

doi: 10.12452/j.fxcxb.25061602

离心辅助冷诱导相分离/液相色谱-高分辨质谱法 测定海产品中11种卤代咔唑

詹志鹏¹, 李红¹, 李敬光², 陈达炜^{1,2*}

(1. 锦州医科大学 公共卫生学院, 辽宁 锦州 121001; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘要: 基于离心辅助冷诱导相分离(CIPS)和分散固相萃取(DSPE)技术, 建立了海产品中11种卤代咔唑(PHCs)的液相色谱-高分辨质谱检测方法。样品经乙腈超声提取后, 进一步以40%乙腈/水溶液对11种PHCs进行离心辅助CIPS和DSPE富集和净化。仪器分析以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, C₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)分离, 高分辨质谱以靶向单一离子监测模式采集, 内标法定量。结果显示在给定的浓度范围内, 11种PHCs均呈良好的线性关系($r^2 > 0.996$); 方法检出限为0.04~0.1 μg/kg, 定量下限为0.1~0.3 μg/kg。空白海产品在3个加标水平下的回收率为71.6%~112%, 相对标准偏差(RSD)为1.1%~13%。该方法操作简单, 灵敏度高, 能够降低基质效应对PHCs检测的影响, 具有较好的准确度和精密度, 符合分析检测的要求, 可应用于实际样品中PHCs的靶向检测分析。

关键词: 卤代咔唑; 冷诱导相分离; 高分辨质谱; 海产品; 液相色谱

中图分类号: O657.7; TS207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)01-0105-08

Determination of 11 Polyhalogenated Carbazoles in Seafood by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry Coupled with Centrifugation-assisted Cold Induced Phase Separation

ZHAN Zhi-peng¹, LI Hong¹, LI Jing-guang², CHEN Da-wei^{1,2*}

(1. School of Public Health, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China; 2. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Based on centrifugation-assisted cold induced phase separation (CIPS) and dispersive solid-phase extraction (DSPE) techniques, a detection method for analysis of 11 polyhalogenated carbazoles (PHCs) in seafood was established using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. After ultrasonic extraction using acetonitrile, the samples were subjected to CIPS and DSPE enrichment and purification for 11 PHCs with a 40% acetonitrile/aqueous solution. For instrumental analysis, gradient elution was performed using an acetonitrile-water mobile phase. Separation was achieved on a C₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm). High resolution mass spectrometry data were acquired in the targeted single-ion monitoring mode, and quantification was carried out using the internal standard method. The results demonstrated that within the given concentration range, all 11 PHCs exhibited good linear relationships ($r^2 > 0.996$). The limits of detection of the method ranged from 0.04 to 0.1 μg/kg, and the limits of quantification were between 0.1 and 0.3 μg/kg. For blank seafood spiked at three different levels, the recoveries ranged from 71.6% to 112%, and the relative standard deviations (RSDs) were between 1.1% and 13%. This method is simple to operate and highly sensitive. It can effectively mitigate the matrix effects on the detection of PHCs, showing good accuracy and precision. Meeting the requirements of analytical detection, it is applicable for the targeted detection and analysis of PHCs in real samples.

Key words: polyhalogenated carbazoles; cold induced phase separation; high resolution mass spectrometry; seafood; liquid chromatography

卤代咔唑(PHCs)是一类与多氯代二苯并咪唑化学结构相似的新污染物(图1), 由于其具有类似二

收稿日期: 2025-06-16; 修回日期: 2025-07-15

基金项目: 中国医学科学院医学与健康创新工程项目(2019-12M-5-024)

*通讯作者: 陈达炜, 博士, 研究员, 研究方向: 食品卫生, E-mail: dila2006@163.com

网络首发日期: 2025-11-06

噁英类毒性而受到广泛关注^[1-2]。毒理学研究发现PHCs对水生生物和人体可能产生不利影响,如氧化损伤和细胞凋亡^[3]。PHCs在环境中具有一定持久性,显示了明显的生物累积能力^[4]。已有研究报道在土壤、水、沉积物、灰尘和生物样本中检测到PHCs^[5-9]。目前,PHCs在环境和食品样品中的主要测定方法为气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)和气相色谱-高分辨质谱法(GC-HRMS)^[10-12]。例如,吴侯等^[13]采用GC-MS/MS法研究了浙江沿海地区海产品中卤代呋啉的赋存情况,发现不同海产品中均有检出PHCs,但含量存在一定差异。Zhou等^[14]于2019年采用液相色谱-串联质谱建立了沉积物中PHCs的检测方法,倪鲁波等^[15]则建立了贝类中10种多卤代呋啉的分析方法。近年来,液相色谱-高分辨质谱(LC-HRMS)也被应用于动物源性食品的PHCs分析中^[16],该研究充分利用LC-HRMS的高选择性和灵敏度,解决了复杂基质对PHCs分析的干扰。

