

安捷倫科技三段串聯四極柱氣相層析質譜儀系統用於全血樣品萃取物的毒物篩檢

應用文摘

法醫毒物分析

作者

Bruce Quimby and Mike Szelewski
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

安捷倫科技 7000A 三段串聯四極柱氣相層析質譜儀 (GC/QQQ) 對於藥物分析具有高靈敏度和高選擇性的特點。一次分析就可以進行血液萃取物中多種毒物成分的高靈敏度掃描確認分析。搭配像安捷倫科技的氣相層析質譜儀加氮磷偵測器以及 Deconvolution Reporting Software (DRS) (GC/NPD/MSD/DRS) 系統的檢測結果，可以獲得最完整的樣品訊息。



Agilent Technologies

前言

由於樣品的複雜性和毒性化合物的種類繁多，毒物掃描分析面臨極大的挑戰。氣相層析質譜儀是目前被廣泛接受的分析方法。電子轟擊游離源的全掃描質譜圖的優點是可以進行寬範圍的成分篩選，例如分析物的數量不受限制，全質譜圖確認，以及標準質譜資料庫用於非目標化合物的檢索。安捷倫科技氣相層析質譜儀最近的技術發展，如滯留時間鎖定（RTL）、Deconvolution Reporting Software（DRS）和微板流路控制技術（CFT），可以大大提高分析速度和準確度。使得分析速度更快，偽陽性和偽陰性的機率更低[1]。

掃描篩檢的目的是發現那些濃度可能導致中毒或是致死的毒物，氣相層析質譜儀的全圖譜掃描模式一般能滿足這一類的應用要求。實驗室通常需要檢測樣品中低至 100pg 的藥物成分。但是對於那些更低濃度甚至是微量的藥物分析，需要利用選擇離子監測（SIM）模式以提高分析靈敏度。隨著安捷倫科技推出 SIM/全掃描同時擷取功能，大大提高分析速度。以參考文獻[1]中介紹的方法為例，採用 SIM/全掃描同時擷取，9.6分鐘內可以篩檢 725 個成分。這個分析時間包括全掃描，SIM（27 個成分）和氮磷偵測器的訊號。

然而對於一些化合物，SIM 會受到限制。基質會影響樣品中微量成分的檢測與確認。目前主要用兩種解決方案來應對這樣的分析難題。第一種是提高層析分離的選擇性，例如安捷倫科技 Dean Switch 中心切割的二維氣相層析質譜技術[2]。這種技術採用兩隻層析管柱和 Dean Switch 中心切割裝置，使得微量目標分析物與基質分離。當在最佳的層析分離條件下，SIM 模式也提供很高的分析靈敏度。

這種技術相對簡單而且價格便宜，但是在實際應用中，一次只能分析有限的樣品組成。第二種技術是利用 GC/QQQ 技術來提高質譜的選擇性。這種具有極高選擇性和靈敏度的分析方法可以檢測低至 pg 等級的組成，而且樣品基質的干擾很小。另外最顯著的優點是一次進樣可以分析高達數百種組成。

本應用介紹了 GC/QQQ 技術檢測全血樣品中微量藥物成分的方法。之前是利用 SIM 和全掃描同時擷取的方法結合 DSR 和同時監測氮磷偵測器訊號進行分析的。結果顯示，相比之下，GC/QQQ 是更強大的輔助檢測方法，可以檢測到更低的含量與確認。

實驗部分

試劑與標準樣品

表 1 中列出的分析標準品購自 Cerilliant（Round Rock, TX）。標準品溶液是利用甲苯進行適當稀釋的溶液。建立方法，使用 1ng/uL 的測試溶液進行 Q1 掃描和離子掃描。對於多反應監測（MRM）模式下的檢量線，使用 10 至 50ng/uL 範圍的標準品溶液。

樣品

用於氣相層析質譜儀分析的全血樣品由 NMS 實驗室提供（Willow Grove, PA）。全血樣品的前處理過程是液液萃取，將有機相移除，最後用 10 倍的甲苯定量。

儀器參數

分析系統是安捷倫科技 7000A GC/QQQ。系統包括基於微板流路控制技術的兩相分流裝置（選購組件 889）[3]，以實現每次分析結束之後進行反吹。這樣可以防止血液樣品中高沸點成分污染層析管柱[1]。儀器的參數總結在表 2 中。

利用濃度為 1ng/uL 的標準品溶液進行每個成分的 MRM 模式的評估結果。每個化合物盡可能設定 4 個 MRM 通道，見表 2。儘管 GC/QQQ 方法通常只檢測兩個通道，但是 4 個通道將提高微量成分分析結果的可靠性。

