

## 母乳中溴代/氯代阻燃剂及其代谢产物的分析检测方法

贲玉婕<sup>1</sup> 李龙<sup>1</sup> 王文月<sup>1,2</sup> 李兴红<sup>\*1</sup> 田媛<sup>2</sup> 徐晓白<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(中国科学院生态环境研究中心,环境化学与毒理学国家重点实验室,北京 100085)

<sup>2</sup>(北京工商大学,北京 100048)

**摘 要** 建立了低分辨气相色谱-负化学源质谱法(GC/NCI-LRMS)定性及定量检测母乳中的溴代/氯代阻燃剂及其代谢产物的方法。所检测的溴代/氯代阻燃剂及其代谢产物分为中性化合物和羟基化合物两部分。采用 RTX-1614(30 m)作为色谱分离柱,在优化的色谱条件下对 8 种多溴联苯醚 PBDEs(包括 BDE209)及其甲氧基代谢产物 MeO-PBDEs,多种其它阻燃剂及代谢物等中性化合物同时进行了分离检测;采用 DB-5(30 m)作为色谱分离柱,在优化的色谱条件下分离检测了 9 种羟基多溴联苯醚 OH-PBDEs。在母乳样本中加入代用标准或内标,经过超声提取、液液萃取、硅胶净化和浓缩定容等预处理后,分别对中性化合物和羟基化合物进行测定。十溴联苯醚、其它多溴联苯醚、甲氧基多溴联苯醚、得克隆及脱氯产物、其它阻燃剂等中性化合物,及羟基多溴联苯醚在两个添加浓度水平的回收率分别为 66.5%~75.4%,84.2%~126.4%,60.9%~115.1%,86.7%~104.9%,42.9%~113.8%和 64.7%~129.5%;中性化合物的相对标准偏差均小于 22%,羟基化合物的相对标准偏差均小于 30%。利用本方法对我国电子垃圾拆解区人体母乳中的目标物进行了分析检测,结果可靠。

**关键词** 溴代/氯代阻燃剂;代谢物;母乳

## 1 引言

阻燃剂种类繁多,应用广泛。多溴联苯醚(Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)是其中一类重要的溴系阻燃剂。因其母体本身及代谢产物可能的生物学效应,使得这类化合物成为目前环境/健康领域研究的热点化合物<sup>[1,2]</sup>。目前,五溴和八溴联苯醚已被列入《斯德哥尔摩公约》持久性有机物(POPs)的清单,十溴联苯醚也被欧盟禁用。随着 PBDEs 应用的减少,作为替代品的其它阻燃剂,如 1,2-双(三溴苯氧基)乙烷(1,2-Bis(2,4,6-tribromophenoxy)ethane, BTBPE),五溴甲苯(Pentabromotoluene, PBT),2,3,4,5,6-五溴乙苯(Pentabromoethylbenzene, PBEB)和六溴苯(Hexabromobenzene, HBB),1,2-二溴-4-(1,2-二溴乙基)环己烷(Tetrabromoethylcyclohexane, TBECHE),得克隆(Dechlorane plus, DPs)等阻燃剂的应用逐渐增加,这类“新型环境污染物”的毒理学效应及环境行为开始引起科学家们的关注<sup>[3~6]</sup>。而开发对这些阻燃剂及其代谢产物同时进行分离净化的检测方法是研究其环境行为、迁移转化及毒性效应的基础。

母乳是一种评估哺乳期婴儿摄入有害物质质量的有效介质<sup>[7~9]</sup>。阻燃剂及其代谢物在母乳中仅以痕量或超痕量存在,良好的前处理和色谱分离条件是对这些污染物进行准确定性及定量分析的基础。本研究结合环境和健康研究的需求,以内标法和同位素稀释技术为基础,建立同时测定母乳中 PBDEs 和其它非 PBDEs 阻燃剂及其代谢产物的气相色谱-负化学源电离-低分辨质谱(GC/NCI-LRMS)分析方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Agilent 6890GC/5973i MS 配备为 RTX-1614 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.10 μm, RESTEK 公司)和 DB-5 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm, 美国 Agilent 公司);RE-2000 旋转蒸发仪(上海亚荣公司);SCIENTZ-II D 超声波细胞粉碎机;TIL-800 萃取净化振荡器(北京同泰联科技发展有限公司)。

