

食品中苯并（ α ）芘的测定

刘海侠

（浙江福立分析仪器股份有限公司，浙江 温岭 317500）

摘要：试样经过有机溶剂提取，分子印迹小柱净化，浓缩至干，乙腈溶解，反相液相色谱分离，荧光检测器检测，根据色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

关键词：反相液相色谱;苯并芘;检测

1 检测方法

依据国家标准：GB 5009.27-2016 食品安全国家标准食品中苯并（ α ）芘的测定。

2 试剂和材料

2.1 试剂

2.1.1 乙腈：色谱纯

2.1.2 正己烷：色谱纯

2.1.3 二氯甲烷：色谱纯

2.1.4 苯并（ α ）芘：100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 有证标准物质

2.2 材料与仪器

2.2.1 高效液相色谱仪：福立 LC5090 高效液相色谱仪，配备 LC5090 在线脱气机、LC5090 二元高压输液泵、LC5090 自动进样器、LC5090 柱温箱、RF-20A 荧光检测器。

2.2.2 色谱柱：Sunniest C18 柱，4.60 mm * 250 mm，粒径为 5.0 μm 。

2.2.3 分析天平：感量为 0.1mg。

2.2.4 苯并（ α ）芘分子印迹柱：500mg，6mL

2.2.5 MultiVap-10 定量平行浓缩仪。

2.2.6 固相萃取装置。

2.2.7 涡旋振荡器。

3 标准品制备

3.1 苯并（ α ）芘标准储备溶液（100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：购买有证标准物质，浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2 苯并（ α ）芘标准使用溶液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：吸取 100 μL 苯并（ α ）芘标准储备液（100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），用乙腈定容至 10 mL。避光保存在 0 $^{\circ}\text{C}$ -5 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中，保存期 1 个月。

3.3 标准曲线绘制：吸取苯并（ α ）芘标准使用溶液（ $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）以乙腈稀释，配成浓度为 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0 ng/mL 的苯并（ α ）芘标准系列溶液。

4 样品制备

4.1 样品的提取

称取 0.8g（精确到 0.001g）试样，加入 10mL 正己烷，涡旋混合 0.5min，待净化。

4.2 样品的净化

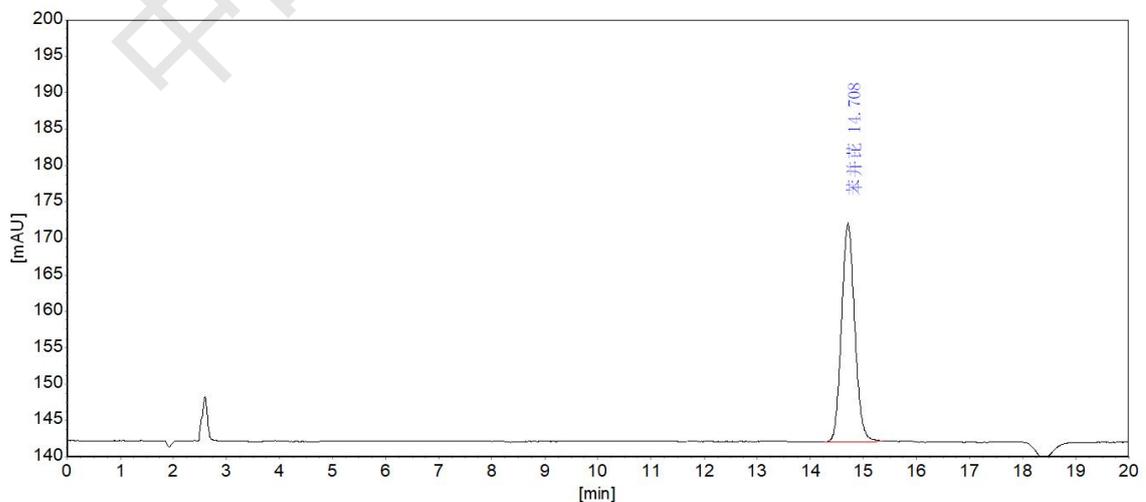
采用苯并（ α ）芘分子印迹柱，依次用 5mL 二氯甲烷及 5mL 正己烷活化柱子，将待净化液转移至柱子，待液面降至柱床时，用 6mL 正己烷淋洗柱子，弃去流出液。用 6mL 二氯甲烷洗脱并收集净化液，将净化液在 40°C 下氮吹干，准确吸取 0.8mL 乙腈复溶，过滤 0.45 微米滤膜后供液相色谱测定。

