

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫名稱：食品中多環芳香煙之微波萃取及分析

計畫編號：NSC 87-2113-M-032-011

執行期限：86年8月1日至87年7月31日

主持人：許道平博士 淡江大學水資源與環境工程系

一、中文摘要

傳統偵測魚肉中多苯環芳香族碳氫化合物 (PAHs) 含量的方法，主要是以皂化法破壞魚體組織，再以液-液萃取方式將多苯環芳香族碳氫化合物萃取出，其過程不僅耗時且需要大量有機溶劑。本研究主要是以微波萃取法，萃取魚肉中之多苯環芳香族碳氫化合物，以高效能液相層析儀配合螢光偵測器測定之。

本研究利用直交表法 L9(3⁴) 實驗設計，針對四個實驗因子 (萃取溶劑、萃取溫度、萃取時間及微波輸出功率) 探求實驗最佳化之條件。結果顯示最佳微波萃取條件：萃取溶劑組成：正己烷/丙酮(1:1)，萃取溫度：100(°C)，萃取時間：10分鐘，微波功率：70%(696.9W)。

(1)以魚肉添加 PAH_s 標準品方式，測試最佳微波萃取條件，可得到多苯環芳香族碳氫化合物 2~6 環平均回收率結果皆有 80% 以上。(2)均質化模擬真實樣品之均質化驗證效果不錯，其平均回收率接近並且達到 90% 以上。(3)真實燒烤食品之測試結果及不同儲存時間均質化魚肉微波測試回收率試驗結果，則有待研討會討論。

關鍵詞：多苯環芳香煙化合物、高效能液相層析、微波萃取、食品、魚肉

Abstract

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAH_s) are ubiquitous organic pollutants which represents the largest class of known environmental carcinogens. The determination of PAH_s in complex matrices as food samples is a difficult task because of the large number of PAH_s and their occurrences at very low

concentration levels. The conventional methods for the determination of PAH_s in fish involve the following steps: alcoholic saponification, liquid-liquid extraction and instrumental detection.

The goals of this study are to extraction the PAH_s from the fish tissue using microwave-assisted extraction and then to analyze the PAH_s by high performance liquid chromatography-fluorence detection(HPLC-FLU). The four factors of mixlevel orthogonal array design were used in this study to search the best microwave extraction condition. Those four factors were extraction solvent, extraction time, microwave power and extraction temperature. It was showed that the optimized extraction conditions are (1)extraction solvent: n-hexane/acetone(1:1), (2)extraction time: 10mins, (3)microwave power: 70% (697W), (4)extraction temper-ature: 100°C.

A simple and effective analytical procedure for the determination of 16 priority PAH_s in fish tissue using microwave energy was developed. The HPLC-FLU system with Shandon Green PAH column and programmable wavelengths detector was employed. Based on experimental results, the analytical and statistical parameters of the method were obtained. The accomplished comparative measurements confirmed that extracting efficiency of standard procedures and the procedures proposed by us were comparable. The results showed that the limits of method detection were in the range of 0.006~0.624 ng/g for 16 PAH_s. The concentrations of PAH_s in the charbroiled fish containing higher contents of fat were found more than that of less fatty fish.

Keywords: Microwave Extraction, PAH_s, Fish

二、計畫緣由與目的

多苯環芳香族碳氫化合物(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)，由兩個或兩個以上苯環結合而成，為環境中常見的半揮發性有機物。PAHs 來源很多，例如：森林火災、火山爆發灰燼或石油、煤中都有多苯環芳香族碳氫化合物或其先驅物存在，然後經光、熱、燃燒反應產生。由於 PAHs 會同時存在於固相及氣相中，藉由大氣的傳輸廣泛的散佈在自然環境中，不論是土壤、空氣、底泥或水體中甚至食物中皆可檢測出^(1-3,5-8)，目前已證實 PAHs 經代謝作用後會使人體產生致突變性(mutagenic)或致癌性(carcinogenic)⁽⁴⁾。