甲基叔丁基醚(Methyl tertiary butyl ether, MTBE, HPLC 级, Tedia 公司);正己烷(Hexane, 农残级, 美

2012-04-05 收稿;2012-07-23 接受

本文系国家自然科学基金(Nos. 20877092, 21177152)资助

\* E-mail: lxhzpb@rcees.ac.cn

国 Dikma 公司);二氯甲烷(Dichloromethane, DCM, 农残级, 美国 J. T Baker 公司);异丙醇(HPLC 级, 美国 J. T Baker 公司);N-亚硝基-N-甲基脒(99%, Sigma-Aldrich 公司);硅胶(0.154~0.098mm 粒径, 青岛海洋化工厂);无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(优级纯, 北京化学试剂厂);EO-5278(含有 BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183 和 BDE-209, 1.0 mg/L), <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-BDE-209 (50 mg/L), syn-DP (100 mg/L), anti-DP (100 mg/L), <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-syn-DP (100 mg/L), <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-anti-DP (100 mg/L), <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCB-209 (5 mg/L), Dimethyl tetrabrominated bisphenol A (DM-TBBPA, 50 mg/L), 均购自美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司; Pentachloronitrobenzene (PCNB, 100 mg/L), TBEC (100 mg/L), PBT (100 mg/L), PBEB (100 mg/L), BTBPE (100 mg/L), MeO-PBDEs (2'-MeO-BDE-28, 4'-MeO-BDE-17, 2'-MeO-BDE-68, 6-MeO-BDE-47, 6-MeO-BDE-85, 10 mg/L), OH-PBDEs (3-OH-BDE-47, 50 mg/L; 4'-OH-BDE-17, 2'-OH-BDE-28, 2'-OH-BDE-68, 6-OH-BDE-47, 4'-OH-BDE-49, 4-OH-BDE-42, 6'-OH-BDE-99, 4-OH-BDE-90, 6-OH-BDE-85, 10 mg/L), BDE-30 (50 mg/L), BDE-66 (50 mg/L), 2-OH-BDE-28 (50 mg/L), 均购自美国 AccuStandard 公司; HBB (100 mg/L, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); Cl<sub>10</sub>-DP, Cl<sub>11</sub>-DP (50 mg/L), 加拿大 Wellington Laboratories 公司。硅胶采用甲醇和二氯甲烷依次淋洗后, 置通风橱过夜, 70 °C 烘 3~4 h, 在马弗炉中于 550 °C 下活化 6 h; 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 在马弗炉中于 600 °C 下活化 6 h。

## 2.2 实验方法

**2.2.1 标准溶液的配制** 以 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCB-209 作为 PBDEs (BDE-209 除外), PCNB, TBEC, PBT, PBEB, HBB 和 BTBPE 的代用标准, BDE-30 作为 MeO-PBDE 的代用标准, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-BDE-209 作为 BDE-209 的同位素稀释标准, <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-syn-DP 作为 syn-DP 的同位素稀释标准, <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-anti-DP 作为 anti-DP, Cl<sub>10</sub>-DP 和 Cl<sub>11</sub>-DP 同位素稀释标准; 2'-OH-BDE-28 作为 OH-PBDE 的代用标准; BDE-66 作为中性成分和羟基成分的进样内标, 分别配制一系列不同浓度的中性和 OH-PBDEs 的混合标准溶液, 备用。

**2.2.2 样品的采集与预处理** 母乳均采自台州医院, 50 mL 母乳样本在母亲分娩后一周内收集。所有样本置于预先清洗干净的玻璃瓶中, -20 °C 避光保存。准确称取 3 g 乳汁样品, 加入 2 mL 6 mol/L HCl 和 5 mL 异丙醇, 以 20 mL MTBE-hexane (1:1, V/V) 超声提取, 重复 3 次; 合并后的提取液以 20 mL 1% (w/w) KCl 洗涤后, 用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 浓缩溶剂后转移入分液漏斗中, 加入 12 mL 1 mol/L KOH 乙醇-水溶液 (1:1, V/V) 进行中性与羟基部分的分配, 重复 3 次, 分别收集水相和正己烷有机相。水相部分再以正己烷重复萃取, 与进入分配步骤中获得的有机相合并, 即获得含 PBDEs, PCNB, TBEC, PBT, PBEB, HBB, BTBPE, MeO-PBDE, DP 及其脱氯成分的中性部分; KOH 溶液为含 OH-PBDE 化合物的羟基部分。

中性有机相浓缩至 1 mL 后, 转移入填充有 2.5 g 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g 活性硅胶, 4 g 30% (w/w) 硫酸硅胶, 1 g 活性硅胶 (从上到下) 的净化柱中, 以 50 mL DCM: Hexane (1:1, V/V) 进行洗脱。收集有机相, 浓缩, 氮吹至 20 μL, 进行仪器分析。羟基部分以浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调节 pH 值 (pH < 2.0), 以 20 mL MTBE-hexane (1:1, V/V) 重复萃取 3 次, 收集有机相, 浓缩, 氮吹至干。加入约 2 mL 的含重氮甲烷的正己烷溶液, 避光衍生 24 h。衍生后的有机相按照中性部分的净化方法净化, 氮吹至 20 μL 进行仪器分析。进样前所有样本均加入 BDE-66 作为进样内标, 进行体积校正。衍生试剂重氮甲烷在无磨口的玻璃试管中于通风橱中制备, 先加入 12 mL NaOH (30% w/V), 再缓慢加入同等体积的 Hexane, 添加少量的 N-亚硝基-N-甲基脒, 即可制得黄色的含重氮甲烷的正己烷溶液。

