

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.06.016

改进的 QuEChERS-高效液相色谱法 测定水产品中 16 种多环芳烃*

郭萌萌^{1,2} 吴海燕^{1,2} 杨帆^{1,2,3} 谭志军^{1,2**} 李兆新^{1,2} 翟毓秀^{1,2}

(1. 农业部水产品质量安全检测与评价重点实验室, 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛, 266071;
2. 国家水产品质量监督检验中心, 青岛, 266071; 3. 大连海洋大学, 大连, 116023)

摘要 采用改进的 QuEChERS, 对水产样品进行提取、净化, 用高效液相色谱仪-荧光/紫外检测器串联检测, 建立了同时测定水产品中 16 种多环芳烃的高效液相色谱分析方法. 样品经乙腈提取, Florisil + C₁₈ 小柱净化, Waters PAH 色谱柱分离, 以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 外标法定量. 本方法中, 16 种多环芳烃在各自相应浓度范围内线性关系良好, 相关系数不低于 0.999, 检出限为 0.1—3.6 μg·kg⁻¹. 采用该方法在鲤鱼、对虾和牡蛎中进行加标回收实验, 回收率在 75.0%—118.2% 范围内, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.6%—13.7%. 应用本方法对环渤海湾的水产样品进行了调查分析, 发现部分样品中含有 PAHs, 含量为 2.11—147 μg·kg⁻¹, 为下一步开展相关风险评估工作打下了良好工作基础.

关键词 QuEChERS, 高效液相色谱, 多环芳烃, 水产品.

近年来, 国内外溢油事故频发, 导致石油成为海洋环境主要的污染来源之一, 带来了严重的生态安全和食品安全风险. 其中, 多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 作为石油中的主要污染成份, 在环境中不易分解, 属于典型的持久性有机污染物, 高脂溶性特性导致其易于在水生生物中富集, 且具有“三致”毒性 (致癌、致畸和致突变)^[1] 和内分泌干扰作用^[2], 对水生生物及人类健康已经形成了不可估量的潜在威胁. 另外, 水生生物富集的 PAHs 反映了所在环境中 PAHs 的污染情况, 是一种重要的环境评价指导性指标^[3-4], 成为世界范围内监控的热点.

目前, 水产品中多环芳烃的检测方法主要有液相色谱法^[5-8] 和气相色谱-质谱法^[9-12]. 气相色谱-质谱法由于存在样品分析温度较高和组分分离不尽理想的困难, 且仪器昂贵、维护成本高难以推广为常规分析方法, 而液相色谱适用于沸点较高组分的分析, 与二极管阵列和荧光检测器联用具有很高的选择性和灵敏度, 成为分析 PAHs 的理想方法. 但是, 由于 PAHs 的脂溶性特征, 如何对生物样品中的 PAHs 进行有效提取、净化和浓缩也是一个十分大的挑战. 传统方法多采用索氏提取、液液萃取, 再经过皂化反应去除样品中的脂肪或进行固相萃取而达到净化的目的^[5-9, 12-14], 但操作过程比较复杂, 无法满足常规监控中的时效性要求. 虽然新发展起来的快速溶剂萃取结合凝胶渗透色谱净化的方法^[15-16] 有较好的提取和净化效果, 但设备昂贵, 使用成本较高, 限制其推广应用. QuEChERS 作为 2003 年新提出的一种快速 (Quick)、简便 (Easy)、廉价 (Cheap)、有效 (Effective)、耐用 (Rugged)、安全 (Safe) 的残留检测前处理方法^[17], 虽然也存在净化效果不理想、提取效率低等缺点, 但该方法操作简单、快速、价格低廉, 适用面广, 成为现今检验方法的研究和应用热点.

