

张丽, 刘腾飞, 陆皓茜, 等. 茶鲜叶中多环芳烃液相色谱检测方法的构建及应用[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(4): 826-834.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.04.019

茶鲜叶中多环芳烃液相色谱检测方法的构建及应用

张丽¹, 刘腾飞^{2,3}, 陆皓茜², 陆丽华⁴, 杨代凤², 朱莹莹¹, 李德佳¹

(1. 苏州职业技术大学药食同源大健康创新联合体, 江苏 苏州 215104; 2. 江苏太湖地区农业科学研究所, 江苏 苏州 215106;
3. 南京农业大学食品科学技术学院, 江苏 南京 210095; 4. 苏州市吴中区金庭镇农林服务站, 江苏 苏州 215156)

摘要: 为了观察茶鲜叶中的多环芳烃(PAH)变化, 用超声提取-固相萃取法对 PAH 进行分离净化, 并对不同提取、净化条件下的 PAH 回收率, 得到最佳前处理方案, 建立基于高效液相色谱(HPLC)的茶鲜叶中 PAH 的检测方法。结果显示, 茶鲜叶中 PAH 的最优前处理、液相色谱检测条件如下: 取 3.0 g 样品, 以 15 mL 丙酮-正己烷(体积比 1:1)作为提取剂进行超声提取, 首先将提取液过弗罗里硅土、N-丙基乙二胺双填料固相萃取柱进行净化, 然后用 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)进行淋洗, 再用 Agilent ZORBAX Eclipse PAH 色谱柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm)进行分离。以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 流速为 2.0 mL/min, 用 HPLC-荧光检测器检测, 用溶剂外标法进行定量分析。结果表明, 15 种 PAH 在 0.005~0.500 mg/L 质量浓度范围内的线性关系良好, 相关系数(*r*)均不低于 0.999 9, 平均回收率为 72.6%~115.1%, 相对标准偏差(*n*=6)为 1.0%~16.5%, 检出限为 0.000 2~0.003 0 mg/kg, 定量限均为 0.005 mg/kg。将本研究应用于碧螺春茶鲜叶中 PAH 的测定分析, 研究结果显示, 样品中 PAH 的含量为 6.55~122.67 μg/kg, 平均含量为 56.75 μg/kg, 并以 3 环、4 环 PAH 为主, 其中芴的检出率(96%)、平均含量(27.82 μg/kg)均最高。由研究结果看出, 本研究方法的准确度、精密度和灵敏度良好, 可为开展茶鲜叶中 PAH 的相关研究提供重要技术支持。

关键词: 碧螺春; 茶鲜叶; 多环芳烃; 高效液相色谱

中图分类号: S571.101 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)04-0826-09

Establishment and application of a liquid chromatography method for detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh tea leaves

ZHANG Li¹, LIU Tengfei^{2,3}, LU Haoqian², LU Lihua⁴, YANG Daifeng², ZHU Yingying¹, LI Dejia¹

(1. Food & Medicine Homology Big Health Innovation Consortium, Suzhou Polytechnic University, Suzhou 215104, China; 2. Jiangsu Taihu Area Institute of Agricultural Sciences, Suzhou 215106, China; 3. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 4. Suzhou Wuzhong Jintong Town Agriculture and Forestry Service Station, Suzhou 215156, China)

Abstract: To monitor changes of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fresh tea leaves, PAHs were separated and purified by ultrasonic extraction-solid phase extraction (UE-SPE). By comparing the recovery rates of PAHs under

收稿日期: 2025-06-10

基金项目: 江苏高校“青蓝工程”优秀青年骨干教师培养项目(2024); 江苏省职业院校学生创新创业培育计划项目(GX-2024-0660); 国家重点研发计划项目(2024YFF1105705); 苏州职业技术大学药食同源大健康创新联合体项目(KY2025PT09)

作者简介: 张丽(1986-), 女, 山西灵石人, 博士, 副教授, 主要从事农产品质量安全研究。(E-mail) zhangli_szd@163.com

通讯作者: 刘腾飞, (E-mail) liutengfei@jaas.ac.cn

different extraction and purification conditions, the optimal pretreatment protocol was obtained, and a method for the determination of PAHs in fresh tea leaves based on high performance liquid chromatography (HPLC) was established. The optimal pretreatment and liquid chromatography detection conditions for PAHs in fresh tea leaves were determined as follows: 3.0 g of sample was extracted ultrasonically with 15 mL of acetone-n-hexane (1 to 1, v/v) as the extraction solvent. The extract was first purified through

a dual-sorbent SPE column packed with Florisil and *N*-propylethylenediamine (PSA), then eluted with 10 mL of *n*-hexane-dichloromethane (3 to 7, *v/v*). Separation was performed on an Agilent ZORBAX Eclipse PAH column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) using gradient elution with acetonitrile-water as the mobile phase at a flow rate of 2.0 mL/min. Detection was carried out by HPLC with a fluorescence detector (HPLC-FLD), and quantification was performed using the external standard method. The results showed that good linearity was observed for the 15 PAHs in the concentration range of 0.005–0.500 mg/L, with correlation coefficients (*r*) greater than 0.999 9. The average spiked recoveries ranged from 72.6% to 115.1%, with relative standard deviations (*RSDs*, *n*=6) of 1.0%–16.5%. The limits of detection (*LODs*) were 0.000 2–0.003 0 mg/kg, and the limit of quantitation (*LOQ*) was 0.005 mg/kg. The developed method was applied to the determination of PAHs in fresh Biluochun tea leaves. The results showed that the total PAH concentrations ranged from 6.55 μg/kg to 122.67 μg/kg, with a mean concentration of 56.75 μg/kg. The PAH profile was dominated by 3- and 4-ring PAHs, among which fluorene exhibited the highest detection frequency (96%) and mean concentration (27.82 μg/kg). These results indicate that the developed method exhibits satisfactory accuracy, precision, and sensitivity, providing important technical support for PAH-related research in fresh tea leaves.

