

· 实验技术及其应用 ·

纸喷雾质谱法测定尿液中丙二醇单甲醚的生物标志物

刘蒙蒙¹, 潘俊宇¹, 吕勃熠¹, 刘保峰¹, 曾强^{1,2}

1. 天津市疾病预防控制中心职业健康所, 天津 300011; 2. 天津医科大学公共卫生学院

摘要:目的 建立尿液中丙二醇单甲醚的生物标志物 1-甲氧基-2-丙醇和 2-甲氧基丙酸的纸喷雾质谱测定法。方法 将尿液样品滴加于色谱纸,在纸片后端施加 4 kV 高压,样品溶于喷雾溶剂后在电压作用下于纸尖端形成电喷雾,继而进入质谱仪检测。结果 1-甲氧基-2-丙醇和 2-甲氧基丙酸的线性范围分别为 0.036~46.15 $\mu\text{g/ml}$ 、0.029~54.25 $\mu\text{g/ml}$,相关系数在 0.999 6~0.999 9 之间,检出限在 0.008 8~0.011 $\mu\text{g/ml}$ 之间,定量限在 0.029~0.036 $\mu\text{g/ml}$ 之间,样品加标回收率为 90.8%~105.0%,精密度的相对标准偏差为 3.3%~9.7%。结论 本法无需样品处理,简便快速、灵敏,适用于尿液中丙二醇单甲醚的快速筛查。

关键词:尿液;纸喷雾质谱法;丙二醇单甲醚;代谢产物

中图分类号:R135.1 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2025)19-3615-05

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202505145

Determination of biomarkers of propylene glycol monomethyl ether in urine by paper spray mass spectrometry

LIU Meng-meng*, PAN Jun-yu, LV Bo-yi, LIU Bao-feng, ZENG Qiang

**Department of Occupational Health, Tianjin Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China*

Abstract: Objective To establish a paper spray mass spectrometry method for the determination of 1-methoxy-2-propanol and 2-methoxypropionic acid as biomarkers of propylene glycol monomethyl ether in urine. **Methods** The urine sample was dropped onto the chromatographic paper, and a high voltage of 4 kV was applied to the back of the paper. After dissolution in the spray solvent, the sample formed an electrospray at the paper tip under the effect of voltage, which then entered the mass spectrometer for detection. **Results** The linear ranges of 1-methoxy-2-propanol and 2-methoxypropionic acid were 0.036–46.15 $\mu\text{g/mL}$ and 0.029–54.25 $\mu\text{g/mL}$, respectively, with correlation coefficients ranging from 0.999 6 to 0.999 9. The detection limit (LOD) was between 0.008 8 and 0.011 $\mu\text{g/mL}$, and the quantification limit (LOQ) was between 0.029 and 0.036 $\mu\text{g/mL}$. The sample recovery rate ranged from 90.8% to 105.0%, and RSDs ranged from 3.3% to 9.7%. **Conclusion** This method requires no sample processing, features simplicity, rapidity and high sensitivity, making it suitable for the rapid screening of propylene glycol monomethyl ether in urine.

Keywords: Urine; Paper spray mass spectrometry; Propylene glycol monomethyl ether; Metabolites

丙二醇单甲醚(propylene glycol monomethyl ether, PGME)因兼具良好的水溶性、脂溶性和适中挥发性,被广泛应用于化妆品、涂料、油墨、皮革处理及工业清洗等领域^[1]。毒理学研究表明,急性接触 PGME 可引起眼、上呼吸道和皮肤刺激,以及头痛、恶心、眩晕、嗜睡等中枢抑制症状^[2-3]。本课题组^[4]检测天津市 10 家汽修企业的 48 份原辅料样本发现,PGME 检出率为 25%。其广泛使用使职业人群暴露风险显著高于普通人群,职业健康风险亟待关注。

