

加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱 法测定鱼类中7种新型有机污染物

高卓瑶¹, 蒋玲波², 邓尚贵^{1*}, 唐雷鸣², 吴 侯², 倪鲁波², 周 勇²

(1. 浙江海洋大学食品与药学院, 舟山 316000; 2. 舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山 316000)

摘要: **目的** 建立加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法同时测定鱼类中7种新型有机污染物(咔唑和卤代咔唑类化合物)的分析方法。**方法** 样品与硅藻土研磨混匀后经加速溶剂萃取仪提取, 使用凝胶渗透色谱法净化并氮吹至近干, 用1 mL 丙酮复溶。目标化合物采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式分析, 外标法进行定量。**结果** 咔唑、3-氯咔唑、3-溴咔唑和3,6-二氯咔唑在0.5~50.0 μg/kg范围内线性关系良好, 相关系数 $r > 0.997$; 3,6-二溴咔唑、2,7-二溴咔唑和1,3,6,8-四溴咔唑在1.0~100.0 μg/kg范围内线性关系良好, 相关系数 $r > 0.998$ 。定量限(limits of quantification, LOQs)在0.50~1.00 μg/kg之间, 在各目标物的1 LOQs、2 LOQs和10 LOQs 3个加标水平下, 7种咔唑和卤代咔唑类化合物的平均回收率为87.22%~107.27%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为2.70%~8.17% ($n=6$)。**结论** 该方法自动化程度高、灵敏度高、稳定性好, 适用于鱼类中7种咔唑和卤代咔唑类化合物的检测。

关键词: 加速溶剂萃取; 凝胶渗透色谱法; 气相色谱-串联质谱法; 鱼类; 卤代咔唑

Determination of 7 kinds of emerging organic pollutants in fish by accelerated solvent extraction-gel permeation chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry

GAO Zhuo-Yao¹, JIANG Ling-Bo², DENG Shang-Gui^{1*}, TANG Lei-Ming²,
WU Yu², NI Lu-Bo², ZHOU Yong²

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China;
2. Zhoushan Institute of Food and Drug Inspection and Testing, Zhoushan 316000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 7 kinds of emerging organic pollutants in fish by accelerated solvent extraction-gel permeation chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were mixed and ground with diatomite and extracted by accelerated solvent extraction, purified by gel permeation chromatography, blow to nearly dryness by nitrogen, and redissolved in 1 mL acetone. They were analyzed in the multiple reaction monitoring (MRM) mode and quantified by external standard method. **Results** The carbazole, 3-chlorocarbazole, 3-bromo carbazole and 3,6-dichlorocarbazole showed good

基金项目: 浙江省高层次人才特殊支持计划项目(2021R51006)、浙江省舟山市公益类科技项目(2022C31071)

Fund: Supported by the Special Support Program for High-level Talents of Zhejiang Province (2021R51006), and the Scientific Research Project of Zhoushan City in Zhejiang Province (2022C31071)

*通信作者: 邓尚贵, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为海洋生物资源的加工和综合利用、海洋天然产物和水产品质量与安全。

E-mail: dengshanggui@163.com

*Corresponding author: DENG Shang-Gui, Ph.D, Professor, College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, No.1 Haida South Road, Changzhi Island, Lingcheng New District, Zhoushan 316000, China. E-mail: dengshanggui@163.com

linear relationships in the range of 0.5–50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with the correlation coefficient $r>0.997$; the 3,6-dibromo carbazole, 2,7-dibromo carbazole and 1,3,6,8-tetrabromo carbazole showed good linear relationships in the range of 1.0–100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with the correlation coefficient $r>0.998$. The limits of quantification (LOQs) were 0.50–1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the average recoveries of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles were 87.22%–107.27% at the 3 kinds of spike levels of LOQs, 2-fold LOQs and 10-fold LOQs. The relative standard deviations (RSDs) were 2.70%–8.17% ($n=6$).

Conclusion This method is highly automatic, process shightly sensitive, reasonably stable, and can be used for the determining of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles in fish.

KEY WORDS: accelerated solvent extraction; gel permeation chromatography; gas chromatography-tandem mass spectrometry; fish; polyhalogenated carbazoles

0 引言

咔唑(9H-carbazole, CZ)是多环含氮杂环有机物,被广泛用于染料、光电材料、农药等领域。卤代咔唑(polyhalogenated carbazoles, PHCZs)是指咔唑环上的氢原子被卤素原子(Cl、Br 或 I)取代后形成的一类新型有机污染物,其化学结构与多氯二苯并咪唑相类似。根据卤素原子的取代位置和数量不同,已发现 135 种 PHCZs 同系物^[1–2]。目前已在环境中检出 20 多种 PHCZs^[3]。施用氯苯胺类除草剂、生产多卤代靛蓝染料、合成光电半导体以及火山爆发等是造成环境中 PHCZs 污染的主要原因^[4]。PHCZs 性质稳定,难以降解,能长时间在环境中残留,且具有潜在持久性^[5]、生物积累性^[6–7]和远距离迁移性^[8]等特点。

