

同位素稀释超高效液相色谱串联质谱测定 尿液中苯系物和三氯乙烯代谢产物

朱婧¹ 李妍¹ 雍莉² 郑波¹ 邹晓莉^{*1} 刘珍³

¹(四川大学华西公共卫生学院卫生检验教研室, 成都 610041)

²(四川省疾病预防控制中心, 成都 610041) ³(四川大学华西第二医院出生缺陷中心, 成都 610041)

摘要 建立同位素内标稀释,超高效液相色谱串联质谱(Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定尿中苯系物和三氯乙烯代谢产物的方法,并用于孕妇尿样的分析。尿样过经含同位素内标的醋酸铵缓冲液稀释10倍后,过滤,取滤液进样分析。采用C₁₈色谱柱,梯度洗脱进行UPLC分离,电喷雾负离子扫描多反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM)模式检测。方法检出限在0.0350~1.75 μg/L之间,方法的日内和日间精密度分别为1.2%~9.1%和2.0%~9.7%;用所建立的方法测定了650个孕妇尿液样品,并统计分析了其地区差异,加标回收率为85.0%~104%。所建立的方法快速灵敏,适合尿液样品的批量分析。

关键词 同位素稀释; 超高效液相色谱串联质谱; 苯系物; 三氯乙烯; 代谢物; 尿液

1 引言

苯系物主要包括苯、甲苯、二甲苯、乙苯和苯乙烯等物质,在化工、建筑等领域应用广泛,主要对人体皮肤粘膜、中枢神经、造血功能等造成损害。其中,苯已经被世界卫生组织确定为强致癌物。三氯乙烯(Trichloroethylene, TCE)是一种优良的溶剂,广泛用于金属清洗、干洗剂、杀虫剂和萃取剂等。三氯乙烯对中枢神经系统有麻醉作用,亦可引起肝、肾、心脏等损害^[1]。近年来,苯系物和三氯乙烯的污染问题受到人们的广泛关注。特别是孕期接触苯系物、三氯乙烯的孕妇,自然流产及发生先天畸形的危险性增高^[2]。在对这些物质进行环境监测的同时,生物监测也十分必要,通过对生物监测指标的测定,可以在一定程度上说明人体对有害物质的接触水平。

苯系物的生物监测指标各不相同,苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯和乙苯的生物监测指标通常分别为苯巯基尿酸(苯酚、反式-反式粘糠酸)、马尿酸、甲基马尿酸(Methylhippuric acid, MHA)、苯乙醛酸(Phenylglyoxylic acid, PGA)和苯乙醇酸(Mandelic acid, MA)。三氯乙烯的生物监测指标为三氯乙酸(Trichloroacetic acid, TCA)。其中,因在评价低浓度苯接触时,苯巯基尿酸(S-phenylmercapturic acid, SPMA)个体差异影响较小,用于生物监测具有较为明显的优势^[3,4],因此实验选择了苯巯基尿酸作为苯的监测指标。此外,马尿酸是甲苯的非特异产物,2013年美国政府工业卫生家协会(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)已经取消其作为甲苯的生物监测指标,因此实验采用了它的特异性产物N-乙酰基-S-苯基-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(benzyl)-L-cysteine, BMA)作为监测对象;三氯乙酸亦非是三氯乙烯的特异性产物,因此增加检测了它的特异性代谢产物N-乙酰基-S-(1,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 1,2-DCVMA)、N-乙酰基-S-(2,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(2,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 2,2-DCVMA)。

目前,我国职业卫生标准中,这些生物监测指标都是分别进行检测,多用高效液相色谱法^[5~7]、气相色谱法^[8~10]和分光光度法^[11],但生物样品基质通常较为复杂,用这些方法进行检测,样品基质干扰会造成准确度和灵敏度的下降。结合UPLC的高分离效率和快速及串联质谱检测的高特异性的UPLC-MS/MS在痕量测定领域得到了广泛应用,极大地提高代谢产物测定的灵敏度和准确度。

