

3 小结

本文建立了简便、快速、准确测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留的分析方法。方法采用 SPA 固相萃取净化,气相色谱-串联质谱法以 EI 正模式 MRM 测定,氟虫腈和溴虫腈最低检出限达到 0.01 mg/kg,满足对氟虫腈和溴虫腈的限量要求。而且可以对检测结果进行二级质谱定性确证,进一步提高了测定结果的可靠性。

参考文献

- [1] 操海群,施艳红,花日茂,等. 辣椒白菜中氟虫腈残留分析方法的研究[J]. 食品科学,2005,26(9): 377-380.
- [2] 冯民,朱臻怡,熊华萱,等. 固相萃取和气相色谱法测定大米中氟虫腈(锐劲特)残留[J]. 现代仪器, 2009,6:69-71.
- [3] 郭新东,杜志峰,黄孟基,等. 气相色谱法测定食用植物油中的溴虫腈[J]. 粮油食品科技,2007,15(1):27-28.
- [4] 陈丽萍,林芎华,李顺芳. 溴虫腈在蔬菜上残留量的气相色谱法测定[J]. 现代农药,2008,7(3):31-32,43.
- [5] 张曼,林安清,许泓,等. 气相色谱法测定茶叶中残留的溴虫腈[J]. 食品研究与开发,2007,28(10):150-151,165.
- [6] 杜志峰,郭新东,罗海英,等. 固相萃取-气相色谱法测定蜂蜜

- 中的溴虫腈[J]. 现代食品科技,2007,23(3):80-82.
- [7] 付晓芳,林雁飞,李晶,等. 茶叶中氟虫腈残留量的检测[J]. 食品科学,2010,31(10):279-282.
- [8] 麦燕玲,钟国华,胡美英,等. 溴虫腈土壤和甘蓝微量残留量的气相色谱法测定[J]. 农药,2004,43(5):233-235.
- [9] CAO Y S, CHEN J X, WANG Y L, et al. HPLC/UV analysis of chlorfenapyr residues in cabbage and soil to study the dynamics of different formulations[J]. Sci Total Env, 2005, 350(1-3):38-46.
- [10] 张曼,林安清,许泓,等. 气相色谱-质谱法对牛肉中溴虫腈残留的测定[J]. 分析测试学报,2008,27(11):155-160.
- [11] Eiki W, Koji B, Heesoo E, et al. Evaluation of a commercial immunoassay for the detection of chlorfenapyr in agricultural samples by comparison with gas chromatography and mass spectrometric detection[J]. J Chromatogr A, 2005, 1074(1-2): 145-153.
- [12] Ueun E, Osimah, Sairo I, et al. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column clean up[J]. J AOAC Int, 2004, 87(4):1003-1015.
- [13] 中华人民共和国卫生部. SN/T 1986—2007 进出口食品中溴虫腈残留量检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
- [14] 中华人民共和国卫生部. SN/T 1982—2007 进出口食品中氟虫腈残留量检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

实验技术与方法

高效液相色谱法同时测定植物油中的 15 种多环芳烃

乔海鸥,王敏娟,胡佳薇,王辛

(陕西省疾病预防控制中心,陕西 西安 710054)

摘要:目的 建立高效液相色谱-荧光法测定植物油中的 15 种多环芳烃。方法 样品用正己烷溶解,过中性氧化铝固相萃取小柱净化,采用 Waters-PAHs 专用柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)分离,乙腈-水梯度洗脱,流速 1.5 ml/min,柱温 30 ℃,进样量 10 μl;荧光检测器检测,外标法定量。结果 方法检出限在 0.15 ~ 2.0 μg/kg 之间,样品加标回收率在 78.0% ~ 115.2% 之间,RSD 在 0.2% ~ 2.0% 之间。结论 该方法具有前处理简单、灵敏度高、重复性好等优点,可用于植物油中 15 种多环芳烃的含量测定。

关键词:高效液相色谱法;植物油;多环芳烃;固相萃取;食品安全;食品污染物

中图分类号:R155;O657.7;O625.15 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0434-04

Simultaneous determination of fifteen polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant oil by high performance liquid chromatography

QIAO Hai-ou, WANG Min-juan, HU Jia-wei, WANG Xin

(Shaanxi Center for Disease Control and Prevention, Shaanxi Xi'an 710054, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of 15 PAHs in plant oil by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Methods** The sample was dissolved in n-hexane and cleaned up

