

LC-MS/MS法测定人血浆中有机磷酸酯类化合物

Determination of OPEs in human plasma with LC-MS/MS system

刘丹, 黄超, 李国庆

Liu Dan, Huang Chao, Li Guoqing

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

前言

有机磷阻燃剂 (Organophosphateflameretardants, OPFRs) 是一类被广泛添加到塑料制品、建筑材料、电子产品、家具和纺织用品等中作为阻燃剂、增塑剂和防沫剂的化合物。近年来, 随着传统溴代阻燃剂的逐步禁用, 有机磷阻燃剂因其资源丰富、阻燃效果显著, 正成为其主要替代品, 在全球范围内得到快速发展, 应用量逐年递增。

本研究所指OPFRs主要为有机磷酸酯 (Organophosphates, OPEs)。人体可通过皮肤、呼吸道和经口等途径吸入或摄入OPEs。大量的研究证实了OPEs有潜在的神经毒性, 会造成生殖紊乱、内分泌干扰甚至致癌作用, 被列为持久/高迁移性有机化合物, 引起了人们对其潜在危害的担忧。

就OPEs的人群暴露而言, 目前国内外采用的生物标志物分为两种。第一种是胆碱酯酶, 但此类生物标志物并非特异性标志物, 可以被其他有机磷类化合物, 如有机磷农药等抑制。第二种是有机磷酸酯母体和其代谢产物, 此类标志物性质稳定易于测定, 结构如图1。

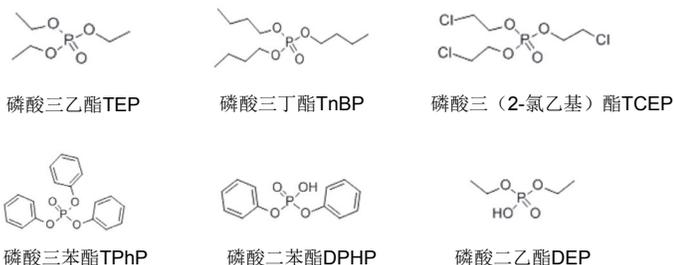


图 1. 有机磷酸酯阻燃剂及其代谢物的结构图

因此, 本研究建立了一种高灵敏度、简便快捷的有机磷酸酯类阻燃剂及其代谢产物的检测方法, 用于测定血浆中有机磷酸酯暴露情况。

1 实验部分

1.1 血浆样品前处理

样品采集: 使用EDTA抗凝真空管采集患者静脉血。尽快 (2 h 内) 离心分离血浆。

样品处理: 取400 μ L血浆样品于2 mL EP管中, 加入混合内标, 加入甲酸, 涡旋混匀之后, 加入有机试剂进行液液萃取, 震荡混匀5 min, 离心5 min(10000 rpm)。取全部上层有机相转移至另外新的EP管中, 置于真空冷冻干燥机中挥干。用30%甲醇水复溶, 涡旋混匀后进样分析。

1.2 色谱条件

色谱柱为Kinetex F5; 柱温设定为40 $^{\circ}$ C; 进样量为5 μ L。洗脱梯度表见表1。

表1. 洗脱梯度

时间 (min)	流速(mL/min)	A(%)	B(%)
0.5	0.3	80	20
1.0	0.3	30	70
3.0	0.3	10	90
4.5	0.3	0	100
4.6	0.3	80	20
5.5	0.3	80	20

1.3 质谱条件

采用电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 和多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 模式进行质谱扫描。离子源参数: 加热气 (GS1) 和辅助加热气 (GS2) 分别为40 psi和40 psi, 脱溶剂气温度为 600°C; 气帘气 (Curtain Gas, CUR) 为 30 psi, 碰撞气 (Collision Gas, CAD) 为9 psi; 喷雾针 (Ionspray, IS) 电压为+5500/-4500 V。为了获取较好的稳定性和灵敏度, 各化合物监测离子对的去簇电压 (Declustering Potential, DP) 和碰撞电压 (Collision Energy, CE), 目标物定量离子对、定性离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化, 离子对信息见表2。