全血樣品分別在 GC/QQQ 和 GC/NPD/MSD/DRS 系統上進行分析檢測，見參考文獻 1。根據參考文獻 1 使用的方法，利用安捷倫科技的方法轉換軟體和 RTL 功能將 GC/QQQ 中各個成分的滯留時間鎖定到文獻的 2 倍時間。

表 1. MRM 參數和各成分的方法偵測極限

	滯留時間 (分鐘)	母離子	子離子	碰撞 能量 (eV)	相對訊號 強度	* 方法 偵測極限 (pg)
度冷丁	5.651	246	172.1	10	100	0.2
		247	71	10	80	
		218	172.2	10	36	
		174	70.2	10	32	
PCP (天使塵)	6.497	200	117.2	15	100	0.1
		200	84.1	15	46	
		242	171.2	25	17	
		243	200.3	10	14	
美沙酮	7.728	72	42	25	100	0.2
		72	44	25	4	
		223	104.9	10	3	
		178	152	25	3	
古柯鹼	8.078	82	67	20	100	0.2
		82	41	25	60	
		182	82	10	50	
		303	82	25	20	
可待因	8.980	229	214.1	10	100	2.2
		299	229	15	38	
		162	146.8	20	38	
		162	146	30	25	
Hydrocodone	9.252	299	242.8	10	100	1.0
		242	152.8	30	71	
		242	180.9	20	71	
		299	270.1	15	71	
THC	9.321	231	173.9	25	100	0.4
		299	81	20	11	
		314	81.3	30	6	
6-Acetylmorphine	9.533	215	42.1	30	100	50
		268	252	25	77	
羥可酮	9.589	315	230.1	15	100	0.5
		315	258	10	57	
		230	215.3	10	43	
		201	186.1	25	43	
海洛因	9.970	327	215	15	100	0.5
		327	268	10	67	
		369	268	30	33	
		369	204	10	25	
吩坦尼	10.354	245	146	20	100	0.2
		189	44	20	20	
		202	146	10	10	
		189	146	5	5	

* 訊雜比 = 3，雜訊由層析峰與層析峰之間測得

表 2. 儀器條件

氣相層析	
Agilent 7890A 氣相層析配備有自動進樣器	
進樣口	EPC 分流 / 不分流進樣
模式	恆壓
進樣模式	不分流
進樣量 (µL)	1.0
進樣口溫度 (°C)	280
進樣口壓力 (psig)	17.8
清洗流速 (mL/min)	50
清洗時間 (min)	0.75
載流氣體	氮氣
烘箱	
初始溫度 (°C)	100
初始恆溫時間 (min)	0.5
溫度梯度 (°C/min)	20
最終管柱溫度 (°C)	325
最終維持時間 (min)	2.5
總分析時間 (min)	14.25
平衡時間 (min)	0.5
層析管柱	
類型	DB-5MS UI
產品編號	122-5512UI
管柱長度 (m)	15
管柱內徑 (mm)	0.25
膜厚 (µm)	0.25
表面初始流速 (mL/min)	2.2
管柱出口壓力 (psig)	3.8
層析管柱反吹	
雙向分流器 (一開口封閉)	
限流器長度 (m)	0.8
限流器內徑 (mm)	0.15
反吹壓力 (psig)	75
反吹溫度 (°C)	325
反吹時間 (min)	2
三段串聯四極柱質譜儀	
Agilent 7000A 型三段串聯四極柱質譜儀	
惰性電子轟擊離子源，離子化能量 (eV)	70
擷取模式	多反應監測模式 (MRM)
MS1 和 MS2 的解析度 (amu)	1.2
氮氣為碰撞氣體，壓力 (psig)	2.6
氮氣為淬熄氣體，壓力 (psig)	6.25
溶劑延遲時間 (min)	1.4
電子倍增器電壓	自動調整
四極柱 1 和 2 溫度 (°C)	150
離子源溫度 (°C)	300
傳輸線溫度 (°C)	300

結果和討論

圖 1 顯示被分析成分在 GC/QQQ 的 MRM 模式下分析所得的總離子層析圖譜。因為參考文獻 1 中的掃描分析中的樣品前處理沒有採用衍生化反應，所以在本方法也沒有進行樣品的衍生化。對於安非他命、芬他命、甲基安非他命、MDA、MDMA、MDEA 這些藥物，穩定且再現性佳的最低濃度是 1ng/uL，這是因為樣品在到達質譜之前已經降解損失了。如果需要更低

