

高效液相色谱-串联质谱法分析六溴环十二烷对映异构体

杜伟 赛默飞世尔科技(中国)有限公司

六溴环十二烷(HBCD)是除十溴联苯醚、四溴双酚A之外的世界第三大阻燃剂产品,主要用作添加性的阻燃剂添加在热塑性塑料中,另外在纺织品涂层、电缆线、橡胶粘合剂及不饱和聚酯的生产中也有应用。HBCD为添加型阻燃剂,易从产品中释放进入环境。HBCD的难降解性及高辛醇-水分配系数使其在动物体脂肪组织中具有潜在生物累积性,能够对动物体内分泌和免疫参数产生影响,导致人体基因重组,进而引起一系列疾病,甚至癌症。虽然环境中HBCD水平通常很低、发生急性中毒的可能性小,但由于HBCD的大量使用、环境持久性及生物毒性,已被确认为一种潜在污染物。对环境中HBCD污染水平的分析成为新的热点。^[1]

商品HBCD由3种非对映异构体(α , β , γ -HBCD)组成,且每种非对映异构体有两种对映异构体,结构式如图1所示。其中 γ -HBCD的含量最高,为75%~89%, α -HBCD的含量为10%~13%, β -HBCD的含量为15%~12%。同时发现在环境样品(土壤、污泥、污水等样品)中HBCD的主要成分是 γ -HBCD,占总HBCD的60%以上;在空气中的HBCD主要为 α -HBCD和 γ -HBCD, β -HBCD含量很少;而在水生生物和鸟类体内组织里 α -HBCD占HBCD总量的80%以上。由于生物体内的代谢等生化反应往往具有立体选择性,不同生物或组织间的各对映异构体的比例会有明显的差异,可见对HBCD的环境危险性和在生物体内的代谢和降解过程的研究需要对对映异构体分别进行精确定量。^{[2][3]}

HBCD分子中含有6个电负性的溴原子,经气相色谱(GC)分离后,用电子俘获检测器(ECD)或质谱负化学源(MS-NCI)检测具有较高的灵敏度。但是在GC高温分离条件下,HBCD在160℃以上会发生异构体重排,在240℃以上有脱溴降解现象。因此,用液相色谱-质谱(LC-MS)在常温条件下分离检测,成为目前HBCD重要的分析手段。^{[3][4]}

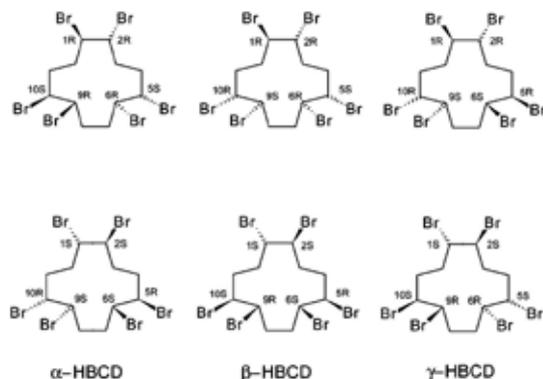


图1 常见HBCD结构式

1实验部分:

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Ultra液相色谱质谱联用系统(美国Thermo Fisher Scientific公司); Nucleodex beta-PM色谱柱, (Macherey-Nagel GmbH & Co, Duren, Germany, 200 x 4.0 mm, 5 μ m); SORVALL 高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司); 乙腈和甲醇(色谱纯, 美国Thermo Fisher Scientific公司); 甲酸(色谱纯, 美国Tedia公司); 实验用水为去离子水; 有机滤膜, 0.22 μ m。

1.2 样品制备

标准溶液的配制: 准确称取 α -HBCD 10mg, β -HBCD与 γ -HBCD各5mg, 溶于100mL甲醇中, 制成标准储备液。逐级稀释至含 α 对映异构体1.25, 2.5, 5.0, 25, 50, 250 ng/mL, β 和 γ 对映异构体0.63, 1.25, 2.5, 5, 12.5, 25, 125 ng/mL的混合标准溶液。

