

GC-MS/MS 法测定血浆中氟乙酰胺含量

GCMSMS-241

摘要： 本文使用岛津气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了血浆中氟乙酰胺含量的检测方法。在 0.01~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，氟乙酰胺线性相关系数为 0.997。取浓度为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 血浆基质标准溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 为 1.76%。在加标回收实验中，每 0.5 mL 血浆样品中加标氟乙酰胺 0.1 μg (加标浓度 0.2 $\mu\text{g/mL}$)，测得加标回收率结果为 74.5%，三份加标样品回收率 RSD% 为 3.62%。实验结果表明：血浆样品前处理操作简单便捷，方法灵敏度高，结果准确，为疑似中毒血浆中氟乙酰胺含量测定提供了参考。

关键词： 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 血浆 氟乙酰胺

氟乙酰胺 (2-Fluoroacetamide) 又名敌蚜胺，是一种无色无味的有机氟内吸性杀虫剂。氟乙酰胺是一种神经毒剂，进入人体后会中断三羧酸循环，并且氟与血红蛋白结合生成氟血红蛋白，造成人体缺氧，损害心脏及中枢神经系统。

由于氟乙酰胺的剧毒性和潜在风险，上世纪 80 年代，国家农业部门已将氟乙酰胺列入了明令禁用灭鼠药范围，但氟乙酰胺中毒事件仍然时有发生。

目前，氟乙酰胺检测方法主要有气相色谱法 (GC 法) 和气相色谱质谱联用法 (GCMS 法) 等。生物样品

基质复杂，氟乙酰胺保留时间较短，对于此类样品及目标物，GC 法和 GCMS 法抗干扰能力较弱。所以建立一种准确可靠的、快速的氟乙酰胺检测方法既能够为临床诊治方案提供科学依据，也可为中毒、投毒等刑事案件侦破提供有效的技术参考。

本文利用岛津气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了血浆中氟乙酰胺检测方法，测定血浆中氟乙酰胺含量。本方法可有效消除生物样品基质干扰，样品处理简单快捷、灵敏度高、结果准确，可为突发事件中氟乙酰胺快速定性定量分析提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rtx-Wax (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序：80 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _140 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)_25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _250 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

离子化方式：EI

进样模式：不分流进样

离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式：恒线速度

色谱质谱接口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

柱流量：1.5 mL/min

检测器电压：调谐电压 +0.5 kV

进样量：1 μL

采集模式：MRM，离子对信息见表 1

■ 样品前处理

移取血浆 0.5 mL 于 1.5 mL 离心管中，加入 0.5 mL 乙酸乙酯

↓ 漩涡震荡 2min

加入 0.3 g 无水硫酸钠

↓ 剧烈震荡 2 min，8000 r/min 离心 10 min

取上层清液于样品瓶中，待上机分析

图 1 血浆样品前处理流程图

■ 结果与讨论

3.1 标准品色谱图

取氟乙酰胺标准溶液 1 μL 进 GCMS-TQ8050 NX 分析，氟乙酰胺标准溶液色谱图见图 2，化合物信息见表 1。

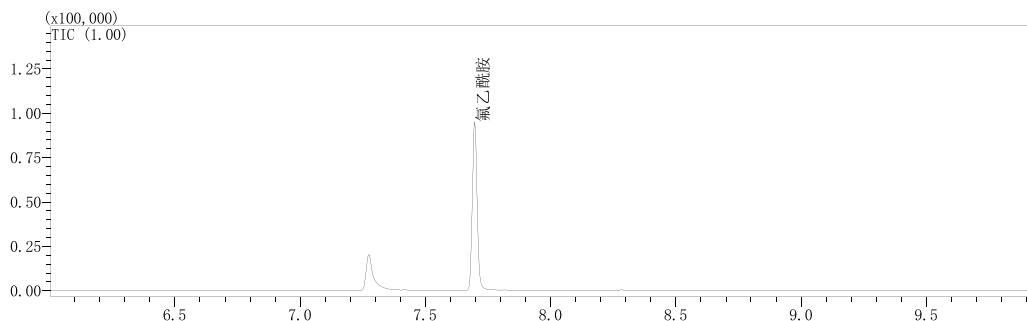


图 2 氟乙酰胺标准溶液色谱图 (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 1 氟乙酰胺 MRM 条件

化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对 (m/z)	碰撞能量 CE	参考离子对 (m/z)	碰撞能量 CE
氟乙酰胺	2-Fluoroacetamide	640-19-7	7.697	77.00>44.00	4	77.00>62.00	1

3.2 标准曲线及质量色谱图

以空白血浆提取液为溶剂，配制氟乙酰胺标准溶液，浓度梯度为 0.01、0.05、0.1、0.25、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，取 1 μL 进样，以浓度值为横坐标，氟乙酰胺定量离子对峰面积为纵坐标绘制标准曲线。氟乙酰胺标准曲线如图 3 所示，线性相关系数见表 2，目标物质量色谱图如图 4 所示。

