

Gas Chromatography/ Mass Spectrometry

Author

Timothy D. Ruppel

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT 06484 USA



GC/MS 检测尿液中的 苯环己哌啶 (PCP)



简介

美国卫生与公众服务部 (DHHS) 与精神卫生管理局 (SAMHSA) 规定尿液的测试程序。强制性的准则要求一个实验室在报道一个尿样为阳性前必须进行对样品进行初测和复测两次分析测试。初测是对五种化合物进行免疫塞查 (分别是: 安非他命, 可卡因, 鸦片, 苯环己哌啶和大麻)。免疫塞查包括了放射免疫检定法 (RIA), 酶免疫分析法以及其他相关方法。

免疫筛查成阳性的样品在定儿子检测中将进行色谱分离和质谱鉴定。SAMHSA 规定 PCP 的限值为 25ng/ml。

尿液检测的一般流程分为如下七个步骤：

1. 在尿样中加入氘代的内标化合物；
2. 调节尿液的 pH 值；
3. 水解尿液（只针对鸦片和大麻）；
4. 通过固相微萃取小柱（SFE）提取目标化合物，蒸干；
5. 衍生化提取液（除了 PCP），蒸干；
6. 用有机溶剂溶解提取物；
7. 取 1-3 μ l 注入气质联用仪，用三个离子对目标化合物进行定性及定量检测。

玻璃器皿

所有的玻璃器皿，包括自动进样器的进样小瓶和小体积内置瓶都必须经过硅烷化处理，以防止样品吸附。

所有的玻璃器皿用 10% 的二甲基二氯硅烷甲苯溶液浸泡 10min，再先后用甲醇和正己烷冲洗，最后吹干备用。

试剂试样

乙酸，100 mM=2.86ml 冰醋酸溶解于 500ml 去离子水中。

磷酸盐缓冲液，100 mM pH6=1.7g
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12.14\text{gNaH}_2\text{PO}_4$ （调低 pH 值）。

二氯甲烷 / 异丙醇 / 氢氧化铵 (78:20:2) 萃取液 =40ml 异丙醇 +4ml 氢氧化铵 +156ml 二氯甲烷，临用现配。

标准品和氘代内标物由 Cerillant®(Round Rock, TX) 提供。

内标物为：d5-PCP

仪器

气相色谱仪：PerkinElmer®Clarus®680 GC。

进样口：毛细管进样口，压力脉冲不分流进样，进样口温度：250°C。

进样口衬管：Siltek™带玻璃毛（货号为 N6502010）。

氦气柱流速：2ml/min。

柱温：100°C 保持 0.5min 然后以 20°C /min 升到 310°C，保持 4min。

压力脉冲不分流进样

这个过程是在进样的过程中提高进样压力，以将更多的样品在短时间内推入到色谱柱中，然后降低压力以维持正常色谱分离流量。这个过时的通过以下时间事件来完成的：

CAR2 5 mL/min -0.71 min（进样前升高压力）。

SPL2 0 -0.70 min（关闭进样口做不分流进样）。

CAR2 2 mL/min 0.7 min（进样后恢复正常流量）。

SPL2 50 0.8 min（进样后打开分流口）。

质谱仪 PerkinElmer Clarus SQ 8 GC/MS，具有 255L/S 分子涡轮泵，EI 源。

所有数据采用选择离子模式（SIM），每个离子扫描时间为 20-30ms。

选择一个主要离子进行定性定量检测。量选择两个附加离子辅助进行定性检测。

与标准库相比，三个检测离子色谱图中顶点保留时间数不得超过 ± 2 scans。离子丰度比误差不得超过 20%。氘代内标物可以用两个离子，分别为一个定量主离子和两个定性离子。

SIM 离子：PCP：200,242,186
d5-PCP：205,248
RT: 5.17min

固相萃取

目标化合物是通过固相萃取（SPE）从尿液中提取得到的。化合物在尿液通过固相柱时被吸附保留在固定相上，然后冲洗固定相以洗脱盐分和其他杂质。最后用更强洗脱能力的溶液洗脱下目标化合物。固相萃取柱为：C18-S 200mg/3ml 50u（CAT.NO.N9306462）。

