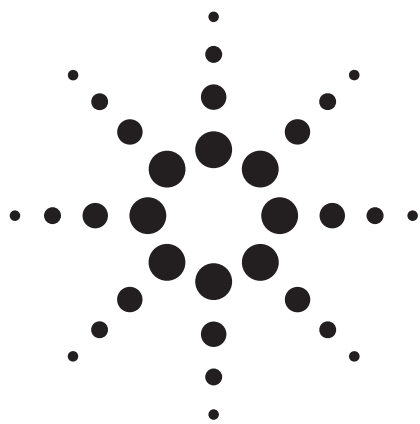




安捷伦 7000A 串联四极杆气质联用仪用于全血样品提取物中的毒物筛查

应用文摘

法医毒物分析

作者

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

摘要

安捷伦 7000A 串联四极杆气质联用仪对药物分析具有高灵敏度和高选择性的特点。一次进样分析就可以进行血液提取物中多种毒物组分的高灵敏度扫描确认分析。配合单四极杆气质系统的筛查信息，如安捷伦 GC/NPD/MSD/DRS 系统，可以获得样品最完整的信息。



Agilent Technologies

前言

由于样品的复杂性和毒物化合物种类的繁多，毒物扫描分析面临极大的挑战。气质联用技术是目前被广泛接受的分析手段。电子轰击源的全扫描质谱图的优点是可以进行宽范围的组分筛选，例如组分的数量不受限制，全质谱图确认，以及标准质谱库用于非目标化合物的检索。安捷伦气质联用仪的最近的技术进展，如保留时间锁定(RTL)，解卷积报告软件(DRS)和微板流控技术(CFT)，可以大大提高分析速度和准确性。结果分析速度更快。假阳性和假阴性率更低 [1]。

扫描筛查的目的是发现那些浓度可能导致中毒或致死的药物，气质联用的全扫描模式一般能满足这一应用要求。实验室通常需要检测样品中低至 100pg 的药物组分。但是对于那些更低浓度甚至是痕量的药物分析，需要利用选择离子监测模式以提高分析灵敏度。随着安捷伦推出选择离子监测/全扫描同时采集功能，大大提高分析速度。以参考文献[1]中介绍的方法为例，采用选择离子监测/全扫描模式同时采集，9.6 分钟内可以筛查 725 个组分。这个时间周期包括全扫描，选择离子扫描（27 个组分）和氮磷检测器的信号。

然而对于一些化合物，选择离子模式会受到限制。基质会影响样品中痕量组分的检测或确认。目前主要用两种解决方案来应对这种分析难题。第一种是提高色谱分离的选择性，例如安捷伦 Dean Switch 中心切割的二维气相色谱技术[2]。这种技术采用两支色谱和 Dean Switch 中心切割装置，使得痕量目标组分与基质分离。当在最佳的色谱分离条件下，选择离子扫描模式也提供很高的检测灵敏度。

这种技术相对简单而且价格便宜，但是在实际应用中，一次只能分析有限的样品组分。第二种技术是利用串联四极杆技术来提高质谱的选择性。这种具有极高选择性和灵敏度的分析方法可以检测低至亚皮克水平的组分，而且样品基质的干扰很小。另外最显著的优点是一次进样可以分析多达几百种组分。

本应用介绍了串联四极杆气质联用技术检测全血样品中痕量药物组分的方法。之前是利用选择离子扫描和全扫描同时采集的方法结合 DRS 解卷积报告软件和同时监测氮磷检测器信号进行分析的。结果表明，相比之下，串联四极杆气质联用是更强大的补充检测手段，可以检测到更低的含量和确认。

实验部分

对照品和化学试剂

表 1 中列出的分析对照品购自 Cerilliant (Round Rock, TX)。标准校正溶液是利用甲苯进行适当稀释的溶液。建立方法，使用 1 ng/μL 的测试溶液进行 Q1 扫描和子离子扫描。对于多反应监测模式(MRM) 下的校正曲线，使用 10 至 50 ng/μL 范围的标准溶液。