Key words: Biluochun; fresh tea leaves; polycyclic aromatic hydrocarbons; high-performance liquid chromatography

多环芳烃(PAH)是一类典型的持久性“三致”(致癌、致畸、致突变)物质,它们在环境^[1-2]中和食物链^[3-4]中广泛分布,并可通过多种途径(如呼吸、饮食等)进入人体,若长期接触此类物质,可能提高癌症等疾病的发生风险^[5-7]。茶叶作为全球广泛消费的饮料作物之一,其PAH残留问题备受关注。研究发现,茶叶中PAH的污染状况较为普遍^[8-10],例如在2002–2016年,全球茶叶中PAH的检出率接近100%,含量为100~10 000 μg/kg^[11];在2020–2021年,中国7个茶叶主产区的样品检测结果显示,13种PAH的检出率均超过70%,含量为11.4~1 251.0 μg/kg^[12];在2022年,土耳其市售茶叶的检测结果表明,15种PAH的总含量为212.2~953.9 μg/kg^[13]。由此可见,当前PAH已经成为影响茶叶品质安全的一个重要风险因子。

茶鲜叶作为茶叶加工的原料,其安全性决定了茶叶的品质安全。目前,关于茶鲜叶中PAH的研究相对较少^[14-15],关于其分离分析的标准方法仍是空白。在PAH分析领域,常用的提取方法有索氏提取法、加速溶剂萃取法、超声提取法等。索氏提取法通常需要6~20 h,存在萃取时间长的缺点^[16-17];加速溶剂萃取法存在设备成本高、萃取过程中低环PAH容易损失等缺点^[18-19];超声提取法避免了以上问题,并能得到较好的提取效果^[20-21]。目前,国内外PAH的仪器检测方法主要有气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、高效液相色谱-荧光检测法(HPLC-FLD)等,其中GC、GC-MS存在对部分

PAH同分异构体(如蒽和菲、蒄和苯并[a]蒽)难以有效分离的问题,其选择性、灵敏度都不及HPLC-FLD^[22]。本研究拟采用超声提取(UE)-固相萃取(SPE)法对茶鲜叶中的PAH进行萃取与净化,结合HPLC-FLD对15种PAH进行定量测定,以期构建一种能够简单、快速、准确地检测茶鲜叶中15种PAH的方法,并用该方法对苏州碧螺春茶鲜叶样品进行检测分析。

1 材料与方法

1.1 样品采集

茶鲜叶样品采自苏州碧螺春茶园,采摘标准为—芽二叶、—芽三叶。采集的样品经粉碎后,在低温条件下保存备用。共采集50个样品,编号为1~50。

1.2 药品与试剂

N-丙基乙二胺(PSA)、佛罗里硅土(Florisil)、十八烷基键合硅胶(C₁₈)购自天津博纳艾杰尔公司;多壁碳纳米管(MWCNT)购自南京先丰纳米材料公司;乙腈购自美国天地公司;二氯甲烷、正己烷、丙酮购自国药集团化学试剂苏州有限公司;乙腈中15种PAH混合标准溶液的质量浓度为200 mg/L,购自美国O2Si公司。

1.3 主要仪器设备

2695 高效液相色谱仪(配备2475 荧光检测器),产自美国沃特世公司;KQ-500DE 超声仪,产自昆山超声仪器公司;16R 离心机,产自湖南湘仪公司;N-EVAP-24 氮吹仪,产自美国 Organomation 公司。

1.4 试验方法

1.4.1 标准溶液的配制 移取 0.5 mL 15 种 PAH 混合标准溶液,用乙腈定容至 10 mL,于 -18 °C 保存。使用时,分别以乙腈、茶鲜叶基质净化液为溶剂,配制质量浓度为 0.005 mg/L、0.010 mg/L、0.050 mg/L、0.100 mg/L、0.500 mg/L 的标准工作溶液。

1.4.2 液相色谱条件 使用 Agilent ZORBAX Eclipse PAH 色谱柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm),柱温为 25 °C,流速为 2 mL/min,进样量为 40 μL,流动相为乙腈和水,洗脱梯度如下:0~20.0 min,50%~100%乙腈;20.0~26.0 min,100%乙腈;26.0~36.0 min,100%~50%乙腈。本研究用荧光检测器的激发波长、发射波长见表 1。

表 1 荧光检测器的激发波长和发射波长

Table 1 Excitation and emission wavelengths of fluorescence detector

时间(min)	激发波长(nm)	发射波长(nm)
0	270	323
7.0	260	336
8.7	248	380
10.7	230	420
11.6	248	382
14.5	275	380
17.0	260	420
21.0	305	430
22.5	305	506

1.4.3 样品前处理 称取 3.0 g 试样,加入 7.5 mL 丙酮-正己烷溶液(体积比 1:1),涡旋处理 2 min 后,用 500 W、40 kHz 的超声波提取 15 min,再于 8 000 r/min 离心 4 min,收集上层溶液。残渣再用相同操作提取 1 次,将 2 次提取所得上层溶液合并,待用。

取 5 mL 上述提取溶液,在 50 °C 用氮吹浓缩近干,残渣用 1 mL 正己烷溶解后,用自组装 SPE 小柱净化。该小柱由下至上分别为筛板、1 g Florisil、0.15 g PSA 和筛板。用 5 mL 二氯甲烷、5 mL 正己烷活化小柱,上样后用 10 mL 体积比为 3:7 的正己烷-二氯甲烷溶液淋洗。收集洗脱液,在 50 °C 用氮吹浓缩近干,用 1 mL 乙腈复溶,过 0.22 μm 滤膜后待测。

1.5 液相色谱条件的优化

用 0.05 mg/L 的 15 种 PAH 标准工作液,对比

分析 Sepax GP-C₁₈ 柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX Eclipse PAH 柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm) 的分离效果(其余色谱条件同方法 1.4.2),以确定最佳色谱柱。在选定的色谱柱基础上,进一步考察甲醇-水和乙腈-水 2 种流动相体系对目标化合物分离的影响,以确定最优流动相组合。在优化的色谱柱、流动相条件下,考察不同流速(1.0 mL/min 和 2.0 mL/min)对目标化合物检测的影响,以确定最佳流速。