2015-06-17 投稿; 2015-10-21 接受

本文系国家重点基础研究发展计划(No. 2010CB529502)资助

* E-mail: zouxi_1113@163.com

为了同时测定尿样中苯系物和三氯乙酸的代谢物,且适应尿中基体复杂、含量低的特点,本实验采用超高效液相色谱-串联质谱法,以同位素内标进行基质效应校正,建立简单快速同时测定尿样中苯系物和三氯乙酸代谢物的方法,与文献[5~11]相比,检出限降低2~3个数量级,更有利于痕量分析,为暴露人群的生物监测提供了有力的检测手段。将所建立的方法用于各地孕妇尿样的检测,初步分析了不同地区孕妇的暴露水平差异。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Acquity 超高效液相色谱仪(UPLC,美国 Waters 公司),3200Q TRAP 联用质谱仪(LC/MS/MS System, 美国 AB SCIEX 公司)。

标准品(纯度 $\geq 98\%$): 苯巯基尿酸(S-phenylmercapturic acid, SPMA, 购自东京化成工业株式会社); N-乙酰基-S-苯基-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(benzyl)-L-cysteine, BMA)、N-乙酰基-S-(1,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 1,2-DCVMA)、N-乙酰基-S-(2,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸(N-acetyl-S-(2,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 2,2-DCVMA), 购自 Toronto Research Chemicals 公司; 苯乙醛酸(Phenylglyoxylic acid, PGA)、苯乙醇酸(Mandelic acid, MA), 购自 Aladdin Chemistry 公司; 三氯乙酸(Trichloroacetic acid, TCA)、甲基马尿酸(Methylhippuric acid, MHA,)、三氟乙酸(Trifluoroacetic acid, TFA), 均购于 Sigma 公司。

同位素内标: DL-S-phenylmercapturic-3,3-d₂ Acid(SPMA-d₂, CDN Isotopes 公司); N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine-¹³C, d₃(1,2-DCVMA-¹³C, d₃)、N-acetyl-S-(2,2-dichlorovinyl)-L-cysteine-¹³C, d₃(2,2-DCVMA-¹³C, d₃)、N-acetyl-S-(benzyl-¹³C₆)-L-cysteine (BMA-¹³C₆), 均购于 Toronto Research Chemicals 公司。

甲醇、乙腈均为色谱纯; 醋酸铵(优级纯)。实验用水为超纯水(由 Millipore Synergy 185 超纯水机制得, 18.2 M Ω ·cm)。标准溶液配制: 分别准确称取适量的各标准品, 用甲醇溶解 SPMA, MA, DCVMA 和 BMA; 水溶解 MHA, PGA 和 TCA, 配制成 1.0 mg/mL 的标准储备溶液。取上述标准储备液适量, 用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液稀释成适合浓度的混合标准中间应用液, 测定前, 用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液(含内标物质)稀释成混合标准系列溶液(见 2.2.3 节)。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件 C₁₈柱(50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m, 美国 Waters 公司), 柱温 40 $^{\circ}$ C, 进样体积 10 μ L。流动相为 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液和乙腈, 梯度洗脱, 流动相和流速的洗脱程序见表 1。

2.2.2 质谱条件 负离子模式; 多反应模式(Multiple reaction monitoring mode, MRM); 离子源电压 -4400 V; 离子源温度 400 $^{\circ}$ C; 雾化气 345 kPa; 辅助雾化气 310 kPa; 气帘气 207 kPa; 进口电压 -10 V; 出口电压 -10 V; 驻留时间 100 ms。待测物和内标物质质谱条件及其母/子离子见表 2。

2.2.3 标准曲线的绘制 用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液(内含各内标物质浓度为 10~100 ng/mL)将上述混合标准中间应用液分别稀释为 SPMA, PGA, TCA, BMA, DCVMA 浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200 和 500 ng/mL, 以及 MA, MHA 浓度为 5, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 和 1000 ng/mL 的混合标准系列溶液, 进样 10 μ L 分析。以各待测物的浓度作为横坐标, 待测物峰面积和内标物峰面积的比值或待测物峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程和相关系数。

表 1 色谱梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program of UPLC

时间 Time (min)	流速 Flow rate (μ L/min)	15 mmol/L 醋酸铵缓冲液 15 mmol/L ammonium acetate buffer(%)	乙腈 Acetonitrile (%)
0	250	98	2
2	300	95	5
3	300	90	10
5	300	70	30
6	300	60	40
7	300	80	20
7.5	300	90	10
8	300	98	2
9	250	98	2

