

AOE-LC-MS/MS 联用分析生活污水中依托咪酯及代谢物

LCMSMS-960

摘要： 本文利用岛津 AOE 系统和三重四极杆质谱仪联用建立了生活污水中依托咪酯及代谢物的定量分析方法。本方法在 14 min 内完成生活污水的上样、富集和分析测定。方法学参数表明，依托咪酯、美托咪酯和依托咪酸在线性范围内相关性良好，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~0.16% 和 0.43%~4.18% 之间，不同浓度加标回收实验中，各化合物的平均加标回收率在 74%~121% 之间，满足定量要求。

关键词： AOE+LCMSMS 依托咪酯及代谢物 生活污水

技术特点：

- ❖ 利用 AOE 系统与 LC-MS/MS 在线联用，实现自动化进行样品前处理 - 高灵敏分析过程。
- ❖ 分析热点物质依托咪酯及其代谢物，建立生活污水分析方法。

依托咪酯为非巴比妥类静脉麻醉药（分子式 $C_{14}H_{16}N_2O_2$ ），是麻醉诱导常用的药物之一，在临床应用已有 30 年的历史。一般为静脉用药，作用迅速但短暂，入睡快，苏醒也快，对中枢神经系统有较强的抑制作用。

近几年来，由于国家对海洛因、冰毒（麻古）、K 粉等毒品的打击力度持续加大，以及疫情期间加强边境管理，一些毒贩和瘾君子为了追逐暴利、寻求刺激，转而找一些兴奋剂、镇静剂、麻醉剂等新精神活

性物质来替代原来的毒品，依托咪酯即是其中之一。2023 年 10 月 1 日起，国家药品监督管理局、公安部、国家卫生健康委员会联合发布公告，将依托咪酯（在中国境内批准上市的含依托咪酯的药品制剂除外）列入第二类精神药品目录。

本文利用岛津全自动在线固相萃取系统 AOE 与三重四极杆质谱仪联用，建立一种简便、快速、准确的生活污水中依托咪酯及其代谢物的分析方法，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津 AOE 系统和三重四极杆质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

| | | | |
|--------|--------------------------|--------|------------|
| 系统控制器： | CBM-20 | 脱气机： | DGU-405×2 |
| 输液泵： | LC-40D X3×2 | 自动进样器： | SIL-40C X3 |
| 输液泵： | LC-40D XR（内置 LPGE 单元） | 自动进样器： | SIL-16P |
| 柱温箱： | CTO-40C（内置 FCV-36AH 十通阀） | | |
| 色谱工作站： | LabSolutions Ver.5.118 | 质谱仪： | LCMS-8050 |

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱条件（SPE）

固相萃取柱：Oasis HLB Direct Connect HP（30 mm L.×2.1 mm I.D., 20 μm）

SPE 输液泵：A- 水，B- 甲醇 / 乙腈 / 异丙醇（1/1/1, v/v/v）
C-0.1% 甲酸 50% 甲醇水溶液

SPE 流速：初始流速为 0.5 mL/min，初始流路为 A

进样体积：2000 μL

表 1 SPE 时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|--------|-------------|-------|
| 0.01 | Pumps | Pump C Flow | 1.2 |
| 2.80 | Pumps | Pump C Flow | 1.2 |
| 2.80 | Pumps | SV(Pump C) | C |
| 2.90 | Pumps | Pump C Flow | 3 |
| 5.00 | Pumps | SV(Pump C) | B |
| 7.00 | Pumps | SV(Pump C) | A |
| 11.00 | Pumps | Pump C Flow | 3 |
| 11.01 | Pumps | Pump C Flow | 0.5 |

注：FCV-36AH 十通阀切换时间为 2.8 min

色谱条件 (UHPLC)

色 谱 柱： Shim-pack GIST AQ-C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)

流 动 相： A 相 -0.1 % 甲酸水溶液; B 相 - 乙腈

流 速： 0.4 mL/min

柱 温： 40°C

洗 脱 方 式： 梯度洗脱, B 相初始浓度为 8%, 时间程序见表 2

表 2 梯度洗脱时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|------------|--------------|-------|
| 2.80 | Pumps | Pump B Conc. | 8 |
| 6.50 | Pumps | Pump B Conc. | 18.5 |
| 12.00 | Pumps | Pump B Conc. | 100 |
| 13.00 | Pumps | Pump B Conc. | 100 |
| 13.10 | Pumps | Pump B Conc. | 8 |
| 14.00 | Controller | Stop | |