5 仪器条件

- a) 色谱柱：Sunniest C18，柱长 250mm，内径 4.6mm，粒径 $5\mu\text{m}$
- b) 流动相：乙腈：水=88：12
- c) 流速：1.0 mL/min
- d) 荧光检测器：激发波长 384nm，发射波长 406nm
- e) 柱温： 35°C
- f) 进样量：20 μL

6 分析结果

6.1 5.0ng/ mL 苯并（ α ）芘标准溶液典型谱图及结果

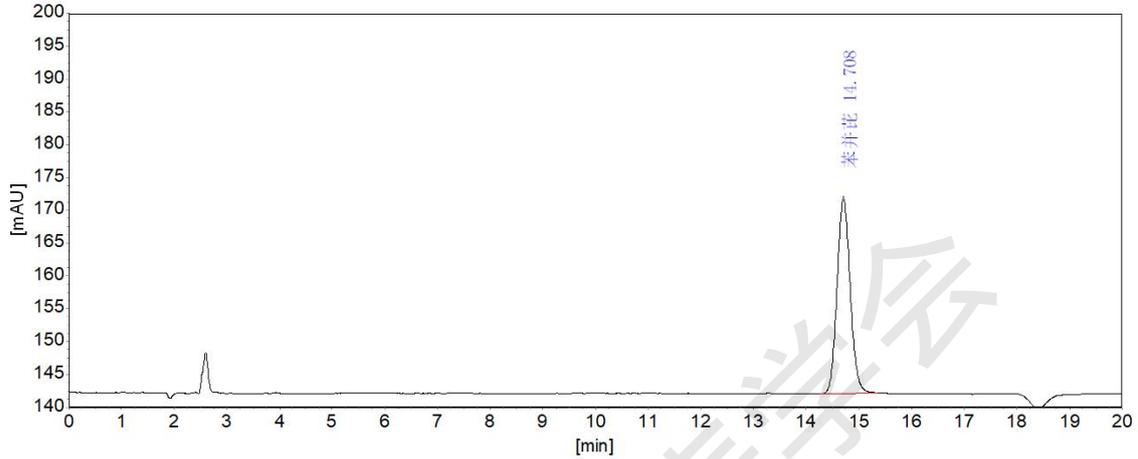


系统评价表

柱长: 死时间:

峰序	组分名	保留时间 [min]	半高峰宽 [min]	容量 因子	理论 塔板	分离度	拖尾 因子
1	苯并芘	14.720	0.26705	0.0000	16832	0.000	1.097

