

高效液相色谱-荧光法测定茶叶中苯并(a)芘残留量的研究

洗燕萍, 郭新东, 黄金凤, 杜志峰, 罗海英, 吴玉銮

(广州市产品质量监督检验所, 国家加工食品质量监督检验中心(广州), 广东 广州 510110)

摘要: 建立了茶叶中苯并(a)芘残留量的高效液相色谱-荧光测定方法。样品用固相萃取小柱净化, 采用高效液相色谱分离, 荧光检测器检测。苯并(a)芘在 0.2 μg/L~50 μg/L 范围内呈线性, 线性方程为 $y=3.85 \times 10^4 x + 7.47 \times 10^3$, 相关系数为 0.9991。分别对绿茶和红茶进行添加回收试验, 回收率在 76.9%~86.9% 之间, 相对标准偏差在 2.0%~4.0% 之间, 方法检出限为 0.4 μg/kg。结果表明该方法简便、灵敏、安全性好、线性范围宽、精确度高, 适用于茶叶中苯并(a)芘的残留分析。

关键词: 苯并(a)芘; 液相色谱; 荧光; 茶叶; 残留

中图分类号: TS207.3; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2008)03-0281-03

Determination of Benzo (a) Pyrene Residue in Tea by HPLC with Fluorescence Detection

XIAN Yan-ping, GUO Xin-dong, HUANG Jin-feng, DU Zhi-feng, LUO Hai-ying, WU Yu-luan

(Guangzhou Product Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangdong Guangzhou 510110, China)

Abstract: A method for the determining of Benzo (a) pyrene residue in tea by HPLC with fluorescence detection (HPLC-RF) was developed. Samples were purified by SPE, and analyzed by HPLC-RF. Within the linear range of 0.2~50 μg/L, the linear equation was $Y=3.85 \times 10^4 X + 7.47 \times 10^3$ ($R=0.9991$). The recovery tests of green and red teas ranged from 76.9% to 86.9%. The variation coefficients and detection limit were 2.0%~4.0% and 0.2 μg/kg ($S/N=3$), respectively. This method was suitable for the qualitative and quantitative analysis of Benzo (a) pyrene residues in tea, due to its simpleness, sensitivity, safety and high precision.

Key words: Benzo (a) pyrene; HPLC; fluorescence; tea; residues

苯并芘是一种含 5 个环的稠环芳烃, 具有多种同分异构体, 通常认为苯并(a)芘具有强致癌性^[1]。众所周知, 饮茶有防癌作用, 但茶叶中也有致癌物质苯并(a)芘, 它主要是在茶叶的炒制过程中, 有机化合物热解后产生的。苯并(a)芘难溶于水, 一般泡茶水中含量极微, 但当茶叶本身含有较多的苯并(a)芘时, 如果把茶汤和茶渣一同吃下, 就会对人体产生危害。所以对茶叶中苯并(a)芘残留进行高效的定性定量分析具有重要意义^[1]。目前, 文献报道有植物油、肉类、大米等食品中苯并(a)芘的检测方法^[2-5], 但茶叶中苯并(a)芘的残留分析还没有相关文献报导, 本文对茶叶中苯并(a)芘的残留分析进行了研究。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

SHIMADZU 公司液相色谱仪(由 SIL-HTa 自动进样器、LC-10ATvp 泵、CTO-10ASvp 柱温箱构成), 配有 RF-10AXL 荧光检测器; 涡旋振荡器(德国 IKA 公司); 氮吹仪(美国 OA 公司); 粉碎机; 正己烷(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 硅胶固相萃取小柱(500 mg/3 mL, 美国 Phenomenex 公司); 苯并(a)芘标准溶液(200 μg/mL, 美国 SUPELCO 公司); 其它试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: Dikma C18 (5 μm, 4.6 mm×250 mm i.d.); 流动相: 乙腈-水 ($V_{乙腈}:V_{水}=90:10$); 流速: 1.0 mL/min; 荧光检测器激发波长为 365 nm, 发射波长为 410 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

收稿日期: 2008-02-20

作者简介: 洗燕萍(1975-), 工程师, 研究方向为食品工程及质量检测

通讯作者: 郭新东高级工程师

1.3 标准溶液的配制

移取苯并(a)芘标准溶液 1.00 mL 到 10 mL 容量瓶中,用丙酮定容,配制成质量浓度为 20 mg/L 的标准贮备液。根据需要用正己烷稀释成所需的标准工作溶液。

1.4 样品处理

1.4.1 提取

称取 0.5 g (准确至 0.01 g) 已粉碎的待测样品于 50 mL 塑料离心管中,加入 5 mL 正己烷,涡旋振荡均匀,超声萃取 10 min 后,于 4000 r/min 离心 3 min,吸上层萃取液于氮吹管中,再用 10 mL 正己烷分别萃取 2 次,合并萃取液于上述氮吹管中,置于 50 °C 水浴中氮吹浓缩至近干(约 1 mL),待净化。

