

ATLAS-LEXT 结合 LCMS-8045 快速检测 血浆中的芬太尼及其类似物

LCMSMS-509

摘要： 本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT 自动前处理装置及岛津高效液相色谱仪 LC-20AD 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定血浆中 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 65.91 ~ 112.97% 之间，相对标准偏差在 0.88 ~ 5.88% 之间。该方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、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及干燥浓缩，大大简化前处理流程，可用于血样中芬太尼类物质的测定。

关键词： 芬太尼 ATLAS-LEXT 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，因药性强、易成瘾、危害大而备受国际社会关注。以芬太尼类物质为代表的新型毒品来势凶猛，已在一些国家大规模流行滥用，造成大量人员死亡，引发严重社会问题。

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，并可以执行真空干燥，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，并减少使用大量有机溶剂对实验

人员造成的身体危害。同时，ATLAS-LEXT 还可根据前处理的需要进行自定义编程，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，使用中性酸性碱性条件依次萃取等。

本文利用岛津 ATLAS-LEXT 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用，通过 ATLAS-LEXT 编程功能，建立了血浆中 8 种芬太尼类化合物的检测方法，该方法分析速度快，灵敏度高，能够对血浆样品中的芬太尼类物质进行快速准确的检测，可供司法刑侦领域人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用 ATLAS-LEXT 自动前处理装置及岛津高效液相色谱仪 LC-20AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

输液泵：LC-20AD × 2

柱温箱：CTO-20AC

脱气机：DGU-20A

自动进样器：SIL-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99



图 1 ATLAS-LEXT 系统 (左) 和 LCMS-8045 (右)

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack GISS C18 (50 mm×2.1 mmI.D., 1.9 μm) , PN: 227-30048-01, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相: A 相 - 水 +5 mM 乙酸铵 (氨水调节 PH 至 9) , B 相 - 乙腈

流速: 0.5 mL/min

柱温: 35 °C

进样量: 2 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 40%, 洗脱程序见表 1。

表 1 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.5	Pumps	Pump B Conc.	40
2.2	Pumps	Pump B Conc.	90
2.5	Pumps	Pump B Conc.	40
4.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI

碰撞气: 氦气

加热气: 空气 10.0 L/min

接口温度: 300 °C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

DL 温度: 250 °C

干燥气: 氮气 10.0 L/min

加热模块温度: 400 °C

接口电压: 0.5 kV

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	芬太尼	437-38-7	337.25	188.25*	-23.00	-25.00	-20.00
				105.15	-23.00	-42.00	-20.00
2	4- 氟丁酰芬太尼	244195-31-1	369.30	188.25*	-14.00	-25.00	-20.00
				105.20	-14.00	-41.00	-19.00
3	奥芬太尼	101343-69-5	371.25	188.25*	-26.00	-24.00	-20.00
				105.20	-14.00	-43.00	-19.00
4	丙烯酰芬太尼	82003-75-6	335.25	188.20*	-24.00	-24.00	-20.00
				105.20	-13.00	-41.00	-19.00
5	呋喃芬太尼	101345-66-8	375.25	188.25*	-14.00	-24.00	-21.00
				105.20	-30.00	-41.00	-20.00
6	戊酰芬太尼	122882-90-0	365.30	188.25*	-14.00	-25.00	-20.00
				105.20	-14.00	-43.00	-19.00
7	异丁酰芬太尼	119618-70-1	351.30	188.20*	-24.00	-24.00	-20.00
				105.15	-25.00	-42.00	-20.00
8	乙酰芬太尼	3258-84-2	323.30	188.25*	-12.00	-24.00	-20.00
				105.20	-12.00	-39.00	-19.00

* 表示定量离子

1.3 标准溶液的配置

取浓度为 0.5 mg/L 对照品混合溶液，以 ATLAS-LEXT 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

样品管中加入 1 mL 经稀释过的血液（稀释 4 倍体积），使用 ATLAS-LEXT 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。

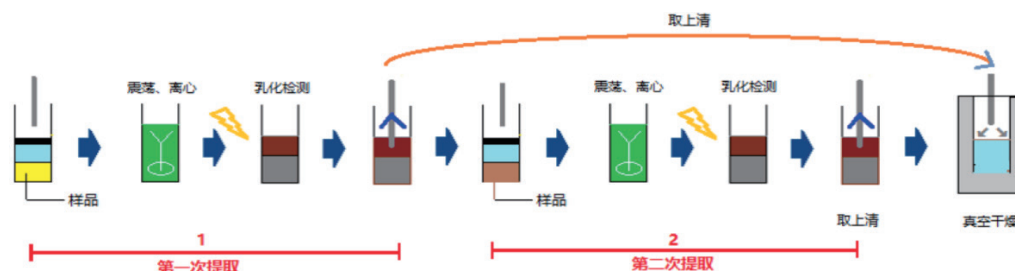


图 2 ATLAS-LEXT 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 标准样品定量通道 MRM 色谱图