因此, 本文在总结国内外方法的基础上, 改进 QuEChERS 方法中的提取和净化步骤, 用高速均质提取代替原 QuEChERS 方法中的振摇提取, 以 Florisil + C₁₈ 为混合萃取剂装填固相萃取小柱净化代替原方法中的 PSA 分散填料净化, 同时采用二极管阵列和荧光检测器联用进行检测, 使本方法不仅获得了良好的提取效率和净化效果, 还提高了方法的灵敏度和准确度. 利用所建立的方法分析了部分采自于环渤海湾的水产样品, 初步对“康菲”溢油事故后相应海域水产品中 PAHs 污染状况进行摸查, 为下一步开展隐患排查及风险评估工作打下了良好基础.

2012 年 10 月 12 日收稿.

* 国家自然科学基金 (41106109); 中央级基本科研业务费项目 (20603022012019, 20603022011004) 资助.

** 通讯联系人, Tel: 0532-85836348; E-mail: tanzj@ysfri.ac.cn

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),配 2996 二极管阵列紫外检测器和 2475 多波长荧光检测器;XW-80A 型旋涡混合器(上海医大仪器厂);Himac CR 22G II 型高速离心机(日本 Hitachi 公司);N-EVAPTM112 型氮气吹扫仪(美国 Organomation 公司);Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

16 种 PAHs 混合标准溶液:萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(a)蒽、蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、茚并(1, 2, 3-cd)芘、二苯并[a, h]蒽、苯并[g, h, i]芘,浓度均为 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (美国 Accustandard 公司);乙腈(HPLC 级, Merck 公司);无水硫酸镁(Adamas 试剂公司)、无水乙酸钠(Alfa Aesar 天津化学有限公司);佛罗里硅土(60—100 目,上海安谱科学仪器有限公司); C_{18} 吸附剂(70—230 目,上海安谱科学仪器有限公司);超纯水($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$)。

样品包括长牡蛎(*Crassostrea gigas*)、紫贻贝(*Mytilus edulis*)、脉红螺(*Rapana venosa*)和刺参(*Stichopus japonicus*),于 2012 年 4 月采自环渤海湾, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

1.2 样品处理

1.2.1 提取

称取 5.0 g 已搅碎混匀的组织样品于 50 mL 具塞离心管中,加入 10 mL 乙腈、6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 无水乙酸钠,高速均质 1 min, $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 2 min,移取上清液于 25 mL 玻璃试管中,残渣用 5 mL 乙腈重复提取一次,合并提取液,于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 氮气吹至约 5 mL,待净化。

1.2.2 净化

取内径约 1 cm 的砂芯玻璃层析柱,由下至上依次用 1 g 佛罗里硅土、1 g C_{18} 装填小柱,制成 Florisil/ C_{18} 小柱。小柱用 5 mL 乙腈预淋洗后上样,用 5 mL 乙腈洗脱,收集全部流出液于氮吹管中,氮吹至约 0.5 mL,乙腈定容至 1 mL,过 $0.2 \mu\text{m}$ 滤膜后,供高效液相色谱分析。

1.3 高效液相色谱条件

液相色谱条件:Waters PAH 色谱柱($4.6 \text{ mm}\times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$);柱温: $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$;流速: $1.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量: $20 \mu\text{L}$;流动相:A 为超纯水,B 为乙腈;洗脱梯度: $0\text{—}15.0 \text{ min}, 60\%\text{—}100\% \text{ B}$; $15.1\text{—}25.0 \text{ min}, 100\% \text{ B}$; $25.1\text{—}27.0 \text{ min}, 100\%\text{—}60\% \text{ B}$; $27.1\text{—}30.0 \text{ min}, 60\% \text{ B}$ 。

荧光检测器:采用程序定时控制荧光检测波长变化,具体参数见表 1。紫外检测器:检测波长 229 nm ,与荧光检测器串联使用。

表 1 PAHs 的荧光检测波长程序

Table 1 Fluorescence detection wavelength program of PAHs

t/min	$\lambda_{\text{Ex}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{Em}}/\text{nm}$	t/min	$\lambda_{\text{Ex}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{Em}}/\text{nm}$
0	275	325	13.6	320	380
8.8	252	370	15.5	270	390
10.2	250	390	18.2	290	410
12.1	280	460	22.6	305	480

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 流动相配比的优化

参考多环芳烃的色谱分析方法^[5-8],选择乙腈-水为流动相体系,以混合标准溶液为试样,调节流动相配比,对样品组分保留时间与目标峰的分离进行优化,结果发现流动相体系均以较大比例(60% 或 70%)的乙腈进行等度淋洗时,低分子量的 PAHs 分离较好,而高分子量的 PAHs 保留时间长且峰形差,

故本方法采用梯度洗脱.经多次实验,确定了如“1.3”所示的流动相洗脱程序并获得了较好的分离效果和色谱峰形.

