

## 使用液相色谱荧光检测器快速检测多环芳烃（PAHs），确保海产品的安全

### 方法优势

- 筛选海产品中的多环芳烃（PAHs）用时不到 4 分钟
- 通过更快、更简单的样品制备取得准确的结果
- 通过使用荧光检测进行选择测定

### 沃特世解决方案

配有荧光检测器的 ACQUITY UPLC® H-Class 系统

DisQuETM 基质分散样品制备试剂盒

Empower™ 2 软件

### 关键词

多环芳烃，PAHs，QuEChERS，荧光检测，食品安全

### 目的

证实 DisQuE 基质分散样品制备试剂盒和 UPLC®-FLR 的组合能够提供一种适合海产品中 PAHs 检测的快速筛选工具。

### 引言

以往重大漏油事件，如：1989 年瓦尔迪兹号（ExxonValdez）漏油和 2010 年 4 月墨西哥湾漏油事件，已经引起人们对出自这些地区的海产食品质量的担忧。鱼、甲壳类动物以及软体动物可能会接触或摄食石油，从而给消费者带来潜在的健康风险。在石油中发现的多种化合物中，一组重要的化合物是多环芳烃（PAHs）。美国环境保护局（US EPA）已经将这些化合物确定为重点污染物 1。美国食品药品监督管理局（US FDA）还确定了多个方面的问题，包括鱼类中苯并（a）芘的含量达  $3.5 \times 10^{-2} \text{mg/kg}$ ，牡蛎中菲和蒽的总含量达  $2.0 \times 10^3 \text{mg/kg}$ 。2 如果 PAHs 的含量达到关注水平的一半，则必须进行确证实验分析 2。为避免食用受污染的海产食品并尽可能减小对海产食品业的影响，需要采用一种快速筛选法对这些令人担忧的化合物进行分析。我们在这里证明了通过使用。

DisQuE 基质分散样品制备试剂盒（QuEChERS）进行简单萃取后，配有荧光检测器的 ACQUITY UPLC H-Class 系统可用不到 4 分钟的时间完成一次 PAHs 分析。

### 试验

#### LC 条件

系统：带大容量流动池（LV FC）的 ACQUITY UPLC

#### H-Class

色谱柱：PAH 4.6 x 50 mm, 3μm

柱温：35°C

进样量：10μL

采样率：20 点/秒

检测：采用程序定时控制荧光检测波长变化

软件：Empower 2

流动相 A：Milli-Q 水

流动相 B：甲醇，Fisher 最优级



沃特世科技（上海）有限公司  
上海：上海市浦东新区张东路1387号41栋01室  
北京：北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层  
广州：广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676

 [www.waters.com](http://www.waters.com)

邮编：201203  +86 21 6156 2666  +86 21 6879 4588

邮编：100026  +86 10 5209 3866  +86 10 5293 2298

邮编：510170  +86 20 2829 6555  +86 20 2829 6556

流动相 C: 乙腈, Fisher 最优级



图1 配有荧光检测器的ACQUITY UPLC H-Class系统

标准品: PAH 认证标准, AccuStandard M 8310

流速: 2.0 mL/min

梯度程序: 时间 流速 %A %B %C 梯度线型

(分钟) (mL/min)

0.00 2.0 30 70 0

2.25 2.0 0 70 30 6

3.50 2.0 0 0 100 6

3.60 2.0 30 70 0 6

### 样本制备


用食品加工机按 Ramalhosa 等人 3 描述的方法对鱼肉块(比目鱼)、带壳虾以及带水的去壳牡蛎分别进行均质化处理。每个样品取 15g 均质后的组织到离心管中,按三种不同水平加入认证的 PAH 标准溶液。向鱼和虾样品中加入 5ml 水来帮助混合,牡蛎不需要另外加水。加标后的各种样品彻底混合,并允许在室温下放一个小时。向每个离心试管中加入 DisQuE 管(P/N 186004571)的试剂,即 6 g 硫化镁 + 1.5 g 醋酸钠以及 15 mL 乙腈。用力摇动试管至少 1 分钟,从而形成海产食品组织、缓冲盐和乙腈的一种乳浊液。这次还按照 Ramalhosa 3 的程序进行,因为既未向乙腈中加入醋酸,也没有执行二次 PSA 清洗步骤。我们试验室的初期工作证明,对于带荧光检测器的液相色谱法分析不必采取 PSA 步骤(数据未公布)。按 3000 rpm 的转速离心 5 分钟后,一部分乙腈浮层被转移至一个自动取样管进行进样。1µg/g 和 10µg/g 浓度的加标样品分别用 1:10 和 1:100 的乙腈稀释。用 6-点线性校正曲线对样品进行定量。标准曲线是用乙腈稀释认证的标准品来绘制的。

