

低温恒能量同步荧光法同时快速检测食品中多种多环芳烃

张伟¹, 周娜¹, 李呐¹, 谢永生¹, 骆和东², 李耀群^{1*}

1. 厦门大学化学化工学院, 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005
2. 厦门市疾病预防控制中心, 福建 厦门 361021

摘要 恒能量同步荧光法应用于多环芳烃的检测可以提高选择性, 低温可使谱带呈指纹特征, 提供常温光谱无法获得的光谱细节信息, 有助于实现对复杂基体中多环芳烃的检测。文章结合恒能量同步荧光扫描技术与斯波斯基低温技术, 建立了食品中多种多环芳烃的低温恒能量同步荧光同时快速分析方法。对低油脂样品直接用正辛烷浸泡, 高油脂样品也只需要增加皂化萃取, 即可进行光谱扫描来检测食品样中的多种多环芳烃。对两种类型的实际样进行加标回收实验, 回收率为 80.2%~98.9%, 定量工作曲线线性较好($r=0.9938$)。该方法选择性好、操作简便快捷、费用低廉。

关键词 食品; 低温恒能量同步荧光法; 多环芳烃

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)10-2806-04

引言

多环芳烃(PAHs)是一类重要的环境污染物, 其中很多具有强致基因突变性和致癌性^[1,2]。由于食品受到环境污染, 致使 PAHs 在食品中存在, 同时加工过程中也会产生 PAHs。长期食用含有 PAHs 的食品会对健康产生潜在威胁。目前, 对食品中含有的多环芳烃(衍生物)的分析方法较多, 如气相色谱-质谱联用技术(GC/MS)^[3-5]、高效液相色谱分离与荧光检测联用(HPLC-FL)^[6-10]等。这些方法虽有较强的分离分析的能力, 但对于复杂的食品样品, 由于组分间或基体的干扰, 常需加以预分离, 而色谱分离不仅费用昂贵, 同时操作也复杂和费时, 且由于载体的稀释作用, 也相对降低了灵敏度。

恒能量同步荧光法对于多环芳烃的鉴别和测定特别有利, 它在克服拉曼光、提高检测灵敏度和选择性方面均有显著效果, 具有其他同步荧光法所没有的独特优点^[11]。该法是在激发和发射波长的同时扫描过程中, 保持两者一恒定的能量差 λ 关系, 由于所选择的 λ 是一类化合物而不仅仅是某个组分的特征, 使用一个能量差值就能实现同时检测同一类化合物中的多种物质^[12], 而在恒波长同步荧光光谱法中则需几个 λ 分别扫描。低温效应可使光谱谱带变窄, 有利于物质选择性的测定, 但谱带分裂, 峰数增加, 复杂体系的光谱

峰更加复杂。联用技术则能够充分结合低温技术和恒能量同步扫描技术两者的优点, 大大简化低温下物质的光谱, 谱峰数下降, 光谱区域缩小, 可获取更多的光谱特征信息, 进一步提高实际测定中的灵敏度和选择性, 为多组分的同时分析提供了可能^[13]。本文采用最易实现的低温斯波斯基低温技术结合恒能量同步荧光法建立了食品中多种多环芳烃的同时快速分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

自制多功能荧光分光光度计^[14]。常温单色仪光谱带宽为 5 nm, 低温为 2.5 nm。常温光谱检测使用 1 cm × 1 cm 石英液池, 低温则采用低温装置(俄国 LUMEX 公司)通过光纤与荧光光谱仪连接。氙灯功率为 150 W, 控制荧光仪的软件用 C 语言编写。

芘(Ace, 99%, Sigma), 1,2-苯并蒽(1,2-BA, 99%, Aldrich), 苯并(a)芘(BaP, 97%, Sigma), (Pery, 99%, Aldrich), 3,4,8,9-二苯并(a)芘(DBP, 99%, Sigma)和 2,3-苯并蒽(2,3-BA, 99%, Sigma), 氢氧化钾(分析纯), 甲醇(分析纯), 二氯甲烷(分析纯), 正己烷(分析纯), 正辛烷(化学纯), 均购自上海试剂厂, 正辛烷重蒸后使用。

