

ATLAS-LEXT 和 LCMS-8050 联用检测血清中 11 种镇静剂含量

LCMSMS-485

摘要：本文利用 ATLAS-LEXT 和 LCMS-8050 联用，建立了血清中 11 种镇静剂的分析方法。该方法最大特点为利用 ATLAS-LEXT 自定义编程功能 - 双步萃取，大大简化前处理流程。同时实验结果表明：该方法线性良好；对高、中、低水平的标准溶液重复进样 10 针，保留时间和峰面积重复性良好。加标回收实验中，各物质回收率在 53.4 ~ 87.0% 之间，平行 3 份样品的峰面积 RSD% 值分别在 0.28~ 10.7% 之间，表明 ATLAS-LEXT 回收及精密度良好。该方法为血清中镇静剂的检测提供很好的参考。

关键词：ATLAS-LEXT LCMS-8050 11 种镇静剂 血清

镇静剂是指可减少某些器官或组织活性，抑制中枢神经系统以起镇静作用的药物。主要分为苯二氮卓类和巴比妥类两类。近些年来，不法分子使用镇静剂犯罪屡见报道，成为受关注的社会问题，公安系统对于镇静剂犯罪的打击越发严格。其中，尿液、汗液、唾液及毛发等生物样品中的毒物药物检测是确认案件的重要依据。由于这类样品的基质均比较复杂，因此在分析前通常需要对样品进行前处理。常见的前处理方法有固相萃取、固相微萃取、液-液萃取等，这些方法通常较为繁琐，耗时耗力。

岛津公司 ATLAS-LEXT 自动前处理装置可以对唾液、尿液、血液等样品中的违禁药物自动进行液-液萃取，复溶后可进行液质或气质联用分析，自动化程度高，可节省大量时间，提高效率。同时 ATLAS-LEXT 可根据前处理需要进行自定义编程，从而完美实现复杂前处理步骤，包括多次萃取，中性酸性碱性萃取等。

本文利用岛津 ATLAS-LEXT 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用，通过 ATLAS-LEXT 编程功能，建立血清中 11 种镇静剂的检测方法，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

输液泵：LC-30AD×2

柱温箱：CTO-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

脱气机：DGU-20A5

自动进样器：SIL-30AC

检测器：LCMS-8050

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：InertSustain AQ-C18 (100 mm L×2.1 mm I.D., 1.9 μm, Shimadzu SGLC P/N: 5020-89939)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水 B 相 - 乙腈

流速：0.35 mL/min

柱温：40°C

进样量：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
6.0	泵	B.Conc	100
7.0	泵	B.Conc	100
7.1	泵	B.Conc	20
10.0	控制器	Stop	

LCMS-8050 质谱条件:

离子源: ESI (+)

雾化气流速: 3 L/min

DL 温度: 250°C

接口温度: 300°C

MRM 参数: 见表 2

加热气流速: 10 L/min

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气流速: 10 L/min

表 2 MRM 参数

No.	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	阿普唑仑	309.20	281.20*	-14	-26	-30
			205.15	-14	-41	-21
2	氯氮平	327.20	270.20 *	-16	-24	-28
			192.20	-15	-44	-20
3	硝西泮	282.15	236.20 *	-11	-25	-25
			180.20	-11	-37	-18
4	劳拉西泮	321.15	275.15 *	-15	-22	-30
			303.05	-11	-16	-15
5	艾司唑仑	295.15	267.20 *	-12	-26	-27
			205.20	-13	-41	-20
6	氟硝西泮	314.15	268.25 *	-13	-27	-27
			239.20	-12	-36	-24
7	咪唑唑仑	326.15	291.25 *	-26	-28	-14
			249.15	-14	-38	-25
8	奥沙西泮	287.15	241.15 *	-12	-21	-24
			269.15	-12	-15	-13
9	三唑仑	343.15	308.20 *	-10	-27	-22
			239.15	-10	-41	-16
10	氯硝西泮	316.15	270.15 *	-10	-24	-28
			214.10	-14	-39	-22
11	地西泮	285.15	193.20 *	-12	-32	-19
			154.15	-13	-27	-16

注: * 表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

取浓度为 1.0 mg/L 对照品混合溶液，以 ATLAS-LEXT 处理的血清空白基质作为稀释溶剂，依次配制成 0.2、0.5、1、2、5、10、20 μg/L 的系列浓度，待上机分析。

