

GC-MS/MS 同时测定鱼样中 39 种多溴联苯醚

卢大胜¹, 林元杰¹, 冯超¹, 熊丽蓓¹, 金颖², 汪国权^{1*}

(1. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336; 2. 上海大学生命科学学院, 上海 200444)

摘要: **目的** 采用快速溶剂萃取(ASE)、系列固相萃取[SPE, 包括分散性固相萃取(D-SPE)和串联 SPE 柱]和 GC-MS/MS, 建立一个便捷、高效测定鱼样中 39 种多溴联苯醚(PBDEs)的检测方法。**方法** 代表性鲈鱼样品(脂肪含量 11%)经冷冻干燥后 ASE 提取, 然后采用 D-SPE 去除脂肪和串联 SPE 柱净化, 最后采用 GC-MS/MS 检测, 同位素内标法定量。**结果** 本方法的检测限(MDLs)为 0.16~3.29 pg/g; 具有良好的线性范围($R^2 > 0.998$)、准确度(除 BDE30 为 53%以外, 其他组分回收率为 62%~139%)和精密度(RSD<20%); 测定参考物质的结果均在标准值范围内, 与气相色谱磁场电场双聚焦高分辨质谱(GC-HRMS)测定结果一致。**结论** 本方法为鱼样中 PBDEs 检测提供了一个快速、简便和可靠的方法, 以便于日常监测和评估鱼中残留 PBDEs 对人体健康风险的研究。

关键词: GC-MS/MS; 多溴联苯醚; 分散性固相萃取; 鱼; 快速溶剂萃取

Determination of 39 polybrominated biphenyl ethers in fish using GC-MS/MS

LU Da-Sheng¹, LIN Yuan-Jie¹, FENG Chao¹, XIONG Li-Bei¹, JIN Ying², WANG Guo-Quan^{1*}

(1. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336 China;
2. School of Life Science, Shanghai University, Shanghai, 200444 China)

ABSTRACT: Objective To develop a method to simultaneously determine the 39 polybrominated biphenyl ethers (PBDEs) in fish based on the sample pretreatment of accelerated solvent extraction (ASE) and sequential solid phase extraction (including D-SPE and tandem SPE cartridges) as well as chromatographic separation and detection of GC-MS/MS. **Methods** After frozen to dry, weever sample (11% of fat content) was treated sequentially with ASE extraction, D-SPE defatting and tandem SPE cleaning up, and consequently detected by GC-MS/MS in MRM detection mode with isotopically labelled internal standard. **Results** The method was validated with an MDLs range of 0.16~3.29 pg/g, and satisfactory linear dynamic range $R^2 > 0.998$, and accuracy was 62%~139%, except for BDE30 with the recovery of 53%, and precision was RSD<20%. A certified reference material (CRM) of fish was successfully detected with detection values in line with the certified values as well as those values provided by the gold standard method of GC-HRMS. **Conclusion** This method is rapid, easy, and reliable, and suitable for the determination of part per trillion of PBDEs in fishes and then the assessment of its health risk on the general population.

KEY WORDS: GC-MS/MS; polybrominated biphenyl ethers (PBDEs); dispersive solid phase extraction (D-SPE); fish; accelerated solvent extraction (ASE)

基金项目: 上海市卫生局项目(2009188)和卫生部公益性项目(200902009)

Fund: Research Grand Award of Shanghai Municipal Health Administration (2009188) and Special Fund of Commonweal Industry of Ministry of Health (200902009)

*通讯作者: 汪国权, 主任技师, 主要研究方向为公共卫生理化分析和健康管理。E-mail: gqwang@scdc.sh.cn

*Corresponding author: WANG Guo-Quan, Senior Technologist, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, No. 1380, Zhongshan West Road, Changling District, Shanghai 200336, China, Email: gqwang@scdc.sh.cn

1 引言

多溴联苯醚(PBDEs)是一类新型的持久性有机污染物(POPs), 由于作为助燃剂大量使用而释放到环境介质中, 其污染趋势在逐年增加, 预计在下一个 15 到 30 年, PBDEs 将会替代多氯联苯(PCBs)成为主要的环境污染物^[1,2]。PBDEs 具有潜在的慢性毒性、基因毒性、致癌性和内分泌干扰性, 是当前环境与健康研究中一个热点问题^[1, 3]。越来越多的研究表明食用水产品(尤其是鱼)是人体暴露 PBDEs 的最主要方式^[4-6]。另外最近的研究还发现摄入鱼类食物的量与 PBDEs 在人体内的浓度呈现正相关关系^[6]。鉴于此, 有必要建立一个适合食用鱼类中痕量 PBDEs 的快速检测方法, 以便于进行人体有关 PBDEs 的健康风险评估研究。

目前鱼中 PBDEs 测定的金标方法为美国环保局(U.S. EPA)方法 1614^[7], 该方法借鉴于二噁英方法, 即采用索氏提取和层析柱净化的前处理方法与气相色谱高分辨质谱(GC-HRMS)的检测方法。该前处理方法存在费时、溶剂消耗量大、本底高和操作繁杂等问题^[8, 9], 另外 GC-HRMS 还需要专业人员操作以及高额的购买和维护费用^[3,10], 从而限制了该方法的推广。目前文献报道的方法大多集中于 GC-MS-EI/NCI 的方法, GC-MS-EI 方法抗基质干扰能力弱^[11], 仅适合高污染的环境样品; 与 GC-MS-EI 相比, GC-MS-NCI 具有高的特异性和灵敏度, 但该方法只是针对特征离子 Br⁻检测, 除了不能消除样品基质中所存在的共流 Br⁻离子干扰外^[12], 还限制了同位素稀释方法的使用。与这些技术相比, GC-MS/MS 具有相当 GC-HRMS 的特异性^[12, 13], 如再配合大体积进样(LVI)技术的使用, GC-MS/MS 可以弥补高溴代低响应的问题^[2], 从而获得相当于 GC-HRMS 和 GC-MS-NCI 的灵敏度。GC-MS/MS 具有低的购置和维护成本, 在国内普及率高, 适合开展该方面的工作。

