

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2014.10.011

超高效液相色谱-串联质谱法测定污水中 14 种有机磷酸酯阻燃剂*

梁 锐 牛宇敏 刘景富**

(中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085)

摘 要 建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)联用法同时测定污水中 14 种有机磷酸酯阻燃剂(OPEs)的分析方法.样品采集后,经 GF/C 膜过滤,HLB 固相萃取小柱净化后进样分析.以 BEH C18 色谱柱为分离柱,乙腈和水混合液为流动相(0.2 mL min^{-1})梯度洗脱,15 min 内可完成 14 种 OPEs 的分离.在电喷雾正离子模式下,采用多反应监测模式(MRM)进行质谱测定.在加标浓度为 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,14 种 OPEs 在污水处理厂进水和出水中的回收率分别为 52.1%—119%、43.6%—114%,相对标准偏差(RSD)分别为 1.2%—16.2%、0.4%—9.2%,方法的检出限(LOD)在 $0.3\text{—}6.0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 间.方法精密度好,准确度高,可满足同时对污水样品中的 14 种 OPEs 进行定性及定量分析的要求.

关键词 有机磷酸酯, 阻燃剂, 超高效液相色谱-串联质谱, 污水.

Determination of 14 organophosphate ester flame retardants in wastewater by UPLC-MS/MS

LIANG Kang NIU Yumin LIU Jingfu**

(State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences,
Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085, China)

Abstract: An ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed for the simultaneous determination of 14 organophosphate esters (OPEs) in waste water. The collected water samples were filtered with GF/C membrane and purified by solid phase extraction (SPE) using HLB cartridges. The eluent was collected and concentrated to nearly drieness under a gentle stream of nitrogen gas, and then re-dissolved with 1 mL initial mobile phase (40% (V/V) acetonitrile in water) and analyzed by UPLC-MS/MS under positive electrospray ionization and multiple reaction monitoring (MRM). Separation of analytes was finished in 15 min by using a BEH C18 column, and gradient elution with a mixture of acetonitrile and water as mobile phases ($0.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). The recoveries of all the compounds from the influent water and effluent water of a wastewater treatment plant, at the spiked concentration levels of $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, were respectively in the range of 52.1%—119% and 43.6%—114%, with the corresponding relative standard deviations (RSD) of 1.2%—16.2% and 0.4%—9.2%. The method detection limits ranged from 0.3 to $6.0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. The method could be applied in the analysis of 14 OPEs in waste water samples with good precisions and accuracies.

Keywords: organophosphate ester, flame retardants, UPLC-MS/MS, waste water.

2014 年 5 月 25 日收稿.

* 国家高技术研究发展计划(863)课题(2013AA065201)、国家自然科学基金项目(21025729)和中国科学院战略性先导科技专项(XDB14020101)资助.

** 通讯联系人, Tel: 010-62849192; E-mail: jliu@rcees.ac.cn

作为一类最常用的有机磷阻燃剂 (organophosphorus flame retardants, OPFR), 有机磷酸酯 (organophosphate esters, OPEs) 在塑料、电子设备、家具、纺织品、建筑和运输等领域中被广泛地用作阻燃剂和增塑剂^[1-3]. 近年来, 随着多溴联苯醚类物质被 RoHS 2011 限制使用^[4] 及五溴和八溴联苯醚被欧盟禁用^[5], 作为其主要替代物的 OPEs 的产量和销量都得到提高.

随着 OPEs 的普遍应用, 它们会通过挥发和淋洗等途径扩散而进入各种环境介质^[5]. 目前, OPEs 在地表水^[6-7]、地下水^[8]、污水^[9-10]、大气颗粒物^[11-12]、室内灰尘^[1, 13] 以及土壤^[14] 中均有检出. 由于其在各种环境介质中普遍检出, 并且对人体健康有潜在的威胁^[11, 13, 15], OPEs 成为近年的研究热点. 在各种环境介质中, 污水是 OPEs 进入地表水和地下水, 进而进入空气、土壤等环境介质的重要途径^[16]. 因此, 建立污水中多种 OPEs 的可靠分析方法对污染源监测、污染治理、污染物迁移转化研究具有重要的现实意义.

