

植物油中苯并芘的提取工艺^①

谭亮 胡风祖^②

(中国科学院西北高原生物研究所 西宁市新宁路 23 号 810001)

摘要 采用正交试验比较提取溶剂、料液比、提取温度、超声时间对植物油中苯并芘提取率的影响。结果对植物油中苯并芘提取率的影响程度依次为:提取溶剂>料液比>超声时间>提取温度。最佳提取工艺为:提取溶剂为乙腈,料液比为 1:125,提取温度为 50℃,超声时间为 2.5 h。

关键词 植物油;苯并芘;提取工艺

中图分类号:O657.7⁺2

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2013)03-1103-04

1 引言

食品安全是一个世界性问题,由食品污染所致的疾病已成为全世界最为广泛关注的公共卫生问题之一。食源性疾病发病率已上升至各种疾病总发病率的第二位,其中苯并芘污染最为常见和广泛^[1]。苯并芘别名 3,4-苯并芘,缩写:B(a)P,是多环芳烃中毒性最大的一种强烈致癌物^[2-4]。植物油中苯并芘的主要来源包括:油料作物在晾晒过程中可能受到苯并芘污染,在浸出阶段温度过高可能产生苯并芘,在油料焙烤时也可能产生苯并芘^[5]。

目前,我国采用最新国标方法(GB/T 22509-2008)来检测植物油中的苯并芘。但该方法存在着操作时间长、试剂消耗量大、回收率低等问题,以致不能准确有效地检测植物油中的苯并芘。本研究采用乙腈超声进行样品前处理,反相高效液相色谱法测定植物油中苯并芘的含量。同时选取提取溶剂、料液比、提取温度及超声时间作为比较因素,以苯并芘的提取率为评价指标,利用正交试验 $L_{16}(4^4)$ 筛选最佳工艺条件,寻求更为准确、快速、简便的检测方法,从而为植物油中苯并芘的含量测定提供了有效的参考依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

上海天美 LC2000 系列高效液相色谱仪(配有 Waters474 荧光扫描检测器[沃特世科技(上海)有限公司];LC 2130 泵(上海天美科学仪器有限公司);AG135 型电子分析天平(Mettler Toledo 公司)。PS-60 型洁康牌超声波清洗仪(东莞市洁康超声波设备有限公司);TGL-16C 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);UPT- I -20L 型优普 ULUPURE 型超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

^① 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-J-26)

^② 联系人,电话:(0971) 6132750;E-mail:tanliang0117@126.com;hufz@nwipb.cas.cn

作者简介:谭亮(1984—),男,西宁市人,助理工程师,硕士,主要从事天然产物与药物分析工作。

胡风祖(1955—),女,西宁市人,研究员,硕士生导师,主要从事生物化学、中藏药化学的分析工作。

收稿日期:2012-08-27;接受日期:2012-09-04

苯并芘对照品[GBW(E)080476,中国计量科学研究院];甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司化工分公司);乙腈(色谱纯,山东禹王实业有限公司化工分公司);正己烷(色谱纯,山东禹王实业有限公司化工分公司);四氢呋喃(色谱纯,天津市凯信化学工业有限公司);检测用水为一级超纯水($18.25\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$)。

2.2 供试材料

植物油样品由山西出入境检验检疫局检验检疫技术中心提供。

2.3 实验方法

2.3.1 色谱条件

Merck KGaA LiChroCART $\text{R}250-4\text{ C}_{18}$ 柱(250mm \times 4.0mm,5 μm);柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;流动相: $V(\text{乙腈}):V(\text{水})=90:10$;流速:1.0mL/min;检测波长:发射波长为406nm,激发波长为384nm;进样量:20 μL 。对照品及样品色谱图分别见图1—2。

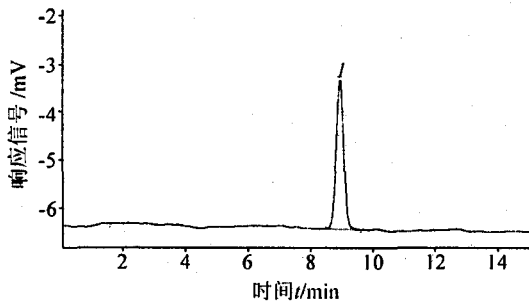


图1 苯并芘对照品色谱图

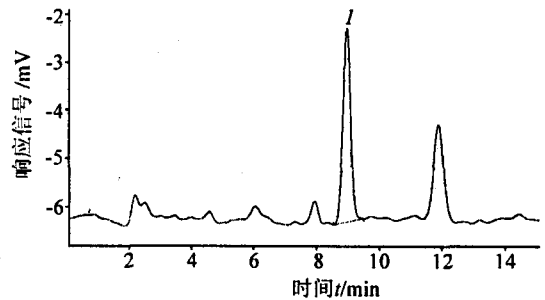


图2 样品色谱图

1—苯并芘。

2.3.2 样品的提取

根据预实验结果,选定提取溶剂、料液比、提取温度、超声时间作为4个考察因素,选择4个不同水平,以苯并芘提取率为考察指标,因素水平表见表1。

表1 因素水平表

水平	提取溶剂 A	料液比 B (g/mL)	提取温度 C ($^{\circ}\text{C}$)	超声时间 D (h)
1	甲醇	1:25	30	1
2	乙腈	1:50	40	1.5
3	正己烷	1:100	50	2
4	四氢呋喃	1:125	60	2.5

2.3.3 对照品溶液的制备

准确移取苯并芘对照品溶液(5.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$,溶剂为甲醇)1.0mL,置于1000mL容量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,得浓度为5.16ng/mL的对照品储备溶液。临用前将其稀释10倍,配制成浓度为0.516ng/mL的对照品稀释溶液。