污水样品: 取污水样品1mL, 10000rpm离心10min, 取上清液分析。

血浆样本: 取人血浆样品1mL, 加入3mL乙腈, 充分震荡5min, 高速离心10min, 取上清液分析。

1.3 液相色谱条件

色谱柱: Nucleodex beta-PM, 200mm x 4.0 mm, 5 μ m

关键词

- 六溴环十二烷
- HBCD
- 对映异构体
- 手性分离

流动相A: 10mM NH4Ac溶液

流动相B: 乙腈

流动相C: 甲醇

流速: 500 μ L/min

梯度:

Time (min)	A (%)	B (%)	C (%)
0	44	26	30
16	0	70	30
22	0	70	30
23	44	26	30
33	44	26	30

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样体积: 20 μ L

1.4 质谱条件

离子源极性: 负离子模式

喷雾电压: 2500V

气化温度: 350 $^{\circ}$ C

鞘气压(N2): 40 arb

辅助气压(N2): 10 arb

离子传输管温度: 350 $^{\circ}$ C

碰撞气体 (Ar) : 1.5 mTorr

扫描模式: 选择反应监测

Parent	Product	CE
640.6	79	58
640.6	81	70

2 结果与讨论

2.1 线性范围, 检出限, 定量限

由浓度为 α 对映异构体1.25, 2.5, 5.0, 25, 50, 250 ng/mL, β 和 γ 对映异构体0.63, 1.25, 2.5, 5, 12.5, 25, 125 ng/mL的混合标准样品, 进样20 μ L, 制作校准曲线, 以3倍信噪比和10倍信噪比计算检出限和定量限, 实验结果如图2和表1。 α 对映异构体在1.25-250 ng/mL浓度范围内, β 和 γ 对映异构体在0.63-125 ng/mL浓度范围内线性关系良好, 相关系数均在0.999以上。各对映异构体检出限在0.012-0.19 ng/mL之间, 定量限在0.039-0.63 ng/mL之间。

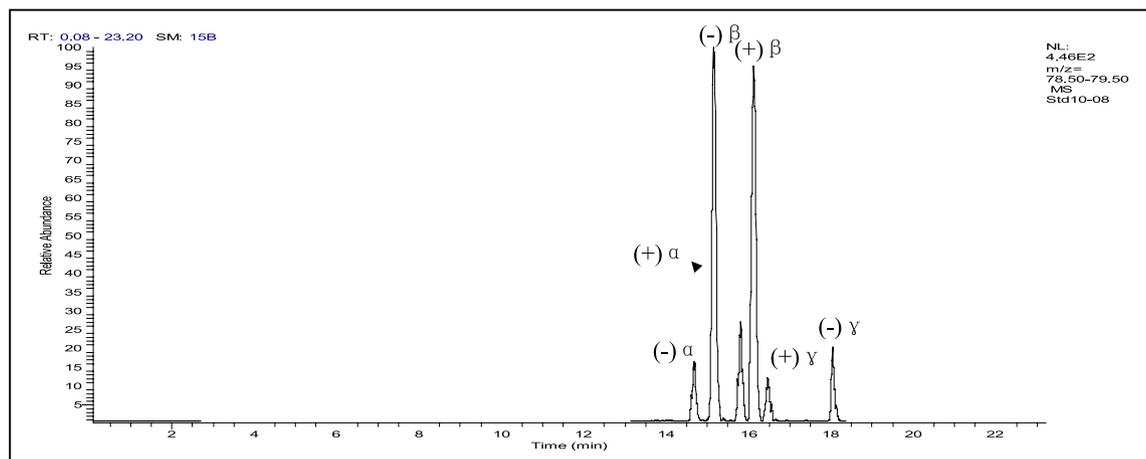


图2 HBCD色谱图

((+) α 、(-) α 5.0 ng/mL, (+) β 、(-) γ 、(+) γ 、(-) γ 2.5 ng/mL)

表1 HBCD分析结果

	保留时间(min)	浓度范围(ng/mL)	相关系数	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
(-) α	14.67	1.25-250	0.9993	0.16	0.52
(-) β	15.14	0.63-125	0.9996	0.012	0.039
(+) α	15.81	1.25-250	0.9990	0.14	0.48
(+) β	16.12	0.63-125	0.9993	0.021	0.069
(+) γ	16.47	0.63-125	0.9998	0.17	0.57
(-) γ	18.05	0.63-125	0.9991	0.19	0.63