1.2 样品处理及测定

收稿日期: 2008-05-16, 修订日期: 2008-08-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(20575055), 福建省科技计划项目(2005 YZ1019)和厦门市科技计划项目(3502Z2004071)资助

作者简介: 张伟, 女, 1982年生, 厦门大学化学化工学院研究生 e-mail: zw2003.4@tom.com

*通讯联系人 e-mail: yqlig@xmu.edu.cn

低脂肪食品：样品搅碎后准确称取 2 g，用滤纸包裹放入装有 10 mL 正辛烷的血清瓶中浸泡 12 h，浸泡液直接用于常温及低温恒能量同步荧光光谱测定。

高脂肪食品：样品搅碎后准确称取 5 g，置于 50 mL 比色管中，加 20 mL KOH(1mol · L⁻¹)的甲醇溶液，于 70~80 恒温水浴中皂化 4 h，冷却至室温，将液体和样品一并转移到 100 mL 血清瓶中，加 30 mL 蒸馏水冲洗保证完全转移，在皂化液中加入 20 mL 正己烷，超声萃取 20 min，离心 10 min，取出上层清液，重复上述操作 1 次。将两次萃取清液合并，旋转蒸发至干，正辛烷定容至 2 mL，于常温和低温进行恒能量同步荧光光谱分析。

低温与常温恒能量同步荧光光谱法的测定条件：扫描速率 240 nm · min⁻¹；恒能量差： $\bar{m} = 1\ 400\ \text{cm}^{-1}$ ；负高压： $-700\ \text{V}$ 。

2 结果与讨论

2.1 常温和低温谱图的比较

图 1 为同一份加标烤猪肉串在常温和低温下的恒能量同步荧光光谱。从图中可明显看出，低温下各加标组分的光谱峰大幅度窄化，1,2-BA 尤为显著，光谱分辨力大为提高，由此可降低该出峰波长附近其他组分或基体的干扰。例如低温下，Pery 与 DBP 的恒能量同步荧光光谱的叠加程度较常温明显减小，有利于这两种组分的同时鉴别。

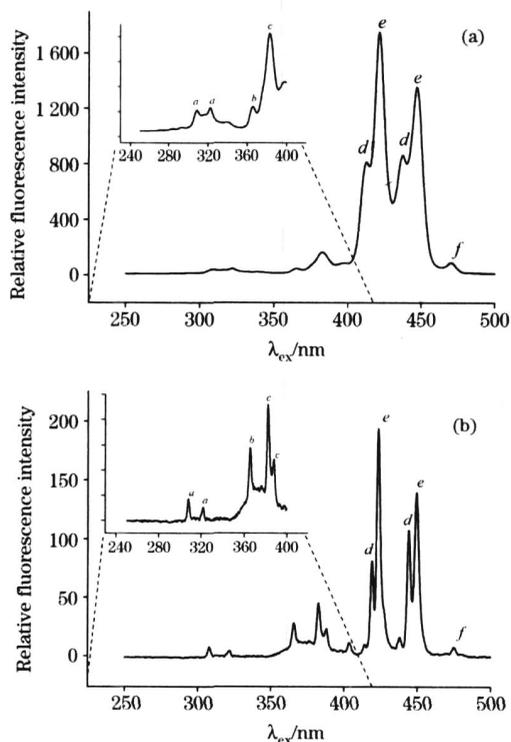


Fig 1 Constant-energy synchronous fluorescence spectra of the grilled pig bunch samples at room temperature (a) and low temperature (b)

a: Ace; b: 1,2-BA; c: BaP;
d: Pery; e: DBP; f: 2,3-BA

2.2 定性与定量分析

实验所用的样品中多环芳烃较少，对加标猪肉干按低脂肪食品处理，加标烤猪肉串按高脂肪食品处理后，扫描其低温恒能量同步荧光光谱。从图 2 中可以看出，添加了多环芳烃的食品样品的低温恒能量同步荧光光谱(图 2 实线)，与多环芳烃混合标样的光谱(图 2 虚线)相比，各多环芳烃组分都有各自的特征峰出现，而且能和标准混合样中的各物质一一对应，可用于定性鉴别。