质谱条件

离 子 源： ESI+

加热模块温度： 350°C

雾化气流速： 3.0 L/min

D L 温 度： 250°C

加热气流速： 15.0 L/min

接 口 温 度： 400°C

干燥气流速： 5.0 L/min

接 口 电 压： 1.0 kV

MRM 参 数： 见表 3

表 3 MRM 参数

| ID | 化合物 | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias | Collision Energy | Q3 Pre Bias | 内标 |
|----|------|--------|---------|-------------|------------------|-------------|-----------------------|
| 1 | 依托咪酸 | 217.10 | 113.10* | -15.0 | -10.0 | -12.0 | 甲基苯丙胺 -D ₅ |
| | | | 105.10 | -15.0 | -23.0 | -11.0 | |

| | | | | | | | |
|---|----------------------|--------|---------|-------|-------|-------|---------------------|
| 2 | 依托咪酯 | 245.10 | 141.10* | -12.0 | -11.0 | -14.0 | 依托咪酯-D ₅ |
| | | | 105.10 | -12.0 | -25.0 | -11.0 | |
| 3 | 美托丙酯 | 231.15 | 127.10* | -11.0 | -10.0 | -13.0 | 依托咪酯-D ₅ |
| | | | 95.05 | -11.0 | -23.0 | -10.0 | |
| 4 | 甲基苯丙胺-D ₅ | 141.20 | 93.10* | -10.0 | -15.0 | -18.0 | -- |
| | | | 124.10 | -10.0 | -14.0 | -24.0 | |
| 5 | 依托咪酯-D ₅ | 250.10 | 141.10* | -15.0 | -12.0 | -26.0 | -- |
| | | | 110.10 | -15.0 | -23.0 | -28.0 | |

注：* 表示定量离子

■ 样品前处理

2.1 标准溶液配制

分别准确移取依托咪酯、依托咪酸、美托丙酯标准溶液，混合后用甲醇稀释定容，得到混合工作液，放置于 -20℃ 冰箱中保存。分别准确移取内标溶液，混合后用甲醇稀释定容，得到混合工作液，放置于 -20℃ 冰箱中保存。

取混合工作液用甲醇以逐级稀释方法配制内标法校准曲线工作液，浓度依次为 0.25、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 和 100.0 ng/mL，内标浓度为 20.0 ng/mL，向 10 mL 超纯水中加入 30% 乙酸铵溶液 200 μL，加入校准曲线工作溶液 10 μL，混合均有后，转移至样品瓶中，待分析。

