

GC-MS/MS 测定人体血清中新型溴代阻燃剂及有机磷酸酯

GCMSMS-313

摘要: 本文介绍了人体血清中9种新型溴代阻燃剂(NBFRs)及9种有机磷酸酯(OPEs)的前处理方法和气相色谱-三重四极杆质谱(GC-MS/MS)检测方法。血清样品经乙酸乙酯提取后,再经HLB固相萃取柱和弗罗里土-硅胶复合柱净化。检测方法使用岛津GCMS-TQ8050 NX,采用电子轰击离子源(EI)和多重反应监测(MRM)模式。将所建立的方法用于实际血清样品测试,血清样品中NBFRs和OPEs的平均回收率分别为86—99%和90—101%,具有良好的检测效果。该方法前处理流程简单、稳定性好、灵敏度高,能广泛应用于人体血清中NBFRs和OPEs的分析。

关键词: 新型溴代阻燃剂 有机磷酸酯 人体血清 气相色谱-三重四极杆质谱

技术特点:

- ❖ 通过HLB固相萃取柱和弗罗里土-硅胶复合柱净化,去除杂质,回收率好。
- ❖ 采用MRM模式数据采集,灵敏度高,专属性强。

新型溴代阻燃剂(NBFRs)和有机磷酸酯(OPEs)均具有优良的防火性能,被广泛应用于电子电器生产、纺织业和建筑业中。近年来,随着NBFRs和OPEs用量的增加,一些NBFRs和OPEs在土壤、母乳、头发、尿液和血清等介质中被检出,并且有研究发现,NBFRs和OPEs可能存在神经毒性和发育毒性等作用,可以通过呼吸、饮食和皮肤接触等途径进入人体,从而对人体造成潜在的健康风险。

血清作为人体内暴露的重要生物标志物,对评估健康风险具有重要意义。目前关于人体血清中NBFRs

和OPEs的健康风险研究仍在起步阶段,且血清中NBFRs和OPEs含量低,前处理程序繁琐,基质复杂,给NBFRs和OPEs的分析检测带来了很大挑战。

针对以上问题,本文基于岛津GC-MS TQ8050 NX,使用EI源和MRM检测模式,开发的GC-MS/MS方法具有较好的选择性,在分析复杂基质时具有较大优势,可分别测定血清中9种NBFRs和9种OPEs,并较好地解决了高溴代阻燃剂响应低、高温易降解等难点,为研究复杂基质中NBFRs和OPEs的浓度水平提供了解决方案。

■ 仪器及分析条件

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪

1.2 NBFRs 分析条件

1.2.1 GC 条件

色谱柱: DB-5MS, 15 m×0.25 mm×0.1 μm

柱温程序: 90°C (0.5 min) _ 30°C /min _ 325°C (6 min)

进样口温度: 325°C

进样体积: 1 μL

进样时间: 1 min

进样方式: 不分流进样

高压进样: 250 kPa (1 min)

载气控制方式: 恒线速, 64.1 cm/sec

1.2.2 MS 条件

离子化方式：EI
接口温度：300°C
检测器电压：分段电压设置
离子源温度：280°C
采集模式：MRM 模式
4.00-10.00 min 相对调谐电压 +0.4 kV
10.00-12.50 min 绝对电压 1.9 kV

1.3 OPEs 分析条件

1.3.1 GC 条件

色谱柱：DB-5MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm
柱温程序：90°C (2 min) _ 10 °C /min _ 120°C _ 30°C /min _ 190°C _ 20°C /min _ 260°C (4 min) _ 10°C /min _ 320°C (2 min)
进样口温度：300°C
进样体积：1 μL
进样时间：1 min
进样方式：不分流进样
高压进样：250 kPa (1 min)
载气控制方式：恒线速, 37 cm/sec

