

# 岛津全自动在线前处理系统CLAM-2030 在公安司法行业应用文集



# 前言

在公安司法样品检测中，特别对于体内毒物、药物检测，样品基本为生物检材，主要包括尿液、血液、唾液、组织液等。生物样品由于成分复杂且目标组分浓度较低，在上机之前需要选择合适的前处理方式进行净化和浓缩，以消除干扰、提高灵敏度和防止仪器污染。生物样品前处理方式有直接稀释、蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取法等，其中蛋白沉淀法具有操作简单、快速，适用于绝大部分小分子化合物等优点，由于公安司法领域面临样品量大、时效性强、人员不足等问题，所以往往会首选蛋白沉淀法。传统蛋白沉淀法采用离心管与离心机搭配，需要手动加入甲醇、乙腈等沉淀试剂，在样品数量庞大的情况下会出现效率低、人为误差等问题，同时也会带来生物感染风险问题。

岛津企业管理（中国）有限公司作为全球著名的分析仪器综合生产厂商，自 1875 年创业以来，始终继承创始人岛津源藏创业宗旨“以科学技术向社会做贡献”，在公安行业，紧跟前沿应用和客户需求，针对上述蛋白沉淀法痛点，开发出可用于 LC-MS/MS 的全自动样品在线前处理系统 CLAM-2030，可以和 LC-MS/MS 无缝衔接，实现真正意义的全自动化，操作者只需将采血管（或其他样品管）放置到样品架，即可完成样品吸取、试剂添加、振摇沉淀、离心过滤、上级分析全流程，极大提高工作效率；同时整个前处理在密闭环境下进行，样本、废液封闭处理，隔绝样本与实验者，大大减小生物感染风险。

为增进公安司法用户对岛津 CLAM-2030 系统的深入了解，岛津企业管理（中国）有限公司分析中心整理编写了本册《岛津全自动在线前处理系统 CLAM-2030 在公安司法行业应用文集》。本册文集中应用案例主要包括尿液、血液、组织样品中常规毒品、合成大麻素和合成卡西酮类新精神活性物质、乙醇标志性代谢物乙基葡萄糖醛酸苷等检测，为相关领域的客户提供参考。

本文集仅供有关人员学习交流使用，不用于任何商业用途。

岛津企业管理（中国）有限公司  
分析中心

# 目 录

<b>第 1 章 样品前处理及 CLAM-2030 介绍 .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 公安行业生物样品前处理 .....</b>	<b>3</b>
1.1.1 公安行业生物样品介绍 .....	3
1.1.2 生物样品前处理介绍 .....	3
1.1.3 司法鉴定技术规范生物样品前处理汇总 .....	5
<b>1.2 CLAM-2030 系统介绍 .....</b>	<b>6</b>
1.2.1 CLAM-2030 硬件组成和工作原理 .....	6
1.2.2 CLAM-2030 特点 .....	7
<b>第 2 章 CLAM-2030 在公安行业的应用 .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 毒品分析 .....</b>	<b>10</b>
CLAM-2030 与 LC-MS/MS 联用测定尿样中的苯丙胺类毒品 .....	11
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用测定尿样中的氯胺酮及其代谢物含量 .....	16
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用快速测定尿样中的致幻剂麦角酸二乙胺 .....	21
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用在滥用药物检测中的应用 .....	26
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定尿液中 9 种合成大麻素类新精神活性物质 .....	35
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质 .....	41
<b>2.2 毒物药物分析 .....</b>	<b>48</b>
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用分析尸检样品 .....	49
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用快速对血浆样品中毒物进行快速筛查 .....	52
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定血液中的乙基葡萄糖醛酸苷 .....	58
CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统建立抗精神病药治疗药物监测定量分析方法 .....	62

# 第一章 样品前处理及 CLAM-2030 介绍

## 1.1 公安行业生物样品前处理

### 1.1.1 公安行业生物样品介绍

毒品、毒物分析是公安司法实践的重要组成部分，其鉴定结论在法律上具有证据作用，是揭露和证实贩毒、吸毒、投毒等犯罪行为的重要技术手段，对侦破、审理上述案件有着举足轻重的作用，毒品、毒物分析是以化学、药理学为基础，应用现代检测技术对涉毒和投毒犯罪案件中有关物质进行检测。在吸毒、投毒等形式案件样品分析中，主要涉及生物样品分析，样品具有成分复杂、干扰大，目标成分含量极低，同时毒品毒物分析需对检测结果需承担法律责任，因此分析方法的准确度、灵敏度成为毒物、毒品分析的首要要求。目前毒品、毒物分析主要采用液相色谱质谱联用法（LC-MS/MS）、气相色谱质谱联用法（GC-MS/MS）等。

在公安行业开展体内毒品、毒物检测时，其样品基本为生物样品，包括尿液、血液、唾液、胃液、组织液、毛发、粪便等。不同生物样品检测可以提供不同信息，通过测定血液中药物、毒物浓度，可估算出相对含量，进而判断作用或中毒程度；对于快速代谢，在血液中不易检测出的化合物，可以通过检测尿液中代谢物的含量来进行检测。上述生物样品由于含有大量蛋白、脂肪、内源性化合物及不溶性颗粒，同时目标化合物含量比较低，因此直接上机分析会带来仪器污染、基质效应强、灵敏度差等一系列问题，所以需要采用合适的前处理方法来处理生物样品，合适的前处理方式对分析结果的准确性至关重要，是整个分析最重要的环节之一。