6.3.3 苯并(α)芘标准溶液 (5.0 ng/ mL) 的典型谱图及结果



分析结果表

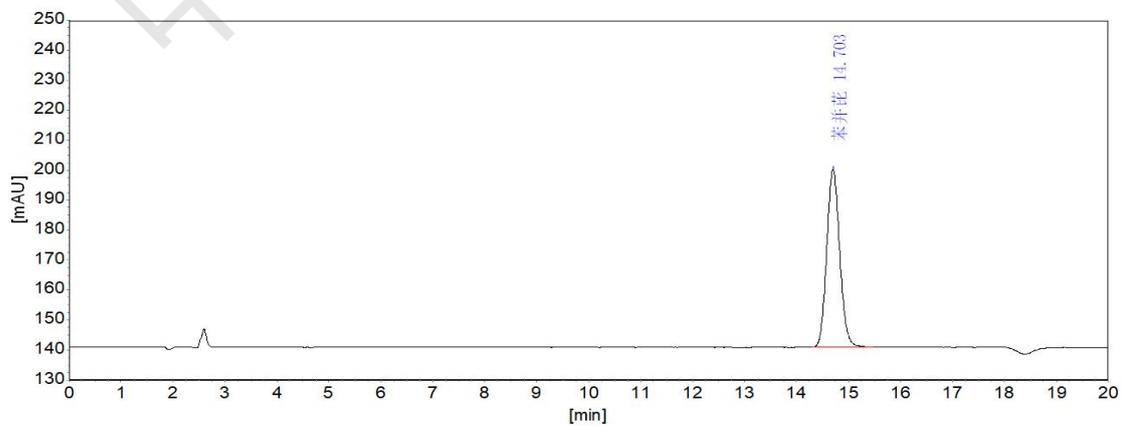
峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]
1	苯并芘	14.708	29756	516882
			29756	516882

系统评价表

柱长: 死时间:

峰序	组分名	保留时间 [min]	半高峰宽 [min]	容量 因子	理论 塔板	分离度	拖尾 因子
1	苯并芘	14.708	0.26677	0.0000	16841	0.000	1.103

6.3.4 苯并(α)芘标准溶液 (10.0 ng/ mL) 的典型谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]
1	苯并芘	14.703	59396	1026184
			59396	1026184

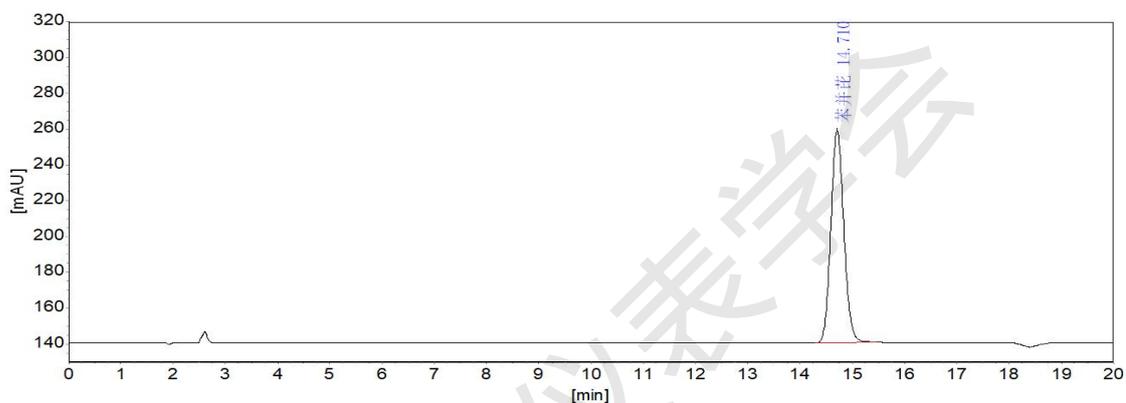
系统评价表

柱长:

死时间:

峰序	组分名	保留时间 [min]	半高峰宽 [min]	容量 因子	理论 塔板	分离度	拖尾 因子
1	苯并芘	14.703	0.26627	0.0000	16893	0.000	1.102

6.3.5 苯并(α)芘标准溶液 (20.0 ng/mL) 的典型谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]
1	苯并芘	14.710	118317	2043520
			118317	2043520

系统评价表

柱长:

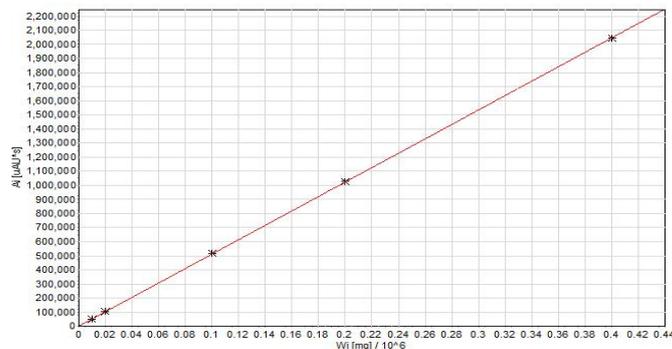
死时间:

