研究论文 DOI：10.3724/SP.J.1123.2023.04018

基于响应面法的基质固相分散萃取土壤中有机磷阻燃剂

王俊霞[1,2]，徐思婕[1]，孙悦莹[1]，雷慧慧[1]，程媛媛[1]，王学东[1*]，张占恩[1,2]
（1. 苏州科技大学环境科学与工程学院，江苏 苏州 215009；
2. 苏州科技大学江苏省环境科学与工程重点实验室，江苏 苏州 215009）

摘要：有机磷阻燃剂（OPFRs）被广泛添加于商业品和日用品中，由于具有环境持久性、生物富集性和潜在毒性，已成为一种新兴的持久性有机污染物。因此需要建立能准确定量环境中 OPFRs 的检测方法。该文基于基质固相分散萃取（MSPD），结合气相色谱-串联质谱（GC-MS/MS）法测定土壤中 10 种有机磷阻燃剂，筛选对 OPFRs 具有高选择性的吸附剂，最终确定 MSPD 最佳萃取条件。该文基于单因素分析法考察了常见吸附剂（C18、PSA、Florisil、石墨化炭黑（GCB）和多壁碳纳米管（MWCNT））及其用量、洗脱溶剂及其体积、研磨时间对 OPFRs 萃取效率的影响。在此结果基础上，进一步利用响应面法（RSM）考察了 3 个关键因素（吸附剂用量、洗脱剂用量和研磨时间）以及交互作用对 OPFRs 萃取效率的影响。最终确定最优条件：吸附剂 GCB，用量 0.3 g；洗脱溶剂乙酸乙酯，用量 10 mL；研磨时间 5 min，此时 10 种 OPFR 的萃取效率为 87.5%。在 GC-MS/MS 的多反应监测模式（MRM）下，以 ^{13}C-PCB208 为内标物进行定量。10 种 OPFRs 在 6 个浓度梯度下，获得较好的线性，相关系数大于 0.998。该方法的 LOD 和 LOQ 分别为 0.006～0.161 ng/g 和 0.020～0.531 ng/g。在最佳条件下，加标土壤中 OPFRs 的加标回收率为 70.4%～115.4%，相对标准偏差（RSD）为 0.7%～6.7%。将该方法用于苏州不同功能土壤中 OPFRs 的含量测定，结果表明电子厂和汽修厂土壤中 OPFRs 总含量显著高于稻田土和校园土，电子厂和汽修厂土壤中主要污染物为磷酸三（2-氯异丙基）酯（TCIPP）、三苯基氧化膦（TPPO）、磷酸三（2-氯乙基）酯（TCEP）和磷酸三（1,3-二氯-2-丙基）酯（TDCPP），它们在电子厂土壤中含量分别为 5.30、4.44、4.54、4.20 ng/g，在汽修厂土壤中的含量分别 2.70、3.93、7.60、5.04 ng/g。目前关于 TPPO 的土壤污染报道较少，该研究在苏州工业区土壤中检出了高浓度 TPPO 污染。该方法成功用于土壤中 10 种 OPFRs 的检测。

关键词：气相色谱-串联质谱；基质固相分散萃取；响应面法；有机磷阻燃剂；土壤
中图分类号：O658 **文献标识码**：A

Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus flame retardants in soil based on response surface methodology

WANG Junxia[1,2], XU Sijie[1], SUN Yueying[1], LEI Huihui[1],
CHENG Yuanyuan[1], WANG Xuedong[1*], ZHANG Zhan'en[1,2]
(*1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China*)

Abstract: Organophosphorus flame retardants (OPFRs) are widely used in commercial products owing to their exceptional flame-retarding and plasticizing properties. However, OPFRs are also well recognized as emerging persistent organic pollutants (POPs) because of their environmental persistence, biological concentration, and potential toxicity. Thus, the accurate detection of OPFRs in environmental media is critical for analyzing their fate, transport, and ecological risk. However, very few OPFR detection methods are currently available, and the types of

收稿日期：2023-04-15
* **通讯联系人**.Tel：(0512)68091496，E-mail：zjuwxd@163.com.
基金项目：国家自然科学基金项目（22076134，21876125，42207479）；江苏省重点研发计划项目（BE2022733）.
Foundation item: National Natural Science Foundation of China (Nos. 22076134, 21876125, 42207479); Jiangsu Provincial Key Research & Development Program (No. BE2022733).

OPFRs detected may vary from site to site.

In this study, matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD), a simple, rapid, and versatile technique for preparing solid, semisolid, liquid, and viscous samples, was combined for the first time with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) to analyze 10 OPFRs in soil, namely, tripropyl phosphate (TPrP), tri-*n*-butyl phosphate (TnBP), tri-iso-butyl phosphate (TiBP), tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCIPP), tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), triphenyl phosphate (TPHP), 2-ethylhexyl diphenyl phosphate (EHDPP), triphenylphosphine oxide (TPPO), and trimethylphenyl phosphate (TCP). The GC-MS/MS system was equipped with a Bruker-5MS capillary column coupled with a triple quadrupole mass spectrometer operated in multiple reaction monitoring (MRM) mode. Prior to detection, a mixed standard solution was fortified with 10 ng of ^{13}C-PCB208 as an internal standard. The optimal conditions under which MSPD could achieve high selectivity for OPFRs were determined. In addition, single-factor analysis was used to examine the influence of the sorbent (i. e., C18, PSA, Florisil, GCB, and multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs)) as well as the dosage, type, and volume of the eluent on the extraction efficiency of the method for the 10 OPFRs. When GCB and ethyl acetate were used as the adsorbent and solvent, respectively, during elution, high extraction recoveries for the OPFRs were achieved. Optimization via response surface methodology (RSM) was adopted to further analyze the impact of three key factors, namely, the adsorbent dosage, eluent volume, and grinding time, as well as their interactions, on OPFR recoveries. Under the optimal conditions of 0.3 g of GCB as the adsorbent, 10 mL of ethyl acetate as the eluent, and 5 min of grinding time, the relative average recovery of the OPFRs was 87.5%. Furthermore, the 10 OPFRs showed good linear relationships under five concentration gradients, with correlation coefficients greater than 0.998. The limits of detection (LODs) and quantification (LOQs) were calculated as signal-to-noise ratios (S/N) of 3 and 10, respectively, and found to be in the ranges of 0.006–0.161 and 0.020–0.531 ng/g, respectively. The performance of the proposed method was verified by determining the recoveries and relative standard deviations (RSDs) of the OPFRs in soils spiked at low, medium, and high levels (10, 20, and 100 ng/g, respectively). The recoveries of the OPFRs ranged from 70.4% to 115.4%, with RSDs ranging from 0.7% to 6.7%. Compared with the conventional accelerated solvent extraction (ASE) method, MSPD presents higher efficiency, simpler operation, and less solvent requirements. The developed method was applied to determine OPFRs in soil samples collected from different sites in Suzhou, including an electronics factory, an auto-repair factory, a paddy field, and a school field. The results revealed that the contents of OPFRs in the soils from the electronics and auto-repair factories were significantly higher than those in the soils from the paddy and school fields. The main pollutants in the soil samples collected from the electronics and auto-repair factories were TCIPP, TPPO, TCEP, and TDCPP. Moreover, the contents of these compounds were 5.30, 4.44, 4.54, and 4.20 ng/g, in soils from the electronics factory and 2.70, 3.93, 7.60, and 5.04

引用本文:王俊霞,徐思婕,孙悦莹,雷慧慧,程媛媛,王学东,张占恩. 基于响应面法的基质固相分散萃取土壤中有机磷阻燃剂. 色谱, 2024,42(1):64-74.