**2.2.3 色谱-质谱条件** 中性部分使用 RTX-1614 毛细管柱、负化学源和选择离子模式进行检测。离子源, 四级杆和接口温度分别维持在 150, 150 和 320 °C。色谱的升温程序为: 初始温度为 100 °C, 保持 2 min, 以 25 °C/min 的升至 250 °C, 再以 1.5 °C/min 升至 260 °C, 最后以 25 °C/min 的速率升至 310 °C, 保持 27 min。进样口温度为 250 °C, 脉冲不分流进样, 脉冲压力为 71.75 kPa, 载气为高纯氦气, 流速为 1.0 mL/min, 反应气为甲烷。中性化合物的定量/定性离子分别为: 除 PCNB (*m/z* 249/247), BDE-209 (*m/z* 487/485), <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-BDE-209 (*m/z* 497/495), <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCB-209 (*m/z* 510/512), Cl<sub>10</sub>-DP (*m/z* 584/586), Cl<sub>11</sub>-DP (*m/z* 618/620), syn-DP 和 anti-DP (*m/z* 654/652), <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-syn-DP 和 <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-anti-DP (*m/z* 664/662) 外, TBEC, PBT, PBEB, HBB, DM-TBBPA, BTBPE, EO-5278, BDE-30, BDE-66, 2'-MeO-BDE-28, 4'-MeO-BDE-17, 2'-MeO-BDE-68, 6-MeO-BDE-47 和 6-MeO-BDE-85 的定量/定性离子均为 *m/z* 79/81。

羟基部分的检测使用 DB-5 毛细管柱、负化学源和选择离子模式进行检测。离子源、四级杆和接口温度分别维持在 150, 150 和 320 °C。升温程序为: 初始温度 80 °C, 保持 2 min; 以 10 °C/min 升至 290 °C, 保持 40 min。进样口温度为 280 °C, 脉冲不分流进样, 脉冲压力为 64.54 kPa, 载气为高纯氦气, 流速为 1.0 mL/min, 反应气为甲烷。羟基化合物的定量/定性离子为  $m/z$  79/81。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 色谱条件的选择和优化

根据美国 EPA-1614<sup>[10]</sup> 的建议, PBDEs 的 GC/MS 检测通常采用两根色谱柱完成。由于 BDE-209 容易在色谱柱中分解, 采用 15 m 或短于 15 m 的色谱柱进行分离; 为了提高分离效率, 保证定性与定量分析的准确性, 其它 PBDE 类化合物的检测采用 30 m 的色谱柱。整个检测过程需要两次检测才能完成, 耗时耗力, 操作繁琐。这样的检测策略对大量样本的快速检测十分不利。为了解决以上不足, 本研究利用 30 m 的 RTX-1614 作为色谱分离柱, 在一个检测程序中可以进行 8 种 PBDEs 同系物, 5 种 MeO-PBDEs, 多种其它阻燃剂或代谢物的色谱分离。在优化的色谱条件下, 30 min 即可完成整个过程 (图 1)。在给定的色谱条件下, OH-PBDEs 也得到了较好分离 (图 2)。

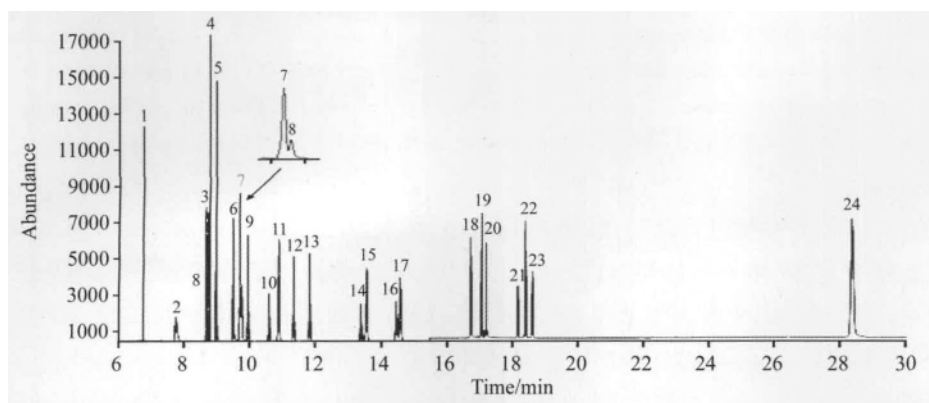


图 1 溴代/氯代阻燃剂及其代谢产物的 GC/NCI-LRMS 总离子流图

Fig. 1 Chromatogram of brominated/chlorinated flame retardants and metabolites by GC/negative chemical ionization-low resolution MS (NCI-LRMS)