1.4 样品前处理方法

在样品管中加入 0.5 mL 血清，采用 ATLAS 自定义程序进行液液萃取。萃取流程：向样品中依次加入 0.5mL 的水、2 mL 的乙酸乙酯，震荡离心中性提取后进行乳化检测，之后取 1.5 mL 上清液到干净样品管中，随后在萃取后的样品中再加入 50 μL 的 1M 氢氧化钠溶液、1.5 mL 的乙酸乙酯进行萃取，震荡离心碱性提取后进行乳化检测。之后取 1.5 mL 上清液合并到干净样品管中。干燥完成后加入甲醇复溶，0.22 μm 滤膜过滤上机分析。

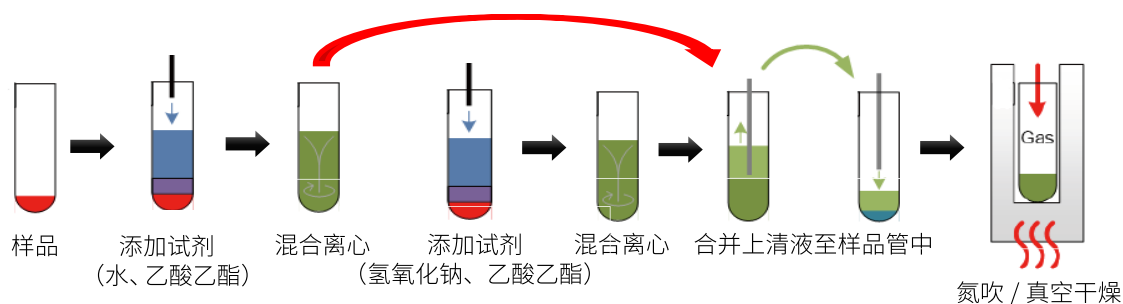
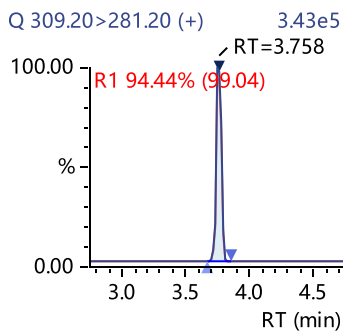


