

Application News

No. SSK-LCMS-2306

Liquid Chromatograph Mass Spectrometer LCMS-8060NX

LC-MS/MS를 이용한 소변 시료 중 유기인계난연제 대사체 분석

LC-MS/MS Method for Determination of Metabolites of Organophosphate Flame Retardants (OPFRs) in Human Urine

■ 서론

난연제는 가연성 감소 및 연소 지연에 사용되는 물질로 발화원에 의해 활성화되며, 플라스틱, 직물, 표면 마감 및 코팅과 같은 제조된 재료에 첨가되는 다양한 화학 물질 그룹을 포함한다. 이 중 유기인계난연제(OPFRs)는 일부 성분이 발암성 및 신경독성을 가지는 것으로 알려져 있어 물, 공기와 같은 환경 시료에 대한 연구가 여러 차례 보고되었으며, 최근에는 실내 환경에 초점을 맞춘 연구도 이루어지고 있다^[1].

또, 미국 소비자 제품 안전위원회 (Consumer Product Safety Commission)가 실시한 노출평가에서 TDCPP (Tris(1,3-dichloroisopropyl)phosphate)가 의심되는 발암물질로 언급되기도 하였다^[2].

그러나, 현재 유기인계난연제의 인체 노출에 대한 역학 연구가 부족한 실정이기 때문에 잠재적으로 건강에 영향을 줄 수 있는 유기인계난연제에 대한 바이오 모니터링이 필요하다.

이에, 이 뉴스레터에서는 생체시료 중 사람의 소변에서 9 종의 유기인계난연제 대사체 검출을 위한 분석법을 소개하고자 하며, 일부 대상 성분을 그림 1에 나타내었다.

그림 1. 유기인계난연제 대사체 일부 성분

■ 분석 방법

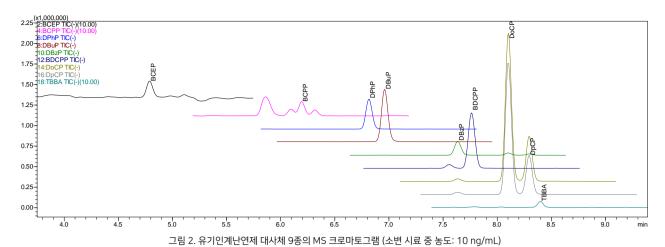
시마즈 액체크로마토그래피 질량분석기 LCMS-8060NX와 ACE Excel 2 C18-AR (3.0 x 150 mm, 2 μ m) 컬럼을 사용하여 9 종의 유기인계난연제 대사체 분석법을 최적화하였다^[1]. 세부 분석 조건 및 MRM 조건은 표 1과 표 2에 각각 나타내었으며, 합성 소변을 전처리하여 조제한 검량선의 크로마토그램은 그림 2와 같다.

표 1. LC-MS/MS 분석 조건

Liquid chromatograph Nexera™ X3					
Column	:	Excel 2 C18-AR (3.0 x 150 mm, 2 µm)			
Flow rate	:	0.4 mL/min			
Mobile phase		(A) 1mM Acetic acid in water/MeOH = 80/20 (v/v)			
	:	(B) 1 mM Tributylamine, 1mM Acetic acid in MeOH/water = 95/5 (v/v)			
Gradient	:	20 % B (0.0-1.0 min) - 40 % B (2.0 min) - 80 % B (8.0 min) - 100 % B (8.5-10.5 min) - 20 % B (10.51-14.0 min)			
Oven temp.	:	45 ℃			
Injection volume	:	20 μL			
Mass spectrometer		LCMS-8060NX			
Interface	:	ESI, Negative mode			
Data acquisition	:	MRM mode			
Nebulizing Gas Flow	:	Nitrogen, 3 L/min			
Heating Gas Flow	:	Zero Air, 10 L/min			
Drying Gas Flow	:	Nitrogen, 10 L/min			
Interface temp.	:	300 ℃			
DL Temp.	:	150 ℃			
Heat block Temp.	:	400 ℃			