2.2 实际样品前处理

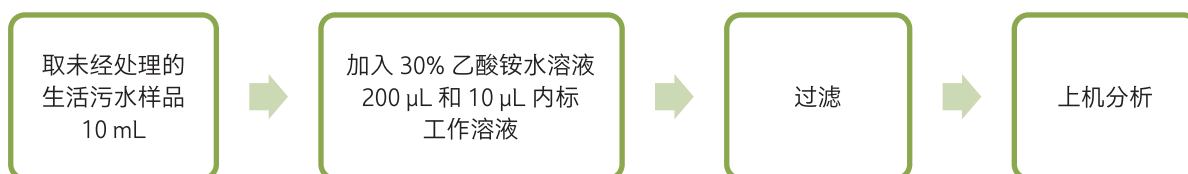


图 1 样品前处理过程

■ 实验结果

3.1 色谱图

依托咪酯、美托丙酯和依托咪酸的分离度良好。三个目标分析物在校准曲线最低浓度（0.25 ng/L）的色谱图如图 3，信噪比（S/N，ASTM）满足定量要求。

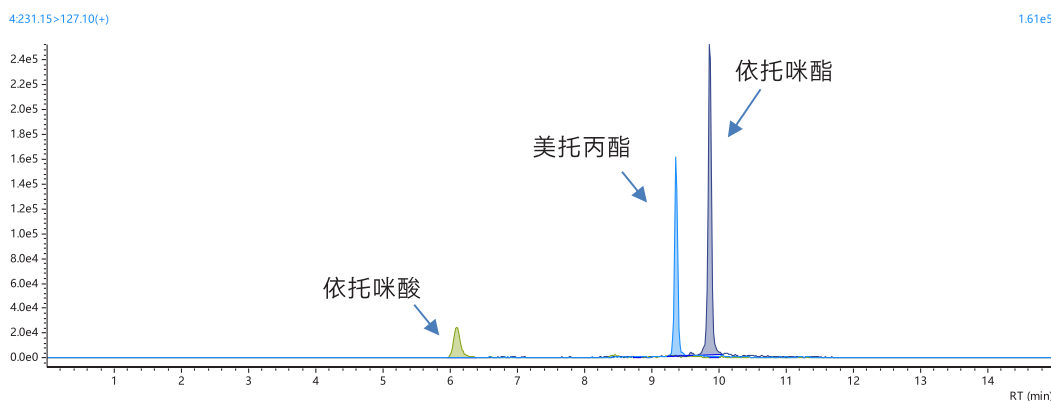


图 2 依托咪酯、美托丙酯和依托咪酸定量离子色谱图（1.0 ng/L）

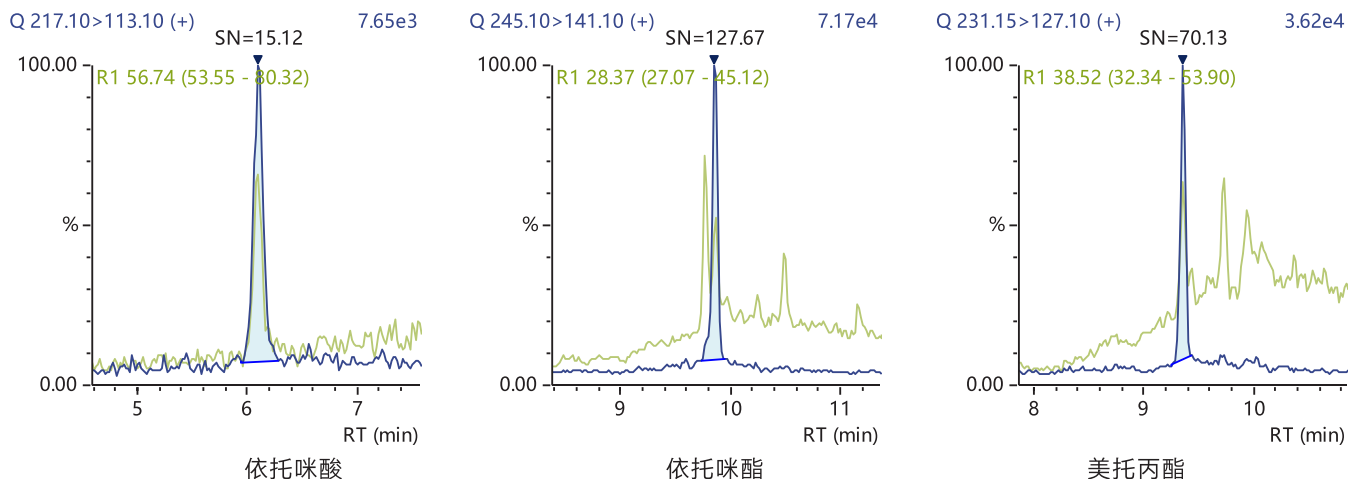


图3 三种目标分析物在线定量下限的色谱图和信噪比

3.2 校准曲线

按照 2.1 步骤配制并分析一系列浓度的标准溶液，采用内标法定量，以各化合物浓度为横坐标，化合物峰面积与内标峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线，各化合物的校准曲线相关系数、线性范围和准确度见表 4。

表 4 校准曲线参数

| ID | 化合物 | 保留时间 (min) | 线性范围 (ng/L) | 相关系数 R ² | 准确度 (%) |
|----|------|------------|-------------|---------------------|--------------|
| 1 | 依托咪酸 | 6.092 | 0.25-100.0 | 0.9982 | 93.09-104.73 |
| 2 | 依托咪酯 | 9.859 | 0.25-100.0 | 0.9971 | 96.26-108.88 |
| 3 | 美托丙酯 | 9.355 | 0.25-100.0 | 0.9967 | 95.11-107.52 |

3.3 精密度

分别对低、中、高浓度的标准溶液进行 6 次重复测定，保留时间精密度相对标准偏差为 0.03%~0.16% 之间，峰面积精密度相对标准偏差在 0.43%~4.18% 之间，方法精密度良好，数据结果见附录表 5。

表 5 精密度测试结果 (n=6)

| ID | 化合物 | 5.0 ng/L | | 10.0 ng/L | | 50.0 ng/L | |
|----|------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | | 保留时间 RSD% | 峰面积 RSD% | 保留时间 RSD% | 峰面积 RSD% | 保留时间 RSD% | 峰面积 RSD% |
| 1 | 依托咪酸 | 0.16 | 2.09 | 0.05 | 3.03 | 0.06 | 0.43 |
| 2 | 依托咪酯 | 0.03 | 1.70 | 0.03 | 3.51 | 0.03 | 2.46 |
| 3 | 美托丙酯 | 0.02 | 4.18 | 0.03 | 1.47 | 0.03 | 1.17 |

3.4 加标回收率

取生活污水样品，按照 2.2 步骤中制备样品和加标样品，2 个水平加标浓度如下表 6 所示，各浓度平行处理 4 份。测试结果显示：各化合物的平均加标回收率 74%~121% 之间，相对标准偏差在 1.09%~6.15% 之间。