### 结果和讨论

分散样品制备通常也称为 QuEChERS,是用于食品中农药分析的一种行之有效和快速的样品制备方法 4。就在最近,该方

沃特世科技(上海)有限公司

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676

 www.waters.com

上海: 上海市浦东新区张东路1387号41栋01室

北京: 北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层

广州: 广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

邮编: 201203

T +86 21 6156 2666

F +86 21 6879 4588

邮编: 100026

T +86 10 5209 3866

F +86 10 5293 2298

邮编: 510170

T +86 20 2829 6555

F +86 20 2829 6556

法已被用来从食品基质中萃取其他污染物，包括多环芳烃 3。

利用 ACQUITY UPLC H-Class 系统，在短短的 3.5 分钟内就将被 US EPA 列为重点污染物的 15 种荧光 PAHs 分离出来了。分析物的分离如图 2 所示，箭头所指向的是程序定时控制波长的变化。

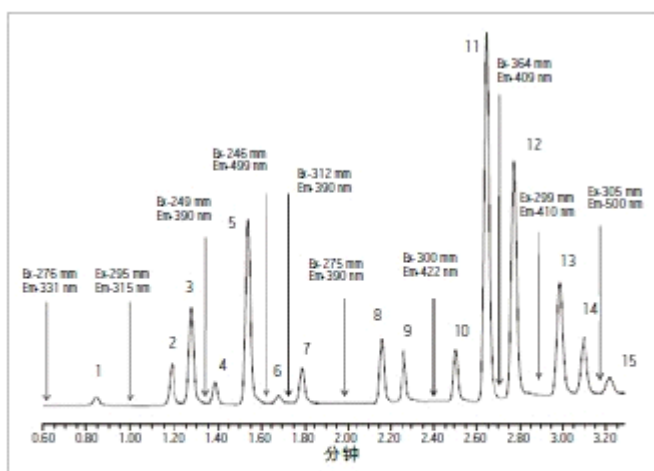


图2 PAH分析物 (0.1 mg/L) 的分离。采用程序定时控制波长变化。如箭头所示。PAH分析物被确定如下: (1) 萘; (2) 苊; (3) 蒽; (4) 菲; (5) 葱; (6) 荧蒽; (7) 芘; (8) 苯并[a]蒽; (9) 屈; (10) 苯并[b]荧蒽; (11) 苯并[k]荧蒽; (12) 苯并[a]芘; (13) 二苯并[a,h]蒽; (14) 苯并[g,h,i]芘; (15) 茚并[1,2,3-cd]芘

图 3 所示为以 10 $\mu$ g/g 的浓度加标的虾、鱼和牡蛎基质的色谱图实例。如图 3D 中所示，同样通过样品制备程序制备出的空白水样显示了非常清晰的色谱图。本样品制备程序中使用的未加标型海产食品基质的实例同样未见基质干扰，如图 4 所示。

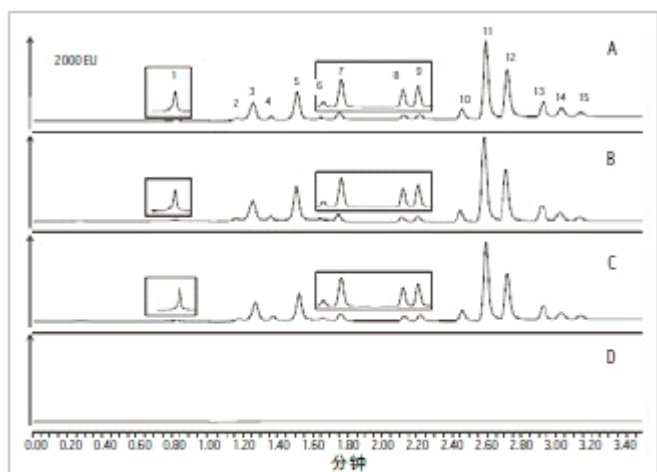






图3 按10.0 $\mu$ g/g加入标品到 (A) 虾、(B) 鱼和 (C) 牡蛎中的PAHs的色谱图 (萃取后用乙腈按1:100稀释)。插图显示的是 (1) 萘、(6) 荧蒽、(7) 芘、(8) 苯并[a]蒽和 (9) 屈的放大后的色谱峰。还显示了通过萃取程序得到的空白水样 (D)