1.6 样品前处理条件的优化

1.6.1 提取剂种类和用量的优化 称取 3.0 g 茶鲜叶空白样品,添加含量为 0.05 mg/kg 的 15 种 PAH 标准溶液,分别以正己烷、丙酮-正己烷(体积比 1:1)作为提取剂,按照方法 1.4 进行前处理和测定,考察各目标化合物在 2 种提取剂中的回收率,以选择最佳提取剂类型。在上述研究的基础上,分别设置提取剂用量为 10 mL、15 mL,考察其对各目标化合物回收率的影响,以确定提取剂的最佳用量。

1.6.2 分散固相萃取不同净化剂的考察 称取 3.0 g 茶鲜叶空白样品,按照方法 1.4.3 进行提取后,添加质量浓度为 0.05 mg/kg 的 15 种 PAH 标准溶液,从中取出 2 mL,分别加入 150 mg C₁₈、PSA 和 MWC-NT,考察不同净化剂对净化效果的影响。

1.6.3 固相萃取洗脱液种类和体积的优化 称取 3.0 g 茶鲜叶空白样品,添加 0.05 mg/kg 的 15 种 PAH 标准溶液,按照方法 1.4.3 进行提取后,上样至活化处理的固相萃取小柱。分别以 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)和乙腈-甲苯(体积比 3:1)作为洗脱液,比较 2 种洗脱液对各目标化合物回收率的影响,以筛选最佳洗脱液类型。基于选定的洗脱液,进一步设置不同洗脱液体积(5 mL、10 mL 和 15 mL),考察其对各目标化合物回收率的影响,以确定最优洗脱液体积。

1.7 方法学考察

1.7.1 基质效应 采用斜率比较法定量评估基质效应(ME)的强弱,计算方法见公式(1):

$$ME = \left(\frac{\text{基质标准曲线斜率}}{\text{溶剂标准曲线斜率}} - 1 \right) \times 100\% \quad (1)$$

式中,溶剂标准曲线、基质标准曲线的斜率参照方法 1.7.2 获得。当 $|ME| \leq 20\%$ 时,表明呈弱基质效应;当 $20\% < |ME| \leq 50\%$ 时,表明呈中等基质效应;当 $|ME| > 50\%$ 时,表明呈强基质效应;当 $|ME| >$

20%时,表明需要对基质效应进行校正^[23]。

1.7.2 线性方程 取参照方法 1.4.1 配制的 15 种 PAH 的不同质量浓度的标准工作溶液,按照方法 1.4.2 的液相色谱条件进行进样测定,以各目标化合物的峰面积(Y)为纵坐标,以各化合物的质量浓度(x)为横坐标绘制标准曲线,得到其线性方程、斜率和相关系数。

1.7.3 准确度和精密度的测定 称取 3.0 g 茶鲜叶空白样品,分别添加 30 μ L、300 μ L、600 μ L 质量浓度为 0.5 mg/L 的 15 种 PAH 标准工作溶液(添加水平分别约等于 0.005 mg/kg、0.050 mg/kg 和 0.100 mg/kg),混匀后静置 1 h,按照方法 1.4 进行前处理和测定。每个添加水平重复测定 6 次,计算平均回收率、相对标准偏差(RSD),确认方法的准确度和精密度。

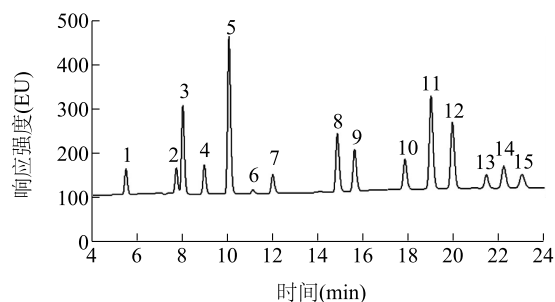
1.7.4 检出限和定量限 在空白茶鲜叶基质中添加不同水平的 15 种 PAH 标准溶液进行前处理和测定。依据各目标化合物色谱峰的信噪比(S/N) ≥ 3 确定方法的检出限(LOD)。以 $S/N \geq 10$ 且回收率满足要求的最低添加水平作为定量限(LOQ)。

2 结果与分析

2.1 仪器条件优化

根据相关文献,分析 PAH 通常采用 C_{18} 柱^[24-25] 或 PAH 柱^[26-27]。本试验比较了 Sepax GP- C_{18} 柱(4.6 mm \times 250.0 mm, 5 μ m)、Agilent ZORBAX Eclipse PAH 柱(4.6 mm \times 250.0 mm, 5 μ m) 2 种色谱柱的分离效果。结果表明,在 Sepax GP- C_{18} 色谱柱上,蒽与苯并[a]蒽、二苯并[a,h]蒽与苯并[g,h,i]芘 2 组组分的分离度分别仅为 0.86、1.15,无法实现基线分离,而采用 Agilent ZORBAX Eclipse PAH 色谱柱时,15 种 PAH 组分均获得了良好的分离度,且峰形较好,有利于准确定量。因此,选择 Agilent ZORBAX Eclipse PAH 柱作为分析柱。同时,对比乙腈-水、甲醇-水作为流动相时 15 种 PAH 的分离效果。结果表明,乙腈-水的洗脱能力较强,且系统背压低,有助于延长色谱柱使用寿命。在相同洗脱程序下,乙腈-水能将 15 种 PAH 基本完全分离,因此选择其作为流动相。进一步考察不同流速(1.0 mL/min、2.0 mL/min)对分离效率的影响。结果显示,在 2.0 mL/min 流速下,所有目标化合物均能保持良好的分离度,且分析时间缩短至 24 min 内,提

高了检测效率。综合考虑,选择 2.0 mL/min 的柱流速。如图 1 所示,在优化的液相色谱条件下,各目标化合物的峰形较好,分离度较佳,可以满足定量分析的要求。



