

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018041901

于紫玲, 向明灯, 马瑞雪, 等. 生物基质中四溴双酚 A 和六溴环十二烷分析方法研究进展[J]. 环境化学, 2019, 38(3): 503-512.

YU Ziling, XIANG Mingdeng, MA Ruixue, et al. Progress in the analytical methods of tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane in biota matrix[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(3): 503-512.

生物基质中四溴双酚 A 和 六溴环十二烷分析方法研究进展*

于紫玲¹ 向明灯^{1**} 马瑞雪¹ 刘立婷^{1,2} 左 优^{1,3} 林必桂¹ 于云江^{1**}

(1. 生态环境部华南环境科学研究所 国家环境保护环境污染健康风险评价重点实验室, 广州, 510655;

2. 锦州医科大学, 公共卫生学院, 锦州, 121001;

3. 长安大学, 环境科学与工程学院, 旱区地下水文与生态效应教育部重点实验室, 西安, 710064)

摘 要 四溴双酚 A (tetrabromobisphenol A, TBBPA) 和六溴环十二烷 (hexabromocyclododecane, HBCD) 是目前世界上广泛使用的溴系阻燃剂, 其对环境及人体的健康风险备受关注. 本文对近年来生物基质 (体液基质、生物组织等) 中 TBBPA 和 HBCD 的分析方法, 包括前处理方法和分析测定方法进行了综述. 重点介绍了索氏提取法、液液萃取法、固相萃取法、加速溶剂萃取法等提取方法和气相色谱-质谱法、高效液相色谱-质谱法等仪器测定方法, 并对各方法的优缺点进行了比较, 为建立快速准确测定生物基质中 TBBPA 和 HBCD 的方法提供参考, 为今后开展 HBCD 和 TBBPA 生物有效性以及健康风险评价研究提供方法依据.

关键词 四溴双酚 A, 六溴环十二烷, 生物基质, 前处理, 分析方法.

Progress in the analytical methods of tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane in biota matrix

YU Ziling¹ XIANG Mingdeng^{1**} MA Ruixue¹ LIU Liting^{1,2}
 ZUO You^{1,3} LIN Bigui¹ YU Yunjiang^{1**}

(1. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Pollution Health Risk Assessment, South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Guangzhou, 510655, China; 2. School of Public Health, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Jinzhou, 121001, China; 3. Key Laboratory of Subsurface Hydrology and Ecological Effects in Arid Region, Ministry of Education, School of Environmental Science and Engineering, Chang'an University, Xi'an, 710064, China)

Abstract: Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCD) are currently widely used brominated flame retardants. They have drawn great concern due to their potential harmful implications in human and wildlife. This article provides a comprehensive review of the available literature on TBBPA and HBCD analytical methods in biota matrix, including different sample preparation techniques as well as instrumental approaches. This review focuses on the most recent developments for pretreatment methods, including soxhlet extraction (SE), liquid-liquid

2018 年 4 月 19 日收稿 (Received: April 19, 2018).

* 国家自然科学基金 (2160070653)、广州市科技计划项目 (20180410234) 和中央级公益性科研院所基本科研业务专项 (PM-zx703-201803-068、PM-zx703-201803-071、PM-zx703-201701-030) 资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (2160070653), Science and Technology Program of Guangzhou, China (20180410234) and the Basic Research Foundation of National Commonwealth Research Institute (PM-zx703-201803-068, PM-zx703-201803-071, PM-zx703-201701-030)

** 通讯联系人, Tel: 020-29119807, E-mail: yuyunjiang@scies.org, xiangmingdeng@scies.org

Corresponding author, Tel: 020-29119807, E-mail: yuyunjiang@scies.org, xiangmingdeng@scies.org

extraction (LLE), soild phase extraction (SPE), and accelerated solvent extraction (ASE), and instrumental approaches, such as gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and high performance lipid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS). The pros and cons of each method were compared. This review will provide accurate determination of TBBPA and HBCD in biota matrix, and scientific basis for the future research on bioavailabilty and health risk assessment of TBBPA and HBCD.

Keywords:tetrabromobisphenol A, hexabromocyclododecane, biota matrix, pretreatment, analytical methods.

四溴双酚 A (tetrabromobisphenol A, TBBPA)和六溴环十二烷(hexabromocyclododecane, HBCD)是目前世界上用量较大的溴系阻燃剂,广泛应用于电子产品、塑料、纺织品和建筑材料等^[1].我国已逐渐成为 TBBPA 和 HBCD 的主要生产和使用的国家^[2-3].不少研究指出,TBBPA 和 HBCD 在各种暴露途径中,急性毒性较低,对人体健康风险可接受^[4].然而,近期美国国家毒理学计划(National Toxicology Program, NTP)研究证实,TBBPA 暴露会导致大鼠甲状腺激素水平的改变,并且有确切证据显示 TBBPA 暴露会增加雄性大鼠子宫肿瘤发生率^[5].此外,国际癌症研究中心也将 TBBPA 列为 2A 类致癌物^[6].HBCD 被认为是一类具有持久性、生物累积性和毒性的化合物,被列入《斯德哥尔摩公约》并在全球范围内禁止使用^[7].因此,TBBPA 和 HBCD 对人体的健康风险引起广泛关注.