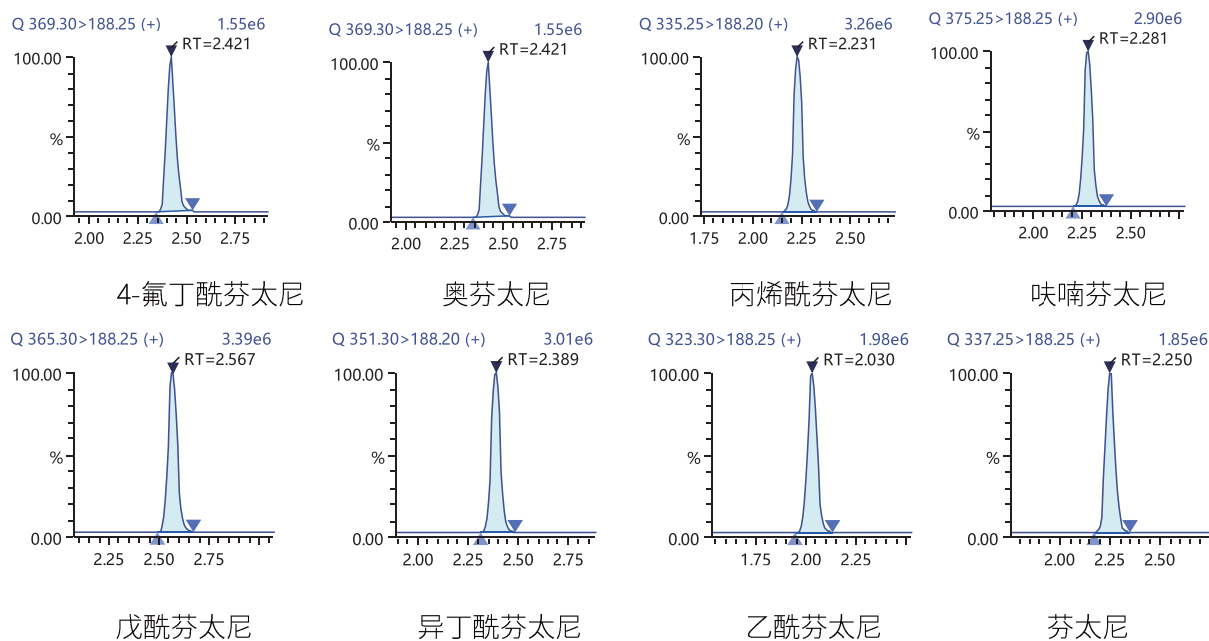


图 3 1 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图

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，结果如图 4 所示，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