样品

用于气质联用分析的全血样品由 NMS 实验室提供 (Willow Grove, PA)。全血样品的前处理过程是液液萃取，有机相吹干，最后用 10 倍的甲苯定容。

仪器参数

分析系统是安捷伦 7890A 气相色谱仪和 7000A 串联四极杆质谱仪。系统包括基于微流控技术的带补偿的 2 路分流器（889 选项号）[3]，以实现每次运行结束之后进行反吹。这样可以防止血样中高沸点组分污染色谱柱[1]。仪器的参数总结在表 2 中。

利用浓度为 1 ng/μL 的标准溶液进行每个组分的多反应监测模式的结果评价。每个化合物尽可能设定 4 个 MRM 通道，见表 2。尽管串联四极杆气质方法通常只检测两个通道，但是 4 个通道将提高痕量组分分析结果的可靠性。

全血样品分别在串联四极杆气质和单四极杆气质加氮磷检测器以及解卷积报告软件系统上进行分析考察，见参考文献 1。根据参考文献 1 使用的方法，利用安捷伦的方法转移软件和保留时间锁定功能将串联四极杆气质联用分析中各组分的保留时间锁定到文献 2 倍的时间。

表 1. 多反应监测(MRM)参数和各组分的方法检测限

	保留时间 (分钟)	母离子	子离子	碰撞 能量 (eV)	相对 响应	* 方法 检测限 (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	
苯环己哌啶 (PCP)	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	
可卡因	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	
氢化可待因	9.252					
		299	242.8	10	100	1.0
		242	152.8	30	71	
		242	180.9	20	71	
		299	270.1	15	71	
四氢大麻酚	9.321					
		231	173.9	25	100	0.4
		299	81	20	11	
		314	81.3	30	6	
6-乙酰吗啡	9.533					
		215	42.1	30	100	50
		268	252	25	77	
羟可酮	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	
芬太尼	10.354					
		245	146	20	100	0.2
			189	44	20	
			202	146	10	
			189	146	5	

* 信噪比 = 3, 噪音是峰-峰计算而来

表 2. 仪器条件

气相色谱	
安捷伦 7890A 气相色谱带自动进样器	
进样口	电子压力控制, 分流/不分流进样
模式	恒压
进样模式	不分流
进样量(μL)	1.0
进样口温度(°C)	280
进样口压力(psig)	17.8
吹扫流速(mL/min)	50
吹扫时间(min)	0.75
载气	氮气
炉箱	
初始柱温(°C)	100
初始恒温时间(min)	0.5
温度梯度(°C/min)	20
最终柱温(°C)	325
最后保持时间(min)	2.5
总分析时间(min)	14.25
平衡时间(min)	0.5
色谱柱	
类型	DB-5MS UI
部件号	122-5512UI
柱长 (m)	15
柱内径 (mm)	0.25
膜厚(um)	0.25
表面初始流速(mL/min)	2.2
柱出口压力(psig)	3.8
色谱柱反吹	
2-路分流器, 带补偿 (一个口被堵死)	
阻尼气管长度(m)	0.8
阻尼器管的内径(mm)	0.15
反吹压力(psig)	75
反吹温度(°C)	325
反吹时间(min)	2
串联四极杆质谱	
安捷伦 7000A 型串联四极杆质谱	
惰性电子轰击离子源, 离子化能量(eV)	70
采集模式	多反应监测 (MRM)
MS1 和 MS2 的分辨率 (amu)	1.2
氮气为碰撞气, 压力 (psig)	2.6
氮气为淬灭气, 压力为	6.25
溶剂延迟(min)	1.4
电子倍增器电压	自动调谐值
四极杆 1 和 2 温度(°C)	150
离子源温度(°C)	300
传输线温度(°C)	300

结果和讨论

图 1 是被分析组分的串联四极杆气质分析的 MRM 模式下总离子流图。因为参考文献 1 中的扫描分析中的样品前处理没有采用衍生化反应，所以在本方法也没有进行样品的衍生化。对于安非他命、苯丁胺、甲基苯丙胺、3,4-亚甲酞二氧基苯丙胺 (MDA)、3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺 (MDMA)、3,4-亚甲基二氧基乙基苯丙胺 (MDEA) 这些药物，稳定而重现的响应的最低浓度是

