

使用带玻璃毛超高惰性进样口衬管和 GC/MS 进行滥用药物的分析

应用报告

法医毒理学

作者

Limian Zhao, Bruce Quimby
安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
美国

摘要

使用有效去活的玻璃毛，带玻璃毛的超高惰性衬管为滥用药物的筛选提供了优异的惰性、均匀的样品混合和汽化、非挥发性残留物捕集及对色谱柱和检测器的保护。

前言

GC 进样口衬管是进样口系统的核心部件，样品在其中汽化，与载气混合并且进入毛细管色谱柱。由于玻璃毛能促进样品均匀混合和更好的定量，因此带玻璃毛的进样口衬管得到了广泛使用。玻璃毛提供了较大的表面积有助于液体样品的汽化。它也可以作为一个捕集阱，捕集样本中的非挥发性残留物，从而保护 GC 色谱柱不受样品基质产生的负面影响。玻璃毛衬管也防止样品在汽化前触及进样口底部从而减少样品的损失。安捷伦 MS 认证的带玻璃毛衬管能够提供满足一般应用要求的优良性能。然而，对于活性化合物分析的特殊应用，要得到最可靠的结果就需要使用具有超高惰性的衬管。

GC/MS 筛查方法对毒理学实验室是重要的。随着新药物和毒物不断出现，要进行筛选的目标化合物数以百计。因为这些化合物可使用 GC 分析，采用电子轰击电离 (EI) 全扫描模式的 GC/MS 非常适合来完成这些分析[1]。为保留目标分析物，筛查样品通常需要最少的样品制备，甚至是没有经过净化的。然而，复杂基质样品，如血浆或尿液提取物，会破坏分析柱和检测器的性能，缩短色谱柱的寿命并导致频繁的 MS 源维护。因此，使用带玻璃毛的进样口衬管有利于保护整个 GC/MS 系统。



Agilent Technologies

但是，如果带玻璃毛的衬管去活程度较差，就可能导致对碱性滥用药物中目标分析物的吸附或分解。如图 1 所示，这些药物通常含有杂原子，能与玻璃毛中的自由硅醇基 (Si-OH) 产生强烈相互作用 [2]。由此产生的化合物的吸附和分解将导致色谱问题，如峰展宽或变形，峰拖尾，鬼峰以及响应变低。带玻璃毛衬管由于玻璃毛的大表面积和难以进行完全去活会放大这些负面影响。在法医/毒理学应用当中，如需得到准确、重现的理想色谱分离，正确而有效去活的带玻璃毛进样口衬管是必须的。

安捷伦超高惰性衬管去活技术极大的提高了玻璃毛去活的效率和耐用性。表面完全去活。这是带玻璃毛衬管第一次可以用于 GC/MS 分析碱性滥用药物。

带玻璃毛衬管采用安捷伦法医/毒理学分析测试标准品进行评估，样品中包括 28 种常见的和复杂的碱性药物化合物。化合物涵盖了各种保留洗脱范围的化合物，并含有不同类别的药物包括安非他命、生物碱和苯丙二嗪。

图 1 显示了一些分析物的化学结构。所有衬管测试同时使用 GC/MS 扫描和 SIM 进行数据采集。使用 5 微克/毫升的标准品进行色谱评价。使用 500 纳克/毫升的标准品对 (10 倍稀释) 超过 50 次进样的重复性进行评价。

实验部分

化学品和试剂

安捷伦 GC/MS 法医/毒理学分析测试混合标准品 (部件号 5190-0471) 用于评估超高惰性带玻璃毛衬管的性能。HPLC 级甲苯和甲醇购自霍尼韦尔 B&J (Muskegon, MI, USA)，乙腈 (ACN) 购自 Sigma - Aldrich 公司 (圣路易斯, 密苏里州, 美国)。内标物 (IS) 购自 AccuStandard (纽黑文, CT, USA)，包含 0.5 毫克/毫升 危-D₁₀、菲-D₁₀、三芳烷基磷酸酯、蔗-D₁₂ 和 茛-D₁₂ 的丙酮溶液。