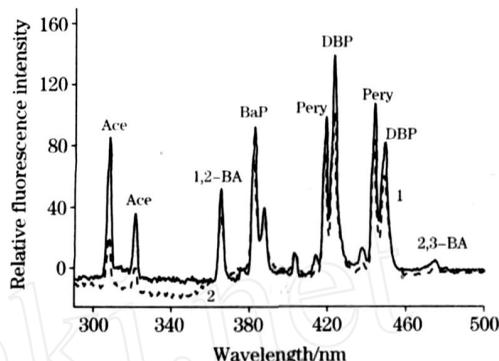


Fig 2 Low temperature constant-energy synchronous fluorescence spectra of the grilled pig bunch samples and the standards mixture

1: Bunch s; 2: Mixture

在低脂肪食品中虽然 Pery 和 DBP 在低温恒能量同步扫描中得到了很好的分辨(这两种物质在常温下重叠严重，无法区分)，但还是稍有一点重叠，所得工作曲线和回收率不大理想，故只能对 Ace, 1,2-BA, BaP 进行定量分析，所得结果列于表 1。

在高脂肪样品中加入的六种多环芳烃中，Ace 是小分子多环芳烃，沸点较低，在皂化及旋转蒸发溶剂的过程中损失较大，回收率偏低；2,3-BA 在该实验条件下荧光强度很低，难以实现其定量测定；Pery 和 DBP 还是有一定程度的重叠，得到的 DBP 工作曲线和回收率不大理想。因此高脂肪样品的定量分析目前仅限于 1,2-BA, BaP 和 Pery 三种多环芳烃，结果列于表 2。

Table 1 Quantitative analysis results of the PAHs in foods with lowfat

PAHs	Linear range / (ng · mL ⁻¹)	y = a + bx				LOD / (ng · mL ⁻¹)
		a	b	r	SD	
Ace	30 ~ 600	0.124	0.051	0.996 9	0.72	24.4
1,2-BA	50 ~ 700	0.96	0.096	0.997 5	1.25	33.0
BaP	20 ~ 600	2.78	1.75	0.997 6	2.21	6.5

Table 2 Quantitative analysis results of the PAHs

PAHs	Linear range / (ng · mL ⁻¹)	y = a + bx				LOD / (ng · mL ⁻¹)
		a	b	r	SD	
1,2-BA	50 ~ 800	3.16	0.087	0.999 1	1.26	25.6
BaP	10 ~ 700	6.36	0.840	0.996 9	22.2	5.70
Pery	20 ~ 600	54.7	1.98	0.993 8	1.25	12.3

2.3 回收率实验

为检验方法的有效性, 考察了不同浓度比的 Ace, 1,2-

Ba, BaP 在猪肉干中和不同浓度比的 1,2-BA, BaP 和 Pery 在烤猪肉串中的加标回收率, 结果(表 3, 表 4)比较理想。

Table 3 Recovery of the dried pig sample

Samples	Amount added/ (ng · mL ⁻¹)			Amount found/ (ng · mL ⁻¹)			Recoveries/ %		
	Ace	1,2-BA	BaP	Ace	1,2-BA	BaP	Ace	1,2-BA	BaP
1	60.0	40.0	30.0	48.7	31.0	24.9	81.2	77.5	83.0
2	50.0	50.0	30.0	38.4	38.0	27.1	76.8	76.0	90.3
3	30.0	30.0	40.0	24.9	24.9	36.2	83.0	83.3	90.5
4	40.0	20.0	50.0	33.5	16.8	41.8	83.7	84.0	83.6
						Mean	81.2	80.2	86.9
						Standard deviation	3.10	4.04	4.11