表 2 待测物和内标物质谱条件及其母/子离子

Table 2 Mass spectrometric parameters for target compounds and their internal standards

待测物名称 Compounds*	母离子 Parent ion (<i>m/z</i>)	子离子 Daughter ion (<i>m/z</i>)	去簇电压 Declustering potential (V)	碰撞能 Collision energy (eV)
SPMA	238	109	-42	18
MHA	192	148	-45	22
BMA	252	123	-35	20
MA	151	107	-33	14
PGA	149	77	-20	15
TCA	161	117	-20	10
1,2-DCVMA	257	127	-20	10
2,2-DCVMA	257	127	-20	14
SPMA- <i>d</i> ₃	240	109	-42	18
1,2-DCVMA- <i>d</i> ₃	261	127	-20	10
2,2-DCVMA- <i>d</i> ₃	261	127	-20	14
BMA- ¹³ C ₆	258	84	-35	20
TFA	113	69	-20	10

* Full name of the compounds see Fig. 1.

2.2.4 样品的采集与处理 尿样采集后立即放入冷冻小瓶, -70℃ 贮存。

取尿样解冻,用 HPLC 方法测定肌酐浓度(WS/T98-1996),肌酐浓度超过 0.3 ~ 3.0 g/L 的范围,尿样舍弃,符合此浓度范围,用于检测,测定结果同时进行肌酐校正。

尿样经 15000 r/min 离心 5 min,取上清液,以 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液稀释 10 倍(缓冲液中含待测物同位素内标),过滤,取滤液上样测定。

2.2.5 空白尿液样品 分别称取氯化钠、磷酸氢二胺、硫酸钾、尿素、肌酐试剂 12.5, 4.05, 1.74, 25.0 和 1.20 g,溶于 1000 mL 纯水,配制成模拟空白尿样^[2]。按照 2.2.4 节进行样品前处理后进行 UPLC/MS/MS 分析,用于基质效应的评价。

3 结果与讨论

3.1 质谱条件的确定

分别配制浓度为 100 μg/mL 的标准溶液和内标溶液,采用全扫描方式,利用针泵以 20.0 μL/min 流速进样,循环 10 次后,分别确定其母离子。在优化的最佳锥孔电压和碰撞能量条件下,进行子离子的选择。MSM 方式下选择用于分析的母离子和子离子见表 2。

3.2 色谱条件的确定

实验考察了甲醇-甲酸、乙腈-甲酸、甲醇-醋酸铵、乙腈-醋酸铵 4 种流动相体系下,各待测物质的色谱响应。结果表明,各待测物质以乙腈-醋酸铵作为流动相时分离更好,响应更高。

固定乙腈-醋酸铵体积比为 20:80,流速为 300 μL/min,实验在 5 ~ 20 mmol/L 范围内研究了流动相中醋酸铵浓度的影响,结果表明,在流动相中加入适量的醋酸铵能提高待测物的离子化效率,利于待测物的分子离子化,从而改善了色谱峰的峰形,提高了灵敏度。当醋酸铵浓度为 15 mmol/L 时,响应值较高且稳定。实验选择乙腈-15 mmol/L 醋酸铵为流动相,并考察流动相比比例,乙腈-醋酸铵体积比为 20:80 时,DCVMA 保留时间已经大于 30 min,而 TFA 保留时间小于 0.5 min,因此采用梯度洗脱以得到合适的分析时间,优化梯度洗脱条件,程序见表 1。在选定色谱和质谱条件下得到的标准溶液色谱图见图 1。

3.3 样品前处理

为减少饮水量和排汗量的影响,采样后需尽快测定尿肌酐含量。肌酐浓度超过 0.3 ~ 3.0 g/L 的范围,尿样舍弃,符合此浓度范围,用于待测物检测。

在实验所建立的方法下,各待测物质的检出限在 0.035 ~ 1.75 μg/L 之间,其灵敏度满足了暴露人群的接触水平的检测。实验平衡了方法灵敏度与大批量分析检测的实际工作要求,同时为了最大限度保证同时测定大批量尿样的准确度,采用了稀释进样的样品处理方式代替浓缩的样品处理方式。结果