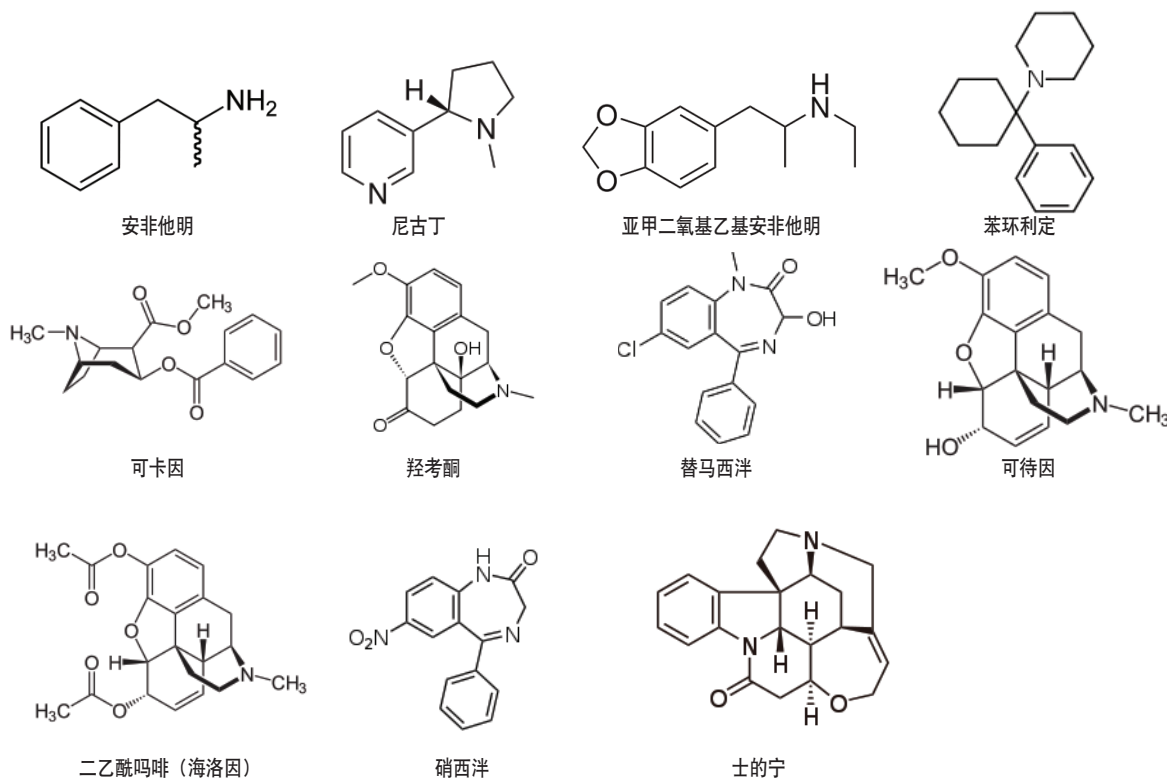


图 1. 选定碱性药物的化学结构

溶液和标样

原始校验标准品是比例为 90/5/5 的甲苯/甲醇/乙腈溶液。该空白混合溶剂由 90 毫升甲苯，5 毫升甲醇和 5 毫升乙腈来制备，并作为试剂空白。5 微克/毫升原始标准品直接进样，并用空白溶剂稀释 10 倍制成 500 纳克/毫升溶液。取 4 微升内标储备溶液加入到 1 毫升的标准品溶液中，如有需要，将样品中的内标浓度制成 2 微克/毫升。