索氏提取和加速溶剂提取(ASE)是固体样品(如土壤、沉积物和水产品)中PHCs的常用提取方法^[15,17-18]。然而,索氏提取耗时较长且有机溶剂消耗量较高,因此不适合大批量样品分析。ASE方法虽可在较短时间内完成有效提取,但需使用大量的有机溶剂。此外,通过这些方法提取的PHCs在仪器分析之前仍需要进一步的净化,如凝胶渗透色谱和分散固相萃取等^[18],使得方法不便于使用且不符合绿色化学发展原则。最近,全球检测到高浓度的PHCs,引发了人们对人类暴露风险的担忧,并推动了液-液萃取技术在水生环境中提取PHCs的应用。双水相分离体系(ATPS)基于液-液萃取技术所开发,由于其良好的生物相容性、低界面张力和低成本而受到广泛关注^[19]。尽管如此,ATPS的实施通常需要加入诱导剂,如盐、聚合物和离子液体,以诱导相分离^[20-22]。近年来,在基于乙腈/水体系的ATPS中发现了冷诱导相分离(CIPS)现象^[23]。CIPS技术是一种改进的ATPS制备技术,其特征是无需使用诱导剂、高效、高富集和较低的有机溶剂消耗,从而提供了一种更为环保的替代方法^[24-25]。但是,通过低温冰箱处理的冷诱导时间往往需要1 h,影响了样品前处理的通量^[26]。为解决这一问题,本课题组研究发现离心辅助可降低低温诱导温度并缩短相分离的平衡时间^[27]。

为此,本研究采用离心辅助CIPS技术并结合分散固相萃取(DSPE)技术以改善样品净化效果,降低基质效应对PHCs检测的影响,并增强分析目标物的富集倍数;利用液相色谱-高分辨质谱分析手段,建立了一种简捷和高灵敏的海产品中PHCs的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex U3000 液相色谱串联 Q Orbitrap 高分辨质谱仪(美国赛默飞公司);配套加热电喷雾离子源(HESI);Vortex Genie 2 涡旋混合器(美国 Scientific Industries 公司);Allegra 64R 低温离心机(美国贝克曼库尔特公司);Milli-Q 纯水仪(美国默克 Millipore 公司)。

乙腈和甲醇(质谱级,美国 Fisher Scientific 公司),乙酸乙酯(色谱级,美国 Fisher Scientific 公司),甲酸和乙酸铵(色谱级,美国 Tedia 公司)。N-丙基乙二胺(PSA)、石墨化炭黑(GCB)和强阳离子吸附聚合材料(PCX)购自天津博纳艾杰尔科技有限公司。11种PHCs标准溶液和1种同位素内标溶液购自加拿大 Wellington 公司,质量浓度均为(50±2.5) mg/L。目标化合物及同位素内标的信息见表1。海产品样品购于锦州、大连和北京等各大超市和农贸市场。

1.2 标准溶液的配制

混合标准中间溶液的配制:分别准确吸取11种PHCs标准溶液100 μL于10 mL容量瓶中,先用3 mL乙酸乙酯稀释混匀,再用乙腈定容至刻度,制备成11种PHCs混合标准中间溶液,质量浓度为0.5 mg/L,于-20 °C储存。

内标中间溶液的配制:准确吸取1种PHCs同位素内标溶液40 μL于10 mL容量瓶中,先用0.5 mL

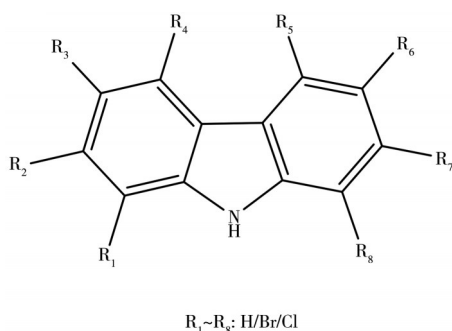


图1 卤代呋啉类化合物的结构示意图
Fig. 1 Structural diagram of PHCs

乙酸乙酯稀释混匀, 再用乙腈定容至刻度, 制备成1种PHAs同位素内标中间溶液, 质量浓度为0.2 mg/L, -20 °C储存备用。

表1 11种PHCs和内标的色谱和质谱采集信息及化学性质

Table 1 Mass spectrometric information, retention time(RT), and chemical properties of 11 PHCs and internal standard