表2. 待测组分和内标物质的质谱参数

化合物	Q1	Q3	ID	DP	CE
磷酸三乙酯	183	99.1	TEP-1	58	27
	183	155	TEP-2	56	13
磷酸三(2-氯乙基)酯	285.1	63.1	TCEP-1	72	41
	285.1	99	TCEP-2	72	31
磷酸三苯酯	327.1	77.1	TPHP-1	118	60
	327.1	152.1	TPHP-2	120	55
磷酸三丁酯	267.1	99.1	TNBP-1	67	27
	267.1	155	TNBP-2	66	15
磷酸二苯酯	249	78.9	DPHP-1	-97	-60
	249	92.9	DPHP-2	-81	-47
磷酸二乙酯	153.1	63.1	DEP-1	-53	-86
	153.1	124.8	DEP-2	-53	-15

2 结果与讨论

2.1 回归方程及线性

在本实验条件下, 几种有机磷酸酯阻燃剂及其代谢物在 0.05~20 ng/mL (DPHP: 0.01~4 ng/mL) 范围内线性良好, r值大于 0.995如表3。

表3. 有机磷酸酯及其代谢物的线性回归方程、相关系数和定量下限

目标化合物	线性回归	相关系数	LLOQ (ng/mL)
TEP	$Y=0.5323x+0.3683$	$r=0.995$	0.05
TCEP	$Y=0.9961x-0.1314$	$r=0.998$	0.05
TPHP	$Y=0.9539x-0.1091$	$r=0.997$	0.05
TnBP	$Y=0.3053x+0.0380$	$r=0.996$	0.05
DPHP	$Y=1.2417e5x+4129.38$	$r=0.995$	0.01
DEP	$Y=4.3797e4x+1942.04$	$r=0.995$	0.05

2.2 色谱图

有机磷酸酯阻燃剂及其代谢物的色谱图如图2, 峰形和灵敏度良好。

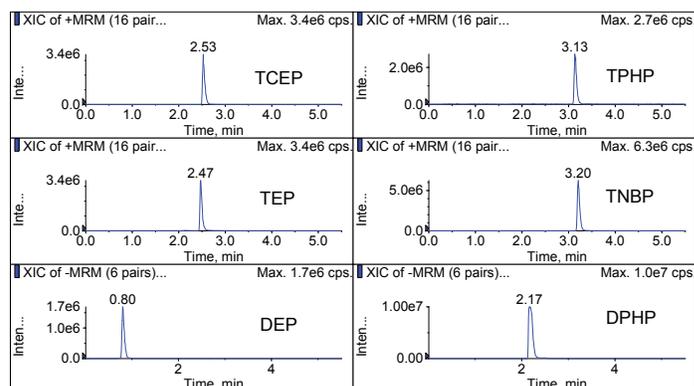


图2. 有机磷酸酯及其代谢物的色谱图

2.3 性能验证参数

采用低、高两个浓度水平的质控品, 每个浓度平行测定3次, 得到日内精密度RSD在1.56%~13.6%范围内。低、高两个浓度水平质控品, 每个浓度平行测定3次, 连续测定3天, 得到日间精密度RSD在3.88%~13.51%之间。(见表4)。

表4. 有机磷酸酯及其代谢物的批内和批间精密度 (%)

目标化合物	日内精密度RSD%		日间精密度RSD%	
	低浓度	高浓度	低浓度	高浓度
TEP	3.97	6.79	9.97	13.51
TCEP	4.2	1.56	4.31	3.88
TPHP	2.45	3.72	4.62	4.64
TnBP	4.13	2.82	10.19	8.60
DPHP	13.6	6.12	8.65	7.5
DEP	7.87	3.81	11.00	5.83

总结

本方法基于SCIEX 质谱平台，建立了可对有机磷阻燃剂进行定性定量检测的液相色谱串联质谱方法。所建方法能够很好的排除内源性干扰，且灵敏度满足要求，方法稳定性好准确性高，能满足实际检测需求。适用于快速高效的对人血浆当中有机磷酸三酯和有机磷酸二酯化合物进行生物检测。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-12836-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)