

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2021111902

卢柏灵, 蔡利梅, 刘思, 等. 液相萃取-气相色谱-质谱法快速分析血清中有机磷酸酯类三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯(AO1680)和2,4-二叔丁基苯基(2,4DtBP) [J]. 环境化学, 2023, 42(4): 1128-1136.

LU Boling, CAI Limei, LIU Si, et al. Rapid determination of tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate (AO1680) and 2,4-di-tert-butylphenyl (2,4DtBP) in human serum by liquid phase extraction - gas chromatography - mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (4): 1128-1136.

液相萃取-气相色谱-质谱法快速分析血清中有机磷酸酯类 三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯(AO1680)和 2,4-二叔丁基苯基(2,4DtBP)*

卢柏灵^{1,2} 蔡利梅^{1,2} 刘思^{1,2} 郭丽琼³ 彭子娟² 王晓丽¹
宋善军^{2**} 李彭辉^{1**}

(1. 天津理工大学, 天津, 300384; 2. 中国计量科学研究院, 北京, 100029; 3. 天津大学, 天津, 300072)

摘要 本研究建立了液相萃取-气相色谱-质谱法快速测定血清中三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯(tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate, AO1680)和2,4-二叔丁基苯基(2,4-di-tert-butylphenyl, 2,4DtBP)血清样品经乙腈提取, 离心分离, 浓缩定容后进行仪器分析. 采用DB-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)色谱柱进行分离, 多重反应监测模式(MRM)进行测定. 结果表明, AO1680在0.8—100 ng·mL⁻¹范围内线性关系良好, 2,4DtBP在0.6—100 ng·mL⁻¹范围内线性关系良好, 相关系数R²分别为0.9992和0.9995; 方法检出限分别为0.4 ng·mL⁻¹和0.2 ng·mL⁻¹; 加标回收率分别为103%和95%, 相对标准偏差(n=5)分别为8.9%和4.7%. 采用本方法对天津市青年人群的66份血清样品进行检测, AO1680的检出率为33%, 2,4DtBP的检出率为98%, 浓度范围分别为ND(未检出)—492.33 ng·mL⁻¹和ND—21.63 ng·mL⁻¹. 本研究所建立的方法适用于快速测定血清中的AO1680和2,4DtBP, 对进一步评估AO1680和2,4DtBP的人体暴露风险具有重要意义.

关键词 气相色谱-串联质谱, 液相萃取, 三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯, 2,4-二叔丁基苯基, 血清.

Rapid determination of tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate (AO1680) and 2,4-di-tert-butylphenyl (2,4DtBP) in human serum by liquid phase extraction - gas chromatography - mass spectrometry

LU Boling^{1,2} CAI Limei^{1,2} LIU Si^{1,2} GUO Liqiong³ PENG Zijuan² WANG Xiaoli¹
SONG Shanjun^{2**} LI Penghui^{1**}

(1. Tianjin University of Technology, Tianjin, 300384, China; 2. National Institute of Metrology, Beijing, 100029, China; 3. Tianjin University, Tianjin, 300072, China)

2021年11月19日收稿(Received: November 19, 2021).

* 国家自然科学基金(21806158), 中国计量科学研究院基本科研业务费(AKY1720), 博士后基金(2020M670667), Environmental and Lifestyle in Metabolic Health Throughout Life-Course Trajectories (ELEFANT, No. TmuhMEC2016022) 和中新天津生态城2019年度科技型中小企业升级专项项目资助.

Supported by The National Natural Science Foundation of China (21806158), Fundamental Research Funds of National Institute of Metrology, China (AKY1720), China Postdoctoral Science Foundation (2020M670667), Environmental and Lifestyle in metabolic health throughout life-course trajectories (ELEFANT, No. TmuhMEC2016022) and China-Singapore Tianjin Eco-City 2019 Project for Technological Enterprises Upgrading.

** 通信联系人 **Corresponding author**, Tel: 010-64524787, 022-60214996; E-mail: songsj@nim.ac.cn; lipenghui406@163.com

Abstract A liquid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry method was established for rapid determination of tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate (AO168O) and 2,4-di-tert-butylphenyl (2,4DtBP) in human serum. The samples were extracted by acetonitrile and the supernatant was centrifuged and concentrated for further instrumental analysis. The separation was performed on a DB-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) column, and the determination was performed in multiple reaction monitoring mode (MRM). The results showed good linearity for AO168O and 2,4DtBP, in the range of 0.8—100 ng·mL⁻¹ and 0.6—100 ng·mL⁻¹, respectively. The correlation coefficient of AO168O and 2,4DtBP were 0.9992 and 0.9995, respectively. The limits of detection for AO168O and 2,4DtBP were 0.4 ng·mL⁻¹ and 0.2 ng·mL⁻¹, respectively. The spiked recoveries (*n*=5) of AO168O and 2,4DtBP were 103% and 95%, and the relative standard deviations (RSDs) were 8.9% and 4.7%, respectively. The method was applied to the determination of AO168O and 2,4DtBP in 66 serum samples from a young population in Tianjin, China. The detection frequencies of two analytes were 33% and 98%. The concentrations of AO168O and 2,4DtBP ranged from not detected (ND) to 492.33 ng·mL⁻¹ and ND to 21.63 ng·mL⁻¹, respectively. The method is suitable for rapid determination of AO168O and 2,4DtBP in human serum and is important for further risk assessment of human exposure.