工业用 PGME 主要以两种异构体存在,主要形

式为 1-甲氧基-2-丙醇(α -PGME),次要形式为 2-甲氧基-1-丙醇(β -PGME)。 α -PGME 在体内经微粒体混合功能氧化酶(MFO)系统,进行 O-去甲基化代谢,大部分以二氧化碳呼出,少部分以原形从尿中排出。而 β -PGME 经醇脱氢酶和醛脱氢酶代谢为 2-甲氧基丙酸(2-MPA)^[5]。为监测职业人群 PGME 暴露水平,课题组前期建立了工作场所空气中 PGME 的气相色谱测定法^[5]。生物监测作为空气监测的补充,能直观反映劳动者接触水平,对保护劳动者健康具有重要意义。

目前尿液中 PGME 生物标志物的检测以气相色谱法为主^[6],样品前处理技术主要采用顶空固相微萃取法和液液萃取法。但这些方法存在操作繁琐、使用有毒有机溶剂、耗时较长等不足,不仅对操作人员健康有潜在风险,也不利于快速检测,且目前尚无同时

基金项目:天津市卫生健康科研项目(TJWJ2023QN087);天津市医学重点建设学科(TJYXZDXK-3-020B)

作者简介:刘蒙蒙(1990—),女,硕士,助理研究员,研究方向:职业病危害因素监测、职业中毒预防与控制

通信作者:刘保峰, E-mail: bflgirl@126.com

测定 PGME 两种生物标志物的方法。

纸喷雾质谱技术的原理是将生物样品加载于纸基质表面,通过高压电驱动溶剂溶解、迁移并电离目标化合物,在纸尖端形成电喷雾后由质谱实时在线监测^[7]。该技术样品用量少,可分析血液和尿液等生物样本中多种目标物,且分辨率高。纸喷雾质谱技术高效快捷,单个样品平均 1~2 min 内即可完成分析^[8]。如 1 min 内可完成血液中的敌草快、百草枯、草甘膦等物质的检测^[9]。该技术近年来在生物分析领域已得到了广泛应用。

本文建立了 PGME 生物标志物的纸喷雾质谱测定法,1~2 min 内即可完成检测,显著提升时效性,并应用于实际尿液样本分析,为我国确立丙二醇单甲醚生物接触限值提供了数据支撑。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

LTQ Orbitrap XL 线性离子阱静电场轨道阱组合式高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific);O2TMC21 三维移动平台(北京集科仪器有限公司);Xcalibur V2.0 数据处理软件(美国 ThermoFisher Scientific);1 CHR 色谱纸(英国 Whatman); α -PGME(99.9%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);2-MPA(99.9%,英国 Fluorochem 公司);甲醇(质谱纯,法国 Cleman 公司);乙腈、丙酮、乙酸乙酯均为色谱纯(天津市津科生物科技有限责任公司)。

1.2 仪器条件

1.2.1 上样条件

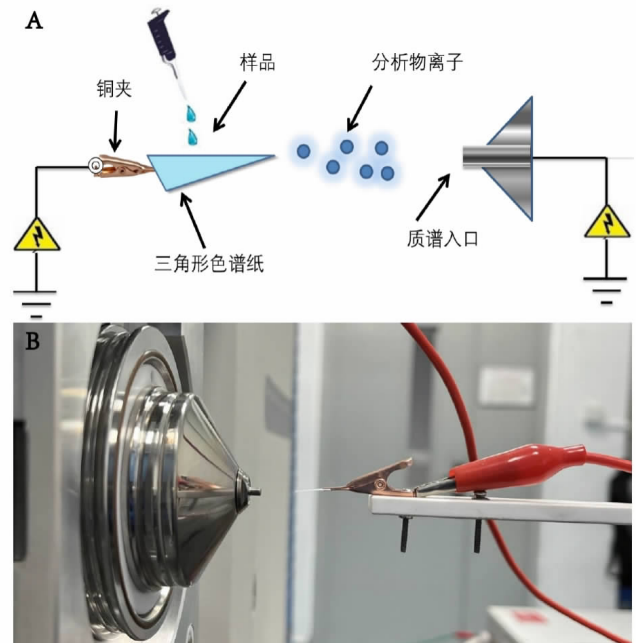
将色谱纸裁剪为高 15 mm、底边 10 mm 的等腰三角形,用平口铜夹固定后,通过三维移动平台调节纸尖端位置,使其正对质谱进样锥孔,且二者间距保持在 5 mm 左右,见图 1。操作时,先取 10 μ l 样品滴加至色谱纸上,静置 1~2 min 后,再滴加 15 μ l 甲醇-水(90:10,v/v)喷雾溶剂,同时在纸片后端施加 4 kV 高压,样品溶解于喷雾溶剂后,在电压作用下于纸尖端形成电喷雾,最终进入质谱进行检测。