峰序	组分名	保留时间 [min]	半高峰宽 [min]	容量 因子	理论 塔板	分离度	拖尾 因子
1	苯并芘	14.710	0.26576	0.0000	16973	0.000	1.106

6.3.6 苯并(α)芘标准曲线方程及相关系数

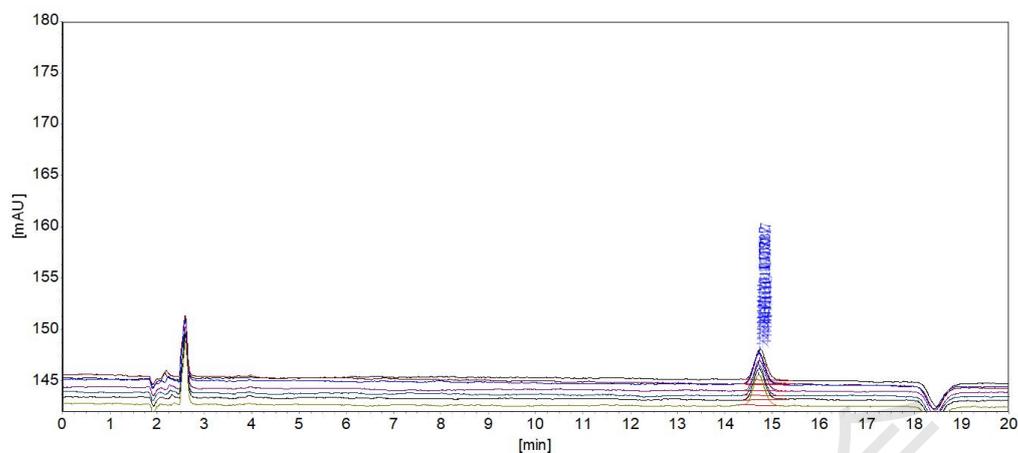
组分[苯并芘]: 曲线方程: $Wi = 1.9546E-013 * Ai$

校正因子: $f0=0, f1=1.9546E-013$ 相关系数: $r^2 = 0.99998$



6.4 最低检出限

6.4.1 0.5ng/mL 苯并(α)芘标准溶液七针重复性谱图



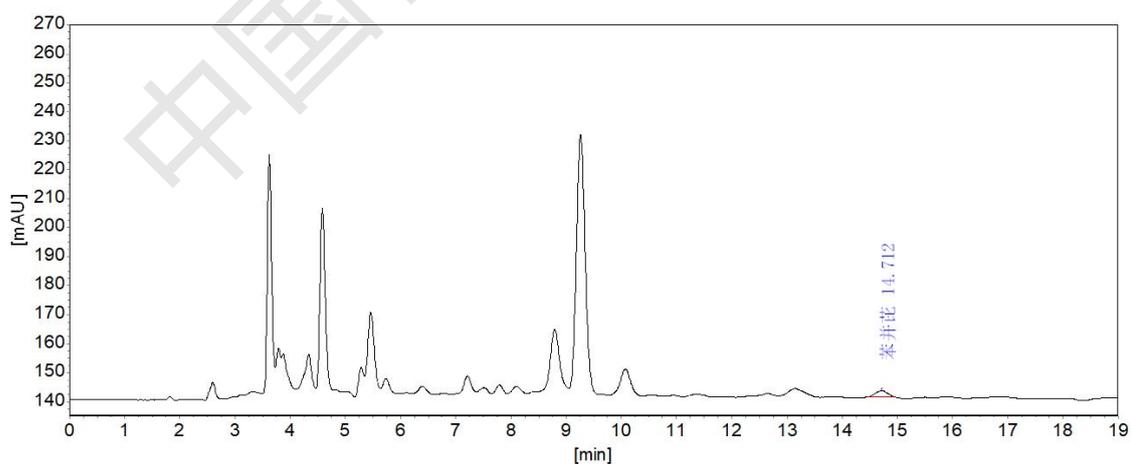
6.4.2 苯并(α)芘检出限结果

平行测定	1	2	3	4	5	6	7	标准偏差	检出限 μg/kg	定量限 μg/kg
苯并(α)芘	0.5103	0.5095	0.5229	0.5061	0.4983	0.5159	0.4944	0.0098	0.03	0.12

注：样品量 0.8g，定容体积 0.8mL

6.5 样品谱图及结果

6.5.1 大蒜油中苯并(α)芘的典型谱图及结果



分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [ug/kg]
1	苯并芘	14.712	2236	34495	0.3371
总计:			2236	34495	0.3371