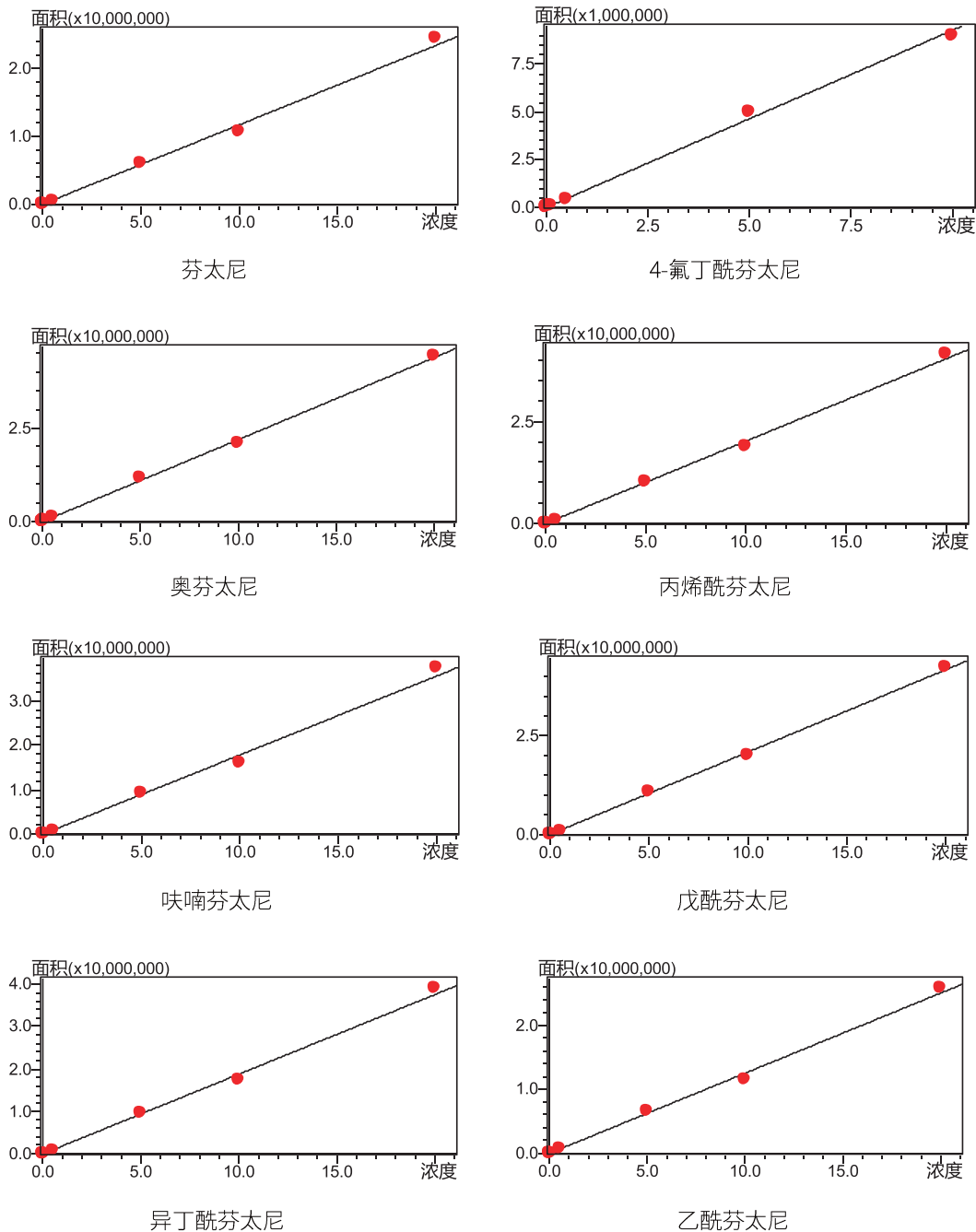


图4 校准曲线

表3 校准曲线参数 (权重 1/C)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
芬太尼	$Y = (1.17654e+006)X + (-1183.30)$	0.005~20.00	0.998	90.4~112.2
4-氟丁酰芬太尼	$Y = (931688)X + (-497.194)$	0.005~10.00	0.998	85.4~111.4
奥芬太尼	$Y = (2.20101e+006)X + (43.5390)$	0.005~20.00	0.999	91.6~107.0
丙烯酰芬太尼	$Y = (2.02114e+006)X + (-178.938)$	0.005~20.00	0.999	90.6~115.7
呋喃芬太尼	$Y = (1.77890e+006)X + (-2288.07)$	0.005~20.00	0.998	87.2~113.4
戊酰芬太尼	$Y = (2.09912e+006)X + (-388.311)$	0.005~20.00	0.999	90.7~109.8

异丁酰芬太尼	$Y = (1.88187e+006)X + (-1958.50)$	0.005~20.00	0.998	87.6-114.5
乙酰芬太尼	$Y = (1.25363e+006)X + (-926.271)$	0.005~20.00	0.999	88.6-117.2

2.3 重复性实验

对浓度为 1 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 1 ng/mL 基质混合标准品重复性测试结果

名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%	名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
芬太尼	0.32	1.46	呋喃芬太尼	0.29	1.00
4-氟丁酰芬太尼	0.24	0.62	戊酰芬太尼	0.21	0.98
奥芬太尼	0.46	1.28	异丁酰芬太尼	0.21	1.95
丙烯酰芬太尼	0.32	1.69	乙酰芬太尼	0.46	1.70

2.4 自动前处理血样加标回收率实验

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 65.91 ~ 112.97% 之间, 相对标准偏差在 0.88 ~ 5.88% 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.	89.31	1.82	105.43	3.69
4-氟丁酰芬太尼	N.D.	75.66	1.87	82.68	5.88
奥芬太尼	N.D.	94.25	3.63	112.19	1.96
丙烯酰芬太尼	N.D.	70.72	2.38	87.36	3.57
呋喃芬太尼	N.D.	73.71	4.29	91.65	2.80
戊酰芬太尼	N.D.	65.91	2.58	79.82	4.89
异丁酰芬太尼	N.D.	81.51	0.88	96.33	3.72
乙酰芬太尼	N.D.	93.99	2.25	112.97	1.71

■ 结论

本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT 自动前处理装置及岛津高效液相色谱仪 LC-20AD 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定血浆中 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 0.99, 定量限均为 0.005 ng/mL, 1 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 0.62 ~ 1.70% 之间。加标回收实验中, 各物质加标回收率在 65.91 ~ 112.97% 之间, 相对标准偏差在 0.88 ~ 5.88% 之间。该方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、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及干燥浓缩, 大大简化前处理流程, 可用于血样中芬太尼类物质的测定。

岛津应用云

