高效液相色谱法快速测定烹炸油中苯并(a)芘的研究

张旭，郑睿行，鲍利锋

(衢州市质量技术监督检测中心，衢州 324002)

摘 要：苯并(a)芘是一种高活性间接致癌物，可通过食品加工等途径进入食品，本研究建立了高效液相色谱快速测定烹炸油中苯并(a)芘的方法。采用C18色谱柱分离；乙腈－水为流动相，流速1.2ml/min；荧光检测器检测，激发波长384nm，发射波长406nm；柱温30℃；进样量10μL。苯并(a)芘在1～40μg/L范围呈线性，线性回归方程为：Y=1.5758X+0.05705，相关系数为R^2=0.9998；方法检出限为0.1μg/kg，加标回收率大于95%，相对标准偏差(RSD)小于2.5%。该方法精确度和准确性好，样品预处理简单，分析时间短，适用于烹炸油中苯并(a)芘的定性定量要求，是烹炸油中苯并(a)芘含量的良好检测方法。

关键词：苯并(a)芘；高效液相色谱法；烹炸油

中图分类号：TS207.3 文献标识码：A 文章编号：1006－2513(2011)06－0218－04

Fast determination of Benzo(a) pyrene in fried oil by high performance liquid chromatography

ZHANG Xu, ZHENG Rui-hang, Bao Li-feng

(Quzhou Municipal Quality and Technical Supervision and Testing Center, Quzhou 324004)

Abstract: benzo(a) pyrene is a common high activity indirect carcinogens. benzo(a) pyrene through a food processing and other way into food, High－performance liquid chromatography (HPLC) was used for determination of benzo(a) pyrene in fried oil. C18 as the separation column. The mobile phase of acetonitrile: water, excitation wavelength of fluorescence detector 384nm and detection wavelength 406 nm. Temperature of column 30℃, and the injection volume of 10μl. The calibration curve is linear in the range of 1～40μg/L, Y=1.5758X+0.05705, R2 = 0.9998, the limit of detection was 0.1μg/kg, recoveries were more than 95%, and relative standard deviation (RSD) was no more than 2.5%. The method has advantages of an accuracy and simple process of sample treatment, short analysis time, is suitable for qualitative and quantitative analysis of benzo(a) pyrene in fried oil, and is a good detection method of benzo(a) pyrene in fried oil.

Keywords: benzo(a) pyrene; high Performance liquid chromatography; fired oil

苯并(a)芘(benzo(a)pyrene，BaP)，是一种常见的强致癌物，它是由一个苯环和一个芘分子结合而成的多环芳烃类化合物(图1)[1-4]，苯并(a)芘常温下为浅黄色晶状固体，熔点179℃，沸点312℃，难溶于水，易溶于苯、甲苯、二甲苯、丙酮、己烷等有机溶剂，碱性条件下稳定，遇酸易发生化学变化。烹炸食品是我国主要的早

收稿日期：2011-08-30

作者简介：张旭(1977－)，男，工程师，研究方向为食品质量安全检测。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

餐食品之一，由于苯并(a)芘在人体中的富集作用，长期食入直接危害到人体健康，特别是个别商贩，为追求利润，使用多次高温加热的食用油，这对人的健康危害更为严重[5]。目前，苯并(a)芘的检测方法已有 GB/T22509－2008，但其对样品中苯并(a)芘提取、净化及浓缩方面存在不足，因此，研究建立更为快速、简便的前处理方法，对烹炸油中苯并(a)芘的定性定量分析具有重要意义。

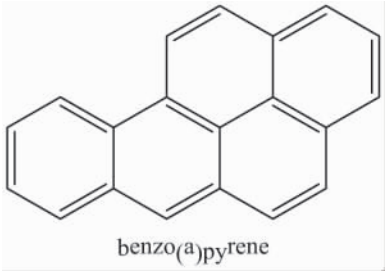

图1 苯并(a)芘化学结构式

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

Agilent－1200 型高效液相色谱仪（含荧光检测器）、色谱柱 Agilent XDB－C18（250mm×4.6mm，5μm）（美国 Agilent 公司）；GPC－全自动定量浓缩仪（内装 Bio－Beads，Type S－X3 填料的净化柱，500×25mm）（德国 LCTech 公司）；微孔滤膜、注射滤膜器（0.45μm）（天津津腾公司）；BT423S（感量1mg）、BT124（感量0.1mg）电子天平（北京赛多利斯仪器系统有限公司）；氮吹仪（KL Ⓡ512 型）（美国 Organomation 氮吹仪）；超纯水仪（美国 Millilpore 公司）；实验室其他常规仪器。