2009 年,欧洲食品安全局(European Food Safety Authority,EFSA)呼吁各成员国提供食品中 TBBPA 和 HBCD 的研究数据^[2].然而提供的 652 份样品中 TBBPA 的分析结果大都低于检出限,并且样品类型主要是鱼类和其他水产品($n=465$)^[8].因此建立 TBBPA 和 HBCD 的痕量分析方法不仅具有科研的价值,更是基于管理的需求.

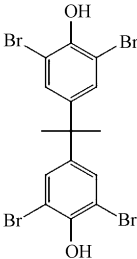
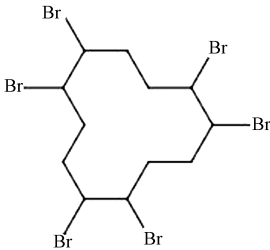
本文综述了国内外生物基质中 TBBPA 和 HBCD 的提取、净化和检测方法,旨在为今后建立生物基质中 TBBPA 和 HBCD 的分析方法,开展 HBCD 和 TBBPA 的生物毒性效应、生物有效性以及健康风险评估研究提供科学依据.

1 样品前处理

1.1 提取方法

由于 TBBPA 和 HBCD 独特的物理化学性质(表 1),不同生物基质中 TBBPA 和 HBCD 的测定需要不同的分析方法^[9].

表 1 TBBPA 和 HBCD 的物理化学性质

Table 1 Physicochemical properties of TBBPA and HBCD		
化合物 Compound	四溴双酚 A	六溴环十二烷
分子式 Chemical formula	C ₁₅ H ₁₂ Br ₄ O ₂	C ₁₂ H ₁₈ Br ₆
结构式 Chemical stucture		
CAS 号 CAS number	79-94-7	25637-99-4
分子量 Molecular weight	543.9 g·mol ⁻¹	641.7 g·mol ⁻¹
沸点 Boiling point	316 °C	>190 °C
熔点 Melting point	181—182 °C	188—191 °C

续表1

化合物 Compound	四溴双酚 A	六溴环十二烷
密度 Density	2.12 g·cm ⁻³	2.403 g·cm ⁻³
蒸气压 Vapor pressure	6.24×10 ⁻⁶ Pa(25 ℃)	4.7×10 ⁻⁷ Pa (21 ℃)
溶解度 Water solubility	0.148 mg·L ⁻¹ (pH=5)	0.0656 mg·L ⁻¹ (20 ℃)
	1.26 mg·L ⁻¹ (pH=7)	
	2.34 mg·L ⁻¹ (pH=9)	
分配系数 lgK _{ow}	5.90	5.63
酸解离常数	pK _{a1} = 7.5	—
Acid dissociation constants (pKa)	pK _{a2} = 8.5	

对体液基质,如血清、血浆、尿液、母乳等,用于 TBBPA 和 HBCD 的提取方法主要有液液萃取、固相萃取、索氏提取和加速溶剂萃取等.对生物组织或含脂肪的食品中,常用的提取方法包括索氏提取法、超声提取法和加速溶剂萃取等.这些提取方法中常用的提取溶剂包括正己烷、二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯、乙腈等中的一种或几种溶剂的混合.其中丙酮与正己烷混合溶剂是使用较多的提取试剂(图1).然而,近期一项研究表明采用丙酮或其与其他溶剂的混合提取 TBBPA 或 HBCD 可能会导致其定量结果不准确^[10].

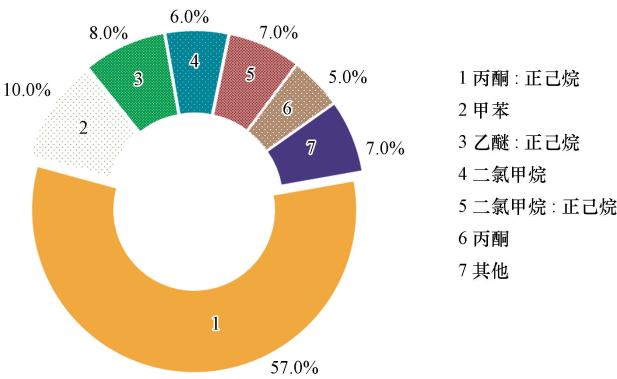


图1 TBBPA 和 HBCD 提取过程所用溶剂^[10]

Fig.1 Overview of the extraction solvents used in the extraction of TBBPA and HBCD^[10]

1.1.1 索氏提取法

索氏提取法 (soxhlet extraction, SE) 是一种经典的提取方法,多用于生物组织或半固体状样品中 TBBPA 和 HBCD 的提取.该方法利用虹吸原理,使样品与纯溶剂循环接触,提高了提取效率.索氏提取所用的样品大都是干样,因此提取前大都对生物组织湿样或半固体样品进行冷冻干燥处理.索氏提取法通常作为建立其他提取方法的对照方法,具有操作简单且回收率高等特点.Lu 等^[11]采用全自动索氏提取器分析母乳中 TBBPA 的含量,其回收率为 82.8%—110.6%.Tang 等同样利用索氏提取的方法同时分析鱼体内 TBBPA 和 HBCD 的含量,其回收率分别为 74%—97%和 93%—108%^[12].然而,该方法存在耗时较长、溶剂消耗较大等缺点.Shi 等^[13-14]和 Zheng 等^[15]在研究母乳、蛋和动物组织样本中 TBBPA 和 HBCD 的含量时均采用索氏提取法,分别耗时 20 h 和 48 h,所用溶剂量分别为 150 mL 和 190 mL.

