

色谱-负离子化学源-质谱联用仪测定人体血液中多溴联苯醚

屈伟月^{1,2} 毕新慧¹ 盛国英^{1,3} 陆少游^{1,2} 傅家谟^{*1,3}¹(中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室,广东省环境资源与保护重点实验室,广州 510640)²(中国科学院研究生院,北京 100039)³(上海大学环境与化学工程学院,上海 200072)

摘要 建立了血液样品中多溴联苯醚的分析方法。血液样品采用离心和分离,提取血清。血清经过正己烷和甲基叔丁基醚的混合溶液(体积比1:1)萃取,萃取前加入回收率指示物,然后经干燥得到脂肪重量;脂肪再经正己烷溶解、酸洗和酸性硅胶柱(硅胶与浓硫酸的重量比为2:1)净化后,加内标,进气相色谱-负离子化学源-质谱(GC-NCI-MS)联用仪,采用选择离子检测(SIM)法和内标法定性和定量。结果表明加标回收率为76.0%~106.0%;方法检出限0.01~0.1 ng;仪器检出限为0.5~2.0 pg。该方法检测血液中8种多溴联苯醚的同系物,灵敏度高、重现性好和回收率良好,可用于人体血液样品的检测。

关键词 多溴联苯醚,气相色谱-质谱联用,负离子化学源,人体血液

1 引言

多溴联苯醚(PBDEs)是用途广泛的含溴阻燃剂。它具有亲脂性、持久性和生物富集性,对人体健康有一定的危害^[1-3]。国内已经开展了对它的研究^[4-8],但人体样品中多溴联苯醚的研究还未见报道。

血液是了解人体受化学因素而导致人体污染情况的主要生物检材,因此,对血液样品中的多溴联苯醚的分析与研究是非常必要的。但是由于人体血液样品中多溴联苯醚的含量相对其它持久性有机污染物(如农药)的含量低,且多溴联苯醚在实验过程中易被干扰,故增加了检测难度。

本实验针对人体血样采集量少的特点,经过血清分离、脂肪提取、酸性硅胶柱净化和GC-NCI-MS的检测法,建立了针对血液样品中痕量多溴联苯醚的检测方法。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

色谱-负离子化学源-质谱联用仪 Shimadzu GC/MS-QP 2010(日本岛津公司);HN1006 超声波清洗机(中国华南超声设备厂);烘箱;Pierce(model 1870)氮吹仪;BuCHI(R-114)旋转蒸发仪;Sartorius(Bs210s)天平。丙酮、正己烷和甲基叔丁基醚均为农残级试剂(德国 fluka 公司);异丙醇(HPLC)、HCl(37%)和H₂SO₄(99.9%)(德国 Sigma-Aldrich 公司);硅胶(63~200 μm,德国 Merck 公司);无水硫酸钠和氯化钾(AR级,广东西陇化工厂);混合标样包含2,4,4'-三溴联苯醚(BDE-28)、2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)、2,2',4,4',5-五溴联苯醚(BDE-99)、2,2',4,4',6-五溴联苯醚(BDE-100)、2,2',4,4',5,5'-六溴联苯醚(BDE-153)、2,2',4,4',5,6'-六溴联苯醚(BDE-154)、2,2',3,4,4',5',6-七溴联苯醚(BDE-183)和十溴联苯醚(BDE-209);单标3,3',4,4'-四溴联苯醚(BDE-77)和2,3',4,4',5-五溴联苯醚(BDE-118)(美国 CIL 公司)。

2.2 酸性硅胶的制备、无水硫酸钠和氯化钾的处理

把硅胶放在专用烘箱中120℃活化12 h,冷却后加入浓硫酸(重量比2:1),摇匀,平衡过夜,置于干燥器中备用;无水硫酸钠和氯化钾于600℃焙烧4 h后,密封于干燥器中待用。

