

# 海洋生物样品中多溴联苯醚和多溴联苯的分析研究

马 玉<sup>1,2</sup> 林竹光<sup>2</sup>

(1. 国家海洋局南海工程勘察中心 广东 广州 510300; 2. 厦门大学 化学化工学院化学系 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 将气相色谱-负离子化学源/质谱法(GC-NCI/MS)应用于分析海洋生物中五种多溴联苯醚(PBDEs)和五种多溴联苯(PBBs)残留。样品以正己烷/丙酮(1:1, v/v)作为提取剂,采用超声萃取法,提取液经酸性硅胶和中性硅胶层析柱净化和正己烷洗脱后,以PCB-403为内标物和GC-NCI/MS的选择离子监测方式(SIM)进行定性与定量分析。平均加标回收率为82.7%~101.0%,相对标准偏差小于5.6%,方法检测限都小于 $0.20 \times 10^{-9}$ ,PBDEs的线性范围是 $(0.1 \sim 500) \times 10^{-9}$ ,PBBs的线性范围是 $(0.35 \sim 350) \times 10^{-9}$ ,相关系数都大于0.9999。所分析生物样品中PBDE-47是最主要检出目标物。

**关键词:** 气相色谱-负离子化学源/质谱法; 鱼类; 贝类; 多溴联苯醚; 多溴联苯

中图分类号: Q331 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2011)05-0715-04

## Analysis of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybromodiphenyls (PBBs) in halobios in marine organisms

MA Yu<sup>1,2</sup>, LIN Zhu-guang<sup>1</sup>

(1. South China Sea Marine Engineering Surveying Center SOA, Guangzhou 510300, China; 2. Department of Chemistry and The Key Laboratory of Analytical Sciences of the Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** A rapid method based on ultrasonic extraction was developed for the determination of five polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and five polybromodiphenyls (PBBs) in fish and mussel. Hexane/acetone (1/1) was used as the extraction solvent, and hexane was elution solvent after the extraction was cleaned by the cartridge filled with silica gel and acidic silica gel, the analysis of samples was accomplished using gas chromatography with negative chemical ionization mass spectrometric detection (GC-NCI/MS) in the selected ion monitoring mode (SIM) and with PCB-403 as internal standard (IS). The average recoveries of the spiked standard samples ranged from 82.7% to 101.0% with a relative standard deviation that was less than 5.6%, and the detection limit of the method was lower than  $0.20 \times 10^{-9}$  for all PBDEs and PBBs, the range of linearity was from  $0.1 \times 10^{-9}$  to  $500 \times 10^{-9}$  for PBDEs and  $0.35 \times 10^{-9}$  to  $350 \times 10^{-9}$  for PBBs, with determination coefficients > 0.9999. PBDE-47 was the main in all studied samples.

**Key words:** gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry; fish; shellfish; polybrominated diphenyl ethers; polybrominated biphenyls

多溴联苯醚 (polybrominated diphenyl ethers, PBDEs) 和多溴联苯 (polybrominated biphenyls, PBBs) 都有 209 种同系物且相对比较稳定,是添加型阻燃剂,由于其阻燃效率高、热稳定性好、添加量少、对材料性能影响小和价格便宜等因素,因而被广泛应用于工业各领域。PBDEs 和 PBBs 在环境中不易降解,具有污染持久性,不溶于水,溶于脂肪的特性,一旦进入食物链,容易造成生物富集,有极少量的同系物还可能被生物体吸收,而且生物化学反

应难以使 PBDEs 和 PBBs 降解,构成了对环境和人类健康的危害。

固态样品中 PBDEs 和 PBBs 的前处理方式较多,已有文献报道的主要前处理方式包括固相萃取法<sup>[1]</sup>、索氏提取法<sup>[2,3]</sup>、超声辅助提取法<sup>[4-6]</sup>、基质固相分散萃取法<sup>[7]</sup>和微波辅助萃取法<sup>[8]</sup>。PBDEs 和 PBBs 的主要分析方法是气相色谱-电子轰击离子源/高分辨质谱法 (GC-EI/HRMS)<sup>[9]</sup> 和气相色谱-负离子化学源/低分辨质谱 (GC-

收稿日期:2010-05-31,修订日期:2010-07-31

作者简介:马玉(1982-),男,安徽省亳州市人,工程师,主要从事海洋环境研究,E-mail: manly3876@yahoo.com.cn

NCI/LRMS)<sup>[10,11]</sup>两种,GC-ECD较少文献报道,只有1997年Kari Hartonen<sup>[12]</sup>和2005年A. Martinez<sup>[13]</sup>采用ECD检测方式。