近年来,卤代咔唑已被欧盟委员会定义为具有类二噁英毒性的有毒物质,且在 2004 年生效的《斯德哥尔摩公约》中,PHCZs 被列为持久性有机污染物^[9–14]。目前在水体、土壤、沉积物、空气乃至鱼类、贝类、海豹中均能检测到 PHCZs 的存在^[15–20]。膳食摄入是人类暴露 PHCZs 的主要途径,占人体总暴露量 90%以上。鱼类、贝类等作为餐桌常见食品,其受污染程度直接影响人类健康^[21]。此外,PHCZs 作为一类新型有机污染物,目前尚未建立系统的检测技术标准,也缺乏相关限量标准。因此,有必要建立鱼类中多种卤代咔唑的痕量分析方法,为相关部门监测鱼类中卤代咔唑的污染现状提供科学基础。

鱼类样品具有高脂肪、高蛋白质等特点,干扰组分较多^[22],且卤代咔唑含量水平极低,样品前处理过程是方法建立的关键点。针对生物样品,卤代咔唑的提取方法主要有索氏提取法、超声提取法、加速溶剂萃取法(accelerated solvent extraction, ASE)等^[23–26]。索氏提取法过程复杂,且试剂用量大。超声提取法虽快捷简便但提取效果不佳。相较之下,ASE 具有自动化程度高、重复性好、溶剂用量小等优点,已广泛用于有机化合物的提取。分析方法主要有气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、气相色谱-高分辨质谱法(gas chromatography-high resolution mass spectrometry, GC-HRMS)和超高效液相色谱-串联质谱法(ultra

performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)等^[27–31]。GC-MS 灵敏度较低,受基质干扰严重。GC-HRMS 选择离子的精确质量数可精确至小数点后 4 位,具有抗干扰性强、灵敏度高等特点^[32],但该设备价格昂贵,限制了其应用。GC-MS/MS 具有高选择性、高灵敏度的优势,且已广泛用于食品、环境样品中有机化合物的检测。

本研究以鱼类为研究对象,基于 ASE 技术和凝胶渗透色谱技术(gel permeation chromatography, GPC),并结合气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS),建立一种能同时测定鱼类中 7 种咔唑和卤代咔唑的方法,以期为有关部门监管水产品中卤代咔唑污染状况提供科学的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本研究所用大黄鱼、鲳鱼、带鱼、罗非鱼样品均从舟山市各农贸市场、码头随机购买。

丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、环己烷(色谱纯,德国 Merck 公司);咔唑、3-氯咔唑、3-溴咔唑、3,6-二氯咔唑、3,6-二溴咔唑、2,7-二溴咔唑、1,3,6,8-四溴咔唑标准品(纯度 $\geq 98\%$,杭州唯开科器贸易有限公司);实验用水(经 Milli-Q 净化的超纯水,美国密理博公司);硅藻土(型号 062819,美国赛默飞世尔科技公司)。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪、Agilent HP-5MS 色谱柱(30 m \times 250 μm , 0.25 μm)(美国安捷伦科技有限公司);Dionex ASE 350 加速溶剂萃取仪(美国赛默飞世尔科技公司);Freestyle SPE EVA 凝胶渗透色谱仪、Bio-Beads S-X3 色谱柱(470 mm \times 40 mm, 填料粒度 200~400 目)(德国 LCTech 公司);AVANTIJ-E 大容量高速冷冻离心机(美国 BEAKMAN 公司);N-2110 氮吹浓缩仪(日本 EYELA 公司);BSA224S-CW 电子天平(精度 0.1 mg, 德国赛多利斯科学仪器有限公司);Multi Reax 多孔位旋涡振荡器(德国海道尔夫公司);Milli-Q 超纯水仪(美国密理博公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取或吸取上述 7 种咪唑和卤代咪唑标准品, 用丙酮溶解并分别配制成 10 mg/mL 的单标准储备液。分别准确吸取 1.0 mL 7 种单标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 用丙酮溶解并配制成 1 mg/mL 的混合标准中间溶液。于 -20°C 条件下避光保存, 有效期为 2 个月。

1.3.2 样品前处理

制样: 取鱼类样品可食部分切成块状后放入冷冻干燥机, 进行冷冻干燥并研磨过筛, 备用。

提取: 称取 2.00 g 样品与 6.00 g 硅藻土(精确至 0.01 g) 混匀, 并装入底部垫有玻璃纤维滤膜的萃取池内。以二氯甲烷(色谱纯)为萃取溶剂, 在 100°C 、1500 psi 条件下进行萃取 5 min, 循环萃取 2 次, 萃取完成后, 将萃取液氮吹浓缩至 10 mL 得到提取液。