1. PCNB, Pentachloronitrobenzene; 2. TBECH, Tetrabromoethylcyclohexane; 3. BDE-28, 2,4,4'-tribromodiphenyl ether; 4. PBT, Pentabromotoluene; 5. PBEB, Pentabromoethylbenzene; 6. 2'-MeO-BDE-28, 2'-MeO-2,4,4'-tribromodiphenyl ether; 7. HBB, Hexabromobenzene; 8. 4'-MeO-BDE-17, 4'-MeO-2,2',4'-tribromodiphenyl ether; 9. BDE-47, 2,2',4,4'-tetraBDE(2,2',4,4'-tetraBDE); 10. 2'-MeO-BDE-68, 2'-MeO-2,3',4,5'-tetraBDE(2'-Methoxy-2,3',4,5'-tetraBDE); 11. 6-MeO-BDE-47, 6-MeO-2,2',4,4'-tetraBDE(6-Methoxy-2,2',4,4'-tetraBDE); 12. BDE-100, 2,2',4,4',6-pentaBDE(2,2',4,4',6-pentaBDE); 13. BDE-99, 2,2',4,4',5-pentaBDE(2,2',4,4',5-pentaBDE); 14. DM-TBBPA, Dimethyl tetraBDE; 15. BDE-154, 2,2',4,4',5,6'-hexaBDE(2,2',4,4',5,6'-hexaBDE); 16. 6-MeO-BDE-85, 6-MeO-2,2',3,4,4'-pentaBDE(6-Methoxy-2,2',3,4,4'-pentaBDE); 17. BDE-153, 2,2',4,4',5,5'-hexaBDE(2,2',4,4',5,5'-hexaBDE); 18. BDE-183, 2,2',3,4,4',5,6'-heptaBDE(2,2',3,4,4',5,6'-heptaBDE); 19. Cl<sub>10</sub>-DP, decachloropentacyclooctadecadiene; 20. BTBPE, 1,2-Bis(2,4,6-tribromophenoxy) ethane; 21. <sup>13</sup>C-syn-DP, <sup>13</sup>C-syn-dechlorane plus; 22. Cl<sub>11</sub>-DP, undecachloropentacyclooctadecadiene; 23. <sup>13</sup>C-anti-DP, <sup>13</sup>C-anti-dechlorane plus; 24. BDE-209, decaBDE (deca-bromodiphenyl ether).

#### 3.2 衍生效率

以 4'-OH-BDE-17, 2'-OH-BDE-68, 6-OH-BDE-47 和 6-OH-BDE-85 为代表, 计算甲基化衍生效率。将该 4 种 OH-PBDE 各 2 ng 加入干净的试管中, 按照给定方法衍生、净化和浓缩, 进行仪器分析。将检测得的各化合物的响应值与相应的响应峰值比较后计算衍生效率。平均衍生效率分别为 112.6% ± 2.3% (4'-OH-BDE-17), 101.6% ± 10.8% (2'-OH-BDE-68), 79.1% ± 7.4% (6-OH-BDE-47) 和 85.1% ± 7.8% (6-OH-BDE-85)。

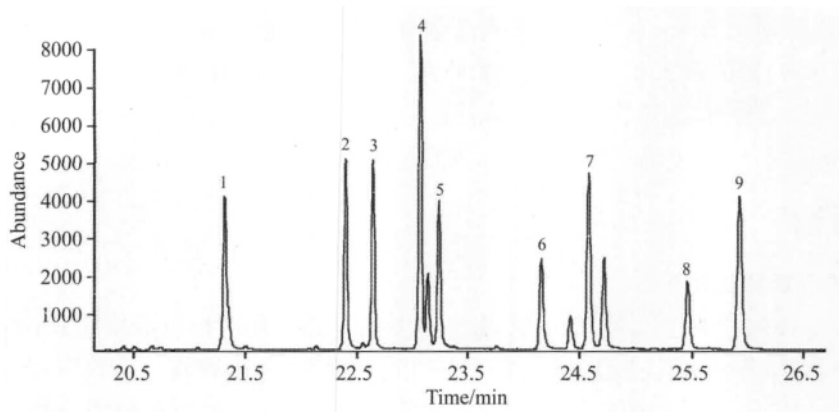


图 2 OH-PBDEs 的 GC/NCI-LRMS 总离子流图

Fig. 2 Chromatogram of OH-PBDEs by GC/NCI-LRMS

1. 4'-OH-BDE-17 4'-OH-2,2',4'-triBDE (4'-Hydroxy-2,2',4'-tribromodiphenyl ether); 2. 2'-OH-BDE-68 2'-OH-2,3',4',5'-tetra-BDE (2'-Hydroxy-2,3',4',5'-tetrabromodiphenyl ether); 3. 6-OH-BDE-47 6-OH-2,2',4',4'-tetraBDE (6-Hydroxy-2,2',4',4'-tetra-bromodiphenyl ether); 4. 3-OH-BDE-47 3-OH-2,2',4',4'-tetraBDE (3-Hydroxy-2,2',4',4'-tetrabromodiphenyl ether); 5. 4'-OH-BDE-49 4'-OH-2,2',4',5'-tetraBDE (4'-Hydroxy-2,2',4',5'-tetrabromodiphenyl ether); 6. 4-OH-BDE-42 4-OH-2,2',3',4'-tetra-BDE (4-Hydroxy-2,2',3',4'-tetrabromodiphenyl ether); 7. 6'-OH-BDE-99 6'-OH-2,2',4',5'-pentaBDE (6'-Hydroxy-2,2',4',5'-penta-bromodiphenyl ether); 8. 4-OH-BDE-90 4-OH-2,2',3',4',5'-pentaBDE (4-Hydroxy-2,2',3',4',5'-pentabromodiphenyl ether); 9. 6-OH-BDE-85 6-OH-2,2',3',4',4'-pentaBDE (6-Hydroxy-2,2',3',4',4'-pentabromodiphenyl ether).