的偵測極限，則需要衍生化反應。

除了 6-乙醯嗎啡之外，剩下所有化合物的偵測靈敏度都在 pg 的範圍。表 1 中列舉了所有成分在信號雜訊比等於 3 時的偵測極限。偵測極限的條件是，1uL 成分的濃度為 10pg/uL，除了 6-乙醯嗎啡，濃度是 50pg/uL。圖 2 是 10pg 海洛因的 4 個 MRM (如表 1) 的相對訊號。這說明 GC/QQQ 具有優異的靈敏度。

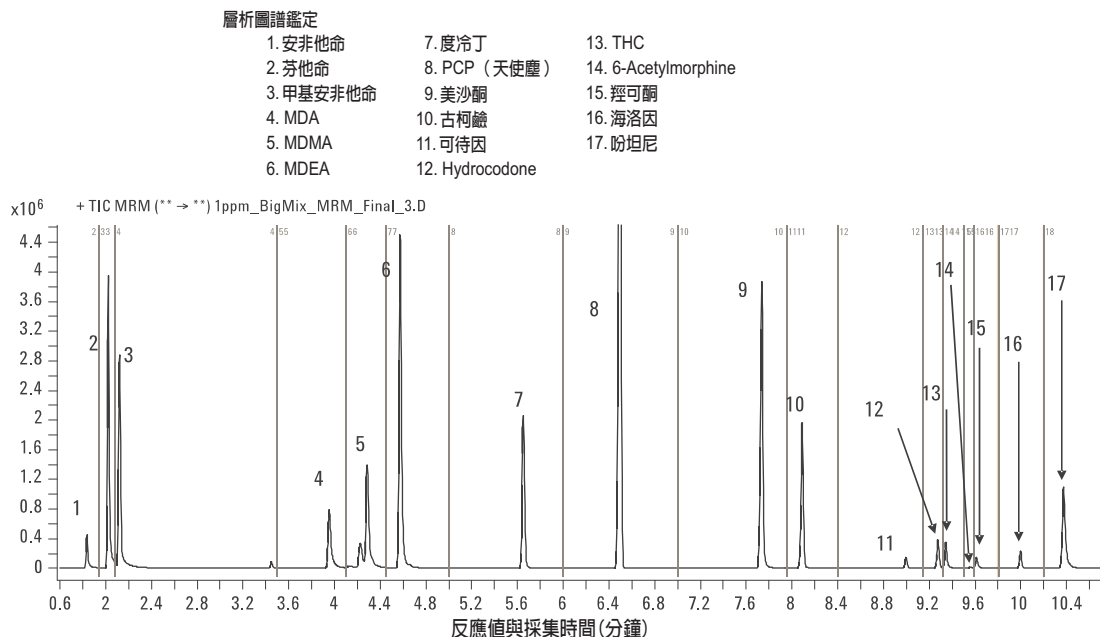


圖 1. 安捷倫科技 7000A GC/QQQ 的 MRM 的總離子層析圖譜。樣品為標準溶液，濃度 1ng/uL

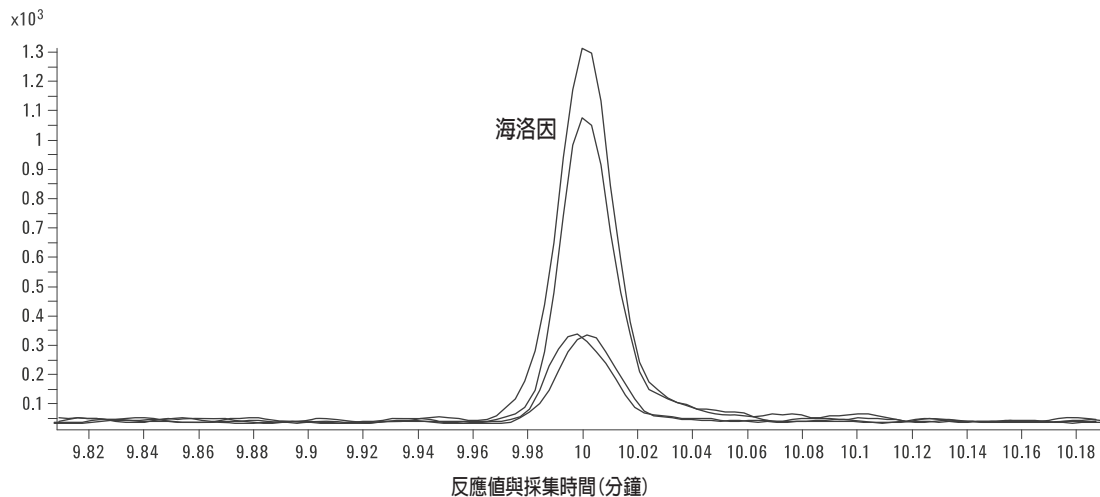


圖 2. 濃度 10pg/uL 的海洛因的 MRM 訊號

圖3是GC/NPD/MSD/DRS系統分析中，全血樣品A中可待因的萃取離子層析圖譜。目標離子和在相同滯留時間下的氮磷偵測器的訊號說明可待因存在。