仪器

所有测试均由配备 7683 B 自动进样器和 5975C MSD 的安捷伦 7890A 气相色谱仪完成。

表 1 列出仪器条件。表 2 列出了流路耗材。表 3 列出对 28 种目标分析物的选择离子扫描条件。

表 1. 用于碱性药物化合物测试的安捷伦 GC/MS 系统的仪器条件

| | |
|-----------|--|
| 气相色谱 | 安捷伦 7890A 系列 |
| 自动进样器 | 安捷伦 7683B, 5 微升进样针(部件号 5181-5246), 1 微升进样体积 进样前溶剂 A (90/5/5 甲苯/甲醇/乙腈)洗针: 1 样品抽取: 3 进样后溶剂 B(90/5/5 甲苯/甲醇/乙腈)洗针: 3 |
| 载气 | 氦气, 恒压 |
| 进样口 | 不分流模式: 280 度 |
| 吹扫流量 | 50 毫升/分钟, 切换模式, 保持 0.75 分钟 |
| 进样口压力 | 运行中 18.7 psi (保留时间锁定), 反吹时 1.0 psi |
| 保留时间锁定 | 普罗地芬 (SKF-525a) @ 8.569分 |
| 柱温箱升温程序 | 100 °C 保持 0.5 分, 以 20 °C/分钟的速度升至 325 °C, 保持 2.5 分 |
| 后运行 | 325 °C 保持 2 分 |
| 微板流路控制技术 | 吹扫 Ultimate 两通接头 (部件号 G3182-61580) 用于反吹分析柱和进样口 |
| 辅助 EPC 气体 | 氦气连接到吹扫 Ultimate 两通接头 |
| 辅助压力 | 运行中 4 psi, 反吹时 75 psi |
| 分析柱 | DB-5MS UI, 15 米 × 0.25 毫米, 0.25 微米 (部件号 122-5512UI) |
| 连接 | 进样口到吹扫 Ultimate 两通接头 (部件号 G3182-61580) |
| 限流器 | 惰性熔融石英毛细管, 0.65 米 × 0.15 毫米 (部件号 160-7625-5) |
| 连接 | 在吹扫 Ultimate 两通接头和 MSD 之间 |
| 质谱检测器 | 安捷伦 5975 C 配备高性能电路 |
| 真空泵 | 高性能涡轮泵 |
| 模式 | Scan/SIM |
| 调谐文件 | Atune.u |
| 发射电压 | Atune 电压 |
| 传输线温度 | 300 °C |
| 离子源温度 | 300 °C |
| 四级杆温度 | 150 °C |
| 溶剂延迟 | 1.4 分钟 |
| 扫描质量范围 | 40 – 570 amu |

表 2. 流路备件

| | |
|----------|---|
| 样品瓶 | 琥珀色螺纹口瓶 (部件号 5182-0716) |
| 样品瓶盖 | 蓝色螺纹口瓶盖 (部件号 5182-0717) |
| 样品瓶内插管 | 150 微升玻璃带塑料支脚 (部件号 5183-2088) |
| 隔垫 | 高级绿色不粘连 11 毫米隔垫 (部件号 5183-4759) |
| 垫圈 | 0.4mm 内径, 85/15 聚酰亚胺/石墨 (部件号 5181-3323) |
| O 型圈 | 不粘连衬管 O 型圈 (部件号 5188-5365) |
| 微板流路控制技术 | 吹扫 Ultimate 两通接头 (部件号 G3182-61580), 内螺母 (部件号 G2855-20530), SilTite 金属垫圈 0.10-0.25 mm 内径 (部件号 5188-5361) |
| 进样口密封垫 | 带垫片进样口分流平板密封垫 (部件号 5188-5367) |
| 进样口衬管 | 安捷伦超高惰性去活单毛细管不分流带玻璃毛衬管 (部件号 5190-2293) |

