

LCMS-8045 检测血浆中的芬太尼及其类似物

LCMSMS-501

摘要： 本文建立了一种使用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，该方法参考公安部公共安全行业标准《GA/T 1601-2019 法庭科学 生物检材中芬太尼检验 液相色谱 - 质谱法》。实验结果表明：该方法线性良好，对 1 ng/mL 的基质混合标准溶液重复进样 6 针，保留时间和峰面积重复性良好。加标回收实验中，各物质回收率在 90.8 ~ 105.7% 之间。该方法为血浆中芬太尼类物质的检测提供很好的参考。

关键词： 芬太尼 LCMS-8045 血浆基质

芬太尼类物质是最近几年才出现，并且在美国、加拿大等国迅速发展蔓延的新型合成毒品。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。由于该类物质毒性强、品种多、变异快、查缉难，已成为当前国际禁毒领域面临的一大难题。

在我国，芬太尼类物质一直是严格管控的强效麻醉性镇痛药，在 2018 年底举行的中美元首会晤上，两国领导人就“对芬太尼类物质进行管控”达成了共识。去年 4 月 1 日，公安部、国家卫生健康委员会、国家

药品监督管理局联合发布《关于将芬太尼类物质列入〈非药用类麻醉药品和精神药品管制品种增补目录〉的公告》，芬太尼类物质被整类列管。

本文参考公安部行业标准《GA/T 1601-2019 法庭科学 生物检材中芬太尼检验 液相色谱 - 质谱法》，利用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用，建立血浆中 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

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. 5.97

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18 (50 mm×2.1 mm I.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: 氩气

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	咪喃芬太尼	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 样品前处理

样品前处理方法: 参考中华人民共和国公安部公共安全行业标准《GA/T 1601-2019 法庭科学 生物检材中芬太尼检验 液相色谱 - 质谱法》。

(1) 移取血液等液体检材样品 1.0 mL, 或称取较碎的肝脏等固体检材样品 1.0 g ~ 2.0 g 于具盖离心管中。加入 0.1 mol/L 盐酸 4 mL, 振荡 15min, 8000r/min 离心 15min, 取上清液转移至已活化好的 MCX 固相萃取柱中, 依次用 0.1 mol/L 盐酸 1 mL、甲醇 1 mL 淋洗, 弃去淋洗液, 挤干水分或离心或真空抽固相萃取柱 2min, 用 1 mL 5% 的氨水 / 甲醇溶液 (体积比 5:95) 进行洗脱, 收集洗脱液, 置于浓缩器上 45°C 浓缩至干, 残留物用甲醇 200 μL 溶解, 用 0.22 μm 的有机系微孔滤膜过滤, 供仪器分析。

(2) 取等量相似基质的空白血浆两份于具盖离心管中，一份作为空白样品，一份添加芬太尼标准物质，作为添加样品（添加样品的浓度为 10 ng/mL），与检材样品平行操作，得到空白样品提取液和添加样品提取液供仪器分析。

