

LC-MS/MS 法测定水产品中六溴环十二烷和四溴双酚 A

LCMSMS-901

摘要：使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用系统建立了测定水产品中六溴环十二烷及四溴双酚 A 含量的分析方法。水产品经过改进的 QuEChERS 法进行前处理，使用 C18 色谱柱进行分离，负离子模式电离，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：使用内标法定量，六溴环十二烷和四溴双酚 A 在 1.0 µg/L ~ 100.0 µg/L 浓度范围内线性良好，所得校准曲线线性相关系数在 0.999 以上，各校准点准确度在 86.5%~114.7% 之间，且精密度和加标回收率实验结果良好。

关键词：三重四极杆质谱 水产品 六溴环十二烷 四溴双酚 A

技术特点：

- ❖ 一针进样同时分析水产品中六溴环十二烷和四溴双酚 A；
- ❖ 六溴环十二烷的三个同分异构体实现了较好地分离。

六溴环十二烷 (HBCDs) 和四溴双酚 A (TBBPA) 是目前世界上使用量最大的两类溴代阻燃剂，由于它们具有阻燃效率高、热稳定性好等优点，已广泛应用于电子产品、热塑性塑料及家具装饰材料等行业中。

HBCDs 在环境中具有迁移性和富集性，可引起生殖发育毒性、肝脏毒性等毒性效应；而 TBBPA 对生物体则具有持久性、蓄积性、高毒性，长期接触会妨碍人体大脑和骨骼发育，危害内分泌系统和荷尔蒙系统。因此对于 HBCDs 及 TBBPA 进行监测和暴露风险评估受到国内外关注。

目前，关于 HBCDs 和 TBBPA 检测的方法，主要包括气相色谱 - 质谱联用法、液相色谱 - 质谱联用法等。采用气相色谱 - 质谱联用法测定六溴环十二烷，

存在热不稳定的问题，而测定四溴双酚 A 则需要进行衍生化以提高灵敏度，操作繁琐；而 LC-MS/MS 对于热不稳定性及气相需要衍生化分析的化合物具有灵敏度高且操作简单等优点，已普遍用于 HBCD 异构体及 TBBPA 的检测中。

本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，针对水产品基质进行提取后，通过分析条件优化，建立了同时测定 HBCDs 和 TBBPA 两种溴代阻燃剂含量的高效液相色谱 - 同位素稀释串联质谱法。该方法可在 10 min 内完成 α -HBCD、 β -HBCD、 γ -HBCD 和 TBBPA 4 种组分的定性定量分析，实现了 HBCDs 和 TBBPA 两种溴代阻燃剂的快速、痕量、同时检测分析。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质谱联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A_{5R}

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

检测器：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱 : Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32001-03)

流 动 相 : A相 - 纯水; B相 - 乙腈

流 速 : 0.20 mL/min

进 样 体 积 : 5 μL

柱 温 : 40°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为 30%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.00	泵	B.Conc	70
3.00	泵	B.Conc	80
4.00	泵	B.Conc	80
7.00	泵	B.Conc	85
7.50	泵	B.Conc	85
7.60	泵	B.Conc	30
10.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI-

接 口 温 度 : 300°C

接 口 电 压 : 4.0 kV

D L 温 度 : 150°C

雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min

加热块温度 : 400°C

加热气流速 : 空气 10 L/min

驻 留 时 间 : 30 ms

干燥气流速 : 氮气 10 L/min

扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

碰 撞 气 : 氩气 230 kPa

MRM 参 数 : 见表 2

1.3 样品前处理方法

准确称取 2 g (精确至 0.001 g) 均质过的鱼肉样品至 50 mL 离心管, 加入 100 μL (1000 μg/L) 同位素内标混合溶液, 依次加入 5 mL 水及 10 mL 乙腈, 旋涡震荡提取 10 min。加入盐析剂 (4 g 无水硫酸钠和 1 g 氯化钠), 旋涡震荡 2 min, 6000 r/min 离心 10 min。取 1.5 mL 上清液至 10 mL 装有 150 mg 无水硫酸镁、100 mg C18 及 150 mg PLS-A 的净化管中, 旋涡振荡 2 min, 6000 r/min 离心 10 min。取 0.8 mL 上清液氮吹至近干, 用 0.4 mL 的甲醇溶液复溶, 旋涡混合 2 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜后待测。

1.4 校准曲线的制备

移取适量四溴双酚 A(TBBPA) 标准储备溶液和六溴环十二烷 (HBCDs) 标准储备溶液于 5 mL 容量瓶, 加入 100 μL (1000 μg/L) 同位素内标混合溶液, 用甲醇定容至 5 刻度, 配制系列浓度分别为 1.00 μg/L、2.00 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L 的混合标准工作溶液, 其中内标浓度为 20.0 μg/L。