表 6 生活污水加标实验结果 (n=4)

| ID | 化合物 | 检出浓度 (ng/L) | 加标样 (5 ng/L) | | | 加标样 (50 ng/L) | | |
|----|------|-------------|--------------|-------|------|---------------|-------|------|
| | | | 测定值 ng/L | 回收率 % | RSD% | 测定值 ng/L | 回收率 % | RSD% |
| 1 | 依托咪酸 | 1.57 | 7.55 | 120 | 4.55 | 62.30 | 121 | 2.39 |
| 2 | 依托咪酯 | -- | 4.50 | 90 | 4.31 | 43.45 | 87 | 1.09 |
| 3 | 美托丙酯 | -- | 3.68 | 74 | 5.85 | 39.24 | 78 | 6.15 |

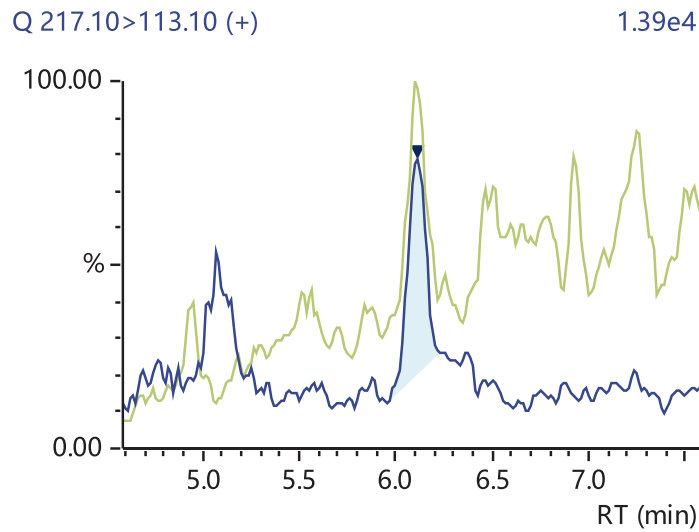


图 4 生活污水检出依托咪酸色谱图 (浓度 1.57 ng/L)

4:231.15>127.10(+)

1.40e5

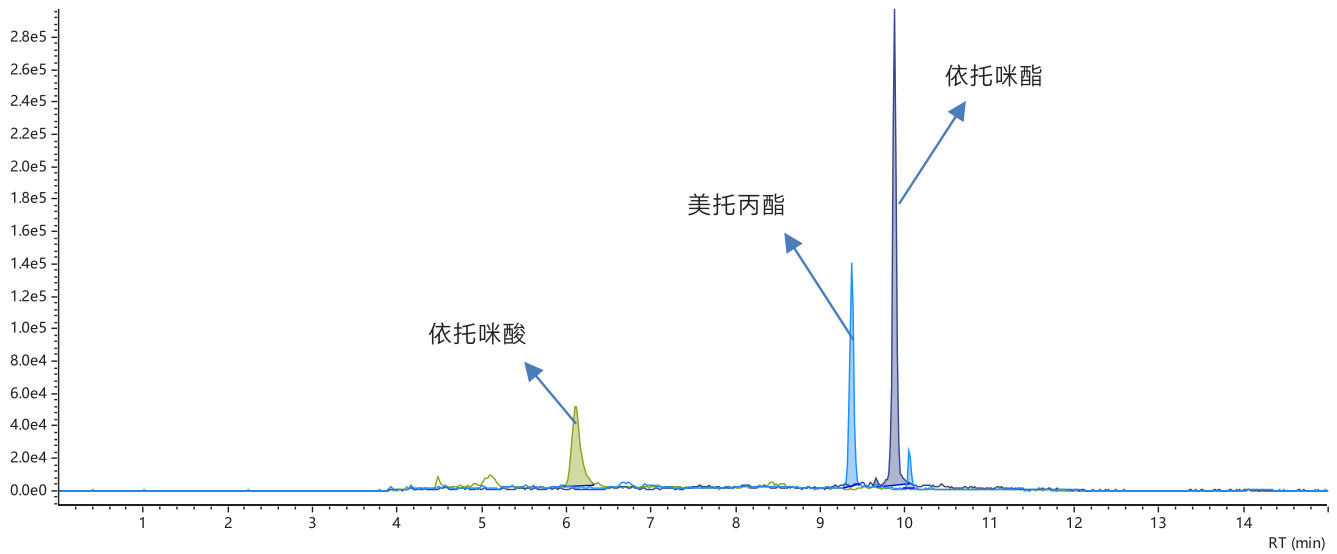


图 5 生活污水加标样品色谱图 (加标浓度 5.0 ng/L)

■ 结论

本文利用岛津全自动在线固相萃取 AOE 系统与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用, 建立一种简便、快速、准确的生活污水中依托咪酯及代谢物的分析方法。生活污水样品仅需简单操作步骤即可上机分析, 前处理过程简单快速、容易掌握。方法学实验表明, 该方法线性相关性好、重复性好、回收率稳定, 检测结果可靠。综上, 本方法前处理简单快速, 适合高通量分析, 供公安理化检测人员参考。

岛津应用云

