

精准质量的 LC/MSD TOF 对尿液中鸦片制剂的定量分析

应用

司法鉴定

作者

Jerry Zweigenbaum
安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

本文利用液相色谱/质量选择检测飞行时间质谱对尿液样品 (约 6 ng/mL) 进行了定量分析测定。此方法的优点是通过准确地质量测定来提高选择性。信噪比为 5:1 时, 仪器柱上检测限为 2pg。

前言

众所周知, 飞行时间质谱 (TOF) 作为定量工具直到最近才得到广泛的应用。这篇应用文献表明安捷伦的液相色谱/质量选择检测飞行时间质谱 (LC/MSD TOF) 能够用来对复杂样品中的低含量化合物进行常规定量检测。这对于司法鉴定尤为重要。无论是尿样直接进样, 还是固相萃取 (SPE), LC/MSD TOF 都显示出良好的耐用性, 高的灵敏度和选择性。

实验部分

样品准备

直接进样时样品不需要进一步处理, 只需要稀释到合适的浓度。对于固相萃取进样, 我们用 Accubond II Evidex 固相萃取小柱 (部件号 188-2946) 对鸦片制剂进行萃取 (按照萃取小柱所附具体操作步骤)。操作时, 先各取 5mL 的空白溶液或稀释尿液, 顺序加入 0.5 mL 浓盐酸, 10 N 的氢氧化钠 0.75 mL, 然后加入 2.5 mL 的 0.5 mol/L 的磷酸调 pH 到 6.5-7.5。为了避免葡(萄)糖苷酸的酸性水解, 不进行加热操作。将经过上述步骤处理后的溶液上样到固相萃取小柱上, 用指定的洗脱液 (二氯甲烷/异丙醇/氨水) 进行淋洗和洗脱。收集流出物, 在氮气下吹干 (不加热), 然后溶解在 0.5 mL 的水/乙腈 (40:60) 混合液中。



仪器

安捷伦 1100 系列 LC/MSD TOF, 配有安捷伦 1100 二元泵和自动进样装置

表 1 实验条件

液相色谱条件	
色谱柱	ZORBAX XDB-C18, 2.1 mm × 50 mm, 3.5 μm 部件号 971700-902
流动相	A: 乙腈 +0.1 % 甲酸 B: 水 +0.1 % 甲酸
梯度	5 分钟内 A 从 35% 到 95%, 然后在用 6 分钟 升到 100%
流速:	0.35 mL/min

质谱条件

利用校准物系统进行自动调谐。此校准系统能够给双 ESI 源提供低流速下 (约 2 μM 嘌呤和 HP-921 校准物) 的连续自动校准。

结论

图 1 上图是在 300 ng/mL 尿样直接进样时吗啡, 可待因和乙酰吗啡的总离子流图 (TIC), 下图为重叠萃取离子图 (EIC)。萃取离子流图质量窗口范围为 20 ppm (~±0.002 u)。上述几种鸦片制剂的准确质谱图在图 2 中给出。表 2 是采用直接进样时的定量结果。表 3 是采用固相萃取 (SPE) 时的定量结果。