表 2 TBBPA 和 HBCDs 及其同位素内标的 MRM 采集参数

No.	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	TBBPA	542.9	417.80*	20	45	38
			79.00	16	50	24
2	¹³ C ₁₂ -TBBPA	554.9	428.85*	16	44	38
			430.80	16	46	36
3	α-HBCD	640.75	79.00*	18	41	28
			81.10	16	17	30
4	¹³ C ₁₂ -α-HBCD	652.75	79.00*	24	30	26
			81.10	16	16	28
5	β-HBCD	640.75	79.00*	18	41	28
			81.10	16	17	30
6	¹³ C ₁₂ -β-HBCD	652.75	79.00*	24	30	26
			81.10	16	16	28
7	γ-HBCD	640.75	79.00*	18	41	28
			81.10	16	17	30
8	¹³ C ₁₂ -γ-HBCD	652.75	79.00*	24	30	26
			81.10	16	16	28

注：* 表示定量离子对

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

通过优化液相色谱条件, α-HBCD、β-HBCD、γ-HBCD 同分异构体得到了较好地分离, 且 α-HBCD、β-HBCD、γ-HBCD 和 TBBPA 4 种组分在 10 min 内完成分析, 具体结果见图 1 和图 2。

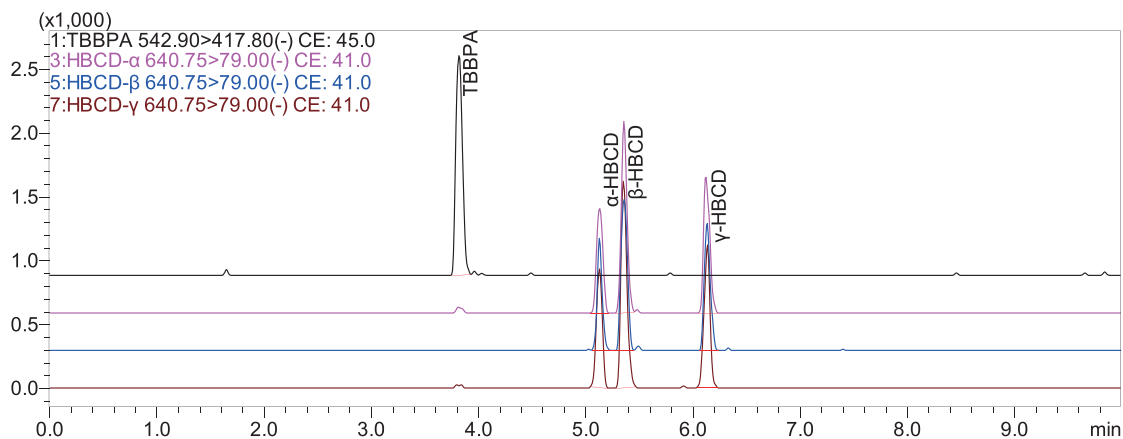


图 1 TBBPA 和 HBCDs(2.0 μg/L) 的 MRM 图谱

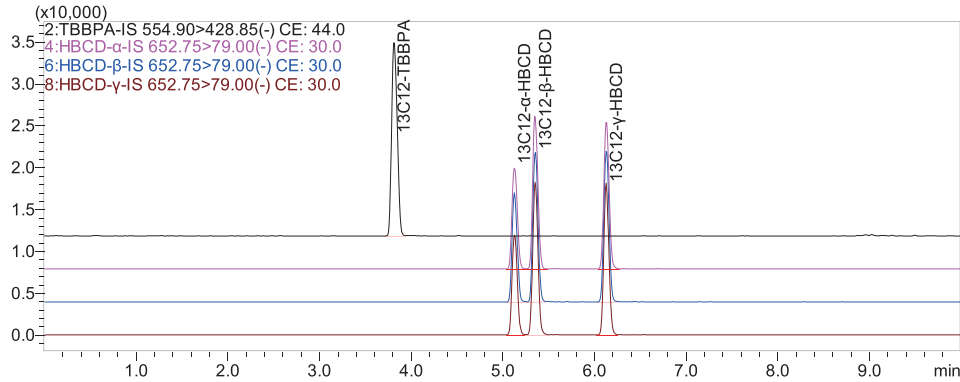


图 2 TBBPA 和 HBCDs 同位素内标 (20.0 μg/L) 的 MRM 图谱

2.2 校准曲线

将浓度分别为 1.00 μg/L、2.00 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L 不同浓度的 TBBPA 和 HBCDs 混合标准工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用内标法定量。以目标物浓度与对应内标浓度的比值为横坐标，目标物的峰面积与对应内标的峰面积比值为纵坐标，绘制校准曲线如图 3 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

