



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108732292 A

(43)申请公布日 2018. 11. 02

(21)申请号 201810390239.2

(22)申请日 2018.04.27

(71)申请人 中国人民解放军第二军医大学
地址 200433 上海市杨浦区翔殷路800号
申请人 上海交通大学医学院附属第九人民
医院

(72)发明人 亓云鹏 朱青霞 张天 吴泽兵
陆峰

(74)专利代理机构 上海德昭知识产权代理有限
公司 31204
代理人 郁旦蓉

(51) Int. Cl.
G01N 30/90(2006.01)
G01N 21/65(2006.01)

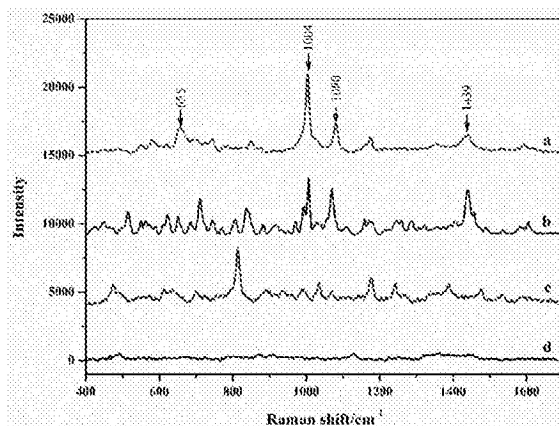
权利要求书2页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

血浆中舒芬太尼的快速检测方法及其装置

(57)摘要

本发明提供了一种血浆中舒芬太尼的快速检测方法,包括如下步骤:步骤S1,对待测血浆预处理得到待测血浆样品;步骤S2,制备标准溶液及模拟血浆样品;步骤S3,分别吸取待测血浆样品、模拟血浆样品及标准溶液并点于同一硅胶板上;步骤S4,对硅胶板上的待测血浆样品、模拟血浆样品及标准溶液进行展开、晾干及碘缸显色;步骤S5,在待测血浆样品和模拟血浆样品的舒芬太尼斑点处分别滴加预定量的银胶;步骤S6,对滴加了银胶的斑点处进行表面增强拉曼散射检测;步骤S7,计算待测血浆样品中的舒芬太尼浓度,其中,步骤S3中待测血浆样品、模拟血浆样品及标准溶液的吸取量为1 μ L,步骤S5中银胶预定量为5 μ L,该银胶中包含平均粒径为50nm的纳米银粒子。



1. 一种血浆中舒芬太尼的快速检测方法,用于对待测血浆中的舒芬太尼含量进行检测,其特征在于,包括如下步骤:

步骤S1,对所述待测血浆进行预处理得到待测血浆样品;

步骤S2,制备舒芬太尼溶液作为标准溶液,并将舒芬太尼加入空白血浆样品制备得到含有舒芬太尼的模拟血浆样品;

步骤S3,分别吸取所述待测血浆样品、所述模拟血浆样品及所述标准溶液并点于同一硅胶板上;

步骤S4,采用二氯甲烷-甲醇作为展开剂对所述硅胶板上的所述待测血浆样品、所述模拟血浆样品及所述标准溶液进行展开、晾干及碘缸显色;

步骤S5,参照所述标准溶液中舒芬太尼斑点的位置确定所述待测血浆样品和所述模拟血浆样品中舒芬太尼的斑点位置,在所述待测血浆样品和所述模拟血浆样品的舒芬太尼斑点处分别滴加预定量的银胶;

步骤S6,对滴加了所述银胶的所述斑点处进行表面增强拉曼散射检测并对检测得到的光谱信号进行分析处理,得到所述待测血浆样品和所述模拟血浆样品中的舒芬太尼特征峰及其强度;

步骤S7,根据所述模拟血浆样品中舒芬太尼的特征峰强度与舒芬太尼浓度的关系计算得到所述待测血浆样品中的舒芬太尼浓度,

其中,步骤S3中的所述待测血浆样品、所述模拟血浆样品以及所述标准溶液的吸取量为 $1\mu\text{L}$,

步骤S5中所述银胶的所述预定量为 $5\mu\text{L}$,该银胶中包含平均粒径为 50nm 的纳米银粒子。

2. 根据权利要求1所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,步骤S5的所述银胶采用如下方法制备得到:

称取硝酸银 34mg 溶于 200mL 水中得到硝酸银溶液;

将所述硝酸银溶液加热回流冷凝至微沸,然后加入 6mL 质量百分数为 1% 的柠檬酸三钠溶液形成混合溶液;

保持加热直至所述混合溶液的颜色由无色透明变为浅黄并进一步变为浅灰色同时略显绿色,变色后继续加热 30min ,停止加热;

对所述混合溶液进行水浴冷却,得到所述银胶。

3. 根据权利要求1所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,步骤S6中所述表面增强拉曼散射检测的条件为激光功率 100mW 、积分时间 5S 、显微系统放大倍数 20 。

4. 根据权利要求1所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,步骤S6中对所述光谱信号进行的所述分析处理为:选取所述光谱信号的 $300-1700\text{cm}^{-1}$ 进行平滑、基线校正和归一化处理,对处理后的光谱信号进行作图得到与所述光谱信号相对应的SERS图谱,