2.2 方法精密度

在空白水样中添加 α 对映异构体5 ng/mL, β 和 γ 对映异构体各2.5 ng/mL, 重复实验7次, 考察方法精密度, 结果如表2。各对映异构体重现性良好, 相对标准偏差均在6.0%以下。

表2 六溴环十二烷精密度 (n=7)

添加浓度(ng/mL)	相对标准偏差RSD (%)
(-) α	5.0
(-) β	2.5
(+) α	5.0
(+) β	2.5
(+) γ	2.5
(-) γ	2.5

2.3 污水样品

取某排污口污水样品, 经前处理后按实验方法进行20 μ L, 检测到该污水样品中含有 α -HBCD和 γ -HBCD, 含量分别为18.9ng/mL和4.2ng/mL。

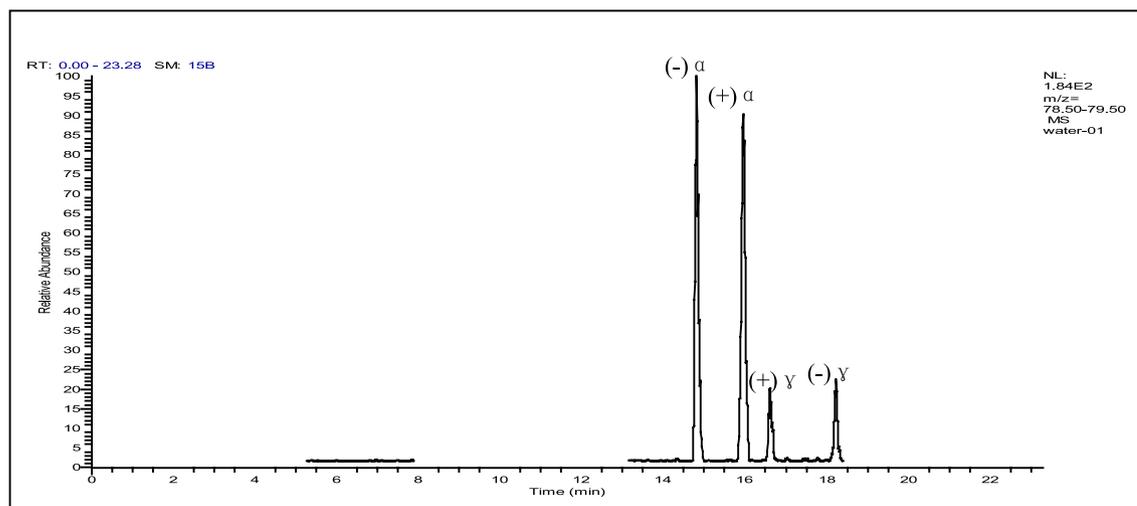


图3 污水样品色谱图

2.4 人血浆样品分析

由于生物体内的代谢等生化反应往往具有立体选择性, 在生物体内累积的HBCD在各对映异构体的含量分布上往往与环境中的分布有明显的差异, 且不同生物体内、不同器官内的分布也会不同, 因此, 生物体内的HBCD不同对映异构体的含量具有研究价值。图4上图为空白人血浆的色谱图, 下图为加标 α 对映异构体5ng/mL, β 和 γ 对映异构体各2.5ng/mL的人血浆样品的色谱图, 由结果可见, 各组分分离良好, 未见明显的基质干扰。

3 结论

采用TSQ QuantumUltra三重四级杆液质联用系统配合手性色谱柱Nucleodex beta-PM可以完成六溴环十二烷6种常见对映异构体的分离分析, 该方法具有良好分离效果, 灵敏度高, 重现性好, 能够满足环境样品和生物样品的分析要求。