2.1.2 检测波长的优化

通过实验发现,16 种 PAHs 在紫外检测器上均有响应,除萘烯的荧光反应较弱外,其它 15 种目标组分的荧光检测与紫外检测具有相似的分离、分析行为,但荧光检测的灵敏度远高于紫外检测 3—4 个数量级,可显著降低方法的检出限.本方法针对这 15 种 PAHs,根据不同组分的出峰时间优化各组分的激发波长和发射波长,编制波长变换程序(见表 1),实现了 15 种 PAHs 的高灵敏度检测.同时选择紫外法对萘烯进行测定^[18],实验中用二极管阵列紫外检测器进行紫外光谱全扫描,确定萘烯紫外吸收最佳波长为 229 nm 并作为其检测波长.最终采用荧光检测器和二极管阵列紫外检测器串联,使 16 种目标组分均能实现高灵敏定量分析(图 1),同时双检测器的应用有助于排除干扰,获得较好的选择性.

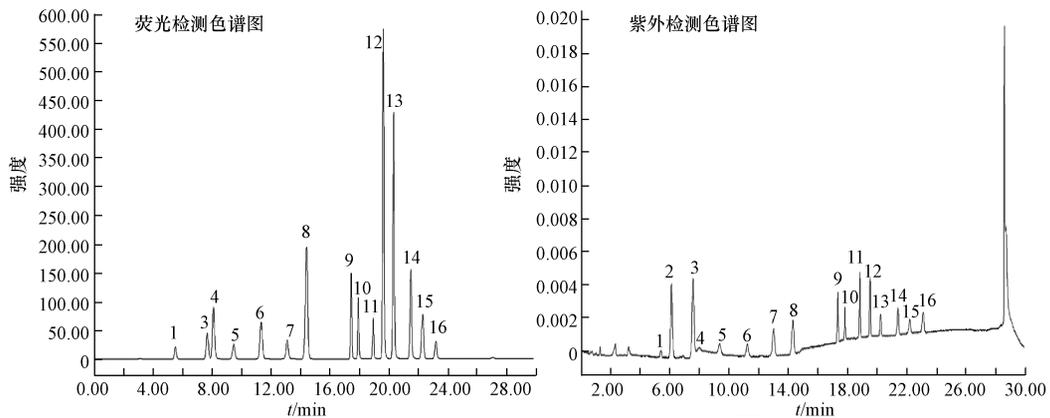


图 1 16 种 PAHs 分析色谱图($100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

1. 萘; 2. 萘烯; 3. 苊; 4. 芴; 5. 菲; 6. 蒽; 7. 荧蒽; 8. 䓛; 9. 苯并(a)蒽; 10. 䓑; 11. 苯并(b)荧蒽; 12. 苯并(k)荧蒽; 13. 苯并(a)䓛; 14. 二苯并[a,h]蒽; 15. 苯并[g,h,i]䓑; 16. 茚并[1,2,3-cd]䓑

Fig. 1 The chromatogram of 16 PAHs ($100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

2.2 样品前处理方法的研究

2.2.1 提取方法的选择

样品中 PAHs 的提取方法主要有索氏提取法、超声波提取法和加速溶剂萃取法等,这些方法大都存在步骤繁琐、耗时、试剂消耗量大和检测成本高的缺点.相比以上方法,近几年发展起来的 QuEChERS 前处理方法具有操作简单、快速、经济的优势,该方法包括基于分配机理的样品提取和加入吸附剂的分散固相萃取净化两个步骤.本实验参考文献[19]所用方法,将 QuEChERS 技术用于水产品中 PAHs 的提取,通过乙腈沉降蛋白,无水乙酸钠和无水硫酸镁进行盐析脱水,并用高速均质代替原方法中的振摇提取,保证了样品与提取试剂的充分接触,仅需 10 min 即获得了良好的提取效果(样品中添加 $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 PAHs,16 种目标组分的回收率均达 90% 以上),与文献中 80% 以上的回收率相比,本方法的回收率较高.