1.1.2 液液萃取法

液液萃取法 (liquid-liquid extraction, LLE)是体液基质样品中 TBBPA 和 HBCD 提取的传统方法.由于体液基质成分复杂,通常在 LLE 提取前加入甲酸、异丙醇等试剂使基质中蛋白质变性^[16-17].该方法通常需要反复多次萃取.Ho 等萃取血浆中 TBBPA 时先用 15 mL 正己烷/甲基叔丁基醚 (1:1, V:V) 混合溶液提取 3 次,加入 3 mL 1% KCl 分离后,残渣经正己烷溶解后用 8mL 正己烷/甲基叔丁基醚 (9:1, V:V) 提取两次^[16].Inthavong 等采用液液提取方法萃取母乳中 TBBPA 和 HBCD 时,比较了 3 种混合试剂丙酮/二氯甲烷、丙酮/正己烷、丙酮/二氯甲烷/正己烷的提取效果,结果表明丙酮/二氯甲烷和其他两种混合试剂提取的回收率并不理想, TBBPA 分别为 44%和 25%,HBCD 为 3%和 10%^[18].液液萃取法在提取

过程中易出现乳化,这可能是其回收率偏低的重要原因^[18].总的来说,液液萃取法的缺点是有机溶剂消耗量较大,且需多次转移,重复性相对较差^[19].

1.1.3 固相萃取法

固相萃取法(solid phase extraction, SPE)是液液萃取法的发展和提高,是目前体液基质样本中 TBBPA 和 HBCD 富集较为有效的提取方法^[20].该方法主要基于液-固相色谱理论,采用选择性吸附和洗脱的方式对化学物质进行富集、分离与净化.Kim 等研究血清中 TBBPA 和 HBCD 含量时采用 HLB 固相萃取方法,经 2×3 mL 二氯甲烷和甲醇混合溶剂洗脱、弗罗里硅土层析柱净化,TBBPA 和 HBCD 的回收率分别为 48.5%—115.2%和 58.7%—125.8%^[20].对基质简单的样品,SPE 提取后可省略净化步骤直接进样,从而缩短了预处理时间.Chu 等^[21]选用 Oasis MAX SPE 柱对血浆和血清中 TBBPA 富集后,经 3×2 mL 丙酮洗脱、浓缩等步骤后直接进样分析.总的来说,SPE 方法简单、快速、有机溶剂消耗少,预处理时间较短,便于实验室间进行质控,降低了成本,易实现自动化在线分析.

1.1.4 加速溶剂提取法

加速溶剂萃取法(accelerated solvent extraction, ASE),又称加压液体萃取法(pressurized liquid extraction, PLE),是近年来发展起来的快速提取技术.它利用升高温度和压力来增加物质的溶解度和扩散效率.对于 HBCD 和 TBBPA,加速溶剂提取过程中通常采用正己烷和二氯甲烷混合试剂,使用的温度和压力一般为 90—150 °C 和 500—1500 psi,其回收率达 71%—103%^[22-23].Zhu 等采用加速溶剂萃取法在 1:1(V:V)正己烷/二氯甲烷混合试剂、温度 150 °C 和压力 1500 psi 条件下对软体动物组织中 HBCD 有很好的提取效果,回收率为 64.6%—106%^[24].Xia 等采用 ASE 法完成鱼组织样品中 HBCD 提取仅需 12 min,溶剂消耗为 80 mL,相比索氏提取方法大大缩减了溶剂的消耗和预处理时间^[25].总的来说,该方法具有有机溶剂用量少、萃取效率高、预处理时间短、自动化程度高等优点.

1.1.5 不同提取方法比较

不同提取方法适用的样品基质、提取时间、溶剂用量、回收率等方面各有不同.Lu 等^[34]同时采用液液萃取和固相萃取两种方法对血清中溴代阻燃剂进行提取,结果显示,完成液液萃取需 3 次重复萃取过程,消耗正己烷-甲基叔丁基醚混合溶剂 18 mL,而固相萃取完成萃取过程仅 5 mL 异丙醇和 5 mL 二氯甲烷,同时也表现出较好的回收率.Xia 等采用 ASE 法完成鱼组织样品中 HBCD 提取过程仅需 12 min,溶剂消耗为 80 mL^[25].然而 Shi 等^[13-14]和 Zheng 等^[15]在采用索氏提取方法提取母乳和蛋、动物组织样本中 TBBPA 和 HBCD 时分别耗时 20 h 和 48 h,所用溶剂量分别为 150 mL 和 190 mL.总体上,固相萃取是目前体液基质中 TBBPA 和 HBCD 的提取,加速溶剂萃取是生物组织等固体样品中 TBBPA 和 HBCD 提取应用较多的方法.

1.2 净化方法

生物基质中脂肪的去除是影响检测结果准确性的重要因素.现阶段净化的方法主要分为两类,一类是破坏性方法,如硫酸、酸性层析柱等;另一类是非破坏性方法,如凝胶色谱分离法、柱层析法等.

