

ATLAS-LEXT NHD 结合 LCMSMS 快速检测 血浆中的芬太尼及其类似物

LCMSMS-587

摘要： 本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及液质联用仪测定血浆中 8 种芬太尼类化合物的方法。实验结果表明：该方法线性良好，对标准溶液平行测试 6 次，保留时间和峰面积的重现性良好，加标回收实验中，各物质加标回收率在 73.8~ 113.5% 之间，相对标准偏差在 1.96 ~ 4.70% 之间。该方法具有自动化程度高、通量高、重现性好的特点，利用了 ATLAS-LEXT NHD 自定义编程功能进行液液萃取，可大大简化前处理流程，减少人为操作带来的误差并和化学试剂暴露风险，可用于血样中芬太尼类物质的测定，供公安司法相关检测人员参考。

关键词： 芬太尼 ATLAS-LEXT NHD LCMS-8045

芬太尼属于阿片类物质，芬太尼类新精神活性物质均为芬太尼的衍生物，是人工合成的强效麻醉性镇痛药，药理作用与吗啡类似。目前有报道的芬太尼类新精神活性物质约 60 余种，目前我国已列管了卡芬太尼、呋喃芬太尼等 23 种，涵盖国际禁毒公约管制的全部芬太尼类物质。由于不同芬太尼类物质作用效力不同，生物体内含量相差较大，因此建立可靠稳定的分析方法至关重要。目前已报道的芬太尼及其类似物的分析方法有免疫分析法，气相色谱 - 质谱联用 (GC-MS)，液相色谱 - 质谱联用 (LC-MS) 等。

岛津公司 ATLAS-LEXT NHD 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，干燥复溶后可直接进入液质联用分析或气质

联用分析，自动化程度高，可节省大量时间，提高效率，降低人为失误，并减少使用大量有机溶剂对实验人员造成的身体危害。此外，NHD 款搭载了多通道混合离心装置，可支持最多 6 个样品同时处理，进一步提高了处理速度，而且，ATLAS-LEXT 还可根据前处理的需要进行自定义编程，流程图格式简单易懂，从而完美实现复杂的前处理步骤自动化，例如两次或多次萃取，使用中酸性碱性条件依次萃取等。

本文利用岛津 ATLAS-LEXT NHD 和三重四极杆质谱仪联用，建立了血浆中 8 种芬太尼类化合物的检测方法，该方法自动化程度高、通量高、重现性好，能够对血浆样品中的芬太尼类物质进行快速准确的检测，可供公安司法领域人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及岛津三重四极杆质谱联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A

输液泵：LC-20AD × 2

自动进样器：SIL-20AC

柱温箱：CTO-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

质谱仪：LCMS-8045

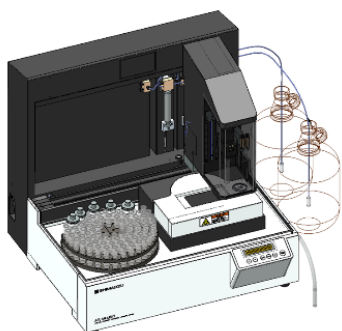


图 1 ATLAS-LEXT (NHD) 系统 (左) 和 LCMS-8045 (右)

1.3 标准溶液的配制

取浓度为 0.5 mg/L 对照品混合溶液，以 ATLAS-LEXT NHD 处理的血液空白基质作为稀释溶剂，依次配制成 0.005、0.01、0.05、0.1、1、5、10、20 ng/mL 的系列浓度，待上机分析。

1.4 样品前处理方法

1. 使用 ATLAS 进行前处理：样品管中加入 1 mL 经稀释过后的血液（稀释 4 倍体积），使用 ATLAS-LEXT NHD 自定义程序进行液液萃取，程序的详细步骤为：向样品中加入 3 mL 乙酸乙酯，混匀后离心，乳化检测，取 3 mL 上清至干净试管中，再向样品中加入 70 μ L 的 10% NaOH 溶液，混合均匀后再次加入 3 mL 乙酸乙酯萃取，取 3 mL 上清液合并到干净试管中，加入 70 μ L 的 5% 盐酸 - 甲醇溶液混匀后进行真空干燥，干燥完成后加入 1 mL 甲醇复溶，0.22 μ m 滤膜过滤后上机。针对于 ATLAS 的专用软件流程设置如图 3 所示，单次批量可处理 6 个样品，每个样品折算处理时间约为 4.5 min。