2.3 样品的处理

2.3.1 血清的分离及脂肪的提取

将采集的约10 mL血液放置约0.5 h后,在离心机上离心15 min,

2006-07-12 收稿;2007-02-12 接受

本文系国家自然科学基金重大项目(No. 40590392)和国家自然科学基金委与香港研究资助局联合科研项目(No. 40318003)资助

* E-mail: weiyuequ@163.com

转速为 3000 ~ 3500 r/min, 取出上层清液, 即得血清。准确量取 5 mL 血清倒入聚四氟乙烯分液漏斗, 加入回收率指示物 BDE-77, 加入 2 mL (6 mol/L) HCl 溶液, 振荡, 然后快速加入 12 mL 异丙醇, 剧烈振荡, 之后再加入 10 mL 已配好的正己烷和甲基叔丁基醚混合溶液 (1:1), 振荡, 静止, 分层, 分离出有机相, 再用 10 mL 和 5 mL 上述溶液分别萃取两次, 合并 3 次萃取液, 用 5 mL KCl 溶液 (1%) 洗涤, 弃去 KCl 溶液, 有机相用无水硫酸钠脱水干燥后, 在旋转蒸发仪上浓缩到 0.5 mL 左右, 转移到细胞瓶中, 在氮吹仪上用高纯 N₂ 缓缓吹至溶剂快要干时, 放入干燥器恒重后, 称得脂肪的重量。

2.4 PBDEs 的分离和纯化

用 5 mL 正己烷溶解脂肪并转移到离心管中, 加入 2 mL H₂SO₄, 振荡, 离心, 把上层有机溶液移入另一支离心管中, 并用正己烷萃取浓硫酸, 合并有机相, 同样方法酸洗 3 次。有机相在旋转蒸发仪上浓缩至 1 mL, 然后过酸性硅胶柱 (硅胶与浓硫酸的重量比为 2:1), 用 8 mL 的正己烷淋洗, 接正己烷组分后, 在旋转蒸发仪上旋蒸到 0.5 mL, 加入内标化合物 BDE-118 后, N₂ 气吹至 20 μL, 密封于细胞瓶中待测。

2.5 色谱质谱条件

DB-5 (30 m × 0.25 mm i. d., 0.25 μm) 毛细管柱; 载气为 He, 恒流, 柱流量为 1 mL/min, 无分流进样, 进样量为 1 μL; 进样口温度 260°C; 柱始温 110°C (1 min) $\xrightarrow{12^\circ\text{C}/\text{min}}$ 210°C (1 min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250°C (2 min) $\xrightarrow{0.5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 275°C (5 min) $\xrightarrow{15^\circ\text{C}/\text{min}}$ 300°C (5 min)。BDE-209 的色谱条件: DB-5 (12 m × 0.25 mm i. d., 0.1 μm) 毛细管柱; 柱始温 110°C, 10°C/min 升至 300°C (5 min), 其余条件同上。

NCI 离子源; 甲烷为反应气; 离子源温度 200°C; 界面温度 280°C; 选择性离子分段扫描 (SIM), 扫描离子 *m/z* 为 79 和 81。溶剂切除时间 14 min。BDE-209 的扫描离子 *m/z* 为 79、81、486.7 和 488.7。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线和检出限

标准溶液的浓度分别为: 0.5、1、2、4、8、16、32 和 64 μg/L。用内标法对 8 个不同浓度的标准溶液中各目标化合物的峰面积和浓度建立校正曲线 (表 1)。配制在仪器上的响应值约为 5 倍信噪比的标准溶液, 连续测定 6 次, 计算标准偏差 (*S*), 根据公式, 检出限 (LOD) = 3.36 × *S*, 得仪器检出限 0.5 ~ 2.0 pg; 方法检出限是用小牛血清作基质, 加入不同浓度的标准样品 (一般先估计样品中所要测的化合物的浓度, 取高中低 3 个值, 每一浓度重复测定 3 次), 按照实验流程处理后, 计算各目标化合物的标准偏差 (*S*), 以 3 倍标准偏差计算方法检出限 0.01 ~ 0.1 ng。

3.2 实际样品的分析

用本方法分析了 25 个血液样品, 其中 5 个样品未检出 BDE-209, 各目标化合物和脂肪含量如表 2。

表 1 PBDEs 的 7 种同系物的工作曲线、保留时间和相关系数
Table 1 Retention time, regression equation and correlation coefficients of the polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) congeners

目标化合物 Analyte	保留时间 Retention time (min)	回归方程 Linear regression equation	相关系数 Correlation coefficient
BDE-28	16.470	$Y = 3.3761X$	0.9991
BDE-47	24.613	$Y = 2.3108X$	0.9994
BDE-100	31.677	$Y = 2.2122X$	0.9996
BDE-99	34.557	$Y = 1.5812X$	0.9997
BDE-154	43.127	$Y = 1.5761X$	0.9991
BDE-153	50.010	$Y = 1.0265X$	0.9994
BDE-183	64.950	$Y = 0.65459X$	0.9998
BDE-209	31.677	$Y = 0.016499X$	0.9990