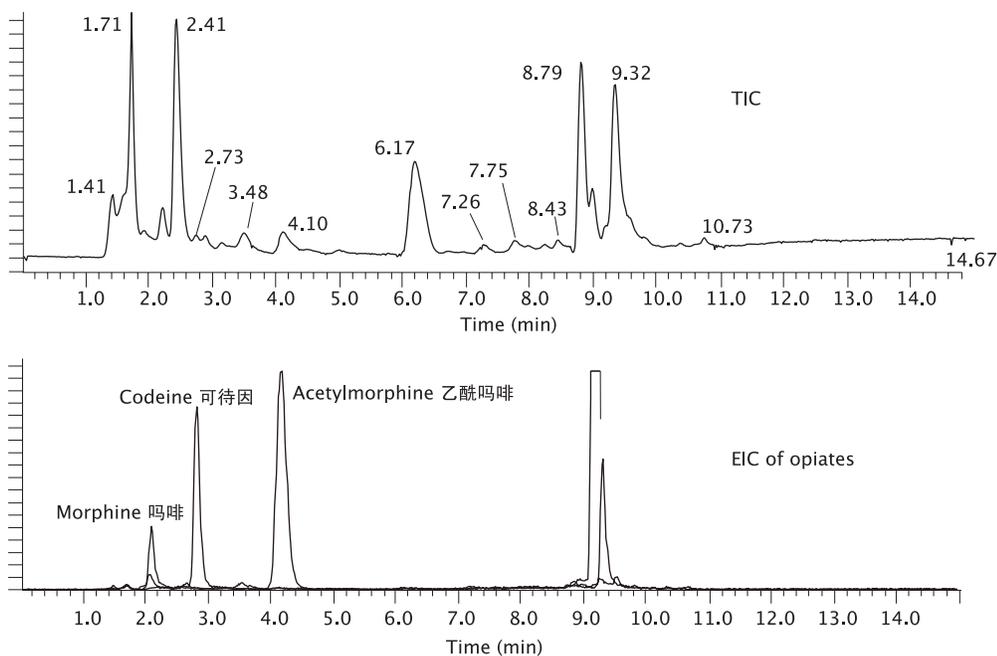


图 1. 上图为添加鸦片制剂浓度为 300 ng/mL 的尿液直接进样的总离子流图。下图为各个化合物的萃取离子流图。

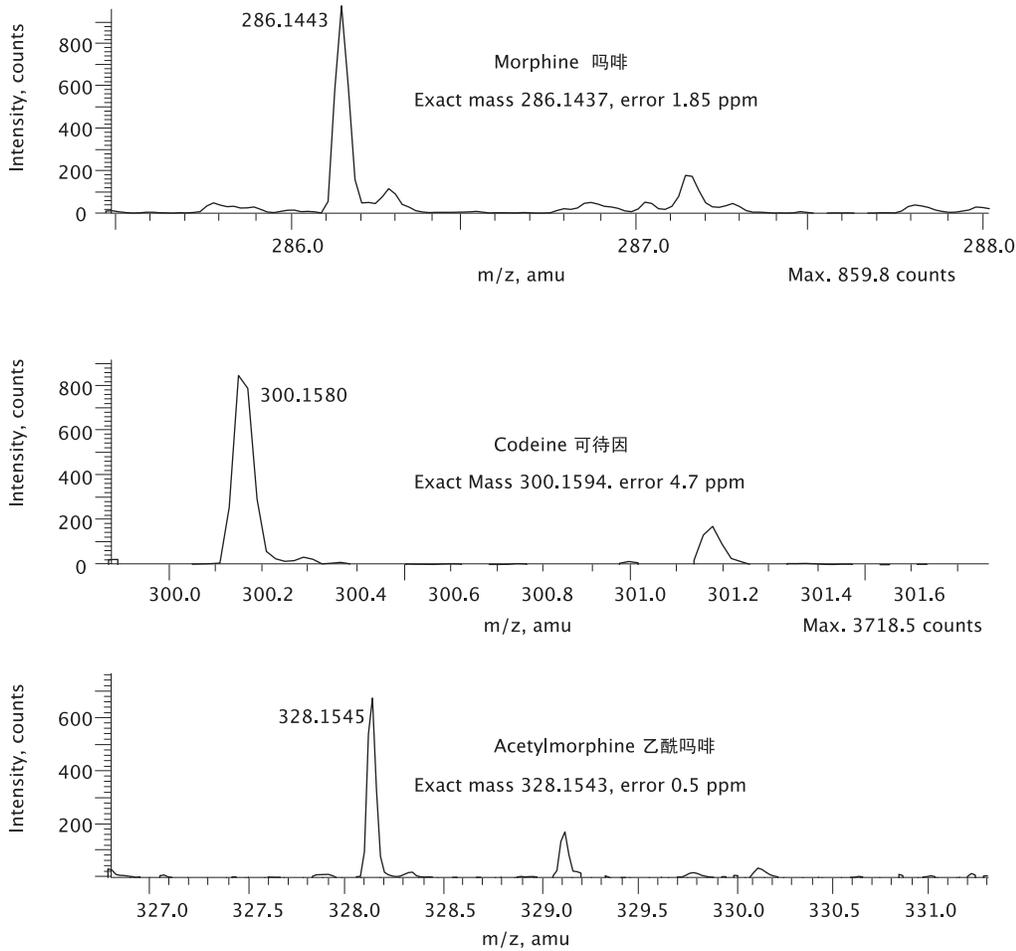


图 2. 鸦片类化合物的 $[M+H]^+$ 分子离子的质谱图，图中同时给出柱上浓度 2 pg 时质量分辨率和质量精确度。

表 2. 添加浓度为 1000 ng/mL 和 300 ng/mL 尿样直接进样 LC/MSD TOF 定量测定结果

	尿液直接进样(添加浓度 1000 ng/mL)			尿液直接进样(添加浓度为 300 ng/mL)		
	吗啡	可待因	乙酰吗啡	吗啡	可待因	乙酰吗啡
	241	446	715	66.7	93.8	176
	222	402	653	78.5	94.8	203
	238	426	683	73.7	93	199
	195	338	687	73.7	96.5	201
	200	351	588	76.6	94.3	185
平均值	219.2	392.6	665.2	平均值	73.8	94.5
SD	21.2	46.8	48.4	SD	4.5	1.3
RSD (%)	9.7	11.9	7.3	RSD (%)	6.1	1.4

以上为免疫分析截止范围的两个典型浓度。注意添加浓度和实测浓度之间的差异是由于离子源中离子抑制程度不同造成的。

表 3. 固相萃取后添加浓度为 6 ng/mL 和 60 ng/mL 的 LC/MSD TOF 定量测定结果

固相萃取 5 mL 尿样(添加浓度为 6 ng/mL) (期望浓度为 60 pg/mL)				固相萃取 5 mL 尿样(添加浓度为 60 ng/mL) (期望浓度为 600 pg/mL)			
	吗啡	可待因	乙酰吗啡		吗啡	可待因	乙酰吗啡
	6.97	8.62	3.74		508	499	182
	8.56	9.57	4.21		567	543	193
	10	8.41	4.03		525	504	183
	9.24	8.5	3.81		521	502	191
	7.07	8.15	3.48		595	532	193
	9.46	8.99	3.5		591	532	192
	7.66	8.91	3.79		582	540	196
平均值	8.4	8.7	3.8	平均值	555.6	521.7	190.0
SD	1.2	0.5	0.3	SD	36.6	19.2	5.4
RSD (%)	14.4	5.3	6.9	RSD (%)	6.6	3.7	2.8

添加浓度和实测浓度之间的差异是由于离子源中离子抑制程度不同和 SPE 方法回收率的差异造成的。

结论

实验数据表明 LC/MSD TOF 能够利用准确质量测定来对化合物进行确认，同时能够利用较窄的质量选择窗口进行定量分析。

- 尿样直接进样显示 LC/MSD TOF 的耐用性能。
- 经固相萃取后的结果表明了 LC/MSD TOF 有很高的灵敏度。
- 高分辨率和准确性（每一张质谱图）确保在定性和定量分析时能有效的降低化学噪音，具有优异的选择性。

更多信息

关于我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网页：
www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦科技公司对本材料中可能有的错误或与装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本文的信息、说明和技术指标若有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司，2005

中国印刷
2005 年 1 月 14 号
5989-2206CHCN