2.2.2 净化方法的选择

脂类物质是生物基质中污染物分析的主要干扰因素,脂类影响色谱柱固定相的活性位点并降低其分辨率,因此本方法拟在文献[19]的基础上增加有效的净化除脂步骤,以利于提高方法的灵敏度和延长色谱柱的使用寿命.关于 PAHs 分析的文献中常采用皂化反应去除样品中的脂肪,操作复杂,耗时耗试剂;凝胶渗透色谱法有较好的净化效果,但所需设备成本较高,应用不广泛;QuEChERS 方法中在有机试剂的提取液中加入 PSA 分散填料净化,简单快速,将该法直接用于水产品中 PAHs 的净化,净化后的样品中仍明显存在脂肪,且目标组分回收率偏低. Pensado 等^[20]曾考察 Florisil 和 C_{18} 的混合萃取剂对脂肪的提取效果并得出 Florisil/ C_{18} 能有效去除脂肪的结论,本方法参考此文献拟选取 Florisil/ C_{18} (质量比 1:1) 为混合萃取剂代替 PSA 进行分散固相萃取净化.

然而,实验发现采用 Florisil/ C_{18} (1:1) 的分散固相萃取净化方式却无法确保理想的回收率,而依次

用 1 g Florisil、1 g C₁₈ 装填双层小柱进行固相萃取净化, 并采用与提取溶剂一致的单一溶剂乙腈洗脱, 不仅简化了操作程序, 同时获得了较好的回收效果, 目标组分的最低回收率由原来的 70% 左右提升到 85% 以上. 图 2 为 Florisil/C₁₈ 双层固相萃取柱和文献中常用的硅胶净化小柱^[7,12] 对样品溶液中杂质的不同萃取效果, 说明本研究所用的净化方法, 可有效去除样品中的脂肪、色素等内源性杂质.

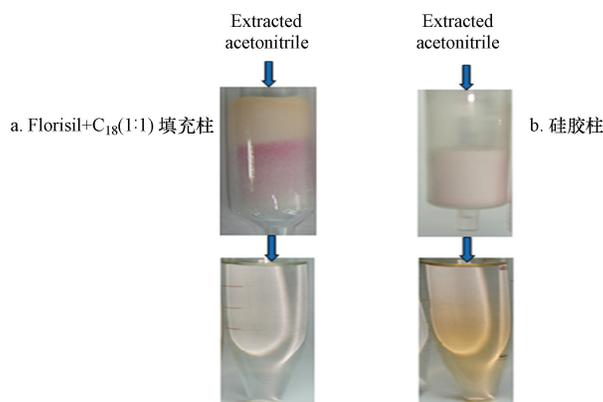


图 2 两种不同固相萃取柱的净化效果

a. Florisil + C₁₈ (1:1) 填充柱; b. 硅胶柱

Fig. 2 Purification efficiency of two different SPEs

2.3 线性范围和检出限

取适量的 PAHs 混合标准溶液, 配制成一系列浓度梯度的标准溶液, 在“1.3”条件下依次测定, 以各组分的面积比 (Y) 为纵坐标, 各组分的浓度 (X) 为横坐标进行线性回归分析. 在空白样品中添加一定浓度的标准溶液, 以信噪比 (S/N) ≥ 3 确定各组分的检出限 (LOD), 结果见表 2. 由表 2 可见, 16 种 PAHs 的线性良好, 灵敏度较高, 说明本方法适用于 PAHs 的定量分析.