WANG Junxia, XU Sijie, SUN Yueying, LEI Huihui, CHENG Yuanyuan, WANG Xuedong, ZHANG Zhan'en. Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus flame retardants in soil based on response surface methodology. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(1): 64-74.

ng/g, in soils from the auto-repair factory. To the best of our knowledge, this study is the first to determine high concentrations of TPPO in industrial soils. Thus, the combination of MSPD and GC-MS/MS adopted in this study can provide useful insights into the detection of the 10 OPFRs in soil.

Key words: gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD); response surface methodology (RSM); organophosphorus flame retardants (OPFRs); soil

随着溴化阻燃剂(BFRs)在全球范围内先后被管制与禁用,有机磷阻燃剂(organophosphorus flame retardants, OPFRs)作为主要的替代品之一,被广泛添加到各种纺织品、家具以及电子产品中[1]。OPFRs 具有环境持久性以及远距离运输潜力[2],导致其易于进入各种环境介质中,在水体[3]、大气[4]、灰尘[5]、沉积物[6]和土壤[7]中均已发现 OPFRs 的存在,尤其已在多种废物回收区[8]、电子废物回收场地周围的土壤和灰尘[9]中检测到高浓度 OPFRs。大量的动物实验和流行病学研究证明 OPFRs 对人类与动物存在不利影响,一些 OPFRs 对生物体具有显著的内分泌干扰毒性和代谢毒性[10]。土壤是 OPFRs 的污染汇之一,准确测定土壤中 OPFRs 的含量,将为其环境行为和生态系统风险研究提供基础。

对于复杂固体基质样品中 OPFRs 的前处理往往包括提取和净化两个步骤,一般用超声辅助提取或加速溶剂萃取(ASE)[11]先进行提取,后用复合硅胶柱或 Florisil 柱净化[12],前处理时间约为 2~5 h。为了实现土壤样品中 OPFRs 污染物的准确、可靠、快速定量,选择合适的样品前处理技术至关重要。基质固相分散萃取(matrix solid-phase dispersion extraction, MSPD)是一种集提取、净化于一体,高效且简单的提取方法[13],已被用作灰尘样品中 BFRs 的提取和净化[14],通常与液相色谱(LC)[15]和气相色谱(GC)[16]联合使用。MSPD 的关键在于吸附剂,常见的吸附剂有键合硅胶 C18[17]、极性吸附材料 Florisil[18]、极性键合相 *N*-丙基乙二胺(PSA)[19]、多壁碳纳米管(MWCNT)[20]和石墨化炭黑(GCB)[21]等。对 OPFRs 选择性越高的吸附剂,方法的灵敏度越高,因此需筛选出最优吸附剂。吸附剂用量、洗脱溶剂及其体积影响 MSPD 萃取,因此需精心优化 MSPD 萃取参数,以期达到最佳的萃取效果。传统单因素分析的步骤是改变一个变量,其他参数保持不变,但这种方法缺少变量之间相互作用的信息,多个变量需要试验批次较多,试剂耗量大[22,23],因此需寻找一种试验批次较少、能反映变量之间相互作用的分析方法。

响应面法(response surface methodology, RSM)是一种基于多元非线性模型的统计技术,它不仅显示了每个因素(变量)对响应的影响,还能确定这种影响如何随着其他相关因素的变化而变化[24,25]。通过有限的试验次数在短时间内找到最佳条件。在响应面法中,中心复合试验设计(central composite design, CCD)适用于多因素、多水平、存在连续变量的试验设计,为待评估的响应提供可靠的试验,之后利用这些试验结果,建立与试验数据最拟合的数学模型,确定最佳实验条件。该文基于 RSM 优化 MSPD 的关键影响因素,并结合气相色谱-串联质谱技术(GC-MS/MS)对不同功能区土壤中 10 种 OPFRs 进行检测。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

456GC-SCION TQ 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪(德国 Bruker 公司);ASE-350 快速溶剂萃取仪(美国 Thermo Fisher 公司);12 位固相萃取装置(美国 Supelco 公司);FD-1A-50 冻干机(北京博医康);TTL-DC Ⅰ型氮吹仪(上海 Anpel 公司);IQ7000 Milli-Q 超纯水系统(德国 Merck 公司)。

C18、PSA、Florisil、GCB 和 MWCNT 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司。乙腈、甲醇均为色谱纯,中性氧化铝和无水硫酸钠为分析纯,均购自上海梯希爱(TCI)化成工业发展有限公司,无水硫酸钠使用前,在马弗炉中 450 ℃烘 8 h。正己烷(*n*-hexane)、二氯甲烷(DCM)、丙酮(AC)和乙酸乙酯均为分析纯,均购自上海 Anpel 公司;血清级聚丙烯柱管(6 mL)和筛板购自深圳 Biocomma 生物科技公司;有机尼龙滤膜(0.22 μm)购自天津津腾实验设备有限公司。

10 种有机磷阻燃剂标准品(纯度>98%)包括磷酸三丙酯(TPrP)、磷酸三异丁酯(TiBP)、磷酸三正丁酯(TBP)、磷酸三(2-氯乙基)酯(TCEP)、磷酸三(2-氯异丙基)酯(TCIPP)、磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯(TDCPP)、磷酸三苯酯(TPHP)、2-乙基已基磷酸二苯酯(EHDPP)、三苯基氧化膦(TPPO)和磷酸三甲苯酯(TCP)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。进样内标为^{13}C-2,2′,3,3′,4,5,5′,6,6′-九氯联苯(^{13}C-PCB208),替代物为氘代磷酸三丁酯(D_{27}-TBP),均购自英国剑桥同位素实验室。

准确称取 10 种 OPFRs 标准品,用乙腈配制成 1 000 mg/L 的混合标准溶液,于-20 ℃冰箱冷藏保存。使用时用乙腈逐级稀释至适当浓度。

1.2　样品前处理

将采集的土壤样品剔除腐烂木屑、石块等杂质,于-20 ℃冰箱中冷冻至少 24 h,然后置于冻干机中冷冻干燥 24 h,之后研磨,过 100 目不锈钢筛。精确称取 0.20 g 土壤样品,加入 0.30 g GCB,混合均匀,室温下充分研磨 5 min。将研磨后混合物装填进上下带有筛板的 6 cm 血清级聚丙烯柱管,装填匀实。利用 10 mL 乙酸乙酯缓慢洗脱,以负压抽真空方式完全收集洗脱液,之后氮吹仪浓缩至尽干,用乙腈复溶至 500.0 μL,之后用 0.22 μm 有机尼龙滤膜过滤,将其保存在 2 mL 棕色进样瓶中,待进行 GC-MS/MS 分析。