Keywords gas chromatography-mass spectrometry, liquid phase extraction, AO168O, 2,4DtBP, serum.

有机亚磷酸酯抗氧化剂(organophosphite antioxidants, OPAs)被广泛用于印刷油墨、塑料、石油、个人护理产品甚至食品中,以延缓氧化反应并延长其保质期^[1]。其中,亚磷酸三(2,4-二叔丁基苯基)酯(tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite, AO168)能够显著提高聚合物的稳定性并延长使用寿命,被广泛应用于聚丙烯(PP)、聚乙烯(PE)、苯乙烯及其共聚物等高分子材料中^[2-3]。在美国,AO168的年产量为4536—22680 t^[4]。2020年,在中国的PP和PE塑料制品中,AO168的添加量为63 t^[3]。研究表明,AO168的大鼠急性注射毒性LD₅₀≥2000 mg·kg⁻¹,并且在生产和使用过程中,AO168主要转化为三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯(tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate, AO168O)和2,4-二叔丁基苯基(2,4-di-tert-butylphenyl, 2,4DtBP)(结构式见图1)^[5]。

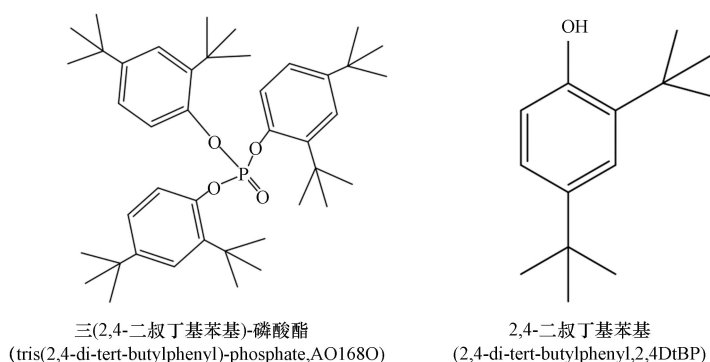


图1 AO168O和2,4DtBP的化学结构式

Fig.1 Structures of AO168O and 2,4DtBP

近年来,AO168O和2,4DtBP在大气颗粒物^[6]、室内灰尘^[7]和日常用品^[8-9]中广泛检出,受到了越来越多的关注^[10]。AO168作为抗氧化剂^[11],在塑料生产过程使用过程中不断被消耗^[12-13],AO168O的含量逐渐上升^[14]。进入环境中的AO168也可能通过生物和非生物途径降解,导致AO168O和2,4DtBP在环境中检出^[14]。毒理学研究表明,2,4DtBP能够与雌激素受体结合,减少17β-E刺激细胞的生长,具有内分泌干扰作用^[15-16]。虽然AO168O的毒理学机理尚未明确,但通过呼吸暴露和皮肤暴露途径进入人体的每日摄入量(estimated daily intake, EDI)计算结果表明,其对人体健康产生的潜在风险仍不容忽视^[4,17]。

血清作为评估有机污染物人体内暴露的重要介质,可以反映污染物对人体长时间的暴露水平^[18].目前,有关血清中 AO1680 和 2,4DtBP 的研究较少,相应的分析方法及人体健康风险也未见报道.因此,开发血清中 AO1680 和 2,4DtBP 的分析方法,对评估 AO1680 和 2,4DtBP 人体暴露水平及潜在的健康风险具有重要意义.

目前, AO1680 和 2,4DtBP 的分析方法主要有气相色谱-质谱法(GC-MS/MS)^[5-6]和液相色谱-质谱法(LC-MS/MS)^[19].本研究基于 GC-MS/MS 检测,通过对液相萃取和固相萃取方法的优化和比较,建立了血清中 AO1680 和 2,4DtBP 的前处理方法,并对采集自天津市部分青年人群的 66 份血清样品进行测定,验证了方法在实际样品分析中的可行性.该方法可为评估 AO1680 和 2,4DtBP 的人体健康风险提供技术支持.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 试剂与材料

正己烷、二氯甲烷(色谱纯,美国 Honeywell 公司);甲醇、乙腈、乙酸乙酯(色谱纯,美国 Merck 公司); AO1680 标准品(纯度:95%;加拿大 Toronto Research Chemicals 公司); 2,4DtBP 标准品(纯度:99%,美国 Sigma-Aldrich 公司);内标 TPHP-d15(纯度:98.8%,天津阿尔塔科技有限公司); Oasis HLB 固相萃取柱(200 mg, 6 mL, 美国 Waters 公司); Sprague Dawley 大鼠血清(SD 大鼠血清,上海研尊生物科技有限公司).

