

LCMS-8050 检测血清中五氟利多含量

LCMSMS-493

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用检测血清中五氟利多的分析方法。本方法参考公共安全行业标准 GA/T 1624-2019 《法庭科学 生物检材中五氟利多检验 液相色谱 - 质谱法》，采用乙酸乙酯液液萃取，氮吹后定容上机分析。该方法特异性好，采用外标法定量，在 1-200 ng/mL 范围内，相关系数为 0.9987。指控样品的峰面积的相对标准偏差小于 2%，平行样品的相对相差小于 10%，以上均优于标准要求。

关键词： 超高效液相色谱 三重四极杆质谱 五氟利多 血清

五氟利多为二苯丁哌啶类衍生物，是口服长效抗精神病药。抗精神病作用与其阻断脑内多巴胺受体有关，还可阻断神经系统 - 肾上腺素受体，抗精神病作用强而持久，口服一次可维持数天至一周。口服吸收缓慢，24h ~ 72h 血药浓度达峰值，7 天后仍可自血液中检出。

本文参考公共安全行业标准 GA/T 1624-2019 《法庭科学 生物检材中五氟利多检验 液相色谱 - 质谱法》，建立了建立了采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 定量检测血液中五氟利多的分析方法，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配制为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20 A5

输液泵：LC-30AD×2

柱温箱：CTO-30A

自动进样器：SIL-30AC

色谱工作站：LabSolutions Ver 5.97

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack GIST-HP C18-AQ 100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm； P/N: 227-30807-02；
岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液； B- 乙腈

洗针模式：进样前后洗针，External only（进样针外壁清洗），Rinse Port

流速：0.35 mL/min

柱温：40°C

进样体积：2 μL

洗针液：甲醇 / 水 =1/1 (v/v)

样品盘温度：25°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.00	泵	B.Conc	100
6.00	泵	B.Conc	100
6.10	泵	B.Conc	30
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式

雾化气流速: 3 L/min

加热模块温度: 400 °C

接口温度: 300 °C

DL 温度: 250 °C

碰撞气: 氩气 270 kPa

加热气流速: 10 L/min

干燥气流速: 10 L/min

接口电压: 4 KV

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 50 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	五氟利多	Penfluridol	26864-56-2	524.35	109.15*	-24.0	-40.0	-11.0
					149.15	-24.0	-36.0	-23.0

* 代表定量离子对。

1.3 样品前处理

准确移取 1 mL 血清样品于具盖离心管中, 加入 1 mL 水, 再加入乙酸乙酯 4.0 mL, 振荡 5min, 8000r/min 离心 10min, 分离有机相; 重复提取一次, 合并两次提取的有机相, 用无水硫酸钠脱水后, 45°C 氮气吹干, 残留物用 1 mL 甲醇溶解, 过 0.22 μ m 的有机系微孔滤膜后, 上机分析。

1.4 质控样品制备

1.4.1 标准曲线制备

准确移取 6 份 1 mL 空白血清样品于具盖离心管中, 分别向空白样品中添加 10 μ L 100 ng/mL、300 ng/mL、1 μ g/mL、3 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL 五氟利多标准物质, 即样品中五氟利多的浓度为 1 ng/mL, 3 ng/mL、10 ng/mL、30 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL, 按照 1.3 步骤制备样品, 供仪器分析。

1.4.2 质控样品制备

准确移取 3 份 1 mL 空白血清样品于具盖离心管中, 一份作为空白样品, 另外两份样品分别添加 10 μ L 500 ng/mL 五氟利多标准物质, 即样品中五氟利多的浓度为 5 ng/mL, 按照 1.3 步骤制备样品, 供仪器分析。