魚肉中 PAH_s 含量之偵測方法⁽⁹⁾，傳統上，前處理方式以強鹼破壞魚肉組織，分析物從魚肉中釋放，再以萃取方式收集 PAH_s。實驗過程相當耗時且需大量溶劑，廢液處理可能污染環境。

偵測 PAH_s 以氣相層析儀配合質譜偵測器⁽¹⁰⁾或液相層析儀配合螢光偵測器定量之⁽⁹⁾。因此本研究目的是發展一簡單的魚肉前處理方法，即以微波萃取方法配合高效能液相層析儀/螢光偵測器偵測魚肉中多苯環芳香族碳氫化合物及找尋最佳微波萃取條件，並進行燒烤食物樣品微波萃取測試。

三、研究材料與方法

3.1 儀器設備

1. 高效能液相層析儀器：幫浦 (pump)：ALCDDT 7600 系列梯度系統 (Micromotoritics, Georgia, USA)。偵測器 (Detector)：①紫外光偵測器 (UV) LINEAR UVIS 200 波長 = 254 nm (Linear, Nevada, USA) ②螢光偵測器 (Fluorescence) LINEAR FLUOR LC304 波長範圍：激發波長 = 200-650 nm 放射波長 = 200-650 nm (Linear, Nevada, USA)

2. 層析管柱：
(Shandon GmbH, Frankfurt, GERMANY)

內徑×長度：4.6×100 mm，填充粒徑：
5μm，官能基：C 18 聚合式 (polymoric)

3. 微波萃取系統: Microwave Extraction System MES-1000 (CEM- Corporation, North Carolina, U.S.A)

3.2 尋求最佳微波萃取條件試驗

鱸魚經剝皮、去骨後依 (圖一) 進行實驗，其中微波設定條件採用直交表法：針對四個實驗因子、低中高三個水準尋求最佳微波條件 (詳表一、表二)。

3.3 方法偵測極限試驗

配製 1~5 倍 HPLC/Flu 儀器偵測極限範圍內之待測物，重複分析 7 次計算所得之標準偏差，取 3 倍標準偏差求得方法偵測極限。

3.4 燒烤食物測試

選擇鱸魚及大眼鯛兩種魚，分成帶皮組與去皮組，各取 10g 置於烤肉架上以木炭進行燒烤約 30 分鐘後分組別直接移入微波萃取瓶內，再用微波最佳萃取條件進行萃取、淨化、濃縮、HPLC/Flu 分析。

四、結果與討論

4.1 最佳微波萃取條件試驗

實驗結果顯示：PAHs 二~六環經微波萃取各實驗因子有相似趨勢，故以三環為例 (詳表三、圖二)，最佳微波萃取條件：(1) 萃取溶劑—正己烷/丙酮(1:1)，(2) 萃取溫度—100°C，(3) 萃取時間—10 分鐘，(4) 微波功率—696.9 瓦。此外，添加 16 種 PAHs 儲備溶液於鱸魚肉上並以微波萃取最佳條件進行萃取、分析，所得 PAHs 平均回收率為：二環-93.25%，三環-96.72%，四環-86.74%，五環-81.03%，六環-131.83% (詳圖三)。

4.2 方法偵測極限試驗

由 (表四) 可看出以五環 BaP 方法偵測極限為最低，對照 PAHs 標準品層析圖譜可知此 BaP 起始被螢光偵測之靈敏度就

已經相當高。

4.3 燒烤食物測試

將鱸魚及大眼鯛以索氏萃取 (Soxhlet) 方法進行粗脂肪含量測定，分析結果：鱸魚粗脂肪含量為 1.997 ± 0.032 (%) 而大眼鯛粗脂肪含量為 3.373 ± 0.025 (%)。文獻⁽¹¹⁾指出脂肪含量較高的魚類，其經過煙燻調理過程後所產生多苯環芳香族碳氫化合物之量遠高於脂肪含量較低的魚類。因此，對照本實驗結果亦發現經過燒烤過程後大眼鯛較鱸魚產生較多之多苯環芳香族碳氫化合物，並且不論是在帶皮組或去皮組皆有此現象 (詳圖四、圖五)。