然而由於基質的影響，定性離子以及離子化比例則很難得到準確值，DRS提供了59（最高是100）的匹配值，這個匹配值對於最終確認可待因是否存在還不夠高。

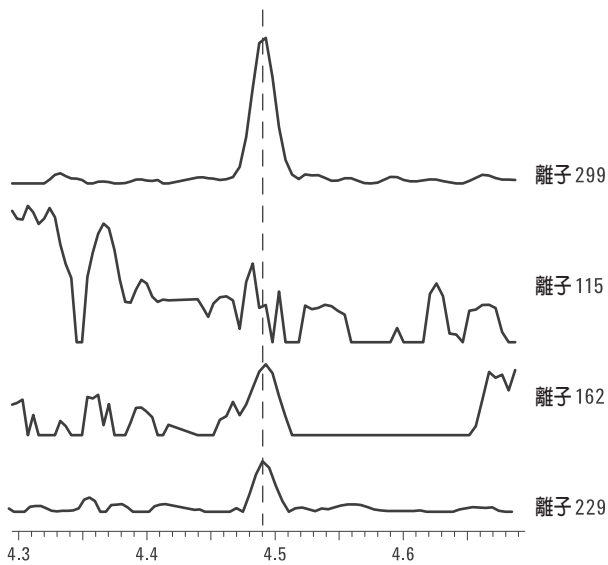


圖3. 在GC/NPD/MSD/DRS系統上全血樣品A中可待因的萃取離子層析圖譜

圖4是同樣的樣品在GC/QQQ上的分析結果。結果具有很高的靈敏度與選擇性，非常可靠地確認樣品A存在可待因，其含量是150pg。

由於攝取量很低，血中吩坦尼的偵測遇到極大的挑戰，而且吩坦尼只有三個離子有明顯的反應，所以在確認上也遇到難題。圖5是GC/NPD/MSD/DRS系統分析中，吩坦尼的萃取離子層析圖。結果只有三個離子而189離子由於干擾物影響訊號且訊號很低。SIM/scan中的選擇離子數據具有較高的信號雜訊比，但是仍然受到荷質比一樣（ m/z 189）但來自基質的干擾。氮磷偵測器顯示，在同樣滯留時間下存在含氮元素的化合物，這樣可以確認吩坦尼的存在。

