

三重四极杆质谱测定土壤中的 3 种六溴环十二烷异构体

LCMSMS-075

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定土壤中的 3 种六溴环十二烷 (HBCD) 异构体的方法。样品经加速溶剂萃取，超高效液相色谱 LC-30A 分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 内标法进行定量分析。3 种 HBCD 非对映异构体在 0.1~50 μg/L 浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.9997；对 0.1 μg/L 和 1.0 μg/L 标准溶液连续 7 次进样，2 个浓度标准品的峰面积相对标准偏差分别低于 4.13% 和 1.96%，仪器精密度良好；参照标准 HJ168 进行检出限测试，3 个组分的检出限分别为 1.3、1.2、1.4 ng/kg，定量限分别为 5.0、4.8、5.6 ng/kg。

关键词：六溴环十二烷 土壤 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

六溴环十二烷 (hexabromocyclododecane, HBCD) 是除十溴联苯醚、四溴双酚 A 之外的世界第三大阻燃剂产品。HBCD 为添加型阻燃剂，易从产品中释放进入环境，并会在动物体脂肪组织中积累下来，对动物体内分泌和免疫系统产生影响，引起一系列疾病。2008 年 10 月 7 日至 8 日，欧盟审议通过了 15 种 SVHC (高度关注的物质)，其中包括 HBCD。目前常用的检测仪器是气质联机 (GCMS) 和液质联机 (LCMS)。由于使用非极性毛细管柱难于分离 HBCD 的 3 种异构体，而且 HBCD 在温度高于 160 °C 时即发生热重排 [1]，在 240 °C 以上有脱溴降解现象，因此气相色谱并不适于 HBCD 异构体的分离。然而目前为止，我国暂无使用液质质方

法检测土壤中 HBCD 的国家标准。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立了快速准确测定土壤中 3 种 HBCD 异构体的方法，供相关检测人员参考。

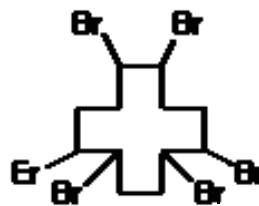


图 1 六溴环十二烷结构图

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III
(2.0 mm I.D. × 50 mm L., 1.6 μm)

流动相：A 相—10 mM 醋酸铵水溶液

B 相—甲醇 / 乙腈 (1/1, v/v)

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：30°C

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 80%，时间程序见表 1。

表 1 HBCD 梯度洗脱时间程序

表 1 HBCD 梯度洗脱时间程序			
Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	86
2.50	Pumps	Pump B Conc.	86
2.70	Pumps	Pump B Conc.	80
3.20	Controller	Stop	

质谱条件

离子源:	ESI, 负离子模式	离子源位置:	0 mm
加热模块温度:	450°C	扫描模式:	多反应监测 (MRM)
DL 温度:	250°C	驻留时间:	200 ms
雾化气流速:	3.0 L/min	延迟时间:	3 ms
干燥气流速:	15 L/min	MRM 参数:	见表 2。由于 3 种目标物为非对映异构体, 所以使用同一 MRM 参数。
离子源电压:	-3.5 kV		

表2 MRM优化参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
HBCD	640.60	79.00*	24.0	16.0	30.0
		81.10	24.0	25.0	30.0
¹³ C ₁₂ -α-HBCD	652.65	79.25	24.0	17.0	29.0

注: *表示定量离子

1.3 样品制备
标准溶液配制:

称取 10.0 mg HBCD 用乙腈定容到 10 mL, 得到 1 mg/mL 的标准储备液, 再用乙腈逐级稀释成浓度为 50, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 μg/L 的标准工作液, 内标 ¹³C₁₂-α-HBCD 浓度为 10 μg/L, 用于制作校准曲线。

样品前处理方法如下:

称 100 g 土壤样品, 加入 100 mL 正己烷 / 丙酮 (3/1, v/v), 加速溶剂萃取 10 min, 提取 4 次, 合并提取液, 旋转蒸发浓缩到 2~3 mL, 甲醇定容到 10 mL。离心, 0.22 μm 滤膜过滤后进样测试。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