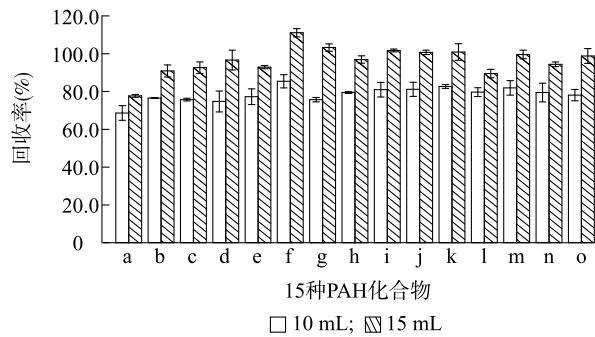
1: 萘; 2: 苊; 3: 芴; 4: 菲; 5: 蒽; 6: 荧蒽; 7: 芘; 8: 屈; 9: 苯并[a]蒽; 10: 苯并[b]荧蒽; 11: 苯并[k]荧蒽; 12: 苯并[a]芘; 13: 茚并[1,2,3-c,d]芘; 14: 二苯并[a,h]蒽; 15: 苯并[g,h,i]芘。[a]: 苯环稠合于蒽或芘的 a 边(即 C1-C2 键); [b]: 苯环稠合于荧蒽的 b 边(即 C2-C3 键); [k]: 苯环稠合于荧蒽的 k 边(即 C8-C9 键); [1,2,3-c,d]: 茚环的 1 位、2 位、3 位碳原子与芘的 e 边、d 边(对应 C3 位、C4 位、C5 位)稠合; [a,h]: 2 个苯环分别稠合于蒽的 a 边(C1-C2 键)和 h 边(C5-C6 键); [g,h,i]: 苯环稠合于芘的 g 边、h 边、i 边(对应芘分子的 1,12 位湾区)。

图 1 0.05 mg/L 15 种多环芳烃(PAH)标准溶液的色谱结果
Fig.1 Chromatogram of 15 polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) standard solutions at 0.05 mg/L

2.2 样品前处理优化

2.2.1 提取条件优化 PAH 具有弱极性,通常用正己烷^[28-30]进行提取。本试验发现,在 0.05 mg/kg 加标水平下,正己烷对茶鲜叶中 PAH 的提取效果有限,大部分 PAH 的回收率低于 60.0%,当在正己烷中加入适量的丙酮(体积比 1:1)后,所有 PAH 的回收率均提高至 70.0% 以上,可能由于加入丙酮后增加了正己烷的溶剂化能力,能更有效地渗透样品基质孔隙,从而提高了回收率。因此,选择丙酮-正己烷(体积比 1:1)作为提取剂,并比较其用量变化对 15 种 PAH 回收率的影响。如图 2 所示,当茶鲜叶质量为 3.0 g,提取剂用量分别为 10 mL 和 15 mL 时,15 种目标物的回收率分别为 68.6%~85.4% 和 77.6%~111.1%。从提取效果来看,前者不及后者,因此确定提取剂用量为 15 mL。

2.2.2 净化条件优化 茶鲜叶中含有茶多酚、儿茶素及色素等成分^[31-32],在用它们提取 PAH 时易被共萃取,从而对检测结果造成干扰,影响准确定量。因此,在进行 HPLC 分析前,必须对提取液进行净化处



a: 萘; b: 苊; c: 芴; d: 菲; e: 蒽; f: 荧蒽; g: 芘; h: 蒾; i: 苯并[a]蒽; j: 苯并[b]荧蒽; k: 苯并[k]荧蒽; l: 苯并[a]芘; m: 茚并[1,2,3-c,d]芘; n: 二苯并[a,h]蒽; o: 苯并[g,h,i]芘。[a]: 苯环稠合于蒽或芘的 a 边(即 C1-C2 键); [b]: 苯环稠合于荧蒽的 b 边(即 C2-C3 键); [k]: 苯环稠合于荧蒽的 k 边(即 C8-C9 键); [1,2,3-c,d]: 茚环的 1 位、2 位、3 位碳原子与芘的 c 边、d 边(对应 C3 位、C4 位、C5 位)稠合; [a,h]: 2 个苯环分别稠合于蒽的 a 边(C1-C2 键)和 h 边(C5-C6 键); [g,h,i]: 苯环稠合于芘的 g 边、h 边、i 边(对应芘分子的 1,12 位湾区)。

图 2 不同提取剂用量下 15 种多环芳烃 (PAH) 的回收率

Fig. 2 Recoveries of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at different extraction solvent volumes

理。本试验在 0.05 mg/kg 加标水平下,首先考察了分散固相萃取法(d-SPE)的净化效果。基于茶鲜叶基质的特点,对比了以 C₁₈、PSA 和 MWCNT 作为净化剂时,15 种 PAH 的回收率。从净化液颜色来看,用 PSA、C₁₈ 处理后,净化液呈深绿色,表明这 2 种净化剂对色素的去除能力有限,而用 MWCNT 处理后,净化液呈淡黄色,说明其对色素等杂质的吸附能力较强。由表 2 可以看出,经 C₁₈ 处理后,萘的回收率仅有 14.0%,其余 PAH 的回收率为 68.4%~102.0%;经 PSA 处理后,除苯并[a]蒽的回收率为 62.1%外,其余 PAH 的回收率均低于 60.0%,其中萘的回收率仅有 3.1%,说明 PSA 对大部分 PAH 的保留作用较强。MWCNT 对 PAH 表现出较强的吸附性,经 MWCNT 处理后,仅检测到萘、苊、芴、菲、蒽 5 种 PAH,回收率为 8.0%~104.6%,未检出其他 PAH。上述试验结果表明,以 C₁₈、PSA、MWCNT 为净化剂的 d-SPE 难以满足检测要求。

为了获得理想的净化效果,对 SPE 法进行了考察。由于 Florisil 能高效去除茶叶中的叶绿素、叶黄素等色素类物质^[29],PSA 则能有效去除茶多酚、儿茶素类物质^[33],因此选择这 2 种物质作为 SPE 净化填料,并比较了以正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)、

乙腈-甲苯(体积比 3:1)作为洗脱液对 15 种 PAH 的洗脱效果。称取 3 g 空白样品,按照 0.05 mg/kg 的水平进行加标试验,用 10 mL 上述溶液进行洗脱。

