

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018120901

熊仕茂, 朱晓辉, 蔡凤珊, 等. 灰尘中有机磷系阻燃剂及其降解产物检测方法的建立[J]. 环境化学, 2019, 38(11): 2457-2466.

XIONG Shimao, ZHU Xiaohui, CAI Fengshan, et al. Establishment of detection method for organic phosphorus flame retardants and their degradation products in dust[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(11): 2457-2466.

灰尘中有机磷系阻燃剂及其降解产物检测方法的建立*

熊仕茂^{1,2} 朱晓辉² 蔡凤珊² 严骁² 郑晶^{1,2**} 庄僖² 张华¹

(1. 贵州医科大学公共卫生学院, 贵阳, 550025;

2. 国家环境保护环境污染健康风险评估重点实验室, 环境保护部华南环境科学研究所, 广州, 510655)

摘要 本研究建立了 QuEChERS 与液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 联用方法, 同时提取、净化灰尘样品中 6 种有机磷系阻燃剂 (磷酸三苯酯 (TPhP)、磷酸三丁酯 (TnBP)、磷酸三(2-丁氧乙基)酯 (TBOEP)、磷酸三(2-氯乙基)酯 (TCEP)、磷酸三(2-氯丙基)酯 (TCPP)、三(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯 (TDCPP) 及其降解产物 (磷酸二苯酯 (DPP)、磷酸二丁酯 (DBP)、双(丁氧乙基)磷酸酯 (BBOEP)、双(2-氯乙基)磷酸酯 (BCEP)、双(1-氯-2-丙基)磷酸酯 (BCPP)、双(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯 (BDCPP)), 上机检测。50 mg 灰尘样品用 3 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液: 乙腈 (1:1, V/V) 混合溶液提取, 加 75 mg 硫酸镁 (MgSO₄)、25 mg N-丙基乙二胺 (PSA)、25 mg 碳 18 (C18)、25 mg 石墨化碳黑 (GCB) 和 75 μL 三乙胺进行净化, 定容至 1 mL 后使用 LC-MS/MS 进行分析。色谱的流动相为甲醇和 0.01 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液, 梯度洗脱, 用多反应通道监测 (MRM) 模式进行定性和定量分析。该检测方法在 2.0—1000.0 ng·mL⁻¹ 的范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.996$)。OPFRs 的加标回收率范围在 92%—128%, 相对标准偏差 (RSDs) 介于 6.5%—9.5%。OPFRs 降解产物的加标回收率范围在 93%—129%, RSDs 介于 7.8%—14.9%。使用本文建立的方法对 13 例灰尘样品中 OPFRs 及其降解产物进行定量分析, TPhP、TnBP、TBOEP、TCEP、TCPP、TDCPP 的平均浓度介于 347.61—2197.58 ng·g⁻¹, TPhP 检出率最高, 为 100%, 而 TBOEP 和 TDCPP 的检出率最低, 为 8%。DPP、DBP、BBOEP、BCEP、BCPP、BDCPP 的平均浓度介于 nd—1411.18 ng·g⁻¹, DPP 和 BCEP 检出率最高, 为 100%, 而 BBOEP 的检出率最低, 未被检出。

关键词 液相色谱串联质谱, 灰尘, 有机磷系阻燃剂, 降解产物, 检测方法。

Establishment of detection method for organic phosphorus flame retardants and their degradation products in dust

XIONG Shimao^{1,2} ZHU Xiaohui² CAI Fengshan² YAN Xiao²
ZHENG Jing^{1,2**} ZHUANG Xi² ZHANG Hua¹

(1. School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, 550025, China; 2. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Pollution Health Risk Assessment, South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Guangzhou, 510655, China)

Abstract: A method of simultaneously extracting and purifying six organophosphorus flame retardants (OPFRs including TPhP, TnBP, TBOEP, TCEP, TCPP, and TDCPP) and their degradation products (DPP, DBP, BBOEP, BCEP, BCPP, and BDCPP) in dust samples was established

2018年12月9日收稿 (Received: December 9, 2018).

* 广东省自然科学基金 (PM-zx878-201709-090) 和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (PM-zx703-201701-040, PM-zx703-201803-076) 资助。

Supported by the Guangdong Natural Science Foundation (PM-zx878-201709-090) and the Basic Research Foundation of National Commonwealth Research Institute (PM-zx703-201701-040, PM-zx703-201803-076).

** 通讯联系人, E-mail: zhengjing@scies.org

Corresponding author, E-mail: zhengjing@scies.org

using QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The dust samples were extracted with mixed 3 mol·L⁻¹ ammonium acetate; acetonitrile (1:1, V/V) and purified by adding 75 mg MgSO₄, 25 mg PSA, 25 mg C18, 25 mg GCB and 75 μL triethylamine. After being concentrated to 1 mL, the extracts were analyzed by LC-MS/MS. The mobile phases were methanol and 0.01 mol·L⁻¹ ammonium acetate aqueous solution. Multi-reaction channel monitoring (MRM) mode was used for qualitative and quantitative analysis. The standard curve (in range of 2.0—1000 ng·mL⁻¹) had a good linearity ($R^2 > 0.996$). The recoveries of OPFRs ranged from 92% to 128%, with relative standard deviations (RSDs) of 6.5%—9.5%. The recoveries of OPFR degradation products ranged from 93% to 129%, with RSDs of 7.8%—14.9%. The method was applied for OPFRs and their degradation products in 13 dust samples. The average concentrations of TPhP, TnBP, TBOEP, TCEP, TCPPs and TDCPP in 13 dust samples were between 347.61 and 2197.58 ng·g⁻¹. The detection frequencies ranged from 8% (for TBOEP and TDCPP) and 100% (for TPhP). The average concentrations of DPP, DBP, BBOEP, BCEP, BCPP and BDCPP were between non-detectable and 1411.18 ng·g⁻¹. DPP and BCEP were found in all the samples, but BBOEP was not found in the samples.