所述舒芬太尼特征峰强度为所述SERS图谱中 1004cm^{-1} 处的特征峰的强度。

5. 根据权利要求1所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,步骤S2的所述预处理方法为:取所述待测血浆或所述模拟血浆作为待处理血浆,按照体积比 $1:2$ 加入乙腈,涡旋振荡 1min 后在 13000rpm 条件下离心 10min ,取离心后的上清

液于氮吹仪25℃条件下吹干,然后加入与所述待处理血浆同体积的甲醇进行复溶,得到对应的血浆样品。

6. 根据权利要求1所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,所述模拟血浆为多个且分别含有不同浓度的舒芬太尼,所述模拟血浆中含有的舒芬太尼含量范围为0.85-85.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

7. 根据权利要求6所述的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,其特征在于:

其中,步骤S7中的所述计算方法为:建立所述模拟血浆样品中舒芬太尼SERS图谱中1004 cm^{-1} 处的特征峰的强度与舒芬太尼浓度的线性关系,并据此计算得到待测血浆样品中的舒芬太尼浓度。

8. 一种血浆中舒芬太尼的快速检测装置,用于对待测血浆中的舒芬太尼含量进行检测,其特征在于,包括:

预处理单元,用于对所述待测血浆进行预处理从而得到待测血浆样品;

检测试剂盒,含有用于作为标准溶液的舒芬太尼溶液、用于作为含量计算对照并且含有舒芬太尼的模拟血浆样品、用于让所述标准溶液、所述模拟血浆样品及所述待测血浆样品进行点样的硅胶板、用于对点样后的所述硅胶板进行展开的展开缸和用于显色的碘缸,以及用于对展开后的舒芬太尼斑点进行光谱增强的银胶;

拉曼光谱检测单元,用于对滴加了所述银胶的所述舒芬太尼斑点进行表面增强拉曼散射检测并对检测得到的光谱信号进行分析处理,得到所述模拟血浆样品及所述待测血浆样品中的舒芬太尼特征峰及其强度;以及

光谱分析单元,用于根据所述模拟血浆样品及所述待测血浆样品中的舒芬太尼特征峰强度计算得到所述待测血浆样品中的舒芬太尼浓度,

其中,所述银胶中包含平均粒径为50nm的纳米银粒子,

所述检测试剂盒还包含用于在点样时吸取所述标准溶液的标准吸取器、用于在点样时吸取所述待测血浆样品的样品吸取器以及用于在滴加所述银胶时吸取所述银胶的银胶吸取器,

所述标准吸取器及所述样品吸取器的吸取量均为1 μL ,所述银胶吸取器的吸取量为5 μL 。

血浆中舒芬太尼的快速检测方法及装置

技术领域

[0001] 本发明涉及舒芬太尼的检测方法,具体涉及一种血浆中舒芬太尼的快速检测方法及装置。

背景技术

[0002] 舒芬太尼(sufentanil)是芬太尼类衍生物,化学名为N-[4-(甲氧甲基)-1-2[2-(2-噻吩基)乙基]-4-哌啶基]-N-苯丙酰胺,其脂溶性是吗啡的1100倍,极易透过血脑屏障,并能迅速在脑内达到有效浓度,镇痛作用约为芬太尼的5-10倍、吗啡的300-400倍,是目前镇痛作用最强的阿片类镇痛药,在临床上广泛应用于全身麻醉诱导、术中维持以及术后镇痛等。

[0003] 舒芬太尼适合各科手术的麻醉,但由于病人存在个体差异,舒芬太尼的用量应根据患者反应及时进行调整,以免发生毒副反应,比如应用大剂量舒芬太尼时可发生长时间的呼吸抑制(舒芬太尼药理作用与临床应用,裴皓,罗爱林,医药导报,2009年11月,1482页),因此需要对血浆等生物样品中的舒芬太尼进行浓度检测。此外,医务工作者长期在病房或手术室中工作,可能通过病人呼出的气体接触到芬太尼类药物,并由此导致阿片敏感或成瘾的症状(Mcauliffe P F,Gold M S,Bajpai L,et al.Second-hand exposure to aerosolized intravenous anesthetics propofol and fentanyl may cause sensitization and subsequent opiate addiction among anesthesiologists and surgeons[J].Med Hypotheses.2006,66(5):874-882.)。因此,对血浆等生物样品中的舒芬太尼进行浓度检测,特别是开发快速、灵敏的体内芬太尼类化合物的现场检测方法,不仅对于该药物的临床用药具有重要的指导作用,而且对于特殊情况下该类化合物的及时筛查和后续的医疗救治均有重要意义。

[0004] 目前,舒芬太尼的检测方法主要有高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)等。上述方法灵敏度较高,但仪器复杂、使用成本较高、检测速度较慢,因而不适用于现场的快速检测。