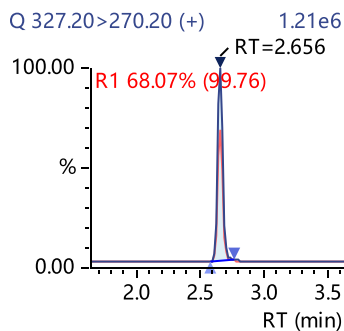
图 1 ATLAS-LEXT 样品处理流程图

■ 结果与讨论

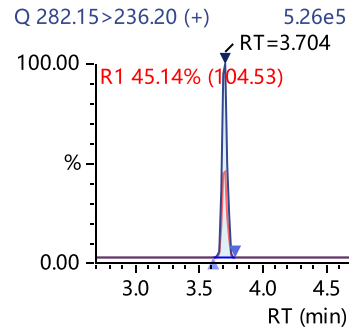
2.1 标准品 MRM 色谱图



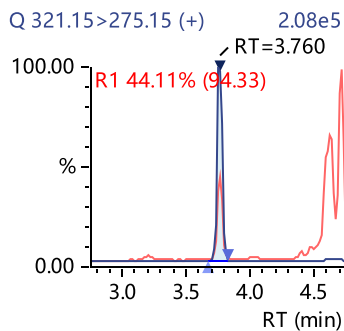
阿普唑仑



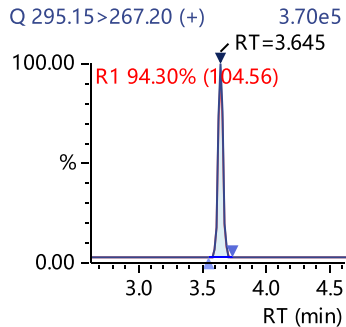
氯氮平



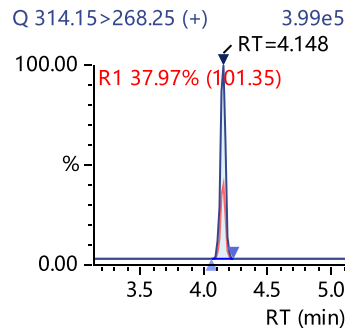
硝西洋



劳拉西洋



艾司唑仑



氟硝西洋

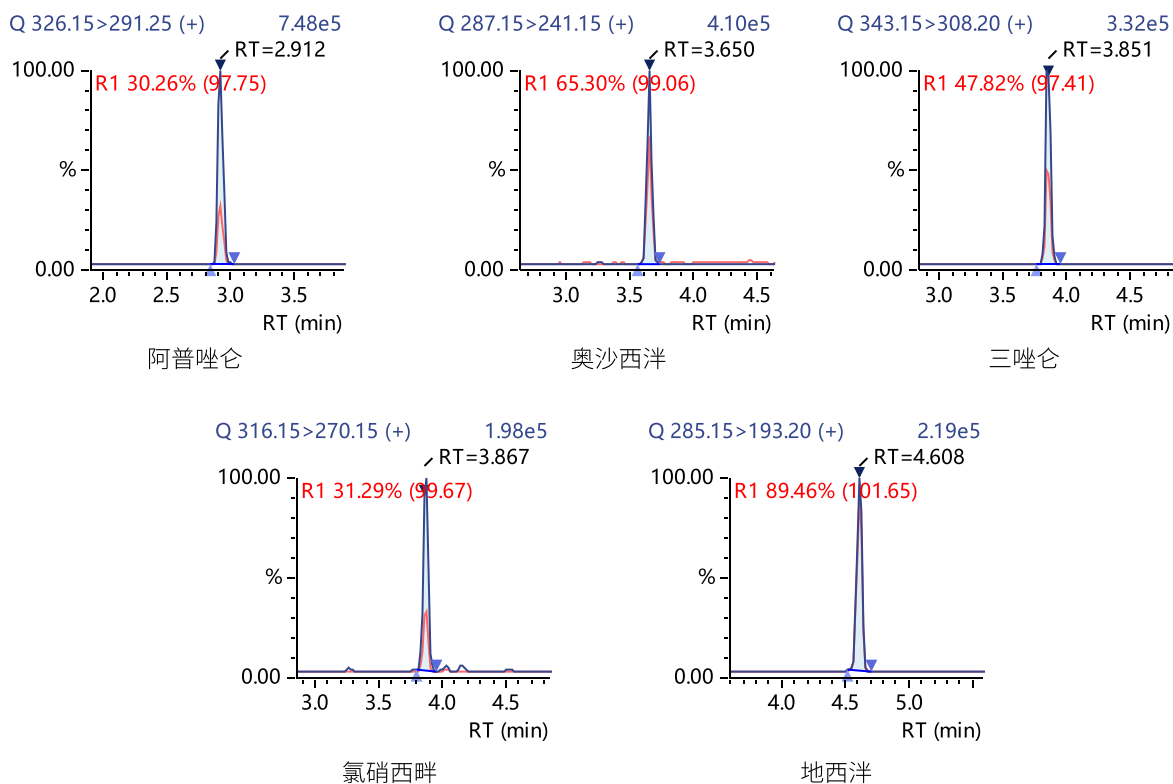
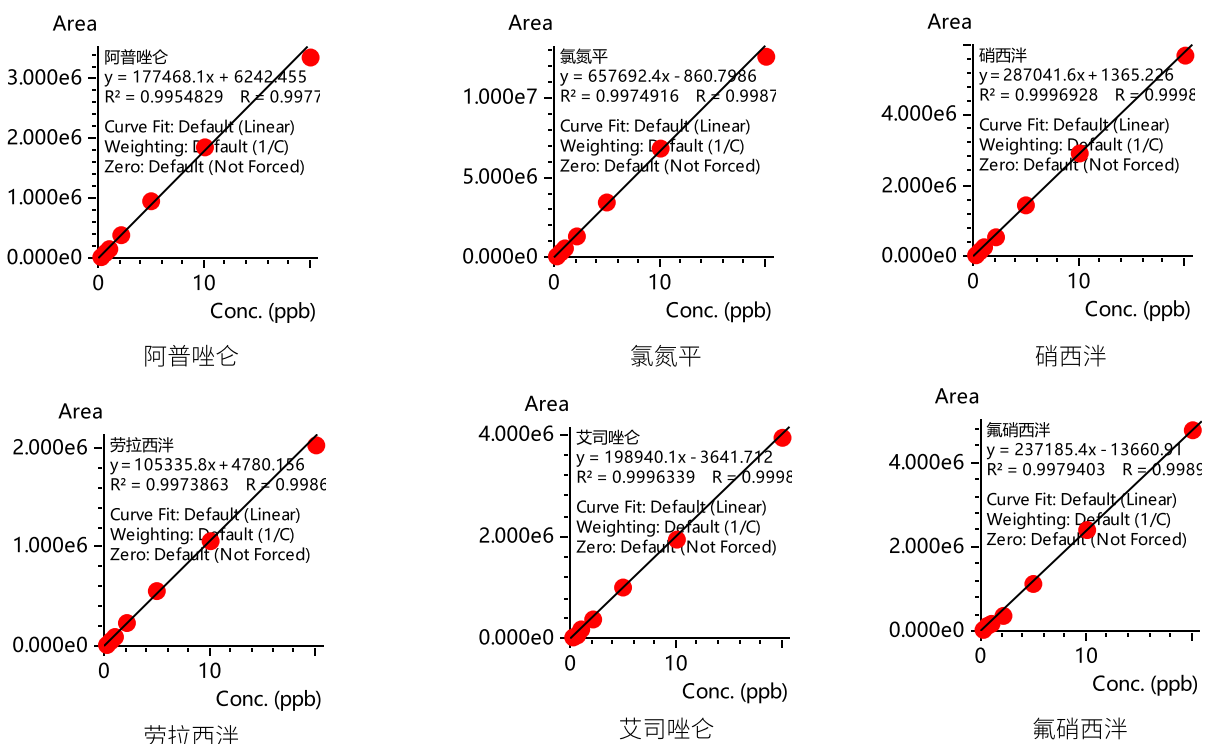