Keywords: liquid chromatography tandem mass spectrometry, dust, organic phosphorus flame retardant, degradation products, method.

随着高分子材料应用范围的日益扩大,全球安全环保意识的日益加强,人们对高分子材料制品阻燃的要求越来越高,无卤、低烟、低毒、高耐热性的环保型阻燃剂(Flame retardants, FRs)已成为人们追求的目标^[1].在各类阻燃剂中,有机磷系阻燃剂(Organophosphate flame retardants, OPFRs)占有重要地位,广泛应用于纺织品、泡沫、塑料和电子产品中^[2],近年来在世界范围内的需求量与生产量大幅增加,2012年全球有机磷系阻燃剂消费量约为55万吨,预计到2018年消费量将达到105万吨,在全球阻燃剂消费的四大市场(美国、欧洲、日本和亚洲其他地区)中,以中国为代表的亚洲其他地区市场消费量增长最快^[3].由于OPFRs主要以添加方式而非化学键合方式加入到材料中^[4],随着时间的推移它们会通过挥发、产品磨损和渗漏从处理过的材料中浸出,释放到各种环境介质中,从而导致人类和生物群体通过各种途径暴露^[5],目前已在淤泥^[6]、水体^[7]、空气^[8]、室内灰尘^[9-10]、野生动物^[11-13]和人体^[14-16]等介质中检测出不同浓度的OPFRs.

OPFRs曾经在早期的生产和使用中被列为无毒或低毒化合物^[1,17],但近年来的毒理学研究表明,一些OPFRs可能会对生物群体和人体产生不利影响,如磷酸三丁酯(TnBP)可能与病房综合症有关,磷酸三苯酯(TPhP)和磷酸三丁酯(TnBP)具有一定的神经毒性,磷酸三(2-氯乙基)酯(TCEP)、磷酸三(2-丁氧乙基)酯(TBOEP)、三(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯(TDCPP)和磷酸三(2-氯丙基)酯(TCPP)可能会致癌,磷酸三苯酯(TPhP)和三(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯(TDCPP)与激素干扰和精液质量下降有关^[18-19],三(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯(TDCPP)、磷酸三(2-丁氧乙基)酯(TBOEP)和磷酸三苯酯(TPhP)对暴露于室内灰尘提取物的人骨肉瘤细胞系具有体外雌激素和抗雄激素作用^[20],对水生生物也具有潜在的毒性和有害作用^[21]等.OPFRs越来越多的在各种环境介质、生物群体和人体中被检出,加之各种毒理学研究表明其对生物和人体的不利影响,推动我们去建立更加快速、准确检测OPFRs的方法,为日后研究其对人体健康和生物群体影响提供便利.

灰尘被认为是人体OPFRs暴露的主要来源,目前已在不同地区如瑞典^[22]、比利时^[23]、西班牙^[24]、日本^[25]、菲律宾^[26]、新西兰^[27]、科威特和巴基斯坦^[28]、哈萨克斯坦^[29]、中国北京^[30]和中国香港^[31]等室内灰尘中检测到多种OPFRs,一般依次经过筛分、固液萃取/超声提取/加速溶剂萃取、固相萃取净化/分散固相萃取净化、LC-MS-MS/GC-MS-MS检测分析.OPFRs降解产物通常在尿液、指甲、头发、血液^[15-16,32-33]等生物样品中被检出,一般依次经过清洗、酶解消化、液液微萃取、固相萃取净化、LC-MS-MS/GC-MS-MS检测分析.以往许多研究将OPFRs的二酯类降解产物作为人体的OPFRs暴露标志物,但Bjornsdotter等^[10]的研究中从灰尘检测到OPFRs及其降解产物,提示二酯类降解产物既可能来自人体

自身代谢 OPFRs,也可能来自外源的摄入,这将导致 OPFRs 的人体暴露风险和毒性效应评估的偏差.此外,以往测定灰尘中 OPFRs 的方法在提取、净化和测定过程仍有许多的不足,如提取和净化过程复杂、测定过程耗费大量的时间等,且鲜有能同时提取、净化灰尘中 OPFRs 及其降解产物的方法,Bjornsdotter 等^[10]从灰尘同时提取、净化、检测出了 OPFRs 及其降解产物,但仅检测了磷酸三苯酯(TPhP)及其降解产物磷酸二苯酯(DPP).因此,建立能同时提取灰尘中 OPFRs 及其降解产物,且准确性好、灵敏度高、耗时短、种类齐全的分析方法对 OPFRs 的人体健康效应研究十分关键.

本研究构建了 QuEChERS 与 LC-MS/MS 联合测定灰尘中多种 OPFRs 及其降解产物的检测方法,并使用建立的方法,分析了 13 例灰尘中 OPFRs 及其降解产物的浓度水平.本次研究在灰尘中可定量分析的目标化合物见表 1.

