

DBS61

陕西省食品安全地方标准

DBS61/xxxx—xxxx

食品安全地方标准 植物提取物中苯并（a）芘的测定

xxxx - xx-xx 发布

xxxx -xx -xx 实施

陕西省卫生健康委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准代替DBS61/0008-2015《植物提取物中苯并(a)芘的测定 液相色谱-荧光检测法》。

本标准与DBS61/0008-2015相比，主要变化如下：

- 标准名称修改为“食品安全地方标准 植物提取物中苯并（a）芘的测定 ”；
- 扩充了气相色谱-串联四级杆质谱法定性；
- 修改了原标准的结构。

请注意本文的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文的附录A、附录B均为资料性附录。

本文由陕西省卫生健康委员会发布并归口。

本文由中华人民共和国西安海关技术中心提出并起草。

本文主要起草人：施妍婧，张璐，孔祥虹，何强，张亚莉，李莹，邹阳，李子豪，郝甜

甜

本次为第一次修订。

食品安全地方标准 植物提取物中苯并（a）芘的测定

1 范围

本标准规定了植物提取物中苯并（a）芘残留量的液相色谱定量测定及气相色谱-质谱/质谱的定性确证方法。

本标准适用于食用植物提取物中苯并（a）芘残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样经正己烷提取，经硅胶固相萃取柱和聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物固相萃取柱净化，液相色谱-荧光检测器检测，外标法定量，阳性样品采用气相色谱-串联质谱仪定性确证。

4 试剂与材料

警告：苯并（a）芘是一种已知的强致癌物质，应注意危险品操作规则。

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T6682中规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 正己烷（ C_6H_{14} ，CAS: 92112-69-1）：色谱纯。

4.1.2 二氯甲烷（ CH_2Cl_2 ，CAS:75-09-2）：色谱纯。

4.1.3 乙腈（ CH_3CN ，CAS: 75-05-8）：色谱纯。

4.2 溶液配制

4.2.1 正己烷-二氯甲烷（3 + 1，体积比）：量取 300mL 正己烷与 100 mL 二氯甲烷混合均匀。

4.2.2 乙腈-水（95 + 5，体积比）：量取 950 mL 乙腈与 50 mL 水混合均匀。

4.3 标准品

苯并(a)芘标准物质：(Benzo(a)pyrene, C₂₀H₁₂, CAS: 50-32-8)：纯度≥99%。

4.3 标准溶液配制

4.3.1 标准储备溶液(1 mg/mL)：准确称 10mg 苯并(a)芘标准品，精密称定，于 10mL 容量瓶中，用乙腈溶解定容至刻度，摇匀，配制为 1mg/mL 的标准储备溶液，0℃~4℃避光保存，可保存 12 个月。

4.3.2 标准中间溶液(1.0μg/mL)：准确量取 1 mg/mL 苯并(a)芘标准储备液 0.025 mL，于 25 mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，0℃~4℃避光保存，可保存 6 个月。

4.3.4 标准曲线的制备

分别准确吸取苯并(a)芘中间液(1.0μg/mL) 10μL、20μL、50μL、100μL、200μL、500μL 于 10mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，得到 1.0ng/mL、2.0ng/mL、5.0ng/mL、10.0ng/mL、20.0ng/mL、50.0 ng/mL 的系列标准曲线溶液，现用现配。

4.4 材料

4.4.1 硅胶固相萃取柱：1 g/6 mL，或者相当。使用前依次用 5 mL 二氯甲烷、10 mL 正己烷活化，保持柱体湿润。

4.4.2 聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物固相萃取柱：Bond Elut ENV 柱，500 mg/6 mL，或者相当。使用前依次用 5 mL 二氯甲烷、10 mL 正己烷活化，保持柱体湿润。

5 仪器与设备

5.1 液相色谱仪：配有荧光检测器。

5.2 气相色谱-串联质谱仪：配有电子轰击源(EI)。

5.3 分析天平：感量 0.00001 g 和 0.01g。

5.4 旋转蒸发器。

5.5 涡旋混匀器：转速 3000 r/min。

5.6 超声波清洗器。

5.7 离心机：转速 5000 r/min。

5.8 固相萃取装置。

5.9 移液枪：100 μL，1 mL，10 mL。

5.10 有机系滤膜：0.22 μm。

6 试样制备与保存

取有代表性样品200 g，混合均匀，装入洁净容器中，密闭并标明标记，常温保存。

7 测定步骤

7.1 提取

准确称取试样1g（精确至0.01 g）于离心管中，加入10 mL正己烷，涡旋混匀，超声提取30 min，4000 r/min离心5 min，取正己烷层溶液于100 mL梨形瓶中，用10mL正己烷重复提取2次，合并正己烷提取液，于40 °C减压浓缩至约5 mL，待净化。