目前, 污水中 OPEs 的检测方法主要有气相色谱-氮磷检测器法 (GC-NPD)、气相色谱-质谱法 (GC-MS) 和液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS), 其中 GC-NPD 由于稳定性差, 需要定期更换部件, 并不适用于大量环境样品检测工作; 同时分析多种 OPEs 时, GC-MS 存在分析时间长和基线干扰 (m/z 99) 等缺点^[3, 17]. LC-MS/MS 相较于 GC 具有对目标物分离度要求降低、可同时获得分子离子和碎片离子的信息, 有效抑制了分析过程中基质对目标物信号的干扰的特点. 由于 OPEs 种类多和极性差异大, 传统的 LC-MS/MS 对 OPEs 的分离效率不高, 且有机溶剂的消耗也较大.

本研究建立了一种基于超高效液相色谱串联质谱技术 (UPLC-MS/MS) 的污水中 14 种 OPEs 的分析方法, 该方法具有选择性强、灵敏度较高、重复性好等优点, 可满足污水中 OPEs 检测的要求.

1 实验部分

1.1 实验仪器与试剂

超高效液相系统 (ACQUITY UPLC, 美国 Waters 公司); 三重四极杆质谱仪 (TSQ Quantum Access, 美国 Thermo 公司), 配有电喷雾离子源 (ESI); 过滤装置 (1000 mL, 天津津腾实验设备有限公司).

14 种目标 OPEs (表 1) 中, 除了 TiBP 购自上海阿达玛试剂 (纯度大于 98%), 其他 OPEs 标品均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司 (纯度均大于 98%); 全氘代同位素内标物 TMP-d9、TEP-d15 和 TPhP-d15 购自加拿大 C/D/N Isotopes 公司 (纯度均大于 98%), TPrP-d21 和 TnBP-d27 购自英国 Cambridge Isotope Laboratories 公司 (纯度均大于 98%). 乙腈 (LC-MS 级) 购自美国 Fisher 公司, 甲酸 (LC-MS 级) 购自美国 Sigma 公司. 实验用水均为美国 Milipore 公司 Mili-Q Gradient 系统制备的电阻为 $18.3 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ($25\text{ }^\circ\text{C}$) 的超纯水.

OPEs 单标储备液 ($1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 用乙腈配制, 14 种 OPEs 的混标储备液 ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 用水/乙腈 (60/40) 稀释单标储备液配制. 所有储备液均在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 的暗环境中密封保存.

1.2 实验方法

1.2.1 UPLC-MS/MS 测定条件

UPLC 条件: Waters BEH C18 色谱柱 ($2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$, $1.7 \mu\text{m}$), 柱温 $45\text{ }^\circ\text{C}$. 流动相为水 (A) 和乙腈 (B) 混合液, 流速 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 其梯度: 0 min , 40% B; 0.5 min , 40% B; 3 min , 50% B; 4.5 min , 55% B; 8.5 min , 70% B; 9 min , 100% B; 13.8 min , 100% B; 13.9 min , 40% B; 15.5 min , 40% B. 进样体积 $10 \mu\text{L}$.

MS 条件: 采用电喷雾离子源 (ESI), 分析物在正离子扫描下以多反应监测 (MRM) 模式分析, 对碰撞能量等参数进行优化 (表 1). 优化质谱条件后, 峰宽分辨率 0.7 m/z , 喷雾电压 4500 V , 毛细管温度 $300\text{ }^\circ\text{C}$, 碰撞气压 1.5 mTorr .

1.2.2 样品的采集与处理

污水样品采自北京某污水处理厂, 样品保存在棕色瓶中, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 24 h 内完成分析.

在水样处理前, 向 100 mL 样品中加入 $10 \mu\text{L}$ 同位素内标混合标准溶液 ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). 将水样经 GF/C 膜 (英国 Whatman 公司, 玻璃纤维, $1.2 \mu\text{m}$) 过滤后, 以 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速过 HLB 小柱 (美国 Waters 公司, 6 mL , 200 mg) 进行净化. HLB 柱预先用 6 mL 乙腈和 6 mL 水进行活化平衡, 富集完成后, 用 6 mL 超纯水淋洗, 然后在负压下抽干, 最后用 6 mL 乙腈洗脱, 洗脱液在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 下氮气浓缩近干, 用初始流动相定

容至 1.0 mL 后待测.