表 2 血液样品中各目标化合物和脂肪的含量

Table 2 Concentration of PBDE congeners (ng/g lipids) and content of lipids in blood samples

目标化合物 Analyte	中值 Median	范围 Range	目标化合物 Analyte	中值 Median	范围 Range
BDE-28	0.36	0.19 ~ 2.69	BDE-154	0.10	0.36 ~ 6.37
BDE-47	1.01	0.36 ~ 3.63	BDE-183	0.33	< LOD ~ 1.25
BDE-99	0.34	0.07 ~ 2.26	BDE-209	8.85	< LOD ~ 63
BDE-100	0.15	0.08 ~ 7.36	脂肪 Lipids (%)	0.8	0.3 ~ 1.3
BDE-153	1.03	0 ~ 1.22			

3.3 方法的回收率

用 0.5 mL 的小牛血清和 4.5 mL 的二次水作溶剂空白, 不加任何物质, 按实验流程分析, 样品中所测值要扣除空白值。在基质(小牛血清)中加入一定浓度的目标化合物, 加标浓度为 2、20 和 40 $\mu\text{g/L}$ 3 个浓度, 进行全流程分析, 各为 3 个重复样, 最后得出目标化合物的加标回收率为 76.0% ~ 106.0%。

References

- 1 Tittlemier S A, Halldorson T H J, Stern G A, Tomy G T, Tittlemier S A, Halldorson T H J, Stern G A, Tomy G T. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2002**, 21: 1804 ~ 1810
- 2 Braekevelt E, Tittlemier S A, Tomy G T. *Chemosphere*, **2003**, 51: 563 ~ 567
- 3 De Wit C. *Chemosphere*, **2002**, 46: 583 ~ 624
- 4 Chen L G, Mai, B X, Bi X H, She J C, Wang X M., Ran Y, Luo X J, Sheng G Y, Fu J M and Zeng E Y. *Environ. Sci. Technol.*, **2006**, 40: 1190 ~ 1196
- 5 Zheng G J, Martin M, Richardson B J, Yu H, Liu Y, Zhou C, Li J, Hu G, Lam M H W, Lam P K S. *Mar. Pollut. Bull.*, **2004**, 49: 514 ~ 524
- 6 Wu Huiqin(吴惠勤), Huang Xiaolan(黄晓兰), Huang Fang(黄芳), Lin Xiaoshan(林晓珊). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(3): 325 ~ 329
- 7 Chen Shejun(陈社军), Mai Bixian(麦碧娴), Zeng Yongping(曾永平), Luo Xiaojun(罗孝俊), Xiang Tongshou(向同寿), Fu Jiamo(傅家谟), Sheng Guoying(盛国英). *Environmental Chemistry*(环境化学), **2005**, 24(4): 474 ~ 477
- 8 Wang Yawei(王亚伟), Zhang Qinghua(张庆华), Liu Haixia(刘汉霞), Jiang Guibin(江桂斌). *Chinese J. Chromatography*(色谱), **2005**, 23(5): 492 ~ 495

Determination of Polybrominated Diphenyl Ethers in Human Blood by Gas Chromatography-Negative Chemical Ionization-Mass Spectrometry

Qu Wei-Yue^{1,2}, Bi Xin-Hui¹, Sheng Guo-Ying^{1,3}, Lu Shao-You^{1,2}, Fu Jia-Mo^{*1,3}

¹(State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangdong Key Laboratory of Environment and Resources, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640)

²(Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

³(School of Environment and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200072)

Abstract A method was developed for the determination of seven congeners of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human blood by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry (GC-NCI-MS) in the selected ion monitoring mode. Human serum samples were extracted with hexane-methyl tert-butyl ether (MTBE) (volume ratio is 1:1). The organic phases were washed with potassium chloride solution, followed by evaporation to dryness for gravimetric determination of extracted lipid content. Lipid was dissolved with *n*-hexane and washed with H_2SO_4 , and then samples were cleaned up with a silica/sulfuric acid column (2:1 by weight). Internal standard was added prior to GC-MS analysis. The results indicate that the average recovery of the internal standard was from 76.0% to 106.0%. The detection limit of the method was in the range of 0.01 ~ 0.1 ng; The detection limit of instrument was 0.5 ~ 2.0 pg. The method for detection of eight PBDE congeners in human blood was sensitive, high reproducible with satisfied recoveries.

Keywords Polybrominated diphenyl ethers, gas chromatography-mass spectrometry, negative chemical ionization, human blood

(Received 12 July 2006; accepted 12 February 2007)