

采用液相色谱-质谱法测定毛发中可卡因及其 代谢物苯甲酰爱康宁

李悦

(广州禾信仪器股份有限公司, 广州 510530)

摘要: 本文使用禾信液相色谱质谱联用仪 (LC-TQ 5100), 依照SF/Z JD0107016-2015《毛发中可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁的液相色谱-串联质谱检验方法》对毛发进行加标回收实验。实验结果表明, 在0.05 ng/mg~10.0 ng/mg的浓度范围内, 可卡因和苯甲酰爱康宁的线性相关系数 R^2 均大于0.995, 精密度RSD范围为1.57%~6.35%, 毛发样品加标回收率为90.5%~113.4%, 方法检出限为0.02 ng/mg, 方法定量限为0.05 ng/mg, 定性参数保留时间的相对误差在标准要求的 $\pm 2.0\%$ 内, 定性参数相对离子对丰度比 $\leq 10\%$ 的定性离子对, 其相对误差在标准要求的 $\pm 50\%$ 内, 定性参数相对离子对丰度比在10~20%的定性离子对, 其相对误差在标准要求的 $\pm 30\%$ 内, 均满足SF/Z JD0107016-2015标准要求。

关键词: 毛发;可卡因;甲酰

可卡因是常见的违禁滥用药物之一, 属中枢神经兴奋剂, 其体内主要代谢物为苯甲酰爱康宁, 其主要毒性表现为对神经系统的兴奋作用。摄入的可卡因及其代谢物扩散至血液并进入毛囊细胞, 毛发根部区域的毛囊与血液相通, 可卡因及其代谢物以带状形态积累在毛髓质和毛皮质中, 进入毛发。因此可通过对毛发中的成分进行定性定量分析, 判定受试者是否吸食可卡因。

本文参考 SF/Z JD0107016-2015《毛发中可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁的液相色谱-串联质谱检验方法》, 使用三重四极杆液相色谱质谱联用仪进行毛发中的可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁分析, 通过检出限、精密度和准确度等指标评估仪器性能, 证明禾信 LC-TQ 5100 满足毛发中可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁检测的需要。

1 材料和方法

1.1 试剂和材料

1) 试剂

超纯水; 乙腈 (CH_3CN): 色谱级; 甲醇 (CH_3OH): 色谱级; 甲酸 (CH_2O_2): 色谱级; 单一标准物质溶液 (甲醇): 可卡因、苯甲酰爱康宁 (1 mg/mL); 内标 (甲醇): 可卡因- D_3 、

苯甲酰爱康宁-D₃ (1 mg/mL)。

2) 试剂配制

毛发样品经过水和丙酮洗涤处理后研磨成粉末状,称取 20 mg 毛发粉末样品,加入 20 μ L 混合氘代内标工作溶液 (1.0 μ g/mL),加入 0.5 mL 甲醇,超声 30 min,然后以 2500 r/min 离心 3min,将上清液经滤膜过滤后转移至样品瓶中,供仪器分析。(控制样品同步)。

1 μ g/mL 可卡因和苯甲酰爱康宁标准物质工作溶液:分别移取 1 mg/mL 的可卡因和苯甲酰爱康宁单一标准物质储备溶液,用甲醇配制成浓度为 1 μ g/mL 的混合标准物质工作溶液,密封,0~4°C保存。

1 μ g/mL 混合氘代内标工作溶液:分别移取 1 mg/mL 的可卡因-D₃和苯甲酰爱康宁-D₃内标储备溶液,用甲醇配制成浓度为 1 μ g/mL 的混合氘代内标溶液,密封,0~4°C保存。

1.2 仪器和设备

液相色谱质谱联用仪: LC-TQ 5100 (禾信); 色谱柱: 菲罗门 Titank C18 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm, 3 μ m); 注射泵: TYD01 (Lead Fluid); 涡旋振荡仪: XH-B (江苏天翎); 超声波清洗器: JP-010T (深圳洁盟); 移液器: Eppendorf (艾本德); 分析天平: d=0.1 mg (sartorius); 离心机: TG16G (凯特)