表 1 目标 OPEs 的 UPLC-ESI⁺-MS/MS 分析参数

Table 1 UPLC-ESI⁺-MS/MS detection parameters for the target OPE compounds

编号	化合物名称	缩写	t_R / min	离子转化	碰撞能量/ eV	转化率 ^b / %
1	磷酸三甲基酯	TMP	1.49	141.0→79.3 141.0→109.1 ^a	23 17	18.05
2	磷酸三乙基酯	TEP	2.24	183.0→81.3 183.0→99.2 ^a	24 18	30.65
3	磷酸三(2-氯)乙酯	TCEP	3.33	284.9→99.2 ^a 286.9→99.2	30 29	90.02
4	磷酸三丙基酯	TPrP	4.91	225.1→99.2 ^a 225.1→141.1	18 10	46.08
5	磷酸三(2-氯)丙酯	TCPP	5.55	326.9→99.1 ^a 328.9→99.1	30 29	98.70
6	磷酸三(1,3-二氯异丙基)酯	TDCP	7.89	430.9→99.2 ^a 432.9→99.1	28 29	82.70
7	磷酸三苯基酯	TPhP	8.43	327.0→152.1 ^a 327.0→214.9	33 25	86.76
8	磷酸三异丁基酯	TiBP	8.57	267.1→99.1 ^a 267.1→155.0	18 6	11.28
9	磷酸三正丁基酯	TnBP	8.75	267.1→99.2 ^a 267.1→155.1	18 10	45.65
10	磷酸甲苯二甲苯酯	CDPP	9.49	341.0→152.1 341.0→229.0 ^a	33 27	97.84
11	磷酸三丁氧基乙酯	TBEP	9.83	399.1→199.0 ^a 399.1→299.0	15 12	66.92
12	磷酸三甲苯酯	TCrP	10.74	369.1→165.1 ^a 369.1→243.0	43 27	56.94
13	磷酸二(2-乙基)己基二苯酯	EHDPP	11.04	363.1→243.0 ^a 363.1→152.1	39 12	13.48
14	磷酸三(2-乙基)己基酯	TEHP	13.80	435.2→99.1 ^a 435.2→113.2	30 12	23.13

注: a 表示定量离子; b 表示定性离子与定量离子的比例.

2 结果与讨论

2.1 UPLC-MS/MS 条件优化

实验室已建立的 12 种 OPEs 分析方法^[6]中使用的 5 cm BEH C18 色谱柱不能有效分离目标化合物中的同分异构体 TiBP 和 TnBP,因此,在对流动相梯度、色谱柱柱温、进样体积等条件优化后仍然无效的情况下,本研究改用 10 cm 的 BEH C18 色谱柱,并对流动相梯度等条件进行优化,最终实现了 TiBP 和 TnBP 的分离,15 min 内可完成 14 种 OPEs 的分离.标准色谱图见图 1.

2.2 样品前处理条件的优化

滤膜的选择:空白实验中发现水样过滤常用的尼龙膜、混纤膜和 GF/C 玻璃纤维膜均会带来不同程度的背景污染;空白加标实验发现尼龙膜和混纤膜对疏水性较强的 OPEs 有较强的吸附,而 GF/C 膜对 OPEs 的吸附不明显.同时,GF/C 膜的空白可以通过乙腈和超纯水清洗被去除,因此,本研究最终选用 GF/C 膜过滤污水样品.

固相萃取柱的选择:之前建立的河水样品前处理中使用 3 mL 60 mg 的 HLB 小柱^[6],由于污水样品基质更加复杂,固相萃取中 SPE 小柱更容易堵塞,因此,本研究改用体积和吸附容量更大的 6 mL 200 mg HLB 小柱.

2.3 方法的线性关系和线性范围

用初始流动相(40%乙腈水溶液)分别配制 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系

列标准溶液,在优化后的色谱和质谱条件下进行测定,以内标法定量,分析方法的仪器线性范围及相关系数等参数见表 2.结果表明,该方法在较宽范围内具有良好的线性.