DRS獲得的圖譜匹配值是66。基於獲得的所有訊息，可以證明存在吩坦尼。

圖6是同樣的樣品在GC/QQQ上的分析結果。二次質譜的高選擇性可以準確證明存在吩坦尼。定量結果說明吩坦尼的含量是150pg。

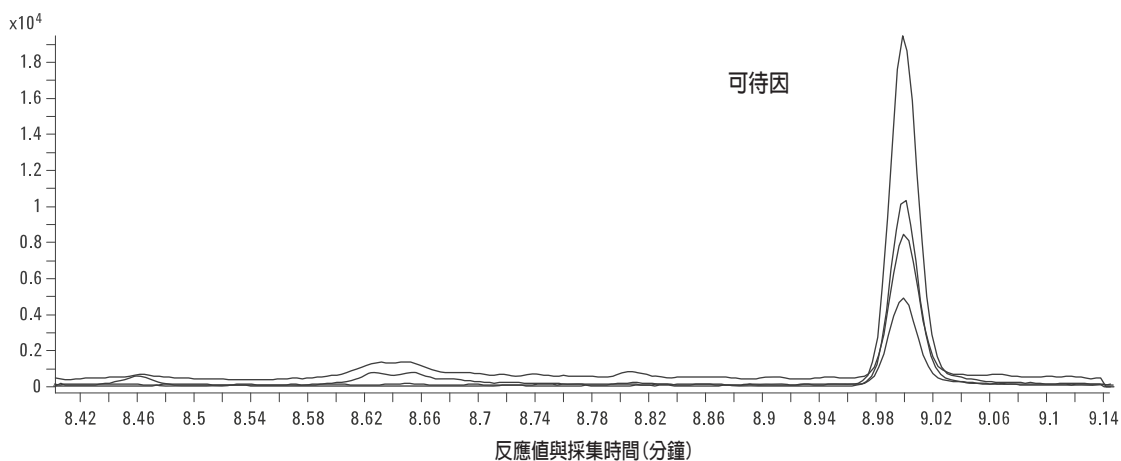


圖4. 在GC/QQQ上，全血樣品A中可待因的MRM圖

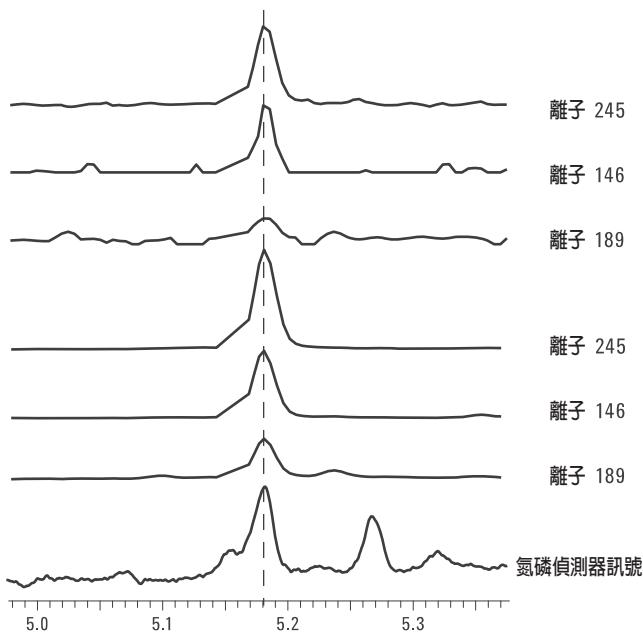


圖 5. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上，全血樣品 B 萃取物中吩坦尼的萃取離子層析圖譜和氮磷偵測器訊號

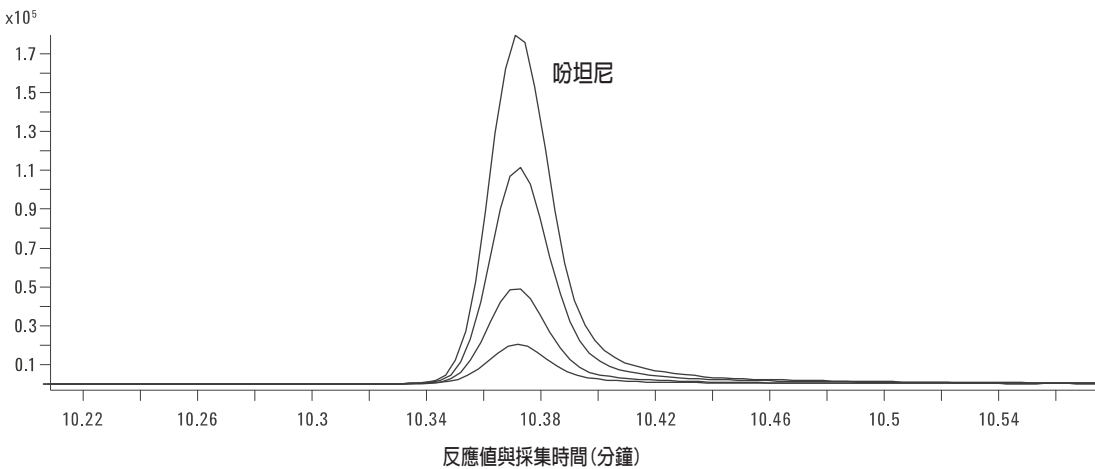


圖 6. 在 GC/QQQ 上，全血樣品 B 萃取物中吩坦尼的 MRM 分析結果

圖 7 是在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上，全血樣品 C 萃取物中美沙酮的全圖譜掃描，SIM 和氮磷偵測器的分析結果。由於基質的干擾和只有一個離子 (m/z 72) 的豐度較強，其它離子的訊號很小，不到 6% 相對訊號，因此美沙酮的確認分析相對比較困難。如圖 7 所示，定性離子尤其是 m/z 57 離子，存在干擾。DRS 獲得的圖譜匹配值是 74。請注意匹配值主要由 m/z 72 離子控制，所以計算值要高於正常值。所有數據證明樣品中存在美沙酮。