[0005] 薄层色谱法(Thin-Layer Chromatography,TLC)是一种经典的分离分析方法,已被广泛应用于药物的定性、定量检测。表面增强拉曼散射(Surface enhanced Raman Scattering,SERS)因其灵敏度高、特征性强、检测时间短的优势而在许多研究领域得到应用。TLC-SERS联用技术具有分析周期短、特征性强的优势,已被用于环境污染的现场检测、中药掺伪的检测、中药添加化药的检测、违禁药品检测、痕量毒品检测和生化战剂检测、临床药物监测等多个领域。TLC-SERS技术中的光谱信号检测可以采用手持式拉曼光谱仪进行,使得检测装置整体更为便携,因而TLC-SERS非常适合用于现场检测。但是,目前尚未见用TLC-SERS技术对血浆中舒芬太尼进行现场检测的方法。

发明内容

[0006] 为解决上述问题,提供一种能够快速、准确地检测血浆中舒芬太尼含量的方法及

装置,本发明的发明人在探索相关检测方法及条件的基础上,提出了如下技术方案:

[0007] 本发明提供了一种血浆中舒芬太尼的快速检测方法,用于对待测血浆中的舒芬太尼含量进行检测,其特征在于,包括如下步骤:步骤S1,对待测血浆进行预处理得到待测血浆样品;步骤S2,制备舒芬太尼溶液作为标准溶液,并将舒芬太尼加入空白血浆样品制备得到含有舒芬太尼的模拟血浆样品;步骤S3,分别吸取待测血浆样品、模拟血浆样品及标准溶液并点于同一硅胶板上;步骤S4,采用二氯甲烷-甲醇作为展开剂对硅胶板上的待测血浆样品、模拟血浆样品及标准溶液进行展开、晾干及碘缸显色;步骤S5,参照标准溶液中舒芬太尼斑点的位置确定待测血浆样品和模拟血浆样品中舒芬太尼的斑点位置,在待测血浆样品和模拟血浆样品的舒芬太尼斑点处分别滴加预定量的银胶;步骤S6,对滴加了银胶的斑点处进行表面增强拉曼散射检测并对检测得到的光谱信号进行分析处理,得到待测血浆样品和模拟血浆样品中的舒芬太尼特征峰及其强度;步骤S7,根据模拟血浆样品中舒芬太尼的特征峰强度与舒芬太尼浓度的关系计算得到待测血浆样品中的舒芬太尼浓度,其中,步骤S3中的待测血浆样品、模拟血浆样品以及舒芬太尼标准溶液的吸取量为 $1\mu\text{L}$,步骤S5中银胶的预定量为 $5\mu\text{L}$,该银胶中包含平均粒径为 50nm 的纳米银粒子。

[0008] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,步骤S5的银胶采用如下方法制备得到:称取硝酸银 34mg 溶于 200mL 水中得到硝酸银溶液;将硝酸银溶液加热回流冷凝至微沸,然后加入 6mL 质量百分数为 1% 的柠檬酸三钠溶液形成混合溶液;保持加热直至混合溶液的颜色由无色透明变为浅黄并进一步变为浅灰色同时略显绿色,变色后继续加热 30min ,停止加热;对混合溶液进行水浴冷却,得到银胶。

[0009] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,步骤S6中表面增强拉曼散射检测的条件为激光功率 100mW 、积分时间 5S 、显微系统放大倍数 20 。

[0010] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,步骤S6中对光谱信号进行的分析处理为:选取光谱信号的 $300-1700\text{cm}^{-1}$ 进行平滑、基线校正和归一化处理,对处理后的光谱信号进行作图得到与光谱信号相对应的SERS图谱,舒芬太尼特征峰强度为SERS图谱中 1004cm^{-1} 处的特征峰的强度。

[0011] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,步骤S2的预处理方法为:取待测血浆或模拟血浆作为待处理血浆,按照体积比 $1:2$ 加入乙腈,涡旋振荡 1min 后在 13000rpm 条件下离心 10min ,取离心后的上清液于氮吹仪 25°C 条件下吹干,然后加入与待处理血浆同体积的甲醇进行复溶,得到对应的血浆样品。

[0012] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,模拟血浆为多个且分别含有不同浓度的舒芬太尼,模拟血浆中含有的舒芬太尼含量范围为 $0.85-85.00\mu\text{g/mL}$ 。

[0013] 本发明提供的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,还可以具有这样的技术特征,其中,步骤S7中的计算方法为:建立模拟血浆样品中舒芬太尼SERS图谱中 1004cm^{-1} 处的特征峰的强度与舒芬太尼浓度的线性关系,并据此计算得到待测血浆样品中的舒芬太尼浓度。

[0014] 本发明还提供了一种血浆中舒芬太尼的快速检测装置,用于对待测血浆中的舒芬太尼含量进行检测,其特征在于,包括:预处理单元,用于对待测血浆进行预处理从而得到待测血浆样品;检测试剂盒,含有用于作为标准溶液的舒芬太尼溶液、用于作为含量计算对

