

LCMS-8045 测定尿液中的 Δ^9 -四氢大麻酸含量

LCMSMS-536

摘要：本文参考《GB/T 37272-2018 尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的分析方法。尿液中添加内标后，在碱性条件下水解，然后在酸性条件下用有机溶剂萃取，离心取上清液，吹干后定容待测。以保留时间和离子对相对丰度比为定性依据；空白样品加入内标和系列浓度标准样品，处理后，制作校准曲线，内标法定量检测 Δ^9 -四氢大麻酸含量。结果表明： Δ^9 -四氢大麻酸在样品中的定量限低于 10 ng/mL，满足标准要求；空白样品添加 Δ^9 -四氢大麻酸和内标后处理，在 10-1000 ng/mL 的线性范围内，各标点浓度准确度分别在 85.8-107.9% 之间，R 为 0.9991；残留考察结果表明 ULOQ 加标样品进样后无明显系统残留；空白样品添加不同浓度 Δ^9 -四氢大麻酸后进行处理，检测结果满足标准关于定性和定量结果的要求。该方法灵敏度和准确度高，适合尿液中的 Δ^9 -四氢大麻酸检测。

关键词：LCMS-8045 尿液 Δ^9 -四氢大麻酸

近些年来，大麻的滥用日益成为禁毒工作面临的严峻考验之一。 Δ^9 -四氢大麻酚（THC）是大麻的主要成分之一，也是其中最主要的精神活性成分，其对人体中枢神经系统有极强的刺激作用，对运动机能的影响可持续数个小时甚至数天。 Δ^9 -四氢大麻酸（THC-COOH）是 Δ^9 -四氢大麻酚在人体内的主要代谢产物，通过检测尿液中的 Δ^9 -四氢大麻酸可为判断被检者是

否吸食大麻提供重要的判案依据。

本文参照《GB/T 37272-2018 尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的分析方法。该方法灵敏度和准确度高，适合尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3

质谱仪：LCMS-8045

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST C18, 50 mm×2.1 mm I.D., 2 μ m (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30001-02)

流动相：A-20 mM 乙酸铵水溶液；B-乙腈

流速：0.20 mL/min

柱温：25 $^{\circ}$ C

进样量：5 μ L

洗脱方式：等度洗脱，B 相浓度为 90%

质谱条件:

分析仪器: LCMS-8045

离子源: ESI⁻

雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 10.0 L/min

干燥气流速: 10.0 L/min

加热模块温度: 300°C

DL 温度: 250°C

离子源温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见表 1

表 1 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
1	Δ9- 四氢大麻酸	343.10	299.30*	16.0	21.0	14.0
			245.10	26.0	28.0	11.0
2	Δ9- 四氢大麻酸 -d9	352.20	308.20	10.0	22.0	15.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

参照《GB/T 37272-2018 尿液中 Δ9- 四氢大麻酸的测定 液相色谱 - 串联质谱法》中“7.1.1 样品提取”部分,精密量取 1 mL 待测尿液,加入内标后,加入 1 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 至 13, 80 °C 水浴中水解 30 min,冷却后加入 1 mL 的 1 mol/L 盐酸溶液调 pH 至 7-8,再加入 100 μL 冰乙酸,调 pH 至 4-5,加入 3 mL 正己烷:乙酸乙酯(9:1),涡旋,离心,取上清液,60 °C 水浴氮气吹干,残留物中加入 200 μL 乙腈:20 mmol/L 乙酸铵溶液(9:1)定容,上机分析。

■ 结果讨论

2.1 专属性和灵敏度

空白样品和空白加标 10 ng/mL 样品 (方法定量限浓度) 的 MRM 色谱图如图 1 所示,空白样品无干扰。目标组分该浓度色谱峰 S/N 远大于 10, 满足灵敏度要求。