净化: 利用凝胶渗透色谱仪对提取液进行净化, 收集 3~13 min 流出液, 氮吹浓缩至近干, 用 1 mL 丙酮复溶, 过 0.22 μm 有机滤膜后得到净化液, 待测。

1.3.3 仪器条件

(1) 凝胶渗透色谱条件

色谱柱: Bio-Beads S-X3 (470 mm \times 40 mm, 填料粒度 200~400 目); 流动相: 乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V); 流速: 4.5 mL/min; 运行时间: 35 min; 收集时间: 3~13 min。

(2) 色谱条件

色谱柱: Agilent HP-5MS (30 m \times 250 μm , 0.25 μm); 升温程序: 起始温度为 50°C , 并保持 3 min, 再以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 300°C , 并保持 10 min; 载气为氮气, 其流速 1.1 mL/min; 恒压, 压力: 8.4679 psi; 进样口温度: 280°C , 进样量 1 μL ; 进样模式为不分流进样。

(3) 质谱条件

电子轰击(electron impact, EI)离子源, 电子能量为 70 eV; 碰撞气体为氮气; 数据采集模式为多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM); 离子源温度: 280°C ; 四极杆温度: 280°C ; 溶剂延迟时间: 5 min。各咪唑和卤代咪唑化合物的质谱参数见表 1。

1.4 数据处理

所有实验数据均采用 Origin 8.0、Microsoft Excel 2016

软件进行作图及分析。

2 结果与分析

2.1 提取条件优化

ASE 是利用有机溶剂在高温高压的条件下进行自动化萃取。本研究使用 ASE 技术提取鱼类样品中的咪唑和卤代咪唑类化合物, 其提取效果与萃取溶剂、萃取温度、循环次数等因素密切相关。

2.1.1 提取溶剂选择

咪唑和卤代咪唑类化合物为弱极性化合物, 本研究比较了甲醇、正己烷、二氯甲烷、丙酮 4 种提取溶剂对 7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的提取效果, 结果见图 1。实验结果表明, 二氯甲烷和丙酮的提取效果优于正己烷和甲醇。考虑到丙酮为强极性溶剂, 且水产品中含有脂肪、蛋白质等杂质, 提取液中会有较多干扰组分, 加重净化负担, 因此, 选用二氯甲烷为 ASE 提取溶剂。

2.1.2 萃取温度选择

温度是影响 ASE 的重要参数之一。升高萃取温度有助于破坏目标化合物和基质间的作用力, 从而增加目标物转移到溶剂中的能力。本研究以二氯甲烷为提取溶剂, 比较了 80°C 、 90°C 、 100°C 、 110°C 4 种温度下 7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的提取效果, 结果见图 2。实验结果表明, 目标物的提取效果随温度的升高有明显提升。当萃取温度达 100°C 和 110°C 时, 目标物的回收率较为理想且差别不明显。但萃取温度越高, 溶剂中的共萃取物也会越多, 干扰后续实验。综合考虑, 设定 ASE 的萃取温度为 100°C 。

2.1.3 循环次数选择

在其他 ASE 条件确定的情况下, 考察了循环次数(1 次、2 次、3 次)对 7 种咪唑和卤代咪唑化合物回收率的影响, 结果见图 3。实验结果表明, 循环提取 1 次时, 目标物的回收率在 62.0%~74.0% 之间, 循环萃取次数增加到 2 次时, 回收率可提升至 90.0%~98.0%。但循环提取 2 次和 3 次的提取效果差别不大, 且增加 1 次循环会延长提取时间约 15 min, 多消耗溶剂约 20 mL。综合考虑, 确定 ASE 的循环提取次数为 2 次。

表 1 7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles

化合物	特征离子对(m/z)	保留时间/min	碰撞电压/eV
咪唑	167.1 \rightarrow 139.1*, 167.1 \rightarrow 115.1	20.003	35, 35
3-氯咪唑	201.0 \rightarrow 166.1*, 201.0 \rightarrow 140.1	22.682	25, 35
3-溴咪唑	244.9 \rightarrow 166.18*, 244.9 \rightarrow 139.1	23.800	25, 35
3,6-二氯咪唑	234.9 \rightarrow 200.1*, 234.9 \rightarrow 164.1	25.156	25, 35
3,6-二溴咪唑	324.9 \rightarrow 165.1*, 324.9 \rightarrow 246.0	27.125	35, 25
2,7-二溴咪唑	324.9 \rightarrow 165.1*, 324.9 \rightarrow 244.0	27.249	25, 25
1,3,6,8-四溴咪唑	482.7 \rightarrow 322.9*, 482.7 \rightarrow 402.0	29.478	35, 25