1.2.2 质谱条件

采用正离子模式检测 α -PGME;喷雾电压为 4 kV;离子传输管电压:35 V;离子聚焦透镜电压:110 V;离子传输管温度:275 $^{\circ}$ C;扫描范围为:20~100 m/z。采用负离子模式检测 2-MPA;喷雾电压为 -4 kV;离子传输管电压:-35 V;离子聚焦透镜电压:-110 V;离子传输管温度:275 $^{\circ}$ C;扫描范围为:40~130 m/z。

1.3 样品的采集与保存

以天津市职业病危害因素申报的涂料生产企业为总体,分层随机抽取 3 家企业,招募 50 名接触 PGME 的工人,采集工人尿液用于方法验证。所有受试者均签署知情同意书,本研究获天津市疾病预防控制中心伦理委员会批准(TJCDC-R-2023-016)。参照 GBZ/T 295—2017^[10],采



注:图 A 为过程示意图;图 B 为装置图。

图 1 纸喷雾质谱技术过程示意图和装置图

Figure 1 PS-MS process schematic and device diagram

集喷漆岗位工人的班末尿 50 ml 于具盖聚乙烯塑料瓶中,立即测定尿相对密度,弃去相对密度 <1.010 或 >1.030 的尿样,冷藏运输。

1.4 混合标准溶液的配制

于 10 ml 容量瓶中,加入 5 ml 甲醇,用微量注射器准确加入 α -PGME 和 2-MPA 各 5.0 μ l(20 $^{\circ}$ C 时,1 μ l α -PGME 的质量为 0.923 mg,1 μ l 2-MPA 的质量为 1.085 mg),用甲醇定容,配制得到浓度为 461.5 μ g/ml 和 542.5 μ g/ml 的 α -PGME 和 2-MPA 的混合标准储备液,于 4 $^{\circ}$ C 保存。用甲醇逐级稀释至适宜浓度,得到工作溶液,现用现配;配制尿液样品时,向空白尿液中加入一定量工作溶液,现用现配。

2 结果

2.1 质谱条件优化

采用待测物工作溶液在正/负离子模式下进行一级质谱图扫描,同时调整离子传输管温度和电压等质谱参数,使得待测物离子强度最优,从而确定质谱仪条件。依据待测物性质,确定前体离子质荷比(m/z),采集二级质谱图,调节碰撞能量,使待测物产物离子的信号值最高,根据产物离子图,选择相应的定量离子,具体参数见表 1。优化后的 α -PGME 和 2-MPA 的一级质谱图见图 2。