表 2 15 种多环芳烃 (PAH) 经过不同净化剂处理后的回收率

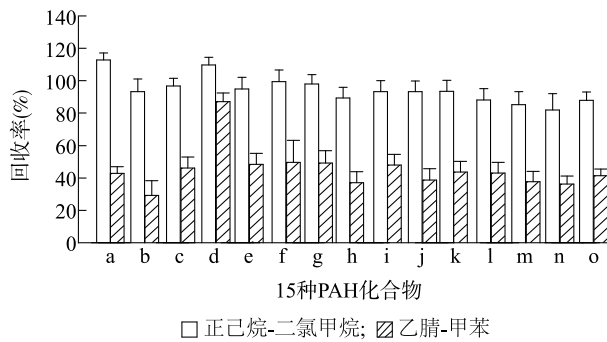
Table 2 Recoveries of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) after purification by different agents

名称	净化剂处理后的回收率 (%)		
	C ₁₈	PSA	MWCNT
萘	14.0	3.1	88.0
苊	70.9	43.3	103.6
芴	79.3	45.3	97.7
菲	86.4	35.3	104.6
蒽	81.2	58.6	8.0
荧蒽	91.5	56.6	ND
芘	102.0	52.1	ND
蒾	79.9	59.2	ND
苯并[a]蒽	85.2	62.1	ND
苯并[b]荧蒽	80.7	59.8	ND
苯并[k]荧蒽	80.3	58.8	ND
苯并[a]芘	78.2	57.2	ND
茚并[1,2,3-c,d]芘	71.5	51.2	ND
二苯并[a,h]蒽	68.4	50.5	ND
苯并[g,h,i]芘	75.0	56.4	ND

C₁₈: 十八烷基键合硅胶; PSA: N-丙基乙二胺; MWCNT: 多壁碳纳米管; ND: 未检出。[a]: 苯环稠合于蒽或芘的 a 边(即 C1-C2 键); [b]: 苯环稠合于荧蒽的 b 边(即 C2-C3 键); [k]: 苯环稠合于荧蒽的 k 边(即 C8-C9 键); [1,2,3-c,d]: 茚环的 1 位、2 位、3 位碳原子与芘的 c 边、d 边(对应 C3 位、C4 位、C5 位)稠合; [a,h]: 2 个苯环分别稠合于蒽的 a 边(C1-C2 键)和 h 边(C5-C6 键); [g,h,i]: 苯环稠合于芘的 g 边、h 边、i 边(对应芘分子的 1,12 位湾区)。

由图 3 可以看出,2 种洗脱液的洗脱效率差异较大。当以乙腈-甲苯(体积比 3:1)作为洗脱液时,目标化合物的回收率均不足 50%,而以正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)作为洗脱液时,洗脱效率得到显著提升,回收率均可达 81% 以上。因此,后续试验以正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)作为洗脱液。

为了确定最佳洗脱体积,对比不同体积(5 mL、10 mL 和 15 mL)的洗脱液对 15 种 PAH 回收率的影响。如表 3 所示,当洗脱液的体积增加时,萘、芴和菲的回收率先升高后降低,而其余 12 种 PAH 的回收率则不断提高。当洗脱液的体积分别为 10 mL 和 15 mL 时,15 种 PAH 的回收率分别为 84.9%~117.4% 和 90.4%~115.1%,均满足分析要求。为了节省溶剂,提高检测效率,本试验选择洗脱液体积为 10 mL。



a~o 见图 2 注。

图 3 用不同溶液洗脱 15 种多环芳烃 (PAH) 的回收率

Fig. 3 Recoveries of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) eluted with different solutions

表 3 不同洗脱液体积下 15 种多环芳烃 (PAH) 的回收率

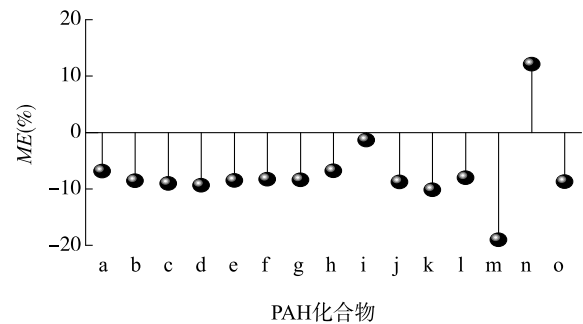
Table 3 Recoveries of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at different eluent volumes

名称	不同洗脱体积的回收率 (%)		
	5 mL	10 mL	15 mL
萘	92.2	92.5	90.4
苊	84.7	101.3	104.8
芴	105.7	114.7	108.7
菲	105.2	117.4	95.4
蒽	86.9	91.6	113.8
荧蒽	89.9	99.5	115.1
芘	87.8	94.7	103.5
蒾	81.3	92.0	104.8
苯并[a]蒽	81.9	92.4	96.5
苯并[b]荧蒽	83.9	95.1	104.3
苯并[k]荧蒽	80.2	90.7	104.6
苯并[a]芘	81.1	91.8	100.8
茚并[1,2,3-c,d]芘	81.4	92.1	102.0
二苯并[a,h]蒽	79.9	84.9	96.7
苯并[g,h,i]芘	81.9	88.0	97.7

[a]: 苯环稠合于蒽或芘的 a 边 (即 C1-C2 键); [b]: 苯环稠合于荧蒽的 b 边 (即 C2-C3 键); [k]: 苯环稠合于荧蒽的 k 边 (即 C8-C9 键); [1,2,3-c,d]: 茚环的 1 位、2 位、3 位碳原子与芘的 c 边、d 边 (对应 C3 位、C4 位、C5 位) 稠合; [a,h]: 2 个苯环分别稠合于蒽的 a 边 (C1-C2 键) 和 h 边 (C5-C6 键); [g,h,i]: 苯环稠合于芘的 g 边、h 边、i 边 (对应芘分子的 1,12 位湾区)。

2.3 方法学考察

2.3.1 基质效应 如图 4 所示, 15 种 PAH 在茶鲜叶基质中的 $|ME|$ 值均在 20% 以内, 表现为弱基质效应, 说明本研究较好地消除了基质干扰, 因此在检测实际样品时, 采用溶剂标准曲线外标法进行定量分析。