1.2 仪器与设备

气相色谱-质谱仪(7890A-7000B, 美国 Agilent 公司),配有电子轰击源(EI);固相萃取设备(美国 Supelco 公司);氮吹仪(美国 Organomation 公司); Milli-Q 纯水仪(美国 Barnstead International 公司);万分之一天平(瑞士 Mettler Toledo 公司).

1.3 血清样品采集及前处理

样品采集:血清样品来源于天津市某医院的备孕男性体检人群,随机选取 66 份血清样品进行测定.受试者均自愿参与本研究项目并签署了《知情同意书》.将全血样品收集在不加抗凝剂的真空采血管中,以 3000 r·min⁻¹ 离心 10 min,采集血清上清液.采集后的血清样品存放在-80 °C 冰箱中冷冻保存直至分析.

前处理分析:将血清样品从-80 °C 冰箱中取出,先置于-20 °C 保存 1 h,然后转移至 4 °C 保存 1 h,最后转移至 25 °C 室温保存 1 h.准确量取 0.5 mL 的血清样品并转移至 10 mL 玻璃离心管中,加入 3 mL 乙腈,振荡 10 min,然后在 3000 r·min⁻¹ 条件下离心 10 min,取出上清液至玻璃试管中,萃取过程重复 3 次.萃取完成后,合并上清液并氮吹浓缩.使用 0.5 mL 正己烷复溶并加入 10 μL 的内标 TPHP-d15 (1 ng·μL⁻¹),使用 GC-MS/MS 进行测定.

1.4 色谱条件与质谱条件

色谱条件: DB - 5MS 色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);不分流进样模式;高纯氦气(99.999%)作为载气;载气流量为 1.5 mL·min⁻¹;进样量为 2 μL;溶剂延迟为 5 min;进样口温度为 280 °C;升温程序:起始温度 80 °C(保持 1 min),升温(15 °C·min⁻¹)至 200 °C,然后升温(30 °C·min⁻¹)至 300 °C(保持 15 min).

质谱条件:电子轰击(EI)离子源(70 eV);离子源和传输线温度均为 280 °C;检测方式为多重反应监测模式(MRM)(具体参数见表 1).

1.5 质量保证和质量控制(QA/QC)

本研究中使用 SD 大鼠血清进行空白及加标实验.为了避免本底污染,实验材料均使用玻璃容器.玻璃容器在使用前依次用超纯水、丙酮和正己烷润洗 3 次,120 °C 烘干后备用.仪器分析前,多次测定纯正己烷监测仪器本底值,确保目标物的本底值低于检出限后进行实际样品测定.对优化后的方法进行性能验证,包括线性范围、检出限、定量限、精密度等.

表 1 3 种目标化合物的质谱参数

Table 1 GC - MS/MS conditions for 3 analytes

序号 No.	化合物 Analytes	保留时间/min Retention time	定性离子 Qualitative ion(<i>m/z</i>)	定量离子 Quantitative ion(<i>m/z</i>)	碰撞能/V CE
1	2,4DtBP	7.8	191.1/163.2	191.1/57.2	10
2	AO1680	20.7	662.2/647.3	662.2/316.3	35
3	TPHP-d15	12.4	341.1/339.2	341.1/243.2	10

2,4DtBP: 2,4-二叔丁基苯酚(2,4-di-tert-butylphenyl); AO1680: 三(2,4-二叔丁基苯基)-磷酸酯(tris(2,4-di-tert-butylphenyl)-phosphate); TPHP-d15: 磷酸三苯酯-d15(Triphenyl phosphate-d15)

1.6 基质效应

基质效应(Matrix effect, ME)指前处理分离时共洗脱的基质成分影响待测组分的离子化效率,导致仪器分析信号的抑制或增强,影响实验测定结果的重复性和准确性^[20-21]。由于 AO1680 和 2,4DtBP 没有相应的同位素内标,因此选择与其结构类似的 TPHP-d15 作为评估基质效应的内标。基质效应使用公式 1 进行计算:

$$ME (\%) = \frac{B}{A} \times 100\% \quad (1)$$

其中, *A* 是纯溶剂中加入 20 μL 内标 TPHP-d15(0.5 ng·μL⁻¹)的峰面积, *B* 是血清样品经过不同前处理步骤后加入 20 μL 内标 TPHP-d15(0.5 ng·μL⁻¹)的峰面积。ME 为 90% 以下时,基质效应表现为抑制作用;ME 为 90%—110% 时,基质效应适中,可忽略不计;ME 为 120%—150% 时,基质效应表现为中等增强作用;ME 大于 150% 时,基质效应表现为强基质作用^[22]。