1.2.1 非破坏性净化方法

凝胶渗透色谱法(gel-permeation chromatography, GPC)主要基于分子大小差异实现分离,属非破坏性净化方法^[11,17].通常,GPC 净化不能完全将脂肪与目标化合物进行分离,还需要其他方法加以辅助净化.Zheng 等分析鸡肉组织和鸡蛋中 TBBPA 和 HBCD 时便同时采用了 GPC 和不同酸度的复合硅胶柱净化^[15].Shi 等^[13-14]分析母乳中 TBBPA 和 HBCD 时则采用了 GPC 和硫酸的组合净化.柱层析法也是目前应用较广泛的非破坏性净化方法.常用的净化剂有硅胶、氧化铝和弗罗里硅土,其中硅胶柱应用最为广泛^[35-36].由于硅胶对脂肪的容量有限,目前常与氧化铝或弗罗里硅土组合形成复合层析柱对脂肪进行净化.Song 等^[30]和 Sun 等^[31]分析鱼组织样品中 HBCD 时选用硅胶和氧化铝组合的层析柱净化.QuEChERS 是国际上最新发展起来的一种用于农产品检测的快速样品前处理技术,它利用吸附填料(PSA、C18 等)与基质中的杂质相互作用而达到去除杂质的作用.Cunha 等^[37]采用 QuEChERS 方法提取建立了同时测定鱼、贝等水产品中双酚 A(bisphenol A, BPA)和 TBBPA 的方法.

表 2 生物基质中 TBBPA 和 HBCD 分析方法汇总

Table 2 Overview of typical analytical procedures used determination of TBBPA and HBCD in biological matrices

样品类型 Sample type	分析物质 Compound	预处理 Pre-treatment	提取过程 Extraction procedure	净化过程 Clean-up	仪器分析 Instrumental analysis	回收率 Recovery/%	相对标准偏差 RSD(%)	检出限 LOD/ (ng·g ⁻¹) l.w.	参考文献 Reference
体液基质									
母乳	HBCD	冷冻干燥	索氏抽提,正己烷/丙酮(1:1, V: V)	GPC	HPLC-MS	82.8—110.6	10	—	[11]
母乳	HBCD、TBBPA	冷冻干燥	索氏抽提,正己烷/丙酮(1:1, V: V)	GPC+硫酸	UHPLC-MS/MS	80—120	15	—	[13-14]
母乳	HBCD、TBBPA	甲酸酸化	液液萃取,乙酸乙酯/正己烷(1:4, V: V)	GPC	LC-MS/MS	68—90	16	20	[17]
母乳	HBCD、TBBPA	冷冻干燥	加速溶剂萃取,正己烷/二氯甲烷(1:9, V: V)	硫酸+弗罗里硅土柱	LC-MS/MS	71—103	—	—	[22-23]
血清、母乳	TBBPA	—	液液萃取,乙腈/正己烷	酶解+HLB	GC-HRMS	—	—	—	[26]
血清	TBBPA	甲酸酸化	SPE	—	LC-MS/MS	95	2	0.03	[21]
母乳、血清	TBBPA、HBCD	—	加速溶剂萃取,正己烷/丙酮(4:1, V: V)	GPC+硫酸,SPE	UPLC-MS/MS	78.6—109	14	0.1—0.4	[27]
尿液	TBBPA	甲酸酸化	液液萃取,乙酸乙酯	SPE	HPLC-MS/MS	81—107	—	0.005	[16]
血清	TBBP、HBCD	—	SPE, HLB 柱	弗罗里硅土	LC-MS/MS	48.5—115.2 [*] , 58.7—125.8	13.8 [*] , 14.2	—	[20]
蛋、生物组织	HBCD、TBBPA	—	索氏抽提,正己烷/丙酮(1:1, V: V)	GPC+酸性硅胶柱	LC-MS	86—102	—	0.25—0.73	[15]
生物组织或食品									
生物样品	HBCD	甲酸酸化	加速溶剂萃取,正己烷/二氯甲烷(1:9, V: V)	酸性硅胶柱	UPLC-MS	97—108	—	0.1—0.3 ^{**}	[28]
鱼	TBBPA、HBCD	—	加速溶剂萃取,正己烷/丙酮(1:1, V: V)	酸性硅胶+硅胶层析柱	LC-MS/MS	80—110	—	—	[29]
鱼	TBBPA、HBCD	冷冻干燥	索氏抽提,丙酮: 正己烷(1:1, V: V)	硫酸+中性硅胶	LC-MS	74—97 [*] , 93—108	—	16—25 [*] , 32—52	[12]
鱼	HBCD	冷冻干燥	索氏抽提,正己烷/二氯甲烷(1:1, V: V)	硅胶+氧化铝层析柱	HPLC-MS/MS	47.5—125	—	—	[30-31]
鱼	HBCD	冷冻干燥	加速溶剂萃取,二氯甲烷:正己烷(4:1, V: V)	GPC+硅胶层析柱	HPLC-MS/MS	70—110	—	—	[25]
鱼	HBCD	—	索氏抽提,二氯甲烷	GPC	HPLC-MS/MS	—	—	—	[32]
生物样品	TBBPA、HBCD	—	索氏抽提,二氯甲烷:正己烷(3:1, V: V)	GPC	HPLC-MS/MS	93.2±6.3 [*] 87.1—96.6	—	—	[33]

注: * 为 TBBPA 指标; ** 单位为 ng·g⁻¹(干重).