收稿日期:2013-04-11

作者简介:乔海鸥 男 主管技师 研究方向为食品卫生检验 E-mail:qiaohaiou@yahoo.com.cn

通讯作者:王敏娟 女 技师 研究方向为食品卫生检验 E-mail:wj1010@126.com

with neutral alumina SPE cartridges. The separation of 15 PAHs was carried out by waters-PAHs column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a gradient elution using acetonitrile-water as mobile phase at a flow rate of 1.5 ml/min, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μl. Detection was carried out by a fluorescence detector with external standard. **Results** The limit of detection (LOD) was in the range of 0.15 ~ 2.0 μg/kg with average recovery ranging from 78.0% to 115.2%. The relative standard deviation was in the range of 0.2% ~ 2.0%. **Conclusion** The method had the advantages of simple pretreatment, high sensitivity and reproducibility, which could be applied to the determination of the 15 PAHs in plant oil.

Key words: HPLC; plant oil; polycyclic aromatic hydrocarbon; solid phase extraction; food safety; food contaminant

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAHs) 是指包含两个或两个以上稠合苯环的化合物,有轻多环芳烃(含 2~4 个芳香环)和重多环芳烃(含 5 个或 5 个以上芳香环)之分,其广泛分布于环境及食品中,具有致癌、致畸、致突变等危害,威胁人体健康^[1-2]。PAHs 具有强亲脂性,易溶于苯、甲苯、正己烷等有机溶剂。植物油在高温条件下会产生 PAHs 物质,在生产植物油的过程中,如工艺控制不当也可能增加 PAHs 的含量。1979 年,美国环保署(U. S. Environmental Protection Agency, U. S. EPA)提出的优先污染物中,多环芳烃化合物有 16 种,包括萘、二氢萘、苊、苊烯、苯并(a)苊、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(ghi)芘、苯并(a)芘、屈、二苯并(a,h)苊、荧蒽、芴、茚并(1,2,3-cd)芘、菲、芘^[2];我国政府列出的“中国环境优先检测黑名单”中包括 7 种 PAHs。GB 2716—2005《食用植物油卫生标准》^[3]中,仅规定食用植物油类产品中的苯并(a)芘限量为 10 μg/kg,而对其余 15 种多环芳烃类化合物未做出限量规定。目前 PAHs 的测定多以测定苯并(a)芘为主^[4-8]。考虑到这 16 种多环芳烃均具有致癌、致畸、致突变作用,单独监测苯并(a)芘的含量不足以真正反映食品中 PAHs 的危害,因而,建立一种可同时测定多种痕量 PAHs 的方法显得尤为重要。目前,PAHs 含量的测定主要采用气相色谱-质谱法或液相色谱法^[4-8]。由于荧光检测器的灵敏度远远高于紫外检测器,因此本研究采用高效液相色谱法结合荧光检测器对除二氢萘(没有荧光)以外的 15 种 PAHs 进行检测,为快速测定食用植物油中的多种痕量 PAHs 提供科学的实验数据参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 型高效液相色谱仪(配有 Waters 2475 荧光检测器及 Empower 2 数据处理系统,美国 Waters)、SPE 固相萃取装置(美国 CNW)、步琦 R-215 旋转蒸发器、TGC-24 氮吹仪、Millipore 超纯水系统、Agela Cleanert BaP 固相萃取柱(22 g/60 ml,天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

乙腈、四氢呋喃、正己烷(均色谱纯),16 种 PAHs 标准溶液[2 000 μg/ml, CH₂Cl₂-Benzene(1:1, V/V)](LOT NO. LB69185 48905-U, 美国 Sigma)。

1.2 方法

1.2.1 样品提取与净化

用移液器移取约 0.4 g 食用油样品,准确称重后用 2 ml 正己烷溶解稀释,涡旋混匀。将样品稀释液移入固相萃取柱(使用前用 30 ml 正己烷活化),用 80 ml 正己烷洗脱并收集洗脱液,流速约为 1 ml/min。洗脱液在 45 °C 水浴中旋转蒸发至约 0.5~1 ml,转移至预先称量的玻璃瓶中(精确至 0.1 mg),用正己烷清洗烧瓶 2 次,约 1 ml/2 次,合并清洗液至玻璃瓶中,35 °C 氮气吹干。称取玻璃瓶的质量,计算瓶内残渣质量,如残渣超过 1.5 mg,需要重新净化;如残渣质量小于 1.5 mg,则注入 200 μl 四氢呋喃-乙腈(1:9, V/V) 混合液,涡旋混匀,过 0.22 μm 微孔滤膜后上机测定。