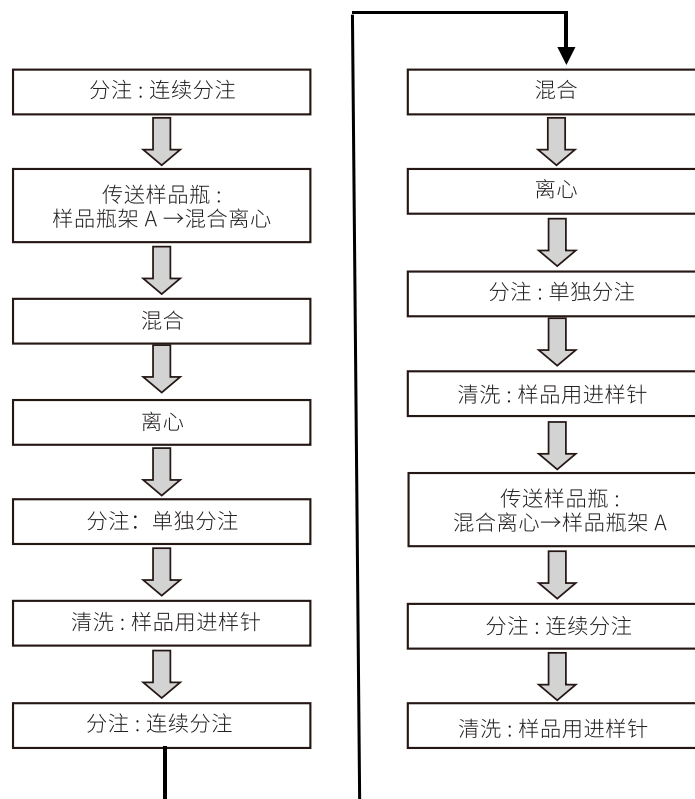


图 2 ATLAS-LEXT NHD 样品前处理软件设置流程图

2. 手动进行前处理：按照与自动处理序列相同的步骤对样品瓶进行手动处理，如图 3 所示。样品需逐个加萃取液后统一震荡，离心以保证效率。每个样品折算处理时间约为 5 min。