圖 8 是 GC/QQQ 上，全血樣品 C 萃取物中美沙酮的 MRM 分析結果。可以清楚地確認存在美沙酮，定量分析結果表示，美沙酮的含量是 170pg。

圖 9 是在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上羧可酮的全掃描，SIM 和氮磷偵測器的分析結果。在這個分析中，羧可酮的含量是 60pg。但是在 DRS 中由於得到的圖譜匹配值只有 46，所以沒有發現羧可酮。如此低的匹配值是由於樣品濃度低而且高基質干擾導致的。在全掃描萃取離子層析圖譜中，目標離子

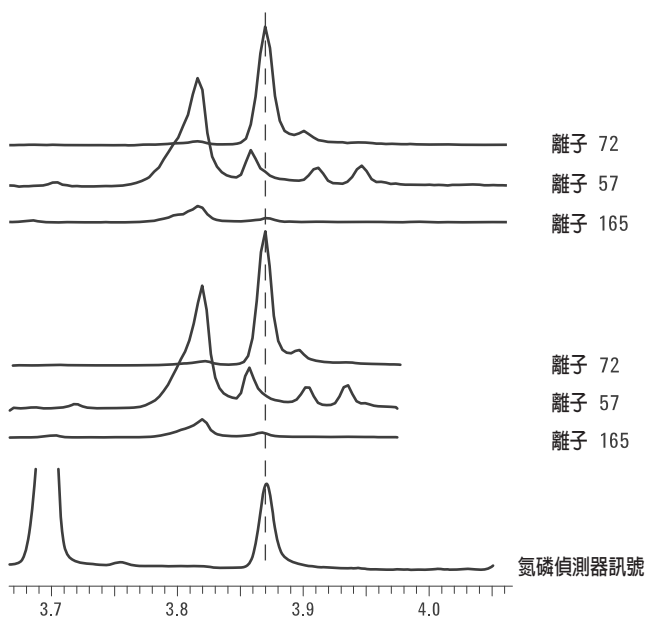


圖 7. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上，全血樣品 C 中美沙酮的萃取離子層析圖譜和氮磷偵測器訊號

和氮磷偵測器的訊號不一致，但是兩個鑑定離子不穩定。SIM 得到的信號雜訊比遠遠高於全掃描模式下萃取離子訊號的信號雜訊比。圖 9 中是 SIM 的層析圖譜。m/z 316 和 m/z 70 兩個離子可以清楚地確認羧可酮的存在。

圖 10 是在 GC/QQQ 上，血液樣品 B 中羧可酮的 MRM 的分析結果。正如前幾個分析一樣，GC/QQQ 具有更高的選擇性和靈敏度，因此羧可酮的掃描和確認結果更加可靠。

圖 11 和圖 12 所示的最後一個例子是全血樣品 A 萃取物中古柯鹼的全圖譜掃描，SIM 和氮磷偵測器的分析結果。結果沒有任何質譜圖可以表明古柯鹼的存在。氮磷偵測器出現了一個小的層析峰，但是由於訊號太低，無法確認是否含有含氮化合物。在 GC/QQQ 上，則非常可靠地確認羧可酮的存在，含量是 0.7pg。結論表明 GC/QQQ 具有極高的靈敏度。