2.2 纸喷雾电离条件的优化

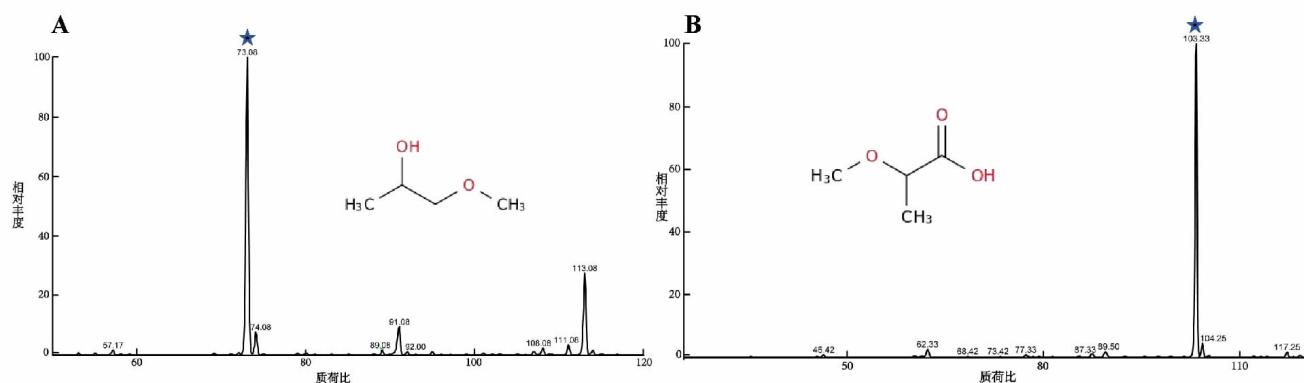
2.2.1 纸基质尖端到质谱进样口的距离优化

以 4.62 μ g/ml α -PGME 和 5.42 μ g/ml 2-MPA 标准工作溶液为样品,取 10 μ l 滴加至在纸基质,随后加入 10 μ l 甲醇喷雾溶剂,同时施加 4 kV 电压,分别在纸尖端到质谱进样口的距离为 5、8、10、13 和 15 mm 条件下测

表 1 α -PGME 和 2-MPA 的质谱参数Table 1 Mass spectrometric parameters of α -PGME and 2-MPA

物质	化学式	极性	前体离子(m/z)	产物离子(m/z)	碰撞能量(eV)
α -PGME	C ₄ H ₁₀ O ₂	+	73.08	41/43/45*	35
2-MPA	C ₄ H ₈ O ₃	-	103.33	71*	35

注:*为定量离子。

注:图 A 为 α -PGME;图 B 为 2-MPA。图 2 α -PGME 和 2-MPA 的一级质谱图Figure 2 Primary mass spectra of α -PGME and 2-MPA

定 3 次,记录响应强度,并绘制距离-响应趋势图,见图 3A。结果显示,目标物响应强度随距离增加而降低,5 mm 处最高,故选定 5 mm 为最佳距离。

2.2.2 施加电压优化 以 4.62 $\mu\text{g/ml}$ α -PGME 和 5.42 $\mu\text{g/ml}$ 2-MPA 标准工作溶液为样品,在纸基质尖端距进样口 5 mm 条件下,取 10 μl 进样后滴加 10 μl 的甲醇溶剂,分别施加 2、3、4、5、6 和 7 kV 电压并各测定 3 次,记录响应强度,绘制电压-响应趋势图,见图 3B。结果显示,目标物响应强度随电压升高先增后减,4 kV 处达到峰值,故选定 4 kV 为优化电压。

2.2.3 喷雾溶剂优化 以 4.62 $\mu\text{g/ml}$ α -PGME 和 5.42 $\mu\text{g/ml}$ 2-MPA 标准工作溶液为样品,在优化的纸尖端距离和电压条件下,分别采用水、甲醇、甲醇/水(90:10, v/v)、乙腈、丙酮、乙酸乙酯作为喷雾溶剂并各测定 3 次,记录响应强度。尿液基质中 2 种目标物质响应强度叠加值见图 3C。结果显示,甲醇/水(90:10, v/v)和纯甲醇作为喷雾溶剂时效果最佳,信号值强度高,且含水溶剂较纯有机相喷雾持续时间更长。故选