表 2 16 种 PAHs 的线性范围、线性方程、相关系数和检出限

Table 2 The linear range, linear equation, correlation coefficient and determination limits of 16 PAHs

PAHs	线性范围/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	线性方程	相关系数	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
萘	1—1000	$Y = 2.00 \times 10^4 X + 1.65 \times 10^3$	0.9991	0.36
萘烯	5—1000	$Y = 3.73 \times 10^2 X + 4.26 \times 10^2$	0.9999	3.60
萘	1—1000	$Y = 5.05 \times 10^4 X + 1.89 \times 10^4$	0.9992	0.88
芴	0.5—1000	$Y = 1.06 \times 10^5 X + 1.62 \times 10^4$	0.9997	0.36
菲	1—1000	$Y = 3.22 \times 10^4 X + 5.63 \times 10^3$	0.9999	0.92
蒽	0.5—1000	$Y = 8.56 \times 10^4 X + 2.36 \times 10^4$	0.9999	0.84
荧蒽	1—1000	$Y = 4.22 \times 10^4 X + 1.18 \times 10^5$	0.9993	0.76
芘	0.2—1000	$Y = 2.22 \times 10^5 X + 5.03 \times 10^4$	0.9999	0.12
苯并(a)蒽	0.2—1000	$Y = 1.00 \times 10^5 X + 7.53 \times 10^4$	0.9995	0.24
蒾	0.5—1000	$Y = 6.72 \times 10^4 X + 1.21 \times 10^5$	0.9999	0.28
苯并(b)荧蒽	0.5—1000	$Y = 4.47 \times 10^4 X + 1.87 \times 10^5$	0.9996	0.36
苯并(k)荧蒽	0.1—1000	$Y = 3.97 \times 10^5 X + 1.61 \times 10^5$	0.9999	0.10
苯并(a)芘	0.1—1000	$Y = 3.30 \times 10^5 X + 1.14 \times 10^5$	0.9999	0.10
二苯并[a,h]蒽	0.2—1000	$Y = 1.34 \times 10^5 X + 3.58 \times 10^4$	0.9993	0.36
苯并[g,h,i]芘	0.5—1000	$Y = 7.50 \times 10^4 X + 1.69 \times 10^4$	0.9999	0.60
茚并(1,2,3-cd)	1—1000	$Y = 3.31 \times 10^4 X + 1.61 \times 10^3$	0.9999	1.96

2.4 准确度和精密度

选取鲤鱼、对虾和扇贝为测试基质, 分别添加相当于 $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度的 PAHs 混合标准溶液, 按本方法进行检测, 每个浓度做 6 个平行样品. 同时做空白实验, 均扣除本底值后计算加标回收

率和相对标准偏差.结果显示,PAHs 在鲤鱼中的加标回收率在 80.5%—102.3% 之间,相对标准偏差为 2.6%—11.8%;PAHs 在对虾中的加标回收率在 75.0%—99.1% 之间,相对标准偏差为 5.3%—13.7%;PAHs 在扇贝中的加标回收率在 79.4%—118.2% 之间,相对标准偏差为 3.9%—10.2%.方法的准确度与精密度能满足水产品中污染物的分析要求.

采用本方法对长牡蛎、紫贻贝、脉红螺和刺参的实际阳性样品进行验证,结果表明,本方法与采用水产行业标准 SC/T 3042—2008 的测定结果较为一致,结果见表 3.

表 3 方法的结果对比

Table 3 Comparison of the results from two analysis methods

样品名称	污染组分	SC/T3042—2008 测定结果/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	本方法测定结果/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
长牡蛎	萘、芴、菲、荧蒹、二苯并[a,h]蒽	17.3,0.57,5.3,1.91,2.27	18.2,0.50,5.88,1.75,2.51
紫贻贝	萘、菲、荧蒹	15.7,8.12,8.23	16.3,8.30,8.01
脉红螺	萘、芴	24.5,1.77	23.6,1.58
刺参	萘、芘	1.93,8.95	1.82,9.10

2.5 水产样品的污染状况调查

应用本方法对 2012 年 4 月份采自于环渤海湾的 49 个水产样品(19 个长牡蛎样品、9 个紫贻贝样品、11 个脉红螺样品、10 个刺参样品)进行分析,发现部分样品中存在 PAHs 污染,总量为 2.11—147 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其中二环、三环的 PAHs 检出率与含量较高,且牡蛎样品污染较为严重(见表 4).分析结果表明,本方法适用于实际样品的测定,且方法的应用为下一步多环芳烃的隐患排查和风险分析打下了良好基础.