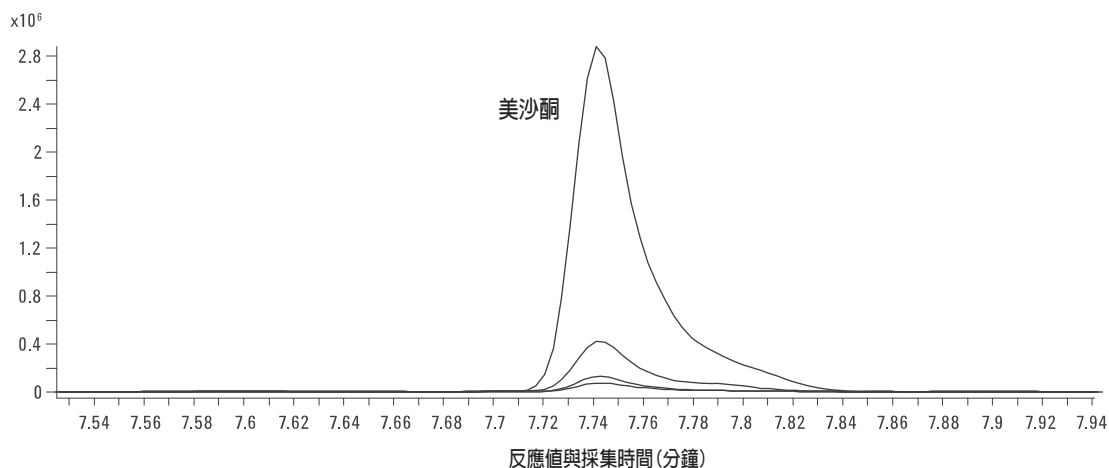


圖 8. 在 GC/QQQ 上，全血樣品 C 中美沙酮的 MRM 分析結果

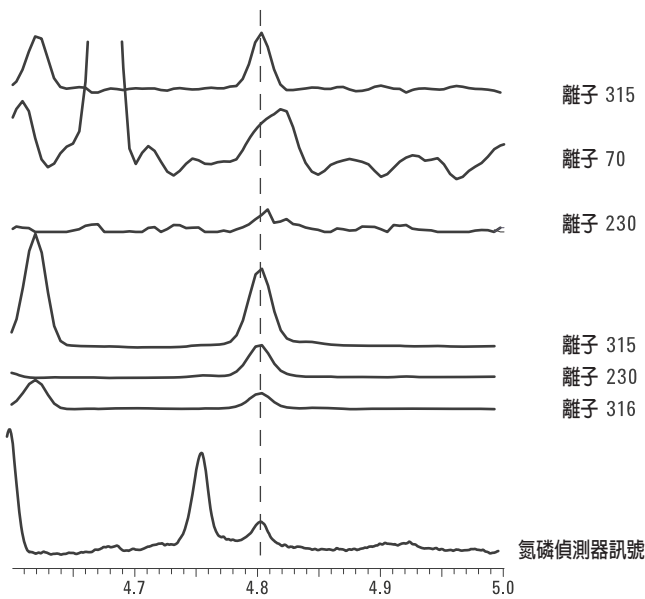


圖 9. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上，全血樣品 B 中可卡因的萃取離子層析圖譜和氮磷偵測器訊號

結論

安捷倫科技 7000A 三段串聯四極柱氣相層析質譜儀 (GC/QQQ) 對於濫用藥物的分析具有更高的靈敏度和選擇性。這使得在一次分析中可以分析血液中更低濃度藥物的掃描和確認分析。而對於單一四極柱氣相層析質譜儀，則需要更多類型的訊號才能達到目的，例如安捷倫科技的氣相層析質譜儀加氮磷偵測器以及 DRS (GC/NPD/MSD/DRS) 系統。該系統可以提供最寬範圍的化合物篩檢 (725 個化合物)，全掃描圖譜和氮磷偵測器做為定性分析，選擇離子掃描 (SIM) 做為定量分析。GC/QQQ 可以常規進行多達幾百個化合物的掃描確認分析，即使對複雜基質的樣品，其靈敏度可低至 pg 等級。