### 1.1.2 生物样品前处理介绍

生物样品常用的前处理方式包括稀释、液液萃取、固相萃取、蛋白沉淀等。

稀释法是最简单的样品前处理技术，这也是一种兼容性很强的方法，几乎所有分析物均有良好的回收率，缺点是没有选择性，使用该方法时，样品只需要用 LC-MS 兼容的溶剂稀释，但是样品中所有组分都会进入 LC-MS 系统。稀释法只适用于基质效应不大且不存在灵敏度问题的情况下，如不含有或者仅含有很少大分子的简单液体基质（尿液，泪液，脑脊液等），不适用于含有蛋白质或者脂质的复杂生物样本分析。由于该方法处理后的目标物浓度被降低，导致信号下降，不适用于分析原本浓度较低的样品，也可能存在较高的基质效应。

液-液萃取（LLE）是生物分析中常见的样品前处理技术，液-液萃取的原理是基于目标分析物在互不相溶的溶剂之间的油水分配系数（LogP）不同，将化合物从水相萃取到与水不相溶的有机相中（对于离子型的化合物可以通过调节 PH 或离子强度至合适范围使之形成分子态），常用的有机溶剂有甲基叔丁基醚（MTBE），乙酸乙酯，正己烷，石油醚、氯仿等。通过液-液萃取可以有效的将目标化合物从水相基质萃取到有机溶剂中，而将大部分基质组分（如磷脂，蛋白质，无机盐等）留在水相中，提取的样品更加干净和简单。液-液萃取非常适用于非极性至中等极性的分析物，可以起到富集浓缩效果，能降低基质效应，成本低，方法易转移，开发时间较短，其主要缺点是不适用于亲水极性物质，操作相对较繁琐，耗时较长，而且所用试剂毒性较大。

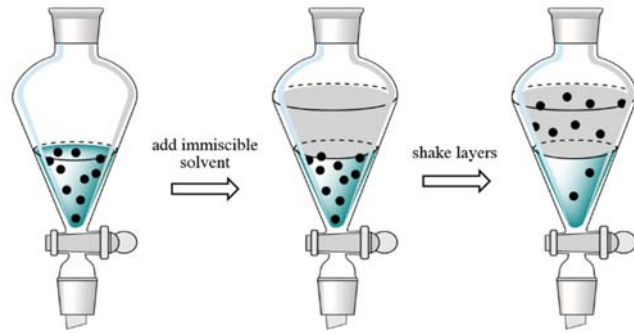


图 1. 液-液萃取原理图

固相萃取 (Solid Phase Extraction, 简称 SPE), 是一项结合了选择性保留、选择性洗脱等过程的分离技术, 其原理与液相色谱类似, 属于色谱技术的一种, 二者使用形式与使用原因存在差异。当复杂的样品溶液通过吸附剂时, 吸附剂会通过作用力选择性地保留目标化合物或者干扰物, 其他组分则透过吸附剂流出小柱, 然后用另一种洗脱能力较强的溶剂体系选择性地目标物洗脱下来, 从而实现对复杂样品的分离、纯化和富集。固相萃取技术适用于极性到非极性多种类型化合物, 可选择的固定相种类丰富, 同时自动化操作, 用于富集痕量样品分析。固相萃取的主要缺点为操作繁琐, 耗时长, 成本高, 而且固相萃取柱种类繁多, 需要根据化合物性质选择合适的萃取柱, 对方法开发要求较高, 需要方法开发人员有丰富的操作技巧和分离科学知识。

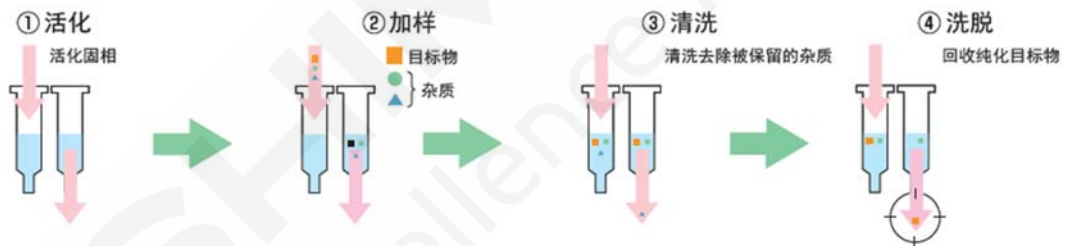


图 2. 固相萃取一般步骤

蛋白沉淀法是通过加入试剂或者改变条件, 使生物样品中的蛋白质等杂质沉淀析出的技术。蛋白沉淀法具有实验操作和流程简单、成本经济、操作者接触和应用比例高的优势, 是生物样品前处理常用的方式, 常用的沉淀方法主要有有机溶剂沉淀法、盐析法等。有机溶剂沉淀法最为常见, 一般选用甲醇、乙醇、乙腈为沉淀剂, 必要时还可以加入 pH 调节试剂, 以保证物质的回收率。蛋白沉淀法几乎适用于任何极性的小分子化合物, 大部分化合物回收率较高, 适合于大通量、高时效性样品的分析。