表 1 灰尘中有机磷系阻燃剂及其降解产物的中文全称、英文全称、简称及 CAS

Table 1 Chinese name, English full name, abbreviation and CAS number of OPFRs and their degradation products in dust

中文全称 Chinese name	英文全称 English full name	简称 Abbreviation	CAS
有机磷系阻燃剂化合物			
磷酸三苯酯	Triphenyl phosphate	TPhP	115-86-6
磷酸三丁酯	Tributyl phosphate	TnBP	126-73-8
磷酸三(2-丁氧乙基)酯	Tris(2-Butoxyethyl) phosphate	TBOEP	78-51-3
磷酸三(2-氯乙基)酯	Tris(2-Chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8
磷酸三(2-氯丙基)酯	Tris(2-chloropropyl) phosphate	T CPP	6145-73-9
三(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯	Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCPP	13674-87-8
有机磷系阻燃剂降解产物			
磷酸二苯酯	Diphenyl phosphate	DPP	838-85-7
磷酸二丁酯	Dibutyl phosphate	DBP	107-66-4
双(1,3-二氯-2-丙基)磷酸酯	Bis(1,3-dichloro-2-propyl) Phosphate	BDCPP	72236-72-7
双(丁氧乙基)磷酸酯	Bis(butoxyethyl) phosphate	BBOEP	14260-97-0
双(2-氯乙基)磷酸酯	Di-b,b'-Chloroethylphosphoric Acid	BCEP	3040-56-0
双(1-氯-2-丙基)磷酸酯	Bis(1-chloro-2-propyl) phosphate	BCPP	789440-10-4

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器与材料

(1) 仪器:AB SCIEX API4000+ MS/MS 三重四极杆质谱仪(Applied Biosystems, 美国), Agilent 1260 液相色谱仪(Agilent, 美国), Kinetex EVO-C18 100A 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 5 μm)(Phenomenex, 美国), Poroshell 120 EC-C18 色谱柱(4.6 mm×50 mm, 2.7 μm)(Agilent, 美国), 水浴锅(智诚分析仪器制造, 上海), 离心机(Thermo Fisher Scientific, 美国), 离心机(Sigma, 德国), 氮吹仪(Organomation, 美国), 涡旋振荡器(Troemner, 美国), Milli-Q 超纯水系统(Merck, 德国).

(2) 试剂与材料:色谱纯乙酸铵、色谱纯乙腈、色谱纯无水硫酸镁、CNWBOND LC-C18 SPE 填料(40—63 μm)、CNWBOND Carbon-GCB 石墨化碳黑(120—400 目)和 CNWBOND PSA PAEs dSPE 专用填料(40—63 μm)(上海安谱实验科技, 中国), OPFRs 化合物标准品 TPhP、TnBP、TBOEP、TCEP、T CPP、TDCPP(AccuStandard, 美国), 氘代同位素标准品 d₁₅-TPhP、d₂₇-TnBP、d₁₂-TCEP、d₁₈-T CPP 和 d₁₅-TDCPP(CIL(Cambridge Isotope Laboratorie), 美国), OPFRs 降解产物标准品 BCEP、DPP、BCPP、BBOEP、BDCPP(Toronto Research Chemicals, 加拿大), OPFRs 降解产物标准品 DBP 和氘代同位素标准品 d₁₀-DPhP、d₈-BBOEP、d₈-BCEP、d₁₀-BDCPP 和 d₁₂-BCPP(Toronto Research Chemicals, 加拿大), 氘代同位素标准品 d₁₈-DBP(Max Planck Institute for Biophysical Chemistry, 德国), 称量纸(上海伯奥生物科技, 中国), 15 mL 塑料旋盖离心管(Corning, 美国), 不锈钢勺, 2 mL 微量摺盖离心管, 1 mL 无菌连针注射器, 亲水 PTFE 针式滤器(0.22 μm)(上海安谱实验科技, 中国), 10 mL 玻璃旋盖离心管(目盛付, 日本), 短型玻

璃巴斯德吸管(Witeg Labortechnik GmbH, 德国).

1.2 样本信息

在本次研究所选择的13例室内灰尘样本,10例采自清远市的飞来峡镇和塘头村,另外3例采自广州市华南环境科学研究所.灰尘样品使用真空吸尘器和软毛刷采集.室内地面灰尘使用真空吸尘器配套尘袋收集,为避免交叉污染,设备连接处使用前后用肥皂水和清水清洗,并用正己烷浸湿的一次性用品擦拭干净.室内桌面和柜顶等易积累灰尘的地方,使用软毛刷和小塑料簸箕采集积尘,避开厨房和卫生间等有大量生活垃圾的地方,每个家庭约采集2—5 g样品.采集好的灰尘样本均用干净的铝箔包好,置于干净的PP密封袋中,编号并运往实验室,置于4℃冰箱保存.

1.3 溶液的配制

准确称取OPFRs及其降解产物和同位素内标的标准品,分别溶解于甲醇中,配制成质量浓度为 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用.吸取每种同位素内标储备液 $50\text{ }\mu\text{L}$ 于细胞瓶,用甲醇稀释至 1 mL ,获得质量浓度 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标混合溶液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用.称取 23.12 g 乙酸铵,转移至 100 mL 容量瓶定容,配制成 $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液备用.称取 0.7708 g 乙酸铵,转移至 1000 mL 瓶子中定容,配制成 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液备用.

1.4 样品处理

样品处理参考Bjornsdotter等^[10]的方法并进行优化.灰尘收集并储存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,分析前称取 50 mg 灰尘置于 15 mL 塑料旋盖离心管中,加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ 内标混合溶液($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、 6 mL $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵:乙腈(1:1, V/V),涡旋振荡 2 min , $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min ,此步骤重复两次,收集乙腈层至 10 mL 玻璃旋盖离心管.提取液氮吹($30\text{ }^{\circ}\text{C}$)至 1.5 mL ,转移至 2 mL 微量离心管中,加入 75 mg MgSO_4 、 25 mg PSA、 25 mg C18、 25 mg GCB和 $75\text{ }\mu\text{L}$ 三乙胺,涡旋振荡 5 min 进行样品净化, $10000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min ,取上清液氮吹($30\text{ }^{\circ}\text{C}$)至近干,加入 1 mL 超纯水:乙腈(1:1, V/V)定容,涡旋 10 s ,用 1 mL 针管吸取定容溶液通过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜转移至进样瓶,液相色谱-质谱检测.