1 ng/ μ L，这是因为样品在到达质谱之前已经降解损失了。如果需要更低的检测限，则需要衍生化反应。

除了 6-乙酰吗啡之外，剩下所有的化合物的检测灵敏度都在亚皮克范围。表 1 中列举了所有组分在信噪比等于 3 时的检测限。检测限的测定条件是，1 微升组分的浓度为 10 pg/ μ L，但是除了 6-乙酰吗啡，浓度是 50 pg/ μ L。图 2 是 10 皮克海洛因的 4 个 MRM (如表 1) 的信号响应。这表明串联四极杆气质联用具有优异的灵敏度。

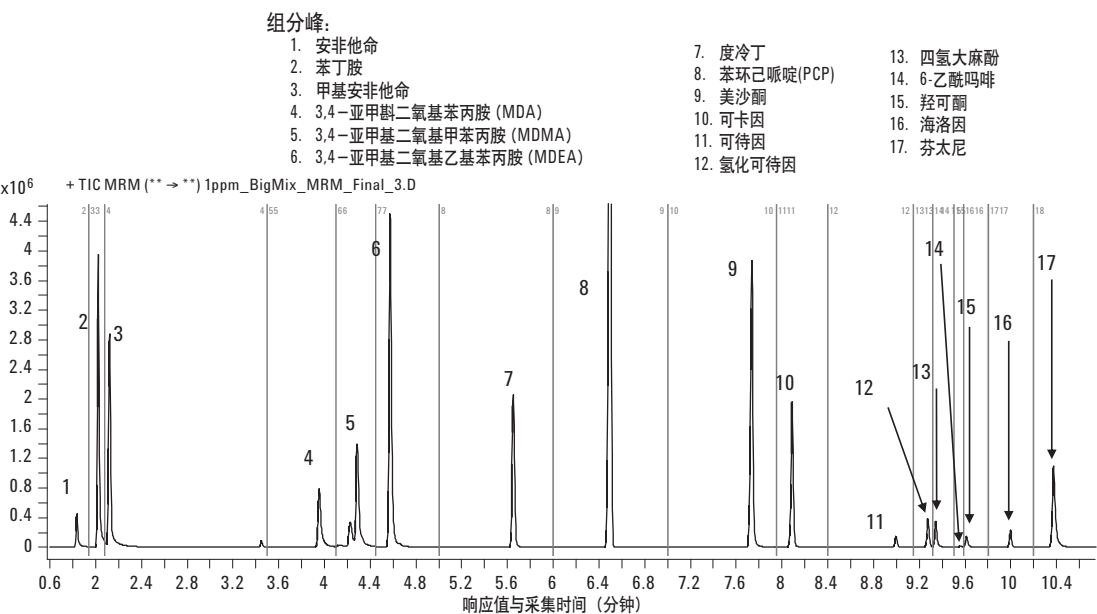


图 1. 安捷伦 7890A 串联四极杆气质的 MRM 的总离子流图。样品为标准溶液，浓度 1 ng/ μ L

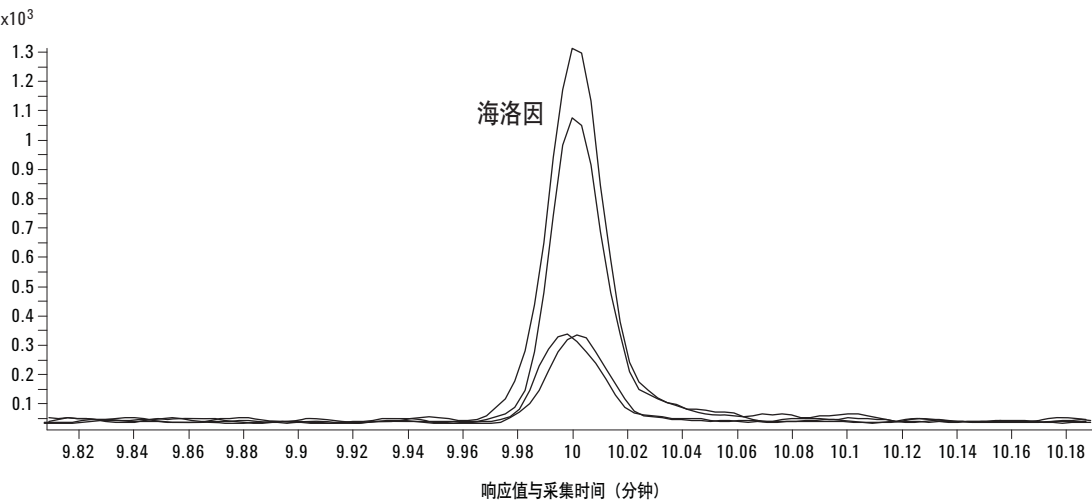


图 2. 浓度 10 pg/ μ L 的海洛因的 MRM 响应

