

液相色谱-串联质谱法检测食用油脂中苯并芘

刘玉兰 张小涛 赵欢欢

(河南工业大学粮油食品学院)

【摘要】建立了一种食用油脂中苯并芘的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 检测方法。油脂经稀释以后直接进入 LC-MS/MS 分析。方法线性范围为 0.2~30 ng/mL, 检出限为 0.1 ng/mL, 平均回收率范围为 89.8%~102%, RSD (相对标准偏差) 在 1.48%~2.59%。该方法能准确、快速和灵敏的检测食用油脂中的 BaP。

【关键词】LC-MS/MS; 食用油脂; 质量安全; BaP

中图分类号: TS 252/TQ 646 文献标识码: A 文章编号: 1000-9868(2012)10-0045-04

苯并芘 (Benzo (a) pyrene, BaP), 又称 3,4-苯并芘, 是一种含 5 个环的稠环芳烃, 分子式为 $C_{20}H_{12}$, 结构如图 1 所示。苯并芘常温下是黄色结晶, 几乎不溶于水, 可溶于苯、甲苯和环己烷, 稍溶于乙醇和甲醇。苯并芘是最具有代表性的国际公认的强致癌物, 可以通过呼吸、摄入和接触等途径进入人体, 可损伤生殖系统, 易导致皮肤癌、肺癌、上消化道肿瘤、动脉硬化和不育症等疾病。苯并芘在自然界中广泛分布, 在油料加工和油脂生产中的不当操作以及苯并芘的亲脂能力可能使其污染食用油。GB 2716-2005《食用植物油卫生标准》规定食用油中苯并芘含量的最高上限为 $10\mu\text{g/kg}$ 。



图 1 苯并 [a] 芘的结构式

目前, 食用油脂中 BaP 的分析方法主要有纸 (板)

色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法和气相色谱-质谱联用法。由于食用油脂成分复杂, 其中苯并芘含量又极低, 同时还存在着大量的干扰物质, 因此无论使用哪种分析方法, 都必须对样品进行分离、富集等处理。在 GB 2716-2005 中, 苯并芘按 GB/T 5009.27《食品中苯并 [a] 芘的测定》方法进行测定, 测定方法是荧光分光光度法和目测比色法。这两种方法存在着操作复杂、溶剂毒性大、费时和准确度低等问题, 以至于很难对油脂中苯并芘残留进行有效的检测。2008 年, 国家质检总局颁布了 GB/T 22509-2008《动植物油脂苯并芘的测定 反相高效液相色谱法》, 该测定方法采用的是液相色谱荧光检测方法, 样品经填充的氧化铝柱子净化之后, 再浓缩、检测。GB/T 22509-2008 测定方法的分析时间长、操作繁琐、溶剂消耗比较大, 不同操作人员的数据差异比较大。随着分离和分析技术的发展, 出现了商品化的固相萃取柱子, 固相萃取与液相或者气相色谱-质谱联用技术已经应用于油脂中苯并芘的检测。与传统方法相比, 固相萃取可以提高重复性、节约溶剂消耗, 但是同样操作比较繁琐。因此, 寻求并研究快速、准确的食用油脂中苯并芘检测技术具有十分重要的意义。吴海智等人建立了高效液相色谱

学报, 2003, 24 (2): 32-34.

[8] Hao J. Y., Han W., Huang S. D., et al. Microwave-assisted extraction of artemisinin from artemisia annua L [J]. Separation and Purification Technology, 2002 (28): 191-196.

[9] Xiao W. H., Han L. J., Shi B.. Microwave-assisted extraction of flavonoids from Radix Astragali [J]. Separation and Purification Technology, 2008 (62): 614-618.

收稿日期: 2012-05-07

作者简介: 魏建明 (1961—), 男, 江苏丰县人, 工程师, 研究方向为食用加工与检测。

通讯作者: 耿中华 (1979—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为天然产物化学与食品加工

通信地址: (221008) 江苏省徐州市

谱法快速测定植物油中苯并芘的方法,油样经稀释、过滤以后直接进样分析。这种方法前处理简单,但是所需要的样品量比较大(2.5g),灵敏度低,且采用外标法进行定量。而采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测油脂中苯并芘的方法还未见报道。

本文采用 LC-MS/MS 建立了食用油中苯并芘的测定方法,利用内标法进行定量,并且与国标方法进行了比较。结果显示:该方法灵敏、快速,适合于食用油中苯并芘的检测。