1.2.2 破坏性净化方法

HBCD 在强酸环境下能保持稳态,通常直接加入强酸如硫酸等是最直接的净化方法^[35],但该方法需进行多次液液萃取、离心等步骤.活化的硅胶能迅速吸附硫酸,因此选用酸性硅胶净化是目前应用较多的处理方式.Zhang 等分析弥河中蛤、牡蛎、虾等生物体中 HBCD 时便采用了酸性硅胶净化^[28].该方法能避免液液萃取方法中出现的乳化,减少了样品的前处理和溶剂消耗,增加了样品的回收率.此外,许多研究也采用硫酸与硅胶、弗罗里硅土和氧化铝等组合形成的复合硅胶柱用以提高净化效果.Zheng 等分析鸡蛋和鸡肉组织中 TBBPA 和 HBCD 时便采用了 GPC 和酸性硅胶组合的净化方法^[15].Carignan 等和 Harrad 与 Abdallah 等分析母乳中 TBBPA 和 HBCD 是则采用了硫酸与弗罗里硅土组合的净化^[22-23].这些净化方法均能在回收率和重现性方面的得到很好的结果.

1.2.3 不同净化方法比较

Dam 等^[29]比较分析了 GPC、硫酸净化、硅胶和酸性硅胶净化和全自动酸性硅胶净化 4 种方法对鱼组织样品中 TBBPA 和 HBCD 的净化效果,结果显示,GPC 净化对 TBBPA 和 HBCD 的回收率可达 100%;硫酸净化对分析物的回收率较低,为 40%—80%;硅胶层析柱净化的回收率能在 80%和 100%之间,但是该方法不能将提取液中高脂肪含量完全去除;酸性硅胶净化结合了硫酸净化和硅胶层析柱净化,在保证回收率在 80%下,能去除 2.5 g 脂肪含量.全自动酸性硅胶 SPE 方法将酸性硅胶净化过程的繁琐程序自动化,便于批量样品的净化.

2 分析检测技术

迄今为止,生物体中 TBBPA 和 HBCD 的测定方法主要包括气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometer, HPLC-MS),其中以 HPLC-MS 应用最为广泛,样品经前处理后,其提取液可直接进样分析,无需衍生化.

2.1 气相色谱-质谱法

GC-MS 常用于检测易挥发和半挥发性有机物如 PBDE、PAHs 等的高灵敏度方法,并能同时进行定性和定量分析.TBBPA 极性相对较强,若使用 GC-MS 法测定,需要先进行衍生化^[26].GC-MS 在 EI 或 NCI 模式下常用的衍生试剂如 N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺(N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide, BSTFA)与三甲基氯硅烷(Trimethylchlorosilane, TMCS)混合液、五氟丙酸酐等(表 4).总体上,GC-MS 方法在分析 TBBPA 时可能会因其不完全衍生而导致方法的线性范围比较窄,回收率低等^[38].

HBCD 有 3 种异构体: α -HBCD、 β -HBCD、 γ -HBCD,其中以 γ -HBCD 居多.有研究指出,在温度为 160 °C 下,3 种异构体可相互转化^[35],因此,GC-MS 分析 HBCD 时,仅能对其总量进行分析而无法对各异构体定量.

2.2 高效液相色谱-质谱法

高效液相色谱-质谱法(LC-MS)分析 TBBPA 时,无需衍生化,是目前分析测定最主要的方法.此外,使用 LC-MS 定量 TBBPA 的另一优势是可以使用 ¹³C-TBBPA 为同位素内标,在很大程度上提高了定量的准确性.Mascolo 等比较了 LC-MS 分析 TBBPA 所用的 ESI、APCI 源和 APPI 源,结果显示 LC-MS 分析 TBBPA 最适宜的接口是负电离模式下的 ESI 源,它的检出限显著低于 APCI 源和 APPI 源^[39].此外,不同的流动相对 TBBPA 的灵敏度也有较大影响.Chu 等用 HPLC-MS/MS 分析 TBBPA 时,发现用甲醇做流动相质谱的响应比用乙腈做流动相时高^[21].目前,UPLC-MS/MS 方法也广泛用于生物、食品等样品中 TBBPA 的分析^[13, 14-28],该方法在 LC-MS/MS 方法的基础上,进一步提高了分析效率及检测灵敏度.

LC-MS 或 LC-MS/MS 使用 ESI 源或 APCI 源均能对 HBCD 各异构体分离定量.Budakowsky 和 Tomy 的研究表明,相同仪器状态下 APCI 源对 HBCD 的响应略低于 ESI 源^[40].通常任何比例的甲醇和乙腈均能分离 HBCD 的 3 种异构体,但是在流动相中增加乙腈的比重能更好地分离 HBCD,尤其是 β -HBCD 和 γ -HBCD^[35].为了进一步提高分析的灵敏度,通常也在流动相中添加乙酸铵、乙酸、甲酸等^[20-21].Lu 等研究发现流动相中甲酸浓度的增加并不能提高反而影响 TBBPA 和 HBCD 的分辨率和响应,因此选用 0.5%甲酸流动相^[34].