### 3.3 方法相关参数

按上述色谱-质谱条件测定配制的 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 和 100.0  $\mu\text{g/L}$  系列标准溶液, 分别得到各目标化合物、线性范围、相关系数和线性方程; 以 3.0 g 某品牌配方奶粉溶液 (9.0 g/60 mL 水) 为空白, 加入 2.0  $\mu\text{g}$  目标物 (BDE-209 为 20.0  $\mu\text{g}$ ) 和代用标准, 进行前处理和仪器分析, 以 3 倍的测定得到的各化合物的标准偏差计算方法的检出限 ( $n=7$ ), 见表 1。

表 1 方法的检出限、线性范围、相关系数及线性方程

Table 1 Summary of LOD, linear range and correlation coefficient and linear equation of analytes

分析物 Analyte	方法检出限 LOD* ( $\mu\text{g/g}$ )	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g/L}$ )	相关系数 Correlation coefficient	线性方程 Linear equation
Pentachloronitrobenzene (PCNB)	2.0	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 3.4779x - 0.0341$
Tetrabromoethylcyclohexane (TBECHE)	8.2	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 0.8819x + 0.0009$
2,2',4,4'-triBDE (2,2',4,4'-Tribromodiphenyl ether) (BDE-28)	6.0	0.1 ~ 100	0.9997	$y = 2.766x + 0.0168$
Pentabromotoluene (PBT)	0.5	0.1 ~ 100	0.9990	$y = 4.9056x + 0.1297$
Pentabromoethylbenzene (PBEB)	1.3	0.1 ~ 100	0.9995	$y = 4.1628x + 0.0926$
2'-MeO-2,2',4,4'-triBDE (2'-Methoxy-2,2',4,4'-tribromodiphenyl ether) (2'-MeO-BDE-28)	7.2	0.1 ~ 100	0.9993	$y = 2.5724x - 0.0229$
Hexabromobenzene (HBB)	1.9	0.1 ~ 100	0.9998	$y = 2.8712x + 0.0493$
4'-MeO-2,2',4,4'-triBDE (4'-Methoxy-2,2',4,4'-tribromodiphenyl ether) (4'-MeO-BDE-17)	10.0	0.1 ~ 100	0.9978	$y = 1.1359x - 0.0134$
2,2',4,4'-tetraBDE (2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether) (BDE-47)	1.9	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 2.4741x + 0.0118$
2'-MeO-2,3',4',5'-tetraBDE (2'-Methoxy-2,3',4',5'-tetrabromodiphenyl) (2'-MeO-BDE-68)	15.0	0.1 ~ 100	0.9998	$y = 1.1379x + 0.0006$
6'-MeO-2,2',4,4'-tetraBDE (6'-Methoxy-2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl) (6'-MeO-BDE-47)	8.0	0.1 ~ 100	0.9987	$y = 2.3783x - 0.0173$
2,2',4,4',6-pentaBDE (2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether) (BDE-100)	3.1	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 2.6094x + 0.0137$
2,2',4,4',5-pentaBDE (2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl) (BDE-99)	2.3	0.1 ~ 100	1.0000	$y = 2.4853x + 0.0049$
2,2',4,4',5,6-hexaBDE (2,2',4,4',5,6-Hexabromodiphenyl) (BDE-154)	4.2	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 2.7048x + 0.0084$
6-MeO-2,2',3',4',4'-pentaBDE (6-Methoxy-2,2',3',4',4'-pentaBDE-85)	10.5	0.1 ~ 100	0.9997	$y = 1.5774x - 0.0131$
2,2',4,4',5,5'-hexaBDE (2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl) (BDE-153)	3.9	0.1 ~ 100	0.9998	$y = 2.5719x + 0.0043$

续表 1( Continued to Table 1)