择甲醇/水(90:10, v/v)作为喷雾溶剂。

2.2.4 喷雾溶剂用量优化 以 4.62 $\mu\text{g/ml}$ α -PGME 和 5.42 $\mu\text{g/ml}$ 2-MPA 标准工作溶液为样品,在优化的纸尖端距离、电压及喷雾溶剂条件下,考察 5、10、15 和 20 μl 喷雾溶剂用量的响应强度,各测定 3 次并绘制趋势图,见图 3D。结果显示,响应值随喷雾溶剂用量增加先升后趋稳,故选定 15 μl 为最佳用量。

2.3 标准曲线与检出限、定量限 采用外标法考察 α -PGME 和 2-MPA 的线性范围、检出限和定量下限,将不同浓度标准溶液(α -PGME:0.036 92、0.184 6、0.923 0、4.615、23.07 和 46.15 $\mu\text{g/ml}$; 2-MPA:0.043 40、0.217 0、1.085、5.425、27.12 和 54.25 $\mu\text{g/ml}$) 分别加入空白尿液后进样,重复测定 3 次,以响应强度对质量浓度绘制标准曲线。连续测定 10 个浓度为最低点浓度 1/2 的加标样品,计算测定浓度的标准差。按 3 倍标准差计算检出限,10 倍标准差算定量下限。 α -PGME 和 2-MPA 的线性范围分别为 0.036 ~ 46.15 $\mu\text{g/ml}$ 、0.029 ~ 54.25 $\mu\text{g/ml}$,相关参数见表 2。

表 2 方法的回归方程、相关系数、检出限和定量限

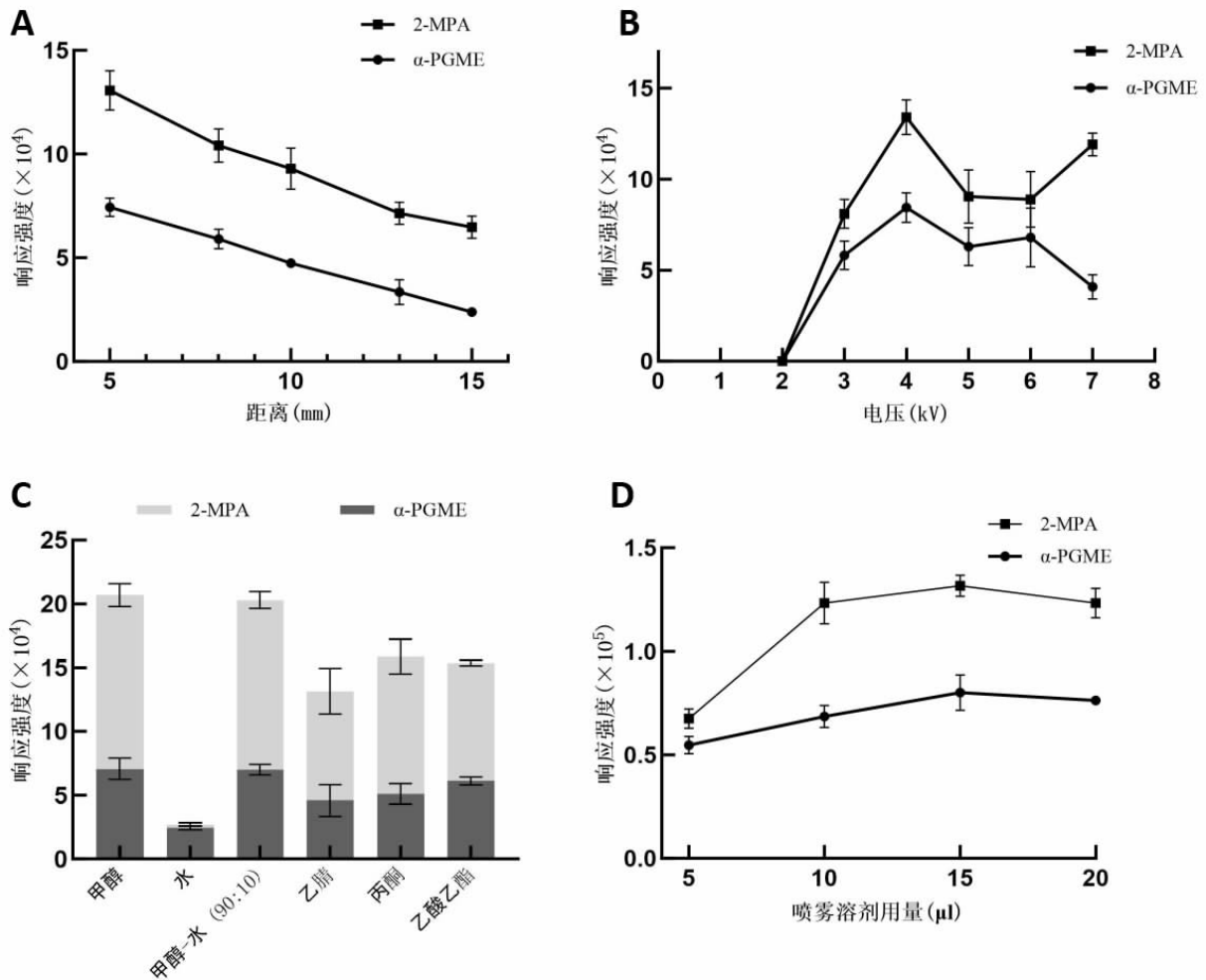
Table 2 The regression equations, correlation coefficients, detection limits, and quantification limits of the method