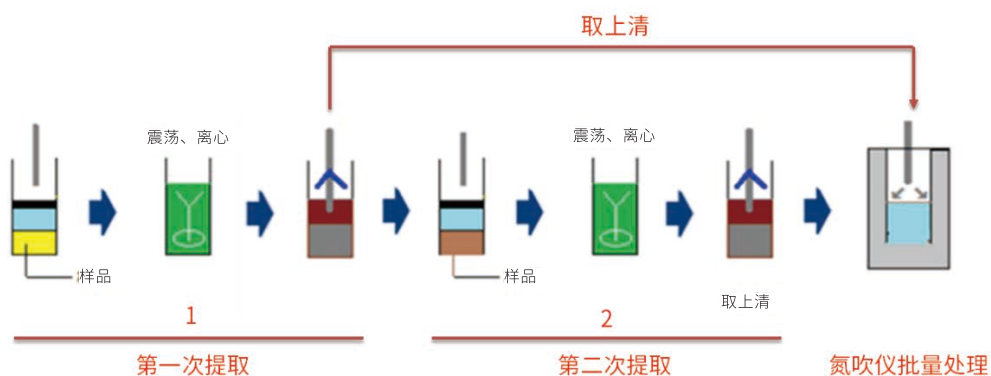


图 3 样品手动前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 标准样品定量通道 MRM 色谱图

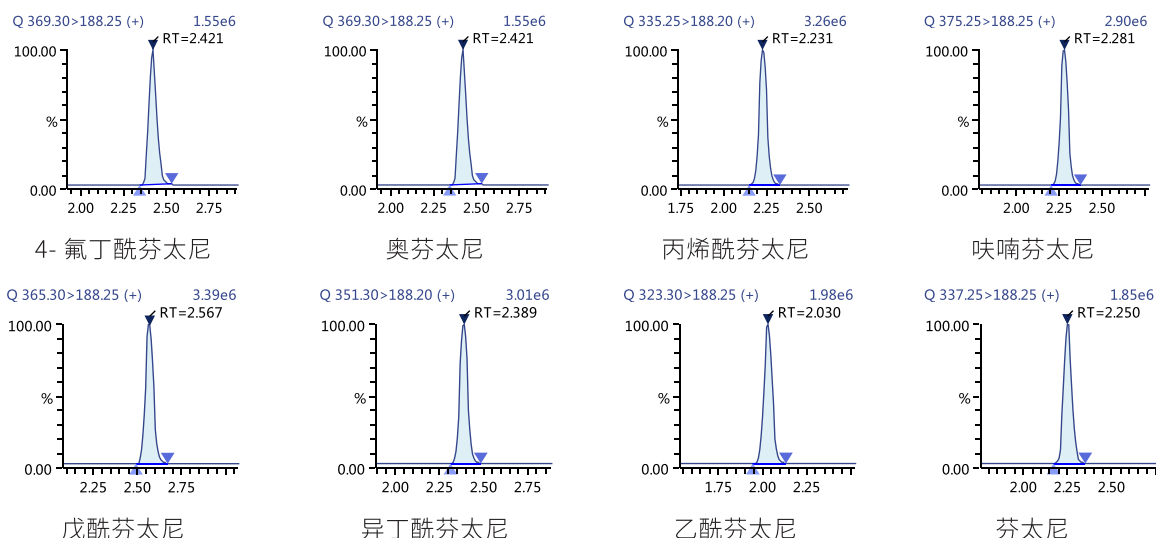


图 4 1 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图

2.2 线性范围

将浓度为 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、5、10、20 ng/mL 标准工作液，稀释液为萃取后的空白血浆基质，按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

表 3 校准曲线参数 (权重 1/C)

序号	名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
1	芬太尼	$Y = (762793)X + (1318.04)$	0.005~20.00	0.999	80.4~111.1
2	4-氟丁酰芬太尼	$Y = (889470)X + (1212.39)$	0.005~20.00	0.999	84.0~109.5
3	奥芬太尼	$Y = (1.06788e+006)X + (1506.79)$	0.005~20.00	0.999	84.7~114.6
4	丙烯酰芬太尼	$Y = (1.22269e+006)X + (2596.29)$	0.005~20.00	0.999	90.6~116.0
5	咪喃芬太尼	$Y = (929063)X + (804.968)$	0.005~20.00	0.999	87.2~111.4
6	戊酰芬太尼	$Y = (1.26288e+006)X + (2720.70)$	0.005~20.00	0.999	81.7~108.6
7	异丁酰芬太尼	$Y = (1.06323e+006)X + (1424.10)$	0.005~20.00	0.999	85.3~112.4
8	乙酰芬太尼	$Y = (735037)X + (1857.66)$	0.005~20.00	0.999	88.6~115.4

2.3 重复性实验

对浓度为 0.5 ng/mL 的基质混合标准溶液连续测定 6 次，考察分析方法保留时间和峰面积的重复性，结果如表 4 所示，方法重复性良好，仪器精密度良好。

表 4 0.5 ng/mL 基质混合标准品重复性测试结果

序号	名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%	序号	名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	芬太尼	0.27	4.09	5	咪喃芬太尼	0.29	5.00
2	4-氟丁酰芬太尼	0.28	3.20	6	戊酰芬太尼	0.25	4.70
3	奥芬太尼	0.29	4.34	7	异丁酰芬太尼	0.28	3.84
4	丙烯酰芬太尼	0.28	3.49	8	乙酰芬太尼	0.31	1.96

2.4 自动前处理血样前加标回收率实验

取空白血浆或样品，按照 1.4 步骤进行样品制备和前加标，两个水平加标浓度如下表所示，各浓度平行处理 6 份，结果显示，各水平的平均加标回收率在 73.8~ 113.5% 之间，相对标准偏差在 1.96 ~ 4.70% 之间，如表 5 所示。