■ 结果与结论

2.1 标准样品定量通道 MRM 色谱图

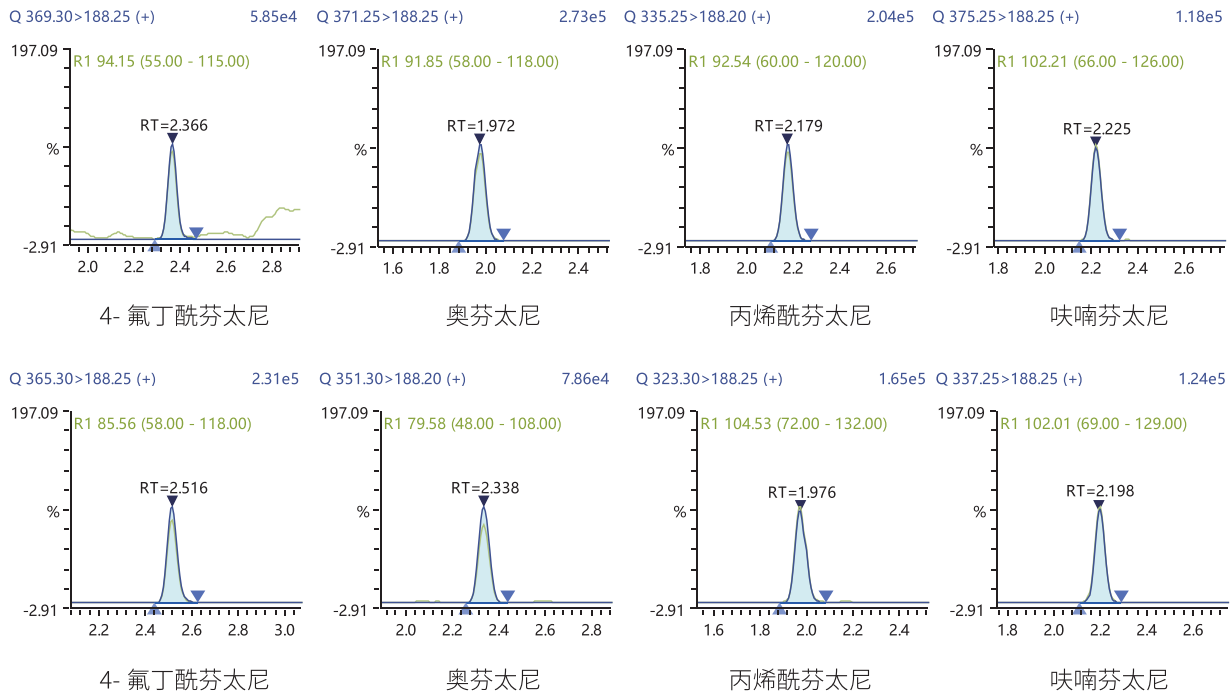
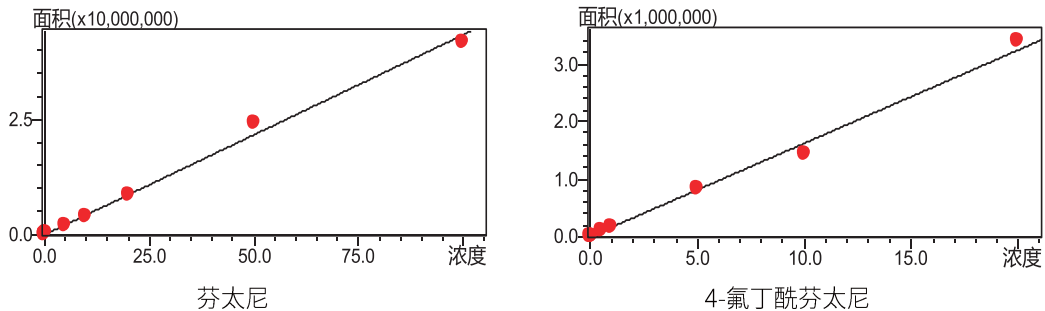


图 1 1 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图

2.2 线性范围

将浓度为 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00、20.00、50.00、100.00 ng/mL 标准工作液，稀释液为固相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 2 所示，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。