2.3.4 样品溶液的制备

称取1g植物油样品,准确称定(精确至0.0001g),用 $L_{16}(4^4)$ 正交试验表进行试验(见表2),提取后用补重法补足超声过程中损失的溶剂。所得上清液继续在转速为10000r/min条件下高速离心

5min,再次移取上清液经微孔滤膜(0.45 μ m)过滤后取续滤液,作为供试溶液。

3 结果与讨论

3.1 苯并芘的线性关系考察

准确吸取苯并芘稀释溶液 5、10、20 μ L 以及准确吸取苯并芘储备溶液 5、10 μ L,共五点按“2.3.1”项下色谱条件依次进样分析。以进样量 x (ng)为横坐标,峰面积 y 为纵坐标绘制校准曲线并进行回归计算,得回归方程 $y=5.935 \times 10^5 x+7.618 \times 10^3, r=0.9993$ 。结果表明苯并芘在 2.58×10^{-3} — 5.16×10^{-2} ng 范围内线性关系良好。

3.2 正交试验及结果

取高速离心后的样品上清液,经微孔滤膜(0.45 μ m)过滤后,分别进样 20 μ L,结果见表 2。分析结果的极差 R 值,可知影响因素的大小顺序为 $A>B>D>C$,得苯并芘的最佳提取工艺为 $A_2B_4C_3D_4$,即提取溶剂为乙腈,料液比为 1:125(g/mL),提取温度为 50 $^{\circ}$ C,超声时间为 2.5h。

表 2 $L_{16}(4^4)$ 正交试验表及结果

试验号	A	B	C	D	植物油中苯并芘含量 (μ g/kg)
1	1	1	1	1	14.24
2	3	3	1	3	13.89
3	4	4	1	4	15.23
4	2	2	1	2	15.12
5	2	4	3	1	15.76
6	4	3	2	1	14.05
7	3	2	4	1	13.77
8	1	4	4	3	15.09
9	4	1	4	2	14.38
10	1	3	3	2	15.07
11	2	3	4	4	14.99
12	2	1	2	3	15.65
13	3	1	3	4	15.12
14	3	4	2	2	15.19
15	4	2	3	3	15.05
16	1	2	2	4	15.25
K1	59.65	59.39	58.48	57.80	
K2	61.52	59.19	60.14	59.76	
K3	57.97	58.00	61.00	59.68	
K4	58.71	61.27	58.23	60.59	
R	3.55	3.27	2.77	2.79	

3.3 正交试验方差分析

上述试验的方差分析结果见表 3。表 3 表明将提取温度(C)作为误差时,提取溶剂(A)、料液比(B)与超声时间(D)均无显著性差异,结果表明这 4 个因素对植物油中苯并芘的提取均很重要。

表 3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度 ν	均方	F	P
A	1.766	3	0.589	1.333	0.395
B	1.371	3	0.457	1.034	0.417
C	1.327	3	0.442	1	—
D	1.026	3	0.342	0.774	0.452

注: $P < 0.05$ 。“—”表示以提取温度(°C)作为置信水平参照。

3.4 最佳工艺验证试验

为保证提取工艺的重现性和稳定性,对最佳提取工艺 $A_2B_4C_3D_4$ 进行验证试验,结果见表 4。结果表明该最佳提取工艺重现性和稳定性良好。

表 4 验证试验结果

测定次数	植物油中苯并芘含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD(%)
1	15.45	0.62
2	15.69	
3	15.52	
4	15.60	
5	15.49	

4 结论

当提取溶剂为乙腈,料液比为 1 : 125(g/mL),提取温度为 50°C,超声时间为 2.5h 时可实现植物油中苯并芘的最大提取率。色谱条件为: C_{18} 柱(250mm \times 4.0mm, 5 μm);柱温: 30°C;流动相: $V(\text{乙腈}) : V(\text{水}) = 90 : 10$;流速: 1.0mL/min;检测波长: 发射波长为 406nm,激发波长为 384nm。结果计算得植物油中苯并芘的平均含量为 15.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该检测方法准确、快速、简便,为植物油中苯并芘的含量测定提供了有效的参考依据。

参考文献

- [1] 陈锡文,邓楠. 中国食品安全战略研究[M]. 北京:化学工业出版社,2004. 201,938—939.
- [2] 周芳,孙成,钟明. 我国水体中苯并芘污染的生态风险评价[J]. 环境与健康杂志,2005,22(3):163—165.
- [3] 王连生. 环境化学进展[M]. 北京:化学工业出版社,1995. 133—151.
- [4] 刘治娟,姬艳丽,吴源等. 苯并芘引起鼠胸腺细胞 DNA 损伤及其机制[J]. 毒理学杂志,2005,19(4):284—286.
- [5] 赵月兰,秦建华. 苯并芘对动物性食品的污染与检测[J]. 中国动物检疫,1996,13(2):15—16.

Extraction Technics of Benzoapyrene in Vegetable Oil

TAN Liang HU Feng-Zu

(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, P. R. China)

Abstract The effects of extraction solvent, ratio of material and liquid, extraction temperature, ultrasonic time on extraction rate of benzoapyrene in vegetable oil were studied by orthogonal design. The order of factors affecting extraction rate of benzoapyrene was extraction solvent > ratio of material and liquid > ultrasonic time > extraction temperature. The optimum extractions were as follows: acetonitrile as extraction solvent, material-liquid ratio of 1 : 125, extraction temperature of 50°C and ultrasonic time of 2.5h.

Key words Vegetable Oil; Benzoapyrene; Extraction Technics