Abbreviation	Analyte	CAS	Formula	RT /min	Oil-water partition coefficient (XlogP)	[M-H] ⁻ (m/z)	Fragment ion (m/z)
3-CCZ	3-Chlorocarbazole	2732-25-4	C ₁₂ H ₈ ClN	4.62	4.3	200.026 2 [*] /202.023 2	164.049 1
36-CCZ	3, 6-Dichlorocarbazole	5599-71-3	C ₁₂ H ₇ Cl ₂ N	5.74	5.4	233.987 2 [*] /235.984 2	198.010 8/ 162.033 6
1368-CCZ	1, 3, 6, 8-Tetrachlorocarbazole	58910-96-6	C ₁₂ H ₅ Cl ₄ N	7.35	5.9	301.909 2/ 303.906 3 [*] /305.903 3	265.933 3/ 229.956 1
2367-CCZ	2, 3, 6, 7-Tetrachlorocarbazole	-	C ₁₂ H ₅ Cl ₄ N	6.99	6.3	301.909 2/ 303.906 3 [*] /305.903 3	265.933 3/ 229.956 1
3-BCZ	3-Bromocarbazole	1592-95-6	C ₁₂ H ₈ BrN	4.89	4.4	243.975 6 [*] /245.973 6	78.917 8/ 164.048 9
27-BCZ	2, 7-Dibromocarbazole	136630-39-2	C ₁₂ H ₇ Br ₂ N	5.93	4.8	321.886 1/ 323.884 1 [*] /325.882 1	241.960 5/ 243.958 6
36-BCZ	3, 6-Dibromocarbazole	6825-20-3	C ₁₂ H ₇ Br ₂ N	6.15	4.8	321.886 1/ 323.884 1 [*] /325.882 1	241.960 5/ 243.958 6
136-BCZ	1, 3, 6-Tribromocarbazole	55119-10-3	C ₁₂ H ₆ Br ₃ N	7.16	5.5	401.794 6 [*] /403.792 6	319.870 4/ 321.869 8
1368-BCZ	1, 3, 6, 8-Tetrabromocarbazole	55119-09-0	C ₁₂ H ₅ Br ₄ N	7.98	6.2	479.705 1/ 481.703 1 [*] /483.701 0	78.917 8/ 401.776 9
1-B-36-CCZ	1-Bromo-3, 6-dichlorocarbazole	-	C ₁₂ H ₆ BrCl ₂ N	6.82	5.3	311.897 7/ 313.895 7 [*] /315.892 7	231.972 1/ 195.994 6
18-B-36-CCZ	1, 8-Dibromo-3, 6-dichlorocarbazole	100131-03-1	C ₁₂ H ₅ Br ₂ Cl ₂ N	7.69	6.0	389.808 2/ 391.806 2 [*] /393.803 2	78.917 8/ 311.880 1
¹³ C ₁₂ -36CCZ	3, 6-Dichloro [¹³ C ₁₂]carbazole	-	¹³ C ₁₂ H ₇ Cl ₂ N	5.73	-	246.027 4 [*] /248.024 5	-

*quantitative ion

混合标准工作曲线溶液的配制: 吸取适量混合标准中间溶液和内标中间溶液, 用乙腈配制成11种PHCs质量浓度为0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10、20 μg/L, 1种PHCs同位素内标质量浓度为2.0 μg/L的标准工作曲线溶液。

1.3 样品制备和前处理

参考美国食品药品监督管理局发布的实验室方法指导文件^[28], 取约500 g海产品可食部分, 切成约2 cm的小块放置于不锈钢粉碎机中, 取等量的碎裂干冰, 与海产品一同粉碎均匀后, 将样品从粉碎机中取出并置于样品杯中过夜, 使CO₂升华, 供样品前处理。

称取均质后的海产品2 g(精确至0.01 g), 置于15 mL离心管中, 加入内标中间溶液(质量浓度为0.2 mg/L)40 μL, 静置30 min后, 加入9 mL乙腈, 旋涡混匀1 min, 超声提取20 min后, 以8 000 r/min离心5 min。取乙腈上清液3.6 mL于15 mL离心管中, 再加入5.4 mL纯净水, 混匀, 进行离心辅助CIPS富集和净化。即低温离心机维持-12 °C条件下以5 000 r/min处理30 min诱导相分离, 取上层乙腈相(约900 μL)于装有25 mg无水硫酸镁和25 mg PCX吸附剂的1.5 mL离心管中, 涡旋混匀1 min后, 于15 000 r/min和4 °C下高速离心5 min后, 取上清液待分析。

1.4 液相色谱-高分辨质谱分析条件

色谱条件: ACQUITY UPLC BEH C₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 柱温: 40 °C, 流动相为乙腈(A)-水(B)体系, 流速0.3 mL/min, 进样体积: 10 μL。梯度洗脱程序: 0~1.5 min, 60% A; 1.5~9 min, 60%~90% A; 9~9.5 min, 90%~100% A; 9.5~11.5 min, 100% A; 11.5~12 min, 100%~60% A; 12~15 min, 60% A。

质谱参数: 喷雾电压为3.0 kV; 毛细管温度为320 °C; 鞘气为50 arb, 辅助气为10 arb; 扫描模式为靶向单一离子(tSIM/ddMS²)采集模式, 负离子采集; tSIM分辨率采用70 000 FWHM, 自动增益控制(AGC)为1e⁵, MSX为3, 分离宽度为6 Da; ddMS²分辨率采用17 500 FWHM, 归一化碰撞能量为15%、35%和55%。PHCs的质谱采集信息、保留时间和化学性质见表1。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的选择

2.1.1 色谱条件的优化 本研究对比了 BEH C_8 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m) 和 BEH C_{18} (2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m) 两种色谱柱对 11 种 PHCs 的分离效率。结果表明, 两种色谱柱对目标分析物的质谱响应无显著差异。然而, 当使用 BEH C_8 色谱柱时, 在保证同分异构体分离度要求的基础上, PHCs 化合物的出峰时间更快(图 2)。因此, 选择 BEH C_8 色谱柱进行后续分析。