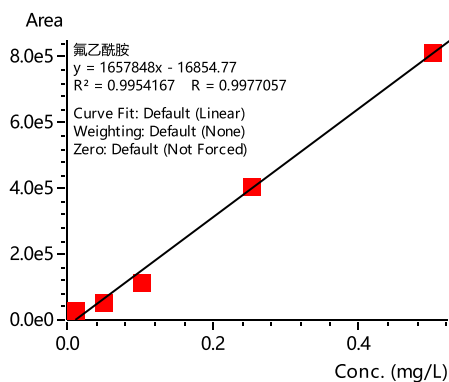


图 3 标准曲线

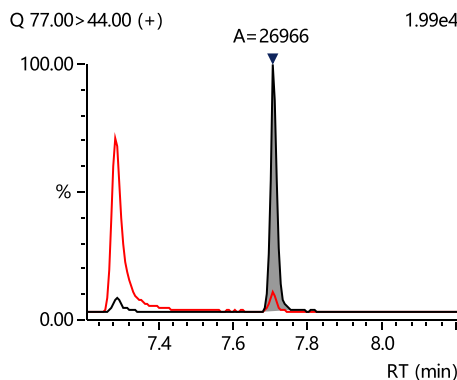


图 4 质量色谱图 (0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 2 氟乙酰胺标准曲线线性相关系数 r、仪器检出限

化合物名称	浓度范围 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	相关系数 (r)	检出限 ($\mu\text{g}/\text{L}$)
氟乙酰胺	0.01~0.5	0.997	0.026

3.3 检出限及重复性

取浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氟乙酰胺标准溶液，连续进样 6 次，考察峰面积重复性，测定结果见表 3。根据标准溶液数据计算化合物仪器检出限 (3 倍信噪比，峰至峰)，检出限见表 2。

表 3 氟乙酰胺峰面积重复性实验结果 (n=6)

化合物	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD (%)
氟乙酰胺	26966	27977	27909	28014	28043	28447	1.76

3.4 加标回收率实验

加标回收率实验中, 选取空白血浆添加氟乙酰胺标准溶液, 每 0.5 mL 血浆中加标氟乙酰胺 100 μg , 加标样品按前述样品处理流程平行处理 3 份, 上机分析。氟乙酰胺平均回收率结果为 74.5%, 平行处理三份加标样品回收率 RSD% (n=3) 为 3.62%, 加标回收率详细结果见表 4, 加标样品谱图如图 5。

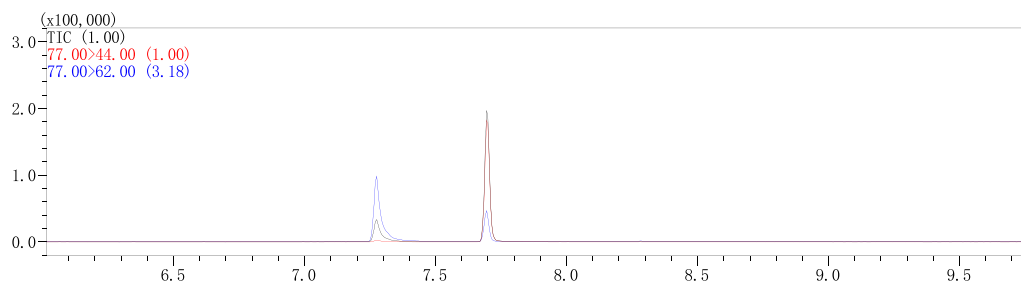


图 5 血浆加标氟乙酰胺样品质量色谱图 (加标浓度 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 4 血浆加标氟乙酰胺回收率结果

加标样品	加标浓度 (0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)			平均回收率	RSD% (n=3)
	回收率结果 1	回收率结果 2	回收率结果 3		
血浆	72.1	74.2	77.2	74.5	3.62

3.5 实际样品分析结果

选取 2 份疑似中毒血浆样品, 按前述样品处理流程进行样品制备, 并采用上述仪器条件测定, 氟乙酰胺检测结果如表 5 所示。

表 5 血浆样品中氟乙酰胺测定结果

样品编号	样品名称	氟乙酰胺含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	血浆样品 1	N.D.
2	血浆样品 2	N.D.

注: N.D. 表示未检出

■ 结论

本文使用岛津气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了血浆中氟乙酰胺含量的检测方法。在 0.01~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内, 氟乙酰胺标准曲线线性相关系数为 0.997。取浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液连续进样 6 针, 氟乙酰胺峰面积 RSD% 为 1.76%。在 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 加标浓度下, 氟乙酰胺平均加标回收率结果为 74.5%, 三份加标样品回收率 RSD% 为 3.62%。实验结果证明: 血浆样品前处理操作简单便捷, 方法灵敏度高, 结果准确, 为疑似中毒血浆中氟乙酰胺含量测定提供了参考。

岛津应用云