7.2 净化

硅胶固相萃取柱串接在聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物固相萃取柱上方，取待净化液上样，用约5 mL正己烷洗涤梨形瓶，洗涤液合并上样，弃去流出液，再用15 mL正己烷淋洗固相萃取柱，待淋洗液全部通过固相萃取柱后，弃去流出液和硅胶固相萃取柱，用5 mL正己烷-二氯甲烷溶液（4.2.1）洗脱聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物固相萃取柱，整个净化过程保持流速2~3 mL/min，收集洗脱液，于40 °C减压浓缩至近干，准确加入1 mL乙腈溶解定容，过微孔（5.10）滤膜，待测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱：多环芳烃专用液相色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），或相当者；
- b) 流动相：乙腈-水（95 + 5，体积比）等度洗脱；
- c) 柱温：35 °C；
- d) 激发波长：384 nm；发射波长：406 nm；
- e) 流速：1.5 mL / min；
- f) 进样量：10 μL。

7.3.2 液相色谱法定量

根据样液中苯并（a）芘含量情况，选定与样液浓度相近的标准使用溶液，标准使用溶液和样液中苯并（a）芘的响应值均应在仪器检测的线性范围内，如果样液中苯并（a）芘含量超出检测的线性范围，则稀释后再进样。以保留时间定性，外标法定量，在7.3.1给定的液相色谱条件下，苯并（a）芘标准溶液的液相色谱图参见附录A中图A.1。

7.4 气相色谱-质谱/质谱法定性

取7.2中于40 °C减压浓缩至近干的样品，准确加入1 mL正己烷溶解定容，供气相色谱-串联质谱仪定性确证。

7.4.1 气相色谱-质谱/质谱参考条件

- a) 色谱柱：DB-5ms弹性石英毛细管柱（30 m × 0.25 mm，0.25 μm），或相当者；

- b) 色谱柱温度：120 °C 保持，0.5min，以20 °C/min 的速度升温至250 °C，保持8 min，再以10 °C/min的速度升温至290 °C，保持5 min；
- c) 进样口温度：280 °C；
- d) 色谱-质谱接口温度：290 °C；
- e) 载气：氦气，纯度大于等于99.999%，流速1.0 mL/min；
- f) 进样量：1.0 μL；
- g) 进样方式：不分流进样，1 min后打开分流阀；
- h) 电离方式：EI；
- i) 电离能量：70 eV；
- j) 离子源温度：250 °C；
- k) 四极杆温度：150 °C；
- l) 碰撞气：氩气，纯度大于等于99.999%，压力1.5 mTorr (0.2 Pa)；
- m) 测定方式：多重反应监测模式（MRM）；
- n) 多重反应监测条件：谱检测条件参见表1；
- o) 溶剂延迟：18 min。

表1 苯并芘测定的MRM条件

化合物	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV	定性离子对 m/z	碰撞能量 eV
苯并（a）芘	252.0/250.0	35	252.0/224.0	50

1) 非商业性声明：7.4.1中所列参考质谱条件是在岛津TQ 8030质谱仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅为提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试不同厂家及型号的仪器。

7.5 测定法

根据样液中苯并（a）芘含量情况，选定与样液浓度相近的标准使用溶液，标准使用溶液和样液中苯并（a）芘的响应值均应在仪器检测的线性范围内，如果样液中苯并（a）芘含量超出检测的线性范围，则稀释后再进样。以保留时间定性，液相色谱测定，外标法定量，气相色谱-质谱/质谱定性确证。

7.6 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

8 结果计算和表达

8.1 结果计算和表达

试样中苯并（a）芘含量按式（1）计算

$$X = \frac{A \times c_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —试样中苯并（a）芘的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- A —样液中苯并（a）芘的色谱峰面积；
- c_s —标准工作液中苯并（a）芘的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- V —样液最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- A_s —标准工作液中苯并（a）芘的色谱峰面积；
- m —试样质量，单位为克（ g ）。

计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 方法的灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法苯并（a）芘定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

生姜、黄芪、甘草、海带、小白菊、枸杞植物提取物（粉状）中苯并（a）芘在 $1.0\sim 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率在 $71.0\sim 118.0\%$ 之间，添加水平及回收率数据参见附录B中表B.1。