照并且含有舒芬太尼的模拟血浆样品、用于让标准溶液、模拟血浆样品及待测血浆样品进行点样的硅胶板、用于对点样后的硅胶板进行展开的展开缸和用于显色的碘缸,以及用于对展开后的舒芬太尼斑点进行光谱增强的银胶;拉曼光谱检测单元,用于对滴加了银胶的舒芬太尼斑点进行表面增强拉曼散射检测并对检测得到的光谱信号进行分析处理,得到模拟血浆样品及待测血浆样品中的舒芬太尼特征峰及其强度;以及光谱分析单元,用于根据模拟血浆样品及待测血浆样品中的舒芬太尼特征峰强度计算得到待测血浆样品中的舒芬太尼浓度,其中,银胶中包含平均粒径为50nm的纳米银粒子,检测试剂盒还包含用于在点样时吸取标准溶液的标准吸取器、用于在点样时吸取待测血浆样品的样品吸取器以及用于在滴加银胶时吸取银胶的银胶吸取器,标准吸取器及样品吸取器的吸取量均为1 μ L,银胶吸取器的吸取量为5 μ L。

[0015] 发明作用与效果

[0016] 根据本发明提供的血浆中舒芬太尼的检测方法,由于采用了含有平均粒径为50nm的纳米银粒子的银胶作为增强试剂,该银胶对舒芬太尼的特征峰具有良好的信号增强作用,并且在舒芬太尼的特征峰处不产生信号,因此使得TLC-SERS法能够应用于血浆中舒芬太尼的快速检测。本发明中,由于采用的点样量为1 μ L,采用了含有平均粒径为50nm的纳米银粒子的银胶且该银胶的滴入量为5 μ L,因此能够使得与待测物发生相互作用的纳米银粒子的量适当,起到更为理想的信号增强作用。

附图说明

[0017] 图1是本发明实施例的银胶的紫外-可见光谱图;

[0018] 图2是本发明实施例的银胶的扫描电子显微镜图;

[0019] 图3为本发明实施例的薄层色谱展开结果图;

[0020] 图4为本发明实施例的样品检测结果示意图;

[0021] 图5为本发明实施例的含不同浓度舒芬太尼的血浆样品的表面增强拉曼光谱检测限结果图;

[0022] 图6是本发明实施例的舒芬太尼浓度-信号强度标准曲线。

具体实施方式

[0023] 以下结合实施例来说明本发明的具体实施方式。下述实施例中,所采用的拉曼光谱仪为BWS415-785H型便携式拉曼光谱仪,其激发光源785nm、分辨率3.5 cm^{-1} @912nm、光谱范围175-2700 cm^{-1} ,配备BAC151视频显微拉曼检测系统(目镜 \times 20);薄层板为涂层厚度0.2mm-0.25mm、硅胶粉粒度(8 \pm 2) μm \geq 80%的硅胶板。另外,实施例中所采用的试剂如无特殊说明均从一般商业途径获得,未注明的实验条件均参经常规实验条件或遵照供应商建议的条件。

[0024] <实施例>

[0025] 1. 试剂制备与配制

[0026] 1.1 银胶制备

[0027] 本实施例中所采用的银胶中含有平均粒径为50nm的纳米银粒子,该银胶参考现有技术(即Lee法)制得,制备方法具体如下:

[0028] 称取硝酸银34mg溶于200mL水中得到硝酸银溶液,将该硝酸银溶液加热回流冷凝至微沸,然后加入6mL质量百分数为1%的柠檬酸三钠溶液形成混合溶液。保持对混合溶液加热,直至混合溶液的颜色由无色透明变为浅黄并进一步变为浅灰色同时略显绿色,变色后继续加热30min,停止加热,随后对混合溶液进行水浴冷却,即得含有纳米银粒子的银胶,置250mL棕色瓶中于4℃保存待用。

[0029] 图1是本发明实施例的银胶的紫外-可见光谱图,图2是本发明实施例的银胶的扫描电子显微镜图。

[0030] 如图1所示,银胶的最大吸收峰为414nm处,且半峰宽较窄,说明银胶粒子分散均匀。如图2所示,纳米银粒子的形态饱满、大小均一,无成堆或黏连,并且平均粒径约为50nm左右。

[0031] 1.2储备液和标准溶液的配制

[0032] 精密称量舒芬太尼对照品适量,以甲醇配制成浓度为3.4mg/mL的储备液。取上述储备液适量,用甲醇分别稀释成浓度为1.7mg/mL、850.0μg/mL、425.0μg/mL、212.5μg/mL、85.0μg/mL、42.5μg/mL、8.5μg/mL的一系列溶液作为标准溶液,于4℃保存备用。

[0033] 2.检测方法

[0034] 本实施例中的检测方法采用TLC-SERS进行,主要包括如下步骤。

[0035] 步骤S1,对待测血浆进行预处理得到待测血浆样品;步骤S2,制备舒芬太尼溶液作为标准溶液,并将舒芬太尼加入空白血浆样品制备得到含有舒芬太尼的模拟血浆样品。

[0036] 本实施例采用空白血浆(即不含有舒芬太尼的大鼠空白血浆)进行预处理,并在预处理后的空白血浆样品中加入舒芬太尼标准溶液从而得到模拟血浆样品。另外,实施例中的待测血浆样品也采用了模拟血浆样品代替。

[0037] 其中,空白血浆的预处理方法为:取血浆适量,按体积比为1:2加入乙腈,涡旋振荡1min,13000rpm离心10min,去除蛋白后取全部上清液于氮吹仪下25℃吹干,再加入与空白血浆同体积的甲醇复溶,得到空白血浆样品。