表1 仪器方法参数

模块	参数	值
色谱	色谱柱	Titank C18 柱 (2.1 mm \times 100 mm, 3 μ m)
	柱温	40°C
	流动相	A 相: 乙腈; B 相: 0.1%甲酸水溶液
	流速	0.3 mL/min
	进样量	5 μ L
	洗脱	梯度洗脱, 梯度洗脱条件见表 2
	采集时间	6 min
	离子源	ESI+
	检测模式	多反应监测 (MRM)
	检测器电压	2350 V
质谱	碰撞气 (CAD)	15 psi
	气帘气 (CUR)	5 psi
	喷雾气 (GS1)	40 psi
	加热气 (GS2)	30 psi
	喷雾电压 (IS)	5500 V
	加热温度 (TEM)	450°C

表2 梯度洗脱条件

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	15	85
1	15	85
3.5	80	20
4	80	20
4.5	15	85
6	15	85

2 结果与讨论

2.1 标准谱图和物质信息

目标化合物的加标浓度为5.0 ng/mg，内标加标浓度为1.0 µg/mL。实际样品总离子流图见图1，各目标化合物和内标出峰顺序、保留时间以及特征离子信息见表3，各目标化合物的定性参数保留时间及其相对误差、特征峰相对离子丰度比及其相对误差信息见表4。

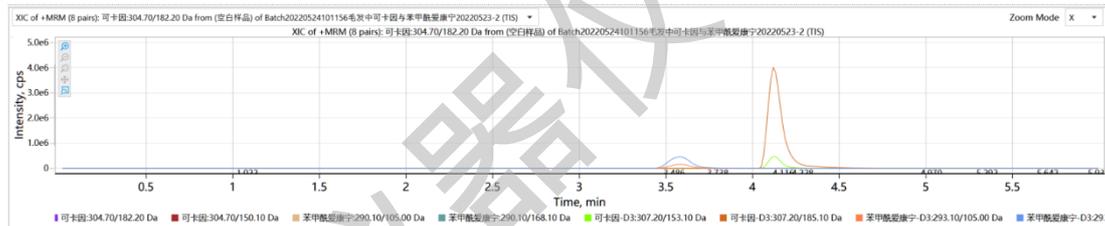
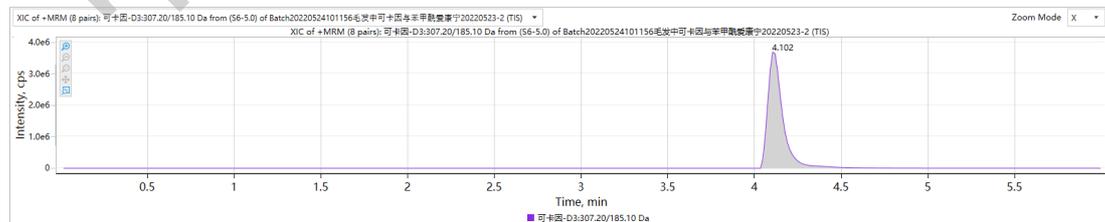
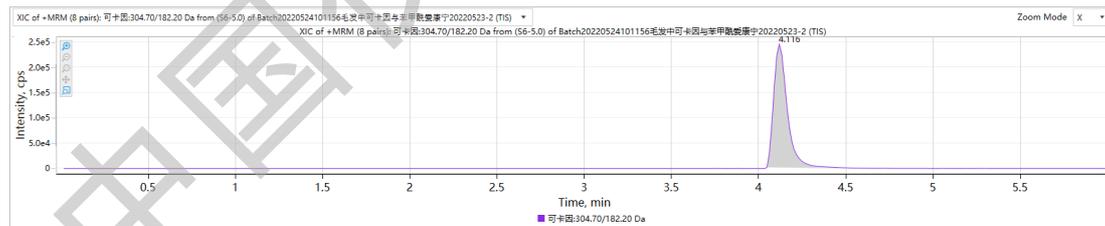