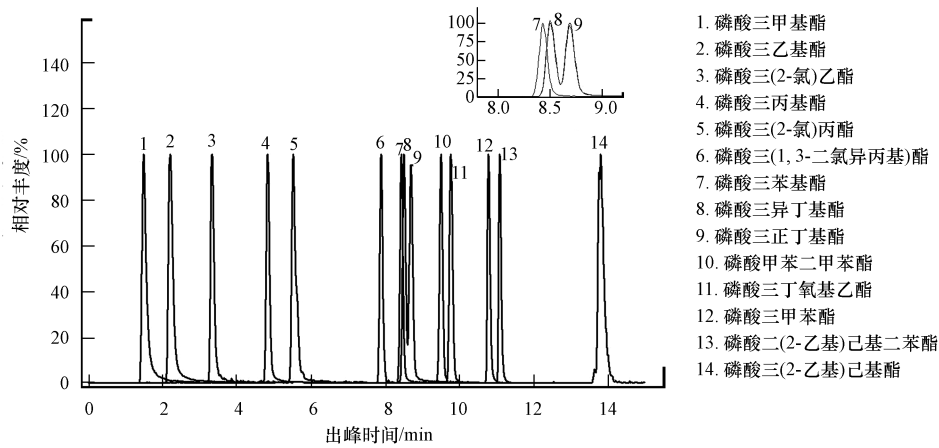


图 1 14 种 OPEs 标准溶液的 UPLC-ESI⁺-MS/MS 色谱图(100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Fig.1 UPLC-ESI⁺-MS/MS chromatogram of a standard solution of the 14 OPEs(100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.4 方法的加标回收率、精密度和定量限

对污水样品中的进水和出水进行加标回收实验,加标水平分别为 100、1000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,平行测定 5 份,分析结果见表 2.结果表明,本文所采用的前处理方法对 14 种 OPEs 的测定具有良好的精密度和准确度.加标水平为 1000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,进水和出水中 14 种 OPEs 的加标回收率分别为 52.1%—119%、43.6%—114%,方法的相对标准偏差(RSD)分别为 1.2%—16.2%、0.4%—9.2%,方法检出限(LOD, S/N=3)为 0.3—6.0 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.其中 TCrP、EHDPP 和 TEHP 的回收率相对较低,主要原因可能是因为这 3 种化合物的疏水性较强,在前处理中容易吸附在瓶壁或管壁,也可能是由于污水基质复杂,这 3 种物质会随基质部分保留在 SPE 小柱上,难以洗脱.

表 2 方法的线性范围、相关系数(R^2)及加标回收率(R)

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients (R^2) and spiked recoveries of 14 OPEs (R)

化合物	仪器线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	R^2	本底浓度 ^a / ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)		100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$				1000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$				方法检出限 ^c / ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	
			进水	出水	$R_{\text{进}}/\%$	RSD/%	$R_{\text{出}}/\%$	RSD/%	$R_{\text{进}}/\%$	RSD/%	$R_{\text{出}}/\%$	RSD/%	LOD	LOQ
TMP	0.1—500	0.9994	58.5	141	83.6	0.3	81.8	13.8	119	3.1	114	3.1	3.42	11.4
TEP	0.1—500	0.9990	44.2	66.0	104	6.9	128	5.7	107	3.2	104	1.8	0.30	1.00
TCEP	2—500	0.9982	408	231	— ^d	—	108	3.5	120	14.5	94.5	4.7	6.00	20.0
TPrP	1—500	0.9981	nd ^b	nd	95.5	0.2	99.1	1.3	91.7	5.7	94.5	3.6	3.00	10.0
TCPP	0.5—500	0.9984	431	401	—	—	—	—	104	6.5	104	3.8	1.50	5.00
TDCP	0.5—500	0.9982	nq ^c	nq	98.1	8.3	106	15.0	100	1.2	89.4	1.2	1.50	5.00
TiBP	0.1—200	0.9994	35.2	5.18	102	0.1	83.8	4.9	101	7.5	96.7	2.0	0.30	1.00
TPhP	0.1—500	0.9987	5.51	5.92	94.9	14.8	86.8	0.2	87.1	6.8	104	9.2	0.33	1.10
TnBP	0.1—200	0.9997	83.1	nd	101	4.9	90.4	1.6	111	9.8	107	2.2	0.30	1.00
CDPP	0.1—500	0.9986	1.00	nd	101	2.0	77.8	5.5	110	5.3	86.5	3.0	0.30	1.00
TBEP	0.1—500	0.9972	254	36.5	134	0.0	91.8	4.2	111	6.8	94.3	0.4	0.30	1.00
TCrP	0.1—200	0.9993	3.01	5.60	62.8	4.8	38.7	1.3	61.0	16.2	59.3	8.3	0.30	1.00
EHDPP	0.1—200	0.9977	3.62	4.89	52.1	10.9	33.9	6.1	52.1	10.9	43.6	7.3	0.30	1.00
TEHP	1—200	0.9999	7.98	6.65	46.7	5.2	34.7	6.4	70.3	2.6	79.9	6.0	3.00	10.0
Σ OPEs			1335	904										

注:a)用于加标回收的进水和出水中 OPEs 的本底浓度;b)未检测到;c)检出但未能定量;d)所对应的加标浓度低于相应的样品本底浓度,未得到有效数据;e)方法检出限,LOD;S/N=3;方法定量限,LOQ;S/N=10.