本研究首先分别使用含有 0.1% 甲酸的乙腈/水和含有 5 mmol/L 乙酸铵的乙腈/水作为 ESI⁺ 和 ESI⁻ 模式的流动相体系, 对正和负电离效率进行初步评估。结果表明, 所有 PHCs 在 ESI 模式下均有响应, 但在 ESI⁺ 模式下均无明显的质谱响应。因此, 选择 ESI 模式对 PHCs 进行质谱检测。在 ESI 模式下, 以乙腈为有机相, 考察了 5 mmol/L 乙酸铵水溶液和水分别作为水相对 PHCs 质谱响应的影响。结果表明, 当使用纯水作为水相时, 2367-CCZ、136-BCZ 和 1-B-36-CCZ 的响应值比使用 5 mmol/L 乙酸铵水溶液作为水相时高 1.1~1.4 倍。此外, 长时间使用缓冲液体系作流动相会对质谱灵敏度产生一定的影响, 需要增加质谱的维护成本。因此, 本研究选择乙腈和水作为流动相体系。11 种 PHCs 的色谱图见图 2A。

2.1.2 高分辨质谱定量模式的选择 本研究考察了高分辨质谱中的全扫描(FS)、tSIM 和平行反应监测(PRM)3 种定量模式, 3 种定量模式的简单说明可查阅文献^[29]。结果发现, 当 PHCs 在痕量浓度水平下(<0.5 μ g/L), tSIM 和 PRM 模式因在较窄的质量分离宽度(6 Da)内扫描母离子或子离子, 展示了比 FS 更优的检测效能。然而, PRM 模式诱导目标母离子碰撞诱导解离, 产生碎片离子, 在一定程度上降低了检测灵敏度。相反, 使用母离子进行定量分析的 tSIM 模式则显示出更好的检测灵敏度, 并可省略碰撞能量优化的流程。因此, 选择 tSIM 模式作为 PHCs 的高分辨质谱定量分析模式, 以表 1 中的 [M-H]⁻ 进行定量。由于 PHCs 含有卤代元素, 以各化合物的同位素离子和丰度比以及碎片离子作为定性判别依据。

2.2 提取溶剂的优化

本研究考察了甲醇(logK_{ow}=-0.77)、乙腈(logK_{ow}=-0.34)和乙酸乙酯(logK_{ow}=0.73)作为 PHCs 提取溶剂的效果。图 3 显示, 甲醇对 PHCs 的提取回收率相对较低(85%~103%), 而乙腈和乙酸乙酯的提取回收率在 94%~108% 之间。这可能与上述溶剂和分析物之间的极性相似相溶作用有关(PHCs 的 XlogP 值在 4.3~6.3 之间, 表 1)。尽管乙酸乙酯和乙腈均获得了满意的回收率, 但乙酸乙酯的相对标准偏差(RSD)较高, 这可能是由于其与液相色谱不相容, 在分析前需要氮吹浓缩等操作, 从而影响了检测的精度。因此, 采用乙腈作为提取溶剂。