五、計畫成果自評

本計畫所獲結果如下：

- (1) 食品中添加多苯環芳香族碳氫化合物標準品後以微波萃取並搭配 HPLC/Flu 偵測，結果顯示二~六環 PAHs 經過最佳微波萃取條件所得回收率均大於 80%。因此，微波萃取為一可行之方法。
- (2) 配合試驗設計之直交表法找出微波萃取最佳條件為：
 - a. 萃取溶劑：正己烷/丙酮 (1 : 1)
 - b. 萃取溫度：100 °C
 - c. 萃取時間：10 分鐘
 - d. 微波功率：70 % (696.9 w)
- (3) 實驗結果顯示多苯環芳香族碳氫化合物以 HPLC/Flu 偵測，方法偵測極限為 0.006~0.624 ng/g 且實驗過程中精密度之標準偏差均要求在 20% 以內。
- (4) 燒烤食品實驗結果顯示：

脂肪含量較高之魚種經過燒烤過程後會產生較多 PAHs 且不論是在帶皮組或去皮組皆有此現象。

所獲成果與原計畫內容相符，且已經建立一簡易微波處理魚肉的方法。

六、參考文獻

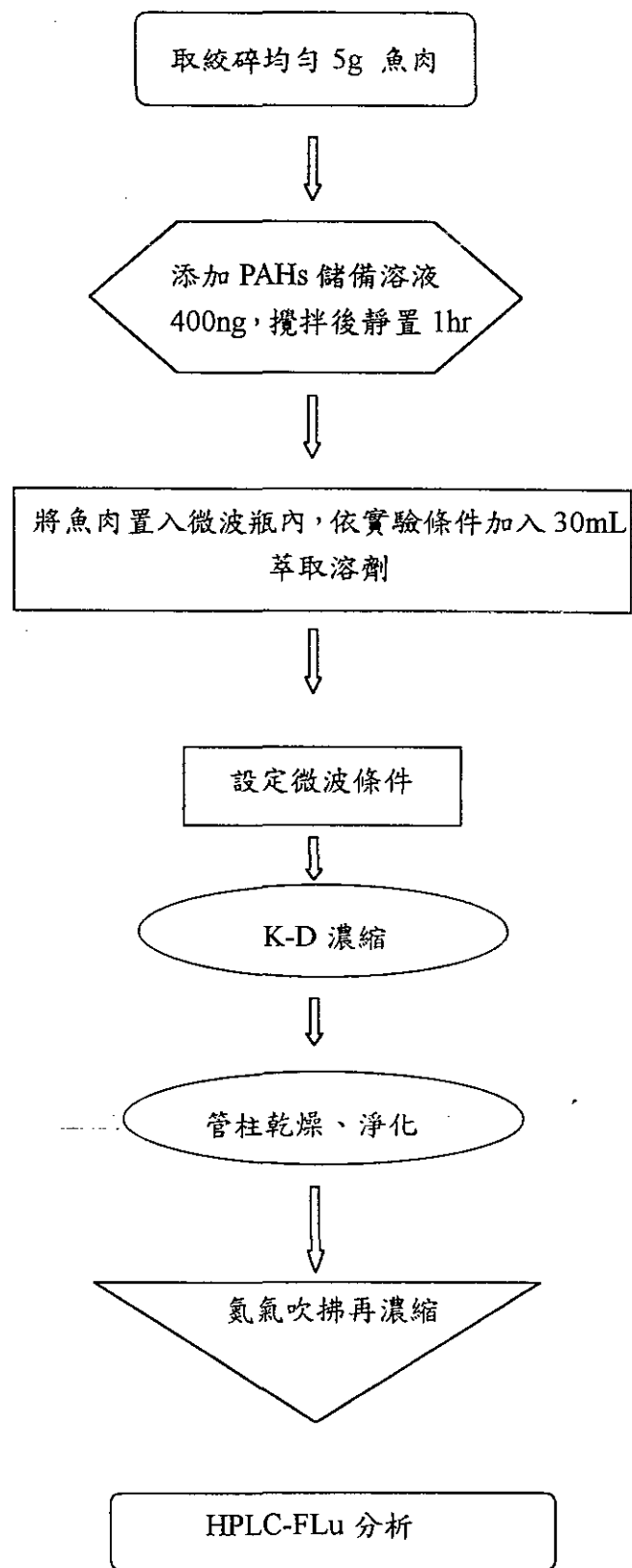
(1) 厲曙光，潘定華，汪國雄，“食油及

其加熱過程中之 BaP, DbahA 含量分析”，上海環境科學，第十卷第九期，pp.35-37, 1991.

- (2) 魏玉徵，周黃崑龍，“添加金屬溶液對焚化有機溶劑產生 PAHs 之影響”，第十二屆空氣污染控制技術研討會論文集，pp.539-546, 1995.
- (3) 魏玉徵，吳沁華，“排放源差異性對 PAHs 濃度及其分布之影響”，東海大學環境科學研究所碩士論文，1994.
- (4) C.A.Menzie, B.B.Potocki and J. Santodonato, “Exposure to Carcinogenic PAHs in environment”, Environ. Sci. Technol., Vol.26, pp.1278-1284, 1992.
- (5) 黃訓義，桂椿雄，“二仁河流域各河川河底底泥中多環芳香族碳氫化合物的分析”，化學，Vol.48, pp.201-211, 1990.
- (6) J. Josephson, “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons”, Envir. Sci. Technol., Vol.18, pp.93A-95A, 1984.
- (7) K. Yasuda, M. Kaneko and K. Sugiyama, “Basic Research on the emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Caused by Waste Incineration”, JAPCA, Vol.39, pp.1557-1561, 1989.