表 5 基质加标实验结果 (n=6)

名称	样品浓度 (ng/mL)	加标 (0.5 ng/mL)		加标 (10 ng/mL)	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
芬太尼	N.D.	92.2	4.09	90.9	3.35
4- 氟丁酰芬太尼	N.D.	73.8	3.20	86.1	3.65
奥芬太尼	N.D.	111.6	4.34	113.5	4.38
丙烯酰芬太尼	N.D.	98.8	3.49	101.0	4.33
咪喃芬太尼	N.D.	92.8	5.03	97.8	4.55
戊酰芬太尼	N.D.	75.9	4.70	94.8	3.55
异丁酰芬太尼	N.D.	80.2	3.85	86.1	3.98
乙酰芬太尼	N.D.	101.3	1.96	102.7	3.33

*N.D. 表示未检出或未达到定量限。

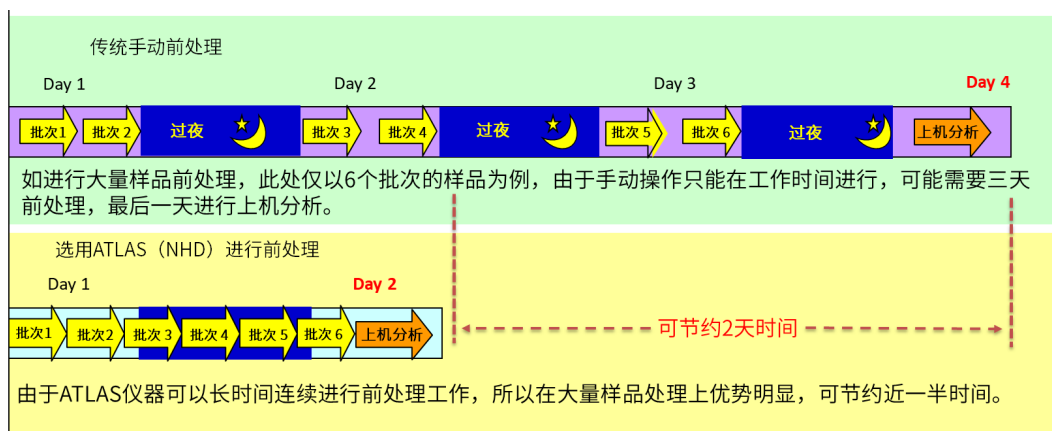
2.5 自动与手动前处理血样加标回收率对比

取空白血浆或样品，按照 1.4 步骤进行样品制备和前加标，加标浓度为 10 ng/mL，结果显示，各化合物的加标回收率在 85.9~ 114.6% 之间，与 ATLAS-LEXT NHD 无明显差异，回收率结果如表 6 所示。

表 6 基质加标 10 ng/mL 手动回收率

名称	回收率 %	名称	回收率 %
芬太尼	89.4	咪喃芬太尼	99.5
4- 氟丁酰芬太尼	85.9	戊酰芬太尼	93.6
奥芬太尼	114.6	异丁酰芬太尼	89.9
丙烯酰芬太尼	103.0	乙酰芬太尼	105.8

2.6 自动与手动前处理效率对比



■ 结论

本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及岛津三重四极杆液质联用仪测定血浆中 8 种芬太尼类化合物的方法。外标法定量，线性相关系数不低于 0.999，定量限均为 0.005 ng/mL，0.5 ng/mL 基质混合标准品平行测试 6 次，峰面积的相对标准偏差分别在 1.96 ~ 5.00% 之间。加标回收实验中，各物质加标回收率在 73.8~ 113.5% 之间，相对标准偏差在 1.96 ~ 4.70% 之间，与手动液液萃取回收率接近。该方法具有自动化程度高、通量高、重现性好的特点，利用了 ATLAS-LEXT 自定义编程功能进行液液萃取，大大减少人为操作失误及化学试剂暴露风险，可用于血样中芬太尼类物质的测定。

岛津应用云