1.2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters-PAHs 专用柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-水进行梯度洗脱(洗脱见表 1),流速 1.5 ml/min,柱温 30 °C,样品盘温度 15 °C,进样量 10 μl,荧光检测器波长变化程序见表 2。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	H ₂ O/%
0	50	50
10	65	35
25	100	0
30	100	0
31	50	50

表 2 荧光检测器波长变化程序

时间/min	激发波长(λ _{ex})/nm	发射波长(λ _{em})/nm
0	280	320
10.5	245	350
12.0	238	375
13.5	270	438
14.5	320	375
17	270	370
21	290	420
26	283	400
28	274	486

2 结果与分析

2.1 样品提取与净化条件的选择

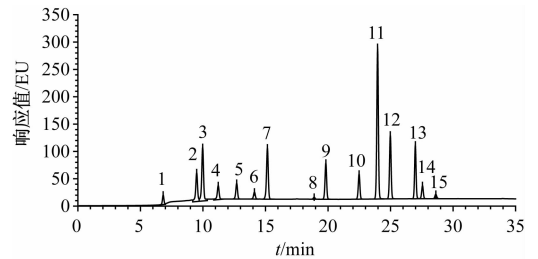
比较了 Waters Sap-Pak 中性氧化铝柱 (5 g/20 ml)、Agela Cleaner tBaP 固相萃取柱 (22 g/60 ml) 和 GB/T 22509—2008《动植物油脂 苯并(a)芘的测定 反相高效液相色谱法》^[9] 3种提取方法, 所得回收率和净化效率相当。3种方法均采用中性氧化铝作为填料, 利用中性氧化铝能够选择性吸附植物油而不吸附 PAHs 的特性, 当用正己烷洗脱时, PAHs 溶于正己烷而被洗脱下来。对于 Waters Sap-Pak 中性氧化铝柱 (5 g/20 ml), 使用中发现在中性氧化铝装填量较少, 浓缩瓶前后质量之差经常会大于 1.5 mg, 需要重新净化, 且价格较贵; 国标方法需要自行填柱、活化, 需加入 10% 的水调节活性及进行活性测定, 并且所使用石油醚需进行重蒸馏, 操作比较繁琐; 而 Agela Cleanert BaP 固相萃取柱 (22 g/60 ml) 的中性氧化铝的装填量为 22 g, 并预先在工厂中对中性氧化铝进行了活化及活度测试, 操作简单、费用低廉, 因此本研究最终选用苯并芘专用柱进行提取净化。

结果表明, 使用 Agela Cleanert BaP 固相萃取柱 (22 g/60 ml) 能够完全净化植物油并且具有很好的批间重现性。浓缩瓶前后质量之差基本不会大于 1.5 mg。在选取苯并芘专用柱操作时, 应称取浓缩前后玻璃瓶的质量, 计算瓶内残渣质量, 如残渣超过 1.5 mg, 表明有部分植物油未被中性氧化铝吸附, 这些未被吸附的植物油就会进入洗脱液, 由于 PAHs 非极性较强, 会溶于残留的植物油中, 当用四氢呋喃-乙腈 (1:9, V/V) 混合液定容时, 由于混合液与植物油不互溶, 所以 PAHs 不能完全转移到四氢呋喃-乙腈 (1:9, V/V) 混合液中, 致使测定结果偏低, 因此瓶内残渣质量大于 1.5 mg 时, 需要重新净化。

2.2 色谱分离条件的建立

16种 PAHs 均具有紫外吸收, 紫外检测器能同时测定, 但灵敏度低, 对 16种 PAHs 的检出限约为 1 μg/ml; 荧光检测器相比紫外检测器具有更高的灵敏度, 对 15种 PAHs (二氢芘无荧光) 的检出限可达到 0.5 ng/ml, 因此综合考虑选用荧光检测器。

