

血液中次磷酸根的液质检测方法

Determination of Hypophosphite in blood by LC-MS/MS

张小刚¹, 王学虎², 杨总¹, 刘冰洁¹

Zhang Xiaogang¹, Wang Xuehu², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹

¹ SCIEX (中国); ²江苏省公安厅物证鉴定中心

¹ SCIEX China; ² Institute of Forensic Science Jiangsu Provincial Public Security Bureau

Key words: LC-MS/MS, Hypophosphite, blood

引言

磷化铝作为一种熏蒸毒药, 大多存在于粮食谷物、干货等熏蒸所使用的除虫剂中, 该化合物遇水或者吸收空气中湿气会发生分解反应释放出磷化氢气体。磷化铝常见中毒情况有两种, 一种是误服磷化铝在胃酸的作用下释放出有毒气体磷化氢, 一种是人处于密闭空间吸入磷化氢而导致中毒身亡, 其中儿童更加不耐受。磷化氢进入血液后氧化 (I 相代谢) 转变成次磷酸根和亚磷酸根, 最终转变成磷酸根而排出体外。其中次磷酸根可以被认为磷化氢在人体的标记代谢物, 因为正常人体内存在磷酸根, 环境中存在亚磷酸根, 但空白人体血液中不存在次磷酸根。基于此本文采用SCIEX液相色谱串联三重四极杆质谱建立了血液中次磷酸根的快速定量分析检测方法, 为磷化铝中毒事件提供了简单快速的解决方案。

1 实验方法

1.1 前处理条件

取0.2mL血样于2 mL离心管中, 加入0.2 mL水及1mL乙腈, 涡旋提取2 min, 12000 r/min 离心3 min。取上清液加入1 mL二氯甲烷, 涡旋混匀, 再以12000 r/min 离心3 min, 取上层过0.22 μ m滤膜, 待测。

1.2 液相色谱条件

色谱柱: 等同HILIC (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.6 μ m) 色谱柱

流动相: A: 水 (含10 mM甲酸铵); B: 乙腈

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40 $^{\circ}$ C

梯度洗脱条件: 见表1

表1. 液相梯度洗脱条件

时间(min)	A (%)	B (%)
0	8	92
0.5	8	92
4	50	50
6	50	50
6.1	8	92
8	8	92

1.3 质谱条件

扫描模式: ESI源, 负离子模式; 化合物参数见表2

离子源参数:

气帘气CUR (psi): 20 温度TEM ($^{\circ}$ C): 500

碰撞气CAD (psi): 8 雾化气GS1 (psi): 45

喷雾电压IS (V): -4500 辅助雾化气GS2 (psi): 40

表2. 离子对参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能 (eV)
次磷酸 1	65.0	62.9	-40	-22
次磷酸 2	65.0	65	-40	-10

2 实验结果

2.1 色谱质谱条件优化

通过比较甲醇、乙腈、添加铵盐浓度等流动相组合，确定以10 mM甲酸铵水溶液和乙腈作为本实验的流动相次磷酸可以得到较好的检测灵敏度和色谱峰型；并对源参数用流动注射分析（FIA）优化，得到合适的源参数从而实现最佳灵敏度。次磷酸的提取离子流图见图1。

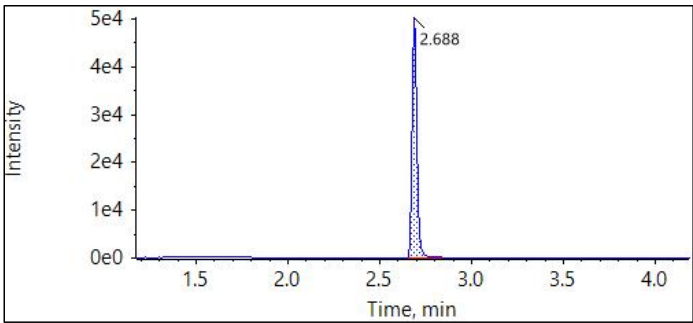


图1. 次磷酸的提取离子流图

2.2 线性回归方程

本方法采用空白血样基质匹配曲线，结果表明在5-200 ng/mL 浓度范围内回归系数达到0.9995以上，线性良好，见图2。

2.3 回收率与精密度

利用6个不同来源的空白血基质加标来考察不同血样对提取回收率及精密度的影响，结果如表3所示。从结果可以看出，不同血样对提取回收率和精密度有一定的影响，但总体回收率在70%-135%间，相对标准偏差均小于10%，可以满足日常检测需求。

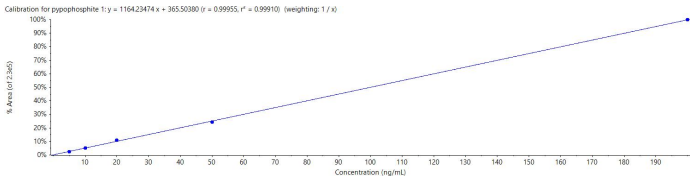


图2. 次磷酸的基质匹配标准曲线

表3. 次磷酸回收率与精密度

样本编号	回收率(%)	相对标准偏差(%)
1#	70.68	2.50
2#	92.81	2.43
3#	78.36	4.75
4#	134.5	1.68
5#	99.84	7.80
6#	74.14	7.63

2.4 实际样本测试

对获得的2例次磷酸中毒血液按照1.1的方法进行测定，结果分别为107.8 ng/mL及119.9 ng/mL，符合磷酸铝中毒后血液中次磷酸的浓度水平。

3 小结

本文建立了血液中次磷酸的液质测定方法。前处理简单快捷，节省了样品处理时间和人员成本。次磷酸在5-200 ng/mL浓度范围内线性良好，回归系数达到0.9995以上，加标回收在70 %-135 %间，精密度在10 %以内，满足检验需求，为磷酸铝中毒确证提供参考。

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。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35437-A