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 质谱条件优化

配制 AO1680 和 2,4DtBP 标准溶液并进行质谱参数优化,在电子轰击源(EI)模式下进行一级质谱扫描,选择各化合物丰度最高的特征离子碎片作为母离子;再进行二级质谱扫描,选择对应的特征碎片离子作为子离子。经过优化后,采用多重反应监测模式(MRM)对所有化合物进行检测,各目标物的检测参数见表 1。

2.2 色谱条件优化

色谱条件基于目标物性质(表 2)及文献 [6] 报道进行优化。2,4DtBP 和 AO1680 均属于非极性化合物(lg *K_{ow}*: 5.19 和 16.16),实验采用非极性色谱柱 DB-5MS(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)进行分离,升温程序见“1.4”部分。结果表明,在此条件下,2,4DtBP 和 AO1680 均能实现分离,且分析时间较短,没有目标物残留,能够应用于目标物的测定。

表 2 AO1680 和 2,4DtBP 的全称、缩写、CAS 号、相对分子质量、沸点和 lg *K_{ow}*Table 2 Full name, abbreviation, CAS number, molecular weight, boiling point, and lg *K_{ow}* of AO1680 and 2,4DtBP

序号 No.	化合物 Analytes	CAS 号 CAS No	相对分子质量 Molecular weight	沸点/°C Boiling point ^a	辛醇/水分配系数 lg <i>K_{ow}</i> ^a
1	2,4DtBP	96-76-4	206.33	263.5	5.19
2	AO1680	95906-11-9	662.94	480	16.16

^a由 EPI Suite 4.1 计算得出。^aCalculated by EPI Suite 4.1

2.3 血清前处理方法对比

目前,环境样品中(大气颗粒物、土壤等)对 AO1680 和 2,4DtBP 的前处理大部分采用超声萃取法^[17,23]。血清中主要的前处理方法包括液液萃取法和固相萃取法^[24-27]。本研究通过在 SD 大鼠血清中加入 10 μL 的目标物(0.5 ng·μL⁻¹),对液液萃取法和固相萃取法两种前处理方法分别进行实验,通过加标回收率等参数进行评估。

2.3.1 液相萃取法

在本研究中,重点评估了不同极性溶剂(正己烷、乙酸乙酯和乙腈)对血清中 2,4DtBP 和 AO1680 的提取效率.每种溶剂重复 5 次,并平行开展过程空白实验($n=3$),对背景污染进行评估,结果见图 2.对 2,4DtBP 和 AO1680,乙腈的加标回收率分别为 100%—132% 和 126%—189%;正己烷和乙酸乙酯对 2,4DtBP 的萃取效果较差,加标回收率分别为 31%—98% 和 27%—58%,对 AO1680 的加标回收率最高可达 200% 以上.通过对比平行空白发现,并未发生过程污染,因此判断这可能与基质效应有关.

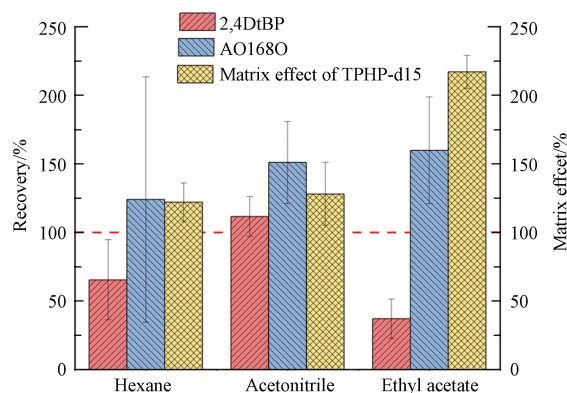


图 2 液相萃取的回收率和基质效应

Fig.2 Recoveries and matrix effects of liquid phase extraction

进一步考察基质效应的影响($n=5$),结果表明,乙腈和正己烷萃取物表现出中等基质增强作用^[28],基质效应平均值分别为 128% 和 122%.当乙酸乙酯作为萃取剂时,有强基质增强作用($217\% \pm 12\%$).这可能是由于乙酸乙酯萃取血液样品(血清或血浆)时,共萃取物易在质谱检测中产生基质增强效应,Liu 等^[29]在测定血清中的淫羊藿黄酮类化合物时,同样发现乙酸乙酯作为萃取溶剂表现出基质增强的效果(ME: 104%—187%). Xu 等^[30]使用乙酸乙酯萃取大鼠血浆中的特女真苷和橙皮苷也表现出中等基质增强效应(ME: 130%—137%).本研究在经过乙腈前处理后的样品中加入 10 μL 的内标 TPHP-d15($1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$),校正基质效应,达到对目标物准确定量的目的.

2.3.2 固相萃取法

基于文献 [31] 报道,本研究选择 Oasis HLB 柱(200 mg, 6 mL)作为萃取柱.过程空白($n=3$)结果表明,HLB 柱存在明显的本底干扰,甲醇洗脱可检出高浓度的 2,4DtBP 和 AO1680,浓度值分别为 $184.3\text{—}232 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $847.5\text{—}1604.6 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$.在上样前采用甲醇对 SPE 柱进行润洗,以减少 HLB 柱本底引入.通过实验发现,当甲醇的润洗体积为 27 mL 时,并未在润洗液中发现目标物(图 3).