1.3　色谱条件

色谱柱为 BR-5MS 毛细管色谱柱(15 m×0.25 mm×0.5 μm, Bruker,德国),高纯度氦气(纯度 99.999%)作为载气,进样口温度为 270 ℃,不分流模式进样,进样体积为 2.0 μL;柱流量恒定为 1.2 mL/min;升温程序:初始温度 90 ℃保持 1 min,以 25 ℃/min 升温至 230 ℃,保持 1 min,再以 15 ℃/min 升温至 250 ℃,保持 2 min。

1.4　质谱条件

离子源:电子轰击(EI)电离源,离子源和传输线温度分别为 260 ℃和 280 ℃,电子能量为-20 eV,碰撞压力为 0.266 Pa;选择多反应监测模式(MRM),溶剂延迟时间为 3 min。10 种有机磷阻燃剂、内标和替代物的离子对和碰撞能量见表 1。

2　结果与讨论

2.1　MSPD 条件考察

利用单因素法,分别考察了吸附剂种类及其用量、洗脱液种类及其体积和研磨时间对土壤中 OPFRs 萃取效率的影响,确定主要的、变量连续的影响因素,作为后续响应面法试验设计的变量。

2.1.1　吸附剂

该文选择的 10 种 OPFRs 的极性跨度极大,既有极性的 TPrP,又有非极性的 TCP 和 EHDPP,因此选择了 C18、PSA、Florisil、GCB 和 MWCNT 5 种极性不同的吸附剂,其对土壤中 OPFRs 进行基质固相分散萃取的结果见图 1a。C18 与 PSA 对 10 种 OPFRs 的萃取效率较低,可能由于 C18 主要吸附疏水性强的非极性化合物,而 PSA 主要吸附极性化合物。Florisil 对 TPrP、TiBP、TnBP 和 TDCPP 的萃取效率较高,但对其他 OPFRs 的萃取效率较低。GCB 带有芳香性的正六元环结构,呈正电性,具备保留非极性化合物和极性化合物的双重作用。GCB

表 1　10 种有机磷阻燃剂、内标和替代物的保留时间、离子对和碰撞能量

Table 1　Retention times, ion pairs and collision energies for the 10 organophosphate flame retardants (OPFRs), IS and surrogate standard

Compound	Retention time/min	Ion pairs (m/z)	Collision energy/eV
Tripropyl phosphate (TPrP)	2.99	99.0/81.6, 99.0/99.0*	10
Tri-iso-butyl phosphate (TiBP)	3.56	99.0/81.6, 99.0/99.0*	10
Tri-*n*-butyl phosphate (TBP)	4.12	99.0/81.6, 99.0/99.0*	10
Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP)	4.53	249.0/125.3, 205.0/143.0*, 99.0/99.0	10
Tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCIPP)	4.65	99.0/81.6, 99.0/99.0*, 125.0/125.0	20
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP)	6.90	191.0/77.0*, 77.0/51.6, 75.0/75.0	10
Triphenyl phosphate (TPHP)	7.40	170.0/170.0, 170.0/141.5, 325.0/170.0*	20
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate (EHDPP)	7.60	251.0/251.0*, 251.0/153.0, 94.0/66.6	20
Triphenyl phosphine oxide (TPPO)	8.40	277.0/199.0*, 199.0/152.0, 77.0/51.0	30
Trimethylphenyl phosphate (TCP)	10.20	165.0/165.0, 368.0/108.0, 368.0/199.0*	20
^{13}C-Nona-chlorinated biphenyls (^{13}C-PCB208)	9.59	476.0/405.9, 478.0/405.9*, 403.9/333.6	30
D_{27}-Tri-*n*-butyl phosphate (D_{27}-TBP)	4.05	167.0/103.0*, 103.0/102.0, 103.0/83.0	10

* Quantitative ion pair.

对 TPrP、TCEP 以及 TCIPP 的萃取效率高于 MWCNT，对 TiBP、TBP、EHDPP 和 TCP 萃取效率也稍高于 MWCNT，但对 TDCPP 稍低。当 GCB 作为吸附剂时，收集的洗脱溶液颜色较 MWCNT 更无色透明（见附图 1，https://www.chrom-China.com），对后续仪器分析的干扰更小。综合考虑，选择 GCB 作为 MSPD 的吸附剂。

2.1.2 吸附剂用量

吸附剂用量过少会导致目标物不能被完全吸附，用量过多导致吸附较多干扰物质，增加后续净化步骤，因此需要对吸附剂用量（0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g）进行考察。从图 1b 可以看出，随着吸附剂用量的增加，各个 OPFRs 的萃取效率先逐渐增加，在用量达到 0.3 g 时，TPrP、TiBP、TBP、TCEP、TCIPP 和 TPPO 的萃取效率均达到最大，之后各个 OPFRs 的萃取效率急剧下降，可能过量的吸附剂从土壤基质中吸附较多 OPFRs 的同时也吸附更多的干扰物质，导致洗脱困难，使得洗脱下来的目标物数量较