表 3. GC/MS 用于 28 种碱性药物的 SIM 采集条件

| 分析物 (色谱图上峰号) | SIM * | 保留时间 (分钟) | 采集窗口 (分钟) |
|------------------------|------------------|-----------|-------------|
| 安非他明 (1) | 44 , 91 | 1.77 | 1.4 – 2.7 |
| 芬特明 (2) | 58 , 134 | 1.96 | |
| 甲基安非他明 (3) | 58 , 91 | 2.08 | |
| 尼古丁 (4) | 84 , 133 | 3.06 | 2.7 – 3.6 |
| 亚甲二氧基安非他明 (MDA) (5) | 44 , 135 | 3.92 | 3.6 – 5.0 |
| 亚甲二氧基甲基安非他明 (MDMA) (6) | 58 , 135 | 4.27 | |
| 亚甲二氧基乙基安非他明 (MDEA) (7) | 72 , 135 | 4.57 | |
| 哌替啶 (8) | 71 , 247 | 5.63 | 5.0 – 7.0 |
| 苯环利啶 (9) | 200 , 242 | 6.49 | |
| 美沙酮 (10) | 72 , 57 | 7.72 | 7.0 – 8.9 |
| 可卡因 (11) | 182 , 82 | 8.10 | |
| 普罗地芬 (SKF-525a) (12)** | 86 , 99 | 8.57 | |
| 奥沙西洋 (13) | 239 , 267 | 8.73 | |
| 可待因 (14) | 299 , 162 | 9.01 | 8.9 – 9.5 |
| 劳拉西洋 (15) | 239 , 274 | 9.08 | |
| 安定 (16) | 256 , 283 | 9.22 | |
| 氢可酮 (17) | 299 , 242 | 9.29 | |
| 四氢大麻醇 (18) | 231 , 314 | 9.36 | |
| 羟考酮 (19) | 315 , 230 | 9.63 | 9.5 – 10.4 |
| 替马西洋 (20) | 271 , 273 | 9.87 | |
| 氟硝西洋 (21) | 312 , 286 | 9.96 | |
| 二乙酰吗啡 (海洛因) (22) | 327 , 369 | 10.02 | |
| 硝西洋 (23) | 253 , 206 | 10.62 | 10.4 – 11.6 |
| 氯硝基安定 (24) | 314 , 286 | 10.94 | |
| 阿普唑仑 (25) | 279 , 308 | 11.32 | |
| 维拉帕米 (26) | 303 , 304 | 12.03 | 11.6 – 14.0 |
| 士的宁 (27) | 334 , 335 | 12.18 | |
| 曲唑酮 (28) | 205 , 70 | 12.96 | |

* 加粗的是定量离子, 其它离子是定性离子

** 普罗地芬用于保留时间锁定

使用反吹系统，因为它能缩短含高沸点基质干扰物的分析时间、减少柱头修剪并降低 MSD 源的清洗 [3,4] 频率。仪器配置除了没有保留间隙，类似于图 1 B 中以前的配置 [4]。保留时间锁定 (RTL) 是用来消除单个保留时间和如 SIM 基团的定时间事件的再校正 [5]。

结果与讨论

试验的目的是评估使用超高惰性去活带玻璃毛衬管和 GC/MS 筛查分析滥用药物的效果。使用安捷伦法医/毒理学分析测试标准品进行评估 (见表 3)。超高惰性带玻璃毛衬管性能由色谱性能、衬管间重复性和多次进样重复性决定。同时，与来自多个来生产商的带玻璃毛衬管进行测试比较。