本研究基于传统方法的原理和现代前处理技术的特色, 采用快速溶剂萃取(ASE)和系列固相萃取净化(包括分散性固相萃取和串联固相萃取柱)等前处理技术以及高特异性和高灵敏度的 LVI-GC-MS/MS 色谱分离和检测技术, 建立一个高稳定、快速、低成本和检测水平达到 ng/kg 的鱼

类 PBDEs 检测方法。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

美国 Agilent 7000B GC-MS/MS, 配有 Agilent 7890 GC; GC 配有 7693A 自动进样器、多模式进样口(配有 Merlin MicroSeal 隔垫)和 DB-5 ms 毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), PTV 进样口与毛细管色谱柱之间接有保护柱(0.25 mm(ID) × 5 m(L)); Thermo Finnigan MAT95 GC-HRMS, 配有程序升温进样口(PTV)和 Agilent DB-HT5 毛细管色谱柱(15 m × 0.25 mm, 0.1 μm); 德国 Christ Gamma 116/216 冷冻干燥机; 美国戴安公司加速溶剂萃取 ASE 200; PIERCE 氮吹仪 ReactiTherm III; 瑞江牌 RJTDL5A 离心机; C2 Platform shaker 电动振荡器(EDISON, NJ.U.S.A); IKA T18 Basic 组织捣碎机; 美国 SGE 公司气密性微量注射器(10 μL, 100 μL 和 1000 μL); Supelco 固相萃取装置(12 位)。

39 种 PBDEs 混标(BDEAAPA15X)购买于百宁威公司(New Heaven, CT, US), 该标准包括 3 个单溴代(包括 BDE1、2 和 3)、7 个二溴代(包括 BDE7、8、10、11、12、13 和 15)、8 个三溴代(包括 BDEs17、25、28、30、32、33、35 和 37)、6 个四溴代(包括 BDE47、49、66、71、75 和 77)、7 个五溴代(包括 BDE-85、99、100、116、118、119 和 126)、5 个六溴代(包括 BDE-138、153、154、155 和 166)和 3 个七溴代(包括 BDEs181、183 和 190), 其中一到四溴代 PBDEs 的浓度相同, 均为 1.5 μg/mL, 而五、六和七溴代 PBDEs 分别是他们的 1.5、2.0 和 2.5 倍。PBDEs 的内标 EO4999 (BDE3L, 99.0%, 50 μg/mL)、EO5001 (BDE15L, 99.0%, 50 μg/mL)、EO5277 (包括 BDE28 L、47 L、99 L、100 L、153 L、154 L、183 L 和 209 L, 99.0%, 各化合物的浓度为 1 μg/mL)和 GC-HRMS 的标准系列 EO5279 均购买于剑桥同位素实验室。另外进样内标采用 CB198(10 μg/mL), 该内标购买于 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)。鱼样参考物质标准 CRM WMF01 购于 Wellington Laboratories Inc.。

硅胶(编号 115101, 100200 meth)购买于 Merck (Darmstadt, Germany), 碱性硅胶(编号 199443, 150 mesh)和无水硫酸钠(编号 238597)购买于 Sigma Aldrich。活性硅胶、酸性硅胶(44% w/w)、活性碱性氧化铝和无水硫酸钠的准备均基于 U.S. EPA 方法 1614^[7]。

酸性硅胶和碱性氧化铝两种 SPE 柱从下至上均包括 5 g 吸附填料和 2 g 无水硫酸钠, 填料和无水硫酸钠之间有砂芯隔板隔离, 装填完毕迅速真空包装于密封袋中, 有效期为 3 个月。正己烷和二氯甲烷为农药残留分析 Optima® 级别, 购买于 Fisher Scientific, 壬烷 (anhydrous, 99.0%) 购买于 Sigma Aldrich。

2.2 分析条件

2.2.1 ASE 提取条件

参照文献^[11,14], 提取溶剂为正己烷: 二氯甲烷 (1:1, v/v), 提取压力和温度分别为 1500 psi 和 100 °C, 提取包括 3 次静态提取过程, 每次 5 min, 溶剂冲洗体积为 100%, 冲洗时间为 90 s。

2.2.2 GC-MS/MS 分析条件

采用 5 μ L 大体积溶剂排放模式进样, 进样时溶剂排放时间、压力、温度和溶剂排放速度分别为 0.2 min、0 psi、60 °C 和 30 mL/min; 在进样 0.2 min 后, 溶剂排放结束, 分流口关闭, 并在 0.3 min 后, 进样口以 600 °C 升温至 280 °C, 将进样口中的分析物转移到柱头, 该过程持续到第 5 min; 高纯 He 作为载气, 柱流速: 0.8 mL/min; 柱温程序升温: 50 °C (1 min) $\xrightarrow{15\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 200 °C (0 min) $\xrightarrow{10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 270 °C (0 min) $\xrightarrow{8\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 300 °C (12 min)。

GC-MS 接口、离子源和分析器的温度分别为 290 °C、320 °C 和 150 °C; MS 离子源的电离电压为标准 70 eV; 碰撞(N₂)气流速: 1.5 mL/min; 淬灭气(He)流速: 2.5 mL/min; MS 的离子检测模式为多反应离子监测(MRM), 对应检测器电子倍增管的倍增系数为 100, 详细 MRM 参数见表 1, 对应的总离子流图(TIC)见图 1; 溶剂延迟时间为 6 min。