[0038] 之后分别向空白血浆样品中加入适量舒芬太尼标准溶液,配制成舒芬太尼终浓度为340.00μg/mL、170.00μg/mL、85.00μg/mL、42.50μg/mL、21.25μg/mL、8.50μg/mL、4.25μg/mL、0.85μg/mL的一系列溶液作为不同浓度的模拟血浆样品,于4℃保存备用。

[0039] 步骤S3,分别吸取模拟血浆样品及标准溶液,并点于同一硅胶板上。

[0040] 步骤S4,采用二氯甲烷-甲醇作为展开剂对硅胶板上的舒芬太尼标准溶液及模拟血浆样品进行展开,展开后将硅胶板取出晾干,并置于碘缸中显色。

[0041] 步骤S5,参照标准溶液中舒芬太尼斑点的位置确定模拟血浆样品中舒芬太尼的斑点位置,然后在模拟血浆样品的舒芬太尼斑点处分别滴加预定量的银胶。

[0042] 本实施例中,为考察银胶滴加量的影响分别进行了不同滴加量的实验,其银胶滴加量分别为1μL、5μL、10μL。

[0043] 步骤S5,对滴加了银胶的斑点处进行表面增强拉曼散射检测(以下简称SERS)并对检测得到的光谱信号进行分析处理,得到模拟血浆样品中的舒芬太尼特征峰及其强度。本实施例中,上述SERS采用便携式拉曼光谱仪进行,其检测条件为激光功率100mW、显微系统放大倍数20。

[0044] 另外,对于便携式拉曼光谱仪检测得到的光谱信号,本实施例采用了OPUS 5.0和

Matlab 13.0软件对所得光谱进行处理,选取光谱波段 $300-1700\text{cm}^{-1}$ 用于光谱分析(300cm^{-1} 之前有纳米银信号干扰, 1700cm^{-1} 后几乎无光谱特征),对光谱进行平滑(Sgolay法)、基线校正(airPLS法)和归一化(Min-Max Normalization法)处理,并用Origin 8.5版软件作图,从而得到与各个标准溶液或模拟血浆样品分别对应的拉曼光谱。

[0045] 步骤S6,建立模拟血浆样品中舒芬太尼的 1004cm^{-1} 特征峰强度与舒芬太尼浓度的线性关系,并据此计算得到待测血浆样品中的舒芬太尼浓度。

[0046] 3.条件考察

[0047] 3.1薄层色谱条件的考察

[0048] 采用不同比例的二氯甲烷-甲醇作为步骤S3中的展开体系,对比不同比例的二氯甲烷-甲醇的分离效果,得出最佳的二氯甲烷-甲醇比例为9:1.2。

[0049] 图3为本发明实施例的薄层色谱展开结果图。其中,条带1为舒芬太尼标准溶液,条带2为血浆样品。

[0050] 如图3所示,在二氯甲烷-甲醇比例为9:1.2的条件下进行展开,可获得较为理想的分离效果。

[0051] 3.2银胶滴加量的考察

[0052] 本实施例考察了点胶量不同时对舒芬太尼拉曼信号的影响。即,在滴加银胶时采用了不同的滴加量,并考察不同滴加量对检测结果的影响。

[0053] 当银胶的滴加量为 $1\mu\text{L}$ 时,舒芬太尼的SERS图谱显示的特征峰较少,且信号较低;当银胶的滴加量为 $5\mu\text{L}$ 时,舒芬太尼的SERS图谱显示的特征峰出峰较全,且信号较强。以上现象的原因可能是点胶量为 $1\mu\text{L}$ 时产生了“咖啡环效应”,即银胶滴加在薄层板上形成斑点,其斑点的边缘浓度大于中心浓度,纳米银粒子主要集中在了斑点边缘,使得拉曼光路中所能检测到的增强基底过少,导致待测物的信号无法全部体现;而当银胶的滴加量为 $5\mu\text{L}$ 时,在“咖啡环”效应后与待测物发生相互作用的银胶的量适当,能够检测到较理想的信号。而当点胶量为 $10\mu\text{L}$ 时,待测物的出峰时间较长,且持续时间较短,不利于待测物的检测。

[0054] 因此,当银胶中所含的纳米银粒子的粒径为 50nm 时,舒芬太尼SERS检测的最优点胶量 $5\mu\text{L}$ 。

[0055] 3.3积分时间的考察

[0056] 分别考察了积分时间为5s、10s和20s时的效果。即,在用便携式拉曼光谱仪进行SERS时采用了不同的积分时间的条件,并考察不同积分时间对检测结果的影响。

[0057] 当积分时间为5s时,待测物的峰强较强,且出峰较多,可采集6-8张光谱;当积分时间为10s时,待测物的峰强增强,出峰数无明显变化,但由于激光照射时间加长,薄层板涂层易被烤焦,待测物被激光照射致损,可采集到2-4张光谱;当积分时间为20s时,薄层板涂层很快被烤焦,无法采集光谱。

[0058] 因此,本发明的检测方法中,SERS的最佳积分时间为5s。

[0059] 根据上述考察结果可知,本发明的检测方法中,步骤S3中的二氯甲烷-甲醇最佳比例为9:1.2,步骤S4中的银胶最佳滴加量为 $5\mu\text{L}$,步骤S5中SERS的最佳积分时间为5s。