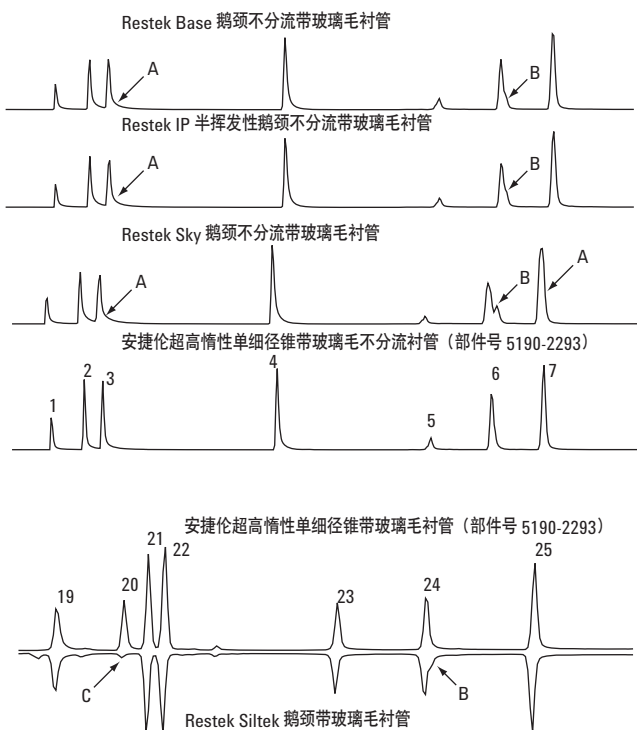


图 2. 当使用其他同等衬管时，在 GC/MS SIM 色谱图中显示的分析滥用药物化合物的色谱问题及与超高惰性带玻璃毛衬管色谱图的比较。谱峰识别见表 3，仪器条件见表 1。5 纳克测定标样进样。A) 峰展宽或峰变形，B) 鬼峰，C) 灵敏度差

色谱性能

碱性药物化合物的吸附或分解可能会导致各种色谱问题，包括峰展宽、峰变形、峰拖尾、鬼峰以及灵敏度降低。这些问题在使用检测标准品对衬管进行测试的实验中都能出现。早洗脱化合物如芬特明、甲基苯丙胺、MDA 和 MDMA 通常会出现峰形问题。由于灵敏度的降低，晚洗脱化合物如替马西洋可能消失。图 2 显示了使用类似衬管得到的问题色谱图与用带玻璃毛超高惰性衬管得到的色谱图的对比。如图 2 所示，进样 5 纳克，其他衬管去活导致如峰展宽或峰变形和响应严重降低等色谱问题。而安捷伦超高惰性去活衬管得到的相应色谱图则显示出更好的峰形及更高的响应。图 3 显示了进样 5 纳克测定标准品时，使用安捷伦超高惰性玻璃毛不分流衬管进行的 GC/MS 全色谱图。图 3 表明，带玻璃毛超高惰性衬管为所有测试的分析物提供了最好的色谱分离，即使是某些化合物也出现了小的拖尾峰或展宽。对六个超高惰性衬管进行了重复测试，每个均能提供相似的色谱性能，显示了优异的衬管间重复性。由于超高惰性衬管去活工艺为衬管和玻璃毛提供足够的惰性，因而能获得满意的色谱图，并防止滥用药物的吸附和分解。

1. 安非他明 2. 芬特明 3. 甲基安非他明 4. 尼古丁 5. 亚甲二氧基安非他明
6. 亚甲二氧基甲基安非他明 7. 亚甲二氧基乙基安非他明 8. 哌替啶 9. 苯环利啶
10. 美沙酮 11. 可卡因 12. SKF-525a 13. 奥沙西洋 14. 可待因 15. 劳拉西洋
16. 安定 17. 氢可酮 18. 四氢大麻醇 19. 羟考酮 20. 替马西洋 21. 氯硝西洋
22. 海洛因 23. 硝西洋 24. 氯硝基安定 25. 阿普唑仑 26. 维拉帕米
27. 土的宁 28. 曲唑酮

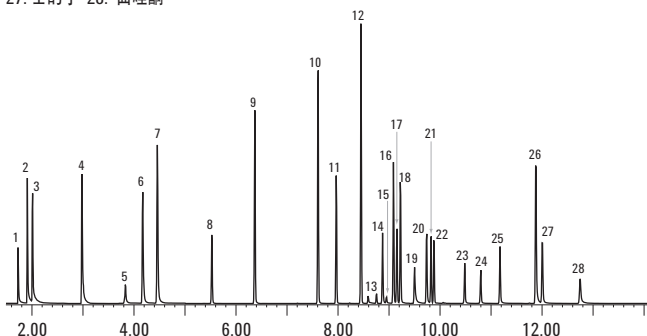


图 3. 使用带安捷伦超高惰性单细径锥不分流带玻璃毛衬管 (部件号 5190-2293) 的 GC/MS 分析法医/毒理学分析测试标样 (5 纳克测试标样进样) 的色谱图。仪器条件见表 1。所有分析物均获得了令人满意的峰形