图 2 镇静剂标准品 MRM 色谱图 (5 µg/L)

2.2 线性范围

按照 1.3 配制各浓度标准溶液，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，线性相关系数大于 0.995，准确度在 80.0~ 119.8% 之间。曲线结果如下图 3 所示。线性方程及相关系数见表 3。



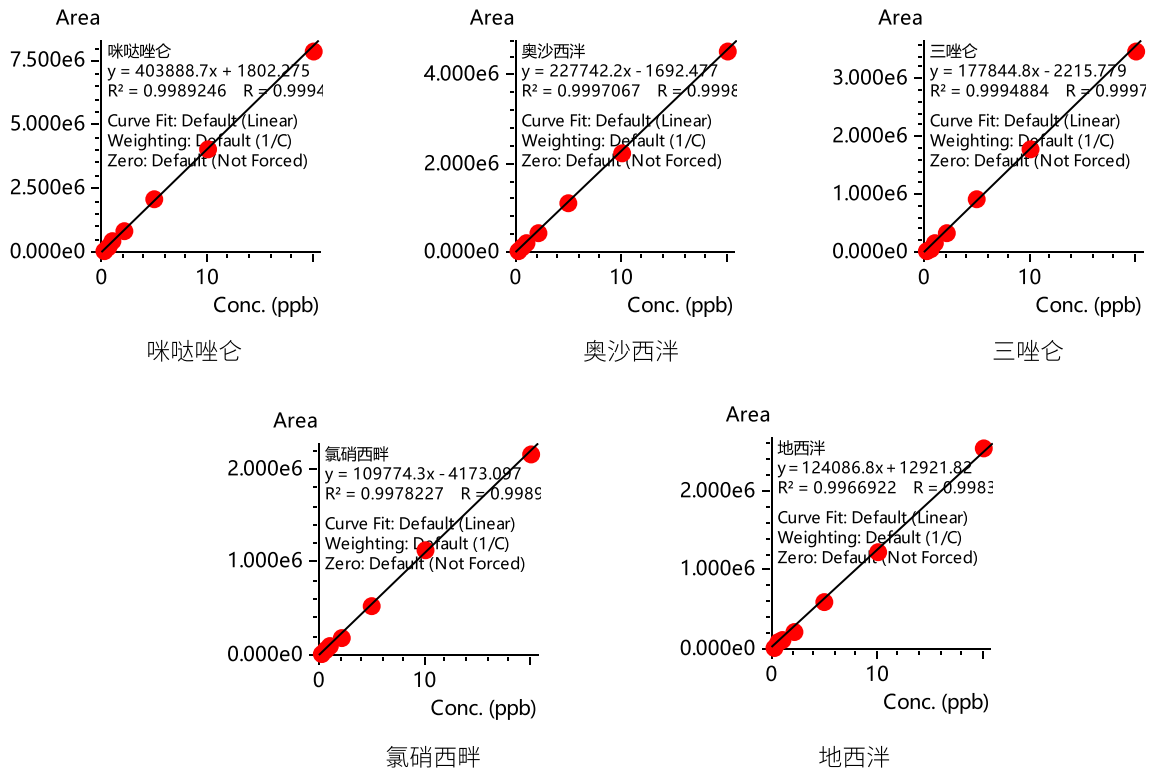


图3 毒品标准曲线

表3 校准曲线参数 (1/C)