本实验采用超声辅助提取法提取目标物,气相色谱-负离子化学源/质谱法分析海洋生物中鱼类和贝类样品中多种PBDEs和PBBs残留,建立了简便前处理方法和仪器分析方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

GC/MS-QP2010气-质联用仪和AOC-20i自动进样器(日本岛津公司);KQ3200E超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司);AB104-N电子分析天平(厦门精艺兴业科技有限公司)。

农残级的正己烷和丙酮(美国Tedia公司);无水硫酸钠(AR)(中国医药集团上海化学试剂分公司);硅胶(100~200目)(中国医药集团上海化学试剂分公司)。

标准物质:PBDE-47, PBDE-99, PBDE-100, PBDE-153, PBDE-154; PBB-49, PBB-52, PBB-80, PBB-153, PBB-155; PCB-103内标物(IS)(Accu Standar Inc.美国)。

### 1.2 实验步骤

#### 1.2.1 生物样品的前处理

本实验的生物样品(除鳕鱼外)购买于厦门市厦港渔码头及附近市场,鳕鱼购于沃尔玛超市。

1.2.1.1 粉碎 牡蛎(*Crassostrea plicatula*)、文蛤(*Meretrix meretrix*)、花蛤(*Ruditapes philippinarum*)、海蛎(*Sinonovacula constricta*)去壳;秋刀鱼(*Cololabis saira Brevoort*)、黄花鱼(*Pseudosciaena polyactis*)、鳕鱼(*Gadus macrocephalus tilesius*)剃除鱼皮;带鱼(*Trichiurus lepturus*)、鱿鱼(*Loligo chinensis*)直接取其肉;用搅拌机搅碎,再用匀质机匀浆。

1.2.1.2 提取 准确称取两份10.0 g样品于50.0 mL锥形瓶中,用15.0、15.0和10.0 mL正己烷/丙酮(1:1 v/v)超声提取三次,每次提取时间为10.0 min,合并三次提取液,加入适量无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>除水,N<sub>2</sub>吹浓缩近干后,用2.0 mL左右的正己烷溶解残留物,供层析柱净化。

1.2.1.3 净化 在20.0 cm(长)×0.8 cm(内径)的玻璃层析柱内从下到上依次填入适量的脱脂棉、2.0 cm高的无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、1.0 g中性硅胶、2.0 g酸性硅胶和2.0 cm高的无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,轻微振动使层析柱填实。先用10.0 mL正己烷淋洗层析柱,弃去淋洗液,再将浓缩后的提取液转至玻璃层析柱头,依次用15.0、10.0和10.0 mL正己烷洗脱三次,洗脱液N<sub>2</sub>吹浓缩近干后,用正己烷溶解残留物于测试瓶中,加入1.00 mL 5.00×10<sup>-9</sup> PCB-103 IS标准溶液,N<sub>2</sub>吹定容至0.50 mL,供仪器分析。

#### 1.2.2 GC-NCI/MS分析条件

DB-5 MS低流失毛细管柱(30 m×0.25 mm i. d., 0.25 μm);高纯He(纯度:99.999%以上)恒线速度:36.8 cm/s;不分流进样,进样体积:2.00 μL;进样口温度:

270℃。色谱层析室升温程序:100℃(保持1 min),以15℃/min升至236℃(保持2 min),然后以0.5℃/min升至240℃,再以25℃/min升至280℃(保持9 min),最后以25℃/min升至290℃(保持10 min)。

甲烷反应气(纯度:99.95%以上)输出压力:0.25 MPa;电子能量:70 eV;检测器电压:1.00 kV;离子源温度:200℃;接口温度:270℃;溶剂切除时间:9.5 min;质谱质量扫描范围:m/z 35-750,选择离子:m/z 79和81。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理条件的优化与选择

#### 2.1.1 提取剂的优化与选择

环境样品中PBDEs和PBBs残留分析主要采用的提取剂是正己烷与丙酮的混合溶剂<sup>[14]</sup>,也有文献报道采用正己烷和二氯甲烷的混合溶剂,本文实验着重比较了正己烷/丙酮(3:1 v/v)和正己烷/丙酮(1:1 v/v)的提取效率。

实验为以带鱼样品为空白基体,洗脱剂均为35.0 mL正己烷,分别考察了用25.0、30.0、35.0、40.0和45.0 mL正己烷/丙酮(3:1 v/v)与正己烷/丙酮(1:1 v/v)作为提取剂时,对五种PBDEs和五种PBBs的提取效率。结果表明,正己烷/丙酮(3:1 v/v)体积为35.0 mL时,提取效率最高,介于72.0%~81.0%;正己烷/丙酮(1:1 v/v)体积为40.0 mL时,提取效率最高,介于84.0%~89.0%,且效果稳定。所以本文实验选择40.0 mL正己烷/丙酮(1:1 v/v)作为提取剂。