2.2.3 GC-HRMS 分析条件

PTV 程序升温不分流进样: 90 °C (0.8 min) $\xrightarrow{600\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 330 °C (10 min); 高纯 He 作为载气, 柱流速为 1.3 mL/min; 进行程序升温: 80 °C (1.6 min) $\xrightarrow{4.6\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 140 °C (0 min) $\xrightarrow{4\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 310 °C (5 min)。GC-MS 接口和离子源的温度分别为 310 °C 和 260 °C; MS 离子源的电离电压为 42 eV; 参照 U.S. EPA 1614, 采用单离子监测(MID)模式监测, 3~4 溴代、5~6 溴代和 7 溴代的分析物分别监测 [M+2]⁺/[M+4]⁺、[M+2]⁺/[M+4]⁺ 和 [M+6]⁺/[M+8]⁺ 离子对; MS 的分辨率调谐为 9000, 采用 PFK 校准气校准, 检测器电子倍增管的增益为 10⁶。溶剂延迟时间为 6 min。进样

量为 1 μ L。

2.3 实验方法和过程

2.3.1 样品前处理

样品经解冻后, 取食用部位, 用刀切成小块后, 用组织捣碎机打碎混匀, 取约 10 g 进行冷冻干燥。干燥后在碾钵中磨碎, 然后加入 2 g hydromatrix 进行混匀, 并转移到 22 mL ASE 提取池中, 用密封性注射器准确移取 20 μ L 内标混合液(10 ng/mL)于该池中, 放置平衡 30 min 后, 按照 ASE 的提取条件进行提取。

若提取物的脂肪超过 0.1 g, 加入 15 mL 正己烷, 按 0.1 g 脂肪 1 g 酸性硅胶的量加入酸性硅胶, 震荡混匀后, 于 60 °C 超声波水解 10 min, 中间震荡 1 次(0.5 min), 脂肪除去完毕后收集溶液, 然后再进行 2 次(每次 5 mL 正己烷)提取, 合并该提取液, 用氮气浓缩至约 0.2 mL, 等待下一步净化处理。若样品的脂肪量 0.1 g, 直接加入 0.2 mL 正己烷等待下一步净化处理。

将上述 0.2 mL 样品溶液转移到事先已活化好的从下至上串联的碱性氧化铝柱和酸性硅胶柱(碱性氧化铝柱依次用 9 mL 正己烷:二氯甲烷(1: 1, v/v)和 9 mL 正己烷活化, 酸性硅胶用 9 mL 正己烷活化, 活化完毕确保柱的顶端有 0.1 cm 高的液面)上, 然后用 0.5 mL 的正己烷清洗样品收集瓶, 并转移到 SPE 柱上, 然后用 9 mL 正己烷冲洗酸性硅胶柱, 待冲洗完毕, 移除该柱, 用 2 mL 正己烷:二氯甲烷(1: 1, v/v)冲洗碱性氧化铝柱, 然后准备好 9 mL 净化样品收集管, 用 8 mL 正己烷:二氯甲烷(1: 1, v/v)洗脱并收集。最后用氮气浓缩至约 100 μ L, 完全转移到进样品的内插管中, 继续氮吹至近干, 加入 20 μ L 进样内标——正己烷和壬烷 (4:1, v/v) 溶液 (10 ng/mL), 震荡混匀等待 GC-MS/MS 分析。

2.3.2 标准曲线

用正己烷和壬烷 (4:1, v/v) 稀释 BDE-AAP-A-15X 标准溶液和内标溶液配制 8 点标准曲线点, 浓度范围为 0.5~100 ng/mL(以 1-BDEs 计), 内标和进样内标均为 10 ng/mL。

2.3.3 方法检测限(MDL)和样品加标回收实验

方法检测限(MDL)选用的基质较为复杂的鲈鱼(脂肪含量 11%)按照样品测定的整个过程同时平行处理 10 个样品(每个样品按 10 g 湿样取样), 在进行 GC-MS/MS 分析前按照标准曲线最低浓度点进行加标, 然后测定计算, 获得 SD, 按下列公式计算 MDL(pg/g)。

表 1 PBDEs MRM 质谱检测参数
Table 1 Parameter of MS/MS operated in MRM mode for PBDEs analysis