注: *为定量离子对。

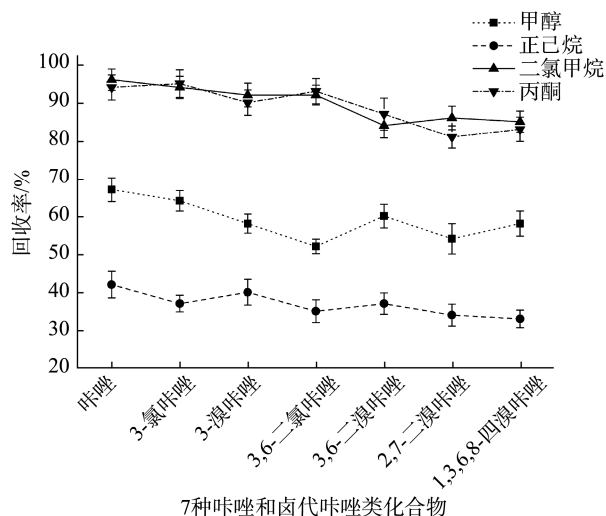


图 1 提取溶剂对 7 种咔唑和卤代咔唑类化合物回收率的影响(n=3)

Fig.1 Effects of extraction solvents on the recoveries of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles (n=3)

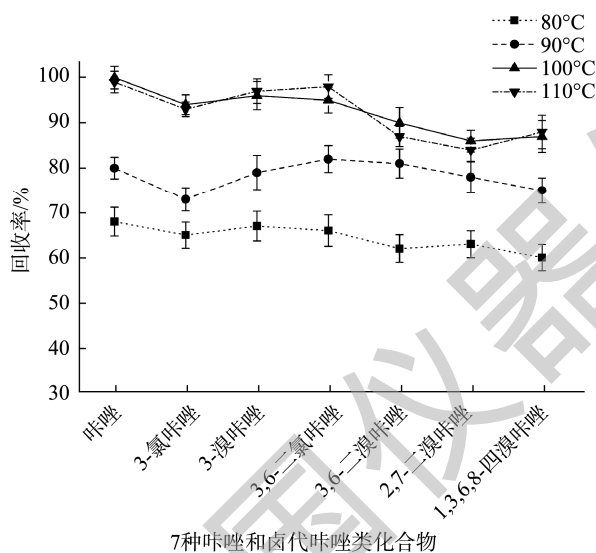


图 2 萃取温度对 7 种咔唑和卤代咔唑类化合物回收率的影响(n=3)

Fig.2 Effects of extraction temperatures on the recoveries of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles (n=3)

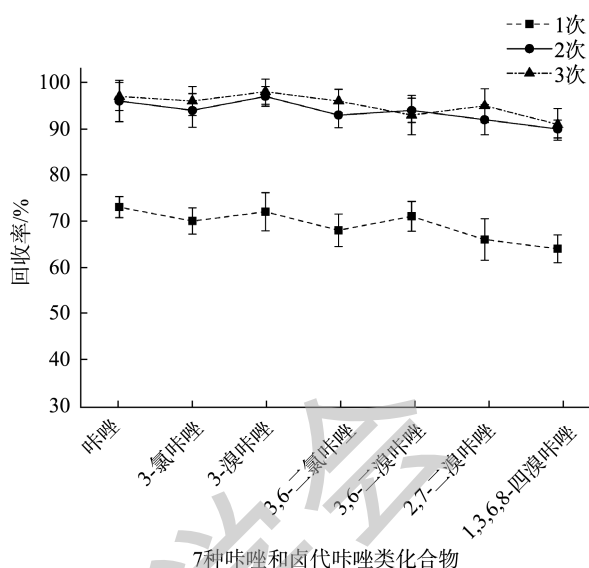


图 3 循环次数对 7 种咔唑和卤代咔唑类化合物回收率的影响(n=3)

Fig.3 Effects of numbers of cycles on the recoveries of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles (n=3)

2.2 净化条件优化

鱼类样品基质复杂, 若将提取液直接进行上机检测, 不利于准确性定量, 因此有必要增加净化除杂步骤。凝胶渗透色谱技术是基于空间排阻原理, 利用目标化合物间分子量差异在色谱柱上保留时间也不同, 从而达到分离净化的目的。本研究以 7 种咔唑和卤代咔唑混合标准溶液进行实验, 分别收集了 7 个不同时间段的流出液进行检测, 各时间段流出液的定性结果见表 2。由此判断, 咔唑和 3-氯咔唑的流出时间为 3~9 min, 3-溴咔唑的流出时间为 5~9 min, 3,6-二氯咔唑的流出时间为 5~11 min, 3,6-二溴咔唑的流出时间为 7~11 min, 2,7-二溴咔唑和 1,3,6,8-四溴咔唑的流出时间为 7~13 min, 且在 1~3 min 和 13~15 min 的流出液中未检测到卤代咔唑类化合物。因此, 最终确定流出液的收集时间为 3~13 min。