1.3.2 MS 条件

离子化方式：EI
接口温度：300°C
检测器电压：相对调谐电压 +0.6 kV
离子源温度：230°C
采集模式：MRM 模式

■ 样品前处理

取 1 mL 血清样品于 10 mL 的玻璃试管中，加入 1 ng 提取内标（BDE-77, BDE-128、¹³C-DBDPE、TBP-d₂₇ 和 TPP-d₁₅）和 3 mL 乙酸乙酯，充分混匀后使用水平摇床老化 20 min，超声提取 20 min，在 4000 r/min 的转速下 -6°C 冷冻离心 10 min，上层清液转移至另一干净玻璃试管中；向残渣中加入 3 mL 乙酸乙酯，涡旋充分混匀后摇床振荡 20 min，离心转移上层清液，并重复 2 次，转移并合并上层清液，在温和的氮气流下浓缩至干，用 1 mL 正己烷复溶，在 -20°C 冰箱中冷冻 16 h 以上。将冷冻后的提取液在 4000 r/min 的转速下 -6 °C 冷冻离心 10 min，取上清液等待净化。

提取液使用 HLB 固相萃取小柱和弗罗里士 - 硅胶复合柱净化。HLB 柱依次用 5 mL 甲醇、5 mL 二氯甲烷和 5 mL 正己烷活化。加载样品后，用 12 mL 二氯甲烷洗脱目标物，并在温和的氮气流下浓缩至 1 mL，等待进一步净化处理；弗罗里士 - 硅胶柱（填料从下往上依次为 0.2 g 无水硫酸钠、0.5 g 中性硅胶、1 g 弗罗里士、0.5 g 中性硅胶、0.5 g 无水硫酸钠）依次使用 6 mL 二氯甲烷：丙酮 (1:1, V/V)、6 mL 正己烷活化，加载样品后，首先使用 8 mL 二氯甲烷：正己烷 (1:5, V/V) 洗脱 NBFRs 目标物；再使用 8 mL 二氯甲烷：丙酮 (1:1, V/V) 洗脱 OPEs 目标物。最后，洗脱液在温和的氮气流下浓缩近干，转移至棕色进样小瓶，添加 1 ng 进样内标（BDE-138 和 ¹³C₁₀ 标记的 CN-75），待上机测试。

■ 结果与讨论

3.1 NBFRs 分析方法

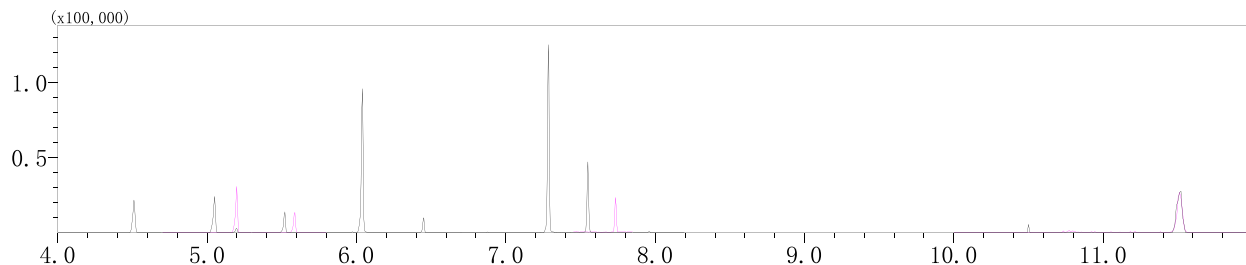


图1 NBRs的MRM质量色谱图(CS4浓度点, 10—100 ng/mL)

9种NBRs及4种内标的混合标准溶液色谱图如图1, 各化合物的保留时间和MRM参数如表1所示。在建立该检测方法过程中, 从以下两个方面优化了方法: (1) 由于该方法需检测的化合物中, DBDPE及其同位素内标的分子量偏大, 需进行高质量数的调谐, 以此保证在 m/z 高于700的高质量范围内也可进行准确校准, 通过进行高质量数调谐, 有效改善了高质量范围化合物检测的灵敏度和重现性; (2) 将检测器电压设置为分段电压, 在4.00-10.00 min区间设置电压为相对调谐电压+0.4 kV, 10.00-12.50 min区间内为1.9 kV, 旨在提高DBDPE及其同位素内标在浓度最低点的灵敏度, 并避免其他NBRs信号过饱和。部分NBRs在CS2浓度点(DPTE、HBBz、EHTBB、BTBPE、BEHTEBP浓度为1 ng/mL, DBDPE浓度为5 ng/mL)的MRM谱图如图2所示。