表 4 阳性样品中 PAHs 检出率及其含量($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)Table 4 Content of PAHs in some polluted samples($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

PAHs	长牡蛎		紫贻贝		脉红螺		刺参	
	检出率	含量	检出率	含量	检出率	含量	检出率	含量
萘	14/19	5.88—26.1	5/9	16.3—50.6	9/11	1.49—37.1	6/10	1.75—24.1
芘	0/19	—	0/9	—	0/11	—	0/10	—
芘	2/19	0.90—14.8	0/9	—	0/11	—	3/10	9.10—14.3
芴	12/19	0.50—8.71	3/9	0.40—1.22	4/11	0.65—2.65	4/10	0.87—6.30
菲	10/19	1.84—29.4	5/9	2.99—22.7	0/11	—	0/10	—
蒽	4/19	2.14—4.30	0/9	—	0/11	—	1/10	7.34
荧蒽	10/19	1.75—29.5	3/9	0.98—8.05	0/11	—	0/10	—
芘	6/19	3.65—28.3	1/9	0.84	0/11	—	0/10	—
苯并(a)蒽	6/19	0.93—2.83	0/9	—	0/11	—	0/10	—
蒽	7/19	2.81—8.94	0/9	—	0/11	—	0/10	—
苯并(b)荧蒽	2/19	10.6—28.3	0/9	—	0/11	—	0/10	—
苯并(k)荧蒽	9/19	0.21—1.40	0/9	—	1/1	12.75	0/10	—
苯并(a)芘	0/19	—	0/9	—	1/1	11.32	0/10	—
二苯并[a,h]蒽	2/19	2.18—2.51	0/9	—	0/11	—	0/10	—
苯并[g,h,i]芘	0/19	—	0/9	—	0/11	—	0/10	—
茚并[1,2,3-cd]	0/19	—	0/9	—	0/11	—	0/10	—

注:“—”表示未检出.

3 结论

本文用一种改进的 QuEChERS 样品前处理方法,结合高效液相色谱-荧光/紫外检测器串联检测技术,建立了水产品中 16 种 PAHs 的同时测定方法.双检测器的应用和检测波长的优化提高了目标组分的灵敏度;改进的 QuEChERS 步骤获得良好提取效率和净化效果的同时提高了目标组分的回收率.该方

法简便易行,准确灵敏,可满足国内外 PAHs 限量标准的政策要求,适用于水产品中多环芳烃的分析测定.利用所建立的方法,对采自环渤海湾的水产样品进行了初步的监控和分析,结果发现部分样品中含有 PAHs,这不仅验证了本方法的有效性,而且为下一步多环芳烃的隐患排查和风险分析打下了良好基础.