图 3 是 GC/NPD/MSD/DRS 分析中，全血样品 A 中可待因的提取离子流图。目标离子和在相同保留时间下的氮磷检测器的信号说明存在可待因。然而由于基质的影响，定性离子以及离子比例则很难得到准确值。解卷积报告软件只给出 59（最高是 100）的匹配率分值，这个分值对于最终确认可待因是否存在还不够高。

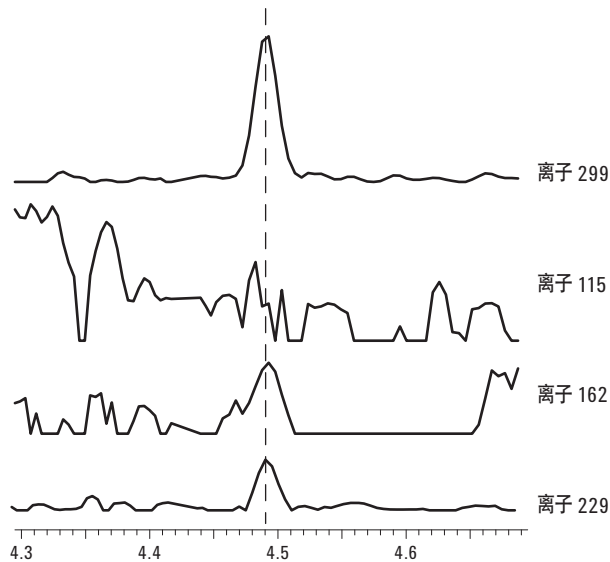


图 3. 是 GC/NPD/MSD/DRS 上全血样品 A 中可待因的提取离子流图

图 4 是同样的样品在串联四极杆气质联用仪上的分析结果。结果具有很高的灵敏度和选择性，非常可靠地确认样品 A 存在可待因，其含量是 150 pg。

由于摄入量很低，血中的芬太尼的检测遇到极大的挑战，而且芬太尼只有三个离子有明显的响应，所以在确认上也遇到难题。图 5 是 GC/NPD/MSD/DRS 分析中，芬太尼的提取离子流图。结果只有三个离子而 189 离子由于干扰物影响信号很低刚过阈值。SIM/scan 中的选择离子数据具有稍高的信噪比，但是仍然受到质荷比一样 (m/z 189) 但来自基质的干扰。氮磷检测器表明，在同样的保留时间下存在含氮元素的化合物，这样可以确认芬太尼的存在。