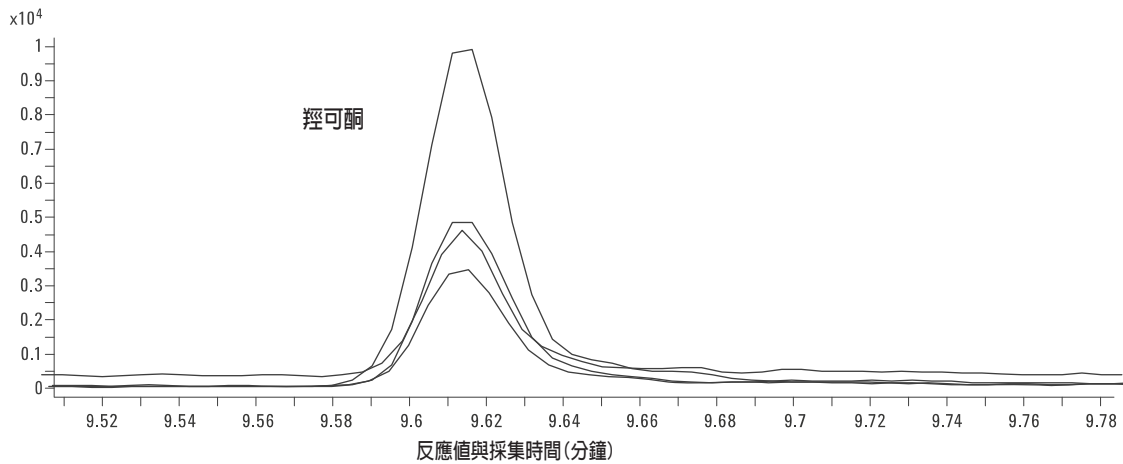


圖 10. 在 GC/QQQ 上，全血樣品 B 中可卡因的 MRM 的分析結果

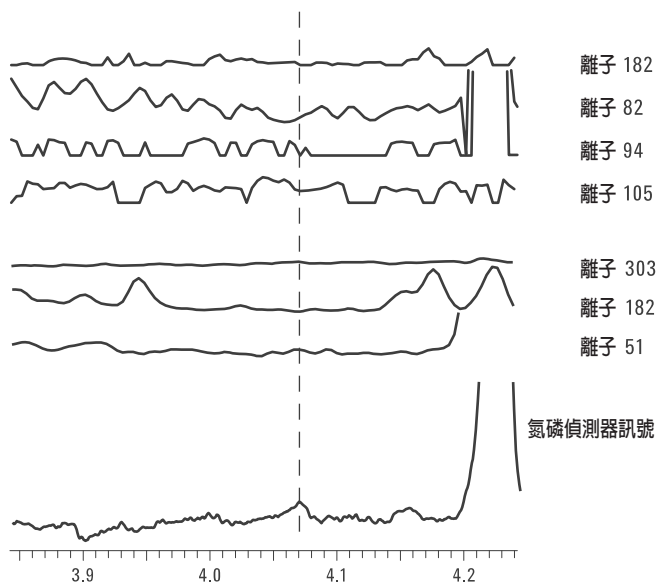


圖 11. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系統上，全血樣品 A 中古柯鹼的萃取離子層析圖譜和氮磷偵測器訊號

參考文獻

1. Bruce Quimby, "Improved Forensic Toxicology Screening Using A GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database," Agilent Technologies publication 5989-8582EN.
2. Dean F. Fritch and Bruce D. Quimby, "Confirmation of THC in Oral Fluids Using High-Resolution 2-D GC/MS," Agilent Technologies publication 5989-5668EN.
3. Chris Sandy, "Analysis of Complex Samples by GC/MS/MS – Pesticides in Marine Biota," Agilent Technologies publication 5989-9727EN.

更多訊息

有關我們產品和服務的更多訊息，請拜訪我們的網站：
www.agilent.com/chem/tw。

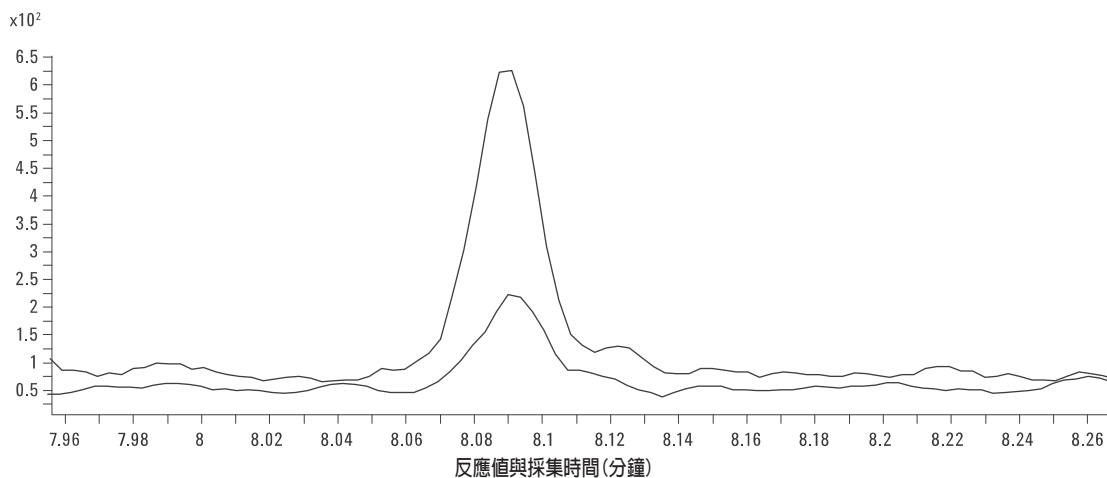


圖 12. 在 GC/QQQ 上，全血樣品 A 中古柯鹼的 MRM 的分析結果。上圖是 MRM 182-82，下圖是 MRM 303-82

www.agilent.com/chem/tw

安捷倫科技對本資料中出現的錯誤，以及由於提供或使用本資料所造成的相關損失不負擔責任。

本資料中涉及的訊息、說明和規格，如有變動，恕不另行通知。

© 台灣安捷倫科技股份有限公司，2009

台灣印刷

2009 年 10 月

5990-3640CHTW



Agilent Technologies