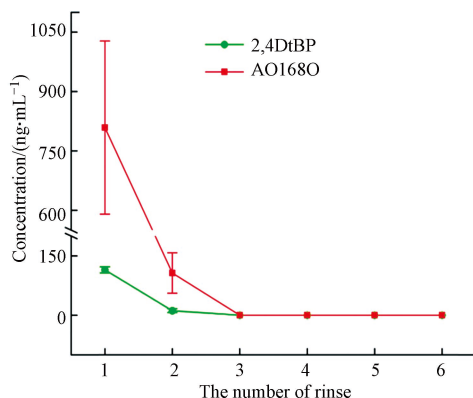


图 3 HLB 萃取柱甲醇润洗体积优化($n=5$)

Fig.3 Optimization of methanol rinse volume for HLB ($n=5$)

因此,选用 30 mL 的甲醇对 HLB 柱润洗,以减少本底引入.进一步采用正己烷、正己烷-二氯甲烷(1:1, 体积比)、二氯甲烷、甲醇 4 种溶剂作为洗脱溶剂考察洗脱效率($n=3$).结果表明,采用甲醇洗脱

时,2,4DtBP 和 AO1680 的加标回收率分别为 45%—98% 和 74%—112%。然而,正己烷、正己烷-二氯甲烷(1:1, 体积比)、二氯甲烷对目标物的回收率均高于 200%, 并且过程空白中仍存在较高的本底(见图 4)。上述结果表明,固相萃取柱中的本底仍未能完全去除,即使经过甲醇润洗后仍存在本底干扰的风险。进一步对玻璃材质的固相萃取柱进行了考察,结果表明,AO1680 和 2,4DtBP 加标回收率范围为 82%—114%, 定量限分别为 $0.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.3 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 过程空白未检出本底污染。

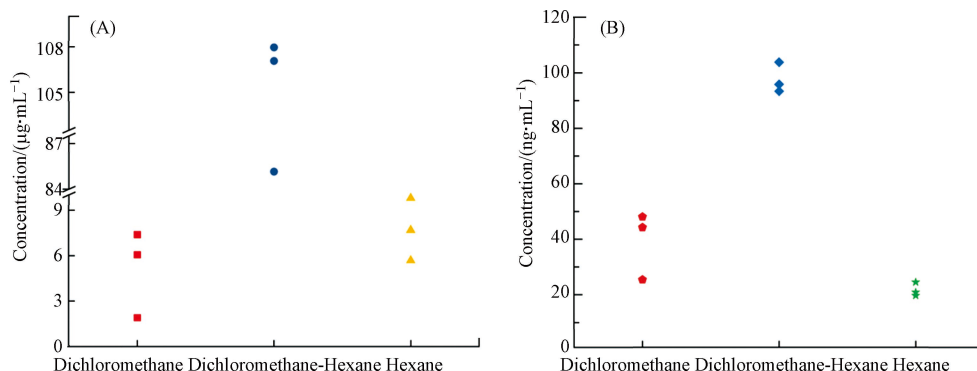


图 4 SPE 过程空白的本底值($n=3$)

(A) AO1680 的浓度值 (B) 2,4DtBP 的浓度值

Fig.4 Concentrations of SPE procedural blank ($n=3$)

(A) Concentration of AO1680 (B) Concentration of 2,4DtBP

综上,通过对比液相萃取法和固相萃取法,表明常用的塑料材质 SPE 柱可能造成过程污染,严重影响检测结果的准确性。采用玻璃材质的固相萃取柱以及液相萃取法可去除本底污染,其方法性能基本一致。但是采用玻璃固相萃取柱进行前处理时,其步骤相对复杂,耗时较长,检测成本高昂,液相萃取法与之相比操作更为简单快速,更加适用于大批血清样品的检测。因此,选择液相萃取法作为血清中 2,4DtBP 和 AO1680 的前处理方法,并采用此方法进行实际血清样品的分析。