扫描时间段 (min)	溴取代	母离子(m/z)	子离子(m/z)	驻留时间 (ms)	二级碰撞 能量 (eV)
7.5~12.5	Br ₁ DE	249.7 (M+2)	141 (M+2-CO ⁸¹ Br)	100	20
		247.7 (M)	141 (M-CO ⁷⁹ Br)	100	20
12.5~13.8	LBr ₂ DE	340	180	70	20
		338	180	70	20
	Br ₂ DE	328 (M+2)	168 (M+2- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	70	12
13.8~17.5	LBr ₃ DE	326 (M)	168 (M+2- ⁷⁹ Br)	70	12
		419.8	259.9	40	20
	Br ₃ DE	407.8 (M+4)	247.9 (M+4- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	60	20
	LBr ₃ DE	259.9	150.1	60	30
	Br ₃ DE	247.9 (M+2- ⁷⁹ Br ₂)/(M+4- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	139.1(M+2-CO ⁷⁹ Br ₂ ⁸¹ Br)/(M+4-CO ⁷⁹ Br ⁸¹ Br ₂)	60	30
	LBr ₄ DE	497.5	337.9	40	20
	Br ₄ DE	485.5 (M+4)	325.9 (M+4- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	50	20
	PCB198	429.2	357.7	40	30
17.5~19.6	PCB198	427.2	357.7	40	30
	LBr ₄ DE	337.9	148.9	40	45
19.6~21.2	Br ₄ DE	325.9 (M+2- ⁷⁹ Br ₂)/(M+4- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)/(M+6- ⁸¹ Br ₂)	137.9(M+2-CO ⁷⁹ Br ₃ ⁸¹ Br)/(M+4-CO ⁷⁹ Br ₂ ⁸¹ Br ₂)/(M+6-CO ⁷⁹ Br ⁸¹ Br ₃)	50	45
	LBr ₅ DE	577.7	417.8	50	20
	Br ₅ DE	565.7 (M+6)	405.8 (M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	50	20
	LBr ₅ DE	417.8	308	50	60
	Br ₅ DE	405.8 (M+4- ⁷⁹ Br ₂)/(M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	297 (M+4-CO ⁷⁹ Br ₂ ⁸¹ Br)/(M+6-CO ⁷⁹ Br ⁸¹ Br ₂)	50	60
	LBr ₆ DE	655.6	495.9	50	20
	Br ₆ DE	643.6 (M+6)	483.8 (M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	50	20
21.2~24.5	Br ₆ DE	565.7	405.9	50	20
	LBr ₆ DE	495.3	387.7	50	30
	Br ₆ DE	483.3 (M+4- ⁷⁹ Br ₂)/(M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)/(M+2- ⁸¹ Br ₂)	376.7 (M+4-CO ⁷⁹ Br ₃)/(M+6-CO ⁷⁹ Br ₂ ⁸¹ Br)/(M+2-CO ⁷⁹ Br ⁸¹ Br ₂)	50	30
	Br ₆ DE	405.3	297	50	60
	LBr ₇ DE	733.6	573.4	60	20
	Br ₇ DE	721.6 (M+6)	561.4 (M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)	60	20
24.5~32.0	LBr ₇ DE	573.6	465.8	60	35
	Br ₇ DE	561.6(M+4- ⁷⁹ Br ₂)/(M+6- ⁷⁹ Br ⁸¹ Br)/(M+8- ⁸¹ Br ₂)	454.8 (M+4-CO ⁷⁹ Br ₃)/(M+6-CO ⁷⁹ Br ₂ ⁸¹ Br)/(M+8-CO ⁷⁹ Br ⁸¹ Br ₂)	60	35