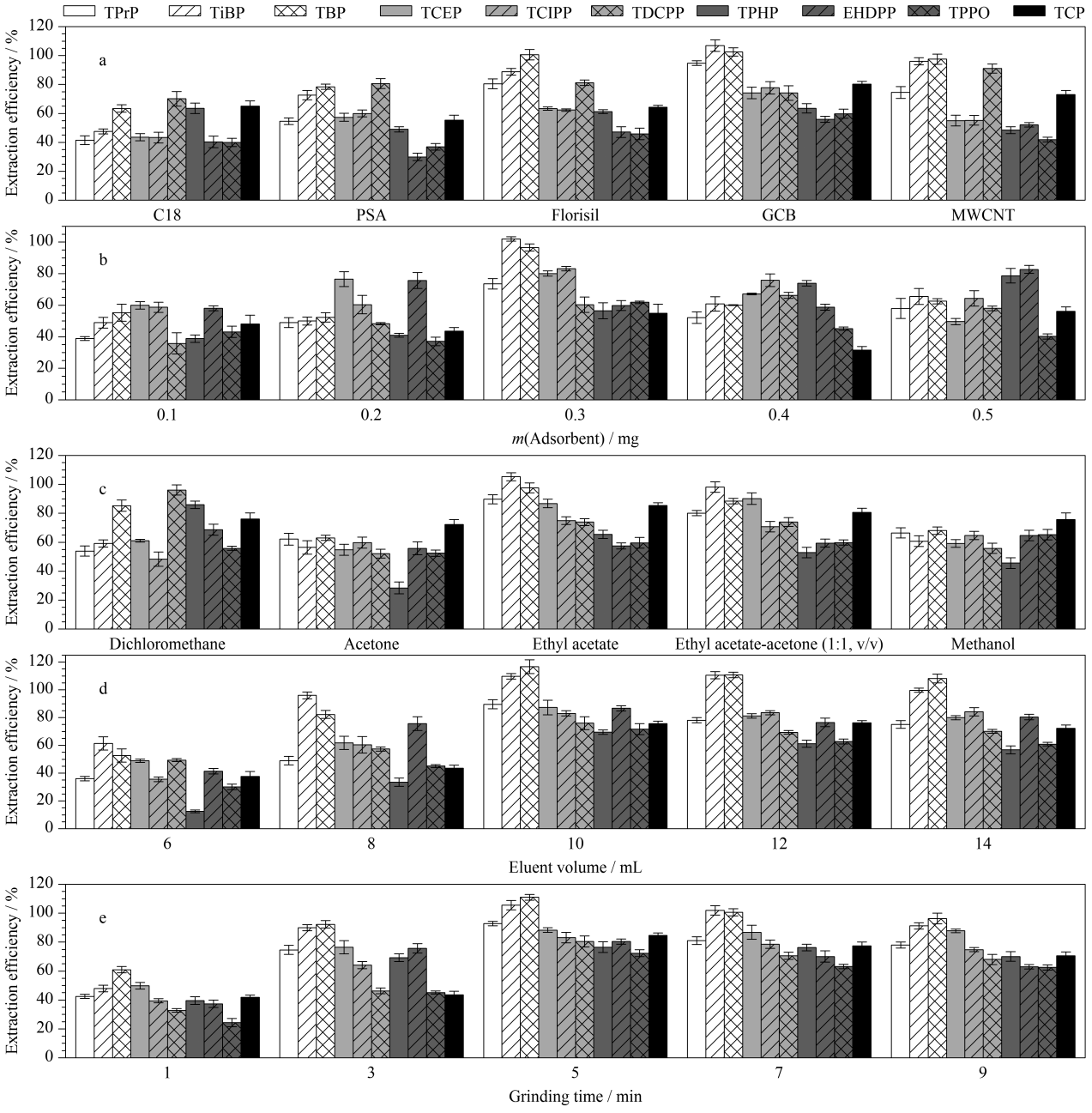


图 1 （a）吸附剂、（b）吸附剂用量、（c）洗脱溶剂、（d）洗脱剂体积、（e）研磨时间对 10 种 OPFRs 萃取效率的影响（n=3）

Fig. 1 Effects of (a) adsorbent, (b) adsorbent dosage, (c) elution solvent, (d) eluent volume, (e) grinding time on the extraction efficiencies of the 10 OPFRs (n=3)

少。吸附剂用量为 0.3 g 时,3 种苯基 OPFRs(TPHP、EHDPP 和 TCP)的萃取效率并不是最佳的,尤其是 TPHP,其萃取效率在 0.5 g 时才达到最佳。在萃取效率较高的情况下,尽量选择较少的吸附剂用量,以减少对环境的影响。因此综合考虑,选择吸附剂用量为 0.3 g。

2.1.3 洗脱溶剂及其体积

选择洗脱溶剂的依据是"相似相溶"原理,常见的甲醇、丙酮、乙酸乙酯和二氯甲烷等有机溶剂的极性顺序为甲醇>丙酮>乙酸乙酯>二氯甲烷。它们对土壤中 10 种 OPFRs 的萃取效率见图 1c,洗脱溶剂为极性较强的甲醇和丙酮时,几乎所有 OPFRs 化合物的萃取效率均较低,洗脱溶剂为中等极性的二氯甲烷时,强疏水性的 TDCPP、TPHP 和 EHDPP 的萃取效率达到最大,显著高于其他洗脱溶剂。洗脱溶剂为弱极性的乙酸乙酯时,亲水性强的 TPrP、TBP、TiBP、TCEP、TCIPP 和 TPPO 的萃取效率达到最大。同时考察了乙酸乙酯与丙酮的混合溶液(1∶1,v/v),其对强亲水性 OPFRs 的萃取效率并未显著提高,因此选择乙酸乙酯为洗脱溶剂。

洗脱溶剂体积分别为 6、8、10、12 和 14 mL 时 OPFRs 的萃取效率见图 1d。乙酸乙酯用量从 6 mL 增加到 10 mL,各个 OPFRs 的萃取效率显著增加,在 10 mL 时达到最佳,继续增加洗脱体积至 14 mL,OPFRs 的萃取效率并未明显提高,还出现略微下降,这说明 10 mL 乙酸乙酯几乎完全洗脱吸附在 GCB 上的 OPFRs,因此最终选择洗脱溶剂体积为 10 mL。

2.1.4 研磨时间

研磨能够增加基质与吸附剂的接触面积,从而大大增加萃取效率,研磨时间分别为 1、3、5、7 和 9 min 时 OPFRs 的萃取效率见图 1e。研磨时间从 1 min 增加到 5 min,所有 OPFRs 的萃取效率均明显提高,且在 5 min 时,各个 OPFRs 的萃取效率达到最大,进一步增加研磨时间至 9 min, OPFRs 的萃取效率并未继续提高反而有所下降,这可能是由于过度研磨,导致目标物与吸附剂之间吸附亲和力更强,难以将吸附的全部目标物洗脱出来,这与已有研究[26]相似。因此最终选择研磨时间为 5 min。

2.2 中心复合试验设计及结果分析

2.2.1 试验设计与结果分析

基于 MSPD 的单因子优化结果,以 OPFRs 化合物的平均萃取效率为响应值 Y,以 A(吸附剂用量)、B(洗脱剂体积)和 C(研磨时间)为自变量,考察 MSPD 萃取条件。利用 Design-Expert 软件构建了 OPFRs 平均萃取效率与 3 种因素之间的模型。采用 CCD 进行三因素五水平响应面试验,共 20 组。其中 14 组为分析因子,6 组作为区域中心点,以估计误差,因素水平编码见表 2。每批次试验重复进行 3 次,结果取平均值。响应面试验设计与分析结果见附表 1。将附表 1 试验结果进行回归拟合,得到一个二项式回归方程:

$$Y=86.21-2.86A+4.54B+1.88C+1.39AB+0.088AC+3.69BC-3.53A^2-10.58B^2-4.27C^2$$

表 2　响应面试验的因素和水平

Table 2　Factors and levels of response surface test

Factor	Levels				
	−2	−1	0	1	2
A(Adsorbent weight/g)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
B(Eluent volume/mL)	6	8	10	12	14
C(Grinding time/min)	1	3	5	7	9

2.2.2 RSM 回归模型可靠性分析

为评估响应面预测结果的准确性,通过 Design Expert 软件对 OPFRs 的萃取效率回归模型进行方差分析(ANOVA),结果见表 3。由表 3 可知,回归模型 F 值为 176.93,且 p 值小于 10^{-4},说明仅噪声引起的"模型 F 值"出现的可能性为 0.01%,表示该模型具有显著性,同时预测模型与试验的拟合度用失拟项(lack of fit)来表示,失拟项 p 值为 0.072 4,说明模型的纯误差不显著。模型拟合度(R^2)为 0.993 8,说明模型回归效果显著。

减少不显著的模型项可以提高模型拟合度[27]。预测 $R^2=0.975\,8$,与调整后的 $R^2=0.988\,1$,两者非常一致,R^2 越接近 1,说明回归模型越能分析、预测 MSPD 对土壤中 10 种 OPFRs 的萃取条件。变异系数<10%,表明试验的可信度和精确度高。精密度(Adeq Precision)是有效信号与噪声的比值(48.457),大于 4 视为合理。因此,该拟合模型适用于对 OPFRs 萃取效率的预测。