各样品按照每一种分析物的 6-点校正曲线进行定量。苯并(a)芘的示范校正曲线如图 5 所示。所有分析物的线性系数 ( $R^2$ ) > 0.995。通过 Waters DisQuE 基质分散样品制备试剂盒，从三种不同的海产品基质中提取多环芳烃。虾、鱼和牡蛎的回收率和 RSD 百分比如表 1~表 3 所示。回收率范围为 68%~149%。表 4 中列出了一系列 QC 水样加标的回收率，按所列水平浓缩，并贯穿于前述样品制备过程。这些结果对于所有化合物在每一种添加水平下都非常好，除了水中的萘的最低添加水平外 (5 ng/g)。在该低水平上，由于峰面积小而且基线倾斜导致萘的检测结果变化波动很大，所以只能在这个水平以上

沃特世科技(上海)有限公司

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676  [www.waters.com](http://www.waters.com)

上海: 上海市浦东新区张东路1387号41栋01室  
北京: 北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层  
广州: 广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

邮编: 201203  +86 21 6156 2666  +86 21 6879 4588  
邮编: 100026  +86 10 5209 3866  +86 10 5293 2298  
邮编: 510170  +86 20 2829 6555  +86 20 2829 6556

检出。表 5

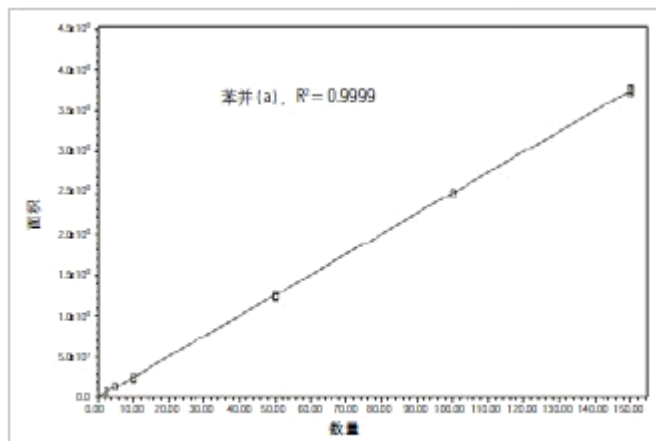


图5 苯并(a)芘校正曲线 (2.5~150.0 µg/L)

表1 加标虾的回收率和重现性

化合物	平均 RTN-9		10.0µg/g 加标 N-3		1.0µg/g 加标 N-3		50.0ng/g 加标 N-3	
虾的重现性和回收率数据	保留时间	%相对标准差	%回收率	%相对标准差	%回收率	%相对标准差	%回收率	%相对标准差
萘	0.83	.07	93	4.3	85	12.0	94	3.2
芴	1.17	.14	90	75.7	82	1.1	121	1.2
芴	1.26	0.11	89	6.4	76	1.4	84	2.4
菲	1.36	.10	86	8.1	73	2.5	88	2.3
蒽	1.51	.09	89	6.7	75	1.8	78	3.2
荧蒽	1.65	.07	91	6.7	79	3.2	84	2.9
芘	1.76	.06	86	8.4	75	2.1	78	4.5
苯并(a)蒽	2.12	.04	88	10.3	76	4.4	74	4.1
屈	2.22	.04	85	12.1	77	3.1	76	3.0
苯并(b)荧蒽	2.46	.04	87	7.6	75	2.4	72	1.5
苯并(k)荧	2.59	.03	84	10.4	77	3.1	72	2.7
苯并(a)芘	2.72	.03	84	9.4	75	2.6	72	2.6
二苯并(a,h)蒽	2.92	.04	77	12.7	72	4.0	70	2.7
苯并(g,h,i)芘	3.03	.05	70	12.6	68	3.3	68	2.5
茚并[1,2,3-cd]芘	3.14	.06	83	10.2	74	1.4	68	2.5