2.4 方法性能评估

配制 AO1680($0.8\text{--}100 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)和 2,4DtBP($0.6\text{--}100 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的标准溶液,直接进样测定,以化合物浓度为横坐标,样品峰面积为纵坐标,进行线性回归分析。AO1680 和 2,4DtBP 在配制浓度范围内线性关系良好,相关系数 R^2 分别为 0.9992 和 0.9995。在 SD 大鼠血清中加入目标物,按照样品前处理方法进行分析,经过内标校正后,测定方法的检出限(LOD, $S/N = 3$)和定量限(LOQ, $S/N = 10$)。结果表明,AO1680 的检出限和定量限分别为 $0.4 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.8 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2,4DtBP 的检出限和定量限分别为 $0.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (见表 3)。在 SD 大鼠血清中加标 $10 \mu\text{L}$ ($0.5 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$)进行回收率实验并采用外标法计算加标回收率(见表 3)。AO1680 和 2,4DtBP 的平均回收率分别为 103% 和 95%, 相对标准偏差(RSD)分别为 8.9% 和 4.7%, 表明本方法具有较好的准确性和重复性。采用超纯水模拟血清,按照实际样品的操作步骤进行处理,过程空白中没有检测出 AO1680 和 2,4DtBP。当前,生物样品(血清、尿液等)中 AO1680 和 2,4DtBP 同时检测的方法仍鲜有报道。Liu 等^[32]使用液液萃取法-UPLC-MS/MS 法测定人体血清中 2,4DtBP, 其方法定量限为 0.12 ng (血清: 3 mL)。Du 等^[33]使用液液萃取法-LC-MS/MS 法测定人体血浆中 2,4DtBP, 方法定量限为 0.076 ng (血浆: 2 g)。本研究在使用 0.5 mL 血清样品的条件下,2,4DtBP 的灵敏度与已报道的方法基本相当。

表 3 方法性能参数

Table 3 Method performance parameters

化合物 Analytes	线性范围/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ Linear range	相关系数 (R^2)	检出限/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ LOD	定量限/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ LOQ	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% RSD($n=5$)
2,4DtBP	0.6—100	0.9995	0.2	0.6	95	4.7
AO1680	0.8—100	0.9992	0.4	0.8	103	8.9

2.5 实际血清样品分析

本研究应用液相萃取-气相色谱-质谱法对 66 份血清样品进行测定, 每份血清样品量为 0.5 mL. 结果如图 5 所示, 在血清中 AO168O 检出率为 33%, 2,4DtBP 的检出率为 98%. 其中, AO168O 是血清中检测出浓度最高的单体, 浓度范围为 ND(未检出)—492.33 ng·mL⁻¹; 2,4DtBP 在血清中的浓度范围为 ND—21.63 ng·mL⁻¹. Liu 等^[32] 在美国 50 名献血者的血清中发现, 2,4DtBP 在 92% 的血清样品中检出, 平均浓度远高于其它的合成酚类抗氧化物, 浓度范围为 ND—14.8 ng·mL⁻¹. 尽管本研究测定的血清数量有限, 但其检出率相对较高, 表明天津市居民可能面临 AO168O 和 2,4DtBP 暴露风险. 目前, 在室内灰尘的报道中, AO168O 和 2,4DtBP 的 EDI 远高于其他有机污染物^[7, 34]. 在室内环境中, 儿童 (14.8 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重) 的 AO168O 灰尘摄入量要远高于成年人 (0.77 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重). 在电子垃圾拆解地^[35], 职业工人 (20.1 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重) 的暴露风险是当地居民 (3.6 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重) 的 5 倍. 而在电子垃圾拆解地的主要工作场所中, 相比于灰尘摄入暴露, 通过手对口接触的暴露风险更高, AO168O 和 2,4DtBP 的 EDI 可达 69 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重和 82.5 ng·kg⁻¹·d⁻¹ 体重^[34]. 以上研究表明, AO168O 和 2,4DtBP 对人体具有较高的暴露风险, 本研究通过人体血清分析进一步证实了该类物质在人体内的存在, 所建立的方法可用于后续 AO168O 和 2,4DtBP 人体暴露的风险评估.

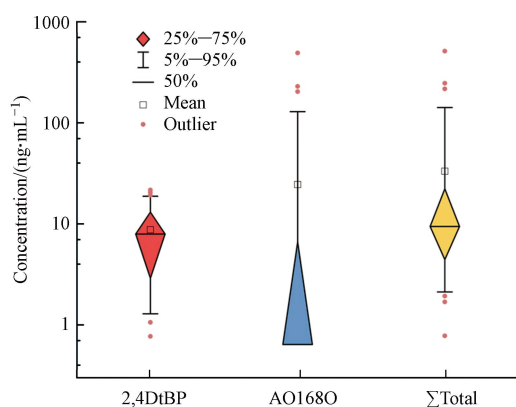


图 5 血清中 AO168O 和 2,4DtBP 的浓度

AO168O 的检出率为 33%, 其 5、25、50 百分位数的浓度均为 0.64 ng·mL⁻¹.

Fig.5 The concentration of AO168O and 2,4DtBP in human serum

The detection frequency of AO168O was 33%, the 5th, 25th, and 50th percentiles concentrations were 0.64 ng·mL⁻¹.

3 结论(Conclusion)

本研究建立了液相萃取-气相色谱-质谱法同时测定血清样品中 AO168O 和 2,4DtBP. 该方法具有本底干扰少、灵敏度高、前处理简单等优点, 能够满足测定血清中 AO168O 和 2,4DtBP 的需求. 应用本方法对 66 个血清样品进行分析检测, 同时检出高浓度的 AO168O 和 2,4DtBP, 验证了方法可行性. 目前, 关于血清中 AO168O 和 2,4DtBP 的赋存浓度研究较少, 相应的测定方法还不完善. 因此, 本研究所建立的测定方法可为后续监测相关污染物的人体暴露风险提供方法支持.