1.5 液相色谱-质谱工作条件

使用Agilent 1260系列液相色谱分离目标化合物.液相色谱条件:6种OPFRs使用色谱柱Kinetex EVO-C18 100A ($2.1\text{ mm}\times 100\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$),柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,6种OPFRs降解产物使用色谱柱Poroshell 120 EC-C₁₈柱($4.6\text{ mm}\times 5\text{ mm}$, $2.7\text{ }\mu\text{m}$),柱温 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样量均为 $5\text{ }\mu\text{L}$,流动相为甲醇(A)和 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙酸铵溶液(B),OPFRs流动相流速均为 $250\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,OPFRs降解产物流动相流速均为 $700\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,梯度见表2.

表2 流动相洗脱梯度

Table 2 Gradient elution of mobile phase

时间 Time/min	甲醇 Methanol(A)/%	乙酸铵溶液 Ammonium acetate solution(B)/%
有机磷系阻燃剂		
0	35	65
0.1	35	65
9	95	5
13	100	0
14	100	0
15.1	35	65
20	35	65
有机磷系阻燃剂降解产物		
0	50	50
2	50	50
4	95	5
6	95	5
6.1	50	50
9	50	50

使用 AB SCIEX API4000+ MS/MS 三重四极杆质谱检测目标化合物. 质谱条件: 电喷雾电离源 (ESI); 多反应监测模式 (MRM); 离子源温度 550 °C; 离子源电离模式: OPFRs 为 positive, OPFRs 降解产物为 negative; 离子喷雾电压: OPFRs 为 4000 V, OPFRs 代谢产物为 4500 V.

1.6 分析方法建立

1.6.1 标准曲线

用甲醇稀释 6 种 OPFRs (TPhP、TDCPP、TBOEP、TCEP、TCPP、TnBP) 的标准品储备液, 配成 9 个系列浓度 (2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、500.0、1000.0 ng·mL⁻¹) 的目标化合物混合溶液, 加入制备的 5 mg·L⁻¹ 同位素内标混合溶液, 配制成同位素内标均为 200 ng·mL⁻¹ 的不同梯度的混合标准溶液. 目标化合物的定量内标分别为同位素标记的 d₁₅-TPhP、d₁₅-TDCPP、d₁₂-TCEP、d₁₈-TCPP 和 d₂₇-TnBP. 以目标化合物的质量浓度为横坐标, 以目标化合物的峰面积与其对应的定量内标的峰面积比值为纵坐标, 构建标准曲线. 6 种 OPFRs 降解产物 (DPP、DBP、BBOEP、BCEP、BCPP、BDCPP, 其分别对应的内标为 d₁₀-DPhP、d₁₈-DBP、d₈-BBOEP、d₈-BCEP、d₁₂-BCPP 和 d₁₀-BDCPP) 标准曲线的建立操作同上.

1.6.2 加标回收率

混合 13 例灰尘样品作为基质, 分别制备空白不加标样品 3 个、基质不加标样品 3 个和基质加标样品 (混合标准品浓度 100 ng·mL⁻¹) 3 个. 按照 1.4 节方法进行前处理, 上机检测, 计算加标回收率.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 质谱鉴定

6 种 OPFRs 的质谱检测选择电喷雾离子源正离子模式 (ESI⁺), 毛细管电压为 4000 V, 载气为高纯氮气, 载气温度为 550 °C, 检测模式为多反应监测模式 (MRM), 分析物的浓度为 200 ng·mL⁻¹, 通过连接注射泵注入离子源 (注射流量: 5 μL·min⁻¹, 色谱泵流量: 200 μL·min⁻¹), 样品带电后进入质量分析器, 通过总离子流图和相应的质谱图结果确定每种化合物的母离子和子离子, 并根据响应情况优化碰撞能 (CE) 和去簇电压 (DP), 每种分析物离子及能量碰撞见表 3. 6 种 OPFRs 降解产物的质谱检测在杨姗姗等^[34]建立的尿液中 OPFRs 代谢产物的检测方法上进行优化, 通过调整流动相流速和洗脱时间, 缩短检测时间至 9 min. OPFRs 及其降解产物标准品 (浓度为 100 ng·mL⁻¹) 色谱图见图 1.

表 3 ESI-MS/MS 监测离子、时间、去簇电压、碰撞能
Table 3 ESI-MS/MS monitoring ion, time, off cluster voltage, collision energy

分析物 Analyte compounds	母离子 Precursor ion (m/z)	子离子 Product ion (m/z)	时间 Time/min	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
TPhP	327.0	77.0/152.1	11.42	114.0/102.0	59.4/49.4
TnBP	267.0	99.0/155.1	11.88	64.5/65.0	21.1/14.9
TBOEP	399.1	299.2/199.1	12.20	76.7/80.0	18.3/21.1
TCEP	287.0	99.0/63.1	6.84	68.2/68.71	34.8/41.1
TCPP	327.1	99.0	10.01	64.6	29.8
TDCCP	431.0	99.0	11.80	81.8	42.0
d ₁₅ -TPhP	341.1	82.1/81.1	11.32	108.9/11.3	58.1/59.1
d ₂₇ -TnBP	293.4	101.1/229.2	11.78	71.2/65.3	24.4/15.1
d ₁₂ -TCEP	297.4	102.0/231.1	6.72	74.8/72.1	35.9/19.2
d ₁₈ -TCPP	345.4	102.0	9.89	66.8	30.7
d ₁₅ -TDCPP	446.2	102.1/101.9	11.25	84.8/80.4	35.7/40.3

2.2 前处理优化

实验初期参考 Bjornsdotter 等^[10]的研究, 对加标灰尘样品 (加标浓度 100 ng·mL⁻¹) 进行处理, 上机检测, 6 种 OPFRs 均检出, 6 种降解产物均未检出. 分解灰尘前处理步骤, 发现净化过程中使用的分散固相萃取填料 (硫酸镁 (MgSO₄) + N-丙基乙二胺 (PSA) + 碳 18 (C18) + 石墨化碳黑 (GCB)) 对降解产物可能