衬管间重复性

为了定量评估衬管间的重复性，测试了四个不同批次的六根超高惰性衬管使用 5 微克/毫升和 500 纳克/毫升样品加入 2 微克/毫升内标。选择 12 种敏感化合物进行评估。计算了每个校准水平的响应因子(RFs)，平均 RF 值作为衬管间重复性测试的评估标准。见表 4，结果表明四个不同批次的六个衬管具有优异的性能一致性，RSD 小于 7%，除了替马西洋为 11.7%。

表 4. 衬管间重复性：12 种敏感碱性药物化合物在六根超高惰性去活带玻璃毛衬管（部件号 5190-2293）*上进行重复实验的平均 RF（5 微克/毫升和 500 纳克/毫升）和 RSD 值

| 化合物 | 衬管 1 (批次 1) | 衬管 2 (批次 1) | 衬管 3 (批次 1) | 衬管 4 (批次 2) | 衬管 5 (批次 3) | 衬管 6 (批次 4) | 平均 RF | RSD |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|------|
| 甲基苯丙胺 (3) | 0.875 | 0.876 | 0.882 | 0.940 | 0.955 | 0.904 | 0.905 | 3.8 |
| MDMA (6) | 0.807 | 0.789 | 0.783 | 0.848 | 0.874 | 0.841 | 0.824 | 4.4 |
| 苯环利定 (9) | 0.494 | 0.510 | 0.494 | 0.488 | 0.509 | 0.521 | 0.503 | 2.5 |
| 可卡因 (11) | 0.636 | 0.645 | 0.647 | 0.637 | 0.660 | 0.668 | 0.649 | 2.0 |
| 奥沙西洋 (13) | 0.050 | 0.055 | 0.052 | 0.055 | 0.062 | 0.057 | 0.055 | 7.6 |
| 可待因 (14) | 0.096 | 0.098 | 0.095 | 0.090 | 0.099 | 0.102 | 0.097 | 4.2 |
| 羟考酮 (19) | 0.073 | 0.071 | 0.070 | 0.076 | 0.082 | 0.080 | 0.075 | 6.5 |
| 替马西洋 (20) | 0.101 | 0.121 | 0.115 | 0.088 | 0.096 | 0.104 | 0.104 | 11.7 |
| 海洛因 (22) | 0.097 | 0.099 | 0.096 | 0.095 | 0.100 | 0.102 | 0.098 | 2.7 |
| 硝西洋 (23) | 0.038 | 0.032 | 0.037 | 0.034 | 0.037 | 0.036 | 0.036 | 6.3 |
| 氯硝西洋 (24) | 0.035 | 0.035 | 0.034 | 0.032 | 0.034 | 0.033 | 0.034 | 3.5 |
| 曲唑酮 (28) | 0.061 | 0.065 | 0.064 | 0.058 | 0.060 | 0.064 | 0.062 | 4.4 |

$$* RF = \frac{\text{峰面积}_{\text{分析物}} \times \text{浓度}_{\text{内标物}}}{\text{峰面积}_{\text{内标物}} \times \text{浓度}_{\text{分析物}}}$$

进样重复性和去活稳定性

通过连续 50 次进样 1 微升 0.5 微克/毫升的标准品测试多次进样重复性和去活稳定性。每 10 次进样后收集数据并计算 RF 值。50 次进样后计算 RSD 值。表 5 显示所有碱性药物分析物 0.5 纳克的 RSD 值。

