



中华人民共和国国家标准

GB 5009.27—2016

食品安全国家标准 食品中苯并(a)芘的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.27—2003《食品中苯并(a)芘的测定》、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》、SC/T 3041—2008《水产品中苯并(a)芘的测定 高效液相色谱法》和 NY/T 1666—2008《肉制品中苯并(a)芘的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 5009.27—2003、GB/T 22509—2008、SC/T 3041—2008 和 NY/T 1666—2008 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中苯并(a)芘的测定”;
- 修改了方法的适用范围;
- 修改了样品前处理方法;
- 删除了荧光分光光度法与目测比色法。

食品安全国家标准

食品中苯并(a)芘的测定

1 范围

本标准规定了食品中苯并(a)芘的测定方法。

本标准适用于谷物及其制品(稻谷、糙米、大米、小麦、小麦粉、玉米、玉米面、玉米渣、玉米片)、肉及肉制品(熏、烧、烤肉类)、水产动物及其制品(熏、烤水产品)、油脂及其制品中苯并(a)芘的测定。

2 原理

试样经过有机溶剂提取,中性氧化铝或分子印迹小柱净化,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。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 甲苯(C_7H_8):色谱纯。
- 3.1.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- 3.1.3 正己烷(C_6H_{14}):色谱纯。
- 3.1.4 二氯甲烷(CH_2Cl_2):色谱纯。

3.2 标准品

苯并(a)芘标准品($C_{20}H_{12}$, CAS 号:50-32-8):纯度 $\geq 99.0\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

警告——苯并(a)芘是一种已知的致癌物质,测定时应特别注意安全防护! 测定应在通风柜中进行并戴手套,尽量减少暴露。如已污染了皮肤,应采用 10%次氯酸钠水溶液浸泡和洗刷,在紫外光下观察皮肤上是否有蓝紫色斑点,一直洗到蓝色斑点消失为止。

3.3 标准溶液配制

- 3.3.1 苯并(a)芘标准储备液($100 \mu\text{g/mL}$):准确称取苯并(a)芘 1 mg(精确到 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中,用甲苯溶解,定容。避光保存在 $0\text{ }^\circ\text{C} \sim 5\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中,保存期 1 年。
- 3.3.2 苯并(a)芘标准中间液($1.0 \mu\text{g/mL}$):吸取 0.10 mL 苯并(a)芘标准储备液($100 \mu\text{g/mL}$),用乙腈定容到 10 mL。避光保存在 $0\text{ }^\circ\text{C} \sim 5\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中,保存期 1 个月。
- 3.3.3 苯并(a)芘标准工作液:把苯并(a)芘标准中间液($1.0 \mu\text{g/mL}$)用乙腈稀释得到 0.5 ng/mL 、 1.0 ng/mL 、 5.0 ng/mL 、 10.0 ng/mL 、 20.0 ng/mL 的校准曲线溶液,临用现配。

3.4 材料

3.4.1 中性氧化铝柱:填料粒径 75 μm ~150 μm ,22 g,60 mL。

注:空气中水分对其性能影响很大,打开柱子包装后应立即使用或密闭避光保存。由于不同品牌氧化铝活性存在差异,建议对质控样品进行测试,或做加标回收试验,以验证氧化铝活性是否满足回收率要求。

3.4.2 苯并(a)芘分子印迹柱:500 mg,6 mL。

注:由于不同品牌分子印迹柱质量存在差异,建议对质控样品进行测试,或做加标回收试验,以验证是否满足要求。

3.4.3 微孔滤膜:0.45 μm 。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱仪:配有荧光检测器。

4.2 分析天平:感量为 0.01 mg 和 1 mg。

4.3 粉碎机。

4.4 组织匀浆机。

4.5 离心机:转速 \geq 4 000 r/min。

4.6 涡旋振荡器。

4.7 超声波振荡器。

4.8 旋转蒸发器或氮气吹干装置。

4.9 固相萃取装置。

5 分析步骤

5.1 试样制备、提取及净化

5.1.1 谷物及其制品

预处理:去除杂质,磨碎成均匀的样品,储于洁净的样品瓶中,并标明标记,于室温下或按产品包装要求的保存条件保存备用。

提取:称取 1 g(精确到 0.001 g)试样,加入 5 mL 正己烷,旋涡混合 0.5 min,40 $^{\circ}\text{C}$ 下超声提取 10 min,4 000 r/min 离心 5 min,转移出上清液。再加入 5 mL 正己烷重复提取一次。合并上清液,用下列 2 种净化方法之一进行净化。

净化方法 1:采用中性氧化铝柱,用 30 mL 正己烷活化柱子,待液面降至柱床时,关闭底部旋塞。将待净化液转移进柱子,打开旋塞,以 1 mL/min 的速度收集净化液到茄形瓶,再转入 50 mL 正己烷洗脱,继续收集净化液。将净化液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下旋转蒸至约 1 mL,转移至色谱仪进样小瓶,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气流下浓缩至近干。用 1 mL 正己烷清洗茄形瓶,将洗涤液再次转移至色谱仪进样小瓶并浓缩至干。准确吸取 1 mL 乙腈到色谱仪进样小瓶,涡旋复溶 0.5 min,过微孔滤膜后供液相色谱测定。