分析物 Analyte	方法检出限 LOD* ( pg/g)	线性范围 Linear range ( μg/L)	相关系数 Correlation coefficient	线性方程 Linear equation
2,2',3,4,4',5',6-heptaBDE ( 2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ) ( BDE-183)	3.9	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 2.0129x - 0.004$
Decachloropentacyclooctadecadiene( Cl <sub>10</sub> -DP)	1.8	0.1 ~ 100	1.0000	$y = 1.8987x + 0.0164$
1,2-Bis(2,4,6-Tribromophenoxy) ethane( BTBPE)	3.3	0.1 ~ 100	0.9999	$y = 1.356x + 0.0101$
syn-dechlorane plus ( syn-DP)	4.5	0.1 ~ 100	0.9991	$y = 0.6516x - 0.0055$
Undecachloropentacyclooctadecadiene( Cl <sub>11</sub> -DP)	3.5	0.1 ~ 100	0.9998	$y = 1.3589x + 0.0153$
anti-dechlorane plus( anti-DP)	4.0	0.1 ~ 100	0.9995	$y = 0.7125x - 0.21$
decaBDE( Deca-bromodiphenyl ether) ( BDE-209)	30.0	1 ~ 1000	0.9969	$y = 0.3092x - 0.1448$
4'-OH-BDE-17, 4'-OH-2,2',4'-triBDE( 4'-Hydroxy-2,2',4'-OH-BDE-17)	6.1	0.1 ~ 100	0.9976	$y = 0.3469x + 0.0217$
2'-OH-2,3',4',5'-tetraBDE( 2'-Hydroxy-2,3',4',5'-tetraBromodiphenyl ) ( 2'-OH-BDE-68)	5.2	0.1 ~ 100	0.9989	$y = 0.3377x + 0.0056$
6-OH-2,2',4',4'-tetraBDE( 6-Hydroxy-2,2',4',4'-tetraBromodiphenyl ) ( 6-OH-BDE-47)	5.4	0.1 ~ 100	0.9988	$y = 0.3264x + 0.0046$
3-OH-2,2',4',4'-tetraBDE( 3-Hydroxy-2,2',4',4'-tetraBromodiphenyl ) ( 3-OH-BDE-47)	4.2	0.1 ~ 100	0.9996	$y = 0.5559x + 0.0119$
4'-OH-2,2',4',5'-tetraBDE( 4'-Hydroxy-2,2',4',5'-tetraBromodiphenyl ) ( 4'-OH-BDE-49)	8.3	0.1 ~ 100	0.9994	$y = 0.2815x + 0.0143$
4-OH-2,2',3',4'-tetraBDE( 4-Hydroxy-2,2',3',4'-tetraBromodiphenyl ) ( 4-OH-BDE-42)	10.0	0.1 ~ 100	0.9978	$y = 0.2053x + 0.0113$
6'-OH-2,2',4',4',5'-pentaBDE( 6'-Hydroxy-2,2',4',4',5'-pentaBromodiphenyl ) ( 6'-OH-BDE-99)	6.0	0.1 ~ 100	0.9996	$y = 0.3806x + 0.0085$
4-OH-2,2',3',4',5'-pentaBDE( 4-Hydroxy-2,2',3',4',5'-pentaBromodiphenyl ) ( 4-OH-BDE-90)	9.6	0.1 ~ 100	0.9997	$y = 0.1694x - 0.0002$
6-OH-2,2',3',4',4'-pentaBDE( 6-Hydroxy-2,2',3',4',4'-pentaBromodiphenyl ) ( 6-OH-BDE-85)	6.0	0.1 ~ 100	0.9993	$y = 0.4195x + 0.0028$

\* 以奶粉溶液的脂重计算( Calculation on the lipid weight of abbot milk formulas solution)。

### 3.4 方法回收率和精密度

为了测定本方法的准确性和重现性,采用母乳基质 5 次重复,两个浓度水平加标进行验证。取母乳 13 份(母乳由多个样本混合而成),每份 3.0 g。3 份作为基质空白,其余 10 份分为 A 和 B 两组,每组 5 份;其中 A 组分别加入 0.2 ng ( BDE-209 为 2.0 ng) 的中性和羟基目标化合物, B 组加入 2.0 ng ( BDE-209 为 20.0 ng) 的目标化合物后,放置至少 2 h 以上进行样本的提取净化。在提取净化之前,13 份样本中均加代用标准 BDE-30 和 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCB-209, 2'-OH-BDE-28, <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-syn-DP, <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-anti-DP 各 2.0 ng, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-BDE-209 为 20.0 ng。回收率见表 2。在空白实验发现了 BDE-28 的干扰,不过其含量低于检出限,不会对检测带来大的干扰。除 PCNB( 42.9% 和 54.2%) 和 TBEC( 49.7% 和 71.6%) 回收率较低外,其它化合物均有较好的回收率与精密度。十溴联苯醚、其它多溴联苯醚、甲氧基多溴联苯醚、得克隆及脱氯产物、其它阻燃剂、羟基多溴联苯醚添加回收率分别为 66.5% ~ 75.4%, 84.2% ~ 126.4%, 60.9% ~ 115.1%, 86.7% ~ 104.9%, 66.4% ~ 113.8% 和 64.7% ~ 129.5%; 中性类化合物的相对标准偏差均小于 22%, 羟基类多溴联苯醚的相对标准偏差均小于 30%。美国 EPA-4614<sup>[10]</sup> 规定的组织样本中 BDE-209 的回收率范围为 50% ~ 200%, 其它 PBDEs 回收率范围为 60% ~ 140%, 相对标准偏差( RSD) 小于 40%, 本实验获得的相关实验数据均在规定的参考值范围内。

关于母乳中 PBDEs 的文献较多。刘印平等<sup>[11]</sup> 通过 GC/NCI-LRMS 对母乳中 8 种 PBDEs 进行了较好的分离和检测,虽然该方法 BDE-209 的检出限( 6.35 pg/g 植物油) 高于本方法的检出限约 5 倍,但太短的色谱柱( 7 m) 影响基质复杂的人体样本中目标物的分离效果,尤其是在 PBDEs 的定性与定量离子为低分子量端  $m/z$  79/81 的情况下,易导致性质相近的化合物得不到有效分离,从而高估目标物的实际浓度; Thomsen 等<sup>[12]</sup> 利用 GC/NCI-LRMS 和 GC/EI-HRMS 对血浆、血清和母乳中 PBDEs 进行了检测,效果比较分析发现,两种仪器检测方式在仪器响应、检出限和重现性方面具有同等的效果。其中母乳中 5 种 PBDEs( BDE-47, BDE-100, BDE-99, BDE-154, BDE-153) 的 GC/NCI-LRMS 检出限在 0.3 ~ 0.6 pg/g 母乳间变动。本方法采用了相对经济的 GC/NCI-LRMS 作为检测仪器,结合能有效防止 BDE-209 分解