1 试验材料和方法

1.1 试验材料

苯并芘标准品(纯度 $\geq 98\%$)、氘代苯并芘(d_{12} -BaP, 纯度 $\geq 98\%$),购自美国 Supelco 公司;乙腈、四氢呋喃、甲苯均为色谱纯,试验中所用水是去离子水。

1.2 试验仪器

安捷伦 1200 液相色谱仪,配有 G1329A 自动进样器、G1311A 四元混合泵和 G1316A 柱温箱,美国安捷伦公司;API 5500 三重四极杆串联质谱仪,配有光电离子源(APPI)和 Analyst 1.5 软件数据处理系统,美国应用生物系统公司;日立 L-2130 泵,日本日立高新技术公司;KQ-700DB 型数控超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司。

1.3 分析方法

1.3.1 标准溶液的配制

储备液及工作液:用乙腈准确配制苯并芘(1g/L)和氘代苯并芘(1g/L)的一级单标储备液,储存于棕色玻璃瓶中,于 -40°C 下保存。分别准确量取一级单标储备液苯并芘(1mL)和氘代苯并芘(1mL)于2个10mL棕色容量瓶,用乙腈定容至刻度,得到二级单标储备液(100mg/L)。

1.3.2 样品前处理

样品前处理参考先前报道的方法并做了适当的修改。

即准确称取 1.00g(精确到 0.01g)油样于 10mL 容量瓶中,加入 5mL 四氢呋喃后,加入 200 μL 的氘代苯并芘,然后用乙腈定容到 10mL。放入超声仪中超声 10min,然后过 0.22 μm 的有机相滤膜,待测。

1.3.3 标准曲线绘制

取 7 个 10mL 的容量瓶,依次加入 2、5、10、20、50、100 和 300ng 的苯并芘标准品,并且各加入 200ng 的氘代苯并芘,然后用乙腈定容至刻度,并且混匀,最终的浓度为 0.2、0.5、1、2、5、10 和 30ng/mL(氘代苯并芘为 20ng/mL)。按照 1.4 中的液相和质谱条件分析,以标准溶液浓度/内标的浓度为横坐标,标准溶液峰面积/内标的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.4 回收率和精密度试验

准确称取已测定苯并芘含量的油脂 1g,分别加入低、中、高 3 个浓度的苯并芘标准品,按照 1.3.2 的前处理方法处理样品,并测定其苯并芘含量,每个水平重复 5 次,按下式计算回收率:

回收率 = (加入后样品中的苯并芘含量 - 样品中原来的 BaP 含量) / 加入的苯并芘的量 $\times 100\%$

选取低、中、高 3 个样品,在同 1d 内测定其含量 5 次,计算其平均值和 RSD。

1.4 色谱-质谱条件

色谱条件: Dionex ACCLAIM C18 色谱柱(150mm \times 3mm, 3 μm);流动相:水,乙腈溶液;柱温 40°C ;进样量 5 μL 。掺杂剂甲苯,流速为 100 $\mu\text{L}/\text{min}$;洗脱条件:乙腈:水, 95:5 (V/V),流速为 550 $\mu\text{L}/\text{min}$,分析时间为 8min。

质谱条件:光电离子源,多反应监测,正离子扫描方式;点喷雾电压 700V,雾化气 75psi,气帘气 15psi,辅助加热气 50psi,温度 600°C ,射入电压 10V,碰撞能 9eV;去簇电压 110V,驻留时间 50ms。本试验中所采用的定量离子对为 253.2 \rightarrow 252.1,定性离子对为