MSPD 对土壤中 OPFRs 平均萃取效率的模型预测值与试验值的分布图见附图 2。由附图 2a 可知,预测值与试验值均分散于 $y=x$ 附近,无异常点,表明该模型能够用来分析和预测试验值。由附图 2b 残差与预测值的分布图可以看出,试验残差项与模型预测值分布无序,尽可能在一条直线上,表明该模型的可靠性好。

综上分析可知,该模型能用于分析和预测基质分散固相萃取土壤中 10 种 OPFRs 的平均萃取效率。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) of regression model

Source	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	*F*	*P*	Result
Model	3586.75	9	398.53	176.93	<0.0001	significant
A	130.53	1	130.53	57.95	<0.0001	significant
B	330.33	1	330.33	146.66	<0.0001	significant
C	56.63	1	56.63	25.14	0.0005	significant
AB	15.40	1	15.40	6.84	0.0258	significant
AC	0.061	1	0.061	0.027	0.8723	nonsignificant
BC	108.78	1	108.78	48.30	<0.0001	significant
A^2	314.03	1	314.03	139.42	<0.0001	significant
B^2	2816.58	1	2816.58	1250.46	<0.0001	significant
C^2	458.77	1	458.77	203.68	<0.0001	significant
Residual	22.52	10	2.25			
Lack of fit	8.18	5	1.64	0.57	0.7240	nonsignificant
Pure error	14.35	5	2.87			
Corrected total	3609.27	19				

当 $P<0.05$ 时,表示该因素是显著的模型项;$P>0.05$ 时,表示模型项不显著。从表 3 可以看出,在这种情况下,一次项 *A*、*B*、*C* 均达到显著水平($P<0.01$),其中 *A*、*B* 对响应值 *Y* 的影响较大;在二次项中,A^2、B^2、C^2($P<0.0001$)为极显著项,三者系数均为负值,说明方程存在极大值点;在交互项中,*AB*、*BC* 达到显著水平($P<0.05$),*AC* 对响应值的影响不显著。综合说明各个因素对 *Y* 的影响并不是线性关系。

2.2.3 单因素之间交互作用的分析

MSPD 单一因素对 OPFRs 萃取效率的影响与单因素分析结果具有较好的一致性。各因素之间存在交互作用。其中吸附剂用量与洗脱剂体积($P<0.05$)、洗脱剂体积与研磨时间($P<0.000\,01$)之间的交互作用更显著。

图 2 显示了研磨时间处于中心点 5 min 时,吸附剂用量和洗脱剂体积对 OPFRs 平均萃取回收率的交互影响。由 3D 响应曲面图和 2D 等高线响应图可以直观地看出,在同一吸附剂用量下,OPFRs 平均萃取回收率随着洗脱剂体积的增加呈先上升后下降的趋势;在同一洗脱剂下,OPFRs 平均萃取回收率随着吸附剂用量的增加先增加后减少。

图 3 显示了当洗脱剂体积处于中心点 10 mL 时,吸附剂用量和研磨时间对 OPFRs 萃取效率的交互作用。由图 3 可知,在同一吸附剂用量下,OPFRs

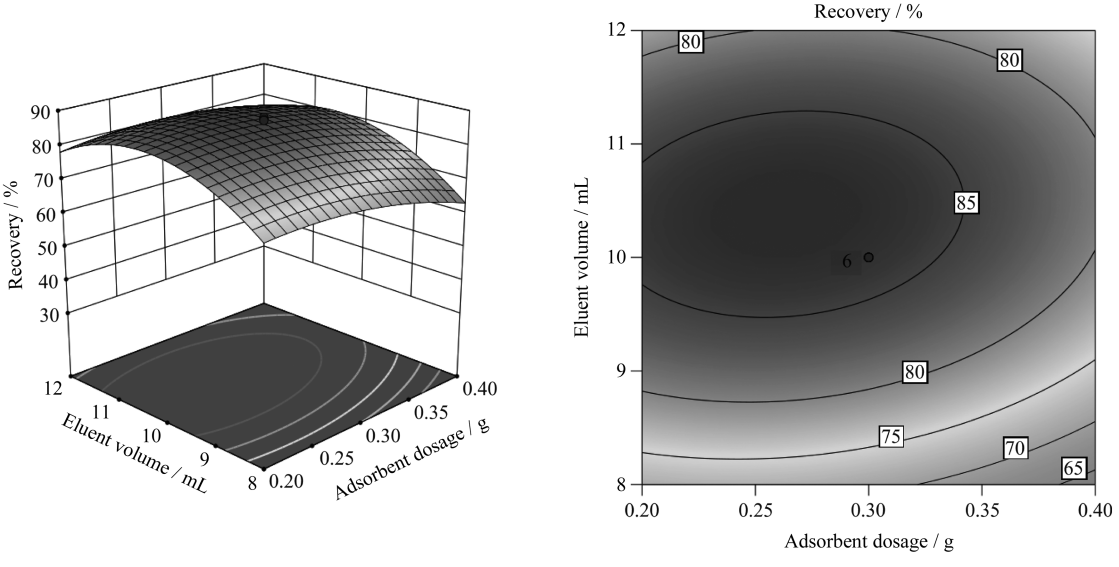


图 2 吸附剂用量与洗脱剂体积对 OPFRs 平均萃取效率交互影响的响应面和等高线图

Fig. 2 Surface and contour plots of influence for adsorbent dosage and eluent volume on the mean extraction recoveries of OPFRs

平均萃取回收率随着研磨时间的延长先增加后减少;在同一研磨时间下,OPFRs 平均萃取回收率随着吸附剂用量的增加先升高后下降。但二者交互作用相对较弱(P>0.05),这可能是因为即使增加了吸附剂的用量,仍需要一定的研磨时间使吸附剂与土壤中 OPFRs 充分接触,以获得良好的吸附效果,从而提高 OPFRs 萃取效率。吸附剂用量处于中心点 0.3 mg 时,洗脱剂体积和研磨时间对响应值 Y 的交互影响较为显著。由图 4 可知,当洗脱体积一定时,OPFRs 平均萃取回收率随着研磨时间的增加呈现先增大后减小的变化趋势,研磨时间为 5 min 时,OPFRs 萃取回收率最大,当研磨时间一定时,OPFRs 萃取回收率随着洗脱剂体积增加呈先升高后下降的变化特征。

综合分析发现,不同 MSPD 萃取条件位于中心点时,MSPD 技术提取土壤中 OPFRs 效率最高。根据预测模型得到最优结果:0.3 g 吸附剂、10 mL 洗脱剂和 5 min 研磨时间,此时模型预测 MSPD 对土壤中 OPFRs 的平均萃取回收率达到 87.5%。

2.3　方法学考察

2.3.1　线性关系、检出限与定量限

利用 10 mg/L 的 10 种 OPFRs 混合标准溶液配制成质量浓度分别为 1.0、10.0、50.0、100.0、500.0、1 000.0 μg/L 的系列标准工作溶液,以 10 ng ^{13}C-PCB208 为内标化合物,以标准工作溶液中 OPFRs 的质量浓度(x, μg/L)为横坐标,OPFRs 的峰面积