表 2 不同时间段流出组分

Table 2 Distillate components at different time periods

化合物	收集时间段/min						
	1~3	3~5	5~7	7~9	9~11	11~13	13~15
咔唑	-	+	+	+	-	-	-
3-氯咔唑	-	+	+	+	-	-	-
3-溴咔唑	-	-	+	+	-	-	-
3,6-二氯咔唑	-	-	+	+	+	-	-
3,6-二溴咔唑	-	-	-	+	+	-	-
2,7-二溴咔唑	-	-	-	+	+	+	-
1,3,6,8-四溴咔唑	-	-	-	+	+	+	-

注: +表示有检出, -表示未检出。

2.3 色谱条件优化

咪唑和卤代咪唑类化合物均为弱极性化合物,故选用弱极性色谱柱。对比了 HP-5MS (30 m×250 μm, 0.25 μm) 和 DB-5MS (30 m×250 μm, 0.25 μm) 两种色谱柱对混合标准溶液的分离效果并对升温程序和载气流速等条件进行了优化。结果表明,采用 Agilent HP-5MS 色谱柱时,各目标化合物的分离效果较高,且响应较好、无杂峰干扰。故选用 Agilent HP-5MS (30 m×250 μm, 0.25 μm) 色谱柱为分离柱,所得总离子流图如图 4 所示。

2.4 质谱条件优化

在 1.3.3(2) 设定的气相色谱条件下,采用全扫描模式对 7 种咪唑和卤代咪唑混合标准溶液进行一级质谱全扫描,选取丰度高且质量数较大的离子作为母离子并分别确定保留时间。在产物离子模式下对母离子进行二级质谱扫描得到子离子,并对碰撞能量、碰撞电压等质谱条件进行优化。优化后的质谱参数见表 1。

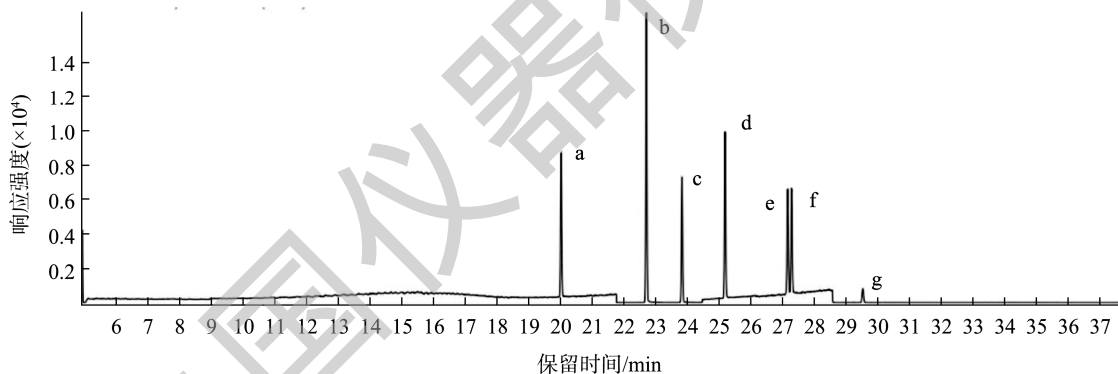
2.5 线性关系和灵敏度

吸取适量的混合标准中间液,用丙酮逐级稀释成所需浓度的混合系列标准工作液,并在 1.3.3 的仪器条件下进行

分析检测。以各目标物的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标,对应的色谱峰面积(Y)为纵坐标,使用外标法绘制标准曲线,计算线性方程和相关系数。以 3 倍信噪比(S/N)计算检出限,以 10 倍信噪比(S/N)计算定量限。由表 3 可知,咪唑、3-氯咪唑、3-溴咪唑和 3,6-二氯咪唑在 0.5~50.0 μg/kg 的浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.997,检出限和定量限分别为 0.20 和 0.50 μg/kg。3,6-二溴咪唑、2,7-二溴咪唑和 1,3,6,8-四溴咪唑在 1.0~100.0 μg/kg 的浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.998,检出限和定量限分别为 0.40 和 1.00 μg/kg。说明本研究建立的检测方法能满足定量要求。

2.6 回收率与精密度

取空白鱼类样品,添加适量 7 种咪唑和卤代咪唑混合标准溶液,加标水平分别为各 PHCZs 的 1 倍定量限、2 倍定量限和 10 倍定量限,且各浓度水平平行制备 6 份。按 1.3.2 所述方法进行前处理,并在 1.3.3 仪器条件下进行测定,结果见表 4。由表 4 可知,7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的平均回收率为 87.22%~107.27%,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 2.70%~8.17%,该方法稳定、可靠、具有良好的准确度和精密度,能满足在鱼类中同时检测 7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的需求。



注: a: 咪唑; b: 3-氯咪唑; c: 3-溴咪唑; d: 3,6-二氯咪唑; e: 3,6-二溴咪唑; f: 2,7-二溴咪唑; g: 1,3,6,8-四溴咪唑。

图 4 7 种咪唑和卤代咪唑标准工作液总离子流图(10 ng/mL)