表 2 母乳中目标分析物的回收率及相对标准偏差

Table 2 Recoveries and relative standard deviations of analytes in breast milk

分析物	背景值 Background (ng/g, lw) (n=3)	Adding 0.2 ng		Adding 2.0 ng	
		平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%, n=5)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%, n=5)
PCNB	0.03 ± 0.02	42.9	17.8	54.2	9.6
TBECH	N. D.	49.7	9.7	71.6	5.9
BDE-28	0.18 ± 0.07	96.0	5.4	111.7	3.9
PBT	N. D.	70.4	5.1	80.9	5.0
PBEB	N. D.	73.6	4.4	82.5	4.8
2'-MeO-BDE-28	N. D.	61.1	21.8	102.0	6.6
HBB	0.11 ± 0.10	66.4	5.1	111.7	5.9
4'-MeO-BDE-17	N. D.	113.4	12.6	82.7	19.5
BDE-47	0.16 ± 0.13	95.1	5.5	114.5	4.3
2'-MeO-BDE-68	N. D.	115.1	11.1	97.9	5.1
6-MeO-BDE-47	N. D.	60.9	20.0	99.8	6.2
BDE-100	0.03 ± 0.03	90.8	3.9	117.8	4.8
BDE-99	0.36 ± 0.37	92.8	6.8	126.4	5.0
BDE-154	N. D.	84.2	3.2	111.4	4.2
6-MeO-BDE-85	N. D.	65.7	21.3	93.6	7.3
BDE-153	0.010 ± 0.001	91.1	3.7	115.4	4.6
BDE-183	N. D.	87.5	4.2	100.3	4.2
Cl <sub>10</sub> -DP	N. D.	86.7	8.9	89.6	9.2
BTBPE	N. D.	113.8	6.9	86.9	7.2
syn-DP	N. D.	104.9	12.7	91.8	8.5
Cl <sub>11</sub> -DP	N. D.	89.0	12.0	93.8	8.3
anti-DP	N. D.	103.0	11.9	91.5	8.3
BDE-209	N. D.	66.5*	9.6	75.4**	12.9
4'-OH-BDE-17	N. D.	86.5	8.2	129.5	21.1
2'-OH-BDE-68	N. D.	64.7	27.9	72.5	17.8
6-OH-BDE-47	N. D.	84.3	28.4	87.2	18.4
3-OH-BDE-47	N. D.	77.1	18.3	69.8	15.6
4'-OH-BDE-49	N. D.	64.9	7.5	64.8	25.5
4-OH-BDE-42	N. D.	84.9	7.0	106.8	20.2
6'-OH-BDE-99	N. D.	83.1	25.8	82.2	18.4
4-OH-BDE-90	N. D.	69.7	28.7	78.0	24.5
6-OH-BDE-85	N. D.	86.5	27.5	88.4	19.5

\* . Adding 2.0 ng; \*\* . Adding 20.0 ng.

的 RTX-1614 色谱柱作为分离柱,获得的 PBDEs 检出限接近或低于文献 [9, 11]。由于 BDE209 在 RTX-1614 柱上高的灵敏度和低的分解率,本方法在保证高的色谱分离效率的基础上,可一次性获得 PBDEs (含 BDE-209) 及其它多种阻燃剂化合物的数据,具有更广泛的适用性。

将 54 个母乳样品分为 11 批分析,其中 10 批每批有 5 个样品,1 批有 4 个样品。每个样品都要添加代用标准,进行回收率控制,每批样品都做溶剂空白对照实验。在每批中随机抽取一个样品作为控制样,用其中的代用标准的回收率作为做出质量控制图(图 3)。分析物的 RSD 分别为: 11.0% (代用标准<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCB-209), 10.4% (BDE-30), 9.7% (<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-syn-DP), 9.6% (<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-anti-DP), 7.6% (<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-BDE-209) 和 14.5% (2'-OH-BDE-28); 上述分析物的回收率分别为 72.3% ~ 97.5%, 70.1% ~ 98.6%, 85.9% ~ 114.7%, 78.5% ~ 106.7%, 47.8% ~ 84.1%, 57.9% ~ 89.9%。

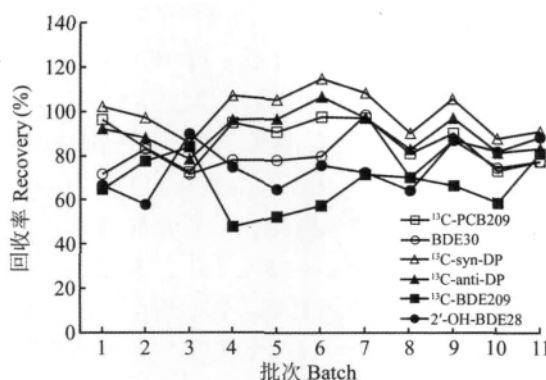


图 3 分析批量母乳样品的质量控制图

Fig. 3 Quality control curves of breast milk samples

上述分析物的回收率分别为 72.3% ~ 97.5%, 70.1% ~ 98.6%, 85.9% ~ 114.7%, 78.5% ~ 106.7%, 47.8% ~ 84.1%, 57.9% ~ 89.9%。