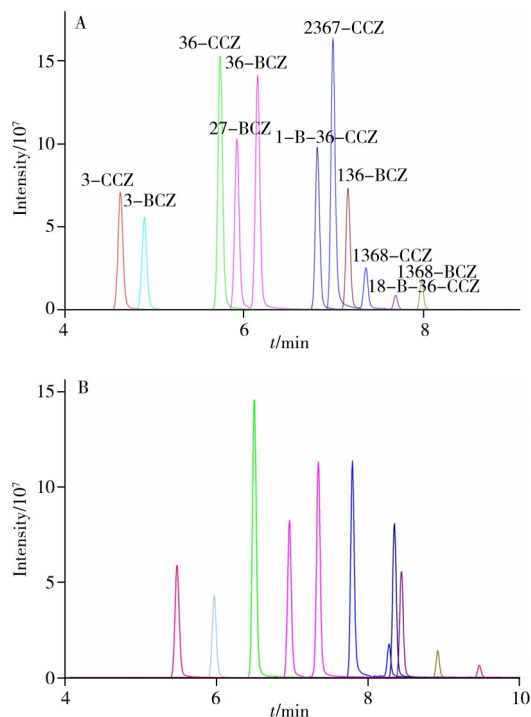


图 2 11 种卤代咪唑类化合物的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of 11 PHCs

A: BEH C_8 column; B: BEH C_{18} column

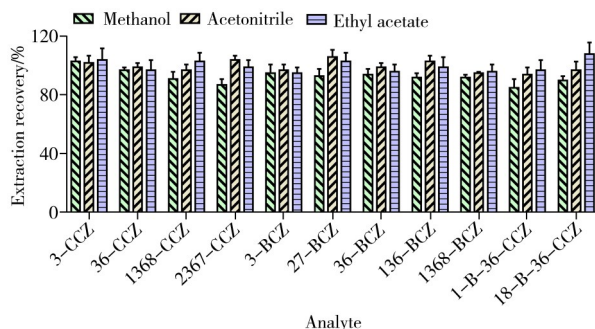


图 3 不同溶剂下 11 种卤代咪唑类化合物的提取回收率

Fig. 3 Extraction recoveries of 11 PHCs under different solvents

2.3 离心辅助CIPS方法的优化

2.3.1 低温离心条件的优化 已有研究发现, 冷冻可诱导乙腈和水系统形成相分离^[23-25]。当达到稳定的相分离平衡状态时, 上相有机相为88%的乙腈/水溶液, 而下相水相则为33%的乙腈/水溶液。在加标海产品中, PHCs均分布于上层乙腈相中, 而中高极性干扰物则分布于下层水相中, 从而在一定程度上减少了基质效应的影响。此外, 发现CIPS处理方法还可将非极性脂质化合物位于上下两相之间的边界层, 进而有效去除甘油三酯和鞘脂等非极性脂质成分。为进一步缩短相分离时间, 本实验对离心辅助CIPS方法进行了改进, 用低温离心机(Allegra 64R)取代传统的低温冰箱诱导相分离。研究发现, 离心力可有效降低相分离的温度阈值, 缩短相分离平衡的时间^[27]。另外, 使用离心辅助CIPS方法可将相分离和离心集成到一步操作过程中, 减少了多步操作导致的人为误差。因此, 确定最佳离心条件为在-12 °C下以5 000 r/min离心30 min。

2.3.2 乙腈体积分数的优化 对于离心辅助CIPS技术, PHCs的提取效率因乙腈/水的不同体积比而异, 其有效性通常用富集因子和绝对回收率进行评估。本实验研究了不同体积分数(40%、50%、60%、70%和80%)的乙腈/水溶液中, 通过离心辅助CIPS处理后不同PHCs的富集因子和绝对回收率(见图4)。结果表明, 随着乙腈体积分数的持续降低, 11种PHCs的富集因子逐渐增加。当乙腈体积分数降至40%时, 11种PHCs的富集因子最高, 在6.54~7.52之间, 而11种PHCs的绝对回收率也均大于85%(87%~96%)。这主要是由于PHCs的极性相对较低, 极易富集于上层有机相(88%乙腈)中, 同时也与上层有机相的体积呈较大程度的减少有关。然而, 当乙腈体积分数低于40%时, 富集因子虽有所提高, 但上层有机相的体积进一步减少, 不利于样品移取。为了满足较高的灵敏度和操作的可行性, 本研究选择40%乙腈/水作为冷诱导相分离的条件。

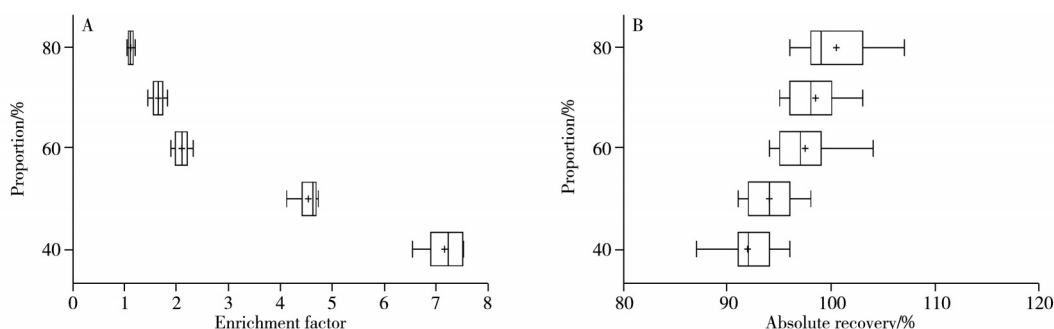


图4 11种卤代呋唑类化合物在不同乙腈/水体积比下的富集倍数(A)和绝对回收率(B)分布图

Fig. 4 Distribution diagrams of enrichment factors(A) and absolute recoveries(B) of 11 PHCs at different proportions of acetonitrile

2.4 分散固相萃取吸附剂的选择

为进一步提高净化效果, 本研究采用分散固相萃取技术对CIPS提取液进行净化处理。针对CIPS技术对甘油三酯、鞘脂等非极性脂质的高效去除特性, 结合胆碱类磷脂特有的胆碱季铵基团结构特征, 采用强阳离子交换聚合材料PCX作为核心吸附剂。该材料不仅具备与 C_{18} 相似的非极性吸附能力, 更能通过离子交换作用特异性吸附带正电荷的胆碱类磷脂, 实现双重净化效果。在分散固相萃取体系构建中, 特别优化了溶液环境, 鉴于净化对象为CIPS相分离后的上层乙腈相(含88%乙腈), 通过添加25 mg无水硫酸镁有效去除残留水分, 使PHCs的提取回收率提升3%~14%。进一步通过基质加标实验验证PCX用量优化, 结果显示: 当PCX用量为25 mg时, 11种PHCs的回收率达到最佳(92%~113%); 而当用量超过25 mg时, 1368-CCZ、18-B-36-CCZ和1368-BCZ的回收率呈下降趋势。基于上述实验验证, 确定采用25 mg PCX与25 mg无水硫酸镁协同净化, 在保证高效去除胆碱类磷脂的同时, 实现了PHCs的高回收率与检测稳定性。

2.5 基质效应

离心辅助CIPS和分散固相萃取技术的基质清除效果是影响该方法准确度和精密度的重要因素。为此, 本实验评估了所建方法在PHCs质谱检测中的基质效应(ME)。制备了在一定线性浓度范围内的基质匹配标准工作曲线溶液和溶剂标准工作曲线溶液, 并分别获取基质匹配标准曲线的斜率(B)和溶剂