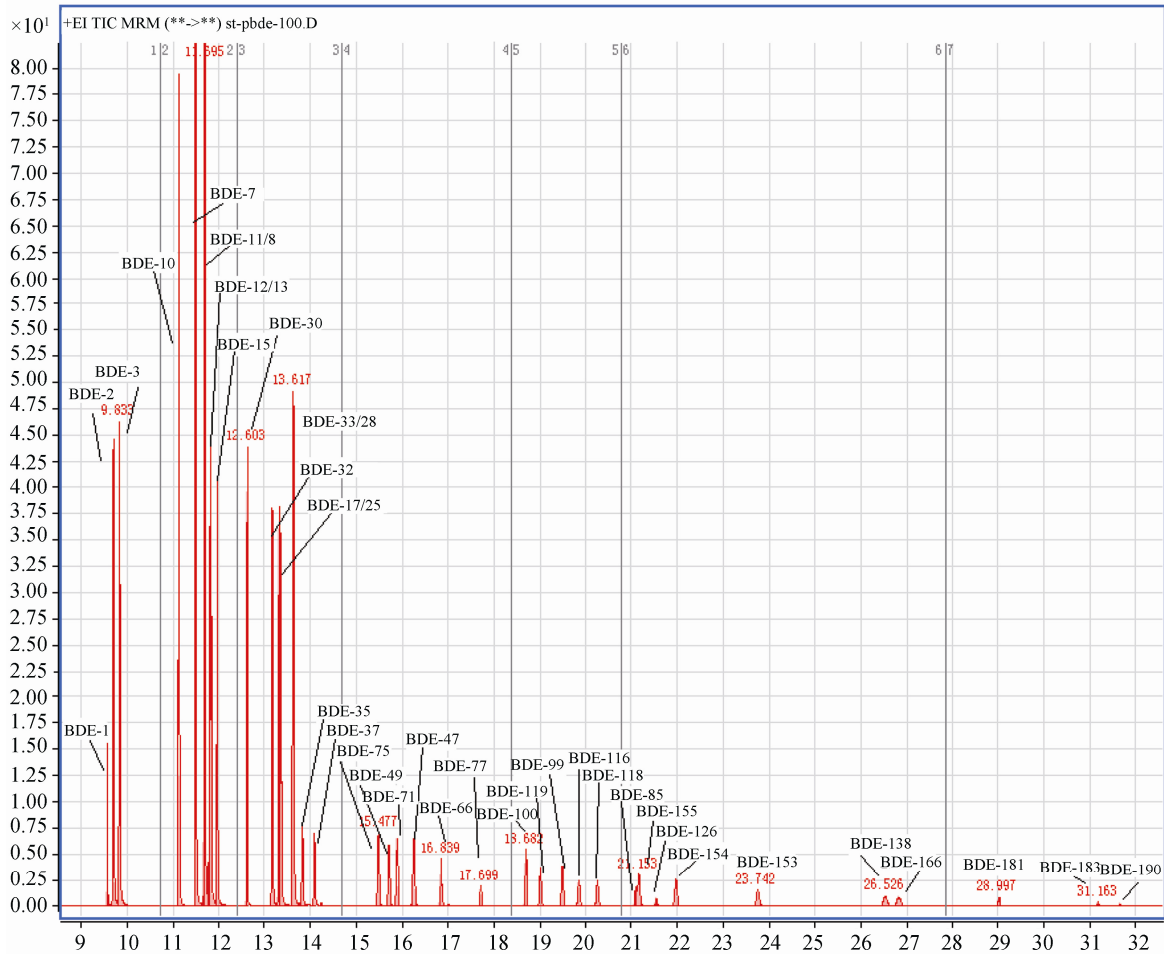


图 1 PBDEs 的 GC-MS/MS 总离子流图

Fig. 1 Total ions chromatography (TIC) of PBDEs in GC-MS/MS analysis

$$MDL = SD * t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$$

$t = T$ 检验值(自信度为 99%, 自由度为 $n-1$); $n =$ 样品重复检测次数

加标回收实验的样品为鲈鱼, 加标浓度包括高低两个浓度, 其中低浓度加标为 12.5 pg/g (14 溴代)、18.75 pg/g (5 溴代)、25 pg/g (6 溴代)和 31.25 pg/g (7 溴代), 高浓度加标为 50 pg/g (14 溴代)、75 pg/g (5 溴代)、100 pg/g (6 溴代)和 125 pg/g (7 溴代)。加标完毕, 按照本方法对每一个浓度水平的样品进行 5 个样品平行性的分析测定, 统计分析数据结果以获取方法学的精密度和准确度。

2.3.4 参考标准物质(CRM)验证

称量 0.5 g 参考物质标准 CRM WMF01, 按照本方法进行 ASE 提取, 除脂肪和净化处理, 然后分别进行 GC-MS/MS 和 GC-HRMS 分析。

3 结果与讨论

3.1 二级质谱条件优化

PBDEs 一级 MS 图谱差异主要基于苯环取代溴的数量, 对于一和二溴代的 PBDEs, 分子离子峰 $[M]^+$ 或 $[M+2]^+$ 是最强的离子峰, 而对于三到八溴代 PBDEs, $[M]^+$ 和 $[M-Br_2]^+$ 则是最强的离子峰。在 MS 二级电离优化中, 选取最强的两个一级 MS 离子作为母离子(见表 1)进行优化研究, $[M]^+$ 在二级 MS 中易形成 $[M-Br_2]^+$, 最佳碰撞能量(CE)与苯环上溴取代的数量无关, 均为 20 eV; 母离子 $[M-Br_2]^+$ 则易形成 $[M-Br_2-COBr]^+$, 但最佳 CE 与取代数有关, 三溴代到五溴代的最佳 CE 分别为 30、45 和 60 eV, 呈现递增趋势(增长量均为 15eV), 但六溴代和七溴代的最佳能量有所减少, 分别为 30 和 35 eV(见表 2)。

表 2 PBDEs 二级质谱碰撞能量(10 eV~65 eV)优化表
Table 2 Optimized CEs of MS/MS for PBDEs analysis

		10eV	12eV	15eV	20eV	25eV	30eV	35eV	45eV	55eV	60eV	65eV
1-Br	249.7/247.7→141	83	94	83	100	78	47	32	6			
2-Br	328/326→168	12468	15086	12834	16585	15102	12503	10629	4739			
3-Br	407.8→247.9	2895	3406	2855	3434	2972	2310	1782	730			
3-Br	247.9→139.1	4065	5816	6053	11071	13270	13440	11914	8182			
4-Br	485.5→325.9	1253	1513	1301	1599	1463	1181	935	417			
4-Br	325.9→137.9	41	63	74	200	402	762	1255	2068	2028	1683	
5-Br	565.7→405.9	541	662	537	672	606	515	405	203			
5-Br	405.3→136.9	2	3	281	16	31	75	141	409	719	770	695
6-Br	643.6→483.8	288	373	325	433	393	339	294	133			
6-Br	483.3→376.7	33	53	64	173	222	286	281	185			
7-Br	721.6→561.4	53	64	48	70	66	58	44	25			
7-Br	561.6→454.8	7	14	11	38	54	75	81	64			

注: 描粗标记的为最佳碰撞能量所对应的响应。

3.2 样品净化处理

由于 POPs 的脂肪蓄积性, 所以在样品提取中要尽可能完整提取到所有的脂肪, 同时考虑到脂肪对检测的影响, 又需要在净化过程中尽可能去除所有的脂肪, 因此高脂肪性鱼样是 PBDEs 分析中一个最重要的挑战^[10]。一般适合高脂肪含量的 PBDEs 分析的方法, 也适合低脂肪性的样品基质, 所以本方法选用高脂肪的鲈鱼作为方法学研究的代表性样品。本方法借助一定的温度(60 °C)和超声波/震荡辅助, 采用 D-SPE 的脂肪去除率为 90%, 在超声波处理前和途中进行样品振荡可以防止样品结块。该方法有效地克服了采用酸性硅胶层析柱脱脂所带来的费时、繁琐和潜在由于样品高脂肪含量而堵柱的问题, 另外可以根据超声波水浴的容积大小选择合适的样品数进行批量化处理(本实验室一次 24 个), 极大地提高了样品脱脂的通量化。

酸性硅胶 SPE 柱主要用于进一步去除脂肪, 对于改善 GC-MS/MS 的峰型是至关重要。一般情况该柱的最佳脂肪负载量为 0.1 g, 过量的脂肪存在堵柱和脂肪去除不完整的问题, 所以当样品脂肪含量高于 0.1 g 时, 样品要先进行 D-SPE 脱脂。该柱对 PBDEs 的保留能力差, 实验调查表明 8 mL 的正己烷能达到 86%以上的洗脱效率, 本方法采用 9 mL 正己烷洗脱。

PBDEs 化学结构中有 O 元素, 在碱性氧化铝 SPE 柱中基于与填料间的氢键作用力而较好地保留, 因而有利于采用梯度洗脱, 即在待测物洗脱之前去除非极性干扰物而在之后保留极性干扰物。见图 2- I, 在上样后, 用 9 mL 正己烷将 PBDEs 转移到碱性氧化铝 SPE 柱上时未发现任何分析物从该柱上流失, 确保了酸性硅胶和碱性氧化铝 SPE 串联的可行性, 同时在该过程中大量非极性的干扰物通过洗脱被去除;

