

Nexera Mikros-LCMS-8060 分析唾液中 6 种阿片类化合物

LCMSMS-413

摘要： 本文利用岛津 Nexera Mikros 液质联用系统建立了唾液中 6 种阿片类化合物的分析方法。唾液样品离心过水相滤膜后直接上样，前处理简单便捷，所需样品量少，样品分析速度快，在 11 min 内完成 6 种化合物的上机分析。本方法采用外标法定量，各组分线性良好，线性相关系数均在 0.998 以上，检出限在 0.25 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~1 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，加标回收实验回收率在 86.1%-112.1% 之间，连续 6 次进样保留时间相对标准偏差小于 0.7%，峰面积的相对标准偏差小于 10%，系统精密度良好。

关键词： Nexera Mikros 液质联用系统 阿片类化合物 唾液

近年来，毒品在全世界范围内的滥用逐渐渗透到日常生活各个方面，例如吸毒后驾驶、在娱乐场所、工作场所滥用毒品等。随着法律制度的完善和维护自身权益意识的增强，现场实施血液和尿液样品的采集可能存在一定困难，需要其它更易获得的样品替代，唾液由其采集方便、采集成本低以及基质相对干净等优势，在毒品滥用检测和监管等方面的应用越来越广泛。

唾液分析的关键分析难题是与血液和尿液相比可用于测试的样品量有限且毒品在唾液中含量比较低，这就要求仪器的灵敏度能达到定量检测的需要，Nexera Mikros 系统能够在样本量有限的情况下提升检测灵敏度，因此比较适合于唾液中毒品分析。

本文利用岛津 Nexera Mikros 液质联用系统建立了唾液中 6 种阿片类化合物的分析方法，该方法灵敏度高，重复性好，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津微流量液相色谱仪 Nexera Mikros 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用系统。具体配置为 LC-Mikros 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器（15 μL 定量环），CTO-40M 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8060 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack MC-C18 (0.3 mm I.D. \times 50 mm L., 1.9 μm)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水 B 相 - 乙腈

流速：5 $\mu\text{L}/\text{min}$

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

进样量：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.2	泵	B.Conc	10
5	泵	B.Conc	60
5.2	泵	B.Conc	100
7.5	泵	B.Conc	100
7.6	泵	B.Conc	10
11	控制器	Stop	

质谱条件

离子源: ESI (+)

接口电压: 0.5 kV

雾化气流速: 2 L/min

加热模块温度: 400°C

加热气流速: 3 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

接口温度: 100°C

MRM 参数: 见表 2

DL 温度: 250°C

表 2 MRM 优化参数

No.	名称	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	吗啡	57-27-2	286	152.10*	-20	-55	-26
				165.1	-11	-39	-30
2	可待因	76-57-3	300	165.10*	-22	-42	-18
				199.1	-23	-31	-23
3	单乙酰吗啡	2784-73-8	328.1	211.1	-23	-30	-26
				165.05*	-23	-38	-17
4	苯甲酰爱康宁	519-09-5	290	168.10*	-15	-19	-28
				105	-15	-29	-10
5	美沙酮	76-99-3	310.2	265.20*	-15	-15	-27
				105.1	-15	-27	-19
6	杜冷丁	57-42-1	248.1	174.15*	-13	-20	-10
				220.15	-13	-21	-14

注: * 表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

分别取 6 种化合物标准溶液, 用甲醇稀释, 配制标准品混合工作液, 放置于 -20°C 冰箱中保存。

1.4 样品前处理方法

唾液采集后, 13000 rpm 离心 15 min, 取上清过水相滤膜, 按照体积比加入 0.1% 甲酸, 待分析。

结果与讨论

2.1 标准溶液的 MRM 色谱图

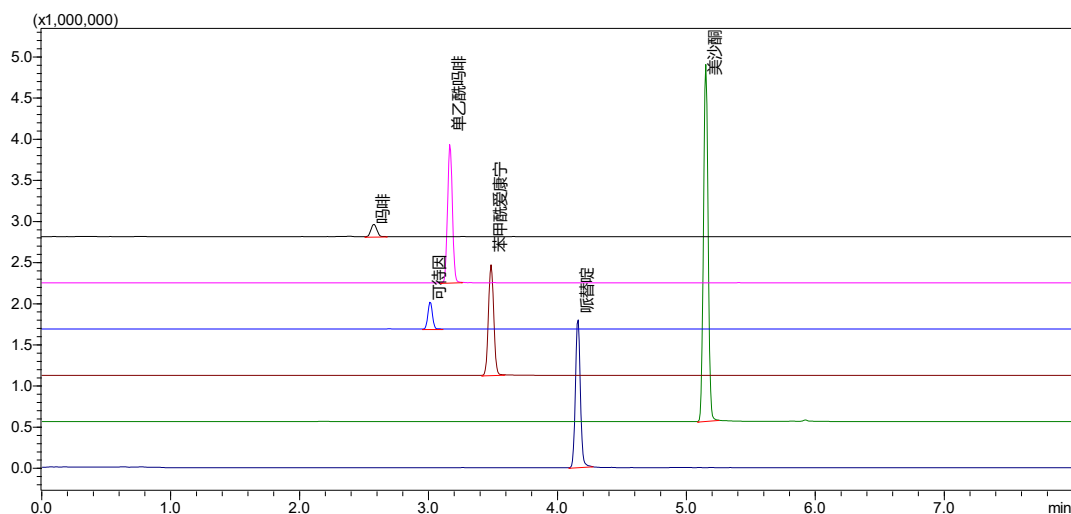


图1 标准品 MRM 色谱图 (10 µg/L)