标准曲线的斜率(A),按照公式 $ME(\%)=B/A \times 100\%$ 进行计算。结果显示(表2),在线性浓度范围内,海白虾、小黄鱼和海蛎中11种PHCs的ME分别为84.7%~102%、86.7%~105%和87.2%~104%,表明上述3种海产品经本方法净化处理后能有效降低复杂基质的影响,基质效应对目标物的影响在可接受范围(80%~120%)内^[30];三文鱼中11种PHCs的ME为73.2%~93.4%,说明部分化合物存在一定的基质抑制效应。为保证检测结果的准确性和稳定性,本研究采用同位素内标标准曲线进行校准和定量。

2.6 线性范围与灵敏度

本研究采用内标法对PHCs进行定量分析,使用乙腈配制质量浓度为0.05~20 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准溶液,同位素内标的质量浓度为2 $\mu\text{g/L}$ 。表2显示11种PHCs在0.05~20 $\mu\text{g/L}$ 或0.1~20 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈良好的线性关系,相关系数(r^2)均大于0.996。当分析物浓度极低时,Orbitrap HRMS通常不会出现噪声信号,因此传统的信噪比方法不适合评估检出限(LOD)和定量下限(LOQ)。本研究通过将低浓度加标样品10次测定所得数据的RSD分别乘以3和10来计算LOD和LOQ。结果显示,11种PHCs的LOD为0.04~0.1 $\mu\text{g/kg}$, LOQ为0.1~0.3 $\mu\text{g/kg}$ (表2)。

表2 11种PHCs的线性范围、相关系数、检出限、定量下限及基质效应

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients(r^2), LODs, LOQs and matrix effects of 11PHCs

Analyte	Linear range/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	r^2	LOD/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	Matrix effect/%			
					Shrimp	Croaker	Oyster	Salmon
3-CCZ	0.05~20	0.998 5	0.04	0.1	98.8	102	96.0	89.4
36-CCZ	0.05~20	0.997 3	0.04	0.1	102	98.3	103	93.4
1368-CCZ	0.1~20	0.999 1	0.08	0.2	92.4	89.5	90.9	87.3
2367-CCZ	0.05~20	0.999 3	0.04	0.1	92.6	96.4	89.7	84.2
3-BCZ	0.05~20	0.999 6	0.04	0.1	99.8	97.2	95.1	92.3
27-BCZ	0.05~20	0.997 6	0.04	0.1	89.6	91.5	89.0	78.4
36-BCZ	0.05~20	0.998 6	0.04	0.1	84.7	86.7	90.8	92.7
136-BCZ	0.05~20	0.999 2	0.04	0.1	88.8	89.4	86.9	76.3
1368-BCZ	0.1~20	0.999 0	0.08	0.2	87.1	92.7	93.6	86.4
1-B-36-CCZ	0.05~20	0.996 8	0.04	0.1	95.7	105	104	93.0
18-B-36-CCZ	0.1~20	0.999 3	0.1	0.3	87.1	90.3	87.2	73.2

2.7 准确度与精密度

分别选用4种海产品(海白虾、小黄鱼、海蛎和三文鱼)作为空白基质进行低、中、高(LOQ、2LOQ和10LOQ)3种水平的加标回收率实验,以评估本方法的准确度和精密度。按照“1.3”方法处理后进行测定,每个浓度水平重复测定6次。表3显示,11种PHCs在上述4种海产品中的平均回收率分别为78.7%~111%、75.9%~106%、74.9%~102%和71.6%~112%,RSD分别为1.1%~12%、2.1%~13%、1.5%~10%和1.4%~9.4%。上述结果表明本方法具有较好的准确度和精密度,能满足海产品中痕量PHCs的分析要求。

表3 4种海产品中11种PHCs的回收率和相对标准偏差

Table 3 Recoveries and relative standard deviations of 11 PHCs in four different seafood

Analyte	Spiked level	Shrimp		Croaker		Oyster		Salmon	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
3-CCZ	LOQ	93.1	3.6	95.3	3.8	92.7	3.9	96.9	5.9
	2LOQ	98.4	3.2	94.1	4.3	94.6	2.5	97.2	2.3
	10LOQ	105	1.1	99.7	2.1	97.3	3.7	104	1.4
36-CCZ	LOQ	95.2	5.0	93.4	6.3	96.7	6.1	105	4.8
	2LOQ	94.1	3.7	96.8	3.7	102	5.4	112	5.9
	10LOQ	97.5	1.9	104	5.0	99.8	3.3	107	2.7
1368-CCZ	LOQ	89.4	8.6	83.4	6.4	88.4	7.9	95.5	7.3
	2LOQ	90.8	9.3	82.0	4.7	95.9	9.4	96.7	8.0
	10LOQ	97.5	5.6	90.7	3.2	93.7	5.6	102	6.8
2367-CCZ	LOQ	90.5	6.6	84.6	9.0	82.2	7.5	91.7	5.7
	2LOQ	95.2	5.7	90.2	9.4	92.1	6.2	90.8	6.0
	10LOQ	93.7	3.8	94.8	2.7	97.5	3.9	99.5	5.9
3-BCZ	LOQ	91.4	3.8	92.3	6.2	88.5	4.9	94.2	7.7
	2LOQ	104	6.1	99.8	5.3	90.9	6.7	97.3	6.0
	10LOQ	111	2.3	106	3.6	96.6	1.5	96.8	3.6