净化方法 2:采用苯并(a)芘分子印迹柱,依次用 5 mL 二氯甲烷及 5 mL 正己烷活化柱子。将待净化液转移进柱子,待液面降至柱床时,用 6 mL 正己烷淋洗柱子,弃去流出液。用 6 mL 二氯甲烷洗脱并收集净化液到试管中。将净化液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干,准确吸取 1 mL 乙腈涡旋复溶 0.5 min,过微孔滤膜后供液相色谱测定。

5.1.2 熏、烧、烤肉类及熏、烤水产品

预处理:肉去骨、鱼去刺、贝去壳,把可食部分绞碎均匀,储于洁净的样品瓶中,并标明标记,于

—16℃～—18℃冰箱中保存备用。

提取：同 5.1.1 中提取部分。

净化方法 1：除了正己烷洗脱液体积为 70 mL 外，其余操作同 5.1.1 中净化方法 1。

净化方法 2：操作同 5.1.1 中净化方法 2。

5.1.3 油脂及其制品

提取：称取 0.4 g(精确到 0.001 g)试样，加入 5 mL 正己烷，旋涡混合 0.5 min，待净化。

注：若样品为人造黄油等含水油脂制品，则会出现乳化现象，需要 4 000 r/min 离心 5 min，转移出正己烷层待净化。

净化方法 1：除了最后用 0.4 mL 乙腈涡旋复溶试样外，其余操作同 5.1.1 中的净化方法 1。

净化方法 2：除了最后用 0.4 mL 乙腈涡旋复溶试样外，其余操作同 5.1.1 中的净化方法 2。

试样制备时，不同试样的前处理需要同时做试样空白试验。

5.2 仪器参考条件

- a) 色谱柱： C_{18} ，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm ，或性能相当者；
- 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 384 nm，发射波长 406 nm；
- e) 柱温：35℃；
- f) 进样量：20 μL 。

5.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱中，测定相应的色谱峰，以标准系列工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，得到标准曲线回归方程。苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图见图 A.1。

5.4 试样溶液的测定

将待测液进样测定，得到苯并(a)芘色谱峰面积。根据标准曲线回归方程计算试样溶液中苯并(a)芘的浓度。

6 分析结果的表述

试样中苯并(a)芘的含量按式(1)计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X —— 试样中苯并(a)芘含量，单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)；

ρ —— 由标准曲线得到的样品净化溶液浓度，单位为纳克每毫升(ng/mL)；

V —— 试样最终定容体积，单位为毫升(mL)；

m —— 试样质量，单位为克(g)；

1 000——由 ng/g 换算成 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的换算因子。

结果保留到小数点后一位。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

8 其他

方法检出限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A

苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图

苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图见图 A.1。

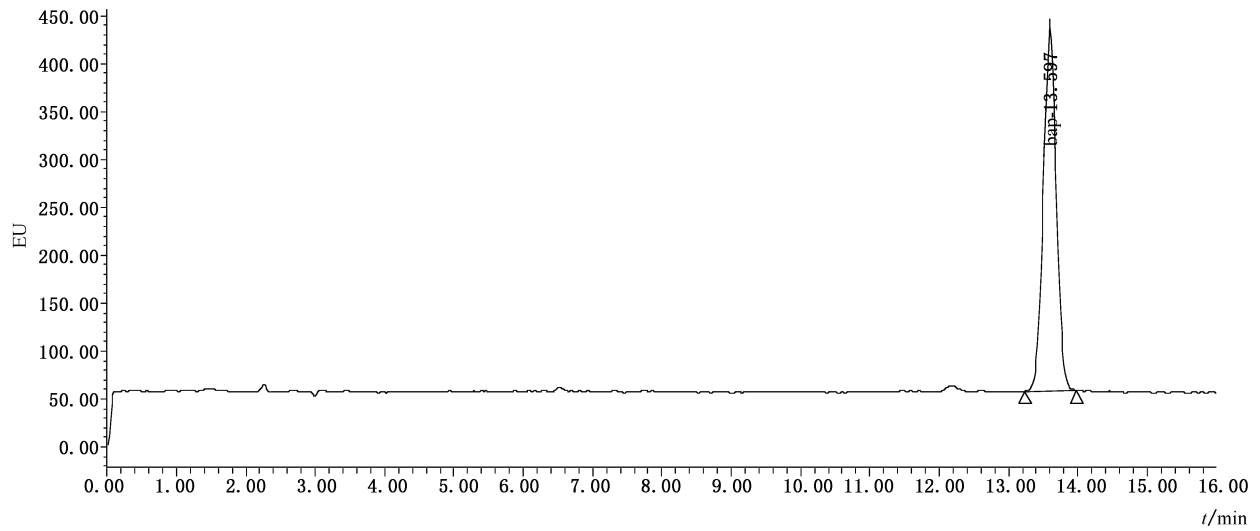


图 A.1 苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图