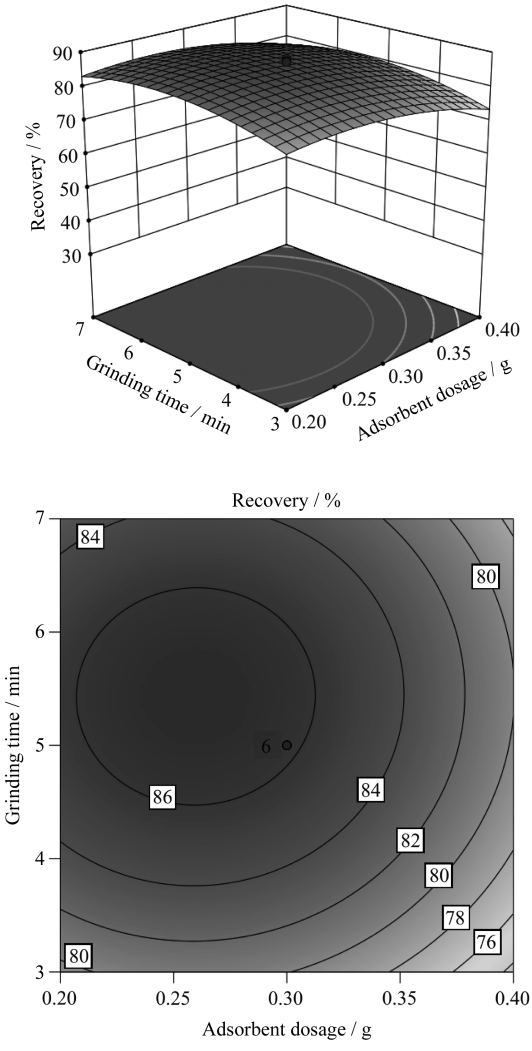


图 3　吸附剂用量与研磨时间对 OPFRs 平均萃取效率交互影响的响应面和等高线图

Fig. 3　Surface and contour plots of influence for adsorbent dosage and grinding time on the mean extraction recoveries of OPFRs

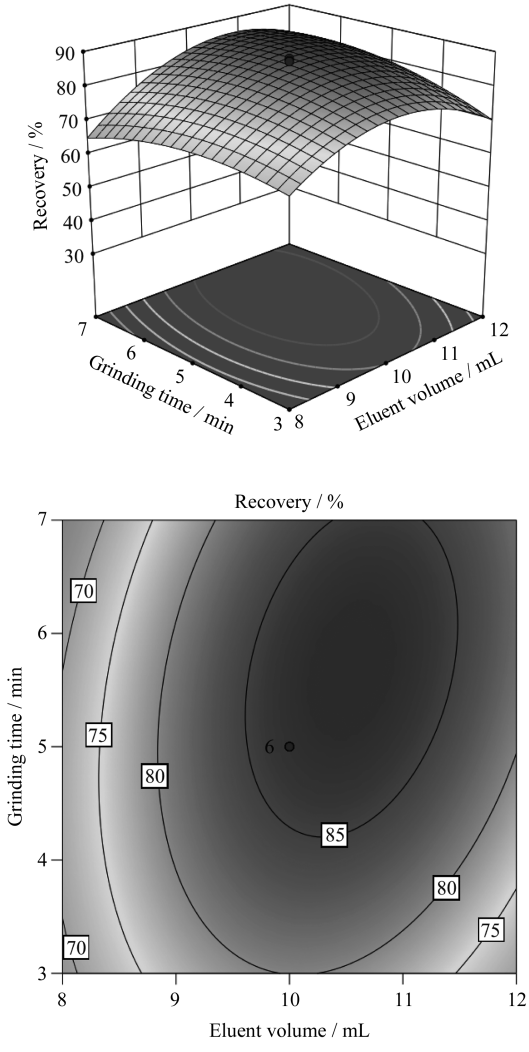


图 4　洗脱剂体积与研磨时间对 OPFRs 萃取效率交互影响的响应面和等高线图

Fig. 4　Surface and contour plots of influence for eluent volume and grinding time on the mean extraction recoveries of OPFRs

与内标峰面积之比(y)为纵坐标,建立 10 种 OPFRs 的标准工作曲线。如表 4 所示,10 种 OPFRs 在 1.0 ~1 000.0 μg/L 范围内具有良好的线性关系,相关系数(r) ≥ 0.998 2。土壤质量固定为 0.2 g,以适量低浓度 OPFRs 加标土壤样品进行 MSPD 处理,分析 OPFRs 的峰面积响应信号,分别以 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)确定方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ)。同时用空白程序验证实验过程试剂、容器等是否污染。由于 TBP、TiBP 和 TPrP 常作为增塑剂,实验过程中使用的过滤膜、吸管等可能含有这些 OPFRs,导致空白程序中有少量的 TBP、TiBP 和 TPrP 检出,这 3 种化合物的检出限以空白均值加 3 倍标准偏差来计算。结果见表 4。10 种 OPFRs 的 LOD 和 LOQ 分别为 0.006 ~ 0.161 ng/g和 0.020 ~ 0.531 ng/g。

表 4 10 种 OPFRs 的线性方程、相关系数、检出限及定量限

Table 4 Linear equations, correlation coefficients (r), limits of detection (LODs), and limits of quantification (LOQs) of the 10 OPFRs

Compound	Linear equation	r	LOD/(ng/g)	LOQ/(ng/g)
TPrP	$y=4.34\times10^{-2}x+1.80\times10^{-1}$	0.9988	0.072	0.240
TiBP	$y=1.01\times10^{-2}x+1.02\times10^{-1}$	0.9991	0.057	0.191
TBP	$y=3.21\times10^{-2}x-1.40$	0.9986	0.061	0.203
TCEP	$y=4.00\times10^{-4}x+7.86\times10^{-2}$	0.9990	0.052	0.173
TCIPP	$y=4.70\times10^{-3}x-5.49\times10^{-2}$	0.9983	0.013	0.043
TDCPP	$y=1.09\times10^{-2}x-5.75\times10^{-1}$	0.9986	0.025	0.083
TPHP	$y=8.80\times10^{-3}x-1.03$	0.9985	0.047	0.155
EHDPP	$y=3.60\times10^{-3}x-8.27\times10^{-2}$	0.9982	0.040	0.132
TPPO	$y=3.10\times10^{-3}x-1.15\times10^{-1}$	0.9982	0.006	0.020
TCP	$y=1.00\times10^{-4}x-8.00\times10^{-4}$	0.9986	0.161	0.531

y: the ratio of peak areas of analyte to internal standard; x: mass concentration, μg/L.