(续表 3)

Analyte	Spiked level	Shrimp		Croaker		Oyster		Salmon	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
27-BCZ	LOQ	80.6	9.1	75.9	11	78.5	6.7	73.5	9.4
	2LOQ	88.4	7.2	82.7	13	90.3	6.6	80.9	7.5
	10LOQ	90.4	6.7	86.6	8.3	92.1	7.2	84.7	8.4
36-BCZ	LOQ	82.2	9.0	77.6	5.8	90.2	6.6	85.4	6.4
	2LOQ	92.1	4.7	86.2	9.2	94.0	9.7	92.6	6.8
	10LOQ	94.3	6.2	88.8	7.0	91.7	2.6	91.3	1.7
136-BCZ	LOQ	78.7	12	76.6	8.8	74.9	5.7	75.0	6.1
	2LOQ	83.5	5.8	80.4	7.1	84.7	9.2	83.4	3.8
	10LOQ	89.1	7.3	92.8	6.4	82.1	3.4	88.1	6.7
1368-BCZ	LOQ	79.2	9.3	80.6	9.4	85.6	4.6	90.4	6.3
	2LOQ	86.4	5.8	78.2	6.2	89.4	8.2	87.3	5.2
	10LOQ	90.8	6.7	87.7	3.8	96.1	6.7	98.5	3.7
1-B-36-CCZ	LOQ	93.2	7.7	92.9	6.4	88.8	3.7	103	7.6
	2LOQ	89.5	7.8	98.0	2.8	95.2	6.8	98.4	2.4
	10LOQ	107	2.1	106	2.3	99.9	4.6	110	3.9
18-B-36-CCZ	LOQ	80.8	9.4	76.7	7.0	83.1	10	71.6	6.6
	2LOQ	83.4	5.7	86.5	6.3	78.7	8.0	79.5	7.8
	10LOQ	89.2	6.2	90.1	6.9	88.7	6.4	82.4	8.9

2.8 实际样品测定

采用本方法对市售的 31 份海产品进行 11 种 PHCs 的检测。除 1-B-36-CCZ 未检出外, 其他 10 种 PHCs 均有不同程度的检出(表 4)。以上数据表明, 本方法可广泛适用于海产品中 11 种 PHCs 的分析检测。

表 4 31 种海产品中检出 11 种 PHCs 的统计数据($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Table 4 Statistical data of detected 11 PHCs in 31 seafood($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Analyte	Numbers>LOD	Minimum	Median	Average*	Maximum
3-CCZ	11	<LOD	<LOD	0.3	1.3
36-CCZ	13	<LOD	<LOD	0.2	1.1
1368-CCZ	6	<LOD	<LOD	0.07	0.5
2367-CCZ	7	<LOD	<LOD	0.09	0.8
3-BCZ	18	<LOD	0.1	0.5	1.9
27-BCZ	3	<LOD	<LOD	0.02	0.4
36-BCZ	12	<LOD	<LOD	0.6	2.1
136-BCZ	8	<LOD	<LOD	0.06	0.9
1368-BCZ	5	<LOD	<LOD	0.08	0.2
1-B-36-CCZ	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
18-B-36-CCZ	8	<LOD	<LOD	0.3	1.4

*the average value is calculated by taking the mean of the positive sample data detected

3 结论

本研究对海产品中 PHCs 的样品前处理进行优化, 建立了海产品中 PHCs 的离心辅助 CIPS/LC-HRMS 分析方法。该方法操作简单, 具有较好的检测灵敏度、良好的准确度和精密度, 可满足海产品中痕量 PHCs 的分析要求。应用该方法对海产品中 PHCs 进行分析, 结果表明海产品中存在一定的 PHCs 污染。本研究为后续相关的环境和食品安全监测提供了有效的技术方法。

参考文献:

- [1] Tu J M, Zeng X Y, Liang Y, Yu Z Q, Peng P A. *Environ. Pollut.*, **2025**, 372: 125910.
- [2] Zhang Y F, Du S Y, Zhu Y F, Liu R R. *J. Hazard. Mater. Adv.*, **2025**, 18: 100743.
- [3] Zhang J W, Zhang C, Du Z K, Zhu L S, Wang J, Wang J H, Li B. *Sci. Total Environ.*, **2020**, 743: 140753.
- [4] Wu Y, Qiu Y L, Tan H L, Chen D. *Environ. Pollut.*, **2017**, 220: 142-149.
- [5] Lao W J, Shang X Y, Yu S Q, Xiao H Q, Lou Y Y, Song C H, You J M. *Water Res.*, **2025**, 276: 123266.
- [6] Kou L X, Zhang X Y, Zuo Z C, Liu N, He Z, Yang G P. *Environ. Res.*, **2025**, 273: 121219.
- [7] Mao W L, Jin H B, Yin S H, Xu L Y, Guo R Y, Mao K L. *Sci. Total Environ.*, **2024**, 923: 171609.
- [8] Zhou W X, Chen W F, Li P, Gu Z Y, Peng J H, Lin K D. *Sci. Total Environ.*, **2021**, 753: 142072.