是根据 7 份各种海产品基质按 5 ng/g 的浓度加标后估算出的检测限，计算依据为 US EPA 40 CFR，附录 B 至第 136 部分，修订号 1.15.应用说明证实了 DisQuE 基质分散样品制备试剂盒和液相荧光光谱法的组合能够提供一种适合海产品中 PAH 检测的快速筛选工具。

沃特世科技(上海)有限公司

上海：上海市浦东新区张东路1387号41栋01室  
北京：北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层  
广州：广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676

[www.waters.com](http://www.waters.com)

邮编：201203 T +86 21 6156 2666 F +86 21 6879 4588  
邮编：100026 T +86 10 5209 3866 F +86 10 5293 2298  
邮编：510170 T +86 20 2829 6555 F +86 20 2829 6556

表2 加标鱼的回收率和重现性

化合物	平均 RTN-9		10.0µg/g 加标 N-3		1.0µg/g 加标N-3		15.0ng/g 加标N-3	
	保留 时间	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差
萘	0.82	0.04	141	3.5	102	4.2	114	5.4
苳	1.17	0.07	118	2.9	92	3.2	116	10.6
芴	1.26	0.04	118	3.0	88	2.7	83	1.1
菲	1.36	0.04	108	3.5	81	5.0	89	1.4
蒽	1.51	0.03	114	2.8	88	6.9	77	1.1
荧蒽	1.65	0.03	95	5.0	71	4.4	85	2.5
芘	1.75	0.04	91	5.7	68	3.1	73	2.3
苯并(a)蒽	2.11	0.03	118	1.7	90	6.8	79	3.6
屈	2.21	0.04	114	2.5	86	5.7	77	1.4
苯并(b)荧蒽	2.45	0.04	114	2.5	87	4.2	73	1.8
苯并(k)荧	2.58	0.05	111	2.5	87	4.7	73	1.9
苯并(a)芘	2.71	0.06	105	1.8	81	5.1	68	1.0
二苯并 (ah) 蒽	2.91	0.06	101	3.5	78	6.0	60	2.6
苯并(ghi)芘	3.02	0.06	85	2.2	71	5.0	66	3.0
茚并 [1,2,3-cd]芘	3.13	0.06	99	1.1	75	6.2	61	9.2

- 分散样品制备提供了从不同海产品基质中提取多环芳烃的快速有效的方法。
- 实践证明，该方法比其他样品制备技术更有优势，因为通过很少的样品制备和较短的时间就能够得到准确的结果 3。



表4 QC水加标的回收率和重现性

化合物	平均 RTN-9		1000.0 µg/g		15.0 ng/g		5.0 ng/g	
			QC3, A-C N-3		QC2, A-C N-3		QC1, A-C N-3	
QC水加标的 重现性和回 收率数据	保留 时间	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差	%回 收率	%相 对标准 差
萘	0.83	0.09	82	3.0	89	4.6	100	13.3
芴	1.17	0.19	77	0.7	95	3.4	32	27.4
芴	1.26	0.04	76	1.0	76	1.8	80	7.4
菲	1.36	0.04	78	1.9	74	3.6	70	7.5
蒽	1.51	0.03	78	2.5	67	2.5	66	8.3
荧蒽	1.66	0.04	84	3.5	73	12.5	78	11.9
芘	1.76	0.04	83	1.0	72	9.9	86	4.7
苯并(a)蒽	2.12	0.03	93	1.9	76	0.6	72	5.0
屈	2.22	0.04	95	1.8	79	0.4	78	5.5
苯并(b)荧蒽	2.46	0.04	95	0.8	76	2.9	70	6.7
苯并(k)荧蒽	2.60	0.04	95	1.6	81	0.9	72	5.0
苯并(a)芘	2.72	0.04	96	1.5	81	1.5	76	4.8
二苯并 (a,h) 蒽	2.92	0.04	96	1.9	88	2.4	84	3.3
苯并(g,h,i)芘	3.03	0.04	96	2.1	87	3.8	86	3.0
茚并 [1,2,3-cd] 芘	3.14	0.04	99	1.0	85	1.9	80	2.9

表 5 加标型虾、鱼和牡蛎的检测限 (LOD)，根据每种海产品基质在 5 ng/g 浓度下个 7 个单标的检测结果计算出标准方差，计算依据为 US EPA 40 CFR，附录 B 至第 136 部分，修订号 1.1.