试验

萃取：1-2ml 尿液 +ISTD+2ml 100 mM 磷酸盐缓冲液（pH6）。

SPE 柱提取：用 3ml 甲醇冲洗小柱，然后用 3ml 去离子水，最后用 1ml 磷酸盐缓冲液（pH6）。

提取样品：用 3ml 去离子水冲洗小柱，然后用 1ml 1Mm 乙酸溶液冲洗，最后用 1ml 甲醇。

洗脱：用二氯甲烷 / 异丙醇 / 氢氧化铵（78:20:2）萃取

液洗脱，并用锥形瓶收集洗脱液。

在 50 °C 以下蒸干，检测 PCP 不需要进行衍生。用 100 μL 乙酸乙酯溶解后转移到小体积进样平内衬管中，进样 1 μL。

线性范围

10% 限度 (2.5ng/ml) ， 40% 限度 (10ng/ml) ，
100% 限度 (25ng/ml) ， 125% 限度 (31.25ng/ml) ，
500% 限度 (125ng/ml) ， 1000% 限度 (250ng/ml) 。

结果

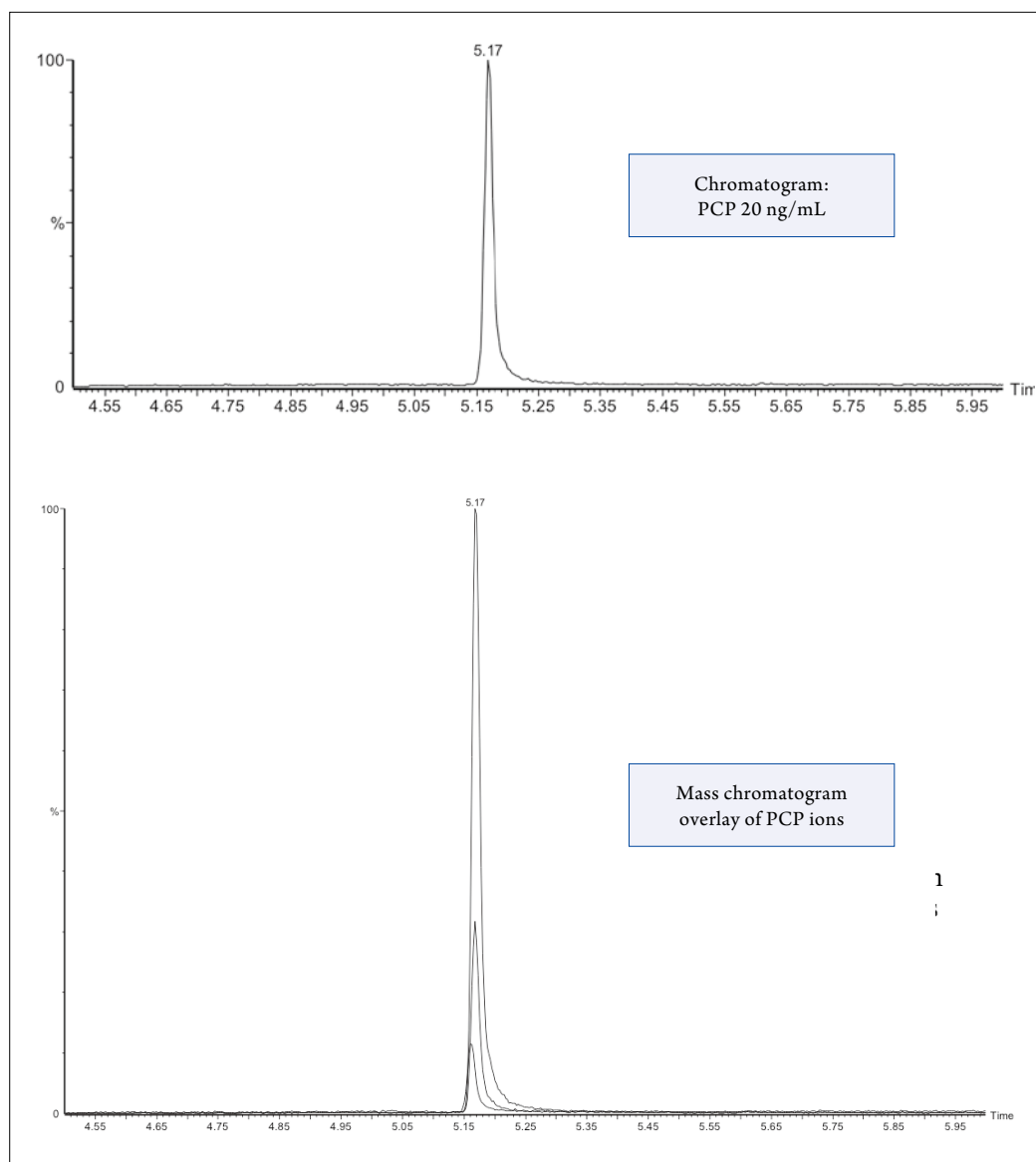


Figure 1. Top: Full scan chromatogram for PCP. Bottom: Three ion ratio for PCP.

定量限：2.5ng/ml (1ml 尿液)

检测限：小于 1.0ng/ml (1ml 尿液)

线性相关系数 (R2) 大于 0.999 范围 2.5ng/ml-250ng/ml

结论

本应用采用 GC/MS 对尿液中 PCP 进行分析，测得定量限为 2.5ng/ml，检测限为小于 1.0ng/ml。官方实验室可以采用相同的方法对样品进行非标准检测。快速样品检测可以通过采用更短的气相色谱柱，更快的流速，更短的冷却时间和自动进样器提前预洗涤控制来实现。