1 μg/L 标准样品有很好的响应, 且得到了良好的分离, 其 MRM 色谱如图 2 所示, 峰面积及 S/N 结果见表 3。

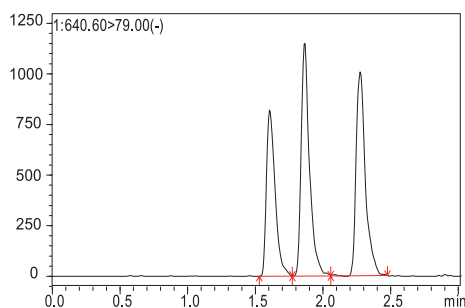


图 2 1μg/LHBCD 标准品的 MRM 色谱图

表 3 HBCD 标准品的积分结果

名称	峰面积	S/N
α-HBCD	3652	1216.09
β-HBCD	4934	1534.15
γ-HBCD	4823	1365.77

2.2 线性关系

浓度为 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 μg/L 的标准溶液按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 内标法制作校准曲线, 如图 3 所示。HBCD 在 0.1~50 μg/L 浓度范围内线性良好, 线性方程和相关系数信息见图 3。

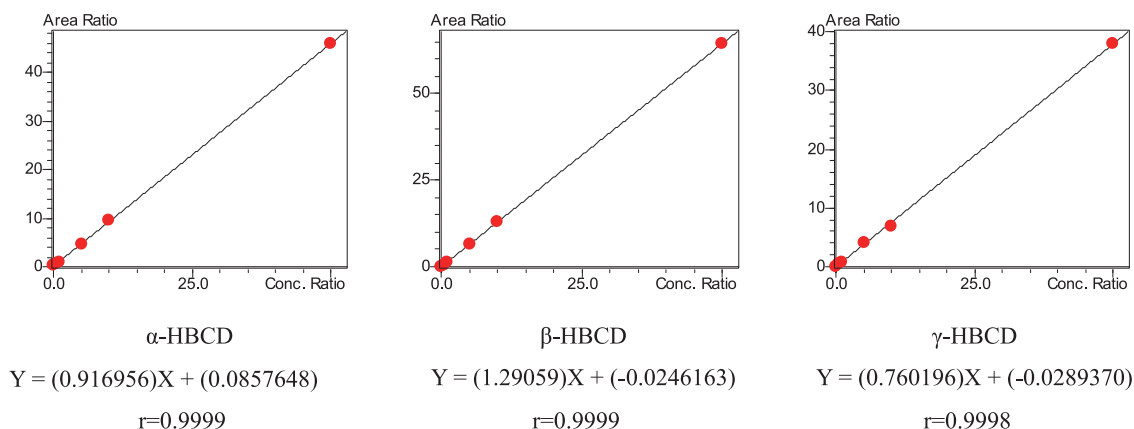


图3 HBCD 校准曲线及线性方程信息

2.3 方法检出限和定量限

参照标准 HJ168, 将浓度为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 标准样品连续进 7 针, 结果剔除离群值后, 将测定结果计算其标准偏差 S , 此时仪器检出限 $\text{MDL} = S \times 3.143$, 以 4 倍检出限确定目标物的定量限。测定结果如表 4 所示。考虑前处理方法浓缩 10 倍, 因此方法检出限可达 1.2~1.4 ng/kg , 方法定量限可达 4.8~5.6 ng/kg 。

表 4 HBCD 的仪器检出限和定量限

名称	平行样(0.1 $\mu\text{g/L}$)							平均值 ($\mu\text{g/L}$)	标准 偏差(S)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	定量限 ($\mu\text{g/L}$)
	1	2	3	4	5	6	7				
α -HBCD	0.109	0.102	0.100	0.096	0.099	0.099	0.103	0.1010	0.0040	0.013	0.050
β -HBCD	0.092	0.094	0.099	0.094	0.101	0.092	0.101	0.0960	0.0038	0.012	0.048
γ -HBCD	0.112	0.108	0.102	0.114	0.110	0.102	0.108	0.1080	0.0045	0.014	0.056