表1 9种NBRs及4种内标的保留时间及MRM参数

No.	名称	简称	CAS号	保留时间 (min)	特征离子对	碰撞电压(CE)
1	五溴苯	PBBz	608-90-2	4.547	392.80>311.70	15.00
	1,2,3,4,5-pentabromobenzene				473.70>313.60	42.00
2	五溴甲苯	PBT	87-83-2	5.082	487.70>406.60	18.00
	pentabromotoluene				406.80>246.80	33.00
3	五溴乙苯	PBEB	85-22-3	5.229	499.70>484.40	18.00
	pentabromoethylbenzene				501.70>486.50	21.00
4	2,3-二溴丙基	DPTE	35109-60-5	5.547	330.00>141.00	36.00
	2,3-dibromopropyl				330.00>221.90	30.00
5	2,4,6-三溴丙基醚	HBBz	87-82-1	5.620	391.80>231.80	39.00
	2,4,6-tribromophenyl ether				551.50>473.00	30.00
6	六溴苯	BDE-77	93703-48-1	6.065	486.00>325.80	21.00
	hexabromobenzene				326.00>138.20	39.00
7	3,3',4,4'-四溴二苯醚	EHTBB	183658-27-7	6.476	420.80>392.50	21.00
	3,3',4,4'-tetrabromodiphenyl ether				437.80>420.50	24.00
8	乙基己基四溴苯甲酸酯	BDE-138	182677-30-1	7.314	324.00>216.50	27.00
	2-ethylhexyl-2,3,4,5-tetrabromobenzoate				405.90>245.70	39.00
9	2,2',3,3',4,4'-六溴二苯醚	BDE-128	182677-28-7	7.579	324.00>216.50	27.00
	2,2',3,3',4,4'-hexabromodiphenyl ether				405.90>245.70	39.00
10	1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷	BTBPE	37853-59-1	7.769	687.60>358.90	9.00
	1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy) ethane				356.70>198.20	30.00
11	双(2-乙基己基)四溴邻苯二甲酸酯	BEHTEBP	26040-51-7	7.987	464.60>380.60	42.00
	Bis(2-ethyl-1-hexyl) tetrabromophthalate				466.60>382.30	33.00

12	¹³ C- 十溴二苯基乙烷 ¹³ C-labeled decabromodiphenylethane	¹³ C-DBDPE	--	11.573	985.00>493.10 491.60>331.70	39.00 45.00
13	十溴二苯基乙烷 decabromodiphenylethane	DBDPE	84852-53-9	11.582	971.30>484.80 486.50>324.80	36.00 45.00