[0060] 4.检测效果

[0061] 4.1定性检测

[0062] 图4为本发明实施例的样品检测结果示意图。图4中,a为模拟血浆样品(即添加有

舒芬太尼的血浆样品), b为舒芬太尼的常规拉曼图谱, c为空白血浆, d为银胶空白对照。

[0063] 从图4中可以看出, 舒芬太尼在 $600\text{--}1500\text{cm}^{-1}$ 范围内出现多个特征峰, 包括 655 、 1004 、 1080 和 1439cm^{-1} (见图中箭头处)。其中, 1004cm^{-1} 处的特征峰在空白血浆中不存在, 并且银胶对该处特征峰有明显的增强作用, 因此 1004cm^{-1} 处的特征峰可以作为舒芬太尼特征峰, 即, 本发明的方法能够进行定性检测。

[0064] 4.2检测限

[0065] 采用上述“3. 条件考察”得出的最优条件, 对舒芬太尼浓度范围为 $0.85\text{--}340.00\mu\text{g/mL}$ 的模拟血浆样品, 按照前述“2. 检测方法”进行检测, 得到不同浓度样品的拉曼信号。

[0066] 图5为本发明实施例的不同浓度舒芬太尼的血浆样品的拉曼光谱图检测限结果图。其中, a为 $340.00\mu\text{g/mL}$, b为 $170.00\mu\text{g/mL}$, c为 $85.00\mu\text{g/mL}$, d为 $42.50\mu\text{g/mL}$, e为 $21.25\mu\text{g/mL}$, f为 $8.50\mu\text{g/mL}$, g为 $4.25\mu\text{g/mL}$, h为 $0.85\mu\text{g/mL}$ 。

[0067] 如图5所示, 舒芬太尼浓度范围为 $0.85\text{--}85.00\mu\text{g/mL}$ 时, 随着浓度的逐渐增大, 特征峰强度亦逐渐增加; 而若浓度进一步增大, 增强效果反而减弱。

[0068] 分析其原因, 可能是由于随着舒芬太尼浓度的增加, 药物分子数量增加, 分子检测的灵敏度相应增加; 而由于在检测过程中银胶滴加量不变(即可供药物分子吸附的胶体表面不变), 药物分子可能与之出现多层吸附或药物分子之间互相吸附, 从而无法与银纳米颗粒表面进行均一、有效的吸附, 不能使得拉曼信号相应增强, 甚至淹没信号, 导致效果不明显。

[0069] 另外, 从图5中可以得出, 当信噪比(S/N)为3时, 舒芬太尼的最低检测限为 $0.85\mu\text{g/mL}$ 。

[0070] 4.3血浆样品含量分析

[0071] 图6是本发明实施例的舒芬太尼浓度-信号强度标准曲线。

[0072] 如图6所示, 选取舒芬太尼浓度为 0.85 、 4.25 、 8.50 、 21.25 、 42.50 和 $85.00\mu\text{g/mL}$ 的模拟血浆样品, 如前所述进行TLC-SERS分析, 并记录 1004cm^{-1} 处的特征峰强度, 与浓度进行线性拟合, 绘制标准曲线。标准曲线方程为: $y=70.538x+545.71$ ($r^2=0.9742$), y 为 1004cm^{-1} 处的舒芬太尼特征峰强度, x 为舒芬太尼的浓度($\mu\text{g/mL}$)。可见, 在 $0.85\text{--}85.00\mu\text{g/mL}$ 的范围内, 舒芬太尼浓度与 1004cm^{-1} 处的特征峰强度具有良好的线性, 说明本发明的方法能够进行舒芬太尼的定量检测。

[0073] 4.4回收率

[0074] 以向空白血浆中添加舒芬太尼的方式, 制备舒芬太尼浓度分别为 $4.25\mu\text{g/mL}$ (低浓度)和 $42.50\mu\text{g/mL}$ (高浓度)的模拟血浆样品各三份作为待测血浆样品, 之后按照“2. 检测方法”对其进行TLC-SERS分析, 将测得的 1004cm^{-1} 处特征峰的强度代入上述标准曲线, 预测其浓度, 结果如表1所示。

[0075] 表1 TLC-SERS法测定血浆中舒芬太尼方法的回收率

[0076]

Added Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Measured Concentration ($\mu\text{g/mL}$)			Average recoveries (%)	RSD%
	1	2	3		
4.25	4.51	4.45	5.23	103.45	3.47
42.50	38.76	38.99	31.90	86.00	9.48

[0077] 从表1可以看出,作为待测血浆样品的各个模拟血浆样品中舒芬太尼的平均回收率分别为86.00%和103.45%, $\text{RSD}\% < 10\%$ 。结果表明,采用本实施例的检测方法可对待测血浆样品中的舒芬太尼进行快速检测,且回收率较高。