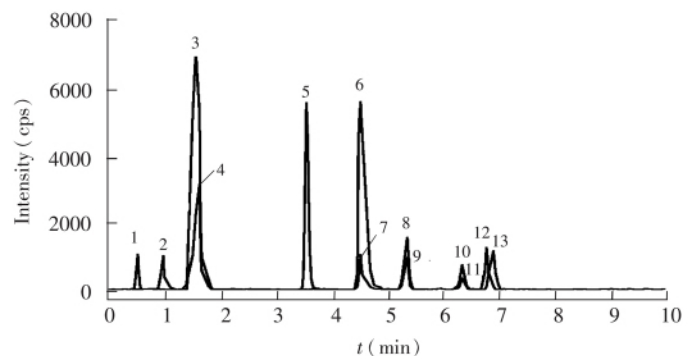


图 1 混合标准溶液色谱图

Fig. 1 Chromatogram of mixed standard solution

1. 三氟乙酸 (Trifluoroacetic acid, TFA); 2. 苯乙醇酸 (Mandelic acid, MA); 3. 苯乙醛酸 (Phenylglyoxylic acid, PGA); 4. 三氯乙酸 (Trichloroacetic acid, TCA); 5. 甲基马尿酸 (Methylhippuric acid, MHA); 6. 苯巯基尿酸 (S-phenylmercapturic acid, SPMA); 7. 苯巯基尿酸- d_2 (DL-S-phenylmercapturic-3,3- d_2 Acid, SPMA- d_2); 8. N-乙酰基-S-苯基-L-半胱氨酸 (N-acetyl-S-(benzyl)-L-cysteine, BMA); 9. N-乙酰基-S-苯基-L-半胱氨酸- $^{13}C_6$ (N-acetyl-S-(benzyl- $^{13}C_6$)-L-cysteine, BMA- $^{13}C_6$); 10. N-乙酰基-S-(1,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸 (N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 1,2-DCVMA); 11. N-乙酰基-S-(1,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸- $^{13}C, d_3$ (N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine- $^{13}C, d_3$ (1,2-DCVMA- $^{13}C, d_3$); 12. N-乙酰基-S-(2,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸 (N-acetyl-S-(2,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, 2,2-DCVMA); 13. N-乙酰基-S-(2,2-二氯乙烯基)-L-半胱氨酸- $^{13}C, d_3$ (N-acetyl-S-(2,2-dichlorovinyl)-L-cysteine- $^{13}C, d_3$ (2,2-DCVMA- $^{13}C, d_3$))

表明,10 倍的稀释能够获得最小的离子抑制,并且保持合适的灵敏度,此外,少于 2% 的样品在分析过程中出现了离子抑制的现象,继续稀释能够解决此问题,同时得到更优的分析结果。稀释液用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液最佳,在其中即便加少量的甲醇也会使得测定灵敏度下降,峰形展宽且拖尾,这对出峰靠前的待测物影响尤为显著。

据文献 [3] 报道,苯系物的代谢产物前体 pre-SPMA 在酸性条件下能转化成 SPMA,但实验发现,采用强酸水解尿样,会使 SPMA 以外的分析物的稳定性降低,故省略了此步骤。

因此,尿样经肌酐校正后,15000 r/min 离心 5 min,取上清液用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液稀释 10 倍后,直接进样分析。

3.4 基质效应

为检测基质效应,将 6 份模拟空白尿样品按 2.2.5 节处理后,加入 50 ng/mL 混合标准溶液,进样分析。与用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液配制的同样浓度的混合标准溶液测定的信号强度比较,计算各待测物的基质效应因子 (Matrix factor, MF) [4],其中 MHA、MA、PGA 的基质效应较小,MF 在 95% ~ 105% 范围内,而 TCA、SPMA、BMA 和 DCVMA 的基质效应对定量结果有显著影响,主要表现为使测定结果偏低,MF 在 30% ~ 40% 范围内,为了获得更为准确的定量测定结果,实验对 SPMA、BMA 和 DCVMA 采用了同位素内标进行基质效应的校正 (TCA 同位素内标纯度达不到要求,仅为 97%,实验采用三氟乙酸 (Trifluoroacetic acid, TFA) 作为其内标物进行基质效应的校正),通过内标校正,MF 可控制在 90% ~ 110% 范围内。