有吸附作用.保持提取步骤不变,对萃取填料进行重组,分别以 MgSO_4+PSA 、 MgSO_4+GCB 、 $\text{MgSO}_4+\text{C18}$ 等 3 个萃取填料组合进行净化,上机检测, MgSO_4+PSA 填料组 6 种降解产物均未检出, $\text{MgSO}_4+\text{C18}$ 填料组 6 种降解产物均有检出但色谱响应严重降低, MgSO_4+GCB 填料组 6 种降解产物均检出,则萃取填料中 PSA 和 C18 对代谢产物有吸附作用.杨姗姗等^[34]建立的尿液中 OPFRs 代谢产物的检测方法中提到在使用 Strata-X-AW 小柱去除杂质步骤中以 5% 三乙胺乙醇作目标物质的洗脱液,由此,在参考前处理方法的填料组合基础上,加入 75 μL 的三乙胺,萃取出了被吸附的弱酸性代谢产物.

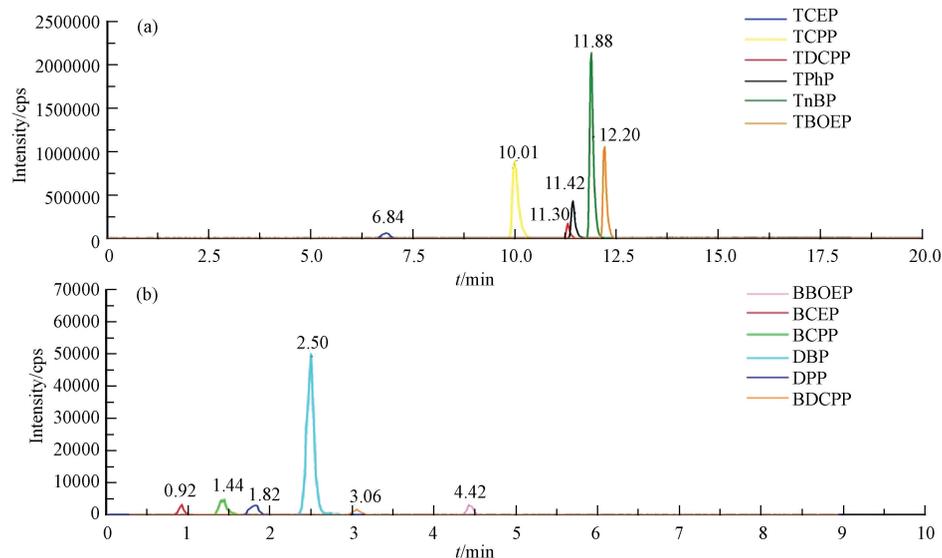


图 1 有机磷系阻燃剂(a)及降解产物(b)标准品色谱图

Fig.1 Ion chromatograms obtained with OPFRs(a) and OPFRs' Degradation Products(b) standards

2.3 灰尘标准曲线和定量限

本文采用内标法定量,目标化合物的标准曲线浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、500.0、1000.0 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 9 个梯度,上机检测,以目标化合物的峰面积与其对应的定量内标的峰面积 Y 对其质量浓度 X 进行回归分析,各目标化合物的线性回归方程和相关系数见表 4.

表 4 目标化合物的线性回归方程及相关系数

Table 4 Linear regression equations and correlation coefficients for analyte compounds

分析物 Analyte compounds	线性回归方程 Linear regression equations	相关系数 Correlation coefficients
有机磷系阻燃剂		
TPhP	$y = 0.13746x + 0.17973$	0.99914
TnBP	$y = 0.22080x + 0.28297$	0.99648
TBOEP	$y = 0.11131x + 0.03499$	0.99973
TCEP	$y = 0.03608x + 0.00840$	0.99960
TCPP	$y = 0.04081x + 0.03872$	0.99808
TDCPP	$y = 0.01381x + 0.01535$	0.99868
有机磷系阻燃剂降解产物		
DPP	$y = 0.01113x + (-0.00827)$	0.99896
DBP	$y = 0.25774x + (-0.15669)$	0.99822
BBOEP	$y = 0.01187x + (-0.00961)$	0.99963
BCEP	$y = 0.00705x + (-0.00205)$	0.99844
BCPP	$y = 0.01044x + (-0.00211)$	0.99897
BDCPP	$y = 0.00226x + (-5.96754) \cdot 10^{-4}$	0.99910

注: y , 峰面积比值; x , 质量浓度, $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Note: y , peak area ratio; x , concentration, $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

参考 Cequier 等^[35]的定量限(LOQ)的计算方法,目标化合物的 LOQ 为流程空白样品中的平均浓度加上 3 倍标准差,若流程空白中没有目标化合物,则记其 LOQ 为 10 倍信噪比(S/N)时的浓度(用标准曲线最低浓度进行实验)。结果显示,空白样品中,6 种 OPFRs 仅有 TCEP 检出,均值为 $43.40 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,标准差为 $5.40 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,由此计算获得 TCEP 的方法定量限为 $59.60 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,TPhP、TnBP、TBOEP、TCPP、TDCPP 的定量限分别为 71.00 、 130.13 、 92.36 、 95.62 、 $117.41 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。6 种 OPFRs 降解产物有 DPP、DBP、BBOEP、BCPP、BDCPP 检出,均值分别为 58.80 、 37.60 、 86.80 、 32.00 、 $64.20 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,标准差分别为 8.60 、 2.80 、 15.40 、 8.60 、 $3.60 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,由此计算获得 DPP、DBP、BBOEP、BCPP、BDCPP 的方法定量限分别为 84.60 、 46.00 、 133.00 、 57.80 、 $75.00 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,BCEP 的定量限为 $148.20 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.4 加标回收率