被测物	回归方程	相关系数	检出限($\mu\text{g/ml}$)	定量下限($\mu\text{g/ml}$)
α -PGME	$y = 14\ 094x + 1\ 902.8$	0.999 6	0.011 0	0.036
2-MPA	$y = 21\ 430x + 996.9$	0.999 9	0.008 8	0.029

2.4 方法的精密度与准确度 配制低、中、高浓度加标尿液样品各 6 份平行样,采用纸喷雾质谱仪测定,计算加标回收率和测定值的精密度。结果显示, α -PGME 精密度的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 3.5% ~ 9.7%, 平均加标回收率为 93.8% ~ 103.1%; 2-MPA 的 RSD 为 3.3% ~ 8.0%, 平均加标回收率为

90.8% ~ 105.0%。见表 3。

2.5 样品测定 采用本方法测定天津市 50 名接触 PGME 工人的尿液样品,尿相对密度范围均在 1.010 ~ 1.030 范围内。结果显示, α -PGME 检出率为 18.0%, 浓度范围为未检出 ~ 1.021 $\mu\text{g/ml}$; 2-MPA 的检出率为 4.0%, 浓度范围为未检出 ~ 0.261 $\mu\text{g/ml}$ 。



注:A 为纸基质尖端到质谱进样口的距离优化图;B 为施加电压强度优化图;C 为喷雾溶剂种类优化图;D 为喷雾溶剂用量优化图。

图 3 纸喷雾电离条件的优化

Figure 3 Optimization of paper spray ionization conditions

表 3 方法的加标回收率和精密度($n=6$)

Table 3 The recovery rates and precisions of the method ($n=6$)

被测物	本底值(μ g/ml)	加标量(μ g/ml)	测定量(μ g/ml)	回收率(%)	RSD(%)
α -PGME	ND	46.150 0	47.580 0	103.1	5.9
	ND	4.615 0	4.633 0	100.4	3.5
	ND	0.184 6	0.173 2	93.8	9.7
2-MPA	ND	54.250 0	50.340 0	92.8	8.0
	ND	5.425 0	5.696 0	105.0	6.8
	ND	0.217 0	0.197 0	90.8	3.3