表 3 TBBPA 和 HBCD 分析的 LC-MS 参数
Table 3 Overview of LC-MS parameters used in the analysis of TBBPA and HBCD

化合物 Compound	色谱柱 Column	尺寸 Dimensions	流动相 Mobile phase	流速 Flow/ (mL·min ⁻¹)	流动相添加剂 Mobile phase modifiers	离子源 Ionisation	检测器 Instrument	离子源温度 Source temp/°C	参考文献 Reference
HPLC-MS/MS									
HBCD	XDB-C18	500×4.6 mm i.d., 1.8 μm	甲醇	0.25	-	ESI	三重四极杆	350	[12,31]
HBCD、TBBPA	DIKMA Endeavorsi	100×2.1 mm i.d., 1.8 μm	甲醇:水	0.4	0.05% 甲酸	ESI	三重四极杆	-	[34]
HBCD、TBBPA	Varian Pursuit XRS3 C18	150× 2 mm i.d., 3 μm	甲醇:水	0.15	-	ESI	三重四极杆	-	[17,22]
HBCD、TBBPA	XDB-C18	75×4.6 mm i.d., 3.5 μm	甲醇:乙腈:水	0.32	-	ESI	三重四极杆	-	[30]
HBCD、TBBPA	C18	150×4.6 mm i.d., 5.0 μm	甲醇:水	-	乙酸铵	ESI	三重四极杆	350	[20]
TBBPA	PFP(2)	100×2 mm i.d., 3 μm	甲醇:水	0.2	0.1% 甲酸	ESI	三重四极杆	350	[21]
HBCD、TBBPA	Varian Pursuit XRS3 C18	150×2 mm i.d., 3 μm	甲醇:水	0.12	2 mmol·L ⁻¹ 乙酸铵	ESI	三重四极杆	-	[23]
UPLC-MS/MS									
TBBPA、HBCD	C18	100×2.1 mm, 1.8 μm	甲醇:水(4:1)	0.25	-	ESI	三重四极杆	300	[28]
TBBPA、HBCD	C18	2.1 mm, 1.7 μm	甲醇:水	0.7	-	ESI	三重四极杆	-	[13-14]
TBBPA	Acquity BEH C18	100×2.1 mm, 1.7 μm	甲醇:水	0.4	-	ESI	三重四极杆	150	[43]
HBCD	Kinetex C18	100×2.1 mm, 1.7 μm	甲醇:水, 乙腈	0.25	-	-	Q Exactive TM 组合型四极杆	-	[44]
HPLC/UV									
TBBPA	ZORBAX Eclipse XDB\C18	50×4 mm, 1.8 μm	乙腈:水	0.3	-	-	DAD (212 nm)	-	[43]
HBCD、TBBPA	Hibar® HRPurospher® STAR RP-18e	50×2.1 mm, 2 μm	乙腈:水	0.7	-	-	UV (205 nm)	-	[45]

表 4 TBBPA 和 HBCD 分析的 GC-MS 参数
Table 4 Overview of GC-MS parameters used for in the analysis of TBBPA and HBCD

化合物 Compound	色谱柱 Column	尺寸 Dimensions	进样方式 Injection mode	衍生化 Derivatization	离子源 Ionisation	检测器 Instrument	离子源温度 Source temp/°C	参考文献 Reference
TBBPA	UB5-P	15 m×0.25 mm, 0.10 μm	不分流	-	EI	HRMS	-	[26]
TBBPA	DB-5	30 m×0.25 mm, 0.10 μm	乙腈:甲醇:水	吡啶	EI	HRMS	275	[38]
TBBPA	J&W HP-5MS	15 m×0.25 mm, 0.25 μm	脉冲不分流	N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺 + 1% 三甲基氯硅烷	NCI	LRMS	250	[46]
TBBPA	DB-5	15 m×0.25 mm, 0.1 μm	-	五氟丙酸酐+0.01 mol·L ⁻¹ 三乙胺	NCI	LRMS	170	[47]

2.3 测定方法的比较

许多研究比较了 GC 方法和 LC 方法分析 TBBPA 和 HBCD 的适用性,但不同研究在选用方法和所用的样品均存在很大的差异^[35].Van Leeuwen 和 de Boer 的一项研究结果显示,采用 GC-ECNI-MS 方法分析 HBCD 的 44 份鱼组织样品中检出 22 份,其含量范围为 0.20—230 ng·g⁻¹(湿重),而 LC-ESI-MS/MS 分析的结果较 GC-ECNI-MS 分析低 4.4 倍,他们的研究结论认为 LC-ESI-MS-MS 获得的数据较 GC-ECNI-MS 更准确^[41].Abdallah 等同样采用 GC-ECNI-MS 和 LC-ESI-MS/MS 方法比较分析了积尘中 HBCD 含量,结果显示选用外标法定量 HBCD 总量时 GC-ECNI-MS 和 LC-ESI-MS/MS 方法分析的结果没有明显区别($P>0.05$),但选用 13C- α -HBCD 作为内标定量时,GC-ECNI-MS 定量的结果与 LC-ESI-MS/MS 具有显著相关关系($r>0.9$, $P<0.01$),斜率范围为 0.76 到 1.36^[42],研究表明 LC-ESI-MS/MS 对于 HBCD 各异构单体的定量较 GC-ECNI-MS 更为准确,而 GC-ECNI-MS 选用内标法也能很好的定量 HBCD 总量。

3 结论与展望

对于生物基质中 TBBPA 和 HBCD 分析,前处理的方式很多.传统的方式如索氏提取、液液萃取法虽能满足生物基质中 TBBPA 和 HBCD 的分析要求,但大多涉及操作繁琐、费时、溶剂消耗大等缺点.而固相萃取、加速溶剂萃取等方法,溶剂用量少、萃取效率高、预处理时间短、自动化程度高,今后这些方法将是生物基质中 TBBPA 和 HBCD 提取的发展方向之一.LC-MS 或 LC-MS/MS 是 TBBPA 和 HBCD 分析测定的首选方法,这些方法无需衍生化过程,且能对各异构单体分离定量.ESI、APCI 和 APPI 是 LC-MS 分析方法常用的电离源.最新的研究进展显示,采用 LC-MS/MS 方法无需衍生化过程也能分析 HBCD 的代谢产物.因此,LC-MS 的发展方向是适应不同样品基质中新型阻燃剂及其代谢产物及转化产物的分析。