解卷积报告软件获得的谱图匹配率的分值是 66。基于获得的所有信息，可以证明存在芬太尼。

图 6 是同样的样品在串联四极杆气质联用仪上的分析结果。二级质谱的高选择性可以准确证明存在芬太尼。定量结果表明芬太尼的含量是 150pg。

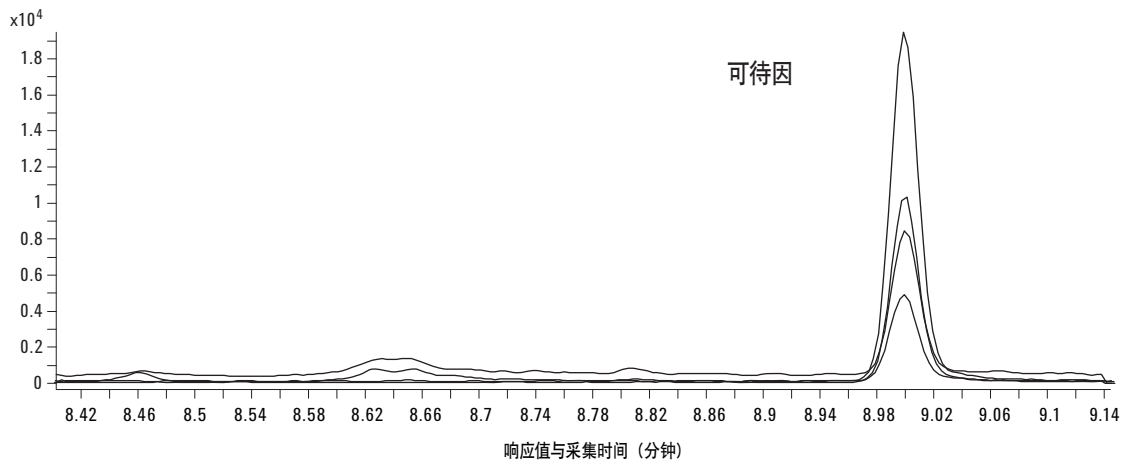


图 4. 在串联四极杆气质联用仪上，全血样品 A 中可待因的 MRM 图

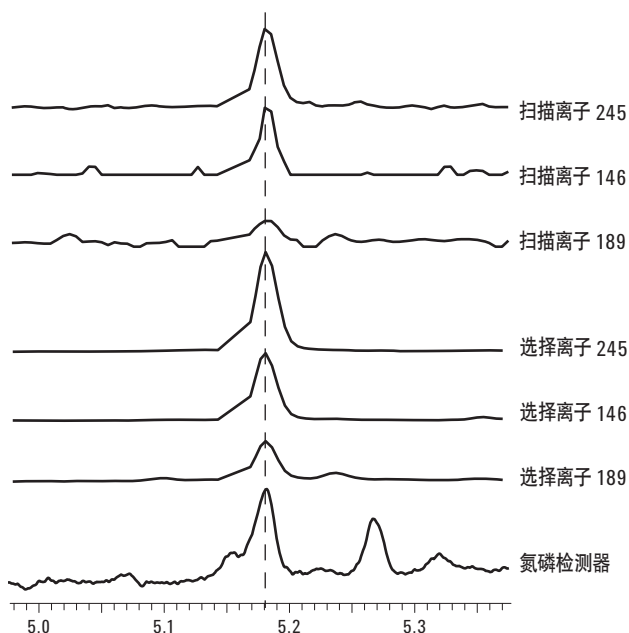


图 5. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系统上，全血样品 B 提取物中芬太尼的提取离子流图和氮磷检测器信号

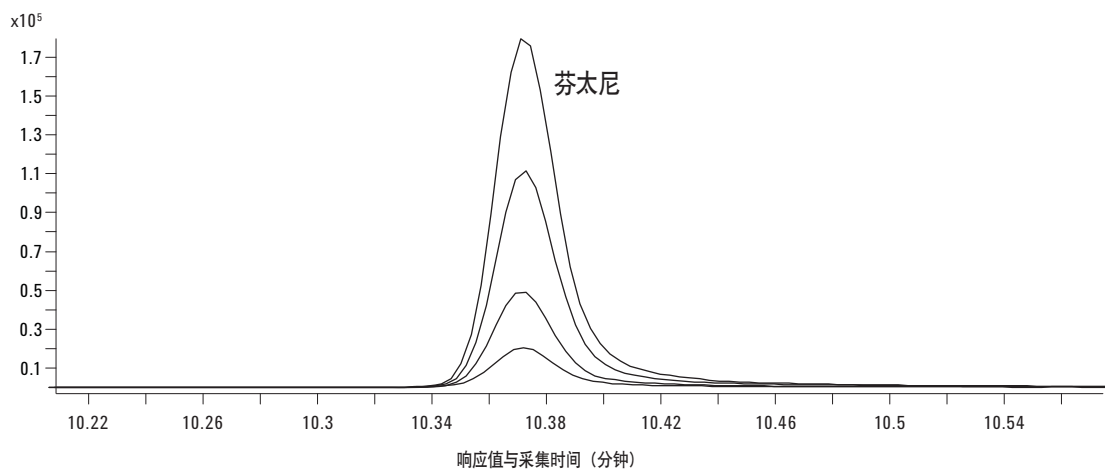


图 6. 在串联四极杆气质联用仪上，全血提取物 B 中芬太尼的 MRM 分析结果

图 7 是在 GC/NPD/MSD/ DRS 系统上，全血样品 C 提取物中美沙酮的全扫描，选择离子扫描和氮磷检测器的分析结果。由于基质的干扰和只有一个离子 (m/z 72) 的丰度强一些，其它离子的响应很小，不到 6% 相对响应，因此美沙酮的确认分析相对比较困难。如图 7 所示，定性离子尤其是 m/z 57 离子，存在干扰。解卷积报告软件得到的匹配率的分值是 74。请注意匹配率分值主要由 m/z 72 离子控制，所以计算值要高于正常值。所有数据证明样品中存在美沙酮。