Fig.4 Total ion chromatogram of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles standard working solution (10 ng/mL)

表 3 7 种咪唑和卤代咪唑类化合物的线性范围、检出限和定量限

Table 3 Linearity ranges, limits of detection and limits of quantification of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles

化合物	线性范围/(μg/kg)	标准曲线方程	相关系数(r)	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
咪唑	0.5~50.0	$Y=25151.66X-15585.41$	0.9998	0.20	0.50
3-氯咪唑	0.5~50.0	$Y=34210.07X-33886.80$	0.9993	0.20	0.50
3-溴咪唑	0.5~50.0	$Y=12442.91X-13729.99$	0.9989	0.20	0.50
3,6-二氯咪唑	0.5~50.0	$Y=15154.30X-23285.04$	0.9974	0.20	0.50
3,6-二溴咪唑	1.0~100.0	$Y=4608.46X-5763.55$	0.9984	0.40	1.00
2,7-二溴咪唑	1.0~100.0	$Y=3996.20X-4917.56$	0.9982	0.40	1.00
1,3,6,8-四溴咪唑	1.0~100.0	$Y=493.49X-423.64$	0.9991	0.40	1.00

表4 鱼类样品中7种咔唑和卤代咔唑的平均回收率和RSDs (n=6)

Table 4 Average recoveries and RSDs of 7 kinds of carbazole and polyhalogenated carbazoles in fish samples (n=6)

化合物	加标浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率/%	RSDs/%
咔唑	0.5	90.25	2.73
	1.0	98.32	4.32
	5.0	101.82	3.70
3-氯咔唑	0.5	90.33	2.70
	1.0	93.18	5.22
	5.0	107.27	3.64
3-溴咔唑	0.5	93.75	3.68
	1.0	87.22	4.84
	5.0	101.32	2.88
3,6-二氯咔唑	0.5	100.92	3.74
	1.0	93.20	4.46
	5.0	94.37	6.14
3,6-二溴咔唑	1.0	98.67	5.20
	2.0	94.07	4.74
	10.0	99.68	8.17
2,7-二溴咔唑	1.0	97.58	4.34
	2.0	95.35	4.99
	10.0	97.71	5.47
1,3,6,8-四溴咔唑	1.0	98.75	6.64
	2.0	98.10	6.59
	10.0	97.90	7.43

2.7 实际样品检测

随机抽取大黄鱼、鲳鱼、带鱼、罗非鱼样品各25批次共100批次,利用本研究建立的方法进行测定其7种咔唑和卤代咔唑类化合物含量。结果显示,大黄鱼、鲳鱼、带鱼、罗非鱼中7种咔唑和卤代咔唑类化合物检出率高达58%。这些阳性样品中各目标物均有一定量的检出,其中

3-溴咔唑、3,6-二氯咔唑、3,6-二溴咔唑、2,7-二溴咔唑含量普遍较高,检测值在0.6~1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内。可见,舟山市售的鱼类受咔唑和卤代咔唑类化合物污染较为严重,在后续的研究中,不仅需要扩大样品的采集地区、增加样品数量,还有必要对其他种类的水产品进行监测。

2.8 与现有方法的对比

本方法与现有方法进行了对比,结果见表5。ZHOU等^[33]建立的UPLC-MS/MS检出限能达到0.003~0.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$,但仅适用于沉积物;FROMME等^[16]采用索氏提取法提取粉尘中的卤代咔唑。虽然索氏提取设备操作简单,但其耗时长且溶剂消耗量大;周佳怡^[34]针对蚯蚓建立的QuEChERS前处理方法,不适用于高脂肪、高蛋白质的鱼类样品;XU等^[29]建立的高效液相色谱法检出限仅为2~14 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且所能测定的卤代咔唑种类较少。本方法采用ASE和凝胶渗透色谱进行前处理,不仅节省了时间、人力、物力,还提高了方法的可重复性。此外,本方法的检出限可达0.20~0.40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。经方法验证和实际样品测定,本方法切实可行。

3 结论

本研究中以复杂的鱼类样品为实验对象,优化了前处理方法,并选用高选择性、高灵敏度的GC-MS/MS进行分析测定,该方法的检出限为0.20~0.40 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为0.50~1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$,达到了超痕量级。同时该方法使用加速溶剂萃取仪、凝胶渗透色谱仪等自动化仪器,提高了前处理过程的自动化程度,一方面解放了人力,另一方面提高了方法精密度和稳定性。通过对实际样品的分析测定,鱼类样品中PHCZs的检出率大于50%,而目前我国缺乏水产品中卤代咔唑限量标准,因此相关部门有必要对水产品中的PHCZs作出限量要求,并制定相应法规,从而保障我国消费者的食品安全。本研究建立的方法实现了对鱼类中多种咔唑和卤代咔唑的同时分析检测,为相关部门监测鱼类中新型有机污染物提供了科学的技术支撑。