由于在低浓度时的偏差比高浓度时的更大，因此使用 0.5 ng 柱上样量进行重复性测试。分析物的较高响应能隐藏一些偏差影响而产生较好的重现性。28 种分析物中有 22 种的 50 次标准品溶液进样表现出优异的重现性，其 RSD 小于 20%。5 种具有相对高的 RSD（20 - 25% 之间），但是在 0.5 纳克进样水平上仍然是可接受的。替马西洋是一种极难分析的化合物，对于衬管惰性极度敏感。

表 5. 去活稳定性：所有被测试的碱性药物化合物使用安捷伦超高惰性去活带玻璃毛衬管（部件号 5190-2293）进行 0.5 纳克标准品的 50 次进样重复性实验 (%RSD) (n = 3)

| 化合物 | RSD (%) 50 次进样 | 化合物 | RSD (%) 50 次进样 |
|------------|-------------------|-------|-------------------|
| 安非他明 | 0.3 | 劳拉西洋 | 20.9 |
| 芬特明 | 1.1 | 安定 | 3.7 |
| 甲基苯丙胺 | 1.5 | 氢可酮 | 3.7 |
| 尼古丁 | 2.3 | 四氢大麻酚 | 8.5 |
| 亚甲二氧基苯丙胺 | 3.7 | 羟考酮 | 22.2 |
| 亚甲二氧基甲基苯丙胺 | 2.2 | 替马西洋 | 59.9 |
| 亚甲二氧基乙基苯丙胺 | 2.0 | 氟硝西洋 | 8.7 |
| 哌替啶 | 1.9 | 海洛因 | 10.7 |
| 苯环利定 | 15.6 | 硝西洋 | 11.2 |
| 美沙酮 | 3.4 | 氯硝西洋 | 12.0 |
| 可卡因 | 7.8 | 阿普唑仑 | 13.1 |
| 普罗地芬 | 4.4 | 维拉帕米 | 15.4 |
| 奥沙西洋 | 20.4 | 士的宁 | 11.0 |
| 可待因 | 20.5 | 曲唑酮 | 23.6 |

如图 2 所示，当使用一个效率低下去活衬管时，替马西洋（5 纳克柱上进样）的响应几乎消失。图 4 可以清楚地看到，与其它相似衬管比较，安捷伦超高惰性带玻璃毛衬管对替马西洋有最高的 RF。这表明安捷伦超高惰性带玻璃毛衬管比竞争对手的同等衬管具有最高的惰性。

超高惰性衬管和其他同等衬管之间的替马西洋响应比较

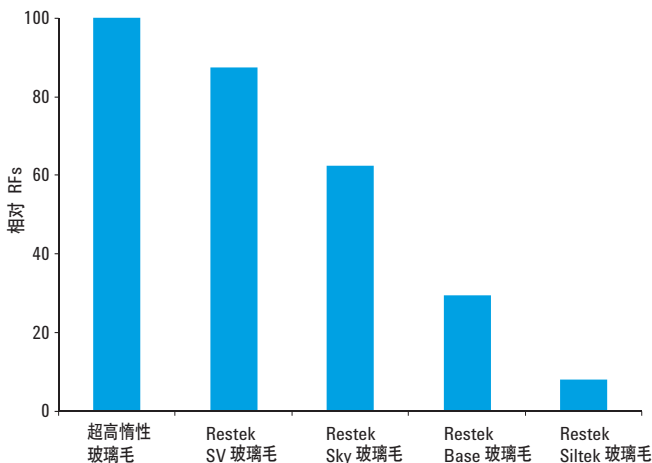


图 4. 超高惰性带玻璃毛衬管（部件号 5190-2293）和其他同等衬管之间的敏感化合物（替马西洋）响应比较，RF 计算是基于 0.5 纳克和 5 纳克标样进样的平均 RF 值。超高惰性衬管平均 RF 值设定为 100%，其它衬管的平均 RF 值按比例显示

随着样品进样量的增加，替马西洋的响应降低，这样产生了高的进样 RSD。这种现象在所有的测试衬管中都存在，并且其它衬管响应降低的更为明显。当替马西洋是目标分析物且浓度在 ppb 水平时，强烈推荐超高性能带玻璃毛衬管，且每根衬管的分析不能超过 30 个样品。