1.4.2 净化

用 15 mL 正己烷-丙酮混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=95:5$)预淋洗填有 0.05 g 活性碳的固相萃取小柱串联硅胶固相萃取小柱(硅胶固相萃取小柱在下面),将待净化溶液倾入小柱中,流出液收集于氮吹管中,再用 10 mL 正己烷-丙酮混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=95:5$)洗脱,把收集的流出液置于 50 °C 水浴中吹氮浓缩至近干。用丙酮溶解并定容至 1.0 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤,待测。

2 结果与讨论

2.1 固相萃取小柱的选择

茶叶中对苯并(a)芘含量的检测有干扰的物质主要有色素、黄酮类、生物碱等成分,单一的氧化铝、硅藻土、弗罗里硅土、活性炭较难完全除去干扰物,因此,需考虑组合不同填料的固相萃取小柱,以尽可能多除去茶叶中的干扰物。在去除色素方面,活性炭比其它几种材料的效果都好,但活性炭填料过多或直接加入样品中,会吸附部分苯并(a)芘,降低回收率,故将少量的活性炭填充在固相萃取小柱空柱上,并采用洗脱剂多次淋洗的方法;不被活性炭吸附的黄酮类、生物碱,可选用硅胶、弗罗里硅土或中性氧化铝等小柱去除,试验分别用硅胶加活性炭、弗罗里硅土加活性炭、中性氧化铝加活性炭填充柱子,用正己烷+丙酮的淋洗剂进行淋洗,得出去除色素、回收苯并(a)芘的综合效果最好的是硅胶加活性炭。洗脱液的选择试验中,单剂正己烷效果不理想,丙酮和正己烷、丙酮和乙腈的混合液对色素有较强的洗脱力,干扰测定,本实验采用正己烷-丙酮混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=95:5$)为洗脱液。

2.2 标准曲线线性范围

配制 5 个不同质量浓度的苯并(a)芘标准溶液,质量浓度分别为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 。在上述色谱条件下测定苯并(a)芘标准系列溶液。以苯并(a)芘质量浓度(x, $\mu\text{g/L}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标作图,其线性方程和相关系数分别为:

$$y=3.85 \times 10^4 x + 7.47 \times 10^3, R=0.9991$$

可见,苯并(a)芘质量浓度在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~50 $\mu\text{g/L}$ 范围内与峰面积具有良好的线性相关性。苯并(a)芘的标准溶液和添加苯并(a)芘的绿茶样品色谱图如图 1 和图 2 所示。由图可见,实际样品的干扰峰较少,杂质出峰时间早,对苯并(a)芘的色谱峰不产生干扰。

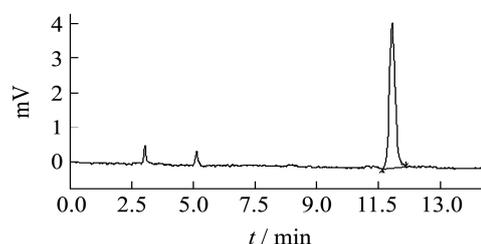


图1 1 $\mu\text{g/L}$ 苯并(a)芘的标准溶液色谱图

Fig.1 Chromatogram of 1 $\mu\text{g/L}$ BAP standard solution

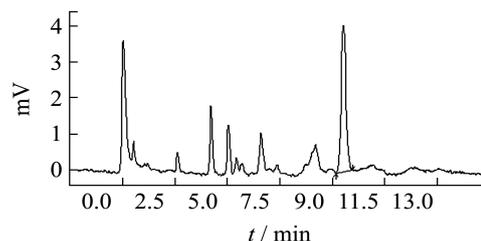


图2 添加苯并(a)芘的绿茶样品色谱图(2 $\mu\text{g/kg}$)

Fig.2 Chromatogram of BAP of blank spiked sample (2 $\mu\text{g/kg}$)

2.3 仪器检出限与方法检出限

在上述条件下,以仪器 $S/N=3$ 计算,苯并(a)芘的仪器最低检出限为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 。由样品前处理最低的回收率和浓缩倍数关系确定方法的检出限为 0.4 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.4 方法的回收率和变异系数

分别按本文所述前处理方法称取空白绿茶和红茶样品,分别作三个水平的添加试验,每个添加水平做 5 次平行,其回收率与变异系数见表 1(第 289 页)。从表 1 中看出,各种样品的三个添加水平回收率均在 76.9%~86.9%之间,变异系数在 2.0%~4.0%之间,方法的准确度和精密度均达到残留分析要求。

3 结论

(下转第289页)