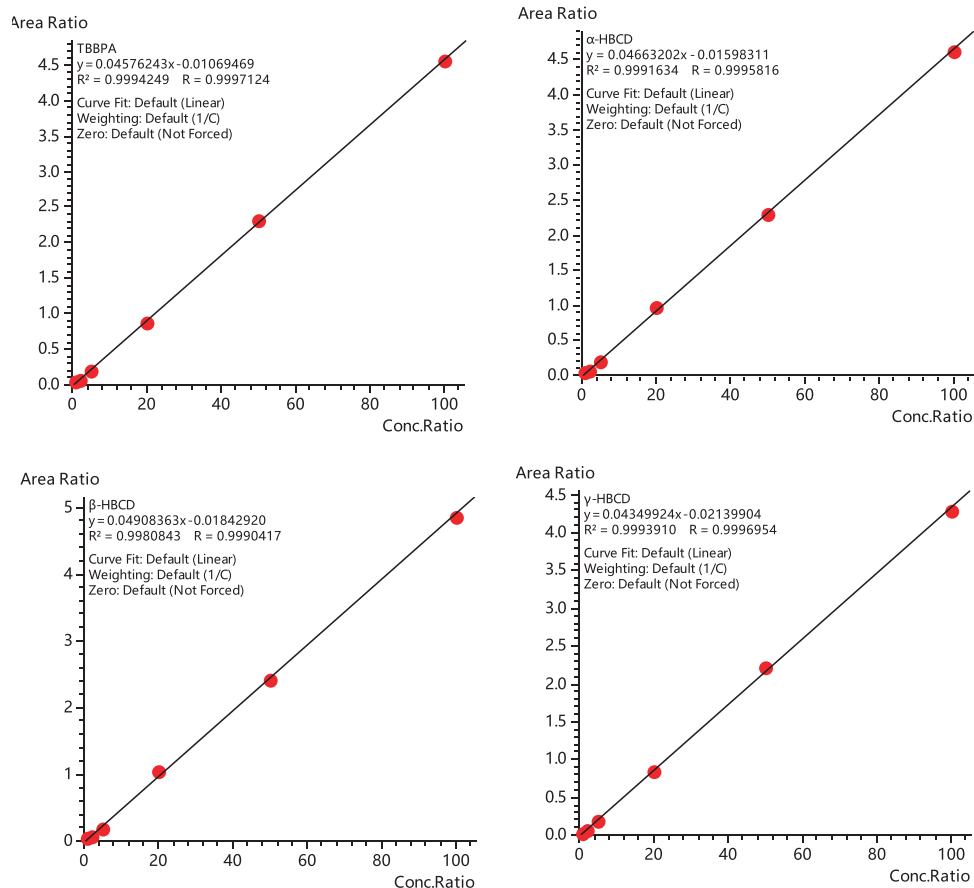


图 3 TBBPA 和 HBCDs 校准曲线

表 3 校准曲线信息

No.	化合物名称	校准曲线	相关系数 R	准确率 (%)
1	TBBPA	$Y = (0.0457624)X + (-0.0106947)$	0.9997	94.2~114.7
2	α -HBCD	$Y = (0.0466320)X + (-0.0159831)$	0.9995	90.2~111.9
3	β -HBCD	$Y = (0.0490498)X + (-0.0170506)$	0.9990	86.5~114.4
4	γ -HBCD	$Y = (0.0434992)X + (-0.0213990)$	0.9996	92.4~110.6

2.3 检出限与定量限

在空白鱼肉基质中加入 200 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液 10 μL ，按照 1.3 进行样品前处理后，按照信噪比 (S/N) =3 时对应的加标水平为检出限，以 S/N=10 时对应的加标水平为定量下限，其 TBBPA 和 HBCDs 的检出限与定量限测定结果见表 4。

表 4 检出限与定量限信息

No.	化合物名称	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
1	TBBPA	0.02	0.07
2	α -HBCD	0.30	0.99
3	β -HBCD	0.13	0.44
4	γ -HBCD	0.08	0.26

2.4 精密度实验

对 5 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度的 TBBPA 与 HBCDs 混合标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 5 所示。结果显示：TBBPA 与 HBCDs 的保留时间和峰面积相对标准偏差不高于 0.12% 和 7.50%，显示仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	5 $\mu\text{g/L}$		50 $\mu\text{g/L}$	
		R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%
1	TBBPA	0.12	4.87	0.08	2.06
2	α -HBCD	0.06	7.50	0.05	2.28
3	β -HBCD	0.08	4.15	0.05	1.96
4	γ -HBCD	0.10	3.81	0.04	1.84

2.5 加标回收率实验

取鱼肉样品，加入适量 TBBPA 和 HBCDs 混合标准品储备溶液，使样品中添加浓度为 12.5 $\mu\text{g/kg}$ 并平行处理 3 份。按照 1.3 样品前处理方法完成处理后上机分析，测定 TBBPA 和 HBCDs 的平均回收率及相对标准偏差 (RSD%)，各化合物的平均加标回收率结果在 88.9% ~ 98.5% 之间 (见表 6)。

表 6 TBBPA 和 HBCDs 加标回收率结果 (n=3)

No.	化合物名称	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)
1	TBBPA	91.7	3.36
2	α -HBCD	90.6	6.63
3	β -HBCD	98.5	3.53
4	γ -HBCD	88.9	0.74

■ 结论

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-8045 联用系统建立了水产品中溴代阻燃剂六溴环十二烷和四溴双酚 A 残留量测定的方法，其中 α -HBCD、 β -HBCD、 γ -HBCD 同分异构体得到了较好地分离，且 α -HBCD、 β -HBCD、 γ -HBCD 和 TBBPA 4 种组分在 10 min 内即可完成分析。该方法灵敏度高、精密度好、结果准确，且干扰少，可应用于水产品中六溴环十二烷及四溴双酚 A 含量的日常监测分析。

岛津应用云