参考文献 (References)

- [1] YU G, BU Q, CAO Z, et al. Brominated flame retardants (BFRs): A review on environmental contamination in China [J]. Chemosphere, 2016, 150:479-490.
- [2] European Food Safety Administration (EFSA). Scientific opinion on Hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in food [J]. EFSA Journal, 2011, 9(7):2296. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2296>.
- [3] YI S, LIU J G, JIN J, et al. Assessment of the occupational and environmental risks of hexabromocyclododecane (HBCD) in China [J]. Chemosphere, 2016, 150:431-437.
- [4] EU. European Union risk assessment report, 2,2',6,6'-tetrabromo4,4'-isopropylidenediphenol (Tetrabromobisphenol-A or TBBPA) Part II-Human health [R/OL]. European Commission Directorate-General Joint Research Centre.2006.
- [5] NTP. NTP technical report on the toxicology studies of Tetrabromobisphenol A (CAS No. 79-94-7) in F344/Ntac rats and B6C3F1/N mice and toxicology and carcinogenesis studies of tetrabromobisphenol A [R/OL]. Research Triangle Park, NC.: National Toxicology Program. 2014.
- [6] IARC. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-120 [EB/OL]. [2018-07-05]. http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php.
- [7] ECHA. Agreement of the member state committee on identification of hexabromocyclododecane (HBCDD) and all major diastereoisomers identified as a substance of very high concern [EB/OL]. 2008, https://echa.europa.eu/documents/10162/13638/msc_svhc_agreement_hbcd_en.pdf/47d061d9-e336-4139-883b-f00331278cda
- [8] ALEXANDER J, BOOBIS A, DOMENICO A D, et al. Scientific opinion on Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and its derivatives in food EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM) [J]. EFSA Journal, 2011, 9(11): 2477. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2477>
- [9] QU G, LIU A, HU L, et al. Recent advances in the analysis of TBBPA/TBBPS, TBBPA/TBBPS derivatives and their transformation products [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 83:14-24.
- [10] ZHONG Y, LI D, ZHU X, et al. Solvent effects on quantitative analysis of brominated flame retardants with Soxhlet extraction [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2017, DOI 10.1007/s10653-017-9979-5
- [11] LU S, TAN Z, JIANG Y, et al. Hexabromocyclododecanes in breast milk from residents in Shenzhen, China: Implications for infant exposure [J]. Science of the Total Environment, 2018, 622-623:1090-1097.
- [12] TANG B, ZENG Y H, LUO X J, et al. Bioaccumulative characteristics of tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecanes in multi-tissues of prey and predator fish from an e-waste site, South China [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2015, 22(16): 12011-12017.
- [13] SHI Z, JIAO Y, HU Y, et al. Levels of tetrabromobisphenol A, hexabromocyclododecanes and polybrominated diphenyl ethers in human

