

LC-MS/MS 测定海水，海洋沉积物和海洋生物体中 3 种六溴环十二烷异构体含量

LCMSMS-407

摘要： 本文对海水，海洋沉积物及海洋生物体样品中的 HBCDs 以正己烷提取，经过 SPE 小柱净化后，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用检测，建立了测定海水，海洋沉积物和海洋生物体中 3 种 HBCDs 异构体 (α, β, γ -HBCDs) 的方法。结果表明：在 0.1~50 ng/mL 范围内，3 种 HBCDs 异构体内标法校准曲线线性良好，线性相关系数 r 均不低于 0.9991；参照标准 HJ168，将浓度为 0.1 ng/mL 标准样品连续 8 针进样，仪器定量限为 0.072~0.084 ng/mL；海水样品中各目标物加标回收率为 71.0~75.1%，海洋沉积物样品加标回收率为 86.3~106.5%，海洋生物体加标回收率为 79.8~87.4%。

关键词： LC-MS/MS 海水 六溴环十二烷

六溴环十二烷 (HBCDs) 位列世界三大阻燃剂产品之一，作为添加型阻燃剂，其容易从产品中释放到环境中，造成对水体，土壤等的污染，且在环境中极难降解，造成对环境的持久危害。环境中的 HBCDs 可进入生物体内，并通过食物链进入动物和人类体内，对内分泌和免疫系统产生不利影响，引发一系列疾病。2008 年 10 月，欧盟审议通过了 15 种 SVHC (高度关注的物质)，其中包括 HBCDs；2013 年 5 月《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》禁用化学品

黑名单中亦包括了 HBCDs；2017 年起《中国严格限制进出口的有毒化学品目录》中收录了 HBCDs，其生产、使用和进出口被严格限制。

本文对样品中的 HBCDs 以正己烷提取，经过 SPE 小柱净化后，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用检测，建立了测定海水，海洋沉积物和海洋生物体中 3 种 HBCDs 异构体 (α, β, γ -HBCDs) 的方法，供相关检测人员参考。

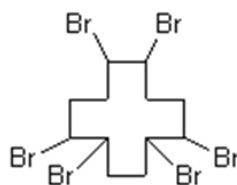


图 1 六溴环十二烷结构式

实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-30A、三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 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-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。

表 1 梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
6.50	Pumps	Pump B Conc.	90
6.60	Pumps	Pump B Conc.	50
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI(-)

雾化气流量: 2.0 L/min

接口电压: -4 kV

加热气流量: 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 120°C

加热块温度: 400°C

干燥气流量: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

ID	化合物名称	监测离子对	Q1 pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
1	六溴环十二烷 (HBCD)	640.70>80.90*	22.0	25.0	30.0
		640.70>78.90	22.0	22.0	15.0
2	¹³ C ₁₂ - 六溴十二烷 (¹³ C ₁₂ -HBCD)	652.70>78.90	22.0	24.0	14.0

注: 带 “*” 表示定量离子对, HBCD 不同异构体 MRM 参数相同

1.3 样品前处理

1. 海水样品: (1) 提取: 量取 25 mL 海水样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 μL 混合内标标准使用液 (500 ng/mL), 再加入 5 mL 正己烷, 剧烈振荡 2 min, 静置分层后, 取上层正己烷, 收集于 15 mL 离心管中, 再加入 5 mL 正己烷, 重复上述操作, 合并萃取液, 加入无水硫酸钠除水, 40 °C 下 N₂ 吹干, 加入 5 mL 正己烷溶解, 震荡 1 min 备用; (2) 净化: 移取提取液加至已用 5 mL 正己烷活化后的硅胶固相萃取柱 (6 mL, 含 1 g 硅胶) 上, 先用 2 mL 正己烷淋洗, 再用 5 mL 二氯甲烷洗脱, 洗脱液于 40 °C 下氮气吹干, 加 1.00 mL 甲醇, 旋涡振荡 1 min, 经 0.22 μm 有机相微孔滤膜过滤后分析。