3.5 方法指标

3.5.1 线性范围和检出限 用 15 mmol/L 醋酸铵缓冲液配制成混合标准系列应用液,按照 2.2.3 节绘制标准曲线。实验结果表明,待测物 SPMA, PGA, TCA, BMA 和 DCVMA 分别在 0.1 ~ 500 ng/mL 浓度范围内,MA、MHA 在 5 ~ 1000 ng/mL 浓度范围内,线性良好,相关系数 ≥ 0.997 。以 3 倍基线噪声所对应的浓度计算检出限,尿样稀释 10 倍处理,各待测物的方法检出限在 0.035 ~ 1.75 $\mu\text{g/L}$ 范围内。

3.5.2 精密度 在本实验条件下,使用 5 ng/mL 混合标准溶液在同一天内重复进样 6 次和连续 6 d 进样测定,内标校正计算其响应值的 RSD 考察仪器的日内和日间精密度,测定结果分别为 1.3% ~ 5.9%

和 2.1% ~ 6.4%。

3.5.3 加标回收率和精密度 在方法的线性范围内,于相同的尿样中分别加入低、中、高 3 个浓度的混合标准溶液,分别计算加标回收率,结果如表 3 所示,方法的回收率为 85.0% ~ 104%。样品的日内和日间精密度(RSDs, $n=5$) 分别为 1.2% ~ 9.1% 和 2.0% ~ 9.7%。

表 3 加标回收率($n=5$)

Table 3 Recoveries of spiked samples ($n=5$)

待测物 Compounds	本底值 Background ($\mu\text{g/L}$)	加标量 Added ($\mu\text{g/L}$)	测定值 Detected ($\mu\text{g/L}$)	回收率 Recoveries (%)	待测物 Compounds	本底值 Background ($\mu\text{g/L}$)	加标量 Added ($\mu\text{g/L}$)	测定值 Detected ($\mu\text{g/L}$)	回收率 Recoveries (%)
SPMA	10.8	5	15.1	86.0	DCVMA	8.4	4.0	12.3	98.0
		10	20.2	94.0			8.0	16.5	101
		20	30.9	101			12.0	19.7	94.2
PGA	102	50	146.9	89.8	MA	466	200	657.5	95.8
		100	203.7	102			400	848.6	95.7
		200	310.4	104			600	988.3	87.1
TCA	22.8	10	31.5	87.0	MHA	159	100	260.9	102
		20	39.8	85.0			200	361.7	101
		50	73.6	102			300	471.8	104
BMA	40.5	20	60.3	99.0					
		40	79.8	98.3					
		80	121	101					

3.6 实际样品分析

随机采集各地医院的孕妇尿样,用所建立的方法测定了深圳、南宁、成都、福州、石家庄、西安等地区 650 例孕妇尿样中苯系物和三氯乙烯代谢物的含量,并对测定值进行统计分析。通过正态性检验, $p<0.05$, 说明各样本所代表的总体不满足正态分布,故采用非参数检验-Bonferroni 校正的两两比较法。首先进行各指标的总体比较,各地区的各指标中位数和统计结果如表 4 所示。当 $p>0.05$,尚不能认为各地区孕妇尿样中相应指标具有差异;当 $p<0.05$,可以认为各地区孕妇尿样中相应指标具有差异,经成对比较得出两地区间的差异。

表 4 各地区孕妇尿样中苯系物和三氯乙烯代谢物的中位值和 p 值

Table 4 Statistic analysis of urine samples of pregnant women in different regional

待测物 Compounds	深圳 Shenzhen	南宁 Nanning	成都 Chengdu	福州 Fuzhou	石家庄 Shijiazhuang	西安 Xi'an	p
SPMA($\mu\text{g/g, cr}$)	4.42	3.10	4.59	3.94	3.54	2.39	>0.05
PGA($\mu\text{g/g, cr}$)	589	537	641	578	600	655	>0.05
MHA($\mu\text{g/g, cr}$)	860	1121	1005	1017	834	831	>0.05
MA(mg/g, cr)	17.4	21.5	8.86	15.2	30.8	9.63	<0.05
TCA($\mu\text{g/g, cr}$)	52.7	23.6	11.1	38.5	30.2	10.3	<0.05
DCVMA($\mu\text{g/g, cr}$)	8.30	7.76	7.03	6.28	6.81	10.2	<0.05
BMA($\mu\text{g/g, cr}$)	107.9	95.3	133	152	115	90.0	<0.05