表5 与现有方法的对比结果

Table 5 Results of comparison with existing methods

分析基质	前处理技术	仪器分析方法	加标回收率/%	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
沉积物	ASE	UPLC-MS/MS	64.8~124.7	0.003~0.22	[33]
	SPE柱净化				
粉尘	索氏提取	GC-MS/MS	大于70	0.004~0.7	[16]
蚯蚓	QuEChERS	GC-MS	71.21~105.04	0.049~0.39	[34]
海产品	超声提取	HPLC	65.7~118.3	2~14	[29]
	凝胶渗透色谱 固相萃取				
鱼类	ASE 凝胶渗透色谱	GC-MS/MS	87.22~107.27	0.20~0.40	本文

注: 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)。

参考文献

- [1] 周珊珊, 楼晓峰. 环境中多卤代咔唑的赋存及分析方法研究进展[J]. 浙江工业大学学报, 2022, 50(4): 449-456.
ZHOU SS, LOU XF. Research progress of occurrence and analytical methods of polyhalogenated carbazoles in environment [J]. Zhejiang Univ Technol, 2022, 50(4): 449-456.
- [2] ZHANG Y, ZHENG M, ZHENG L, *et al.* Polyhalogenated carbazoles in sediments from the intertidal zone of the New River Estuary, China: Distribution, inventory, and ecological risks [J]. Mar Pollut Bull, 2019, 149: 110632.
- [3] 林坤德, 陈艳秋, 袁东星. 新型污染物卤代咔唑的环境行为及生态毒理效应[J]. 环境科学, 2016, 37(4): 1576-1583.
LIN KD, CHEN YQ, YUAN DX. Environment behaviors and ecotoxicology of the emerging contaminants polyhalogenated carbazoles [J]. Environ Sci, 2016, 37(4): 1576-1583.
- [4] WU Y, TAN H, SUTTON R, *et al.* From sediment to top predators: Broad exposure of polyhalogenated carbazoles in San Francisco Bay (USA) [J]. Environ Sci Technol, 2017, 51: 2038-2046.
- [5] WU Y, QIU Y, TAN H, *et al.* Polyhalogenated carbazoles in sediments from Lake Tai (China): Distribution, congener composition, and toxic equivalent evaluation [J]. Environ Pollut, 2017, 220: 142-149.
- [6] WU Y, TAN H, ZHOU C, *et al.* Bioaccumulation and spatiotemporal trends of polyhalogenated carbazoles in Great Lakes fish from 2004 to 2016 [J]. Environ Sci Technol, 2018, 52: 4536-4545.
- [7] SU Q, LI CJ, DONG MF, *et al.* Soil to earthworm bioaccumulation of polyhalogenated carbazoles and related compounds: Lab and field tests [J]. Environ Pollut, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120475>
- [8] MUMBO J, HENKELMANN B, ABDELAZIZ A, *et al.* Persistence and dioxin-like toxicity of carbazole and chlorocarbazoles in soil [J]. Environ Sci Pollut Res, 2015, 22: 1344-1356.
- [9] XIA C, LAM JCW, WU X, *et al.* Polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fishes from China: Levels, distribution and risk assessment [J]. Chemosphere, 2012, 89(8): 944-949.
- [10] FANG M, GUO J, CHEN D, *et al.* Halogenated carbazoles induce cardiotoxicity in developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. Environ Toxicol Chem, 2016, 35: 2523-2529.
- [11] JI C, SHEN C, ZHOU Y, *et al.* AhR agonist activity confirmation of polyhalogenated carbazoles (PHCZs) using an integration of *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* models [J]. Environ Sci Technol, 2019, 53: 14716-14723.
- [12] JI C, YAN LY, CHEN S, *et al.* Evaluation of the developmental toxicity of 2,7-dibromocarbazole to zebrafish based on transcriptomics assay [J]. Hazard Material, 2019, 368: 514-522.
- [13] DU ZK, HOU KX, ZHOU TT, *et al.* Polyhalogenated carbazoles (PHCZs) induce cardiotoxicity and behavioral changes in zebrafish at early developmental stages [J]. Sci Total Environ, 2022, 1: 841.
- [14] 刘盈燕. 多卤代咔唑和溴代阻燃剂在加利福尼亚地区港海豹(*Phoca vitulina*)中的污染特征[D]. 广州: 暨南大学, 2019.
LIU KY. Contamination characteristics of polyhalogenated carbazole and brominated flame retardants in harbor seals (*Phoca vitulina*) in the California region [D]. Guangzhou: Jinan University, 2019.
- [15] GUO J, CHEN D, POTTER D, *et al.* Polyhalogenated carbazoles in sediments of Lake Michigan: A new discovery [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48: 12807-12815.
- [16] FROMME H, MI W, LAHRZ T, *et al.* Occurrence of carbazoles in dust and air samples from different locations in Germany [J]. Sci Total Environ, 2018, 610: 412-418.
- [17] KUEHL DW, DRUHAN E, BUTTERWORTH BC, *et al.* Tetrachloro-9H-carbazole, a previously unrecognized contaminant in sediments of the Buffalo River [J]. J Great Lakes Res, 1984, 10: 210-214.
- [18] KRONIMUS A, SCHWARZBAUER J, DSIKOWITZKY L, *et al.* Anthropogenic organic contaminants in sediments of the Lippe river, Germany [J]. Water Res, 2004, 38: 3473-3484.
- [19] TROBS L, HENKELMANN B, LENOIR D, *et al.* Degradative fate of 3-chlorocarbazole and 3,6-dichlorocarbazole in soil [J]. Environ Sci Poll Res, 2011, 18: 547-555.
- [20] XU X, WANG D, LI C, *et al.* Characterization of the reactivity and chlorinated products of carbazole during aqueous chlorination [J]. Environ Pollut, 2017, 225: 412-418.
- [21] DENG ZC, HU ST, TANG LM, *et al.* Carbazole and polyhalogenated carbazoles in the marine environment around the Zhoushan Archipelago: Distribution characteristics, environmental behavior, and sources [J]. J Hazard Mater, 2023, 1: 442.
- [22] 蒋玲波, 高卓瑶, 唐雷鸣, 等. QuEChERS 技术结合气相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 10 种亚硝胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 27-33.
JIANG LB, GAO ZY, TANG LM, *et al.* Simultaneous determination of 10 kinds of nitrosamines in aquatic products by QuEChERS combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(4): 27-33.
- [23] GRIGIRIADOU A, SCHWARZBAUER J. Non-target screening of organic contaminants in sediments from the industrial coastal area of Kavala City (NE Greece) [J]. Water Air Soil Poll, 2011, 214: 623-643.
- [24] 徐鸿雁. 海洋环境中新型卤代有机污染物的高通量分析方法研究及应用[D]. 青岛: 青岛大学, 2021.
XU HY. Research and application of high-throughput analytical methods for novel halogenated organic pollutants in the marine environment [D]. Qingdao: Qingdao University, 2021.
- [25] SUN YX, ZHENG MH, YANG LL, *et al.* Progress of congener specific analysis of polyhalogenated carbazoles in the environment [J]. Trends Anal Chem, 2022, 1: 157.