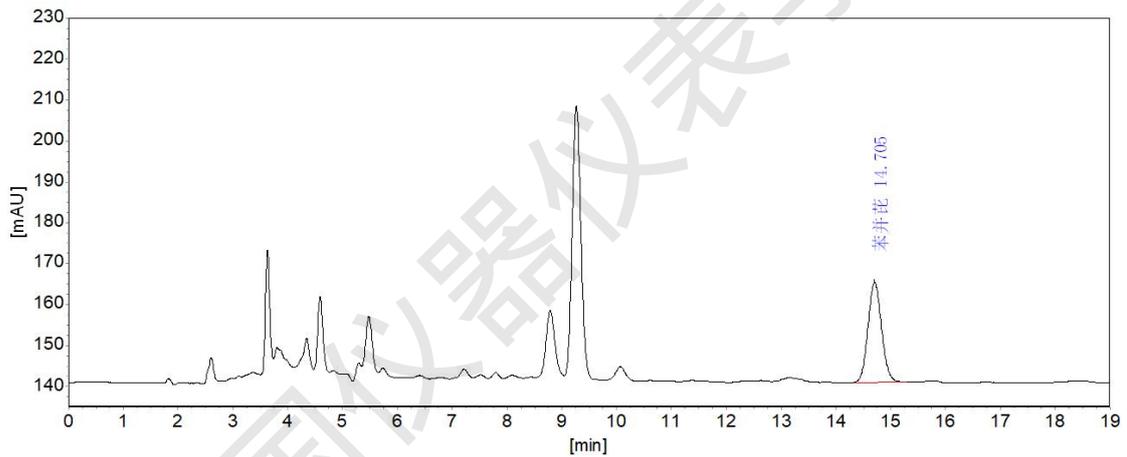
分析结果表

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [ug/kg]
1	苯并芘	14.718	2210	34098	0.3332
总计:			2210	34098	0.3332

注：(1) 大蒜油样品中苯并 (α) 芘的平均含量为 0.34μg/kg。

在重复性条件下获得两次独立测试结果的绝对差值为 0.01，为算术平均值的 2.9%，符合小于算术平均值 20% 的要求。

6.5.2 大蒜油加标典型谱图及回收率结果



大蒜油中苯并 (α) 芘 /μg/kg	加标量 /μg/kg	测定值 /μg/kg	加标回收率 /%	加标回收率范围 /%
		9.60	92.6	
0.34	10.0	9.37	90.3	90.3~92.6
		9.38	90.4	

7 实验结果

方法验证结论：苯并 (α) 芘的检出限、精密度、准确度结果汇总：

方法验证汇总表

化合物	检出限 /μg/kg	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	标准曲线 线性相关 系数	样品中含量 /μg/kg	加标回收率 /%
苯并(α)芘	0.03	0.043	0.455	0.99998	0.34	90.3~92.6

由以上实验结果可知，本方法完全可以达到国标方法要求。

中国仪器仪表学会