经成对比较,得出石家庄地区孕妇尿样中 MA 值分别与深圳、西宁、成都、福州、西安地区有明显差异,石家庄地区孕妇尿样中的 MA 值明显高于上述 5 个地区;深圳地区孕妇尿样中 MA 含量高于西安地区孕妇尿样中 MA 含量。

深圳地区孕妇尿样中 TCA 值分别与西宁、成都、福州、石家庄、西安有明显差异,深圳地区孕妇尿样中的 TCA 值明显高于以上地区;此外,福州地区孕妇尿样中 TCA 含量高于西宁、成都、西安地区孕妇尿样中 TCA 含量。

福州地区孕妇尿样中 DCVMA 值分别与深圳、西宁、西安地区有明显差异,福州地区孕妇尿样中的 DCVMA 值低于以上 3 个地区;石家庄地区孕妇尿样中 DCVMA 含量低于深圳、西安地区孕妇尿样中 DCVMA 含量。

福州地区孕妇尿样中 BMA 值分别与深圳、西宁地区有明显差异,福州地区孕妇尿样中的 BMA 值高于以上 2 个地区。

综上,在各地区孕妇尿样中苯系物和三氯乙酸的代谢产物含量差异比较中,尚不能认为各地区孕妇尿样中 SPMA、PGA、MHA 值具有差异;各地区之间孕妇尿样中 MA、TCA、DCVMA、BMA 含量分别具有一定的差异,其中福州、石家庄、深圳地区含量较高,可能与其城市的工业发展状况、城市环境污染有一定的关系。

References

- 1 CHEN Wen, XU Lei, DENG Li-Xia, LI Fang-Hong, YANG Xing-Fen, ZHENG Chang-Liang, CHEN Gang. *Chin. Occup. Med.*, **2000**, 27(5): 9-11
陈雯, 徐雷, 邓丽霞, 李方红, 杨杏芬, 郑创亮, 陈刚. *中国职业医学*, **2000**, 27(5): 9-11
- 2 LI Xing-Hu, WANG Jin-Feng, ZHENG Xiao-Ying, ZHANG Ke-Li. *Chin. J. Public Health*, **2005**, 21(10): 1158-1160
李新虎, 王劲峰, 郑晓瑛, 张科利. *中国公共卫生*, **2005**, 21(10): 1158-1160
- 3 Boogarrrd P J, Van Sittert N J. *Environ. Health Perspect.*, **1996**, 104(6): 1151-1157
- 4 Qu Q, Melikian A A, Li G, Shore R, Chen L, Cohen B, Yin S, Kagan M R, Li H, Meng M, Jin X, Winnik W, Li Y, Mu R, Li K. *Am. J. Ind. Med.*, **2000**, 37(5): 522-531
- 5 Inoue O, Kanno E, Yusa T, Kakizaki M, Watanabe T, Higashikawa K, Ikeda M. *Biomarkers*, **2001**, 6(3): 190-203
- 6 Laffon B, Lema M, Mendez J. *J. Chromatogr. B*, **2001**, 753(2): 385-393
- 7 Schad H, Schafer F, Weber L, Seidel H J. *J. Chromatogr. A*, **1992**, 593(1-2): 147-151
- 8 LIU Yun-Fu, TAN Guang-Hui. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, **2013**, 23(3): 625-627
刘云富, 谭广辉. *中国卫生检验杂志*, **2013**, 23(3): 625-627
- 9 DU Hong, KONG Yu-Mei, WANG Ping, DU Guang-Yu. *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, **2000**, 12(6): 33-34
杜宏, 孔玉梅, 王平, 杜广玉. *环境监测管理与技术*, **2000**, 12(6): 33-34
- 10 LIU Ming-Ren, YANG Xue-Yu, WANG Li, ZHANG Zhao-Liang. *Environmental Science and Technology*, **2011**, 34(11): 135-138
刘明仁, 杨学雨, 王力, 张昭良. *环境科学与技术*, **2011**, 34(11): 135-138
- 11 LIU Wen-Jun, DUAN Ai-Ling, GAO Lan-Zhen. *Gansu Environmental Study and Monitoring*, **2000**, 13(4): 195-197
刘文君, 段爱玲, 高兰珍. *甘肃环境研究与监测*, **2000**, 13(4): 195-197
- 12 SUN Chen-Jun. *Biomaterials Inspection*, Beijing: People's Medical Publishing House, **2006**: 193
孙成均主编. *生物材料检验*, 北京: 人民卫生出版社, **2006**: 193
- 13 Sterz K, Kohler D, Schettgen T, Scherer G. *J. Chromatogr. B*, **2010**, 878(27): 2502-2505
- 14 van Eeckhaut A, Lanckmans K, Sarre S, Smolders I, Michotte Y. *J. Chromatogr. B*, **2009**, 877(23): 2198-2207