[0078] 实施例作用与效果

[0079] 根据本实施例提供的血浆中舒芬太尼的检测方法,由于采用了含有平均粒径为50nm的纳米银粒子的银胶作为增强试剂,该银胶在舒芬太尼的特征峰处不产生信号,并且对舒芬太尼的特征峰具有良好的信号增强作用,因此使得TLC-SERS法能够应用于血浆中舒芬太尼的快速检测。本实施例中,由于采用的点样量为 $1\mu\text{L}$,采用了含有平均粒径为50nm的纳米银粒子的银胶且该银胶的滴入量为 $5\mu\text{L}$,因此能够使得与待测物发生相互作用的纳米银粒子的量适当,起到更为理想的信号增强作用。

[0080] 实施例中,由于参考Lee法进行了银胶制备,并且制备过程中采用了 $34\text{mg}/200\text{mL}$ 的硝酸银浓度、变色后继续加热回流30min的反应条件,因此能够得到平均粒径约为50nm的纳米银粒子。

[0081] 由于SERS检测时采用了5S的积分时间,因此能够避免积分时间过长导致的薄层板烤焦问题,在保证待测物峰强的同时获得足够的光谱数据。另外,由于选用了 1004cm^{-1} 作为舒芬太尼的特征峰,因此能够避免血浆中其他物质的干扰,又能够保证银胶的信号增强效果。

[0082] 上述实施例仅用于举例说明本发明的血浆中舒芬太尼的快速检测方法,而根据本发明的检测方法,血浆中舒芬太尼的检测方式还可以是其他形式,例如含有预处理单元、检测试剂盒、拉曼光谱检测单元以及光谱分析单元的检测装置的形式。这种情况下,检测试剂盒可以包含预先制备好的检测过程中所需试剂,例如实施例中的标准溶液、模拟血浆样品、硅胶板、展开缸、碘缸、银胶等;另外,检测试剂盒也可以包含用于吸取标准溶液的标准吸取器、用于吸取血浆样品的样品吸取器和用于吸取银胶的银胶吸取器,这些不同的吸取器均分别对应于实施例中相应的试剂的吸取量,以便在现场没有吸取器的情况下也能够完成血浆样品中舒芬太尼的快速测量。