图1 实际样品总离子流图



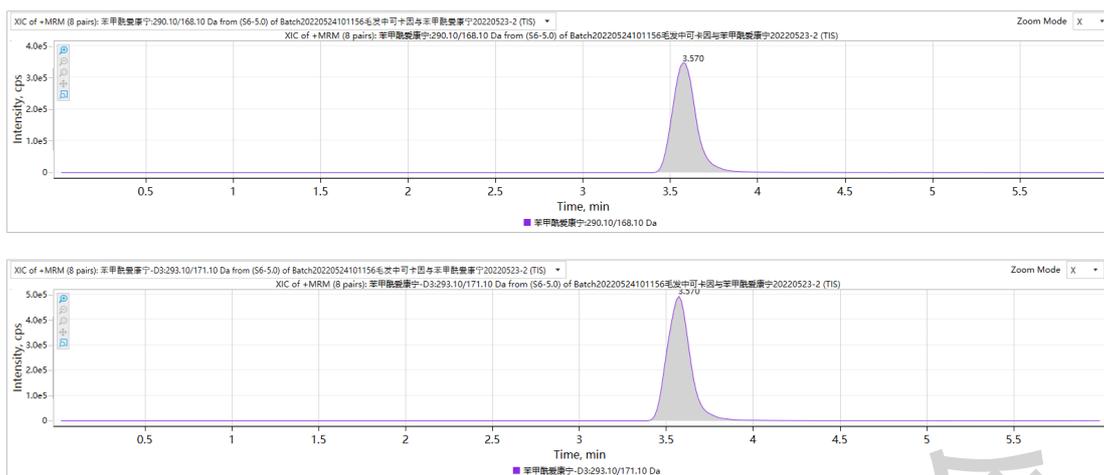


图2 目标化合物 (5.0 ng/mg) 和氘代内标 (1.0 μg/mL) MRM色谱图

表3 目标化合物和相应氘代内标的定性、定量离子对和保留时间、碰撞能量条件

序号	目标化合物	CAS	RT (min)	定量离对	定性离对	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	可卡因	50-36-2	4.116	304.7/182.2	304.7/182.2	67	6	29	9
				2	304.7/150.1	58	6	36	8
2	苯甲酰爱康宁	519-09-5	3.570	290.1/168.1	290.1/168.1	72	8	29	9
				1	290.1/105.0	54	5	48	4
3	可卡因-D ₃	138704-14-0	4.102	307.2/185.1	307.2/185.1	51	4	29	10
				1	307.2/153.1	58	7	36	7
4	苯甲酰爱康宁-D ₃	115732-68-8	3.570	293.1/171.1	293.1/171.1	75	9	31	11
				1	293.1/105.0	66	6	38	8

表4 目标化合物的保留时间和相对离子丰度比信息表

序号	目标化合物	RT, min	保留时间误差	相对离子丰度比	相对离子丰度比相对误差
1	可卡因	4.116	±0.68%	≤10.63%	±16.53%
2	苯甲酰爱康宁	3.570	±1.17%	≤3.21%	±28.06%

2.2 标准曲线

称取空白样品若干份, 添加可卡因和苯甲酰爱康宁标准工作溶液, 使毛发中的质量浓度分别为 0.05 ng/mg、0.1 ng/mg、0.5 ng/mg、1.0 ng/mg、2.0 ng/mg、5.0 ng/mg 和 10.0 ng/mg, 对目标物可卡因和苯甲酰爱康宁的混合标准曲线溶液进行分析。2 种目标化合物的线性相关系数 R^2 均大于 0.995, 详见表 5, 均符合标准要求。