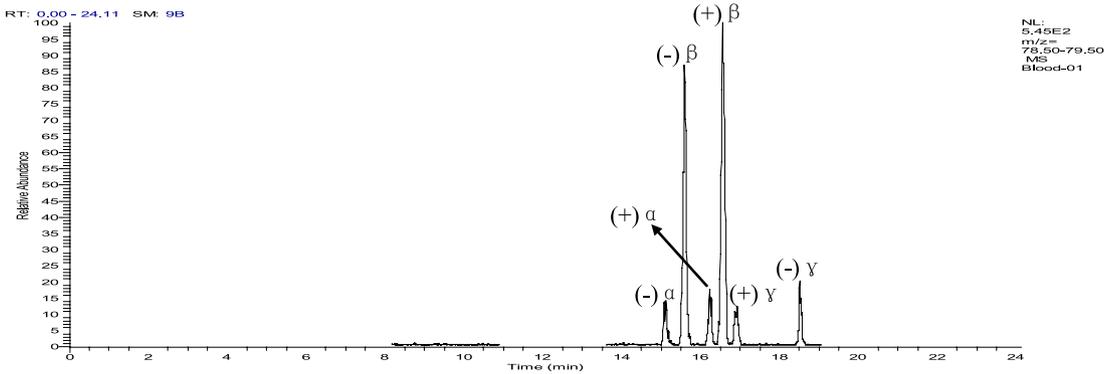
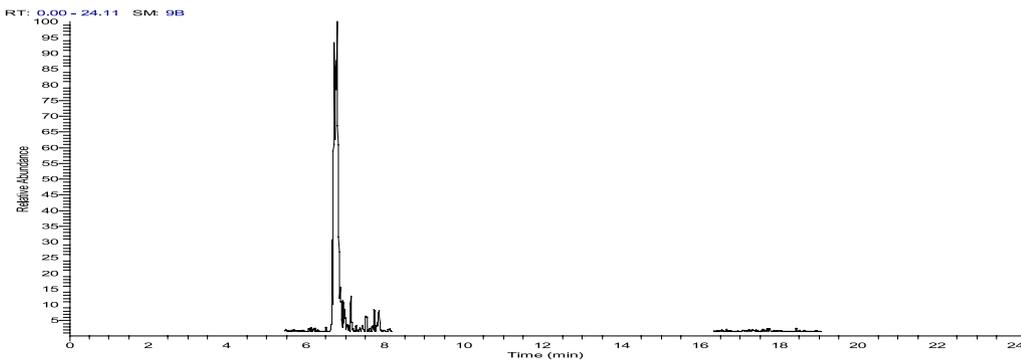


图4 人血浆样品色谱图
(上图空白血浆 下图加标血浆样品 α 5ng/mL, β 、 γ 2.5ng/mL)

4 参考文献

- 1 金军; 杨从巧; 王英; 刘安明. 超高效液相色谱电喷雾离子源串联三重四极质谱分析土壤中六溴环十二烷. 分析化学, 2009, 9, 585-588
- 2 施致雄, 封锦芳, 李敬光, 赵云峰, 吴永宁. 超高效液相色谱2电喷雾质谱法结合同位素稀释技术检测动物源性食品中的六溴环十二烷异构体. 色谱, 2008, 26, 1-5
- 3 Janak, K.; Covaci, A.; Voorspoels, S.; Becher, G. Hexabromocyclododecane in marine species from the western Scheldt Estuary: distereoisomer- and enantiomer-specific accumulation. Environ. Sci. Technol. 2005, 39, 1987-1994
- 4 Yu, Z.; Chen, L.; Mai, B.; Wu, M.; Sheng, G.; Fu, J.; Peng, P. Diastereoisomer- and enantiomer-specific profiles of hexabromocyclododecane in the atmosphere of an urban city in South China. Environ. Sci. Technol. 2008, 42, 3996-4001

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

赛默飞世尔科技

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
电话: 86-21-6865 4588
传真: 86-21-6445 7830

北京
北京市东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼702-715室
电话: 86-10-8419 3588
传真: 86-10-8419 3589

广州
广州东风中路410-412号
健力宝大厦3003-3004室
电话: 86-20-8348 7138
传真: 86-20-8348 6621

服务热线:
800 810 5118 400 650 5118

www.thermo.com.cn
analyze.cn@thermofisher.com



Thermo Fisher Scientific,
San Jose, CA USA is ISO Certified.