- (8) W.F. Sye, C.L. Lin and D.P. Yen, “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Formation Fuel and Additives Combustion”, J. Chin. Chem. Soc., Vol.35, pp.1-11, 1988.
- (9) K.Cejpek, J. Hajslova, Z. Jehlickova and J. Merhaut, “Simplified Extraction and Clean-up Procedure for the determination of PAHs in fatty and protein-rich matrices”, Interna. J. Environ. Anal. Chem., Vol.61, p65-80, 1995.
- (10) Kok Kay Chee, Ming Keong Wong

and Hian Kee Lee, "Optimization of microwave-assisted solvent extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in marine sediments using a microwave extraction detection and gas chromatography-mass spectrometry", J. of Chroma. A, Vol.723, pp.259-271, 1996.

- (11) Mary E. Zabik, Al Booren, Matthew J. Zabik, Robert Welch, Harold Humphrey, "Pesticide residues, PCBs and PAHs in baked, charbroiled, salt boiled and smoked Great Lakes lake trout", Food Chem. , Vol.55, No.3, pp.231, 1996.
- (12) 王世奇, "微波萃取食品中多苯環芳香族碳氫化合物之研究", 淡江大學水資源及環境工程研究所碩士論文 (1998)。



圖一. 添加試驗微波萃取流程圖

表一.微波萃取的 L9(3⁴)因子條件水準表

因子 水準	A. 萃取溶劑 (1:1)	B 萃取溫度 (°C)	C 萃取時間 (mins)	D 輸出功率 (%)
I	二氯甲烷/丙酮	100	10	70
II	丙酮 / 正己烷	115	3	90
III	二氯甲烷/甲醇	130	5	50

表二.實驗因子條件 L9(3⁴)組合表

組別	A因子	B因子	C因子	D因子
1	I	I	I	I
2	I	II	II	II
3	I	III	III	III
4	II	I	II	III
5	II	II	III	I
6	II	III	I	II
7	III	I	III	II
8	III	II	I	III
9	III	III	II	I