接着采用 8 mL 二氯甲烷正己烷(1:1, v/v)洗脱分析物, 其洗脱效率达到 90%以上(图 2 II), 而继续采用相对较高极性的二氯甲烷洗脱残留分析物, 其残留量低于 10%(图 2 III), 该洗脱体系不仅确保了本方法检测回收率的要求, 而且将极性较大的干扰物保留在 SPE 柱上。另外该洗脱液的体积大小适合采用 SPE 净化装置, 满足样品处理高通量性的要求。

3.3 方法学验证

3.3.1 线性范围和方法检测限

本研究采用溶剂标准系列和内标法(内标见表 3)制作标准曲线, 1~4 溴代、5 溴代、6 溴代和 7 溴代 PBDEs 的动态线性范围分别为: 0.5~100.00 ng/mL、0.75~150.00 ng/mL、1~200 ng/mL 和 1.25~250.00 ng/mL, 各待测物线性方程系数(R)均大于 0.998。

MDLs 的统计结果见表 3, 其范围为 0.16~3.29 pg/g。低溴代化合物的 MDL 偏低, 基本小于 1 pg/g, 而高溴代特别是 7 溴代化合物达到了 1 pg/g 以上, 其中 BDE190 达到了 3.29 pg/g, 这主要与溴代化合物与

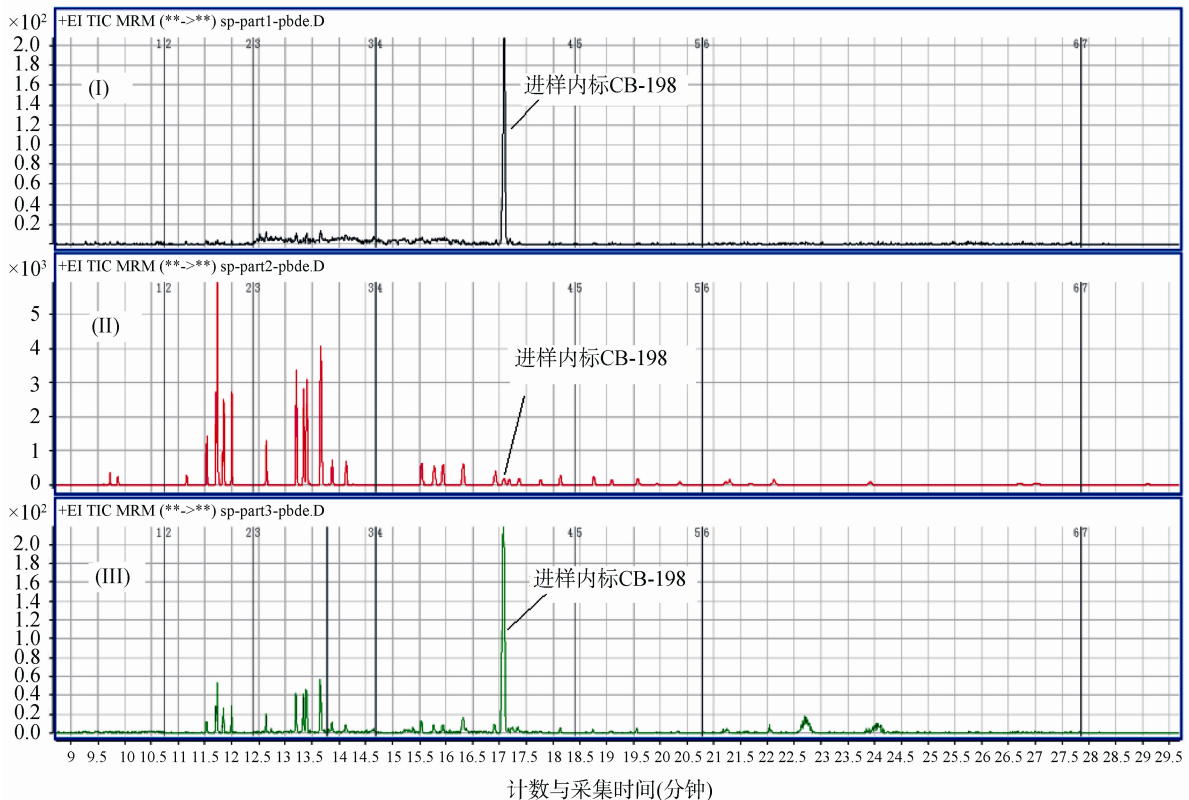
GC-MS/MS 的响应有关(溴代数越大, 响应越低), 同时也与高溴代化合物不稳定特别是在 GC 分析过程高温易降解有关^[13,15]。另外, 本方法的 MDLs 低于类似采用 GC-MS/MS 测定鱼中 PBDEs 的方法^[13]。

3.3.2 样品加标回收实验

通过表 3 中的统计结果可以看出, 在 PBDEs 的两个高低浓度加标中, 相对标准偏差(RSD)均小于 20%, 回收率(Rec.)除 BDE30 (53%)外均在 62%~139%范围内, 低溴代 PBDEs 由于在样品前处理和分析过程中易挥发而回收率相对较低^[16]。

3.3.3 参考标准物质(CRM)验证

通过表 3 可以看出本研究的 GC-MS/MS 分析结果基本和“金标方法”GC-HRMS 保持一致, 除 BDE33/28(相对偏差 18%)外, 测量值的相对偏差小于 10%, 表明 GC-MS/MS 的抗基质干扰能力在该研究中不逊色于 GC-HRMS。另外 GC-MS/MS 的数据均在 CRM 鉴定值范围内, 与 CRM 的鉴定值比较, 该数据除 BDE47(相对偏差 22%)外, 其他相对偏差小于 13.5%, 确保了该方法的准确性。



