

GCMSMS 法测定尿液中的乙基葡萄糖醛酸苷

GCMSMS-203

摘要：本文参考《GA/T 1633-2019 法庭科学 血液、尿液中乙基葡萄糖醛酸苷检验 气相色谱 - 质谱和液相色谱 - 质谱法》，使用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪，建立了尿液中乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 的分析方法。尿液以乙腈沉淀蛋白，离心，取上清液采用衍生剂衍生化后进样分析。结果表明，在 50~1000 ng/mL 的浓度范围内，EtG 的线性相关系数 R 为 0.9992，线性关系良好，方法检出限为 5.434 ng/mL。取浓度为 400 ng/mL 的标准溶液重复进样 6 次，峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 为 4.0%，精密度良好。采用空白尿液样品，样品加标浓度为 450 ng/mL 时，平均回收率为 97.2%。本方法操作简单、灵敏度高、准确性好，可为尿液中乙基葡萄糖醛酸苷的测定提供参考。

关键词：三重四极杆气相色谱质谱联用仪 尿液 乙基葡萄糖醛酸苷

乙基葡萄糖醛酸苷 (Ethyl Glucuronide, EtG) 是乙醇在人体内代谢的标志性代谢物。相较于乙醇，其在血液和尿液中存在时间更久，通常情况下，EtG 在血液和尿液中的存在时间约为 12 h，血液和尿液中 EtG 检测结果是判定个体在 12 h 内是否饮酒的重要证据，尤其是在体内已不能检测出乙醇时。此外，血液和尿液中 EtG 的测定，对判定乙醇来源、区分是否血液腐败产生乙醇有着重要的意义。

目前，EtG 的检测方法有 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 等。本文参考《GA/T 1633-2019 法庭科学 血液、尿液中乙基葡萄糖醛酸苷检验 气相色谱 - 质谱和液相色谱 - 质谱法》，使用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪，建立了尿液中 EtG 的 GC-MS/MS 分析方法。该方法前处理简单，灵敏度和准确度高，适合尿液中的 EtG 检测。

■ 实验部分

1.1 标准品配制

- (1) 1.0 mg/mL 标准物质溶液：采用市售 EtG 标准甲醇溶液，置于冰箱中冷藏保存。
- (2) 10.0 µg/mL EtG 标准工作液：吸取 0.1 mL 1.0 mg/mL EtG 标准物质溶液，用甲醇稀释定容至 10 mL，混匀，配制成质量浓度为 10.0 µg/mL 的标准物质溶液，密封，置于冰箱中冷藏保存。有效期 3 个月。