注:ND 表示未检出(浓度小于化合物的定量下限)。

3 讨论

为评估 PGME 职业接触人群的内暴露水平, 根据其人体代谢特性, 选择尿液中含量较高的代谢物 α -PGME 和 2-MPA 作为研究对象。现有 PGME 生物标志物的检测方法多为气相色谱法, 其依赖繁琐前处理技术, 且存在有机溶剂毒性较大、操作步骤冗杂、处理周期长等局限, 更无法同时测定两种标志物。纸喷雾质谱法作为新型分析技术, 无需或仅需少量前处理即可快速分析生物样本, 单个样品平均 1~2 min 完成检测, 较传统方法分析时间缩短 95% 以上。

在纸喷雾质谱分析中, 离子模式的选择显著影响

待测物检测与定量, 直接关系检测灵敏度、离子化效率及碎裂模式。同时优化离子传输管温度和电压等质谱参数, 可提升分析灵敏度、准确性和分辨率, 保障目标物高效检测与准确定量。既往研究表明, 单一参数调整可能导致目标物回收率与电离抑制发生非一致性变化, 需平衡二者关系^[1]。本研究以待测物响应值为评估标准, 确定各参数最优值。

本研究考察了纸尖端距离、电压、溶剂种类、溶剂用量对 α -PGME 和 2-MPA 的响应强度的影响。纸喷雾电离的原理是喷雾溶剂萃取出纸基质上的待测物后, 在毛细作用下将含有待测物的溶液运送至纸尖

端,在强电场的作用下形成泰勒锥,当其中带电液滴的静电库仑力足以对抗液体的表面张力时,液滴破裂,发生电离,产生离子进入质谱而被检测^[12]。纸尖端距离影响离子的传输效率和信号强度。距离过远可能导致离子在空气中扩散和衰减,使灵敏度和分辨率下降,距离过近易导致放电现象,本研究中的 α -PGME 和 2-MPA 的最佳距离为 5 mm。施加电压的强度会直接影响电离中的传输电流及液体流量,电压过低导致电离不完全,电压过高会产生大量碎片离子,都将使得响应值偏低^[13]。本研究中 α -PGME 和 2-MPA 的最佳电压为 4 kV。喷雾溶剂及其用量对纸喷雾离子源分析性能至关重要,溶剂兼具喷雾与萃取双重作用,不同溶剂对分析物的萃取效果和离子化效率存在差异,因此需选择对分析物溶解性好、表面张力小且易离子化的溶剂^[14]。实验结果显示,甲醇/水(90:10, v/v)与纯甲醇作为喷雾溶剂时信号强度最优。溶剂极性和挥发性显著影响分析性能,添加水性溶剂可改善表面张力与喷雾稳定性,延长喷雾时间。因此,本研究选择甲醇/水(90:10, v/v)作为喷雾溶剂以确保尿液样本中信号稳定。鉴于 15 与 20 μ l 溶剂用量下响应强度无显著差异,为减少消耗,最终选定 15 μ l。

本研究考察了纸喷雾质谱法的准确度、精密度、检出限、定量限等指标。结果表明,该方法具有准确度高、精密度好、线性范围宽等优势,且无需样品前处理,分析速度快,显著提升了检测时效性,适用于尿液样品的快速筛查。该方法可用于 PGME 职业接触人群尿液中 α -PGME 与 2-MPA 的测定,为我国建立 PGME 的生物接触限值及检测方法提供依据。