2.3.2 回收率与精密度

以空白加标、基质加标回收率试验来考察 MSPD 提取土壤中 OPFRs 方法的性能。具体以无水硫酸钠替代土壤基质作为空白样品,向空白样品和 4 种实际土壤中分别添加 3 个水平的 OPFRs 混合标准溶液,使土壤中 OPFRs 含量分别为 10、20 和 100 ng/g,并混合均匀静置 7 d。同时 MSPD 过程开始前,在空白样品和实际土壤样品中添加 20 ng/g 的替代物 D_{27}-TBP,以替代物回收率来验证 MSPD 方法对每个样品的提取效率。空白、实际土壤中 10 种 OPFRs 和替代物的加标回收率及相对标准偏差(RSD,n=3)见表 5。10 种 OPFRs 的平均回收率为 70.4% ~115.4%, RSD 为 0.7% ~6.7%,实际土壤中替代物 D_{27}-TBP 的平均回收率为 88.2% ~95.6%。方法满足测试要求。

表 5 10 种 OPFRs 和替代物在 3 个水平下的加标回收率及 RSD(n=3)

Table 5 Recoveries and RSDs of the 10 OPFRs and substitute standard at three spiked levels (n=3)

Compound	Added/(ng/g)	Blank		Electronics factory		Auto-repair plant		Paddy field		School field	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
TPrP	10	87.1	2.3	76.0	2.0	70.4	4.7	71.9	4.4	73.2	4.7
	20	92.8	2.5	81.8	2.8	83.6	2.3	71.5	5.2	78.5	2.3
	100	95.7	3.6	77.8	3.0	75.1	1.0	103.1	1.9	88.0	3.5
TiBP	10	90.2	2.5	89.8	3.1	81.3	2.9	89.9	3.9	85.6	3.5
	20	93.5	2.9	84.1	3.4	96.8	2.0	91.9	3.6	83.2	2.2
	100	95.8	3.4	90.9	3.7	83.5	2.9	96.3	2.6	94.2	2.0
TBP	10	98.4	3.5	89.1	4.4	85.1	3.0	89.3	5.5	82.7	1.8
	20	99.5	3.9	91.4	2.6	106.9	2.6	85.0	2.9	94.8	4.2
	100	101.3	3.2	95.6	3.0	96.5	2.0	112.7	1.6	107.5	2.5
TCEP	10	92.5	3.8	79.0	1.8	83.8	6.4	87.9	5.3	84.4	1.2
	20	97.4	2.5	80.2	0.7	79.2	3.5	73.6	2.9	97.3	1.4
	100	94.8	2.0	81.1	2.4	93.9	1.1	79.3	4.2	87.5	5.7
TCIPP	10	88.8	4.4	95.7	2.6	96.2	3.7	89.7	2.8	100.0	2.1
	20	92.6	4.8	86.9	1.0	103.6	3.1	90.5	4.4	100.4	1.1
	100	95.8	3.6	93.4	2.9	97.5	3.7	96.9	6.7	92.1	2.3
TDCPP	10	99.5	3.5	81.0	1.4	70.8	1.6	88.9	1.6	79.6	4.7
	20	99.1	2.5	90.2	1.9	85.5	2.8	97.7	2.6	74.4	3.1
	100	98.4	2.0	90.1	3.5	91.9	3.9	95.3	1.8	99.4	1.4
TPHP	10	88.5	2.8	75.9	3.0	85.7	5.5	84.7	3.6	101.1	2.9
	20	95.3	3.5	81.0	4.4	109.0	4.2	85.1	2.4	101.8	2.3
	100	97.1	2.7	84.6	4.8	106.0	2.8	92.1	1.9	109.6	2.9

表 5 (续)
Table 5 (Continued)

Compound	Added/ (ng/g)	Blank		Electronics factory		Auto-repair plant		Paddy field		School field	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
EHDPP	10	80.8	1.7	89.7	1.2	104.1	1.8	93.8	4.6	88.2	2.8
	20	89.5	2.1	80.9	5.0	93.0	1.4	87.7	1.9	100.3	1.6
	100	95.7	2.5	103.8	2.3	117.1	1.6	79.8	6.5	104.2	1.7
TPPO	10	95.4	3.6	93.0	3.8	90.4	1.3	95.7	2.5	105.8	4.2
	20	99.7	2.8	94.8	5.8	97.6	3.0	102.3	1.1	98.6	2.3
	100	95.5	3.1	99.5	4.3	104.2	3.7	115.4	2.5	94.7	2.0
TCP	10	80.5	3.3	75.9	3.4	78.3	3.1	78.5	4.1	78.7	4.2
	20	85.7	3.6	82.2	3.7	80.1	1.3	82.7	4.1	77.9	1.9
	100	90.4	2.8	89.8	5.0	80.4	4.6	78.3	3.4	85.2	2.8
D_{27}-TBP	20	97.5	1.4	90.5	3.6	95.6	3.8	88.2	3.1	91.4	2.6

2.3.3 MSPD 与 ASE 对比

为了验证该方法的准确性,与传统的加速溶剂萃取法进行比较。同样准确称取 0.2 g 加标农田土壤样品(OPFRs 含量为 100 ng/g),以乙酸乙酯为萃取剂,萃取温度为 110 ℃,压力为 10^4 kPa,循环 4 次,每次 5 min,萃取收集液氮吹至尽干,后续与 MSPD 步骤相同。结果见附表 2,MSPD 萃取土壤中 10 种 OPFRs 的效率与 ASE 方法的结果基本一致,但 MSPD 具有操作简单、前处理耗时短和有机溶剂用量少等优点。

2.4 实际样品检测

利用该方法分析了苏州市不同地区(某电子厂、某汽修厂、某稻田、某校园)土壤中 10 种 OPFRs,含量范围见表 6。空白和各个实际土壤样品中 10 种 OPFRs 的色谱图见图 5。在 4 个实际土壤样品中发现 10 种 OPFRs 的总含量范围为 6.49 ~ 26.00 ng/g。电子厂和汽修厂土壤中 OPFRs 含量显著高于农田和校园,说明电子厂和汽修厂存在较高的 OPFRs 污染来源,工厂土壤中主要污染物为 TCIPP、TPPO、TCEP 和 TDCPP,它们在电子厂土壤中含量分别为 5.30、4.44、4.54、4.20 ng/g,在汽修厂土壤中含量分别 2.70、3.93、7.60、5.04 ng/g。TPPO 主要用于合成中间体、催化剂和萃取剂等,目前关于土壤中 TPPO 污染的报道较少,仅有辽河上游河岸带土壤中发现 TPPO 为主要污染物的报道[28],而农田土中主要污染物为 TPrP、TDCIP 和

表 6 不同采样点土壤中 10 种有机磷阻燃剂的含量
Table 6 Contents of the 10 OPFRs in soil samples collected from different sites　　ng/g

Compound	Electronics factory	Auto-repair factory	Paddy field	School field
TPrP	1.82	2.53	2.21	1.75
TiBP	2.72	0.29	0.92	0.62
TBP	2.26	0.24	0.51	0.14
TCEP	4.54	7.60	0.24	ND
TCIPP	5.30	2.70	0.22	4.14
TDCPP	4.20	5.04	1.52	ND
TPHP	0.24	ND	ND	0.65
EHDPP	ND	0.41	ND	ND
TPPO	4.44	3.93	0.33	0.20
TCP	0.49	0.42	0.54	ND
∑OPFRs	26.00	23.15	6.49	7.50

ND: not detected; ∑OPFRs: the total content of the 10 OPFRs.