1.2 样品前处理

样品前处理如图 1 所示：

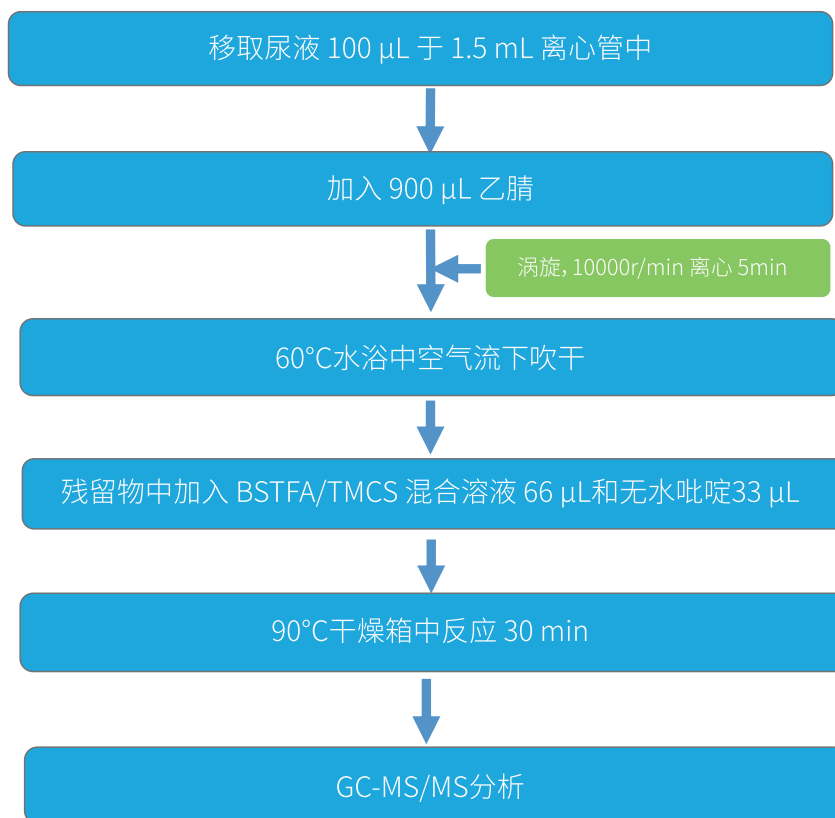


图 1 样品前处理流程图

1.3 仪器分析条件

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪

色谱柱: SH Rtx-1 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序:

100°C (1 min) $_8^\circ\text{C}/\text{min}_205^\circ\text{C}_30^\circ\text{C}/\text{min}_280^\circ\text{C}$ (3 min)

载气控制方式: 恒线速方式

线速度: 37.2 cm/s

进样方式: 不分流进样

进样时间: 1 min

进样体积: 1 μL

离子化方式: EI (70 eV)

离子源温度: 220°C

色谱质谱接口温度: 300°C

碰撞气压力: 150 kPa

溶剂延迟时间: 2.5 min

检测器电压: +0.5 kV (相对调谐电压)

采集模式: MRM, 离子对信息见表 2

循环时间: 0.3 s

■ 结果与讨论

2.1 EtG 标准溶液谱图

标准溶液质量色谱图见图 2, EtG 信息详见表 1。

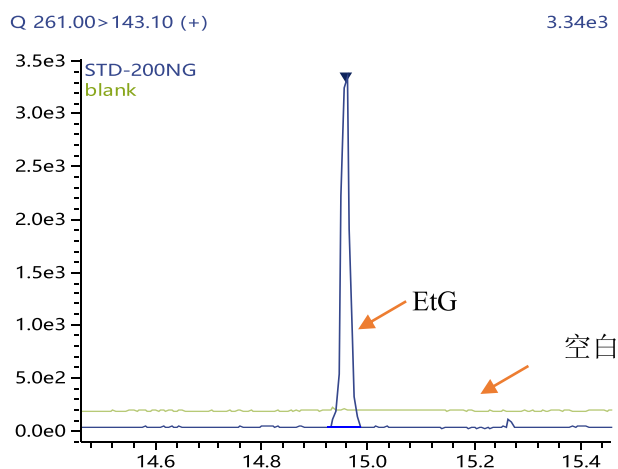


图2 EtG 的质量色谱图 (200 ng/mL)

表1 乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 的保留时间及 MRM 条件设置

化合物	英文名称	CAS#	保留时间 (min)	目标离子对	CE	参考离子对	CE
乙基葡萄糖醛酸苷	Ethyl Glucuronide	17685-04-0	14.958	261.00>143.10	12	261.00>73.20	27

2.2 标准曲线及仪器检出限

空白尿液中分别添加 50、100、200、400、800、1000 ng/mL 标样，前处理后进样分析，外标法建立校准曲线如图 3 所示。根据 50 ng/mL 标样数据，以 3 倍信噪比计算 EtG 的检出限，线性方程、相关系数 R、检出限如表 2 所示。