参 考 文 献

- [1] Xue W, Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 206(1): 73-93
- [2] Joseph S. Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: Relationship to carcinogenicity[J]. *Chemosphere*, 1997, 34(4): 835-848
- [3] Anyakora C, Ogbecbe A, Palmer P, et al. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in marine samples of Siokolo Fishing Settlement[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1073(1/2): 323-330
- [4] Law R J, Kelly C, Baker K. Toxic equivalency factors for PAH and their applicability in shellfish[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002, 4(3): 383-388
- [5] 吴雪美, 张虹, 戴志远, 等. 高效液相色谱法分析食品中多环芳香类物质(PAHs)[J]. *中国粮油学报*, 2008, 23(3): 383-388
- [6] Binelli A, Provini A. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2003, 46(7): 879-886
- [7] Serpe F P, Esposito M, Gallo P, et al. Optimisation and validation of an HPLC method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in mussels[J]. *Food Chemistry*, 2010, 122(3): 920-925
- [8] Zhang H, Xue M, Dai Z Y. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by HPLC-fluorescence[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2010, 23(5): 469-474
- [9] 降升平, 马若欣, 刘文岭, 等. 近海海洋生物体中多环芳烃的 GC-MS 分析[J]. *天津科技大学学报*, 2010, 25(4): 25-28
- [10] 尹怡, 郑光明, 朱新平, 等. 分散固相萃取/气相色谱-质谱联用法快速测定鱼、虾中的 16 种多环芳烃[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(10): 1107-1112
- [11] 汤桦, 陈大舟, 吴雪, 等. 同位素稀释高分辨质谱法测定鱼组织中 6 种多环芳烃[J]. *质谱学报*, 2010, 31(4): 208-213
- [12] SC/T 3042—2008. 水产品中 16 种多环芳烃的测定 气相色谱-质谱法. 中华人民共和国水产行业标准
- [13] Koyama J, Uno S, Kohno K. Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination and recovery characteristics in some organisms after the *Nakhodka* oil spill[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49(11/12): 1054-1061
- [14] 芮旭, 李康, 李炜, 等. 气相色谱-质谱法测定烤鱼片中 16 种多环芳烃[J]. *质谱学报*, 2008, 29(1): 30-35
- [15] Liguori L, Heggstad K, Hove H T. An automated extraction approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons(PAHs) from various marine matrixes[J]. *Analytic Chimica Acta*, 2006, 573-574: 181-188
- [16] Djinojic J, Popovic A, Jira W. Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia[J]. *Meat Science*, 2008, 80(2): 449-456
- [17] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. *Journal of AOAC International*, 2003, 86(2): 412-431
- [18] 张茜, 刘潇威, 罗铭, 等. 快速溶剂(ASE)提取、凝胶渗透色谱(GPC)固相萃取(SPE)净化, 高效液相色谱法测定土壤中的多环芳烃[J]. *环境化学*, 2011, 30(4): 771-777
- [19] Ramalhosa M J, Paiga P, Morais S, et al. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method[J]. *Journal of Separation Science*, 2009, 32(20): 3529-3538
- [20] Pensado L, Casais M C, Mejuto M C, et al. Application of matrix solid-phase dispersion in the analysis of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in fish samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1077(2): 103-109

Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in fishery products by improved QuEChERS-high performance liquid chromatography

GUO Mengmeng^{1,2} WU Haiyan^{1,2} YANG Fan^{1,2,3} TAN Zhijun^{1,2,*}
LI Zhaoxin^{1,2} ZHAI Yuxiu^{1,2}

- (1. Key Laboratory of Testing and Evaluation for Aquatic Product Safety and Quality, Ministry of Agriculture, China; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071, China;
2. National Center for Quality Supervision and Test of Aquatic Products, Qingdao, 266071, China;
3. Dalian Ocean University, Dalian, 116023, China)

ABSTRACT

A method was developed for the simultaneous determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery products by improved QuEChERS and high performance liquid chromatography with fluorescence and ultraviolet detection. After extraction with acetonitrile, the extract was purified by a Florisil + C₁₈ column, then separated by HPLC on Waters PAH column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) by gradient elution using a mixture of acetonitrile and water as mobile phase. The external standard method was used to determine the content of 16 PAHs. The calibration curves were linear with correlation coefficients over 0.999. The limits of detection ranged from 0.1 μg · kg⁻¹ to 3.6 μg · kg⁻¹. The average spiked recoveries for 16 PAHs were between 75.0% and 118.2%, with relative standard derivations (RSDs) from 2.6% to 13.7%. The PAHs in some fishery products from circum-bohai sea region were found to be present at levels ranging from 2.11 μg · kg⁻¹ to 147 μg · kg⁻¹.

Keywords: QuEChERS, high performance liquid chromatography (HPLC), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), fishery products.