混合 13 例灰尘样品作为基质,用 6 种 OPFRs 及其降解产物和分别对应的同位素内标制备基质加标样品 3 个(混合标准品浓度 $100 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、基质不加标样品 3 个和空白不加标样品 3 个。上机检测浓度后计算每种目标化合物的方法回收率。如表 5 所示,6 种 OPFRs 回收率范围在 92%—128%,平行样相对标准偏差介于 6.5%—9.5%,6 种 OPFRs 代谢产物回收率范围在 93%—129%,平行样品相对标准偏差介于 7.8%—14.9%,表明此前处理方法及仪器分析条件适用于灰尘中 6 种 OPFRs 及其降解产物的提取和检测。

表 5 样品基质加标回收率
Table 5 Recovery rate of substrate

分析物 Analyte compounds	回收率 Recovery rate/%	相对标准偏差 RSD/%	分析物 Analyte compounds	回收率 Recovery rate/%	相对标准偏差 RSD/%
有机磷系阻燃剂			有机磷系阻燃剂降解产物		
TPhP	92	8.4	DPP	116	14.9
TnBP	109	6.5	DBP	119	11.6
TBOEP	128	7.0	BBOEP	115	7.8
TCEP	95	7.0	BCEP	124	9.1
TCPP	101	9.5	BCPP	93	14.3
TDCPP	105	6.9	BDCPP	129	14.0

2.5 灰尘样品分析

采用本文所建方法对灰尘样品进行测定,共 13 例灰尘样品,所检测的 6 种 OPFRs 浓度如表 6 所示,6 种 OPFRs 降解产物浓度如表 7 所示。在 13 例灰尘样品中,6 种 OPFRs 均有检出,其中 TPhP 检出率达 100%,而 TBOEP 和 TDCPP 检出率仅为 8%,6 种 OPFRs 的浓度在 nd — $8569.56 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,平均浓度介于 347.61 — $2197.58 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。5 种 OPFRs 降解产物有检出,其中 DPP 和 BCEP 检出率达 100%,而 BBOEP 未被检出,5 种 OPFRs 降解产物的浓度在 nd — $3687.98 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,平均浓度介于 nd — $1411.18 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

不同地区室内灰尘中检出 OPFRs 的浓度的差异与 OPFRs 自身理化性质如挥发性、室内环境、OPFRs 污染模式等因素有关。因此,本次研究采集的 13 例室内灰尘样品 OPFRs 中位数浓度为 $1486.54 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,与湖北省武汉市($8640 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)^[36],广东省(清远市龙塘镇($4770 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),佛山市大沥镇($7600 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),汕头市贵屿镇($33100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)^[37]、美国($1000 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)^[7]、罗马尼亚($7890 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)^[38]等地区存在较大差异。以往 OPFRs 在人体的暴露研究大部分以尿液作为研究对象,尿液中 OPFRs 的二酯类代谢物也已被广泛用于反映人体 OPFRs 的暴露水平,但近期 Bjornsdotter 等^[10]在室内灰尘样品中检测出磷酸三苯酯(TPhP)的二酯类代谢物磷酸二苯酯(DPP),提示人体尿液中的代谢产物可能不是全部来自人体代谢 OPFRs,还可能在外源性摄入(如室内灰尘、空气、食物等),但国内外鲜有在室内灰尘中同时检测 OPFRs 及其降解产物的研究。在本研究中,13 例室内灰尘样本中 6 种 OPFRs 及其中 5 种降解产物有检出,这对于后续 OPFRs 在人体中暴露的研究具有重要意义。但本次研究样本数量较少,若要确定 OPFRs 及其降解产物的暴露浓度、种类、途径及其相关性等,需做进一步的研究。

表 6 灰尘样本中 OPFRs 浓度($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)Table 6 Concentration of OPFRs in dust samples($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)

编号 No.	TPhP	TnBP	TBOEP	TCEP	TCPP	TDCPP	Σ_6 OPFRs
1	331.25	nd	nd	nd	nd	nd	331.25
2	1625.72	507.76	nd	420.82	136.6	nd	2690.90
3	598.94	nd	nd	494.74	178.08	nd	1271.76
4	1750.51	632.93	nd	291.41	77.36	nd	2752.21
5	1230.24	135.38	nd	137.72	197.98	nd	1701.32
6	275.80	nd	nd	449.38	109.10	nd	834.28
7	196.01	nd	nd	68.39	nd	nd	264.40
8	103.04	nd	nd	784.38	nd	nd	887.42
9	238.52	nd	nd	3899.62	4524.04	nd	8662.18
10	135.41	nd	347.61	177.94	237.35	nd	898.31
11	3215.2	nd	nd	4161.08	289.30	2197.58	9863.16
12	353.60	652.02	nd	4341.74	8569.56	nd	13916.92
13	430.58	nd	nd	186.12	nd	nd	616.70
平均值	846.13	482.02	347.61	1284.45	1591.04	2197.58	3696.63
中位数	392.09	570.35	347.61	435.10	197.98	2197.58	1486.54
检出率/%	100.00	31.00	8.00	92.00	69.00	8.00	-

注:nd,未检出; Σ_6 OPFRs,6种OPFRs的总和.Note:nd, not detected; Σ_6 OPFRs, sum of 6 OPFRs.表 7 灰尘样本中 OPFRs 降解产物浓度($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)Table 7 Concentration of OPFRs' degradation products in dust samples($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)