2.5 实际样品测定

在优化的实验条件下,对北京某污水厂采集的进水和出水样品进行检测,结果见表 2 所示的本底浓度.表 2 所示的结果表明,除了 TPrP 在进水和出水中都低于检出限,其他物质均在进水或出水中检出;OPEs 在污水厂进水中的总浓度为 $1335 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$,其中 TCEP、TCPP 和 TBEP 的浓度相对较高,在进水中的浓度分别达到 408 、 $431 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $254 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

3 结论

本文采用超高效液相色谱与串联质谱联用技术,建立了污水中 14 种 OPEs 的分析方法.方法具有较高的灵敏度和选择性.在 $0.1\text{--}500 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围线性关系良好, $R^2 \geq 0.9972$,检出限在 $0.3\text{--}6.0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$.采用本研究中的样品处理和分析方法,能够实现污水中 14 种 OPEs 的准确测定,为研究这些阻燃剂在污水处理厂中的环境分布与归趋提供了有效的方法.

参 考 文 献

- [1] Marklund A, Andersson B, Haglund P. Screening of organophosphorus compounds and their distribution in various indoor environments[J]. *Chemosphere*, 2003, 53 (9) : 1137-1146
- [2] Reemtsma T, Quintana J B, Rodil R, et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air I. Occurrence and fate[J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27 (9) : 727-737
- [3] 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
- [4] EUROPEAN UNION. Directive 2011/65/EU of the European Parliament and of the council of 8 June 2011 [J]. *Official Journal of the European Union*, 2011, L174 : 88-110
- [5] Leung A O W, Luksemburg W J, Wong A S, et al. Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in soil and combusted residue at Guiyu, an electronic waste recycling site in southeast China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41 (8) : 2730-2737
- [6] Wang X W, Liu J F, Yin Y G. Development of an ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for high throughput determination of organophosphorus flame retardants in environmental water[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218 (38) : 6705-6711
- [7] Bacaloni A, Cucci F, Guarino C, et al. Occurrence of organophosphorus flame retardant and plasticizers in three volcanic lakes of central Italy[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42 (6) : 1898-1903
- [8] Regnery J, Puttmann W, Merz C, et al. Occurrence and distribution of organophosphorus flame retardants and plasticizers in anthropogenically affected groundwater[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13 (2) : 347-354
- [9] Rodil R, Quintana JB, Reemtsma T. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of nonionic organophosphorus flame retardants and plasticizers in wastewater samples[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77 (10) : 3083-3089
- [10] Marklund A, Andersson B, Haglund P. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in Swedish sewage treatment plants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39 (19) : 7423-7429
- [11] Moller A, Sturm R, Xie Z Y, et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in airborne particles over the Northern Pacific and Indian Ocean toward the polar regions: Evidence for global occurrence[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(6) : 3127-3134
- [12] Moller A, Xie Z Y, Caba A, et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in the atmosphere of the North Sea[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159 (12) : 3660-3665
- [13] Van den Eede N, Dertu A C, Ali N, et al. Multi-residue method for the determination of brominated and organophosphate flame retardants in indoor dust[J]. *Talanta*, 2012, 89 : 292-300
- [14] Fries E, Mihajlovic I. Pollution of soils with organophosphorus flame retardants and plasticizers[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13 (10) : 2692-2694
- [15] Ni Y, Kumagai K, Yanagisawa Y. Measuring emissions of organophosphate flame retardants using a passive flux sampler[J]. *Atmospheric Environment*, 2007, 41 (15) : 3235-3240
- [16] Andresen J A, Grundmann A, Bester K. Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 332 (1/3) : 155-166
- [17] Quintana J. B, Rodil R, Reemtsma T, et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air II. Analytical methodology [J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27 (10) : 904-915