- [9] Zhou H Y, Dong X W, Zhao N, Zhao M R, Jin H B. *Sci. Total Environ.*, **2023**, 859: 159971.
- [10] Zhou Y X, Zhu G H, Li M F, Liu J S, Li Z G, Sun J J, Gong H P, Wang L, Wu C W, Zhou X, Yin G. *Ecotox. Environ. Safe*, **2019**, 182: 109470.
- [11] Cui L Q, Pang B, Li L J, Shi C Z, Mu L M. *China Stand.* (崔立迁, 庞博, 李柳佳, 石春正, 穆丽美. 中国标准化), **2024**, 24: 232-238.
- [12] Tang L M, Jiang L B, Chen X, Gao Z Y, Deng Z C, Wang P Y, Ni L B, Lu L Z, Dai Y F. *Environ. Pollut. Control* (唐雷鸣, 蒋玲波, 陈翔, 高卓瑶, 邓招超, 王萍亚, 倪鲁波, 陆矜子, 戴意飞. 环境污染与防治), **2023**, 45(6): 810-816.
- [13] Wu Y, Jiang L B, Gao Z Y, Ni L B, Dai Y F, Liu T, Lu L Z, Zhao Q L. *J. Instrum. Anal.* (吴侯, 蒋玲波, 高卓瑶, 倪鲁波, 戴意飞, 刘婷, 陆矜子, 赵巧灵. 现代食品科技), **2024**, 40(12): 369-376.
- [14] Zhou W X, Huang X W, Lin K D. *Ecotox. Environ. Safe*, **2019**, 170: 148-155.
- [15] Ni L B, Dai Y F, Gao Z Y, Wu Y, Jiang L B, Xu Y T, Lü K K. *Food Sci. Technol.* (倪鲁波, 戴意飞, 高卓瑶, 吴侯, 蒋玲波, 徐依婷, 吕款款. 食品科技), **2025**, 50(4): 411-416.
- [16] Li Y, Wang L, Zheng M G, Lin Y F, Xu H Y, Liu A F, Hua Y, Jiang Y Q, Ning K, Hu S M. *Food Chem.*, **2023**, 404: 134678.
- [17] Tao W Q, Zhou Z G, Shen L, Zhu C F, Zhang W L, Xu L, Guo Z L, Xu T, Xie H Q, Zhao B. *Sci. Total Environ.*, **2020**, 710: 135524.
- [18] Yin J N, Li J L, Lu Y K, Han Y H, Yan H Y. *Microchem. J.*, **2024**, 201: 110515.
- [19] Zhang X N, Cai Z Z, Wang L Y, Xie S J, Zong W. *Microchem. J.*, **2024**, 200: 110445.
- [20] Chen X Q, He Y, Liu Z, Huang Z F, Xu C F, Liu Y Z, Haran Y, Nisar W, Yan S L, Li J. *Food Chem.*, **2024**, 453: 139620.
- [21] Camêlo L C A, Santos G S D, de Souza R L, Soares C M F, Pereira J F B, Lima A S. *Sep. Purif. Technol.*, **2021**, 256: 117843.
- [22] Han M X, Zhang X N, Zong W. *J. Instrum. Anal.* (韩明雪, 张旭男, 宗薇. 分析测试学报), **2024**, 43(9): 1425-1432.
- [23] Yoshida M, Akane A. *Anal. Chem.*, **1999**, 71: 1918-1921.
- [24] Li S H, Chen D W, Lv B, Li J G, Zhao Y F, Wu Y N. *Food Chem.*, **2020**, 309: 125748.
- [25] Bi J, Ren J, Zhao Y F, Chen D W. *J. Instrum. Anal.* (毕军, 任君, 赵云峰, 陈达炜. 分析测试学报), **2021**, 40(9): 1318-1327.
- [26] de Freitas J F, de Queiroz M E L R, de Oliveira A F, Ribeiro L P, Salvador D V, Miranda L D L, Alves R R, Rodrigues A A Z. *Food Chem.*, **2023**, 418: 135969.
- [27] Hu S P, Ye B Y, Li H, Yan P V, Chen D E, Zhao M. *Food Chem.*, **2024**, 454: 139715.
- [28] Bunch E A, Altwein D M, Johnson L E, Farley J R, Hammersmith A A. *J. AOAC Int.*, **1995**, 78(3): 883-887.
- [29] Li S H, Chen D W, Lv B, Li J G, Zhao Y F, Wu Y N. *J. Agric. Food Chem.*, **2019**, 67: 2732-2740.
- [30] Li H Q, Wang X F, Hou C P, Huang K, Wang Q. *J. Instrum. Anal.* (李惠青, 王旭峰, 侯超苹, 黄珂, 王强. 分析测试学报), **2025**, 44(5): 892-898.

(责任编辑: 丁 岩)