编号 No.	DPP	BDCPP	DBP	BBOEP	BCPP	BCEP	Σ_6 OPFRs 降解产物 Σ_6 OPFRs' degradation products
1	384.59	nd	282.25	nd	nd	1753.15	2419.99
2	3687.98	nd	75.42	nd	59.50	189.36	4012.26
3	1104.38	nd	nd	nd	nd	596.74	1701.12
4	664.93	nd	69.35	nd	nd	2166.83	2901.11
5	1444.02	nd	nd	nd	107.20	889.82	2441.04
6	172.40	nd	nd	nd	nd	1532.20	1704.60
7	164.20	nd	nd	nd	nd	584.91	749.11
8	100.82	nd	nd	nd	nd	1458.60	1559.42
9	151.60	nd	nd	nd	371.54	1334.38	1857.52
10	133.95	nd	nd	nd	nd	865.93	999.88
11	1498.84	1338.5	93.26	nd	284.74	2598.86	5814.20
12	379.62	nd	108.92	nd	2934.66	2241.90	5665.10
13	311.76	88.78	53.14	nd	285.46	2132.68	2871.82
平均值	784.55	713.64	113.72	—	673.85	1411.18	2669.01
中位数	379.62	713.64	84.34	—	285.10	1458.60	2419.99
检出率/%	100.00	15.00	46.00	—	46.00	100.00	—

注:nd,未检出; Σ_6 OPFRs 降解产物,6种OPFRs 降解产物的总和.Note:nd,not detected; Σ_6 OPFRs' degradation products, sum of 6 OPFRs' degradation products.

3 结论 (Conclusion)

本文整合了国内外文献中灰尘 OPFRs 及其降解产物的分析方法,在此基础上优化前处理,缩短检测时间,建立了可同时提取、净化和检测多种 OPFRs 及其降解产物的简便、快速的 LC-MS/MS 检测方法.

本研究建立的方法,选用 1:1(V/V)的乙腈:乙酸铵混合溶液进行提取,在 QuEChERS 前处理的分散固相萃取填料组合(MgSO₄+PSA+C18+GCB)的基础上加入 5%三乙胺对提取液进行净化,最后获得 OPFRs 及其降解产物的回收率在 92%—129%之间.本次研究从 13 例灰尘中均检出多种有机磷系阻燃剂,中位数浓度为 1486.54 ng·g⁻¹,最大浓度达 8569.56 ng·g⁻¹,提示环境中有机磷系阻燃剂的高水平人体暴露风险,此外,灰尘样本中同时也检测出了多种有机磷系阻燃剂的二酯类代谢物,这对于合理的评价和使用尿液中 OPFRs 的二酯类代谢物作为人体暴露标志物具有重要意义,进而可为评价 OPFRs 的人体暴露风险和毒性效应提供一定的支撑.

参考文献 (reference)

- [1] 沈海军, 田红品. 有机磷系阻燃剂的研究进展及应用[J]. 甘肃石油和化工, 2010, 24(1): 4-8,44.
SHEN H J, TIAN H P. Research progress and application of organic phosphorus flame retardants[J]. Gansu Petroleum and Chemical Industry, 2010, 24(1): 4-8,44(in Chinese).
- [2] ZHANG Y, ZHENG X, WEI L, et al. The distribution and accumulation of phosphate flame retardants (PFRs) in water environment[J]. Science of the Total Environment, 2018, 630: 164-170.
- [3] 中国产业信息网.2014-2018 年中国阻燃剂市场深度调研与投资前景分析报告[EB/OL].[2018-11-11], <http://www.chyxx.com/industry/201405/241521.html>.
China Industry Information Network. In-depth investigation and investment prospect analysis report of China's flame retardant market in 2014-2018. [EB/OL].[2018-11-11]. <http://www.chyxx.com/industry/201405/241521.html> (in Chinese).
- [4] 王晓伟, 刘景富, 阴永光. 有机磷酸酯阻燃剂污染现状与研究进展[J]. 化学进展, 2010, 22(10): 1983-1992.
WANG X W, LIU J F, YIN Y G. The pollution status and research progress on organophosphate ester flame retardants [J]. Progress in Chemistry, 2010, 22(10): 1983-1992(in Chinese).
- [5] MEEKER J D, COOPER E M, STAPLETON H M, et al. Urinary metabolites of organophosphate flame retardants: Temporal variability and correlations with house dust concentrations[J]. Environmental Health Perspectives, 2013, 121(5): 580-585.
- [6] ZENG X, HE L, CAO S, et al. Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants/plasticizers in wastewater treatment plant sludges from the Pearl River Delta, China[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33(8): 1720-1725.
- [7] RODIL R, QUINTANA J B, CONCHA-GRANA E, et al. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain)[J]. Chemosphere, 2012, 86(10): 1040-1049.
- [8] YANG F, DING J, HUANG W, et al. Particle size-specific distributions and preliminary exposure assessments of organophosphate flame retardants in office air particulate matter[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(1): 63-70.
- [9] ARAKI A, SAITO I, KANAZAWA A, et al. Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants[J]. Indoor Air, 2014, 24(1): 3-15.
- [10] BJORNSDOTTER M K, ROMERA-GARCIA E, BORRULL J, et al. Presence of diphenyl phosphate and aryl-phosphate flame retardants in indoor dust from different microenvironments in Spain and the Netherlands and estimation of human exposure [J]. Environment International, 2018, 112: 59-67.
- [11] GIULIVO M, CAPRI E, KALOGIANNI E, et al. Occurrence of halogenated and organophosphate flame retardants in sediment and fish samples from three European River basins[J]. Science of the Total Environment, 2017, 586: 782-791.
- [12] CHEN D, LETCHER RJ, CHU S. Determination of non-halogenated, chlorinated and brominated organophosphate flame retardants in herring gull eggs based on liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1220: 169-174.
- [13] HOU R, LIU C, GAO X, et al. Accumulation and distribution of organophosphate flame retardants (PFRs) and their di-alkyl phosphates (DAPs) metabolites in different freshwater fish from locations around Beijing, China[J]. Environmental Pollution, 2017, 229: 548-556.
- [14] KIM J W, ISOBE T, MUTO M, et al. Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries[J]. Chemosphere, 2014, 116: 91-97.
- [15] LIU L Y, HE K, HITES R A, et al. Hair and nails as noninvasive biomarkers of human exposure to brominated and organophosphate flame retardants[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(6): 3065-3073.
- [16] VAN DEN EEDE N, HEFFERNAN A L, AYLWARD L L, et al. Age as a determinant of phosphate flame retardant exposure of the Australian population and identification of novel urinary PFR metabolites[J]. Environment International, 2015, 74: 1-8.
- [17] 张雪, 张园, 叶斐斐, 等. 磷系阻燃剂的发展及应用研究[J]. 工程塑料应用, 2015, 11, 43(11): 112-117.
ZHANG X, ZHANG Y, YE F F, et al. Development and application research of phosphorus-containing flame retardant[J]. Engineering Plastics Application, 2015, 11, 43(11): 112-117(in Chinese).
- [18] ANDRESEN J A G A, BESTER K. Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters. [J]. Science of the Total Environment, 2004, 11, 1, 332(1-3): 155-166.