Ⅰ: 9 mL 正己烷, Ⅱ: 8 mL 二氯甲烷:正己烷(1:1, v/v), Ⅲ: 6 mL 二氯甲烷
 Ⅰ: 9 mL hexane, Ⅱ: 8 mL dichloromethane-hexane(1:1, v/v), Ⅲ: 6 mL dichloromethane

图 2 PBDEs 在碱性氧化铝柱上的梯度洗脱

Fig. 2 Gradient elute of PBDEs in alkaline alumina column

表 3 PBDEs 的 GC-MS/MS 分析数据汇总表
Table 3 Summarized data of PBDEs analyzed by GC-MS/MS

化合物	内标	MDL (pg/g)	高浓度		低浓度		GC-MS/MS 测定值(pg/g)	GC-HRMS 测定值(pg/g)	鉴定值(pg/g)
			RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)			
BDE1	BDE3L	0.9	14	72	19	81	/	/	/
BDE2	BDE3L	0.55	18	92	17	103	/	/	/
BDE3	BDE3L	0.38	19	94	16	107	/	/	/
BDE10	BDE15L	0.21	16	85	11	107	/	/	/
BDE7	BDE15L	0.47	9	103	12	123	10	/	/
BDE8	BDE15L	0.42	4	81	3	93	280	/	/
BDE11	BDE15L	0.16	8	65	8	76	87	/	/
BDE12	BDE15L	0.3	6	70	3	78	293	/	/
BDE13	BDE15L	0.21	4	77	4	86	1172	/	/
BDE15	BDE15L	0.22	4	87	1	95	445	/	/
BDE30	BDE28L	0.37	6	53	4	65		/	/
BDE32	BDE28L	0.49	5	75	2	83	69	/	/
BDE17	BDE28L	0.2	4	74	2	83	199	/	/
BDE25	BDE28L	0.32	4	88	6	94	276	/	/
BDE33/28	BDE28L	0.18	4	86	2	94	3374	2854	3124 ± 290
BDE35	BDE28L	0.21	2	87	3	96	/	/	/
BDE37	BDE28L	0.77	6	87	2	98	/	/	/
BDE75	BDE47L	0.43	3	125	6	124	9040	/	/
BDE49	BDE47L	0.81	4	126	3	124	198175	/	/
BDE71	BDE47L	0.43	3	102	3	108	175078	/	/
BDE47	BDE47L	0.87	4	117	3	117	150000	142010	123200 ± 24800
BDE66	BDE47L	0.46	2	114	3	120	2620	/	/
BDE77	BDE47L	0.92	4	89	13	96	341	/	/
BDE100	BDE100L	1.21	5	85	1	93	38909	35459	35870 ± 14500
BDE119	BDE100L	1.77	3	117	11	115	41767	/	/
BDE99	BDE99L	0.56	6	81	2	99	41941	38093	37500 ± 4220
BDE116	BDE99L	0.71	16	77	5	70	1689	/	/
BDE118	BDE99L	0.85	5	102	2	107	1503	/	/
BDE85	BDE154L	1.67	9	136	2	139	623	/	/
BDE155	BDE154L	1.39	5	82	3	96	2164	/	/
BDE126	BDE154L	2.17	4	93	3	104	5160	/	/
BDE154	BDE154L	0.72	2	92	2	101	21247	20044	19790 ± 2880
BDE153	BDE153L	1.77	6	99	4	98	14733	14567	17040 ± 8000
BDE138	BDE153L	2.03	11	96	4	98	871	/	/
BDE166	BDE153L	1.53	14	73	2	79	1176	/	/
BDE183	BDE183L	2.25	18	87	15	87	536	597	532 ± 400
BDE181	BDE183L	2.09	6	62	15	64	1927	/	/
BDE190	BDE183L	3.29	7	77	8	72	1886	/	/

注：“/”：未提供鉴定值或未涉及该项目。

4 结 论

本研究选用脂肪量相对较高的鲈鱼(脂肪含量11%)作为代表性的样品基质进行了39种PBDEs的GC-MS/MS监测方法研究。样品提取采用ASE方法,单个样品提取时间与传统索氏提取相比,降低了约48倍,同时避免了索氏提取套筒和大量溶剂中所存在的高本底。样品净化所采用的串联酸性硅胶和碱性氧化铝SPE柱是本实验室借鉴传统层析柱的净化原理和SPE的设计概念,在满足去除干扰物和不影响GC-MS/MS对PBDEs定性定量分析而设计的。该方法与传统层析柱方法比较,节约了20倍的有机溶剂使用量,同时降低了大量溶剂所带来的高本底值(特别是BDE28和47)和后续浓缩的劳动量;另外该方法通过统一标准化的大批量SPE制备、真空包装和批次测试实验,确保了该方法的稳定性和耐用性,避免了传统层析柱由于不同批次吸附填料活性的差异和装柱的差异(主要是松紧和柱中是否存在气泡)而带来的重复性差等问题。通过色谱优化实现了除BDE28和30外的37个PBDEs的完全GC分离,在采用CRM样品分析时获得了和金标方法GC-HRMS一致的分析结果。GC-MS/MS的检测水平达到了ng/kg的水平,低于国内外的报道,方法的准确度和精密度满足U.S. EPA方法1614要求,便于采用该技术进行鱼样中PBDEs的监测和有关人体摄入鱼中PBDEs的健康风险评估。