化合物	LOD 虾 (ng/g)	LOD 鱼 (ng/g)	LOD 牡蛎 (ng/g)
萘	1.21	5.00	2.06
芴	2.35	2.78	2.15
芴	0.78	0.72	1.91
菲	0.60	0.62	2.94
蒽	0.62	0.33	1.43
荧蒽	1.29	1.27	2.75
芘	0.65	0.91	1.17
苯并(a)蒽	0.39	0.33	2.28
屈	0.49	0.48	1.70
苯并(b)荧蒽	0.37	0.24	1.93
苯并(k)荧	0.41	0.28	1.77
苯并(a)芘	0.34	0.63	1.62
二苯并 (a,h) 蒽	0.39	0.19	1.73
苯并(g,h,i)芘	0.42	0.25	1.64
茚并 [1,2,3-cd] 芘	0.51	0.64	1.79

■ 鉴于样品制备的时间缩短了，快速色谱分离对于通过该方法来分析样品、标准和相关 QC 样品十分重要。

■ ACQUITY H-Class 系统的分离时间还不到 4 分钟，能够满足方法要求。

沃特世科技(上海)有限公司

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676

 [www.waters.com](http://www.waters.com)

上海: 上海市浦东新区张东路1387号41栋01室

邮编: 201203

 +86 21 6156 2666  +86 21 6879 4588

北京: 北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层

邮编: 100026

 +86 10 5209 3866  +86 10 5293 2298

广州: 广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

邮编: 510170

 +86 20 2829 6555  +86 20 2829 6556

■ 本解决方案可帮助实验室筛选海产食品中的 PAHs，并能经济、及时地给出结果；这样，消费者就可对这些产品的安全性感到放心。

#### 参考文献

[1] USEPA Method 8310 “PolyNuclear Aromatic Hydrocarbons”

修订号 0，1986 年 9 月。

[2] Gratz et. al., “SCREEN FOR THE PRESENCE OF POLYCYCLIC

AROMATIC HYDROCARBONS IN SELECT SEAFOODS USING LCFLUORESCENCE”,

USFDA Laboratory Information Bulletin,

页：2010 年 7 月 29 日

[3] Ramalhosa 等人, “Journal of Separation Science”, 2009,

32, 页码：3529-3538.

[4] Anastassiades 等人, Journal of the AOAC Int, 2003, 86,

页码：412.

[5] EPA 40 CFR, 第 136 部分之附录 B, 修订号：1.1 页码 566.

#### 关于沃特世公司 ([www.waters.com](http://www.waters.com))

50 多年来，沃特世公司 (NYSE:WAT) 通过提供实用和可持续的创新，使医疗服务、环境管理、食品安全和全球水质监测领域有了显著进步，从而为实验室相关机构创造了业务优势。

作为一系列分离科学、实验室信息管理、质谱分析和热分析技术的开创者，沃特世技术的重大突破和实验室解决方案为客户的成功创造了持久的平台。

2010 年沃特世拥有 16.4 亿美元的收入和 5,400 名员工，它将继续带领全世界的客户探索科学并取得卓越成就。

###

#### 联系人：

张林海

沃特世公司市场部

86(21) 61562642

[lin\\_hai\\_zhang@waters.com](mailto:lin_hai_zhang@waters.com)

周瑞琳 (Grace Chow)

沃特世科技(上海)有限公司

上海：上海市浦东新区张东路1387号41栋01室



北京：北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层



广州：广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

免费售后服务热线：800(400) 820 2676

 [www.waters.com](http://www.waters.com)

邮编：201203  +86 21 6156 2666  +86 21 6879 4588

邮编：100026  +86 10 5209 3866  +86 10 5293 2298

邮编：510170  +86 20 2829 6555  +86 20 2829 6556



泰信策略 (PMC)

020-83569288

[grace.chow@pmc.com.cn](mailto:grace.chow@pmc.com.cn)

#### 沃特世科技(上海)有限公司

上海: 上海市浦东新区张东路1387号41栋01室



北京: 北京市朝阳区铜牛国际大厦光华路15号院2号楼9层



广州: 广州市荔湾区中山七路50号西门口广场1707-08室

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676

 [www.waters.com](http://www.waters.com)

邮编: 201203  +86 21 6156 2666  +86 21 6879 4588

邮编: 100026  +86 10 5209 3866  +86 10 5293 2298

邮编: 510170  +86 20 2829 6555  +86 20 2829 6556