参考文献 (References)

- [1] TOLINSKI M. Antioxidants and heat stabilization[M]. Additives for Polyolefins, Amsterdam: Elsevier, 2015: 19-31.
- [2] DOPICO-GARCÍA M S, LÓPEZ-VILARIÑO J M, GONZALEZ-RODRÍGUEZ M V. Antioxidant content of and migration from commercial polyethylene, polypropylene, and polyvinyl chloride packages [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(8): 3225-3231.
- [3] 付建英, 张忠东, 赵伟, 等. 中国塑料抗氧化剂行业现状和研究进展及发展建议 [J]. *塑料助剂*, 2021(2): 14-19,65.
FU J Y, ZHANG Z D, ZHAO W, et al. Plastic antioxidant industry in China: Current situation analysis and research progress & development proposals [J]. *Plastics Additives*, 2021(2): 14-19,65(in Chinese).
- [4] LIU R Z, MABURY S A. Printing ink related chemicals, including synthetic phenolic antioxidants, organophosphite antioxidants, and

- photoinitiators, in printing paper products and implications for human exposure [J]. *Environment International*, 2021, 149: 106412.
- [5] YANG Y P, HU C Y, ZHONG H N, et al. Effects of ultraviolet (UV) on degradation of irgafos 168 and migration of its degradation products from polypropylene films [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(41): 7866-7873.
- [6] SHI J C, XU C H, XIANG L, et al. Tris(2, 4-di-tert-butylphenyl)phosphate: An unexpected abundant toxic pollutant found in PM 2.5 [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(17): 10570-10576.
- [7] LIU R Z, MABURY S A. Unexpectedly high concentrations of a newly identified organophosphate ester, tris(2, 4-di-tert-butylphenyl) phosphate, in indoor dust from Canada [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(17): 9677-9683.
- [8] LIU R Z, MABURY S A. Single-use face masks as a potential source of synthetic antioxidants to the environment [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2021, 8(8): 651-655.
- [9] TANG S Q, CHEN Y K, SONG G X, et al. A cocktail of industrial chemicals in lipstick and nail Polish: Profiles and health implications [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2021, 8(9): 760-765.
- [10] VENIER M, STUBBINGS W A, GUO J H, et al. Tri(2, 4-di-tert-butylphenyl) phosphate: A previously unrecognized, abundant, ubiquitous pollutant in the built and natural environment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(22): 12997-13003.
- [11] WU Y, MILLER G Z, GEARHART J, et al. Children's car seats contain legacy and novel flame retardants [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2019, 6(1): 14-20.
- [12] 钱建华, 刘琳, 刘春生. 亚磷酸三(2,4-二叔丁基苯基)酯的合成 [J]. *精细石油化工*, 2001, 18(6): 37-38.
QIAN J H, LIU L, LIU C S. Synthesis of TRIS(2, 4-DI-tert-BUTYL phenyl) phosphite [J]. *Speciality Petrochemicals*, 2001, 18(6): 37-38(in Chinese).
- [13] KRISTON I, PÉNZES G, SZIJÁRTÓ G, et al. Study of the high temperature reactions of a hindered aryl phosphite (Hostanox PAR 24) used as a processing stabiliser in polyolefins [J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2010, 95(9): 1883-1893.
- [14] FISCHER K, NORMAN V S, FREITAG D. Studies of the behaviour and fate of the polymer-additives octadecyl-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate and tri-(2,4-di-tert-butylphenyl)phosphite in the environment [J]. *Chemosphere*, 1999, 39(4): 611-625.
- [15] CREUSOT N, BUDZINSKI H, BALAGUER P, et al. Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: Identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405(8): 2553-2566.
- [16] OLSEN C M, MEUSSEN-ELHOLM E T M, HOLME J A, et al. Brominated phenols: Characterization of estrogen-like activity in the human breast cancer cell-line MCF-7 [J]. *Toxicology Letters*, 2002, 129(1/2): 55-63.
- [17] LIU X T, CHEN D, YU Y J, et al. Novel organophosphate esters in airborne particulate matters: Occurrences, precursors, and selected transformation products [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(21): 13771-13777.
- [18] 顾俊婕, 胡曼, 张益宁, 等. 人血清中有机磷酸三酯和二酯的生物监测方法的建立 [J]. *分析化学*, 2021, 49(8): 1384-1396.
GU J J, HU M, ZHANG Y N, et al. Ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry for simultaneous determination of organophosphate triesters and diesters in serum for human biomonitoring study [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2021, 49(8): 1384-1396(in Chinese).
- [19] 张宁. 食品接触材料中常见的塑化剂和抗氧化剂的检测方法研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
ZHANG N. Studies on the determination method of common plasticizers and antioxidants in food contact materials[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018(in Chinese).
- [20] 谢家树, 葛庆华. LC/MS测定中生物样品的基质效应问题 [J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(8): 1386-1389.
XIE J S, GE Q H. Matrix effects in bioanalysis by LC/MS [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2008, 28(8): 1386-1389(in Chinese).
- [21] 杨晨, 宋善军, 张玮庭, 等. 气相色谱/电感耦合等离子体质谱联用法测定儿童塑料玩具中多溴联苯醚及有机磷酸酯阻燃剂 [J]. *环境化学*, 2020, 39(10): 2683-2692.
YANG C, SONG S J, ZHANG W T, et al. Determination of polybrominated diphenyl ethers and organophosphate esters in children's plastic toys using gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(10): 2683-2692(in Chinese).
- [22] SU G Y, LETCHER R J, YU H X. Determination of organophosphate diesters in urine samples by a high-sensitivity method based on ultra high pressure liquid chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1426: 154-160.
- [23] GONG X Y, ZHANG W J, ZHANG S Y, et al. Organophosphite antioxidants in mulch films are important sources of organophosphate pollutants in farmlands [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(11): 7398-7406.
- [24] 蒋友胜, 艾春艳, 刘源, 等. 人体血清二噁英化合物检测方法的建立 [J]. *卫生研究*, 2021, 50(1): 104-110.
JIANG Y S, AI C Y, LIU Y, et al. Establishment the method for polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans determination in human serum [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2021, 50(1): 104-110(in Chinese).