- [19] BACALONI A, FOGLIA P, NAZZARI M. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of organophosphorus flame retardants and plasticizers in drinking and surface waters. [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21: 1123-1130.
- [20] SUZUKI G, TUE N M, MALARVANNAN G, et al. Similarities in the endocrine-disrupting potencies of indoor dust and flame retardants by using human osteosarcoma (U2OS) cell-based reporter gene assays[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 47(6): 2898-2908.
- [21] BRANDSMA S H, LEONARDS P E, LESLIE H A, et al. Tracing organophosphorus and brominated flame retardants and plasticizers in an estuarine food web[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 505: 22-31.
- [22] BERGH C, TORGRIP R, EMENIUS G, et al. Organophosphate and phthalate esters in air and settled dust - a multi-location indoor study [J]. *Indoor Air*, 2011, 21(1): 67-76.
- [23] VAN DEN EEDE N, DIRTU A C, NEELS H, et al. Analytical developments and preliminary assessment of human exposure to organophosphate flame retardants from indoor dust[J]. *Environment International*, 2011, 37(2): 454-461.
- [24] GARCIA M, RODRIGUEZ I, CELA R. Optimisation of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of organophosphate compounds in dust samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 590(1): 17-25.
- [25] KANAZAWA A, SAITO I, ARAKI A, et al. Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings[J]. *Indoor Air*, 2010, 20(1): 72-84.
- [26] KIM JW, ISOBE T, SUDARYANTO A, et al. Organophosphorus flame retardants in house dust from the Philippines: Occurrence and assessment of human exposure[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(2): 812-822.
- [27] ALI N, DIRTU AC, VAN DEN EEDE N, et al. Occurrence of alternative flame retardants in indoor dust from New Zealand: Indoor sources and human exposure assessment[J]. *Chemosphere*, 2012, 88(11): 1276-1282.
- [28] ALI N, ALI L, MEHDI T, et al. Levels and profiles of organochlorines and flame retardants in car and house dust from Kuwait and Pakistan: Implication for human exposure via dust ingestion[J]. *Environment International*, 2013, 55: 62-70.
- [29] HARRAD S, BROMMER S, MUELLER J F. Concentrations of organophosphate flame retardants in dust from cars, homes, and offices: An international comparison[J]. *Emerging Contaminants*, 2016, 2(2): 66-72.
- [30] WU M, YU G, CAO Z, et al. Characterization and human exposure assessment of organophosphate flame retardants in indoor dust from several microenvironments of Beijing, China[J]. *Chemosphere*, 2016, 150: 465-471.
- [31] DENG W J, LI N, WU R, et al. Phosphorus flame retardants and bisphenol A in indoor dust and PM_{2.5} in kindergartens and primary schools in Hong Kong[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 235: 365-371.
- [32] KUCHARSKA A, COVACI A, VANERMEN G, et al. Non-invasive biomonitoring for PFRs and PBDEs: New insights in analysis of human hair externally exposed to selected flame retardants[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 505: 1062-1071.
- [33] ZHAO F, WAN Y, ZHAO H, et al. Levels of blood organophosphorus flame retardants and association with changes in human sphingolipid homeostasis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(16): 8896-8903.
- [34] 杨姗姗, 邵瑞华, 严骁, 等. 人体尿液中磷系阻燃剂代谢产物检测方法的建立[J]. *环境化学*, 2018, 37(5): 1149-1156.
YANG S S, SHAO R H, YAN X, et al. Establishment of an analytical method for the determination of phosphate flame retardants metabolites in urine [J]. *Environmental Chemistry*, 37(5): 1149-1156 (in Chinese).
- [35] CEQUIER E, MARCE R M, BECHER G, et al. A high-throughput method for determination of metabolites of organophosphate flame retardants in urine by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. *Analytica chimica acta*, 2014, 845: 98-104.
- [36] TAO Y, SHANG Y, LI J, et al. Exposure to organophosphate flame retardants of hotel room attendants in Wuhan City, China[J]. *Environ Pollut*, 2018, 236: 626-633.
- [37] ZHENG X, XU F, CHEN K, et al. Flame retardants and organochlorines in indoor dust from several e-waste recycling sites in South China: composition variations and implications for human exposure[J]. *Environment International*, 2015, 78: 1-7.
- [38] DIRTU AC, ALI N, VAN DEN EEDE N, et al. Country specific comparison for profile of chlorinated, brominated and phosphate organic contaminants in indoor dust. Case study for Eastern Romania, 2010[J]. *Environment International*, 2012, 49: 1-8.