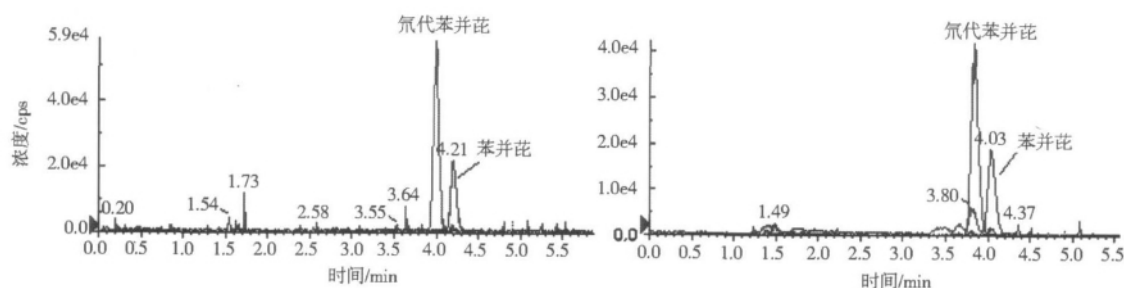


图2 在标准品(左)和样品中(右)苯并芘及其内标氘代苯并芘的色谱图

253.2→251.1, 内标的离子对为 265.2→263.1。

2 结果和讨论

2.1 色谱柱的选择

考察了不同柱子对于苯并芘的分离效果。其中 XTerra MS C18 2.5 μ m 2.1×50mm 柱子出峰太早, 对于苯并芘几乎无保留; Agilent XDB-C18 3.5 μ m 2.1×150mm 即使乙腈比例达到 100%, 峰形也不是很好; ACQUITY U-PLC BEH C18 1.7 μ m 2.1×100mm 对于苯并芘的保留时间约为 1.8min, 但是由于实际样品比较复杂, 无法和干扰物得到有效的分离。因此, 最终选择 Dionex ACCLAIM C18 色谱柱 (150×3mm, 3 μ m), 在 1.4 的色谱条件下, 苯并芘和干扰物得到有效的分离如图 2 所示, 且保留时间比较合适, 样品中苯并芘的保留时间为 4.03min, 氘代苯并芘为 3.85min。

2.2 超声时间的选择

选取同一个样本, 按照 1.3.2 的前处理方法处理样品, 做 6 个平行, 其超声时间分别为 10、15、20、30、40 和 60min, 过滤膜以后测定其苯并芘的含量, 结果发现: 苯并芘的含量并不随着超声时间的延长而增加, 因此最终选择 10min 做为最佳的超声时间。

2.3 标准曲线和检测限

苯并芘的标准曲线如图 3 所示, 利用内标法进行定量分析, 在 0.2~30ng/mL 范围内具有良好的线性关系。以信噪比 (S/N) 不低于 3 时的进样浓度为检测限 (LOD), 方法检测限为 0.1ng/mL; 以信噪比 (S/N) 不低于 10 时的进样浓度为定量限 (LOD), 方法定量限为 0.3ng/mL。

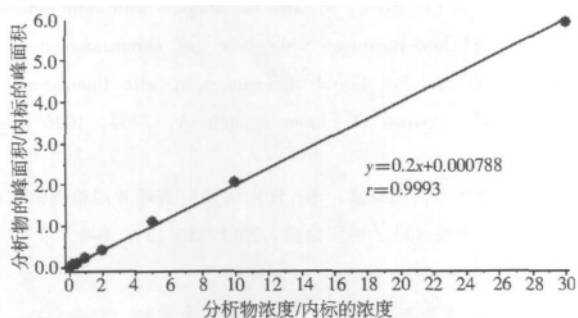


图3 苯并芘标准曲线

2.4 回收率和精密度

分别选取了 0.5、5 和 20ng/mL 3 个添加水平做回收率, 方法平均回收率范围为 89.8%~102%, RSD (相对标准偏差) 在 1.48%~2.59%, 具体分析测定结果见表 1。

表明方法对食用油分析具有良好的精密度和重复性。

表 1 方法的回收率和精密度 ($n=5$)

样本含量 (ng/mL)	加标量 (ng/mL)	检测 (ng/mL)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
0.15	0.50	0.61	92.0	1.48
0.15	5.00	5.27	102.0	1.58
0.15	20.0	18.1	89.8	2.59

2.5 方法对比

表 2 LC-MS/MS 方法和 GB/T 22509-2008 方法测定结果比较

序号	GB/T 22509-2008 方法 (μ g/kg)	LC-MS-MS 方 法 (μ g/kg)	相对标准偏差 (%)
1	8.13	8.14	0
2	10.3	9.7	4.2
3	12.6	12.8	1.1
4	15	14.2	3.9
5	3.94	4.08	2.5
6	16.6	16.2	1.7

利用建立的 LC-MS/MS 方法和 GB/T 22509-2008 的方法对某品牌的食用植物油中苯并芘含量进行了测定, 结果见表 2。2 个方法的相对标准偏差均小于 5%, 说明 LC-MS/MS 准确度良好, 可以满足油脂中苯并芘含量快速测定的要求。

3 结论

本研究建立了一种食用油中苯并芘检测的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 方法。方法前处理简单, 重复性好, 分析时间短, 并且采用内标法进行定量, 检出限为 0.1ng/mL, 平均回收率范围为 89.8%~102%, 能较好的满足食用油中苯并芘的快速检测需求。