## References

- 1 de Wit C. *Chemosphere* ,**2002** ,46( 5) : 583 – 624
- 2 Schecter A , Shah N , Colacino J A , Brummitt S I , Ramakrishnan V , Harris T R , Paepke O. *Chemosphere* ,**2009** ,75( 5) : 623 – 628
- 3 Wu J P , Guan Y T , Zhang Y , Zhi H , Chen S J , Mai B X. *Environ. Sci. Technol* ,**2010** ,44( 14) : 5490 – 5495
- 4 Law R J , Herzke D , Harrad S , Morris S , Bersuder P , Allchin C R. *Chemosphere* ,**2008** ,73( 2) : 223 – 241
- 5 Luo X , Chen S , Mai B , Fu J. *Science China-Chemistry* ,**2010** ,53( 5) : 961 – 973
- 6 Gauthier L T , Potter D , Hebert C E , Letcher R J. *Environ. Sci. Technol* ,**2009** ,43( 2) : 312 – 317
- 7 Zhu L , Ma B , Li J , Wu Y , Gong J. *Chemosphere* ,**2009** ,74( 11) : 1429 – 1434
- 8 Sudaryanto A , Kajiwara N , Tsydenova O V , Isobe T , Yu H , Takahashi S , Tanabe S. *Chemosphere* , **2008** , 73( 10) : 1661 – 1668
- 9 Lacorte S , Ikonoumou M G. *Chemosphere* ,**2009** ,74( 3) : 412 – 420
- 10 EPA , Method 1614-Brominated Diphenyl Ethers in water Soil , Sediment and Tissue by HRGC/HRMS ,**2007**
- 11 LIU Ying-Ping , DAI Peng , LI Jing-Guang , ZHANG Lei , ZHAO Yun-Feng , WU Yong-Ning , ZHU Ling-Yan. *Chinese Journal of Chromatography* ,**2008** ,26( 6) : 687 – 691  
刘印平 , 代澎 , 李敬光 , 张磊 , 赵云峰 , 吴永宁 , 祝凌燕. 色谱 ,**2008** ,26( 6) : 687 – 691
- 12 Thomsen C , Hang H L , Leknes H , Lundanes E , Becher G , Lindström G. *Chemosphere* ,**2002** ,46( 5) : 641 – 648

## Determination of Chlorinated/Brominated Flame Retardants and their Metabolites in Breast Milk

BEN Yu-Jie<sup>1</sup> , LI Long<sup>1</sup> , WANG Wen-Yue<sup>1,2</sup> , LI Xing-Hong<sup>\*1</sup> , TIAN Yuan<sup>2</sup> , XU Xiao-Bai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>( State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology Research Center of Eco-Environment Sciences , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100085 , China)

<sup>2</sup>( Beijing Technology and Business University , Beijing 100048 , China)

**Abstract** A method was developed for the determination of trace-amount chlorinated/brominated flame retardants and their metabolites in breast milk by gas chromatography combined with mass spectrum in negative chemical ionization mode ( GC/NCI-LRMS) . Chlorinated/brominated flame retardants and their metabolites were classified into neutral and phenolic fractions. Neutral targets included eight brominated diphenyl ether ( BDE) congeners ( including BDE-209) , five MeO-BDE congeners and other new flame retardants or the metabolites. Phenolic targets referred to nine OH-BDEs congeners. The efficient separation of various neutral targets was obtained on a 30-m column ( RTX-1614) and that of phenolic targets was achieved on a 30-m column ( DB-5) in the optimized GC condition. In the extraction and clean-up procedures , before supersonic extracting , surrogate/internal standards were required spiking into breast milk , then the samples were separated into neutral and phenolic fractions by a liquid-liquid extraction methods. The extracts were cleaned-up further to remove other co-extracts by sulfuric acid silica prior to injection. It was noticeable that phenolic fractions required to be further derived by diazomethane before clean-up. The recoveries of decabrominated diphenyl ethers , other polybrominated diphenyl ethers , methoxyl-polybrominated diphenyl ethers , dechlorane plus and dechlorinated products , other flame retardants , hydroxylated polybrominated diphenyl ethers were 66.5% – 75.4% , 84.2% – 126.4% , 60.9% – 115.1% , 86.7% – 104.9% , 42.9% – 113.8% and 64.7% – 129.5% , respectively. The RSD of neutral targets were all below 22% , and those of the phenolic targets were all below 30% . The method was used for the determination of targets in breast milk collected from an e-waste dismantling area. The results of quality control showed the method was reliable investigation.

**Keywords** Chlorinated/brominated flame retardants; Metabolites; Breast milk

( Received 5 April 2012; accepted 27 July 2012)