致谢 感谢南开大学李功玉课题组提供的原位质谱仪支持平台

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Werner S, Pamies D, Zurich MG, et al. Hepatic and extra-hepatic metabolism of propylene glycol ethers in the context of central nervous system toxicity[J]. *Toxicology*, 2025, 512: 154081.
- [2] Werner S, Hegg L, Hopf NB, et al. In vitro hepatic metabolism input parameters support toxicokinetic simulations for the formation of methoxy propionic acid from β -Isomer propylene glycol methyl ether[J]. *Pharmacology Research & Perspectives*, 2024, 12(6): e70037.
- [3] 潘俊宇,刘蒙蒙,曾强. 丙二醇单甲醚毒性及生物监测研究进展[J]. *职业卫生与应急救援*, 2024, 42(3): 416-420.
Pan JY, Liu MM, Zeng Q. Research progress on toxicity and biological monitoring of propylene glycol monomethyl ether[J]. *Occupational Health and Emergency Rescue*, 2024, 42(3): 416-420. (In Chinese)
- [4] 刘蒙蒙,夏义平,张万超,等. 静态顶空-气质联用模拟分析汽修企业喷漆岗位中的挥发性有机物[J]. *职业卫生与应急救援*, 2023, 41(2): 185-188.
Liu MM, Xia YP, Zhang WC, et al. Simulation analysis of volatile organic compounds in spray paint post of automobile maintenance enterprises by static headspace GC-MS[J]. *Occupational Health and Emergency Rescue*, 2023, 41(2): 185-188. (In Chinese)
- [5] 潘俊宇,刘蒙蒙,曾强. 工作场所空气中丙二醇单甲醚同分异构体的溶剂解吸-气相色谱测定法[J]. *环境与职业医学*, 2024, 41(5): 567-573.
Pan JY, Liu MM, Zeng Q. Propylene glycol monomethyl ether isomers in workplace air determined by solvent desorption-gas chromatography[J]. *Journal of Environmental and Occupational Medicine*, 2024, 41(5): 567-573. (In Chinese)
- [6] 高宏民,宋世震,梅勇,等. 尿中 1-甲氧基-2-丙醇测定的顶空固相微萃取-气相色谱法[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2020, 38(1): 52-55.
Gao HM, Song SZ, Mei Y, et al. Determination of 1-methoxy-2-propanol in urine by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography[J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2020, 38(1): 52-55. (In Chinese)
- [7] Rydberg M, Bruening ML, Manicke NE. Paper spray mass spectrometry with On-Paper electrokinetic manipulations: Part-Per-Trillion detection of per/polyfluoroalkyl substances in water and opioids in urine[J]. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 2024, 136(25): e202401729.
- [8] Bouza M, Foest D, Brandt S, et al. Enhanced compound analysis using reactive paper spray mass spectrometry: leveraging schiff base reaction for amino acid detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(13): 5289-5297.
- [9] 张云峰,董林沛,赵森,等. 微管纸喷雾质谱法快速筛查血液中 5 种强极性毒物[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(4): 652-658.
Zhang YF, Dong LP, Zhao S, et al. Fast screening of 5 polar poisons in blood sample by paper capillary spray tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2022, 41(4): 652-658. (In Chinese)
- [10] 国家卫生和计划生育委员会. GBZ/T 295-2017 职业人群生物监测方法 总则[J]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission. GBZ/T 295-2017 General principles of biological monitoring method in occupational population[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017. (In Chinese)
- [11] Rydberg M, Ochoa A, Barrera Campos KD, et al. Identification and mitigation of pyrolysis products in Laser-Cut paper for paper spray mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2025, 36(4): 829-838.
- [12] Miskulin A, Wallace B, Hore DK, et al. Development of a high-resolution paper-spray mass spectrometry method using street drugs for the early detection of emerging drugs in the unregulated supply[J]. *Analyst*, 2025, 150(9): 1872-1883.
- [13] 张晓琪. Diels-Alder 衍生-纸喷雾质谱快速检测复杂样品中的共轭二烯类化合物[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2024.
Zhang XQ. Diels-alder derivative-paper spray mass spectrometry for rapid detection of conjugated dienes in complex samples [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2024. (In Chinese)
- [14] Liu HM, Zhan LJ, Zhao J, et al. Paper spray ionization mass spectrometry coupled with Paper-Based Three-Dimensional tumor model for rapid metabolic gradient profiling[J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(42): 16706 - 16714.