- milk from the general population in Beijing, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 452-453:10-18.
- [14] SHI Z, ZHANG L, ZHAO Y, et al. A national survey of tetrabromobisphenol-A, hexabromocyclododecane and decabrominated diphenyl ether in human milk from China: Occurrence and exposure assessment [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 599-600:237-245.
- [15] ZHENG X, QIAO L, SUN R, et al. Alteration of diastereoisomeric and enantiomeric profiles of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in adult chicken tissues, eggs, and hatchling chickens [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(10): 5492-5499.
- [16] HO K L, YUEN K K, YAU M S, et al. Glucuronide and sulfate conjugates of tetrabromobisphenol A (TBBPA): Chemical synthesis and correlation between their urinary levels and plasma TBBPA content in voluntary human donors [J]. *Environment International*, 2017, 98: 46-53.
- [17] FUJII Y, KATO Y, MASUDA N, et al. Contamination trends and factors affecting the transfer of hexabromocyclododecane diastereomers, tetrabromobisphenol A, and 2,4,6-tribromophenol to breast milk in Japan [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 237:936-943.
- [18] INTHAVONG C, HOMMET F, BORDET F, et al. Simultaneous liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of brominated flame retardants (tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane diastereoisomers) in French breast milk [J]. *Chemosphere*, 2017, 186:762-769.
- [19] CARIOU R, ANTIGNAC J P, MARCHAND P, et al. New multiresidue analytical method dedicated to trace level measurement of brominated flame retardants in human biological matrices [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1100(2): 144-152.
- [20] KIM U J, OH J E. Tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane flame retardants in infant-mother paired serum samples, and their relationships with thyroid hormones and environmental factors [J]. *Environmental Pollution*, 2014, 184:193-200.
- [21] CHU S, LETCHER R J. Halogenated phenolic compound determination in plasma and serum by solid phase extraction, dansylation derivatization and liquid chromatography-positive electrospray ionization-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1320:111-117.
- [22] HARRAD S, ABDALLAH M A E. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, hexabromocyclododecanes and tetrabromobisphenol A in breast milk from united kingdom women do not decrease over twelve months of lactation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(23): 13899-13903.
- [23] CARIGNAN C C, ABDALLAH M A E, WU N, et al. Predictors of Tetrabromobisphenol-A (TBBP-A) and Hexabromocyclododecanes (HBCD) in Milk from Boston Mothers [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(21): 12146-12153.
- [24] ZHU N, LI A, WANG T, et al. Tris(2,3-dibromopropyl) Isocyanurate, Hexabromocyclododecanes, and Polybrominated Diphenyl Ethers in Mollusks from Chinese Bohai Sea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(13): 7174-7181.
- [25] XIA C, LAM J C W, WU X, et al. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in marine fishes along the Chinese coastline [J]. *Chemosphere*, 2011, 82(11): 1662-1668.
- [26] CARIOU R, ANTIGNAC J P, ZALKO D, et al. Exposure assessment of French women and their newborns to tetrabromobisphenol-A: Occurrence measurements in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum [J]. *Chemosphere*, 2008, 73(7): 1036-1041.
- [27] 施致峰, 封锦芳, 李敬光, 等. 超高效液相色谱-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 [J]. *色谱*, 2008, 26(1): 1-5.
- SHI Z X, FENG J F, LI J G, et al. Analysis of hexabromocyclododecane diastereoisomers in foods of animal origin using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry and isotope dilution [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2008, 26(1): 1-5 (in Chinese).
- [28] ZHANG Y, LU Y, WANG P, et al. Biomagnification of Hexabromocyclododecane (HBCD) in a coastal ecosystem near a large producer in China: Human exposure implication through food web transfer [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 624:1213-1220.
- [29] TEN DAM G, PARDO O, TRAAG W, et al. Simultaneous extraction and determination of HBCD isomers and TBBPA by ASE and LC-MSMS in fish [J]. *Journal of Chromatography B*, 2012, 898:101-110.
- [30] SON M H, KIM J, SHIN E S, et al. Diastereoisomer- and species-specific distribution of hexabromocyclododecane (HBCD) in fish and marine invertebrates [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 300:114-120.
- [31] SUN R, LUO X, ZHENG X, et al. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in fish: Evidence of recent HBCD input into the coastal environment [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 126:357-362.
- [32] HU X, HU D, SONG Q, et al. Determinations of hexabromocyclododecane (HBCD) isomers in channel catfish, crayfish, hen eggs and fish feeds from China by isotopic dilution LC-MS/MS [J]. *Chemosphere*, 2011, 82(5): 698-707.
- [33] JOHNSON-RESTREPO B, ADAMS D H, KANNAN K. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in tissues of humans, dolphins, and sharks from the United States [J]. *Chemosphere*, 2008, 70(11): 1935-1944.
- [34] LU D, JIN Y E, FENG C, et al. Multi-analyte method development for analysis of brominated flame retardants (BFRs) and PBDE metabolites in human serum [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(22): 5307-5317.
- [35] GUERRA P, COVACI A, ELJARRAT E, et al. Recent methodologies for brominated flame retardant determinations by means of liquid chromatography-mass spectrometry [M]. *Part of the Handbook of Environmental Chemistry Book Series (HEC, volume 16)*. 2010, 16:95-121. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-642-19269-2.pdf>
- [36] ABOU-ELWAF A M. Environmental occurrence, analysis and human exposure to the flame retardant tetrabromobisphenol-A (TBBPA)-A review [J]. *Environment International*, 2016, 94:235-250.

- [37] CUNHA S C, OLIVEIRA C, FERNANDES J O. Development of QuEChERS-based extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of bisphenol A and tetrabromobisphenol A in seafood: Fish, bivalves, and seaweeds [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(1): 151-160.
- [38] BERGER U, HERZKE D, SANDANGER T M. Two Trace analytical methods for determination of hydroxylated pcbs and other halogenated phenolic compounds in eggs from norwegian birds of prey [J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(2): 441-452.
- [39] MASCOLO G, LOCAPUTO V, MININNI G. New perspective on the determination of flame retardants in sewage sludge by using ultrahigh pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry with different ion sources [J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(27): 4601-4611.
- [40] BUDAKOWSKI W, TOMY G. Congener-specific analysis of hexabromocyclododecane by high-performance liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2003, 17(13): 1399-1404.
- [41] LEEUWEN S P J V, Boer J D. Brominated flame retardants in fish and shellfish-levels and contribution of fish consumption to dietary exposure of Dutch citizens to HBCD [J]. *Molecular Nutrition Food Research*, 2008, 52: 194-203.
- [42] ABDALLAH M A E, HARRAD S, COVACI A. Hexabromocyclododecanes and tetrabromobisphenol-A in indoor air and dust in Birmingham, UK: implications for human exposure [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(18): 6855-6861.
- [43] YIN Y M, CHEN Y P, WANG X F, et al. Dummy molecularly imprinted polymers on silica particles for selective solid-phase extraction of tetrabromobisphenol A from water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1220: 7-13.
- [44] ZACS D, RJABOVA J, BARTKEVICS V. New perspectives on diastereoselective determination of hexabromocyclododecane traces in fish by ultra high performance liquid chromatography-high resolution orbitrap mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1330: 30-39.
- [45] KOWALSKI B, MAZUR M. The simultaneous determination of six flame retardants in water samples using SPE pre-concentration and UHPLC-UV method [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2014, 225: 1866-1874. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-1866-4>
- [46] XIE Z, EBINGHAUS R, LOHMANN R, et al. Trace determination of the flame retardant tetrabromobisphenol A in the atmosphere by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 584(2): 333-342.
- [47] DIRTU A C, ROOSENS L, GEENS T, et al. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, 391(4): 1175-1181.