2.2 线性范围

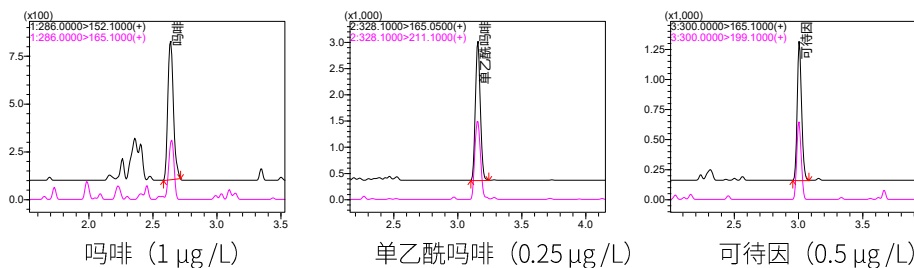
按照 1.4 中的方法处理空白唾液，然后用空白唾液将 1.3 中的混合标准溶液稀释成不同浓度，上机测试，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，均大于 0.998。线性方程及相关系数见表 3。

表 3 校准曲线参数

化合物	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 %
吗啡	$Y = (2573.41)X + (-963.682)$	1-80	0.999	95.8-104.3
可待因	$Y = (4540.92)X + (-509.078)$	0.5-80	0.998	94.4-108.7
单乙酰吗啡	$Y = (26183.7)X + (646.816)$	0.5-80	0.999	95.9-109.4
苯甲酰爱康宁	$Y = (320597)X + (439.657)$	0.5-80	0.999	93.9-105.0
美沙酮	$Y = (450114)X + (31395.1)$	0.5-80	0.999	94.0-104.6
杜冷丁	$Y = (49287.1)X + (-2393.02)$	0.5-80	0.999	87.7-109.2

2.3. 灵敏度实验

取空白唾液，加入一定量的混合标准溶液，上机检测，各组分在检测限附近的色谱图如下图所示。



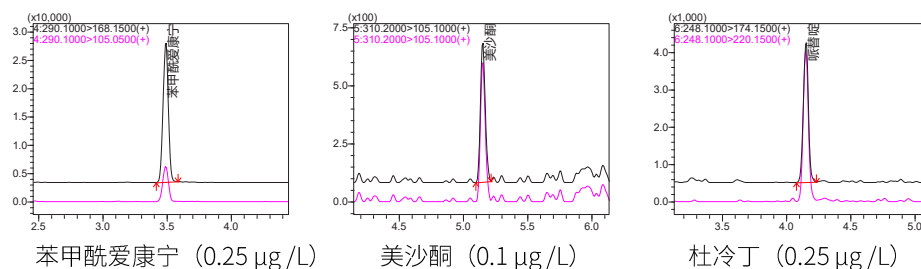


图 2 6 种阿片类化合物检出限 MRM 色谱图

2.4 精密度实验

按照 1.4 中的方法处理空白唾液，然后用空白唾液将 1.3 中的混合标准溶液稀释成低、中、高三个不同浓度，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如下表 4 所示。6 种化合物的保留时间的 RSD 均小于 0.7%，峰面积的 RSD 均小于 10%，表明重复性良好。

表 4 精密度实验 (n=6)

化合物	浓度 1			浓度 2			浓度 3		
	CONC. / ng/L	R. T. RSD/%	Aera RSD/%	CONC. / ng/L	R. T. RSD/%	Aera RSD/%	CONC. / ng/L	R. T. RSD/%	Aera RSD/%
吗啡	5	0.45	7.45	20	0.59	9.27	40	0.31	6.56
可待因	5	0.21	9.46	20	0.67	8.23	40	0.11	4.93
单乙酰吗啡	5	0.22	3.73	20	0.55	6.47	40	0.14	9.56
苯甲酰爱康宁	5	0.14	5.27	20	0.54	4.51	40	0.14	2.57
美沙酮	5	0.31	2.24	20	0.47	2.77	40	0.19	2.98
杜冷丁	5	0.23	4.66	20	0.43	1.91	40	0.22	4.16

2.5. 加标回收实验

按照 1.4 中的方法处理空白唾液，然后用空白唾液将 1.3 中的混合标准溶液稀释成低、中、高三个不同浓度水平加标浓度，结果如下表 5 所示，测试结果显示：6 种化合物的加标回收率在 86.1% ~ 112.1% 之间。

表 5 基质加标实验结果

化合物	加标 1		加标 2		加标 3	
	加标浓度 (ng/L)	回收率 %	加标浓度 (ng/L)	回收率 %	加标浓度 (ng/L)	回收率 %
吗啡	5	86.1	20	92.2	40	95.9
可待因	5	101.9	20	111.1	40	97.9
单乙酰吗啡	5	99.9	20	99.2	40	100.8
苯甲酰爱康宁	5	111.1	20	112.1	40	105.2
美沙酮	5	108.1	20	111.1	40	104.6
杜冷丁	5	93.5	20	95.6	40	100.5

■ 结论

本文利用岛津 Nexera Mikros 液质联用系统建立了唾液中 6 种阿片类化合物的分析方法。该方法灵敏度高，前处理简单便捷，所需样品量少，样品分析速度快，在 11 min 内完成 6 种化合物的上机分析。本方法采用外标法定量，各组分线性良好，线性相关系数均在 0.998 以上，检出限在 0.25 $\mu\text{g/L}$ ~1 $\mu\text{g/L}$ ，加标回收实验回收率在 86.1%-112.1% 之间，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别小于 0.7% 和 10%，系统精密度良好，供相关人员参考。