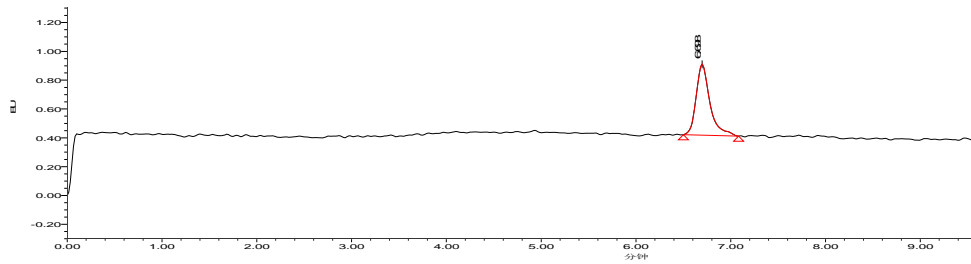
9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

A A

附录 A
(资料性附录)

苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图及气相色谱-质谱图



图A.1 苯并(a)芘标准溶液的液相色谱图 (2.0 ng/mL)

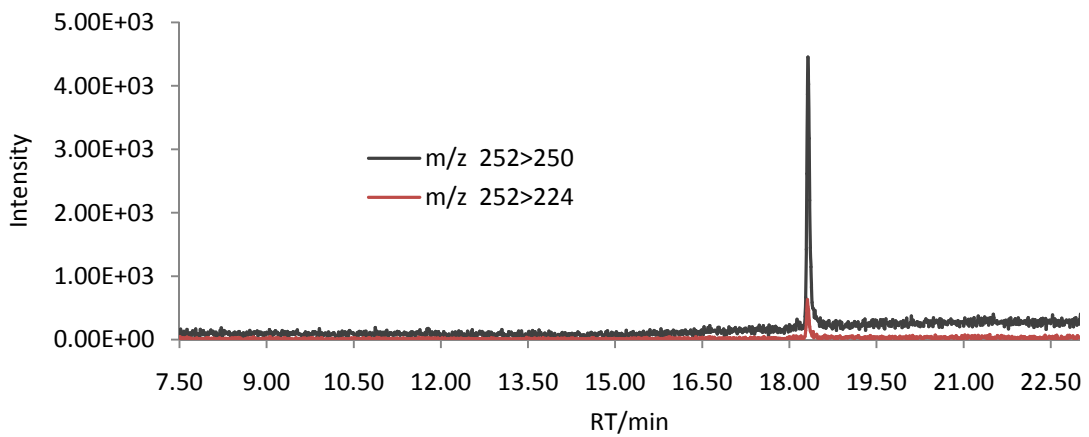


图 A.2 苯并(a)芘的气相色谱-串联四级杆质谱选择离子流图

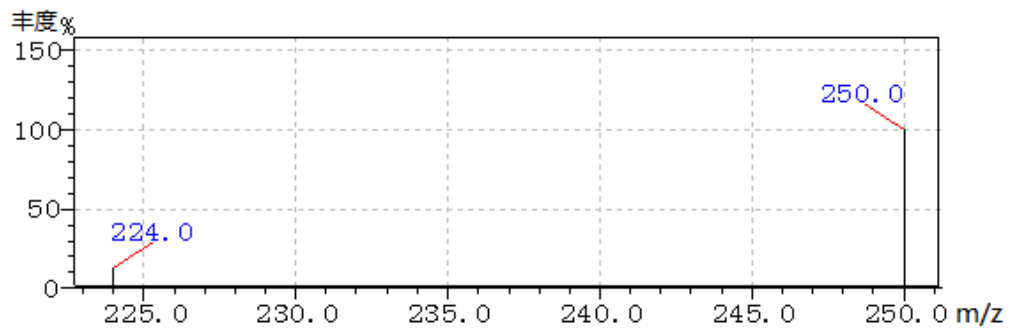


图 A.3 苯并(a)芘气相色谱-串联四级杆质谱-质谱图

B B

附录 B

(资料性附录)

方法的加标回收率和相对标准偏差

不同植物提取物中苯并(a)芘残留加标回收率和相对标准偏差(RSD)见表B.1

表 B.1 植物提取物中苯并(a)芘残留的添加回收率和相对标准偏差

样品	加标水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率范围/%	RSD/%
生姜提取物	1.0	82.0~100.0	4.5
	2.0	80.5~107.0	5.6
	5.0	76.4~92.8	6.1
黄芪提取物	1.0	71.0~118.0	7.5
	2.0	80.0~103.0	5.1
	5.0	85.0~100.6	4.7
甘草提取物	1.0	74.0~100.0	3.3
	2.0	87.02~96.5	1.3
	5.0	85.2~106.4	4.1
小白菊提取物	1.0	75.0~107.0	3.7
	2.0	82.0~107.5	3.42
	5.0	89.0~110.2	3.7
枸杞提取物	1.0	73.0~106.0	6.6
	2.0	89.0~105.5	3.7
	5.0	97.8~117.8	7.4
海带提取物	1.0	76.0~110.0	9.1
	2.0	79.5~106.5	6.6
	5.0	89.4~102.8	3.6