No.	名称	校准曲线	相关系数	精确度	检测限 (μg/L)	定量限 (μg/L)
1	阿普唑仑	$Y = (177468)X + (6242.46)$	0.9977	80.0-111.5	0.01	0.03
2	氯氮平	$Y = (657692)X + (-860.799)$	0.9987	86.2-105.3	0.01	0.03
3	硝西洋	$Y = (287042)X + (1365.23)$	0.9998	96.4-104.8	0.01	0.03
4	劳拉西洋	$Y = (105328)X + (4359.41)$	0.9987	96.6-111.7	0.06	0.17
5	艾司唑仑	$Y = (198940)X + (-3641.71)$	0.9998	93.8-103.9	0.01	0.02
6	氟硝西泮	$Y = (237185)X + (-13660.9)$	0.9990	87.0-114.5	0.01	0.04
7	咪哒唑仑	$Y = (403889)X + (1802.27)$	0.9994	98.1-109.3	0.01	0.03
8	奥沙西洋	$Y = (227969)X + (-3312.87)$	0.9998	96.8-112.2	0.02	0.07
9	三唑仑	$Y = (177845)X + (-2215.78)$	0.9997	97.3-103.7	0.003	0.01
10	氯硝西泮	$Y = (109774)X + (-4173.10)$	0.9989	87.4-118.7	0.07	0.22
11	地西洋	$Y = (124087)X + (12921.8)$	0.9983	81.9-119.8	0.01	0.03

2.3 重复性考察

按照 1.3 步骤配制低、中、高三个浓度标准溶液，连续进样 10 次，考察分析方法保留时间和峰面积的重复性。结果表明：11 种镇静剂保留时间的 RSD 均小于 0.13% 和峰面积的 RSD 均小于 7.98%，方法重复性良好，仪器精密度良好。结果见表 4。

表 4 重复性测试 (n=10)

样品名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (20 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
阿普唑仑	0.03	3.61	0.07	2.67	0.09	1.59
氯氮平	0.06	3.51	0.09	4.40	0.13	2.21
硝西泮	0.04	3.85	0.07	2.63	0.09	2.20
劳拉西泮	0.02	4.71	0.07	2.74	0.10	2.90
艾司唑仑	0.04	3.47	0.06	2.46	0.09	1.43
氟硝西泮	0.02	7.98	0.06	1.95	0.08	2.75
咪达唑仑	0.06	2.22	0.08	3.55	0.11	2.99
奥沙西泮	0.03	4.37	0.07	2.71	0.09	2.87
三唑仑	0.03	4.19	0.06	1.62	0.09	1.96
氯硝西泮	0.04	6.62	0.06	4.10	0.09	1.74
地西泮	0.02	6.44	0.06	3.14	0.08	1.16

2.4 加标回收实验

取血清,按照 1.4 步骤中制备样品和加标样品,高中低 3 个水平加标浓度如下表 5 所示,各浓度平行处理 4 份。测试结果显示:通过两步提取,各水平的平均加标回收率在 53.4 ~ 87.0% 之间,相对标准偏差在 0.28~ 10.7% 之间。

表 5 基质加标实验结果 (n=4)

样品名称	样品浓度 (µg/L)	加标 (1 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (20 µg/L)	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
阿普唑仑	N.D.	69.0	9.61	79.6	4.88	68.5	10.7
氯氮平	N.D.	64.0	10.1	62.2	0.28	60.7	10.3
硝西泮	N.D.	65.0	4.32	63.0	4.63	60.3	8.12
劳拉西泮	N.D.	58.0	7.98	62.2	3.82	59.0	7.29
艾司唑仑	N.D.	70.0	8.02	81.2	2.23	78.8	5.90
氟硝西泮	N.D.	76.0	2.69	60.8	8.07	53.4	9.49
咪达唑仑	N.D.	87.0	5.80	85.6	4.46	81.4	5.67
奥沙西泮	N.D.	70.0	6.93	66.2	3.08	63.0	5.69
三唑仑	N.D.	84.0	4.48	80.4	3.76	78.2	5.78
氯硝西泮	N.D.	82.0	9.35	65.0	7.33	60.4	7.43
地西泮	N.D.	74.0	7.84	65.2	6.16	64.2	8.74

■ 结论

本文利用岛津 ATLAS-LEXT 自定义前处理程序功能 - 双步萃取，同 LCMS-8050 联用，建立一种简便、快速、准确的血清中 11 种镇静剂的分析方法。该方法采用外标法定量，在 0.2-20 $\mu\text{g/L}$ 的范围内，各组线性相关系数均在 0.995 以上，线性良好。对高、中、低水平的标准溶液重复进样 10 针，保留时间和峰面积均表现出了良好的重复性。加标回收实验中，各物质回收率在 53.4 ~ 87.0% 之间，平行 4 份样品的峰面积 RSD% 值分别在 0.28~ 10.7% 之间，ATLAS-LEXT 回收及精密度良好。该方法操作简捷，为血清中镇静剂的检测提供很好的参考。

岛津应用云