#### 2.1.2 洗脱剂的优化与选择

本实验比较了正己烷/丙酮(3:1 v/v)、正己烷/丙酮(4:1 v/v)和正己烷作为洗脱剂的效果。当洗脱剂中含有丙酮时,洗脱液呈现浓黄色,二次层析柱净化后,加标回收率偏低。以正己烷作为洗脱剂,洗脱液无色,且洗脱速度相对较快,当正己烷的体积是35.0 mL时,加标回收率最大。

#### 2.1.3 吸附剂的优化与选择

鱼类和贝类样品的提取液中含有较多的脂肪,酸性硅胶常被用于去除脂肪<sup>[15,16]</sup>,本文实验采用酸性硅胶和中性硅胶作为混合吸附剂,酸性硅胶的制备过程参考美国环保署制定的“高分辨气相色谱-质谱法分析水体、土壤、沉积物和生物体及组织中多溴联苯醚<sup>[17]</sup>”中的配制方法。

样品经以上步骤处理后,其GC-NCI/MS SIM色谱图如图1所示。鱼类和贝类样品的GC-NCI/MS SIM色谱图受到样品基体的干扰都较小,基线平稳,而且噪音信号值小。

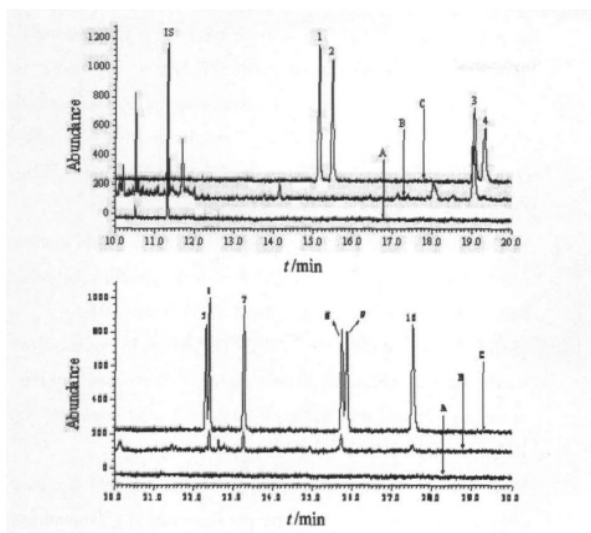


图 1 GC-NCI/MS SIM 色谱

A: 文蛤样品; B: 黄花鱼样品; C: 含量为  $5.00 \times 10^{-9}$  的五种 PBDEs 及 PCB-103 (IS) 和  $3.50 \times 10^{-9}$  的五种 PBBs。

Fig. 1 GC-NCI/MS SIM chromatogram of extract of Hard clam (A), chromatogram of extract of yellow croaker (B), chromatogram of five PBDEs and PCB-103 (IS) at  $5.00 \times 10^{-9}$  and five PBBs at  $3.50 \times 10^{-9}$  (C).

2.2 线性方程、相关系数与方法检测限

分别取  $2.00 \mu\text{L}$  五种不同含量(五种 PBDEs 相当于被分析样品含  $1.00, 5.00, 50.0, 100.0$  和  $500.0 \times 10^{-9}$  浓度水平, 五种 PBBs 相当于被分析样品含  $0.35 \times 10^{-9}, 7.00 \times 10^{-9}, 35.0 \times 10^{-9}, 70.0 \times 10^{-9}$  和  $350.0 \times 10^{-9}$  浓度水平)的 PBDEs 和 PBBs 混合标准溶液进样, 采集 GC-NCI/MS SIM 谱图, 以图中各目标物与内标物峰面积的比值 ( $y$ ) 和各目标物与内标物浓度的比值 ( $x$ ) 作线性回归分析, 得到的线性方程、相关系数和方法检测限 (MDL) 见表 1。

2.3 加标回收率及相对标准偏差

鱼类和贝类样品的基体不同, 在相同的前处理条件下, 本文实验分别求其两类基体的加标回收率。

称取  $10.0 \text{ g}$  带鱼和文蛤样品分别添加相当于样品中含  $5.00 \times 10^{-9}$  和  $50.0 \times 10^{-9}$  浓度水平的五种 PBDEs 与