Table 4 Recovery of the grilled pig bunch sample

Samples	Amount added/ (ng · mL ⁻¹)			Amount found/ (ng · mL ⁻¹)			Recoveries/ %		
	1,2-BA	BaP	Pery	1,2-BA	BaP	Pery	1,2-BA	BaP	Pery
1	700	20.0	50.0	679	20.3	43.6	97.0	101.5	87.2
2	500	80	100	433	71.3	115	86.6	89.1	115.0
3	400	200	200	406	182	180	101.5	91.0	90.0
4	300	400	300	274	412	266	91.3	103.0	88.7
5	100	600	400	118	550	348	118.0	92.0	87.0
						Mean	98.9	95.4	93.6
						Standard deviation	12.1	6.43	12.0

3 结 论

本文采用低温恒能量同步荧光光谱技术, 建立了食品中

多种多环芳烃含量的检测方法。在整个分析过程中, 前处理简单、快速, 仪器费用低廉, 方法选择性好, 已应用于实际食品样品中多环芳烃的加标回收测定, 结果令人满意。

参 考 文 献

- [1] CHENG Yuan-kai(程元恺). Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 1st Ed. (致癌性多环芳烃, 第1版). Beijing: People's Medical Publishing House(北京: 人民卫生出版社), 1980.
- [2] Edenharter R, Frangart J, Hager M. Food and Chemical Toxicology, 1998, 36: 637.
- [3] Md Y A, Richard B C. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(9): 4192.
- [4] Guillen M D, Sopelana P, Partearroyo M A. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48: 126.
- [5] Stolyhwo A, Sikorski Z E. Food Chemistry, 2005, 91: 303.
- [6] Stijn F V, Kerkhoff M A T, Vandeginste B G M. Journal of Chromatography A, 1996, 750(1-2): 263.
- [7] Chen B H, Wang C Y, Chiu C P. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44: 2244.
- [8] Kishikawa N, Wada M, Kuroda N, et al Akiyama S, Nakashima K. Journal of Chromatography B, 2003, 789: 257.
- [9] Moret S, Conte L S, Dean D. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 1367.
- [10] Aygun S F, Kabadayi F. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2005, 56: 581.
- [11] Eiroa A A, Blanco E V, Mahia P L, et al. Talanta, 2000, 51: 677.
- [12] Inman E L, Winefordner J D. Analytica Chimica Acta, 1982, 141: 241.
- [13] HE Li-fang, LIN Dan-li, LI Yao-qun(何立芳, 林丹丽, 李耀群). Progress in Chemistry(化学进展), 2004, 16(6): 879.
- [14] Lin Danli, He Lifang, Li Yaoqun. Clinical Chemistry, 2004, 50(10): 1797.

Simultaneous Determination of PAHs in Food by Low Temperature Constant-Energy Synchronous Fluorescence Spectrometry

ZHANG Wei¹, ZHOU Na¹, LI Na¹, XIE Yong-sheng¹, LUO He-dong², LI Yao-qun^{1*}

1. Department of Chemistry and The Key Laboratory of Analytical Sciences of the Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China

2. Xiamen Center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361021, China

Abstract The authors developed a rapid analytical method that could determine the PAHs in food samples simultaneously by the coupled approach of Shpol'skii spectroscopy and constant-energy synchronous fluorescence scanning technique. Low-fat food samples, which were just extracted with octane and high-fat food samples pre-processed with saponification and extracting, could be analyzed immediately. The recoveries ranged from 80.2% to 98.9% and the correlation coefficients of the linearity were higher than 0.9938. This method was selective, simple, rapid and inexpensive.

Keywords Food; Low-temperature constant-energy synchronous fluorescence spectrometry; PAHs

(Received May 16, 2008; accepted Aug. 18, 2008)

* Corresponding author