经过比较, Waters-PAHs 专用柱只需采用乙腈-水梯度洗脱即可实现对 15种 PAHs 的分离, 且分离度明显优于普通的 C₁₈ 柱, 因此本研究采用 PAHs 专用柱按 1.2.2 色谱条件进行测定, 整个分离过程仅需 30 min, 标准色谱图见图 1。



注: 1. 萘、2. 芘、3. 芴、4. 菲、5. 蒽、6. 荧蒽、7. 芘、8. 苯并(a)蒽、9. 屈、10. 苯并(b)荧蒽、11. 苯并(k)荧蒽、12. 苯并(a)芘、13. 二苯并(a,h)蒽、14. 苯并(ghi)芘、15. 茚并(1,2,3-cd)芘

图 1 15种 PAHs 标准品色谱图

Figure 1 Chromatogram of 15 PAHs standards

2.3 线性范围和检出限的考察

将标准溶液稀释至 20 mg/L 作为标准储备溶液, -18 °C 避光保存。临用前用乙腈将标准储备溶液逐级稀释到 0.5、1.0、2.0、10.0、40.0、100.0 μg/L, 按 1.2.2 色谱条件, 每个浓度重复测定 3 次, 以待测物的峰面积 y 对浓度 x 进行线性回归 (见表 3)。将接近定量限浓度的标准品加入样品基质中, 按照 1.2.1 方法进行处理后上机测定, 根据目标物色谱图信噪比计算定性检出限和定量检出限 (见表 3)。

表 3 15种 PAHs 的线性回归方程和相关系数

Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients of 15 PAHs

名称	保留时间/min	线性方程	相关系数 r	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
萘	6.821	$y = 1.56e^{+004}x - 1.22e^{+005}$	0.999 6	2.0	6.0
芘	9.499	$y = 4.99e^{+004}x - 4.18e^{+005}$	0.998 7	1.5	4.5
芴	9.978	$y = 9.66e^{+004}x - 5.74e^{+005}$	0.999 5	0.2	0.6
菲	11.223	$y = 2.68e^{+004}x - 1.77e^{+005}$	0.998 6	1.5	4.5
蒽	12.698	$y = 2.94e^{+004}x - 9.33e^{+004}$	0.999 9	1.5	4.5
荧蒽	14.118	$y = 1.41e^{+004}x - 9.45e^{+004}$	0.999 9	2.0	6.0
芘	15.154	$y = 1.03e^{+005}x - 3.68e^{+005}$	0.999 9	0.2	0.6
苯并(a)蒽	18.894	$y = 3.02e^{+003}x + 2.92e^{+004}$	0.999 9	2.0	6.0
屈	22.488	$y = 6.52e^{+004}x - 5.40e^{+004}$	0.999 9	0.5	1.5
苯并(b)荧蒽	24.985	$y = 4.26e^{+004}x + 1.39e^{+004}$	0.999 9	0.5	1.5
苯并(k)荧蒽	26.985	$y = 2.49e^{+005}x + 3.52e^{+005}$	0.999 9	0.15	0.5
苯并(a)芘	27.556	$y = 1.14e^{+005}x - 2.97e^{+005}$	0.999 9	0.2	0.6
二苯并(a,h)蒽	28.621	$y = 8.61e^{+004}x + 3.27e^{+004}$	0.999 9	0.2	0.6
苯并(ghi)芘	6.821	$y = 2.17e^{+004}x + 8.28e^{+004}$	0.999 9	1.5	4.5
茚并(1,2,3-cd)芘	9.499	$y = 8.61e^{+003}x - 5.18e^{+003}$	0.999 9	2.0	6.0

2.4 方法的准确度和精密度

精密量取 15 种 PAHs 标准溶液适量,加入到已知准确含量的食用油中,按 1.2.1 方法制备供试品溶液,测定 15 种 PAHs 的含量(每个浓度水平平行测定 3 次),计算 15 种 PAHs 的回收率(见表 4)。在 0、2、4、6、8、12、48 h 分别对制备的供试品溶液进样,15 种多环芳烃的峰面积 $RSD < 2.1\%$ 。日内精密度:取 40 ng/ml 标准溶液,按 1.2.2 色谱条件,连续进样 6 次,以峰面积计算,15 种 PAHs 的 RSD 在 0.2% ~ 0.9% 之间;日间精密度:取 40 ng/ml 标准溶液,按 1.2.2 色谱条件,连续进样 5 d,15 种 PAHs 的 RSD 在 0.2% ~ 2.0% 之间,表明该方法的精密度良好。