- [26] HU HM, ZHAO MR, JIN HB, *et al.* Determination of polyhalogenated carbazoles in waters at low nanogram-per-liter concentrations with solid-phase disk extraction [J]. *J Sep Sci*, 2021. DOI: 10.1002/jssc.202100493
- [27] SUN YX, YANG LL, CHEN CZ, *et al.* Method development for determination of polyhalogenated carbazoles in industrial waste through gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spec*, 2022, 36(14): 36.
- [28] HU HM, ZHAO MR, GUO YM, *et al.* Occurrence, bioaccumulation and potential risk of polyhalogenated carbazoles in marine organisms from the East China Sea [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 807: 150643.
- [29] XU HY, ZHENG MG, WANG L, *et al.* High throughput extraction strategy for simultaneous analysis of 19 tetrabromobisphenol A and halogenated carbazole analogs in seafood [J]. *Food Chem*, 2021, 1: 350.
- [30] TAO WQ, ZHOU ZG, SHEN L, *et al.* Determination of polyhalogenated carbazoles in soil using gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 1: 710.
- [31] 王昆, 黄新文, 林坤德. 液相色谱-串联质谱前驱离子扫描非靶向筛查卤代有机物[J]. *分析化学*, 2018, 46(11): 1821-1828.
- WANG K, HUANG XW, LIN KD. Non-target screening of halogenated organic compounds using liquid chromatography-tandem mass spectrometry precursor ion scan [J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(11): 1821-1828.
- [32] 江丰, 余婷婷, 李珉, 等. 加速溶剂萃取同步净化-同位素内标-气相色谱-高分辨质谱测定水产品中 32 种多氯联苯[J]. *色谱*, 2020, 38(7): 853-860.
- JIANG F, YU TT, LI M, *et al.* Non-target screening of halogenated organic compounds using liquid chromatography-tandem mass spectrometry precursor ion scan [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(7): 853-860.
- [33] ZHOU WX, HUANG W, LIN KD. Analysis of polyhalogenated carbazoles in sediment using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Ecotox Environ Saf Chin*, 2019, 170: 148-155.
- [34] 周佳怡. 土壤中多卤代咪唑在蚯蚓体内得积累效应[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020.
- ZHOU JY. Accumulation effect of polyhalocarbazole in earthworms in soil [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2020.

(责任编辑: 于梦娇 黄周梅)

作者简介



高卓瑶, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与贮藏安全。
E-mail: 1433402191@qq.com



邓尚贵, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为海洋生物资源的加工和综合利用、海洋天然产物和水产品质量与安全。
E-mail: dengshanggui@163.com