ME: 基质效应。a~o 见图 2 注。

图 4 15 种多环芳烃 (PAH) 在茶鲜叶中的基质效应

Fig. 4 The matrix effects of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fresh tea leaves

2.3.2 15 种 PAH 的线性方程 对质量浓度为 0.005~0.500 mg/L 的 15 种 PAH 乙腈标准工作溶液进行测定, 并绘制标准曲线。如表 4 所示, 15 种 PAH 的质量浓度与对应峰面积呈良好的线性关系, 相关系数 (r) ≥ 0.9999 。

2.3.3 准确度和精密度 如表 4 所示, 当添加水平为 0.005~0.100 mg/kg 时, 15 种 PAH 在茶鲜叶中的平均回收率为 72.6%~115.1%, RSD 为 1.0%~16.5% ($n=6$), 表明该方法具有良好的准确度和精密度^[34]。

2.3.4 检出限和定量限 如表 4 所示, 15 种 PAH 在茶鲜叶中的 LOD 为 0.0002~0.0030 mg/kg, LOQ 均为 0.005 mg/kg。

2.4 样品测定分析

将本研究建立的检测方法用于苏州碧螺春茶鲜叶样品的测定分析。如表 5 所示, 本研究分别检出了萘、芴、荧蒽、蒾、苯并[a]蒽 5 种 PAH, 其中芴、荧蒽的检出率最高, 均达到 96%, 其次是蒾, 检出率达到 56%。5 种 PAH 的含量为 6.55~122.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 平均含量为 56.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其中芴的总检出含量最高, 占 PAH 总含量的 48% 以上。在 PAH 组成上, 当地茶鲜叶中仅检出 2~4 环 PAH, 并以 3 环、4 环为主, 其含量占 PAH 总含量的 80% 以上。

由图 5 可以看出, 在全部受检样品中, 仅有 10 号 (18.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、19 号 (6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 和 49 号 (未检出) 3 个样品的 PAH 含量低于或处于植物体内正常背景值范围 (10~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 其余样品的 PAH 含量均超出了该背景值范围。

表4 15种多环芳烃(PAH)的线性方程、相关系数、检出限、定量限、平均回收率和相对标准偏差

Table 4 Linear equations, correlation coefficients (*r*), limits of detection (LOD), limits of quantitation (LOQ), average recoveries and relative standard deviations (RSD) of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

名称	线性方程	<i>r</i>	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	0.005 mg/kg		0.050 mg/kg		0.100 mg/kg	
					平均回 收率(%)	RSD (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
萘	$Y=9.72 \times 10^7 x + 5.51 \times 10^3$	0.999 9	0.002 0	0.005	72.6	14.6	78.5	14.8	79.4	7.8
蒽	$Y=8.11 \times 10^7 x + 7.80 \times 10^3$	1.000 0	0.002 0	0.005	92.7	8.7	97.5	5.6	89.3	3.7
芴	$Y=3.40 \times 10^8 x + 2.02 \times 10^4$	1.000 0	0.000 4	0.005	115.1	12.7	105.8	4.0	94.3	4.9
菲	$Y=1.21 \times 10^8 x + 3.90 \times 10^4$	1.000 0	0.002 0	0.005	109.8	16.5	110.5	4.3	95.1	8.0
蒽	$Y=6.66 \times 10^8 x + 6.81 \times 10^5$	0.999 9	0.000 2	0.005	99.2	7.3	112.9	1.9	98.7	5.5
荧蒽	$Y=1.56 \times 10^7 x + 7.83 \times 10^3$	0.999 9	0.003 0	0.005	95.6	11.0	109.7	3.3	93.5	5.3
芘	$Y=8.59 \times 10^7 x + 1.14 \times 10^4$	1.000 0	0.000 5	0.005	110.1	6.6	111.2	1.0	96.0	6.2
蒽	$Y=2.76 \times 10^8 x + 8.31 \times 10^4$	1.000 0	0.000 6	0.005	105.3	5.9	108.5	1.5	95.1	5.8
苯并[a]蒽	$Y=1.89 \times 10^8 x + 5.73 \times 10^4$	1.000 0	0.000 7	0.005	93.4	7.3	109.1	1.7	96.6	6.0
苯并[b]荧蒽	$Y=1.52 \times 10^8 x + 1.12 \times 10^4$	0.999 9	0.002 0	0.005	94.5	8.1	106.2	1.6	95.9	5.6
苯并[k]荧蒽	$Y=4.87 \times 10^8 x + 1.96 \times 10^4$	0.999 9	0.000 2	0.005	109.6	8.2	109.8	1.6	96.7	5.3
苯并[a]芘	$Y=3.51 \times 10^8 x + 3.97 \times 10^4$	0.999 9	0.000 3	0.005	110.9	5.9	107.1	1.5	94.4	5.1
茚并[1,2,3-c,d]芘	$Y=8.01 \times 10^7 x + 1.20 \times 10^4$	1.000 0	0.000 5	0.005	100.7	3.4	105.9	2.6	93.3	3.6
二苯并[a,h]蒽	$Y=1.04 \times 10^8 x - 1.36 \times 10^4$	0.999 9	0.002 0	0.005	84.6	7.2	102.6	2.6	88.7	3.9
苯并[g,h,i]芘	$Y=9.05 \times 10^7 x - 9.99 \times 10^3$	0.999 9	0.003 0	0.005	88.7	7.9	99.4	4.5	91.7	4.4

r:相关系数;LOD:检出限;LOQ:定量限;RSD:相对标准偏差。[a]:苯环稠合于蒽或芘的a边(即C1-C2键);[b]:苯环稠合于荧蒽的b边(即C2-C3键);[k]:苯环稠合于荧蒽的k边(即C8-C9键);[1,2,3-c,d]:茚环的1位、2位、3位碳原子与芘的c边、d边(对应C3位、C4位、C5位)稠合;[a,h]:2个苯环分别稠合于蒽的a边(C1-C2键)和h边(C5-C6键);[g,h,i]:苯环稠合于芘的g边、h边、i边(对应芘分子的1,12位湾区)。