Determination of Metabolites of Benzene Compounds and Trichloroethylene in Urinary by Isotope Dilution-Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHU Jing¹, LI Yan¹, YONG Li², ZHENG Bo¹, ZOU Xiao-Li^{*1}, LIU Zhen³

¹(Department of Laboratory Technology and Science of Public Health, West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

²(Center for Disease Control and Prevention of Sichuan Province, Chengdu 610041, China)

³(National Center for Birth Defect Monitoring, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract A method for simultaneous determination of metabolites of benzene compounds and

trichloroethylene in pregnant urine by isotope dilution-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was established. Urine samples were diluted 10 times with ammonium acetate buffer containing working mixed internal standard and the filtrate was injected into UPLC/MS/MS for analysis. UPLC-MS/MS was performed on Waters C₁₈ column and the gradient elution was used for separation. The negative electrospray ionization (ESI) source under the multiple reaction monitoring (MRM) mode was used for quantitative analysis. The limits of detection (LOD) ranged from 0.0350 µg/L to 1.75 µg/L. The inter-day and intra-day precisions of method were 1.2%–9.1% and 2.0%–9.7%, respectively. The proposed method was applied on detecting 650 urine samples of pregnant women in different region and the results were analyzed by statistical method. The spiked recoveries were in the range of 85.0%–104%. The method was quick, sensitive and suitable for batch analysis of urine samples.

Keywords Isotope dilution; Ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry; Benzene compounds; Trichloroethylene; Metabolite; Urinary

(Received 17 June 2015; accepted 21 October 2015)

This work was supported by the State Key Development Program for Basic Research of China (No. 2010CB529502)

2016 国际微流控芯片与微纳尺度生物分离分析学术会议(兰州) /
第十届全国微全分析系统学术会议 /
第五届全国微纳尺度生物分离分析学术会议(第一轮通知)

由中国化学会主办,兰州大学承办,南京大学、复旦大学、浙江大学协办的 2016 国际微流控芯片与微纳尺度生物分离分析学术会议(兰州)、第十届全国微全分析系统学术会议、第五届全国微纳尺度生物分离分析学术会议定于 2016 年 5 月 6 日至 5 月 9 日在兰州召开。会议将邀请六十余名国内外知名学者作邀请报告。此次会议旨在为从事相关领域基础、应用和开发研究的学者提供广泛多学科交叉的学术交流平台,突出"绿色、环保和可持续"理念,促进相关学科的深入发展。会议采用大会报告、专题报告、邀请报告、口头报告、墙报等交流形式。组委会热忱欢迎您踊跃投稿并到会交流。会议欢迎国内外相关分析仪器公司、厂商到会介绍和展出产品。

会议主题

(1) 微流控学与纳流控学; (2) 微全分析系统; (3) 毛细管电泳; (4) 毛细管电色谱; (5) 高效液相色谱或超效液相色谱; (6) 微纳生物分析; (7) 与上述技术联用的检测技术如光谱、质谱和电化学技术等; (8) 上述技术与系统在化学、生物、医学、药学、环境和食品安全等领域中的应用。

网上注册及征文信息

为便于安排和统计参会人数,请拟参会的代表于 2016 年 3 月 31 日前登陆 <http://microtas2016.lzu.edu.cn> 进行网上注册,有关征文信息详见网页。

联系方式

会议网址: <http://microtas2016.lzu.edu.cn>

联系人: 蒲巧生电话: 13028796293 Email: microtas2016@lzu.edu.cn、puqs@lzu.edu.cn