表 4 15 种 PAHs 的平均回收率($n = 3$)

Table 4 The results of average recoveries for 15 PAHs

化合物	加标水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	2.0	10.0	50.0
萘	78.0	82.1	89.4
苊	106.5	105.6	102.3
芴	115.2	108.3	106.7
菲	79.8	88.2	93.4
蒽	79.6	85.3	96.2
荧蒽	78.2	79.5	82.1
芘	85.6	86.3	88.9
苯并(a)蒽	78.0	85.4	93.6
屈	82.3	83.6	92.1
苯并(b)荧蒽	103.2	101.3	100.5
苯并(k)荧蒽	88.9	91.2	95.6
苯并(a)芘	86.5	89.6	98.3
二苯并(a,h)蒽	83.6	85.4	86.7
苯并(ghi)芘	81.5	82.3	90.2
茚并(1,2,3-cd)芘	80.2	86.3	90.3

2.5 样品测定

在超市随机采购 9 种植物油样品,其中包括 3 种菜籽油、3 种花生油和 3 种调和油,按 1.2.1 和 1.2.2 方法进行样品前处理和测定,所有样品均未检出 PAHs。

3 小结

本研究采用商品化的固相萃取小柱对植物油样品进行净化,省去了国标法中繁琐的装柱步骤,操作简单,基质干扰少,仪器费用低廉,回收率和重现性良好,结果准确可靠,适用于植物油中 15 种 PAHs 的含量测定。值得注意的是,虽然 PAHs 在环境中含量甚微,但却广泛分布于空气、水、土壤中,为避免由于试剂、耗材以及环境因素引起的假阳性结果,每次测定均应做试剂空白并采用色谱级的试剂。

参考文献

- [1] W Xue, D Warshawsky. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2005, 206(1): 73-93.
- [2] 周翔. 快速溶剂萃取-SPE 硅胶柱净化-高效液相色谱法测定土壤中多环芳烃 16 种化合物的研究 [J]. 河南化工, 2010(5): 57-58.
- [3] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 2716—2005 食用植物油卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [4] 毛明英, 刘守琼, 宋磊, 等. 塑料食品包装制品中多环芳烃的分析及检测 [J]. 包装工程, 2009, 30(1): 43-45.
- [5] 那广水, 刘春阳, 张琳, 等. 固相膜萃取-超高效液相色谱-荧光法测定极地水体中多环芳烃 [J]. 分析试验室, 2011, 30(1): 29-31.
- [6] 尹怡, 郑光明, 朱新平, 等. 分散固相萃取/气相色谱-质谱联用法快速测定鱼、虾中的 16 种多环芳烃 [J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 107-1112.
- [7] 刘忠文, 高亦军, 刘爽, 等. 食品接触油墨中 16 种多环芳烃的测定 [J]. 解放军预防医学杂志, 2009, 27(3): 202-203.
- [8] 刘晓晨, 齐琳, 孔文平, 等. 高效液相色谱荧光法检测海产品中苯并(a)芘及其代谢产物 [J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(2): 152-154.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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.

· 公告 ·

关于公布婴幼儿配方乳粉生产企业信息的公告

2013 年 第 20 号

为落实《国务院办公厅转发食品药品监管总局等部门关于进一步加强婴幼儿配方乳粉质量安全工作的意见的通知》(国办发[2013]57号)要求,方便广大消费者、食品监管部门和社会各界查询信息,鼓励广大消费者和社会各界参与婴幼儿配方乳粉质量安全监督,现将各省级食品监管部门批准取得食品生产许可证的 128 家婴幼儿配方乳粉生产企业的相关信息予以公布。

下一步,我局将按照新修订的婴幼儿配方乳粉生产企业许可条件和婴幼儿配方乳粉备案管理办法,组织开展婴幼儿配方乳粉生产企业的再审核再清理和产品信息备案工作,进一步清理婴幼儿配方乳粉生产企业,规范产品信息和包装标签。婴幼儿配方乳粉生产企业的动态变更信息及详细产品信息,将在备案工作完成后及时向社会公布。

附件:全国 128 家婴幼儿配方乳粉生产企业相关信息(略)

国家食品药品监督管理总局
二〇一三年八月二日