图 8 是在串联四极杆气质联用仪上，全血样品 C 提取物中美沙酮的 MRM 分析结果。可以清楚地确认存在美沙酮，定量分析结果表明，美沙酮的含量是 170 μ g。

图 9 是在 GC/NPD/MSD/ DRS 系统上，全血样品提取物中羟可酮的全扫描，选择离子扫描和氮磷检测器的分析结果。在这个分析中，羟可酮的含量是 60 μ g。但是在解卷积报告软件中由于得到的匹配分值只有 46，所以没有发现羟可酮。如此低的分值是由于样品浓度低而且高基体干扰导致的。在全扫描提取离子流图中，

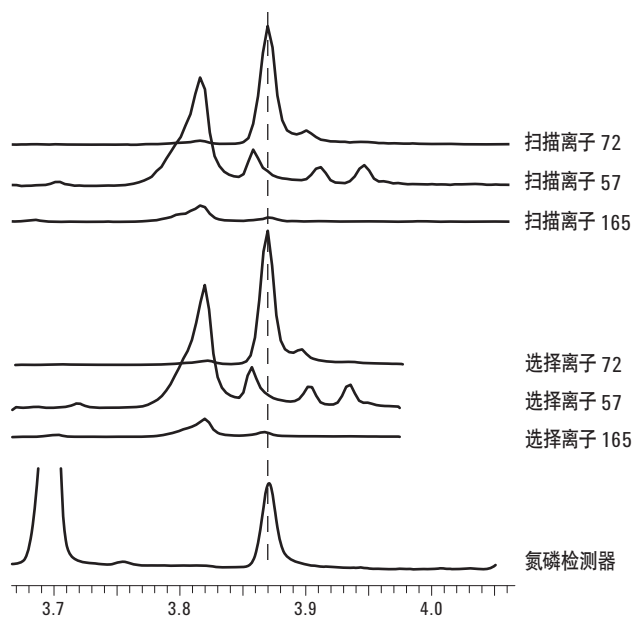


图7. 在GC/NPD/MSD/DRS系统上，全血样品C中美沙酮的提取离子流图和氮磷检测器信号

目标离子和氮磷信号不一致，但是两个确认离子不稳定。选择离子模式得到的信噪比远远高于全扫描模式下提取离子的信号的信噪比。图9中是选择离子的离子流图。 m/z 316和 m/z 70两个离子可以清楚地确认羟可酮的存在。

图10是在串联四极杆气质联用仪上，血样B中羟可酮的MRM的分析结果。正如前几个分析一样，串联四极杆气质联用仪具有更高的选择性和灵敏度，因此羟可酮的扫描和确认结果更加可靠。

图11和12所示的最后一个举例是全血样品A提取物中可卡因的全扫描，选择离子扫描和氮磷检测的分析结果。结果没有任何质谱数据表明可卡因的存在。氮磷检测器出现了一个小峰，但是由于信号太弱，无法确定是否含有含氮化合物。在串联四极杆气质联用仪上，则非常可靠地确认羟可酮的存在，含量是0.7pg。结论表明串联四极杆气质联用仪具有极高的灵敏度。