- [25] 王铮, 张济明, 郭剑秋, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法同时测定血清中12种全氟化合物 [J]. *环境与职业医学*, 2021, 38(3): 238-244,253.
WANG Z, ZHANG J M, GUO J Q, et al. Determination of 12 perfluoroalkyl substances in human serum by UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. *Journal of Environmental and Occupational Medicine*, 2021, 38(3): 238-244,253(in Chinese).
- [26] 谢琳娜, 张海婧, 侯沙沙, 等. 人血清中18种全氟烷烃化合物 UPLC-MS/MS的测定 [J]. *环境卫生学杂志*, 2019, 9(5): 494-501.
XIE L N, ZHANG H J, HOU S S, et al. Determination of 18 perfluoroalkyl substances in human serum by UPLC-MS/MS [J]. *Journal of Environmental Hygiene*, 2019, 9(5): 494-501(in Chinese).
- [27] 王菡叶. 基于液相色谱-串联质谱平台测定血清皮质醇的实验方法与质量评估 [J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2021, 31(5): 438-442.
WANG Y Y. Experimental method and quality assessment of serum cortisol determination based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry platform [J]. *Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2021, 31(5): 438-442(in Chinese).
- [28] 冯晓杰, 杜丽英, 冯章英, 等. LC-MS/MS法测定人血药浓度的基质效应研究进展 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(13): 1488-1492,1497.
FENG X J, DU L Y, FENG Z Y, et al. Research progress of matrix effect in determining blood concentration by LC-MS/MS [J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2015, 24(13): 1488-1492,1497(in Chinese).
- [29] 刘明艳, 姚志红, 张依, 等. 两种前处理方法对LC-MS/MS测定家兔血清中淫羊藿黄酮类化合物基质效应的影响 [J]. *分析测试学报*, 2011, 30(9): 1006-1012.
LIU M Y, YAO Z H, ZHANG Y, et al. Impact of two pretreatment methods on the matrix effect of *Epimedium*-derived flavonoid compounds in rabbit serum by LC-MS/MS [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2011, 30(9): 1006-1012(in Chinese).
- [30] 徐冉驰, 刘力, 徐德生. 四种前处理方法对LC-MS/MS测定大鼠血浆中复方鹿角颗粒多种成分基质效应的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(4): 1017-1021.
XU R C, LIU L, XU D S. Influence of four pretreatment methods on matrix effect of compound Lujiao Granules in rat plasma by LC-MS/MS [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2016, 27(4): 1017-1021(in Chinese).
- [31] HOU M M, SHI Y L, JIN Q, et al. Organophosphate esters and their metabolites in paired human whole blood, serum, and urine as biomarkers of exposure [J]. *Environment International*, 2020, 139: 105698.
- [32] LIU R Z, MABURY S A. Synthetic phenolic antioxidants and transformation products in human sera from United States donors [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2018, 5(7): 419-423.
- [33] DU B B, ZHANG Y, LAM J C W, et al. Prevalence, biotransformation, and maternal transfer of synthetic phenolic antioxidants in pregnant women from South China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(23): 13959-13969.
- [34] ZHANG Q Y, LI X J, WANG Y, et al. Occurrence of novel organophosphate esters derived from organophosphate antioxidants in an e-waste dismantling area: Associations between hand wipes and dust [J]. *Environment International*, 2021, 157: 106860.
- [35] DU B B, SHEN M J, CHEN H, et al. Beyond traditional organophosphate triesters: Prevalence of emerging organophosphate triesters and organophosphate diesters in indoor dust from a mega E-waste recycling industrial park in South China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(19): 12001-12012.