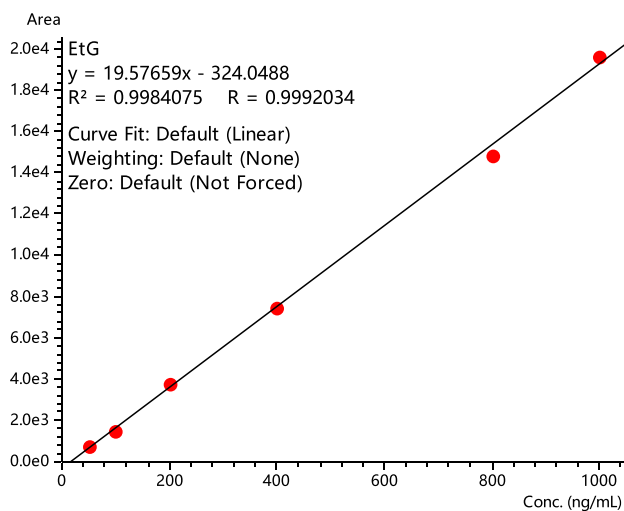


图3 EtG 标准曲线

表2 EtG 标准曲线及仪器检出限 (ng/mL)

化合物	线性方程	相关系数 R	检出限 (ng/mL)
EtG	Y=19.57X-324.04	0.9992	5.434

2.3 重复性实验

取 400 ng/mL EtG 标准溶液，连续进样 6 次，以峰面积 RSD 考察峰面积重复性，结果如表 3。

表 3 峰面积重复性结果 (RSD%, n=6)

化合物	面积 1	面积 2	面积 3	面积 4	面积 5	面积 6	平均面积	RSD (%)
EtG	7932	8063	7940	8221	8540	7670	8061	4.0

2.4 回收率

将 EtG 标准溶液添加到空白尿液样品中, 样品加标浓度为 450 ng/mL, 按照样品前处理方法制备, 分别平行制样 6 次。回收率结果见表 4。

表 4 加标回收率结果 (ng/mL)

化合物	测试值 1	测试值 2	测试值 3	测试值 4	测试值 5	测试值 6	平均回收率 (%)
EtG	434.8	477.7	433.5	433.0	426.5	421.3	97.2

2.5 实际样品分析

按照上文所述方法对 3 个尿液样品进行了前处理并上机测定, 谱图如下图 4 所示, 3 个样品中均未检出乙基葡萄糖醛酸苷。

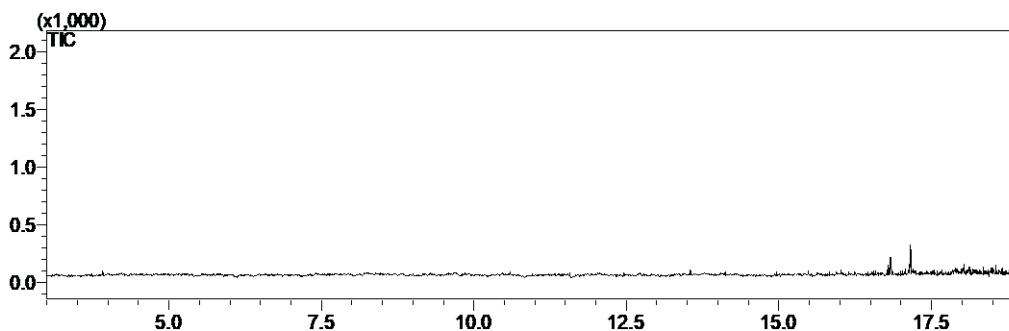


图 4 尿液样品谱图

■ 结论

本文建立了使用 GCMS-TQ8050 NX 测定尿液中乙基葡萄糖醛酸苷的分析方法。结果表明, 在 50~1000 ng/mL 的浓度范围内, EtG 的线性相关系数 R 为 0.9992, 线性关系良好, 方法检出限为 5.434 ng/mL。取浓度为 400 ng/mL 的标准溶液重复进样 6 次, 峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 为 4.0 %, 精密度良好。采用空白尿液样品, 样品加标浓度为 450 ng/mL 时, 平均回收率为 97.2 %。本方法操作简单、灵敏度高、准确性好, 可为尿液中乙基葡萄糖醛酸苷的测定提供参考。

岛津应用云