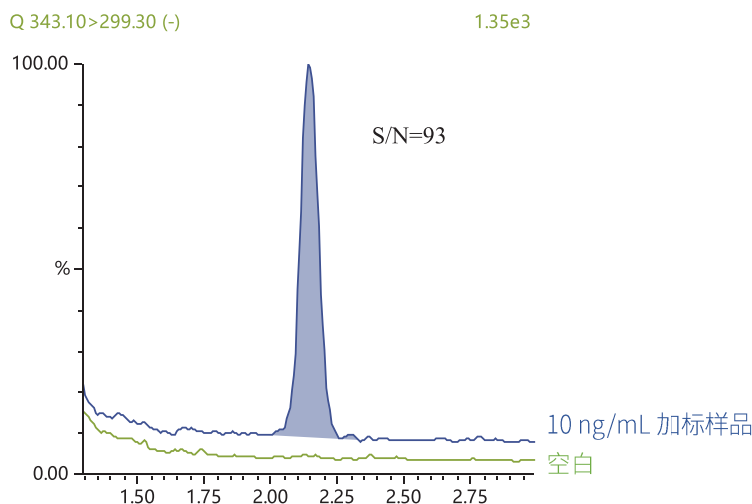


图 1 空白样品和 10 ng/mL 加标样品 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

空白样品中添加 Δ9- 四氢大麻酸,处理后得浓度分别为 10、20、50、100、500、1000 ng/mL 的样品溶液,内标法建立校准曲线如图 2 所示。

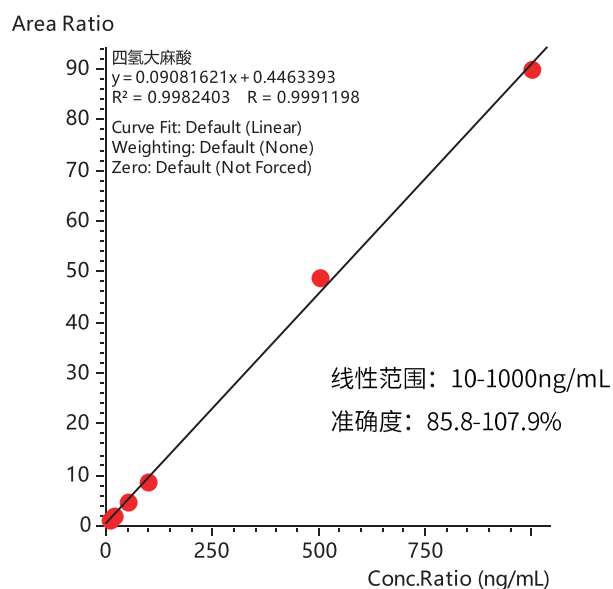


图 2 校准曲线

2.3 残留考察

ULOQ 加标样品进样后, 空白样品与 10 ng/mL 样品 (LLOQ) 色谱图如图 3 所示, Δ^9 - 四氢大麻酸保留时间处无明显色谱峰。

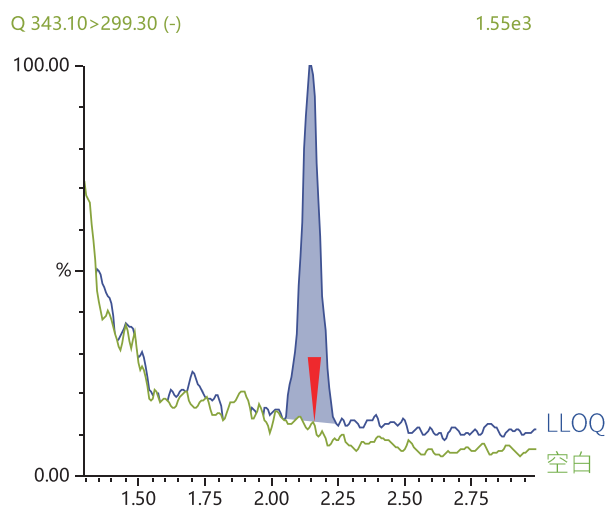


图 4 残留考察

2.4 重复性考察

对不同浓度的基质加标样品分别连续分析 6 次, 计算保留时间和峰面积的 RSD. 结果见表 2, 保留时间 RSD 均不高于 0.13%, 峰面积 RSD 均不高于 9.05%.

表 2 保留时间和面积 RSD

名称	进样浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
基质加标样品	10	0.11	9.05
	50	0.13	3.82
	500	0.06	1.46

2.5 平行样考察

空白样品中添加不同浓度的 Δ^9 -四氢大麻酸后进行前处理,各平行制备两份,上机测定。

参照标准规定,以保留时间(与标曲样品保留时间平均值相对偏差不高于 2.5%)和离子对相对丰度比(范围由标曲样品离子丰度比平均值确定,本文中离子丰度比为 20~50%,要求最大允许相对偏差范围为 25%)为定性依据,定性结果如表 3 所示。保留时间以及离子丰度比相对偏差均未超出规定范围,符合要求。

表 3 定性结果

No.	样品	保留时间 (min)	保留时间相对偏差 (%)	离子丰度比	离子丰度比相对偏差 (%)
1	标曲样品	2.143	-	27.00	-
2	SA1- 平行 1	2.144	0.05	26.73	1.00
3	SA1- 平行 2	2.140	0.14	25.77	4.56
4	SA2- 平行 1	2.146	0.14	27.08	0.30
5	SA2- 平行 2	2.145	0.09	26.50	1.85

参照标准规定,各待测样品均记录 2 份平行处理样品中目标物的含量,按公式 $RD = (|C1-C2|/C \text{ 平均}) * 100\%$ 计算相对相差,结果应不超过 20%,结果如表 4 所示,实际样品的双平行处理样相对相差均不高于 20%,符合要求。

表 4 定量结果及相对相差

No.	样品	含量 (ng/mL)			双样相对相差 (%)
		平行 1	平行 2	平均值	
1	SA1	14.62	13.77	14.19	3.03
2	SA2	128.73	143.16	135.95	5.30

■ 结论

本文参考《GB/T 37272-2018 尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定 液相色谱 - 串联质谱法》,使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪,建立了尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的分析方法。尿液中添加内标后,在碱性条件下水解,然后在酸性条件下用有机溶剂萃取,离心取上清液,吹干后定容待测。以保留时间和离子对相对丰度比为定性依据;空白样品加入内标和系列浓度标准样品,处理后,制作校准曲线,内标法定量检测 Δ^9 -四氢大麻酸含量。结果表明: Δ^9 -四氢大麻酸在样品中的定量限低于 10 ng/mL,满足标准要求;空白样品添加 Δ^9 -四氢大麻酸和内标后处理,在 10-1000 ng/mL 的线性范围内,各标点浓度准确度分别在 85.8-107.9% 之间, R 为 0.9991;残留考察结果表明 ULOQ 加标样品进样后无明显系统残留;空白样品添加不同浓度 Δ^9 -四氢大麻酸后进行前处理,检测结果满足标准关于定性和定量结果的要求。该方法灵敏度和准确度高,适合尿液中的 Δ^9 -四氢大麻酸检测。

岛津应用云