2.4 精密度实验

考察了 0.1 $\mu\text{g/L}$ 和 1 $\mu\text{g/L}$ 的 HBCD 标准品 7 次进样的重复性, 结果显示, 仪器有良好的重复性: 0.1 $\mu\text{g/L}$ 样品 7 次进样的 RSD% 低于 4.13%; 1 $\mu\text{g/L}$ 样品 7 次进样的 RSD% 低于 1.96%。

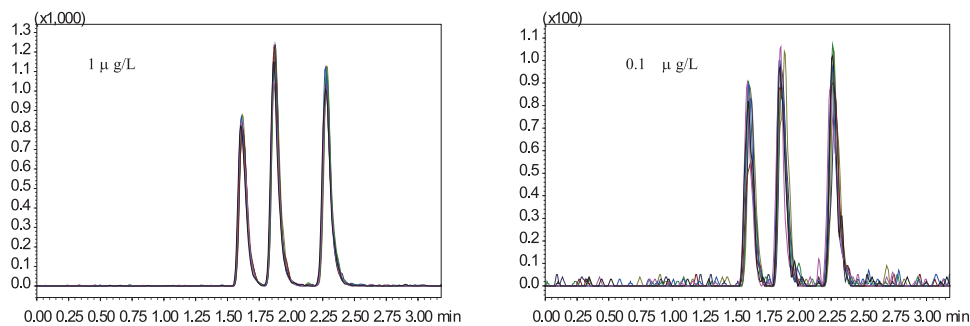


图4 HBCD 标准品 7 次进样的重叠色谱图(左图: 1 $\mu\text{g/L}$; 右图: 0.1 $\mu\text{g/L}$)

表5 标准品峰面积重复性结果(n=7)

No.	1 µg/L			0.1µg/L		
	α-HBCD	β-HBCD	γ-HBCD	α-HBCD	β-HBCD	γ-HBCD
1	3,630	5,106	4,919	387	425	487
2	3,572	4,859	4,718	363	431	470
3	3,660	4,924	4,825	356	454	447
4	3,616	4,983	4,823	343	430	499
5	3,538	4,934	4,654	352	463	479
6	3,700	4,825	4,740	352	424	446
7	3,652	5,028	4,698	366	462	473
RSD%	1.52	1.96	1.92	3.95	3.99	4.13

2.5 地表水样品

土壤样品按照 1.3 步骤进行处理, 进样测试, 检测到微量的 HBCD, 浓度在定量限以下, 色谱图见图 5。基质加标 0.1 µg/L 样品的色谱图见图 6。

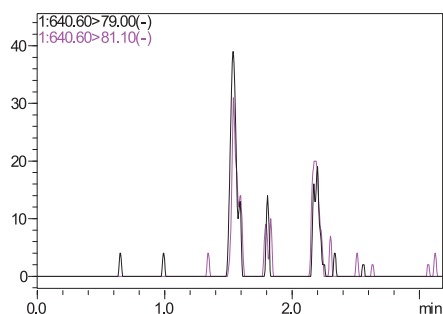


图5 土壤样品的 MRM 色谱图

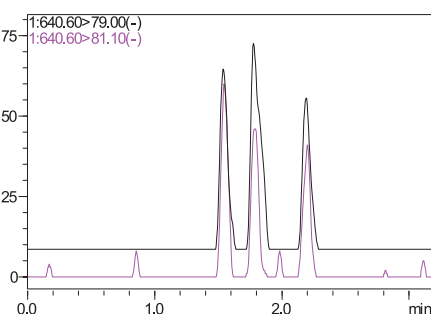


图6 土壤基质加标 0.1µg/L 样品的 MRM 色谱图

结论

建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定土壤中 3 种 HBCD 非对映异构体的方法。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点。3 种 HBCD 非对映异构体在 3 分钟内得到了完全分离; 方法检出限可达 1.2~1.4 ng/kg; 0.1 µg/L 和 1 µg/L 标准溶液连续 7 次进样, 峰面积的相对标准偏差分别低于 4.13% 和 1.96%。

参考文献:

[1] 施致雄, 封锦芳, 李敬光, 赵云峰, 吴永宁 超高效液相色谱-电喷雾质谱法结合同位素稀释技术检测动物源性食品中的六溴环十二烷异构体 《色谱》 Vol. 26 (1) 2008.