표 2. MRM 조건

Name	Type	Quantifier ion (m/z)	Qualifier ion (m/z)
BCEP		221 >35	223 > 35
BCPP		249 > 35	251 >35
BDCPP		317 > 35	319 > 35
DBuP		209 > 79	209 > 153
DBzP	Target	277 > 79	277 >63
DoCP		277 > 107	277 >169
DpCP		277 > 107	277 >169
DPhP		249 > 93	249 > 155
TBBA		437 > 393	437 > 79
BCEP-d8		229 > 35	231 >35
BCPP-d12		261 > 35	263 > 35
BDCPP-d10		329 > 35	327 > 35
DBuP-d18		227 > 79	227 >163
DBzP-d10	ISTD	287 > 79	287 >63
DoCP-d14		291 >114	291 >175
DpCP-d14		291 >114	291 >112
DPhP-d10		259>98	259 >159
TBBA-13C6		443 > 399	443 >81



■ 전처리 방법

세부 전처리 과정은 그림 3과 같으며, 소변 시료를 효소 반응 시킨후, SPE 정제 및 농축을 통해 분석하였다.

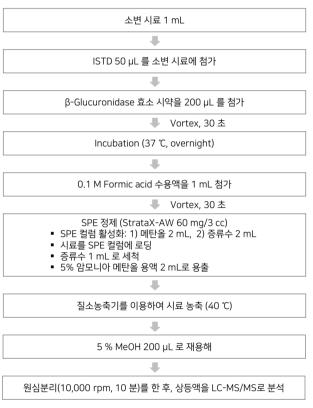


그림 3. 소변 시료 전처리 방법

■ 결과 및 토의

유기인계난연제 대사체의 검량선

합성 소변에 혼합표준용액을 첨가하여 그림 3과 같이 전처리 한후, 검량선을 작성하였다. 검량선 범위는 약 (0.4 - 20) ng/mL수준으로 설정하였으며, 유기인계난연제 대사체 9종에 대한 검량선의 결정계수 (r^2) 는 0.99 이상으로 우수하였다(표 3).

회수율 시험 및 방법검출한계(MDL)

합성 소변에 혼합표준용액을 검량선 중간 농도인 2.5 ng/mL 수준으로 첨가하여 전처리를 한 후, 5 번 반복 분석하여 회수율을 평가하였다. 성분별 회수율은 (85-110) % 수준으로 나타났으며, 상대표준편차(%RSD)는 (3-12) %로 나타났다. 방법검출한계는 검량선 혼합표준용액 중 가장 낮은 농도를 7 회 반복 분석한 표준편차에 3.14 배 한 값으로 산출하였다(표 3).

표 3. 유기인계난연제 대사체 분석법의 밸리데이션 결과

성분명	r²	회수율 (%) ± %RSD, <i>n</i> =5	방법검출한계 (ng/mL) <i>n</i> =7
BCEP	0.998	101 ±8	0.2
BCPP	0.997	110 ±4	0.2
BDCPP	0.995	109 ±12	0.2
DBuP	0.997	99 ±12	0.4
DBzP	0.995	96 ±3	0.1
DoCP	0.996	101 ±8	0.1
DpCP	0.996	95 ±3	0.1
DPhP	0.998	85 ±8	0.1
TBBA	0.999	94 ±10	0.2

■ 결론

시마즈 액체크로마토그래피 질량분석기 LCMS-8060NX을 이용하여 소변 중 유기인계난연제 대사체 9종에 대한 동시분석법을 확립하였다. 검량선은 합성 소변을 사용하여 작성하였으며, 전 성분이 결정계수(r²) 0.99 이상으로 우수한 직선성을 보였다. 또, 성분별 회수율 결과는 (85-110) %, 방법검출한계는 (0.1-0.4) ng/mL 으로 나타났다.

■ 참고문헌

- Syrago-Styliani E. Petropoulou, Myrto Petreas, June-Soo Park, Analytical methodology using ion-pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of four di-ester metabolites of organophosphate flame retardants in California human urine, Journal of Chromatography A, 1434 (2016) 70-80
- Kate Hoffman, Julie L. Daniels, Heather M. Stapleton, Urinary Metabolites of Organophosphate Flame Retardants and Their Variability in Pregnant Women, Environ Int. 2014 Feb; 63: 169-172.

SSK-LCMS-2306



Shimadzu Corporation www.shimadzu.com/an/ Shimadzu Scientific Korea www.shimadzu.co.kr For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China. This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".

Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".

Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.