参考文献

- [1] 吴丹. 食品中苯并芘污染的危害性及其预防措施[J]. 食品工业科技, 2008, 29 (5): 309-311.
- [2] 张根旺. 油脂中多环芳烃污染及其控制 [J]. 粮食与油脂, 2007 (6): 5-6.
- [3] 江苏省食品中苯并芘监测协作组. 食品中苯并芘的纸上层析测定法 [J]. 江苏医药, 1981 (3): 45-47.
- [4] Fenoll J., Hellín P., López J., et al. Simplified multiresidue method for determination of pesticide residues in lettuce by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, 389 (2): 643-651.
- [5] Purcaro G., Moret S., Conte L. S.. Rapid SPE-HPLC determination of the 16 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons

豆粕感官质量影响因素分析

张立国¹ 罗淑年² 江 维¹ 于殿宇²

(1.哈尔滨工大高新技术产业开发股份有限公司中大植物蛋白分公司 2.九三粮油工业集团有限公司)

【摘要】 本文主要对影响大豆豆粕感官质量的因素进行分析,通过对大豆原料质量、生产工艺中的清理、脱皮、膨化及脱溶等工段的分析,找出生产过程中影响豆粕感官质量的因素。在生产中加强工艺管理,为生产出更具有市场竞争力的优质豆粕提供参考。

【关键词】 豆粕;感官质量

中图分类号:TS 224 文献标识码:A 文章编号:1000-9868(2012)10-0048-03

豆粕是以大豆为原料的油脂行业加工的主产品,产量比例占总产品的80%左右,豆粕产品带来的销售情况直接决定油脂加工企业的经济效益,因此,如何生产出市场上更受欢迎的豆粕是众多油脂企业研究的重点。同时,随着饲料工业和养殖业的不断发展,对作为饲料加工的主要原料的豆粕的要求也越来越高,在大豆及大豆产品的市场竞争日益激烈的今天,在对豆粕的理化指标要求严格的基础上,饲料生产商对豆粕感官指标的要求也越来越高,豆粕感官指标主要包括豆粕的色泽、气味和颗粒度等。在理化指标基本相同的前提下,感官指标愈好愈受市场欢迎,产品更具有市场竞争力,也可以获得更高的利润,所以本文针对影响豆粕感官质量的因素进行分析,为豆粕生产提供参考。

1 大豆原料的质量

正常的豆粕应具有豆粕本身固有的黄白色至黄褐色,有的可以做到金黄色、色泽光亮,具有豆香味。加工陈化、发热和霉变大豆,会造成成品豆粕的颜色加深、灰暗,风味变差,作为饲料的价值降低。加工未成熟大豆或青豆较多,豆粕呈青绿色,外观较差。大豆中的一些有机杂物、泥砂、并肩泥沾泥粒等直接影响产品的灰分含量,过高的泥沙含量会降低豆粕的适口性,加强大豆的精选和吸风除尘、可去除大豆中的并肩泥,但沾泥粒在大规模生产加工中很难去除。而且如果大豆原料中破碎的豆瓣等含量较高也直接影响豆粕的感官质量,豆瓣面非常容易沾灰,而这部分灰在预处理工艺中很难除

in olive oils [J]. Journal of Separation Science, 2008, 31 (22): 3936-3944.

[6] 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, 39 (10): 6075-6076.

[7] Jira W., Ziegenhals K., Speer K.. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of 16 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and edible oils [J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2008, 25 (6): 704-713.

[8] Purcaro G., Morrison P., Moret S., et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils using solid-phase microextraction-comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1161 (1-2): 284-291.

[9] Bogusz M. J., El Hajj S. A., Ehaideb Z., et al. Rapid determina-

tion of benzo (a) pyrene in olive oil samples with solid-phase extraction and low-pressure, wide-bore gas chromatography-mass spectrometry and fast liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1026 (1-2): 1-7.

[10] 俞晔,金青哲,刘海珍,等. 食用油脂中多环芳烃检测的前处理技术研究进展 [J]. 中国油脂, 2011, 36 (7): 1-4.

基金项目: 河南省食用油脂倍增计划专项资金资助 (2069999); 国家攻关项目现代农业产业技术体系 (芝麻) 建设专项资金资助 (CARS-15-1-10)

收稿日期: 2012-08-02

作者简介: 刘玉兰 (1957—), 女, 教授。

通信地址: (450001) 郑州市高新区莲花街