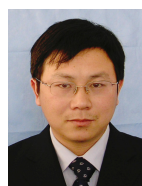
参考文献

- [1] Eljarrat E, Barcelo D. Brominated Flame Retardants. The Handbook of Environmental Chemistry (Volume 16) [M]. Heidelberg: Springer-Verlag, 2011.
- [2] Covaci A, Voorspoels S, de Boer J. Determination of brominated flame retardants, with emphasis on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental and human samples—a review [J]. Environ Int, 2003, 29: 735–756.
- [3] Lu DS, Wang DL, Simon Ip HS, *et al.* Measurements of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in a single drop of blood [J]. J Chromatogr B, 2012, 36/43: 891–892.
- [4] José LD. Human exposure to polybrominated diphenyl ethers through the diet [J]. J Chromatogr A, 2004, 1054: 321–326.
- [5] Wu JP, Luo XJ, Zhang Y, *et al.* Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in wild aquatic species from an electronic waste (e-waste) recycling site in South China [J]. Environ Int, 2008, 34: 1109–1113.
- [6] Ohta S, Ishizuka D, Nishimura H, *et al.* Comparison of polybrominated diphenyl ethers in fish, vegetables, and meats and levels in human milk of nursing women in Japan [J]. Chemosphere, 2002, 46: 689–696.
- [7] US EPA, Method 1614 Brominated Diphenyl Ethers in Water Soil, Sediment and Tissue by HRGC/HRMS, August 2007, water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_09_11_methods_method_1614.pdf
- [8] Pirard C, Focant JF, Pauw ED. An improved clean-up strategy for simultaneous analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), polychlorinated dibenzofurans (PCDF), and polychlorinated biphenyls (PCB) in fatty food samples [J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 372: 373–381.
- [9] Pirard C, Pauw ED, Focant JF. New strategy for comprehensive analysis of polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls by gas chromatography coupled with mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2003, 998: 169–181.
- [10] Mackintosh SA, Pérez-Fuentetaja A, Zimmerman LR, *et al.* Analytical performance of a triple quadrupole mass spectrometer compared to a high resolution mass spectrometer for the analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish [J]. Anal Chim Acta, 2012, 747: 67–75.
- [11] Lacorte S, Guillamon M. Validation of a pressurized solvent extraction and GC-NCI-MS method for the low level determination of 40 polybrominated diphenyl ethers in mothers' milk [J]. Chemosphere, 2008, 73: 70–75.
- [12] Medina CM, Pitarch E, López FJ, *et al.* Determination of PBDEs in human breast adipose tissues by gas chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 390: 1343–1354.
- [13] Labadie P, Alliot F, Bourges C, *et al.* Determination of polybrominated diphenyl ethers in fish tissues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry: Case study on European eel (*Anguilla anguilla*) from Mediterranean coastal lagoons [J]. Anal Chim Acta, 2010, 675: 97–105.

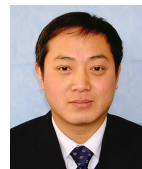
- [14] Zhang L, Li JG, Liu X, *et al.* Dietary intake of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs from the Chinese total diet study in 2007 [J]. *Chemosphere*, 2013, 90: 1625–1630.
- [15] Wang D, Atkinson S, Hoover MA, *et al.* Simultaneous use of gas chromatography/ion trap mass spectrometry – electron capture detection to improve the analysis of bromodiphenyl ethers in biological and environmental samples [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 647–656.
- [16] Wang DL, Atkinson S, Hoover–Miller A, *et al.* Gas chromatography/ion trap mass spectrometry applied for the determination of polybrominated diphenyl ethers in soil [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, 19: 1815–1821.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



卢大胜, 硕士, 主要研究方向为环境危害物分析。
E-mail: dslu@sdc.sh.cn



汪国权, 主任技师, 主要研究方向为公共卫生理化分析和管理工作。
E-mail: gqwang@sdc.sh.cn

“生物毒素研究”专题征稿

生物毒素又称天然毒素, 是指生物来源并不可自复制的有毒化学物质, 包括动物、植物、微生物产生的对其它生物物种有毒害作用的各种化学物质。已知化学结构的生物毒素有数千种, 生物毒素除对人类的直接中毒危害以外, 还可以造成农业、畜牧业、水产业的损失和环境危害。生物毒素的多样性及对其研究的不断深入和发展对于化学生物学、化学生态学以及医学药理学等诸多生命科学以及军事科学研究有着十分重要的意义。

鉴于此, 本刊特别策划了“生物毒素研究”专题, 由山东出入境检验检疫局技术中心鲍蕾研究员担任专题主编。鲍蕾研究员是山东出入境检验检疫局技术中心生物毒素实验室主任、国家级生物毒素重点实验室技术领衔人。担任 2012-2016 年度联合国粮农组织与世界卫生组织联合专家委员会委员 (JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants); 2012 年起担任 AOAC (国际官定分析检测协会) 国际期刊编委; 国际食品法典委员会食品污染物会议 CCCF (第五、六届) 中国代表团成员; 第十三届 IUPAC (国际纯粹与应用化学联合会) 真菌毒素与藻类毒素论坛国际科技委委员; 第六届 WMF (世界真菌毒素论坛) 国际科技委委员; AOAC 海洋与淡水藻类生物毒素技术委员会投票委员; ISM (国际真菌毒素协会) 亚洲区域技术负责人; 2009 年被 AOAC 任命为 AOAC 中国区主席; 长期从事生物毒素的检测及科研工作。本专题围绕国内外生物毒素限量标准, 生物毒素快速检测及多残留检测方法, 生物毒素检测标准, 生物毒素脱毒方法及机制, 生物毒素的风险分析及控制, 生物毒素分子结构的修饰加工等或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2013 年 12 月出版。

欢迎各位专家为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2013 年 10 月 30 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部