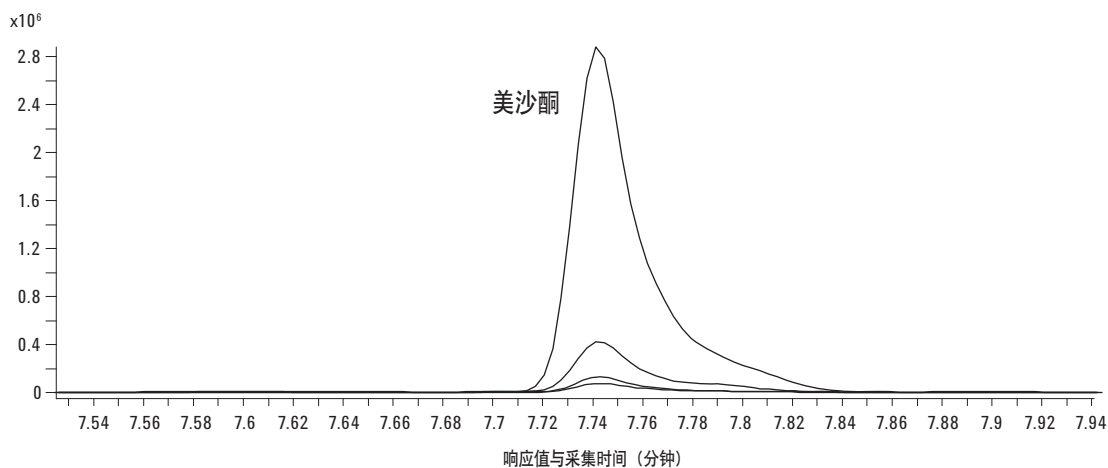


图8. 在串联四极杆气质联用仪上，全血样品C中美沙酮的MRM分析结果

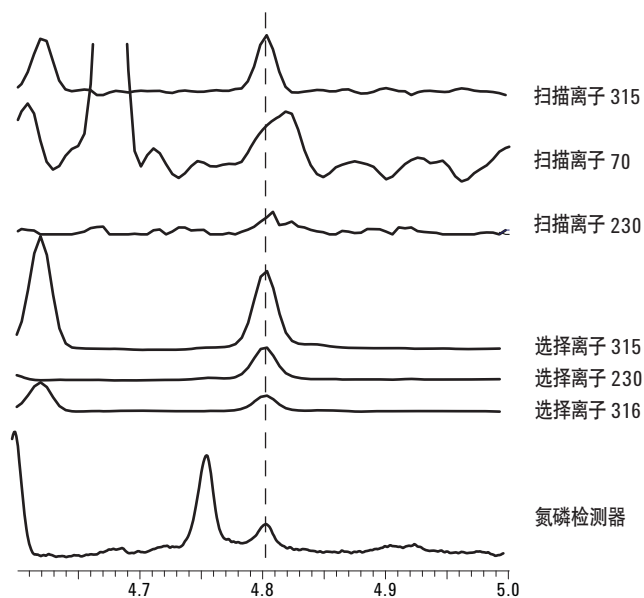


图9. 在GC/NPD/MSD/DRS系统上，全血样品B中羟可酮的提取离子流图和氮磷检测信号

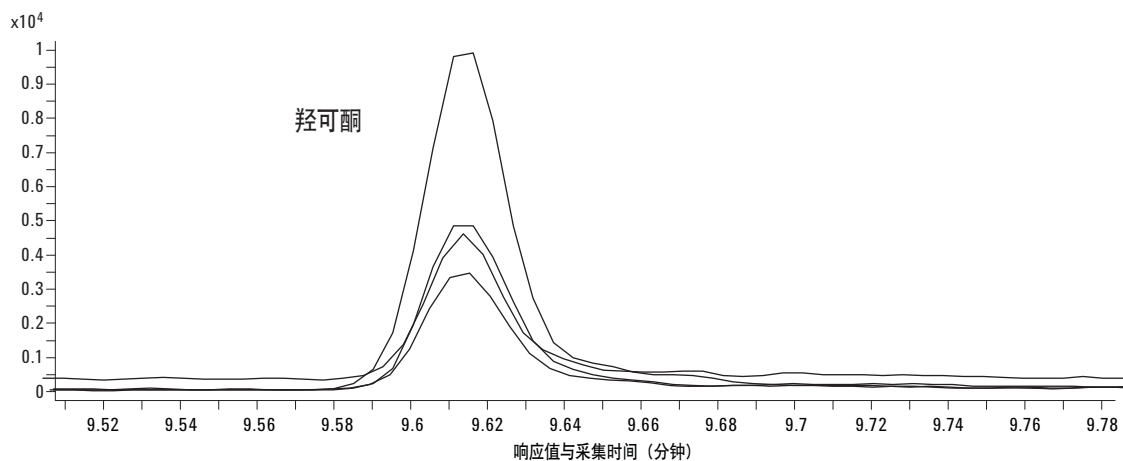


图10. 在串联四极杆气质联用上，全血样品B中羟可酮的MRM的分析结果

结论

安捷伦 7000 型串联四极杆气质联用仪对于滥用药物的分析具有更高的灵敏度和选择性。这使得在一次分析中可以分析血样中更低浓度药物的扫描和确认分析。而对于单四极杆气质联用仪，则需要更多类型的信号才达到目的，例如安捷伦的 GC/NPD/MSD/DRS 系统。GC/NPD/MSD/DRS 系统可以提供最宽范围的化合物筛查(725 个化合物)，全扫描质谱图和氮磷检测器作为定性分析，选择离子扫描作为定量分析。串联四极杆气质联用仪可以常规进行多达几百个化合物的扫描确认分析，即使对复杂基质的样品，其灵敏度可低至亚皮克水平。