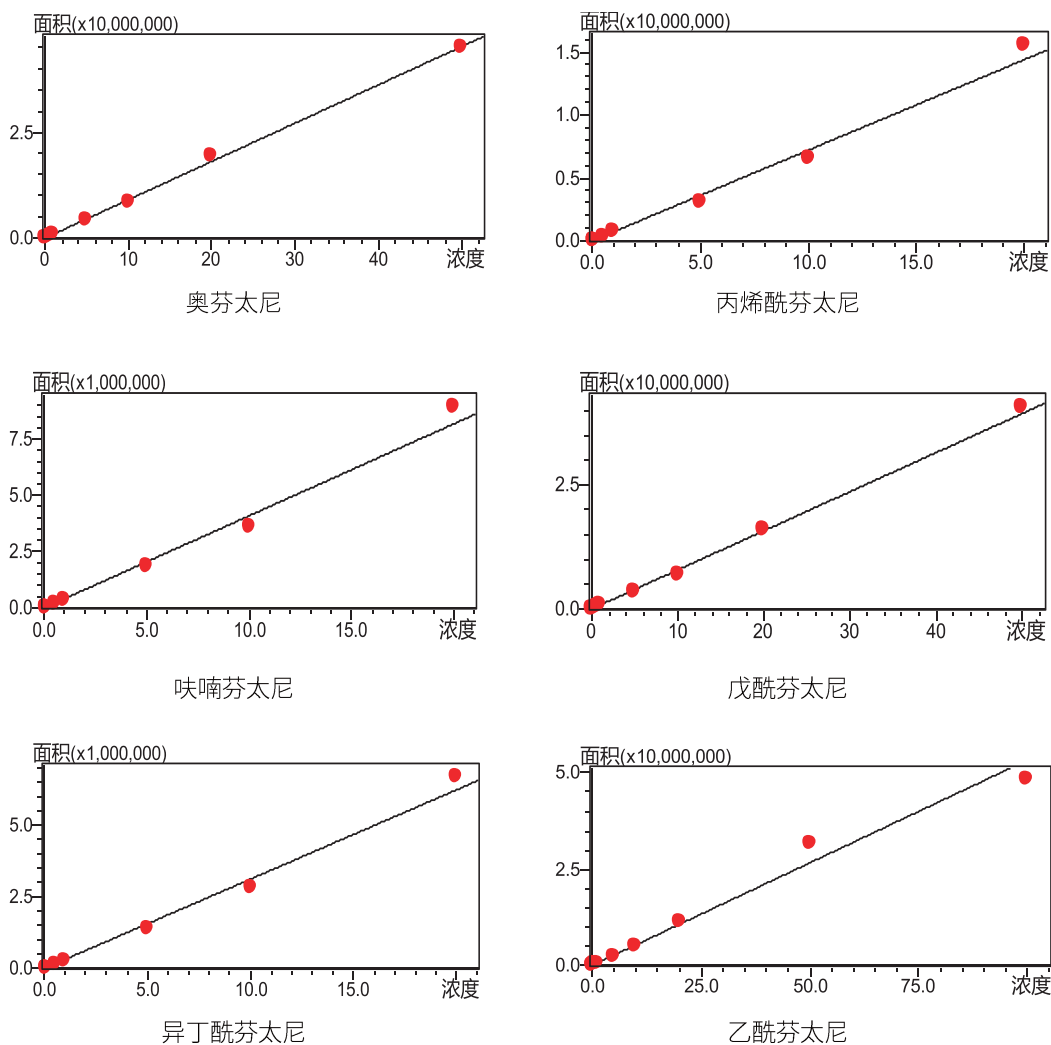


图 2 校准曲线

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	$Y = (433107)X + (-6119.59)$	0.05~100.00	0.997	82.8~118.1
4- 氟丁酰芬太尼	$Y = (162352)X + (-818.691)$	0.05~20.00	0.998	93.8~106.3
奥芬太尼	$Y = (906013)X + (-12316.9)$	0.05~50.00	0.999	89.5~107.1
丙烯酰芬太尼	$Y = (719732)X + (-9328.81)$	0.05~20.00	0.996	86.6~114.3
呋喃芬太尼	$Y = (409417)X + (-6976.09)$	0.05~20.00	0.994	87.8~114.8
戊酰芬太尼	$Y = (789294)X + (-14802.7)$	0.05~50.00	0.998	83.9~119.6
异丁酰芬太尼	$Y = (312299)X + (-4897.33)$	0.05~20.00	0.996	89.2~114.0
乙酰芬太尼	$Y = (533558)X + (-4854.83)$	0.05~100.00	0.993	88.0~118.3