表5 碧螺春茶鲜叶样品中多环芳烃(PAH)检出情况

Table 5 Detection results of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fresh Biluochun tea leaf samples

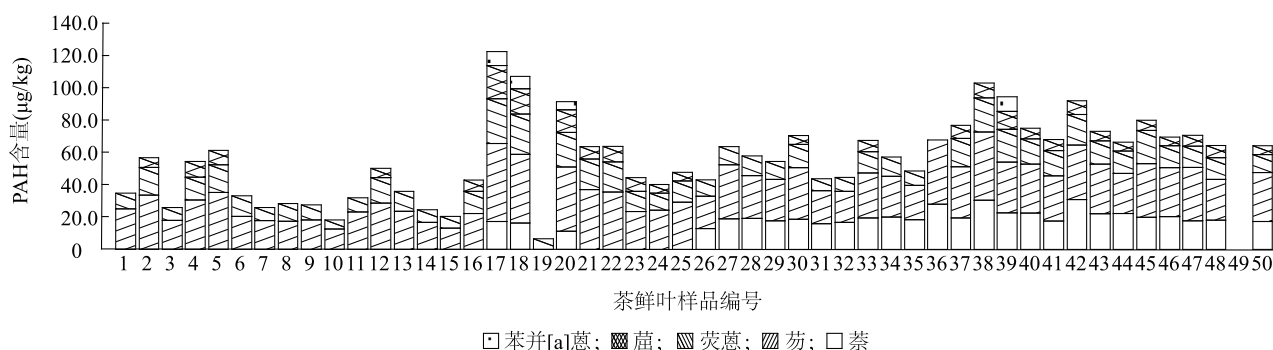
名称	环数	检出率 (%)	含量(μg/kg)		总含量 (μg/kg)	平均含量 (μg/kg)
			最低值	最高值		
萘	2	54	ND	30.97	532.70	19.73
芴	3	96	ND	48.27	1 335.24	27.82
荧蒽	4	96	ND	27.75	652.17	13.59
蒽	4	56	ND	20.62	230.33	8.23
苯并[a]蒽	4	8	ND	9.05	30.43	7.61
ΣPAH	-	-	6.55	122.67	2 780.88	56.75

-表示无对应值;ND表示未检出。[a]:苯环稠合于蒽的a边(即C1-C2键)。

3 讨论

本研究采用 UE-SPE 法对茶鲜叶中的 15 种 PAH 进行前处理,通过试验优化,发现样品用 15 mL 丙酮-正己烷(体积比1:1)进行超声提取后,经 Florisil、PSA 固相萃取净化,再用 10 mL 体积比为 3:7 的正己烷-二氯甲烷洗脱,可以有效降低样品基质效

应的影响,获得满意的净化效果,在优化的 HPLC 条件下测定发现,不同加标水平的回收率在 72.6% 及以上, $RSD \leq 16.5\%$, LOD 为 0.000 2~0.003 0 mg/kg, LOQ 均为 0.005 mg/kg,表明本研究方法具有良好的准确性、稳定性和灵敏度。目前,关于茶鲜叶中 PAH 检测方法的研究较少。胡琳玲等^[14]用丙酮-二氯甲烷(体积比为1:1)提取、硅胶柱净化结合



[a]: 苯环耦合于蒽的 a 边(即 C1-C2 键)。

图 5 不同碧螺春茶鲜叶样品中多环芳烃(PAH)含量及组成

Fig.5 Contents and components of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different fresh Biluochun tea leaf samples

HPLC 法测定了茶鲜叶中 PAH 的含量,但是发现该方法在准确度、精密度及灵敏度等关键参数上缺乏充分验证。与之相比,本研究构建的检测方法经过系统优化与全面验证,为茶鲜叶中 PAH 的检测提供了可靠的技术支持。

实际样品分析结果表明,碧螺春茶鲜叶样品中有 5 种 PAH,其含量范围为 6.55~122.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均值为 56.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。与高贯威等^[15]报道的浙江省茶鲜叶中的 PAH 含量水平(A 市样品的 PAH 含量范围为 44.8~145.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均值为 95.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$;B 市样品的 PAH 含量范围为 37.3~82.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均值为 59.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)相比,本研究测得的 PAH 的含量范围较大,但总含量均值较低。这种差异可能与茶树品种、产地环境的 PAH 污染水平等因素有关。在 PAH 组成上,本研究中茶鲜叶样品中检出的 PAH 以 3 环、4 环为主,占 PAH 总含量的 80%以上,这与高贯威等^[15]的研究结果一致。出现上述现象,可能由于研究区域在地理气候条件、污染源类型及污染源的影响强度等方面具有相似性。但是,本研究结果与胡琳玲等^[14]报道的茶鲜叶中 PAH 以 2 环、3 环为主的结论有差异,这可能与研究区域在茶园管理方式、茶树品种特性、鲜叶采摘部位及污染源类型等方面存在差异有关。

4 结论

本研究建立了 UE-SPE-HPLC 法,测定茶鲜叶中 15 种 PAH 的含量,样品用 15 mL 丙酮-正己烷(体积比 1:1)进行超声提取,以 Florisil、PSA 为填料进行固相萃取净化,用 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比 3:7)淋洗后,用 ZORBAX Eclipse PAH 柱

(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm)进行色谱分离。以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,用 HPLC-荧光检测器进行检测,用溶剂标准曲线外标法进行定量,结果显示,15 种 PAH 的线性范围为 0.005~0.500 mg/L, $r \geq 0.9999$,平均回收率为 72.6%~115.1%,RSD 不高于 16.5% ($n = 6$),LOD 为 0.0002~0.0030 mg/kg,LOQ 均为 0.005 mg/kg。本研究方法前处理操作简单、快速,检测结果可靠、稳定,通过对碧螺春茶鲜叶实际样品进行测定,证明本研究方法适用性较强,为开展茶鲜叶中 PAH 的监测提供了可靠的技术手段。

参考文献:

- [1] ALANI R, ZHAO S Z, LIU X, et al. Concentrations, profiles and exposure risks of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in passive air samples from Lagos, Nigeria[J]. Atmospheric Pollution Research, 2021, 12(9):101162.
- [2] RIZZI C, VILLA S, WAICHMAN A V, et al. Occurrence, sources, and ecological risks of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Amazon river[J]. Chemosphere, 2023, 336:139285.
- [3] JI J M, ZHANG Y X, SUN S D, et al. Concentrations of the 16 US EPA PAHs in 86 vegetable oil samples[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 2022, 42(10):7336-7353.
- [4] SHOAEI F, TALEBI-GHANE E, AMIRSADEGHI S, et al. The investigation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in milk and its products: a global systematic review, meta-analysis and health risk assessment[J]. International Dairy Journal, 2023, 142:105645.
- [5] DAI Y F, XU X J, HUO X, et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on pregnancy, placenta, and placental trophoblasts[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 262:115314.
- [6] TARTAGLIONE A M, RACCA A, RICCIERI L. Developmental

- exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): focus on benzo [a] Pyrene neurotoxicity [J]. *Reproductive Toxicology*, 2023, 119:108394.
- [7] YU Y Y, JIN H, LU Q J. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on immunity [J]. *Journal of Translational Autoimmunity*, 2022, 5:100177.
- [8] GUO X Y, CHEN F, ZHANG W B. Pollution, source and risk assessment of PAHs in Chinese tea [J]. *Lwt*, 2022, 167:113851.
- [9] BENSON N U, FRED-AHMADU O H, OLUGBUYIRO J A O, et al. Concentrations, sources and risk characterisation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in green, herbal and black tea products in Nigeria [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, 66:13-22.
- [10] GARCIA LONDOÑO V A, REYNOSO C M, RESNIK S L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) survey on tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Argentina [J]. *Food Control*, 2015, 50:31-37.
- [11] 高贯威, 陈红平, 刘平香, 等. 茶叶中多环芳烃污染水平及来源研究进展 [J]. *热带作物学报*, 2016, 37(10):2032-2042.
- [12] MA J J, ZHU Z, DU S J, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial tea from China and implications for human exposure [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023, 116:105075.
- [13] CELIK-SAGLAM I, BALCIK C, CETIN B. Concentrations, sources, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in black, green and fruit flavored tea in Turkey [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 109:104504.
- [14] 胡琳玲, 刘遵莹, 刘秋玲, 等. 茶鲜叶中多环芳烃类化合物的分布特性研究 [J]. *茶叶科学*, 2014, 34(6):565-571.
- [15] 高贯威, 陈红平, 刘平香, 等. 多环芳烃在茶树鲜叶及绿茶加工过程中残留水平研究 [J]. *茶叶科学*, 2017, 37(2):191-200.
- [16] MASUDA M, WANG Q, TOKUMURA M, et al. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their chlorinated derivatives in grilled foods [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 178:188-194.
- [17] ESSUMANG D K, DODOO D K, ADJEI J K. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination in smoke-cured fish products [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012, 27(2):128-138.
- [18] SORIANO Y, ANDREU V, PICÓ Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2024, 173:117624.
- [19] SURANOVÁ M, SEMANOVÁ J, SKLÁRŠOVÁ B, et al. Application of accelerated solvent extraction for simultaneous isolation and pre-cleaning up procedure during determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products [J]. *Food Analytical Methods*, 2015, 8(4):1014-1020.
- [20] 张倩, 刘燕嶝, 林伟琦. 超声溶剂萃取-气相色谱/质谱联用法同时测定水产品中 16 种多环芳烃 [J]. *分析实验室*, 2019, 38(7):805-809.
- [21] 朱严华, 杨波, 黄菊, 等. 超声提取-气相色谱-串联质谱法测定煎烤鲑鱼中 16 种多环芳烃 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(16):263-270.
- [22] LIU T F, ZHANG L, PAN L Q, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons' impact on crops and occurrence, sources, and detection methods in food: a review [J]. *Foods*, 2024, 13(13):1977.
- [23] LIU T F, SONG Y, WANG X Y, et al. A facile and rapid strategy for quantifying PCBs in cereals based on dispersive solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry: a reference for safety concerns in sustainable textiles [J]. *Materials*, 2023, 16(4):1698.
- [24] TFOUNI S A V, REIS R M, KAMIKATA K, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in teas using QuEChERS and HPLC-FLD [J]. *Food Additives & Contaminants. Part B, Surveillance*, 2018, 11(2):146-152.
- [25] SINGH L, AGARWAL T. Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee [J]. *Food Chemistry*, 2021, 364:130440.
- [26] BULANDA S, JANOSZKA B. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in roasted pork meat and the effect of dried fruits on PAH content [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2023, 20(6):4922.
- [27] 王宏伟, 方波, 张磊, 等. HPLC 法同时测定 9 种中草药中 18 种多环芳烃残留量 [J]. *中成药*, 2020, 42(4):986-990.
- [28] 王高峰. 分子印迹固相萃取-HPLC-FLD 法测定不同山楂制品中多环芳烃的含量 [J]. *食品工程*, 2025(1):67-70.
- [29] 张俊华, 胡越, 张兵, 等. 佛罗里硅土柱固相萃取-气相色谱质谱法测定茶叶中的多环芳烃 [J]. *海峡预防医学杂志*, 2024, 30(3):44-48.
- [30] 李文斌, 池艳艳, 程菲. 固相萃取-气相色谱-质谱法测定 3 种中药材中 18 种多环芳烃 [J]. *分析测试技术与仪器*, 2022, 28(1):68-79.
- [31] 朱明珠, 齐桂年, 李建华, 等. 60 个茶树品种夏秋叶主要生化成分分析 [J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 2016, 38(3):494-500.
- [32] 尹军峰, 许勇泉, 袁海波, 等. 名优绿茶鲜叶摊放过程中主要生化成分的动态变化 [J]. *茶叶科学*, 2009, 29(2):102-110.
- [33] 黄田田, 汤桦, 董晓倩, 等. 多壁碳纳米管 QuEChERS-气相色谱法测定茶叶 23 种有机磷农药残留量 [J]. *食品科学*, 2018, 39(6):315-321.
- [34] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验室质量控制规范 食品理化检测: GB/T 27404-2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

(责任编辑:徐艳)