2. 海洋沉积物样品: (1) 提取: 称取 2.00 g (准确到 0.01 g) 待测样品, 置于 15 mL 离心管中, 加入 10 μL 内标标准使用液 (500 ng/mL), 再加入 5 mL 正己烷, 涡旋振荡 1 min, 超声振荡 10 min 后, 6000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 15 mL 离心管中; 残渣用 5 mL 正己烷按上述方法再提取一次, 所得上清液合并, 在 40 °C 下 N₂ 吹干, 加入 5 mL 正己烷溶解, 震荡 1 min 备用; (2) 净化: 操作步骤同海水样品。

3. 海洋生物体样品: (1) 提取: 称取 2.00 g (准确到 0.01 g) 均质后的待测样品 (干紫菜), 置于 15 mL 离心管中, 加入 10 μL 内标标准使用液 (500 ng/mL), 再加入 5 mL 正己烷, 涡旋振荡 1 min, 超声振荡 10 min 后, 6000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 15 mL 离心管中; 残渣用 5 mL 正己烷按上述方法再提取一次, 所得上清液合并, 在 40 °C 下 N₂ 吹干, 加入 5 mL 正己烷溶解, 震荡 1 min 备用; (2) 净化: 操作步骤同海水样品。

结果与讨论

2.1 标准样品色谱图

α, β, γ -HBCD 标准溶液 MRM 色谱图如图 2 所示。

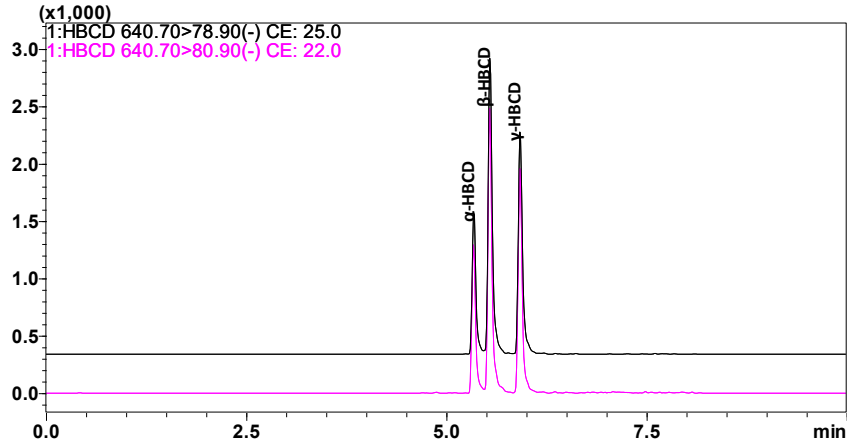


图 2. α, β, γ -HBCD 标准溶液 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

2.2 标准曲线

以甲醇为溶剂，配制 1 $\mu\text{g/mL}$ α, β, γ -HBCD 标准混合溶液及 0.5 $\mu\text{g/mL}$ [$^{13}\text{C}_{12}$] α, β, γ -HBCD 内标混合溶液。以 50% 甲醇水溶液逐级稀释得浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、5、10、20、50 ng/mL 的混合标准溶液（均含 5 ng/mL 混合内标），取 5 μL 进样，以目标组分与内标物的浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线如图 3。