2.3 检出限及定量限

对浓度为 0.01 ng/mL 溶液进样分析，以 ASTM 法计算噪声，以噪声的 10 倍作为最低定量限（即 $S/N=10$ ，LOQ 表示），以噪声的 3 倍作为最低检出限（即 $S/N=3$ ，LOD 表示），则仪器对 8 种目标物的 LOQ 结果如表 4 所示。

表 4 检出限和定量限

名称	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	名称	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
芬太尼	0.05	0.05	咪喃芬太尼	0.05	0.05
4-氟丁酰芬太尼	0.05	0.05	戊酰芬太尼	0.05	0.05
奥芬太尼	0.01	0.05	异丁酰芬太尼	0.05	0.05
丙烯酰芬太尼	0.05	0.05	乙酰芬太尼	0.01	0.05

2.4 精密度实验

对浓度为 1 ng/mL 的基质混合标准溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，结果如表 5 所示，仪器精密度良好。

表 5 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	0.35	1.67	咪喃芬太尼	0.36	3.80
4-氟丁酰芬太尼	0.35	8.16	戊酰芬太尼	0.32	2.36
奥芬太尼	0.38	1.11	异丁酰芬太尼	0.34	2.21
丙烯酰芬太尼	0.36	1.47	乙酰芬太尼	0.38	1.83

2.5 固相萃取处理血样加标回收率实验

对空白血浆样品进行加标，加标浓度为 10.00 ng/mL，按 1.3 方法进行前处理，考察回收率，回收率如表 6 所示。

表 6 前加标回收率考察

名称	回收率 (%，10 ng/mL)	名称	回收率 (%，10 ng/mL)
芬太尼	90.8	咪喃芬太尼	99.8
4-氟丁酰芬太尼	103.7	戊酰芬太尼	92.4
奥芬太尼	99.3	异丁酰芬太尼	105.7
丙烯酰芬太尼	95.1	乙酰芬太尼	98.8

2.6 专属性实验

对空白血浆进行分析，目标峰保留时间处，无干扰，如图 3 所示；

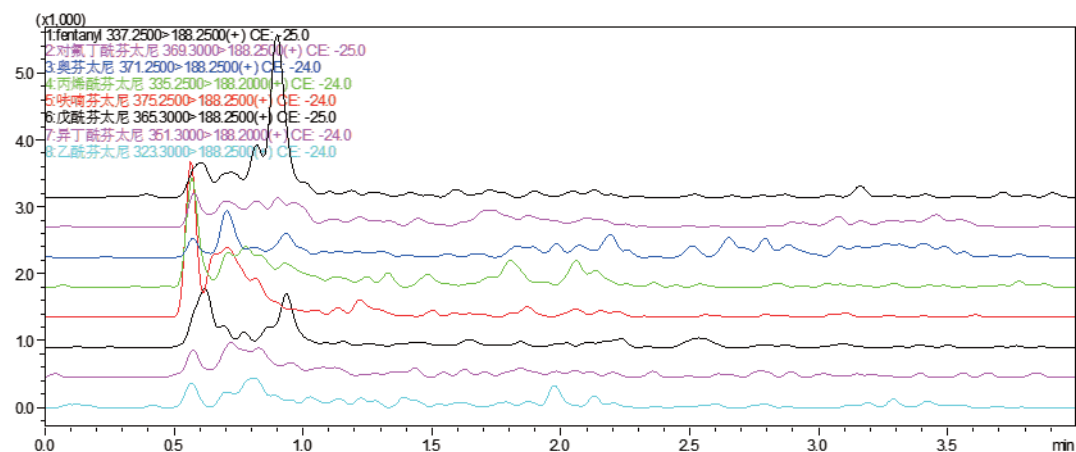


图 3 空白血浆定量离子对 MRM 色谱图

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定样品中芬太尼及类似物含量的方法。外标法定量，线性相关系数不低于 0.99，定量限均为 0.05 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 1.11~8.16% 之间。方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，可用于血浆样品中芬太尼及类似物含量的快速测定。

岛津应用云