$3.50 \times 10^{-9}$  和  $35.0 \times 10^{-9}$  浓度水平的五种 PBBs 混合标准溶液, 然后按照“实验部分”后续步骤平行测定 5 个样品。

五种 PBDEs 和五种 PBBs 在带鱼样品中的平均加标回收率均在  $87.1\% \sim 101.0\%$ ,  $\text{RSD} \leq 5.6\%$ ; 在文蛤样品中的平均加标回收率均在  $82.7\% \sim 98.5\%$ ,  $\text{RSD} \leq 5.6\%$ 。

说明在鱼类和贝类基体中, 五种 PBDEs 和五种 PBBs 的平均加标回收率仅略有差别, 但加标回收率的精密性都较好, 符合环境样品中微量或痕量残留物分析的要求。

表 1 五种 PBDEs 和五种 PBBs GC-NCI/MS SIM 分析的线性方程、相关系数和方法检测限 (MDL)

Tab. 1 Linear equation, correlation coefficient and method detection limit of five PBDEs and five PBBs by GC-NCI/MS SIM

目标物	线性方程	r	MDL / $10^{-9}$
PBDE-47	$y = 2.0945x - 1.0651$	0.99996	0.18
PBDE-99	$y = 2.4245x - 1.2308$	0.99995	0.10
PBDE-100	$y = 2.3577x - 1.1935$	0.99996	0.09
PBDE-153	$y = 2.9920x - 1.0905$	0.99997	0.12
PBDE-154	$y = 2.7312x - 1.6264$	0.99991	0.10
PBB-49	$y = 2.6536x + 0.1215$	0.99994	0.10
PBB-52	$y = 2.9379x - 0.2967$	0.99997	0.09
PBB-80	$y = 1.9487x - 0.4617$	0.99997	0.20
PBB-153	$y = 2.4039x - 0.1973$	0.99998	0.10
PBB-155	$y = 3.0921x - 0.3923$	0.99999	0.08

3 样品分析结果

表 2 是鱼类和贝类样品的分析结果。从表 2 中可以看出, 黄花鱼和秋刀鱼样品中 PBDEs 的残留量最大, 主要由于其鱼肉样品中含有较多的脂肪, 而 PBDEs 是憎水亲脂性化合物, 易于生物富集性强<sup>[18]</sup>。黄花鱼样品中五种 PBDEs 的总残留量达到  $0.457 \times 10^{-9}$ , 但日本内海鱼样品中的浓度范围为  $1.77 \times 10^{-9} \sim 44.1 \times 10^{-9}$ <sup>[19]</sup>, 贝类样品中 PBDEs 的残留量较小。

在本文实验所分析样品中五种 PBBs 残留量均小于 MDL, 主要原因可能是 PBBs 在全球较早地被限制使用, 而我国工业化起步晚, PBBs 作为阻燃剂的使用会更少。

表 2 样品中五种 PBDEs 和五种 PBBs 的分析结果

Tab. 2 Analytical results of five PBDEs and five PBBs

目标物	样品分析结果 / $10^{-9}$							
	黄花鱼	秋刀鱼	鳕鱼	带鱼	牡蛎	文蛤	花蛤	海蛭
PBB-49	-	-	-	-	-	-	-	-
PBB-52	-	-	-	-	-	-	-	-
PBDE-47	0.263	0.057	0.066	-	0.060	-	0.014	0.019
PBB-80	-	-	-	-	-	-	-	-
PBB-155	-	-	-	-	-	-	-	-
PBDE-100	0.065	0.023	-	-	-	-	-	-
PBDE-99	0.063	0.025	0.039	-	0.013	-	-	0.012
PBDE-154	0.066	0.025	-	-	-	-	-	-
PBB-153	-	-	-	-	-	-	-	-
PBDE-153	-	-	-	-	-	-	-	-

-: 低于方法检测限。

从表2还可以看出,凡是有检测到PBDEs残留的样品中都有PBDE-47残留, PBDEs同系物中PBDE-47和PBDE-99最易于生物积累<sup>[20, 21]</sup>,尤其是PBDE-47还可以作为海洋鱼类PBDEs污染程度的标志物<sup>[22]</sup>。

#### 4 结论

采用超声辅助提取法提取目标物,用酸性和中性硅胶作为层析柱吸附剂净化样品提取液,并考察了不同提取剂、洗脱剂及不同的样品基体对目标物加标回收率的影响,初步建立了GC-NCI/MS同时分析鱼类和贝类样品中多种PBDEs和PBBs残留的简便前处理方法和仪器分析方法。所分析海洋生物样品中PBDE-47是最主要检出目标物,五种PBBs残留量均小于MDL。