1.1.2 试剂

苯并(a)芘标准品（纯度≥99%）（国家标准物质中心）；乙腈（色谱纯）（美国 fisher 公司）；环己烷(农残级)、乙酸乙酯（农残级）（美国 J.T. Baker 公司）；高纯氮（纯度≥99.99%）（浙江巨化股份有限公司）；超纯水；实验室其他常规试剂。

1.1.3 样品

食用菜籽油（中粮食品营销有限公司）；烹炸油：（在自动控温电炸锅中加入菜籽油 3kg，持续加温，温度控制在 180±5℃，每 3h 炸一次肉，随后取样）。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

准确称取烹炸油样 0.8g，置于 10mL 容量瓶中，用环己烷/乙酸乙酯（1∶1，v/v）溶解并定容至 10mL，摇匀后转移至 16mL 进样瓶中。通过 GPC 二联机模式将样品净化，再浓缩，用环己烷/乙酸乙酯定容至 2mL，收集 1.5mL 洗脱液至样品瓶中，氮气吹干，加 750μL 乙腈，涡旋溶解残渣，待检。

1.2.2 快速测定烹炸油中苯并(a)芘含量方法的建立

1.2.2.1 色谱分离条件的确定流动相：乙腈－水(90∶10，v/v)；荧光检测器波长：激发波长 384 nm，发射波长 406 nm；流速：1.2mL/min；柱温：30℃；进样量：10μL，以色谱峰面积外标法定量[6-9]。在此条件下，测得苯并(a)芘保留时间 15.98min，样品溶液中主峰和其它杂峰达到完全分离。标准品、样品的色谱图见图2、图3。

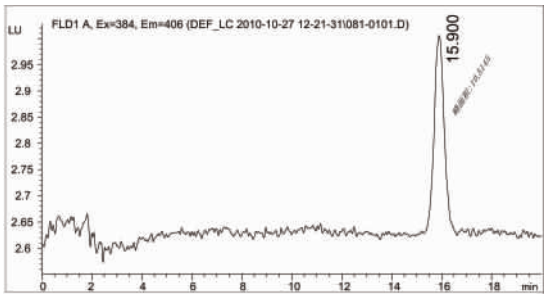

图2 苯并（a）芘标准品色谱图

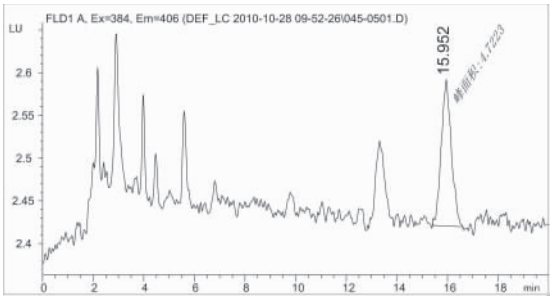

图3 烹炸油样品色谱图

1.2.2.2 标准曲线准确称取苯并(a)芘标准品 10mg 于 100mL 容量瓶中，用甲苯配成 100mg/L 标准贮备液，保存于－20℃冰箱中；取一定量标

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

准贮备液，N_2 吹干，再用乙腈配成 1、4、10、20、40μg/L 苯并(a)芘标准工作液，在上述色谱条件下，进样 10μL，根据浓度与峰面积的关系制成标准曲线。

1.2.2.3 精密度试验

为考察方法的可靠性，对菜籽油进行了加标样的精密度测定，用加标量为 0.1、0.2、0.4μg 的样品按照上述提取方法提取 2 份样品，每份提取样品测定 5 次，测得精密度结果见表 1。

2 结果与分析

2.1 苯并(a)芘浓度范围的线性关系

结果表明，苯并(a)芘浓度在 1～40μg/L 具有良好的线性关系；回归方程（Y 为峰面积，X 为浓度，μg/L）为：$Y = 1.5758X + 0.05705$，$R^2 = 0.9998$，标准曲线见图 4。