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

空白血清加标 1 ng/mL 的色谱图, 见图 1。

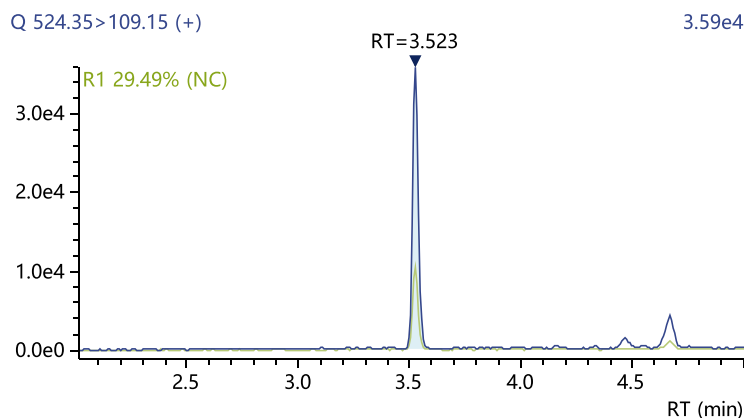


图 1 空白血清加标 1 ng/mL 的色谱图

2.2 特异性

空白血清按照 1.3 步骤前处理，得到基质空白样品，上机分析，MRM 色谱图见图 2。

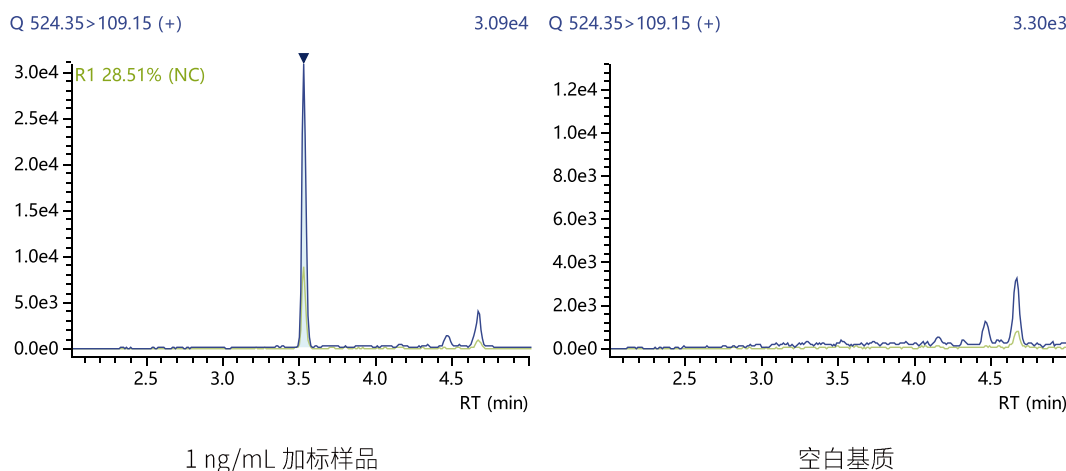


图 2 加标样品 (1 ng/mL) 和空白样品色谱图

由上图可知，基质空白无干扰峰，不影响五氟利多的定性定量检测。

2.3 线性关系和灵敏度

按照 1.4.1 制备校准曲线溶液，按照 1.2 中的分析条件进行测定。以峰面积为纵坐标，血清样品中五氟利多的加标浓度为横坐标，外标法绘制标准曲线。五氟利多的标准曲线图 3，线性方程、相关系数表 3。

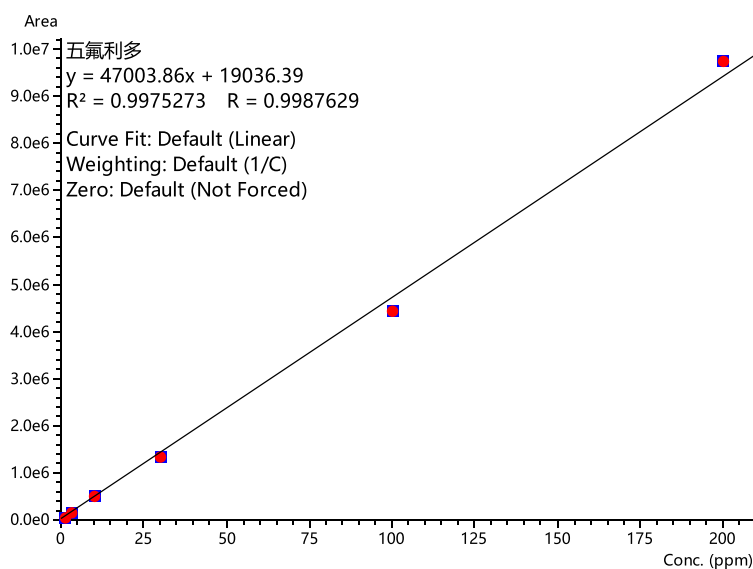


图 3 五氟利多标准曲线

表 3 线性关系

名称	定量方法	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r
五氟利多	外标法	$Y=47003.86X+19036.39$	1-200	93.09-108.49	0.9987

信噪比计算方式为ASTM,选择目标峰两边0.5min内色谱图计算噪音,校准曲线浓度最低点(1 ng/mL加标)的信噪比为170.78,优于标准要求的2 ng/mL的检出限。

2.4 精密度实验

质控样品按照1.4.2步骤前处理,加标浓度为5 ng/mL,连续6次进样,考察仪器的精密度,保留时间、峰面积和离子丰度比的精密度结果如表4所示。峰面积的相对标准偏差小于2%,优于标准要求。

表4 精密度结果(n=6)

名称	RSD% (QC1)			RSD% (QC2)		
	R.T.	Area	Ratio	R.T.	Area	Ratio
五氟利多	0.096	1.28	2.36	0.10	1.80	3.52

2.5 定量计算

质控样品平行处理,每份样品平行进样3次,平均值即为样品的检测结果。两份样品的检测结果计算相对相差(RD),结果见表5。指控样品RD为9.26%,满足标准要求的≤20%,表明定量结果准确。

表5 样品定量测试结果

名称	平行1	平行2	RD%
五氟利多	4.63 ng/mL	4.22 ng/mL	9.26

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8050联用定量测定门血清中五氟利多的分析方法。本文参考公共安全行业标准GA/T 1624-2019《法庭科学 生物检材中五氟利多检验液相色谱-质谱法》,本方法线性范围为1-200ng/mL,灵敏度和重复性均满足标准要求,指控样品相对相差小于20%,满足标准定性定量需求。

岛津应用云