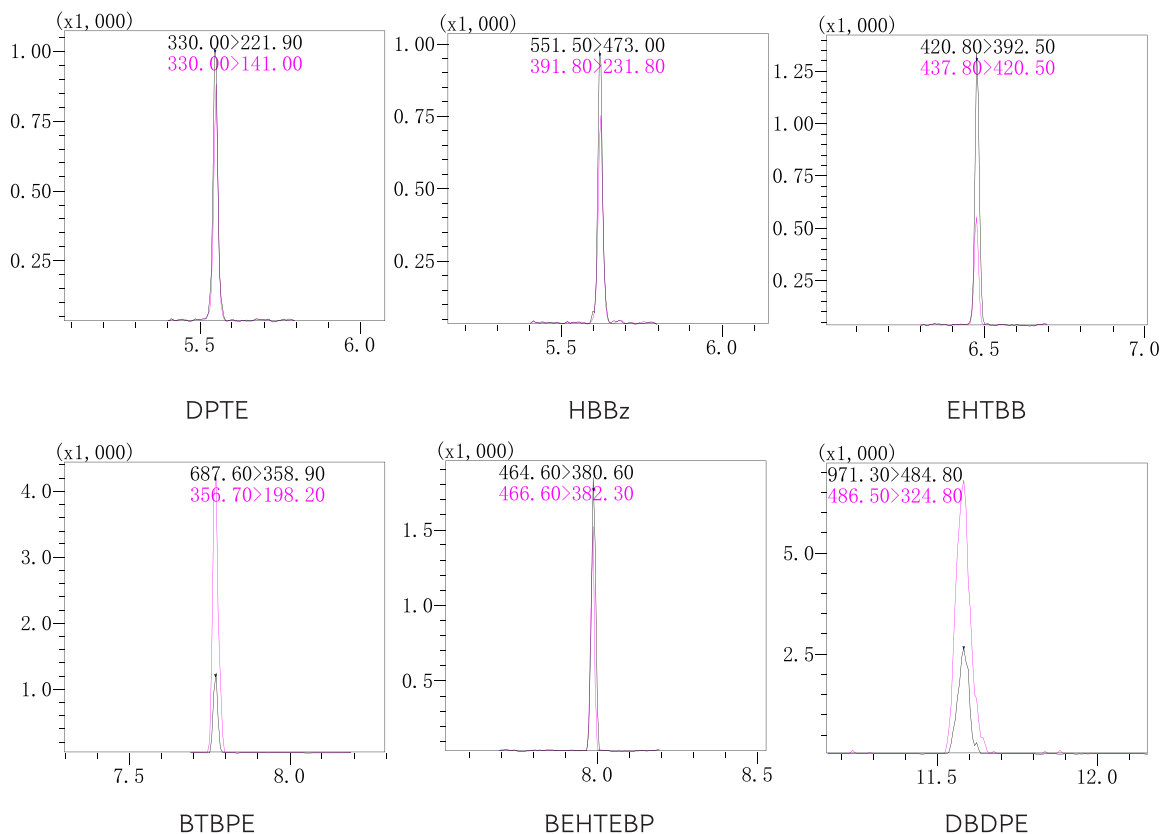


图2 部分NBRs的MRM谱图 (DPTE、HBBz、EHTBB、BTBPE、BEHTEBP浓度为1 ng/mL, DBDPE浓度为5 ng/mL)

3.2 OPEs 分析方法

9种OPEs的保留时间和优化后的MRM参数如表2所示。部分OPEs在CS2浓度点 (TPrP、TCEP、TCPP、TPP、EHDP、TEHP浓度为1 ng/mL)的MRM谱图如图3所示。

表2 9种OPEs及3种内标的保留时间及MRM参数

No.	名称	简称	CAS号	保留时间 (min)	特征离子对	碰撞电压 (CE)
1	tri-n-propyl phosphate	TPrP	513-08-6	7.652	99.00>81.00 141.00>99.00	18.00 6.00
2	tri-n-butyl phosphate-d ₂₇	TBP-d ₂₇	---	9.101	103.00>83.00 167.00>103.10	18.00 6.00
3	tri-n-butyl phosphate	TBP	126-73-8	9.198	99.00>81.00 155.00>99.00	18.00 6.00
4	tris (2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	9.834	205.00>143.00 249.00>125.10	6.00 6.00

5	tri[(2R)-1-chloro-2-propyl] phosphate	TCPP	13674-84-5	10.011	125.00>99.00 125.00>81.00	9.00 24.00
6	tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCPP	13674-87-8	13.073	191.00>75.00 381.00>159.10	12.00 15.00
7	tris (2-ethylhexyl) phosphate	TBEP	78-51-3	13.613	153.00>125.00 125.00>99.00	9.00 9.00
8	triphenyl phosphate-d ₁₅	TPP-d ₁₅	1173020-30-8	13.701	341.00>223.00 341.00>180.00	25.00 25.00
9	triphenyl phosphate	TPP	115-86-6	13.786	215.00>168.10 325.00>169.10	18.00 18.00
10	2-Ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDP	1241-94-7	13.947	251.00>77.10 251.00>152.10	24.00 24.00
11	tris (2-ethylhexyl) phosphate	TEHP	78-42-2	14.120	99.00>81.00 99.00>63.00	18.00 30.00
12	¹³ C ₁₀ -labeled CN-75	¹³ C-PCN-75	---	18.182	412.00>342.00 414.00>344.00	35.00 35.00