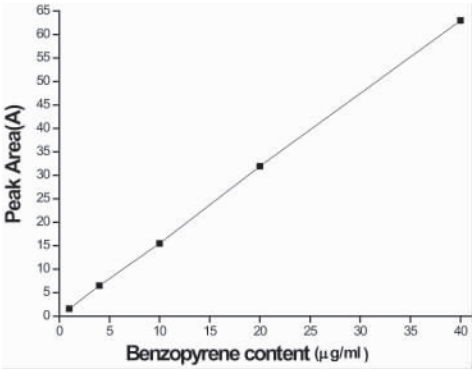

图 4 苯并(a)芘标准曲线

2.2 方法检测限

在上述色谱条件下，根据苯并(a)芘产生 3 倍噪音信号所需要的标准浓度为检出限，得出该方法检出限为 0.1μg/kg。

2.3 高效液相色谱法测定苯并(a)芘含量的精密度实验

通过加标回收率试验，研究快速法与国标 GB/T22509－2008 差异，结果表明，快速法具有很高的准确度，结果见表 1。

表 1 快速法与国标 GB/T22509－2008 测定苯并(a)芘含量结果对比

加标量（μg）	国标检测值（μg）	快速法检测值（μg）	国标 RSD（%）	快速法 RSD（%）
0.1	0.095	0.095	3.2	2.1
0.2	0.192	0.192	2.8	2.1
0.4	0.384	0.380	3.5	1.8

通过加标回收率试验，对快速法进行精密度和准确度测定，结果表明，苯并(a)芘的平均回收率大于 95%，RSD 小于 2.5%，表明该方法精密度、准确度能满足分析要求，结果见表 2。

2.4 加热不同时间烹炸油中苯并(a)芘的含量

随着加热时间的延长，烹炸油中苯并(a)芘的含量也相应增加，测定结果表明，苯并(a)芘含量与加热时间有显著的相关，结果见表 3。

以上结果表明，菜籽油不宜长时间使用，根据本实验测定结果，油温在 180±5℃时烹炸时间不宜超过 18h。

表 2 加标量为 0.1、0.2、0.4μg 的样品回收率及精密度

添加次数	添加水平（μg）					
	0.1		0.2		0.04	
	测定值		测定值		测定值	
1	0.093	0.095	0.188	0.192	0.387	0.381
2	0.097	0.098	0.193	0.187	0.375	0.382
3	0.095	0.096	0.192	0.194	0.378	0.377
4	0.094	0.093	0.198	0.191	0.388	0.386
5	0.098	0.098	0.196	0.198	0.377	0.393
回收率（%）	95.4	96.0	96.7	96.2	95.3	96.0
RSD（%）	2.2	2.2	2.0	2.1	1.6	1.6

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表3 不同加热时间烹炸油（菜籽油）中苯并（a）芘含量

加热时间（h）	样品颜色	苯并（a）芘含量（μg/kg）
0	黄色	0.2
6	黄色	2.1
12	浅黄色	4.7
18	浅黑色	9.6
24	浅黑色	22.4
30	浅黑色	33.1
36	黑色	48.9

3 结论

该研究建立了烹炸油中苯并(a)芘的高效液相色谱快速测定方法。结果表明，苯并(a)芘在1～40μg/L浓度范围内呈良好的线性，回收率为95.4%～96.8%，检出限为0.1μg/kg，RSD小于2.5%。该法精确度和准确性好，样品预处理简单、毒性小、试剂消耗少、分析时间短、灵敏度高，明显提高了检测效率，是烹炸油中苯并(a)芘含量的理想检测方法。

参考文献:

[1] 陈炳卿，薛英本，杨艳梅，等. 苯并(a)芘诱导小鼠前胃癌模型的建立及共轭亚油酸对其预防作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2002（5）：354－357.

[2] 涂白杰，陈胜，肖成峰，等. 苯并[a]芘对小鼠神经毒性的光镜、电镜及行为学研究[J]. 工业卫生与职业病，2002（2）：94－98.

[3] 吴晓明，周宜开，徐顺清，等. ERCC1反义RNA降低肺癌细胞对苯并(a)芘所致DNA损伤的修复能力[J]. 中华预防医学杂志，2003（3）.

[4] 王欣，周智慧，赵晓联. 苯并[α]芘危害性及其检测技术[J]. 粮食与油脂，2011（03）：48－49.

[5] 杨占南，彭全材，罗世琼，等. 贵阳市油炸食品中苯并芘的测定及其安全评价[J]. 食品科学，2008（10）：449－452.

[6] 刘建福，喻昕，刘德华，等. 固相萃取和气相色谱－质谱法测定主流烟气中苯并[a]芘的研究[J]. 色谱，2002（2）：187－189.

[7] 杨红梅，王浩，刘艳琴，等. 高效液相色谱法测定肉类食品中苯并芘残留的研究[J]. 食品研究与开发，2006（10）：124－126.

[8] 吴海智，周丛，袁列江，等. 高效液相色谱法快速测定植物油中苯并芘的研究[J]. 安徽农业科学，2011（10）：6075－6076.

[9] 严付华，陈波，曾建国，等. 高效液相色谱法荧光检测红车轴草提取物中的苯并(α)芘[J]. 中国中药杂志，2007（10）：935－937.

《中国食品添加剂》杂志—双核心期刊，欢迎投稿！

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net