真正的基质样品分析

所有用于 GC/MS 分析的全血提取物由 NMS 实验室 (Willow Grove, PA) 提供。全血样品通过溶液的液/液萃取、蒸发干燥及以 1/10 的体积再溶解于甲苯中制成。图 5 显示使用安捷伦超高性能带玻璃毛衬管的 GC/MS 分析 2 ppm 基质加入样品中的色谱图，对于早洗脱化合物的峰形和晚洗脱化合物的灵敏度能令人满意。有一些来自于基质的小干扰峰出现。

结论

安捷伦超高性能带玻璃毛衬管对碱性滥用药物的分析表现出了优异的惰性。超高性能带玻璃毛衬管为选定常见和复杂的碱性药物化合物提供了满意的色谱分析结果。衬管间性能表现出了优异的重复性，这些活性化合物 RF 值的平均 RSD 为 5%。由于玻璃毛的去活效率和耐用性很高，使安捷伦超高性能带玻璃毛衬管为法医和毒理学筛查提供了卓越的惰性。获得了由带玻璃毛衬管提供的诸如均一的样品混合和汽化、非挥发性残留物捕集以及对色谱

柱和检测器的保护等优点，而不损害色谱或活性分析物的灵敏度。超高性能带玻璃毛衬管是用于滥用药物筛查分析的最佳选择。

参考

- [1] B. Quimby, “使用带 725 个化合物 DRS 数据库的 GC/MS/NPD 系统提高法医毒理学筛查效率” 安捷伦科技公司出版号 5989-8582CHCN
- [2] N. Seyhan 和 D.C. Ege, “有机化学” 健康和公司, 1984, 124-136 页
- [3] M. Szelewski 和 B. Quimby, “复杂基质样品中快速检测农药的新手段”, 安捷伦科技公司出版号 5989-1716CHCN
- [4] P. Wylie 和 C. Meng, “安捷伦三重四级杆 GC/MS/MS 分析 175 种农药残留”, 安捷伦科技公司出版号 5990-3578CHCN
- [5] V. Giarocco, B. Quimby, “保留时间锁定: 概念和应用”, 安捷伦科技出版号, 5966-2469CHCN

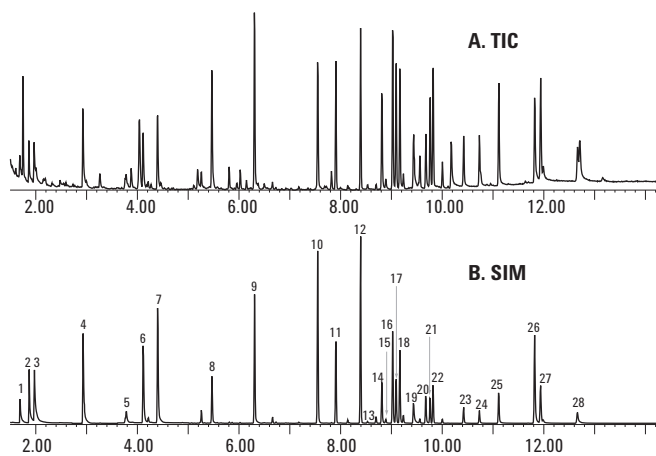


图 5. 使用带安捷伦超高性能单锥径锥不分流带玻璃毛衬管 (部件号 5190-2293) 的 GC/MS 分析带全血基质的法医/毒理学分析检测标准品 (2 纳克进样) 的色谱图。表 1 是仪器条件, 表 3 是色谱峰识别。A) 全扫描色谱图, B) SIM 色谱图。所有分析物均获得了满意的峰形和响应

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中可能出现的错误, 或由于提供、展示或使用本资料所造成的直接或间接损失不承担任何责任。

本文涉及的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2011
2011 年 3 月 25 日 中国印刷
5990-7596CHCN



Agilent Technologies