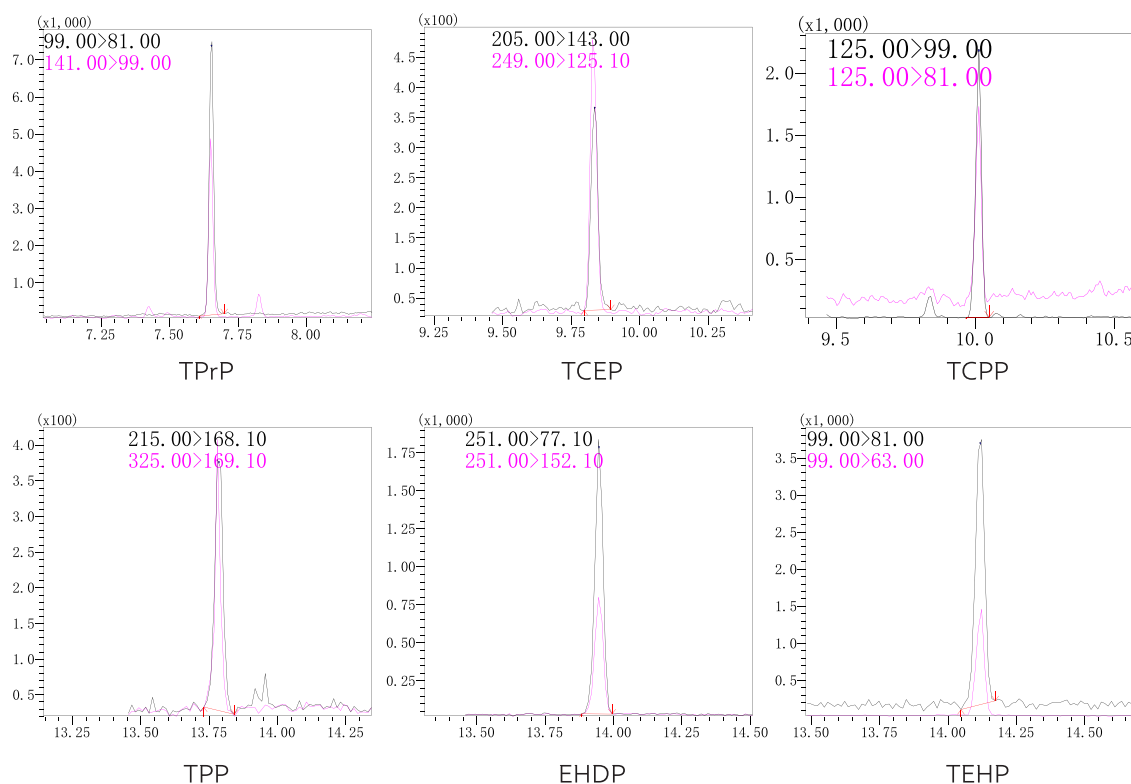


图3 部分 OPEs 的 MRM 谱图 (TPrP、TCEP、TCPP、TPP、EHDP、TEHP 浓度为 1 ng/mL)

3.3 NBRs 和 OPEs 标准曲线、方法检出限及加标回收率

对 NBRs 标准系列溶液 (CS1—CS7) 进行分析并制作标准曲线, 其中 PBBz、PBT、PBEB、DPTE、HBBz、EHTBB、BTBPE、BEHTEBP 的浓度分别为 0.2、1、5、10、20、50、100 ng/mL; DBDPE 的浓度分别为 1、5、25、50、100、250、500 ng/mL。对 OPEs 标准系列溶液 (CS1—CS7) 进行分析并制作标准曲线,

其中 TPrP、TBP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBEP、TPP、EHDP、TEHP 的浓度分别为 0.2、1、5、10、20、50、100 ng/mL。结果见表 3，标准曲线的相关系数 (R^2) 均大于 0.999。使用血清样品中的加标回收率来评估方法的准确性，NBFRs 的加标回收率范围为 61—133%，OPEs 为 95—126%，血清样品中 NBFRs 和 OPEs 的平均回收率分别为 86—99% 和 90—101%。