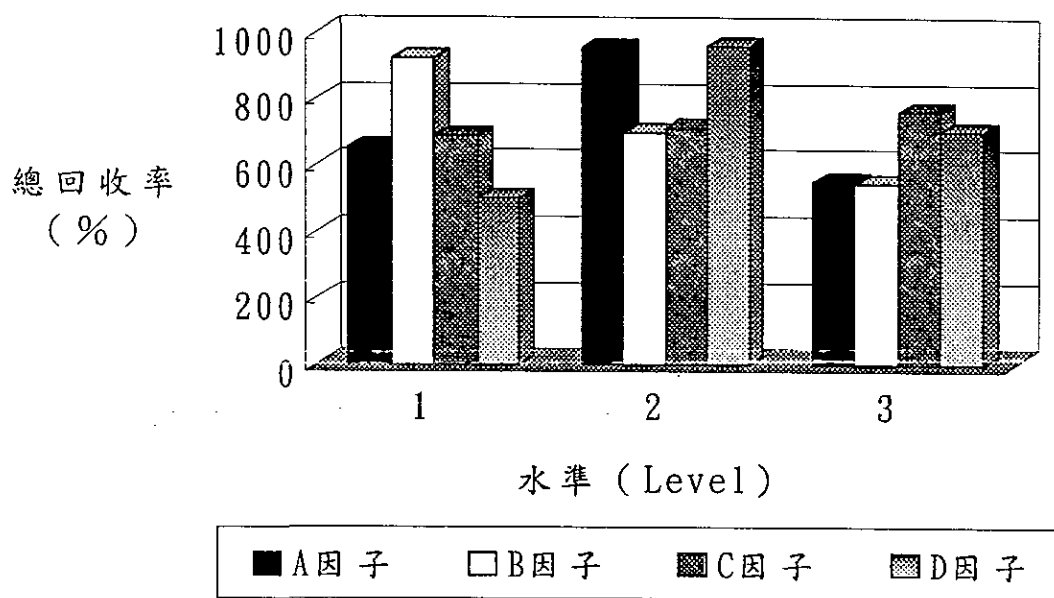
表四.HPLC/Flu 偵測魚肉中 PAHs 之方法偵測極限

PAHs	S.D.(ng)	偵測極限(3* S.D.)ng
Nap	1.04	3.12
Acp	0.01	0.04
Flu	0.29	0.87
Phe	1.02	3.07
Ant	0.36	1.08
Fl	0.81	2.43
Pyr	0.50	1.50
BaA	0.07	0.21
Chy	0.28	0.84
BbF	0.71	2.13
BkF	0.10	0.30
BaP	0.01	0.03
DaA	0.03	0.09
BghiP	0.40	1.20
Ip	0.14	0.42

n = 7

表三.微波萃取魚肉中PAHs(三環)直交表法結果

組別	A因子	B因子	C因子	D因子	總回收率(%)
1	I	I	I	I	380.3
2	I	II	II	II	194.0
3	I	III	III	III	83.40
4	II	I	II	III	301.7
5	II	II	III	I	386.9
6	II	III	I	II	268.9
7	III	I	III	II	242.3
8	III	II	I	III	116.2
9	III	III	II	I	193.2
水準 I 總和	657.6	924.2	765.3	960.3	
水準 II 總和	957.4	697.0	688.8	705.2	
水準 III 總和	551.7	545.4	712.6	501.2	
水準差異	405.7	378.8	76.46	459.1	
水準和	2166	2166	2166	2166	