珀金埃尔默公司的 Clarus SQ 8 GC/MS 系统在选择离子模式中提供了高灵敏度的可靠的结果。Turbomass GC/MS 软件按要求可以提供三个离子的检测数据的检测报告模板，简单易懂。

图二是一个样品定制化的三离子比报告。

参考文献

1. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 8th Ed, Randall C. Baselt, Biomedical Publications, 2008.
2. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, 73Fed Reg, 71857 (Nov 25, 2008).
3. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, 75Fed Reg, 22809 (April 30, 2010).
4. Pierce® Catalog (Rockford, IL).

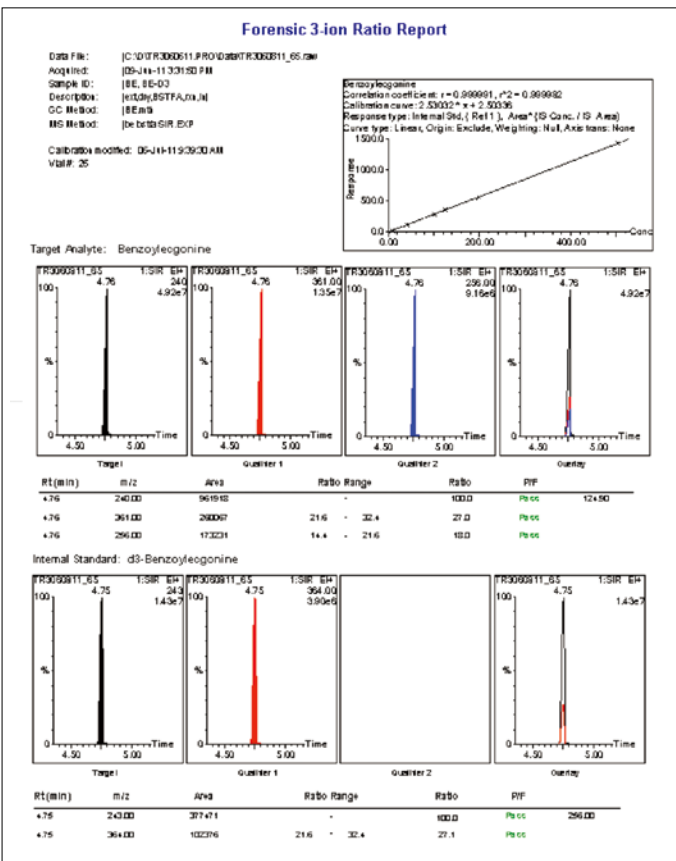


Figure 2. Three ion ratio report for PCP.

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司
地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号
邮编：201203
电话：021-60645888
传真：021-60645999
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。