#### 参考文献:

- [1] ZHENG G J, MARTIN M, RICHARDSON B J. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Pearl River Delta sediments [J]. *Baseline/Marine pollution bulletin* 2004, 49: 514-524.
- [2] ELJARRAT E, BARCELO D. Sample handling and analysis of brominated flame retardants in soil and sludge samples [J]. *Trends in Analytical chemistry* 2004, 23: 727-736.
- [3] ERDOGRUL O, COVACI A, SCHEPENS P. Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey [J]. *Environment International* 2005, 31: 703-711.
- [4] SUNDAHL M, SIKANDER E, EK-OLAUSON B. Determinations of PCB within a project to develop cleanup methods for PCB-containing elastic sealant used in outdoor joints between concrete blocks in buildings [J]. *J Environ Monit* 1999, 1: 383-387.
- [5] BJORKLUND J, TOLLBACK P, HIAME C. Influence of the injection technique and the column system on gas chromatographic determination of polybrominated diphenyl ethers [J]. *J Chromatogr A* 2004, 1041: 201-210.
- [6] SANCHEZ-BRUNETE C, MIGUEL E, TADEO J L. Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil by ultrasonic assisted extraction and gas chromatography mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2006, 70: 1051-1056.
- [7] CRIADO M R, FEMANDEZ D H, PEREIRO I R. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of polychlorinated biphenyls in fat by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection [J]. *J Chromatogr A* 2004, 1056: 187-194.
- [8] BAYEN S, LEE H K, OBBARB J P. Determination of polybrominated diphenyl ethers in marine biological tissues using microwave-assisted extraction [J]. *J Chromatogr A* 2004, 1035: 291-294.
- [9] ALAEE M. Recommendations for monitoring of polybrominated diphenyl ethers in the Canadian environment [J]. *Environmental Monitoring and Assessment* 2003, 88: 327-341.
- [10] MAI B X, CHEN S J, LUO X J. Distribution of polybrominated diphenyl ethers in sediment of the Pearl River Delta and adjacent South China Sea [J]. *Environ Sci Technol* 2005, 39: 3521-3527.
- [11] VOORSPOEL S, COVACI A, MAERVOET J. PBDEs in marine and freshwater sediments from Belgium: levels, profiles and relations with biota [J]. *J Environ Monit* 2004, 6: 914-918.
- [12] HARTONEN K, BOWADT S, HAWTHOME S B. Supercritical fluid extraction with solid-phase trapping of chlorinated and brominated pollutants from sediment samples [J]. *J Chromatogr A*, 1997, 774: 229-242.
- [13] MARTINEZ A, RAMIL M, MONTEES R. Development of matrix solid-phase dispersion method for the screening of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in biota samples using gas chromatography with electron-capture detection [J]. *J Chromatogr A* 2005, 1072: 83-91.
- [14] COVACI A, VOORSPOEL S, DE BOER J. Determination of brominated flame retardants, with emphasis on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental and human samples-A review [J]. *Environment International* 2003, 29: 735-756.
- [15] OHTA S, ISHIZUKA D, NISHIMURA H. Comparison of polybrominated diphenyl ethers in fish, vegetables, and meats and levels in human milk of nursing women in Japan [J]. *Chemosphere* 2002, 46: 689-696.
- [16] CARRO A M, LORENZO R A, FEMANDEZ F. Multi-residue screening of chlorinated and brominated compounds from aquaculture samples using matrix solid-phase dispersion-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A* 2005, 1071: 93-98.
- [17] Brominated diphenyl ether congeners in water, soil, sediment, biosolids and tissue by HRGC/HRMS [S]. EPA Method 1614, August 2003 draft.
- [18] OM U, KLASSON-WEHLER E. Metabolism of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether in rat and mouse [J]. *Xenobiotica*, 1998, 28: 199-211.
- [19] AKUTSU K, OBANA H, OKIHASHI M, et al. GC/MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish collected from the inland sea of seta, Japan [J]. *Chemosphere* 2001, 44: 1325-1333.
- [20] VETTER W. A GC/ECNI-MS method for the identification of lipophilic anthropogenic and natural brominated compounds in marine samples [J]. *Anal chem* 2001, 73: 4951-4957.
- [21] DE BOER J, COFINO W P. First world-wide interlaboratory study on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) [J]. *Chemosphere* 2002, 46: 625-633.
- [22] COVACI A, BERVOETS L, HOFF P. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in freshwater mussels and fish from Flanders, Belgium [J]. *J Environ Monit* 2005, 7: 132-136.