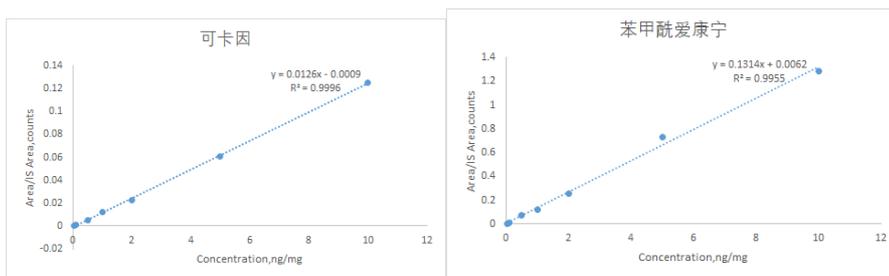


图3 目标化合物标准曲线图：(a) 可卡因，(b) 苯甲酰爱康宁

表5 目标化合物的标准曲线线性相关系数

序号	目标化合物	线性方程	线性范围/(ng/mg)	线性相关系数 R ²
1	可卡因	Y=0.0126X-0.0009	0.05~10.0	0.9996
2	苯甲酰爱康宁	Y=0.1314X+0.0062	0.05~10.0	0.9955

2.3 毛发样品加标回收实验

1) 精密度

分别对毛发样品进行加标浓度为 0.05 ng/mg、0.5 ng/mg 和 10.0 ng/mg 的加标实验，均平行实验 7 次，对精密度进行评估，具体信息详见下表 6。加标浓度为 0.05 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 1.57%~2.84%内，加标浓度为 0.5 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 1.78%~6.35%内，加标浓度为 10.0 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 2.44%~4.03%内，实验结果显著优于标准要求的精密度 (RSD 小于 9.1%)。

表6 目标化合物毛发样品加标精密度

序号	目标化合物	加标浓度 (ng/mg)		
		0.05	0.5	10.0
1	可卡因	2.84%	6.35%	4.03%
2	苯甲酰爱康宁	1.57%	1.78%	2.44%

2) 准确度

分别对毛发样品进行加标浓度为 0.05 ng/mg、0.5 ng/mg 和 10.0 ng/mg 的加标回收实验，均平行实验 7 次，对方法回收率进行评估，具体信息详见下表 7。加标浓度为 0.05 ng/mg、0.5 ng/mg 和 10.0 ng/mg 的毛发样品的平均回收率分别为 102.4%~113.4%、92.3%~95.9%、90.5%~112.6%，均符合标准要求。

表7 目标化合物毛发样品加标平均回收率

序号	目标化合物	加标浓度 (ng/mg)
----	-------	--------------

		0.05	0.5	10.0
1	可卡因	113.4%	95.9%	90.5%
2	苯甲酰爱康宁	102.4%	92.3%	112.6%

3) 检出限

方法 SF/Z JD0107016-2015 提供了方法学验证数据中的最低检出限和定量下限, 通过毛发样品加标实验分析, 确定了方法检出限为 0.02 ng/mg, 定量下限为 0.05 ng/mg, 仪器性能满足标准检测要求。

表8 目标化合物的方法检出限与标准检出限

序号	目标化合物	本仪器	标准要求
		方法检出限 (ng/mg)	方法检出限 (ng/mg)
1	可卡因	0.02	0.02
2	苯甲酰爱康宁	0.02	0.02

3 结论

本文依据 SF/Z JD0107016-2015 《毛发中可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁的液相色谱-串联质谱检验方法》, 采用禾信 LC-TQ 5100 分析了实际毛发样品中的可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁。实验结果显示: 可卡因和苯甲酰爱康宁的线性相关系数 R^2 均大于 0.995, 符合标准要求; 加标精密度 RSD 在 1.57%~6.35% 范围内, 显著优于标准要求的精密度 (RSD 小于 9.1%); 毛发样品基质加标平均回收率在 90.5%~113.4% 范围内, 符合标准要求; 目标物的方法检出限为 0.02 ng/mg, 符合标准提供的检出限要求; 定性目标物的特征峰保留时间和相对离子对丰度比及其相对误差均在标准要求内。上述结果表明禾信 LC-TQ 5100 具有优异的重现性和检测灵敏度, 完全满足 SF/Z JD0107016-2015 标准要求。

参考文献

- [1] SF/Z JD0107016-2015 毛发中可卡因及其代谢物苯甲酰爱康宁的液相色谱-串联质谱检验方法。