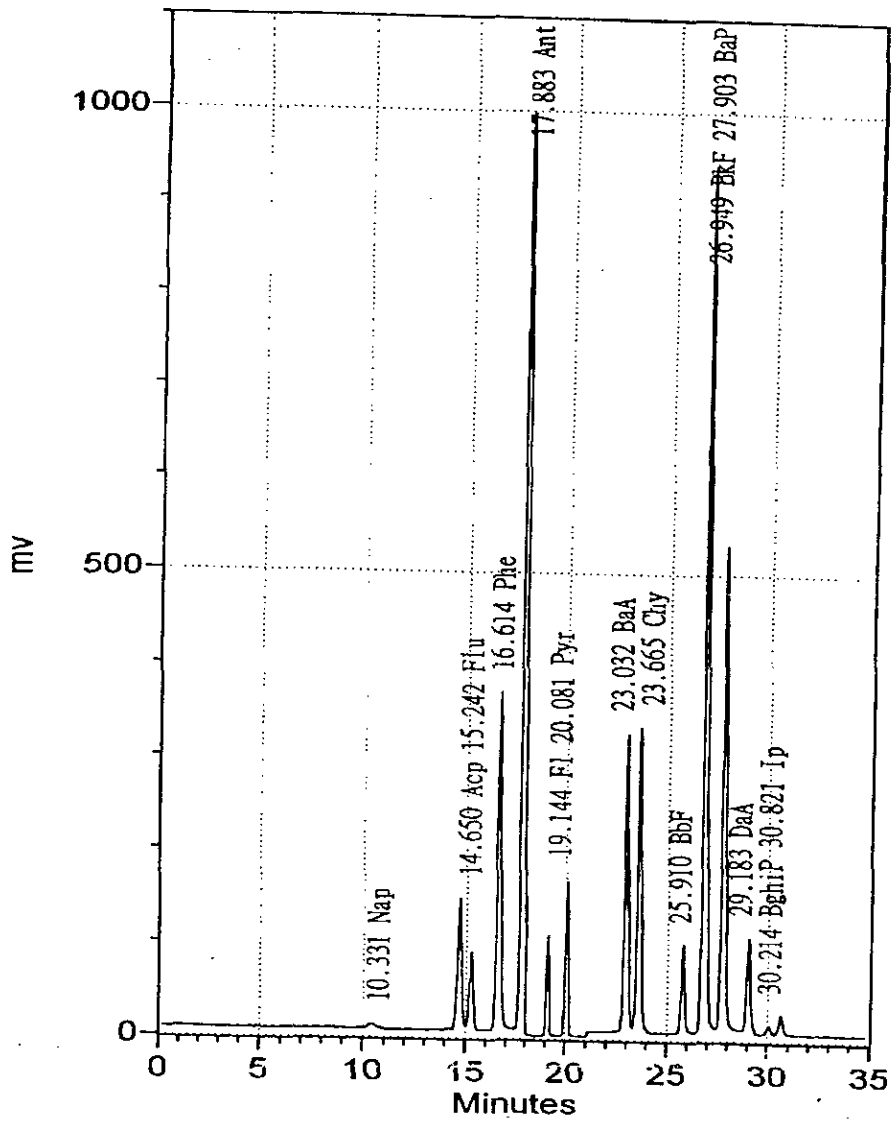
圖二.微波萃取魚肉中PAHs(三環) 各實驗因子之趨勢圖

A. 萃取溶劑(1:1): I 二氯甲烷/丙酮, II 正己烷/丙酮, III 二氯甲烷/甲醇

B. 萃取溫度(°C): 100, 115, 130

C. 萃取時間(min): 3, 5, 10

D. 微波功率(%): 50, 70, 90



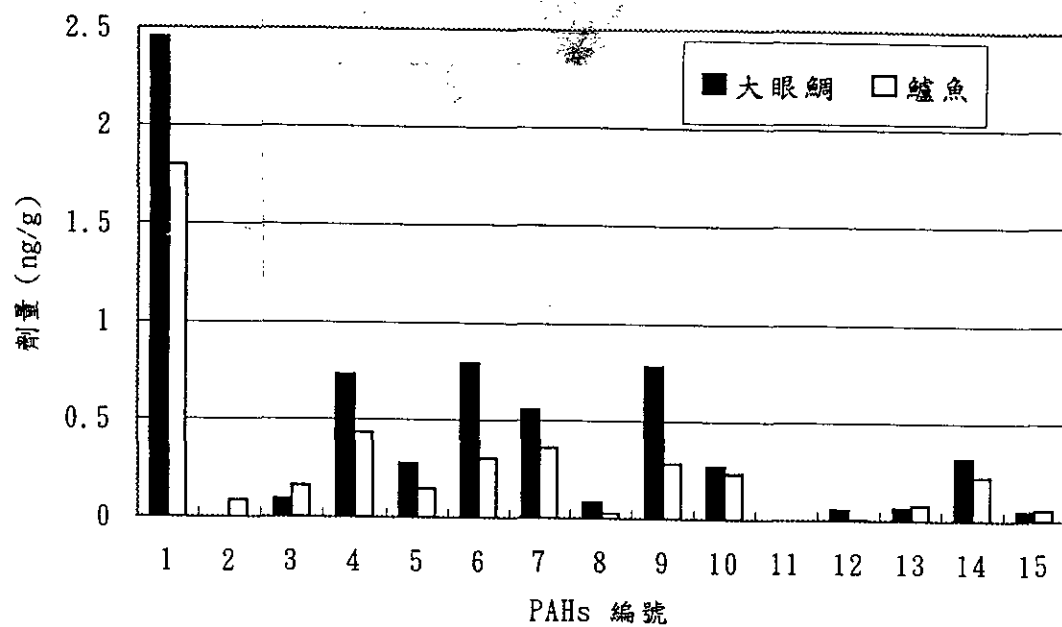
圖三.添加試驗最佳微波萃取條件萃取結果圖譜

管柱: C_{18} ; 管柱溫度: 25°C ; 流速: 1 mL/min ,

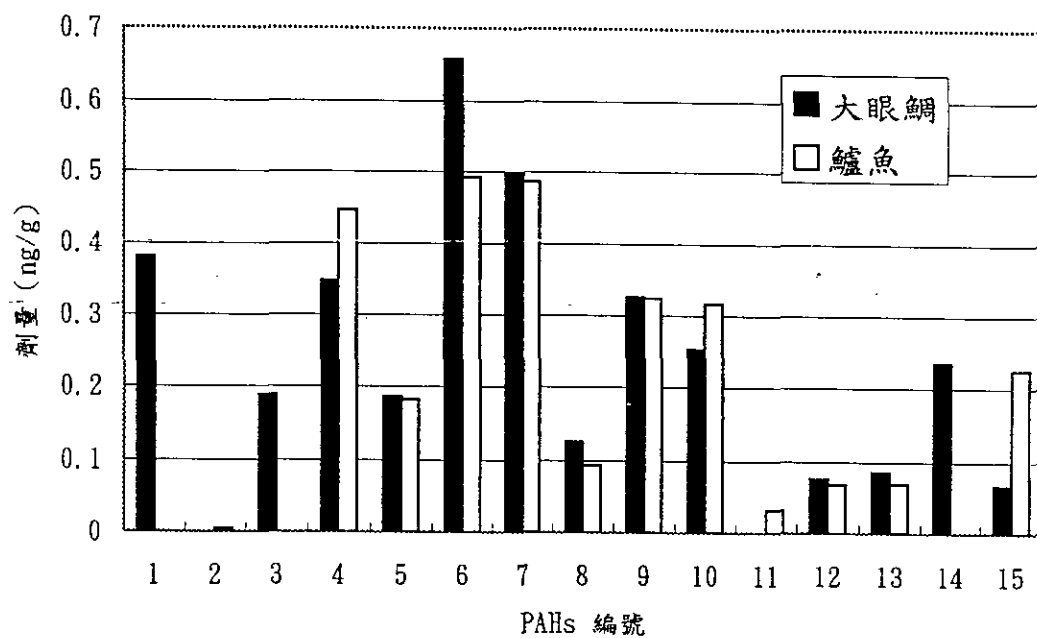
移動相: ($55\% \text{ H}_2\text{O} + 45\% \text{ ACN}$) $0\sim 6\text{ min}$,

($55\% \text{ H}_2\text{O} + 45\% \text{ ACN} \rightarrow 100\% \text{ ACN}$) $6\sim 25\text{ min}$,

($100\% \text{ ACN}$) $25\sim 35\text{ min}$



圖四.大眼鯛 (skin-on) 及鱸魚 (skin-on) 經燒烤產生 PAHs 之比較



圖五.燒烤大眼鯛 (skin-off) 及鱸魚 (skin-off) 產生 PAHs 之比較