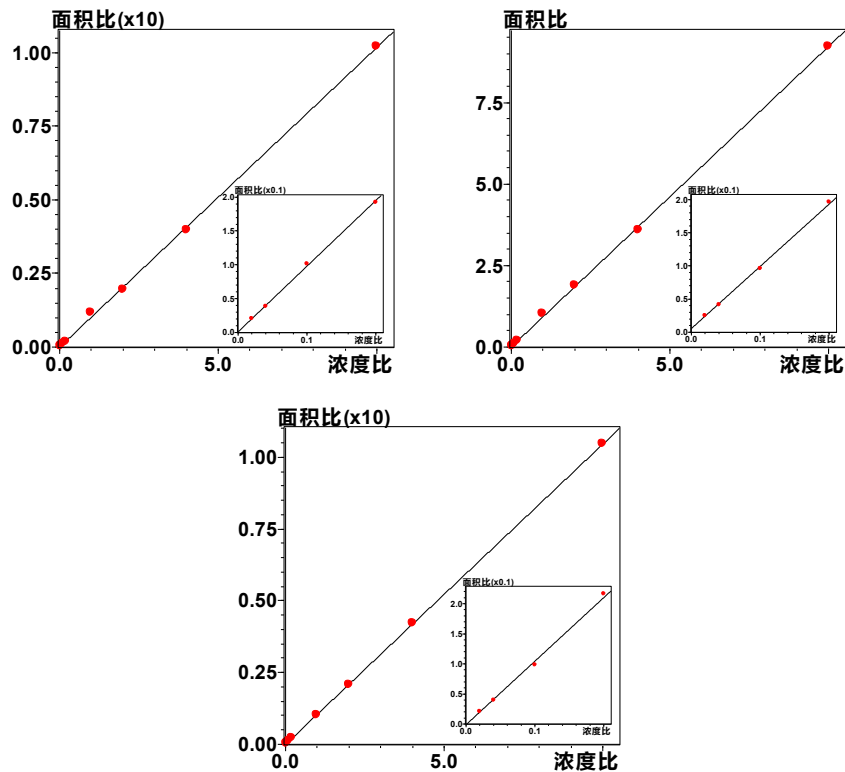


图 3 标准曲线 (上左: α -HBCD, 上右: β -HBCD, 下: γ -HBCD)

表 3 标准曲线方程、线性相关系数

ID	组分名称	标准曲线方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数 (R)	准确度 %
1	α -HBCD	$Y=1.02X-0.004$	0.1~50.0	0.9991	89.0~108.9
2	β -HBCD	$Y=0.92X+0.007$	0.1~50.0	0.9995	89.3~109.0
3	γ -HBCD	$Y=1.02X-0.001$	0.1~50.0	0.9991	91.1~109.5

2.3. 检出限

参照标准 HJ168, 将浓度为 0.1 ng/mL 标准样品连续进 8 针, 以测定结果计算其标准偏差 S 为 0.006~0.007 ng/mL, 此时仪器检出限 $IDL = S \times 2.998 (n=8)$, 以 4 倍检出限确定目标物的定量限。测定结果标明: 仪器检出限为 0.018~0.021 ng/mL, 定量限为 0.072~0.084 ng/mL。

2.4 样品检测结果和加标回收率

将待测样品及加标样品 (加标浓度 5.0 ng/mL), 按照“1.3 样品前处理”中步骤处理后, 得样品检测结果和加标回收率, 结果如表 4 所示。

表 4 样品结果及加标回收率

No.	化合物名称	海水		海洋沉积物		海洋生物体	
		检测结果 (ng/L)	回收率 (%)	检测结果 (ng/L)	回收率 (%)	检测结果 (ng/L)	回收率 (%)
1	α -HBCD	N.D	75.1	N.D	86.3	N.D	80.9
2	β -HBCD	N.D	71.0	N.D	106.5	N.D	87.4
3	γ -HBCD	N.D	72.6	N.D	102.4	N.D	79.8

结论

本文对海水, 海洋沉积物及海洋生物体样品中的 HBCDs 以正己烷提取, 经过 SPE 小柱净化后, 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用检测, 建立了测定海水, 海洋沉积物和海洋生物体中 3 种 HBCDs 异构体 (α, β, γ -HBCDs) 的方法。结果表明: 在 0.1~50 ng/mL 范围内, 3 种 HBCDs 异构体内标法校准曲线线性良好, 线性相关系数 r 均不低于 0.9991; 参照标准 HJ168, 将浓度为 0.1 ng/mL 标准样品连续 8 针进样, 仪器定量限为 0.072~0.084 ng/mL; 海水样品中各目标物加标回收率为 71.0~75.1%, 海洋沉积物样品加标回收率为 86.3~106.5%, 海洋生物体加标回收率为 79.8~87.4%。