表 3 9 种 NBFRs 和 9 种 OPEs 的线性范围、相关系数、方法检出限及加标回收率

No.	化合物	线性范围 (ng/mL)	相关系数 (R^2)	方法检出限 (ng/mL)	回收率 (% mean \pm SD, n=3)
1	PBBz	0.2-100	0.9998	1.3×10^{-4}	79 \pm 5.9
2	PBT	0.2-100	0.9997	3.6×10^{-4}	77 \pm 1.5
3	PBEB	0.2-100	0.9997	2.2×10^{-4}	77 \pm 3.1
4	DPTE	0.2-100	0.9996	2.7×10^{-4}	133 \pm 13.5
5	HBBz	0.2-100	0.9997	1.5×10^{-4}	101 \pm 4.9
6	EHTBB	0.2-100	0.9997	3.9×10^{-4}	116 \pm 23.2
7	BTBPE	0.2-100	0.9992	1.6×10^{-3}	61 \pm 5.1
8	BEHTEBP	0.2-100	0.9995	5.8×10^{-4}	62 \pm 13.4
9	DBDPE	1-500	0.9992	6.5×10^{-3}	89 \pm 1.5
10	TPrP	0.2-100	0.9999	4.3×10^{-3}	95 \pm 12.5
11	TBP	0.2-100	0.9999	1.1	106 \pm 17.9
12	TCEP	0.2-100	0.9997	7.9×10^{-2}	119 \pm 12.4
13	TCPP	0.2-100	0.9998	1.3	109 \pm 18.6
14	TDCPP	0.2-100	0.9998	6.3×10^{-2}	96 \pm 6.5
15	TBEP	0.2-100	0.9998	0.3	123 \pm 7.3
16	TPP	0.2-100	0.9993	9.0×10^{-2}	105 \pm 3.2
17	EHDP	0.2-100	0.9994	0.3	113 \pm 5.0
18	TEHP	0.2-100	0.9994	0.3	126 \pm 12.6

3.4 实际样品测试

按照前述方法参数分析一批人体血清样品，结果表明，PBT、DPTE、DBDPE、TCEP 及 TPP 的检出率高于 60%。考察部分提取内标物的加标回收率，提取内标物 BDE-77，BDE-138 和 ^{13}C -DBDPE 的回收率分别在 72%—96%，95%—116% 和 73%—126% 之间，具体结果如表 4 所示。

表 4 提取内标加标回收率结果

化合物	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BDE-77 Rec/%	85	90	93	96	72	84	78	87	85	92	85	85
BDE-138 Rec/%	109	116	102	106	95	97	99	110	101	105	98	97
^{13}C -DBDPE Rec/%	117	126	74	100	94	77	95	80	73	75	88	77

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (GCMS-TQ8050 NX) 建立了人体血清中 9 种 NBFRs 和 9 种 OPEs 的痕量分析方法: 在 0.2—100 ng/mL (PBBz、PBT、PBEB、DPTE、HBBz、EHTBB、BTBPE 和 BEHTEBP), 1—500 ng/mL (DBDPE), 0.2—100 ng/mL (TPrP、TBP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBEP、TPP、EHDP、TEHP) 标准曲线范围内, 相关系数 $R^2 > 0.999$ 。将所建立的方法用于分析人体血清样品, 结果表明, 血清样品中 PBT、DPTE、DBDPE、TCEP 及 TPP 广泛检出。该方法具有良好的灵敏度和重复性, 线性范围宽, 可广泛应用于复杂基质中 NBFRs 和 OPEs 的分析。

【参考文献】

- [1] 刘美, 张高信, 张晓莉, 等. 气相色谱-三重四极杆质谱法测定人体血清中新型溴代阻燃剂 [J].《环境化学》, 2023, 42 (5): 1-7.
- [2] Liu M, Li A, Meng L, et al. Exposure to Novel Brominated Flame Retardants and Organophosphate Esters and Associations with Thyroid Cancer Risk: A Case-Control Study in Eastern China [J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56: 17825-17835.
- [3] Guan X, Zhang G, Meng L, et al. Novel biomonitoring method for determining five classes of legacy and alternative flame retardants in human serum samples [J]. Journal of Environmental Sciences, 2023, 131: 111-122.

岛津应用云