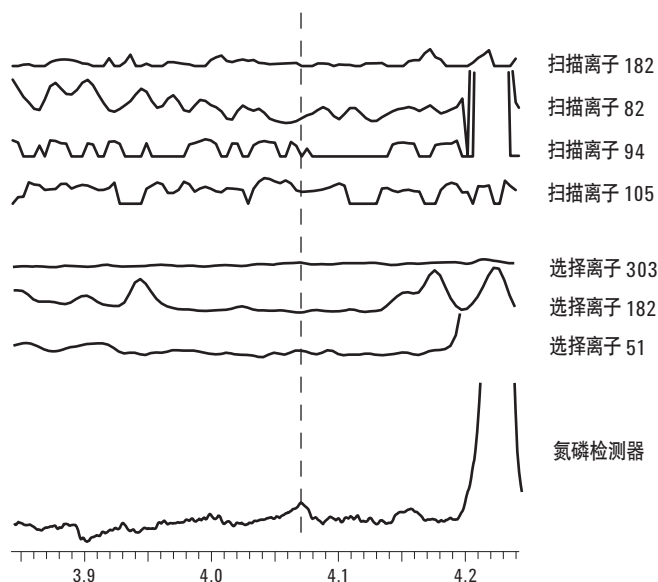


图 11. 在 GC/NPD/MSD/DRS 系统上, 全血样品 A 中可待因的提取离子流图和氮磷检测信号

参考文献

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.

更多信息

如需了解更多有关产品和服务的信息, 请浏览我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

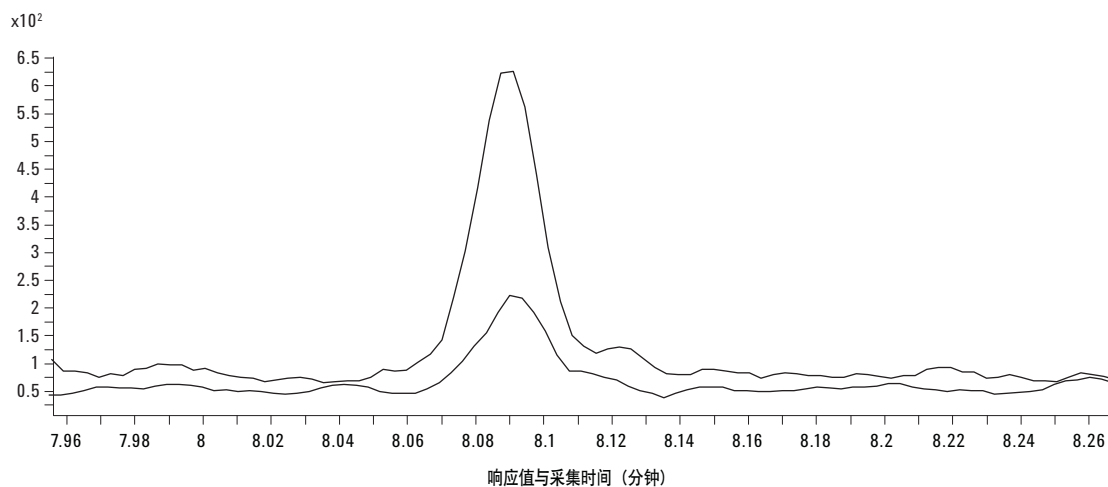


图 12. 在串联四极杆气质联用仪上, 全血样品 A 提取物中可待因的 MRM 分析结果。上图是 MRM 182-82, 下图是 MRM 303-82

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对由于设备、性能或使用本材料而导致的意外伤害和问题不承担任何责任。

本出版物中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司 2009

中国印刷

2009 年 2 月 23 日

5990-3640CHCN



Agilent Technologies