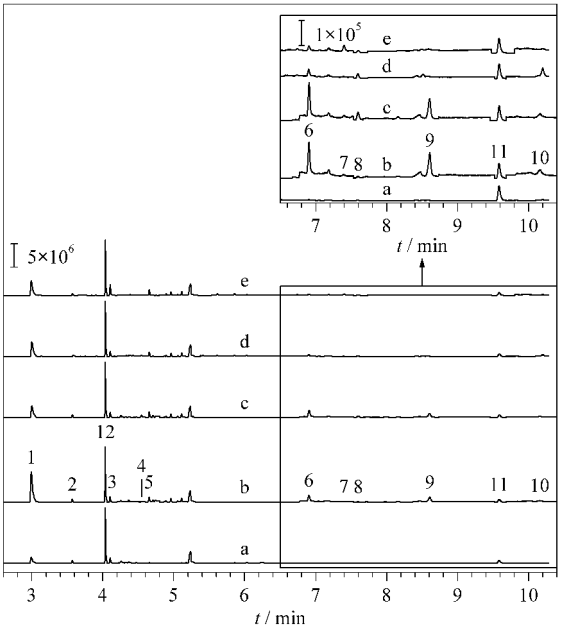


图 5 空白和实际土壤样品中 10 种 OPFRs 的色谱图
Fig. 5 Chromatograms of the 10 OPFRs in the blank and actual soil samples

a. blank; b. electronics factory; c. auto-repair factory; d. paddy field; e. school field.

Peak identifications: 1. TPrP; 2. TiBP; 3. TBP; 4. TCEP; 5. TCIPP; 6. TDCPP; 7. TPHP; 8. EHDPP; 9. TPPO; 10. TCP; 11. ^{13}C-PCB208; 12. D_{27}-TBP.

TiBP。这与已报道的北京地区农田土以 TCIPP ((3.36±5.61) ng/g)为主的结论并不一致[29]。校园土中主要污染物以 TCIPP 和 TPrP 为主。苏州地区土壤中 OPFRs 检出含量远低于尼泊尔市(25 ~ 27 900 ng/g)[30]。总体上目前苏州地区土壤中 OPFRs 污染水平较低。

3 结论

本文建立了一种 MSPD-GC-MS/MS 检测土壤中 10 种 OPFRs 的方法。单因素分析法结合 RSM 系统地分析了基质固相分散萃取土壤中 OPFRs 回收率的关键影响因素以及因素之间的相互作用,建立了 OPFRs 萃取回收率为响应值的回归模型,模型预测值与试验值具有良好的拟合度,确定了最优的萃取条件。该方法涉及实验少、有机溶剂用量少、操作步骤简单便捷,且具有良好的准确度和精密度。将该方法应用于不同功能区土壤中 OPFRs 残留量的监测分析,发现了电子厂和汽修厂土壤中高水平 TPPO 污染,后续有必要开展这类污染物的生态环境风险评估。

参考文献:

[1] Rauert C, Schuster J K, Eng A, et al. Environ Sci Technol, 2018, 52(5): 2777

[2] Dou W, Zhang Z, Huang G W, et al. Chemosphere, 2022, 303(Part 2): 135032

[3] Pantelaki I, Voutsa D. Sci Total Environ, 2019, 649: 247

[4] Lu Q, Jung C, Chao H, et al. Environ Int, 2023, 174: 107871

[5] Chen M, Jiang J, Gan Z, et al. J Hazard Mater, 2019, 365: 280

[6] Zhang L, Lu L, Zhu W, et al. Mar Pollut Bull, 2021, 168: 112368

[7] Han B, Chen L, Li Y, et al. Sci Total Environ, 2022, 842(10): 156806

[8] Wang Y, Sun H, Zhu H, et al. Sci Total Environ, 2018, 625: 1056

[9] Zhang X, Xu F, Chen K, et al. Environ Int, 2015, 78: 1

[10] Xu H Z, Wang Z Z, Zhang S H, et al. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 19
徐怀州, 王智志, 张圣虎, 等. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 19

[11] Hou R, Li Y, Liang Y J, et al. Environmental Monitoring and Forewarning, 2020, 12(5): 93
侯瑞, 李逸, 梁永津, 等. 环境监控与预警, 2020, 12(5): 93

[12] Xu Y Z, Chen Z F, Qi Z H, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2022, 41(6): 628
许颖藻, 陈智锋, 祁增华, 等. 分析试验室, 2022, 41(6): 628

[13] Du X X, Wang Y P, Xiao W, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(3): 257
杜昕昕, 王寅鹏, 肖伟, 等. 色谱, 2023, 41(3): 257

[14] Smielowska M, Zabiegala B. Anal Chim Acta, 2019, 1084: 33

[15] Verónica C, Rosa M, José B Q, et al. Talanta, 2022, 208: 120470

[16] Jian Y J, Deng J L, Zhou H B, et al. J Chromatogr A, 2019, 1588: 174

[17] Zhu R Y, Zhao Z Y, Yang X L, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(7): 994
朱闰月, 赵志勇, 杨宪立, 等. 分析化学, 2015, 43(7): 994

[18] Chen D M, Zhang J E. Shandong Chemical Industry, 2018, 47(3): 62
陈冬梅, 张金娥. 山东化工, 2018, 47(3): 62

[19] Han S Y, Yu H M, Song Y L, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(3): 285
韩疏影, 俞慧敏, 宋易霖, 等. 色谱, 2018, 36(3): 285

[20] Fang S J, Yang M, Wang H B, et al. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2021, 57(3): 223
方树桔, 杨敏, 王红斌, 等. 理化检验(化学分册), 2021, 57(3): 223

[21] Li G L, Gu S S, Liu B, et al. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(2): 465
李广领, 谷珊山, 刘博, 等. 湖北农业科技, 2016, 55(2): 465

[22] Hoff R B, Pizzolato T M. TrAC-Trends Anal Chem, 2018, 109: 83

[23] Ramos L. TrAC-Trends Anal Chem, 2019, 118: 751

[24] Bezerra M A, Santelli R E, Oliveira E P, et al. Talanta, 2008, 76(5): 965

[25] Chen W H, Uribe M C, Kwon E E, et al. Renew Sust Energ Rev, 2022, 169: 112917

[26] Zhao X, Zhang Z E, Zhang L, et al. Chinese Journal of Instrumental Analysis, 2015, 34(1): 56
赵昕, 张占恩, 张磊, 等. 分析测试学报, 2015, 34(1): 56

[27] Cardona Y, Korili S A, Gil A. Appl Clay Sci, 2023, 235: 106879

[28] Luo Q, Wu Z P, Gu L Y, et al. China Environmental Science, 2020, 40(6): 2598
罗庆, 吴中平, 谷雷严, 等. 中国环境科学, 2020, 40(6): 2598

[29] Ji Y, Wang Y, Yao M, et al. Environ Pollut, 2019, 247: 832

[30] Yadav I C, Devi N L, Li J, et al. Chemosphere, 2018, 190: 114