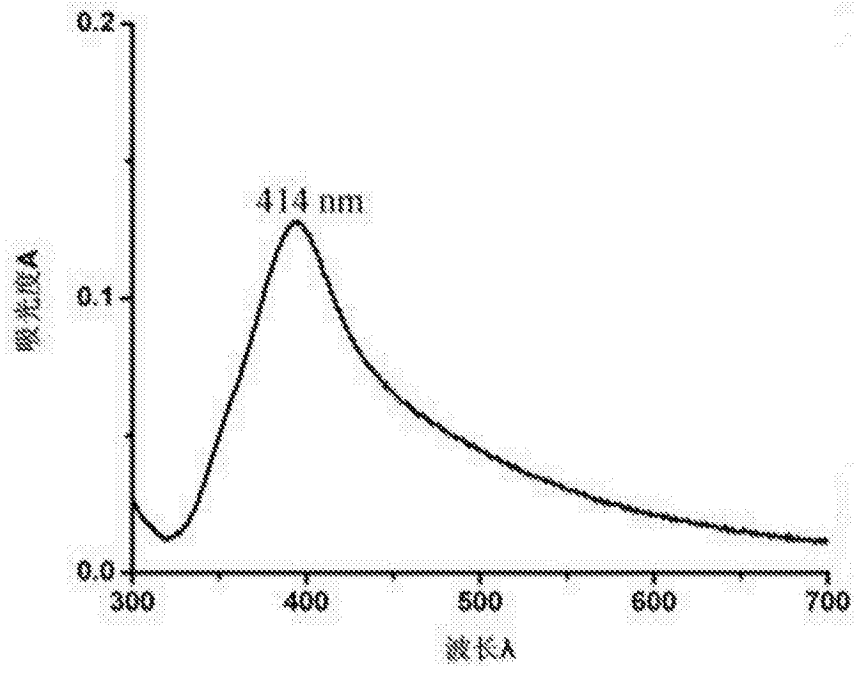


图1

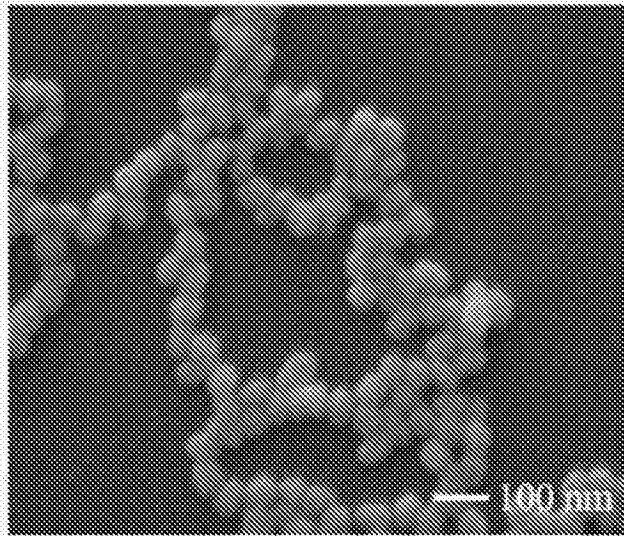


图2

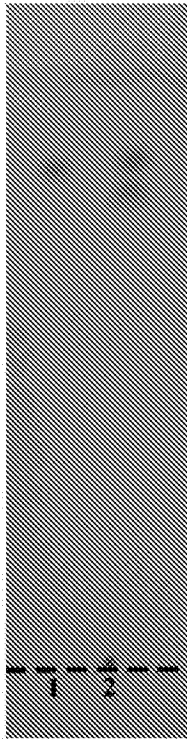


图3

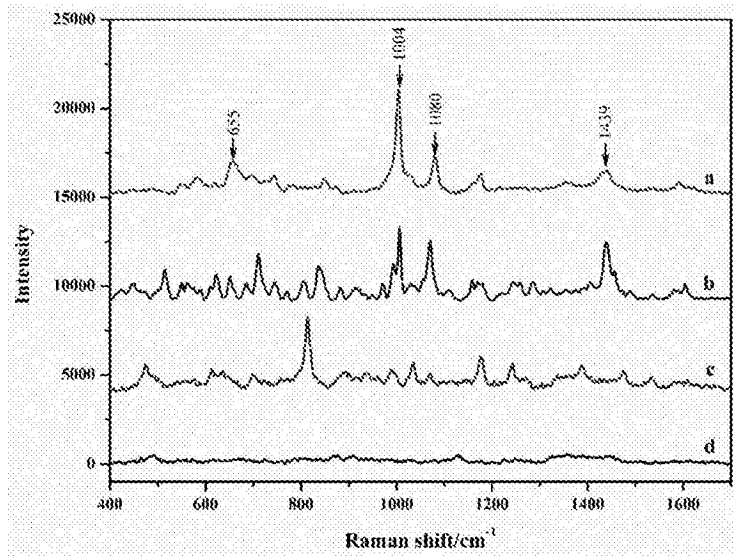


图4

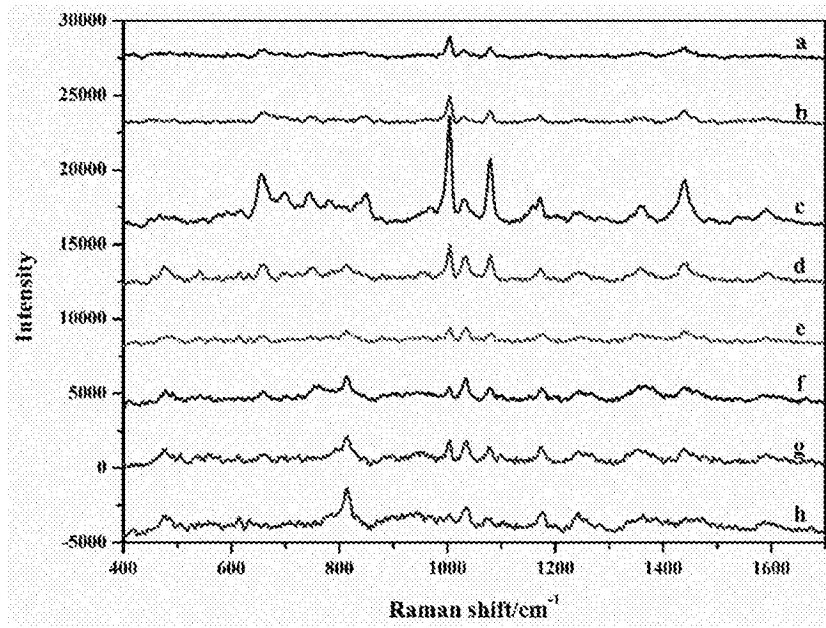


图5

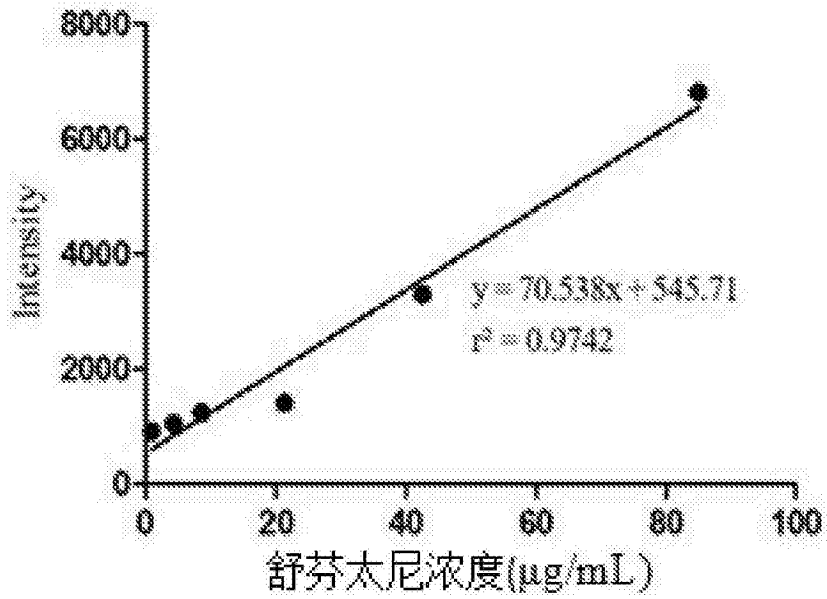


图6