为克（g）。

注意事项：

1. 为了避免油脂中基质对色谱柱的污染，延长色谱柱寿命，建议在每天苯并吡实验结束后，用异丙醇1ml/min冲洗色谱柱1小时。
2. 过SPE的样品必须是正己烷体系，因此做添加回收实验时，苯并吡标准品必须用正己烷稀释，参考“3 苯并[a]芘标准溶液的配制”。