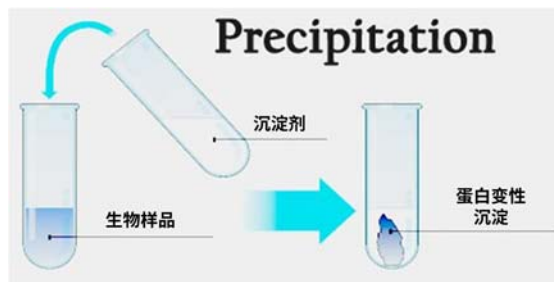


图 3. 蛋白沉淀法示意图一般步骤

### 1.1.3 司法鉴定技术规范生物样品前处理汇总

鉴定标准是开展司法鉴定活动的技术依据，是司法鉴定质量的重要决定因素。在鉴定规范中，对规范的适用范围、原理、试剂和材料、仪器、测定步骤、结果计算等。通过梳理和总结司法部司法鉴定管理局和公安部近年来公布的理化检验相关标准，可以发现蛋白沉淀法是最为常用的前处理方式之一，沉淀试剂基本为乙腈，沉淀试剂加入比为 1:2-1:9。部分涉及蛋白沉淀法的标准总结如下。

表 1 部分标准汇总表

序号	标准名称	前处理方式	沉淀试剂
1	GA/T 187-2021 法庭科学 生物检材中敌敌畏和敌百虫检验 气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取	乙腈 (1:3)
2	GA/T 1910-2021 法庭科学 生物检材中百草枯检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、固相萃取	乙腈 (1:3)
3	GA/T 1907-2021 法庭科学 生物检材中克百威等 7 种氨基甲酸酯类杀虫剂检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取	乙腈 (1:4)
4	GA/T 1905-2021 法庭科学 生物检材中溴敌隆等 14 种抗凝血鼠药检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀	乙腈 (1:3)
5	GA/T 1904-2021 法庭科学 生物检材中乌头碱等 21 种生物碱筛选 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取	乙腈 (1:3)
6	GA/T 1903-2021 法庭科学 生物检材中吗啡等 29 种毒品及代谢物筛选 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、固相萃取	乙腈 (1:6)
7	GA/T 1902.2-2021 法庭科学 生物检材中巴比妥等 46 种安眠镇静类药物筛选	蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取	乙腈 (1:2)
8	GA/T 1792-2021 法庭科学 生物检材中扎来普隆、脱乙基扎来普隆和 5-氧-扎来普隆检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、固相萃取	乙腈 (1:3) 和碳酸盐缓冲液
9	GA/T 1640-2019 法庭科学 唾液中吗啡和 O6-单乙酰吗啡检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀	乙腈 (1:4)
10	GA/T 1639-2019 法庭科学 唾液中苯丙 A 等四种苯丙 A 类毒品和氯胺酮检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、液液萃取	乙腈 (1:4)
11	GA/T 1633-2019 法庭科学 血液、尿液中乙基葡萄糖醛酸苷检验 气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法	蛋白沉淀	乙腈 (1:9)
12	GA/T 1623-2019 法庭科学 生物检材中涕灭威检验 气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、液液萃取、固相萃取	乙腈 (1:2)
13	GA/T 1605-2019 法庭科学 生物检材中丁丙诺啡检验 液相色谱-质谱法	蛋白沉淀、固相萃取	乙腈 (1:4)

## 1.2 CLAM-2030 系统介绍

基于在血清、血浆等生物样品分析临床检测系统领域所积累的丰富经验，岛津开发出可用于 LC-MS/MS 的全自动样品在线前处理系统 CLAM-2030，和岛津 Nexera X2 液相系统以及 LCMS-8040/8045/8050/8060NX 无缝衔接（图 4），仅需将采血管（或其他样品管）放置到样品架，系统可自动执行从样品前处理到 LCMS 分析过程间的所有操作，最大通量为 20 个样品/小时；最多可同时分析 60 个样品。CLAM-2030 和 LCMS-8040 / 8045 / 8050 / 8060NX 联用系统，既可当做一套完整的全自动在线前处理+分析系统使用，也可单独使用 LCMS-8040 / 8045 / 8050 / 8060NX。



图 4. CLAM-2030+LCMS-8050

### 1.2.1 CLAM-2030 硬件组成和工作原理

CLAM-2030 主要由进样针、样品架、试剂架、振摇加热组件、机械臂、清洗及废液桶组成。样品放置于样品架中，可选择多种规格样品管，满足不同分析场景。过滤管和收集管放置于专用瓶架中，用于沉淀和溶液分离。20 位试剂架可以放置多种规格试剂瓶，满足加标、稀释、沉淀等多种试剂和操作需求。机械臂同岛津液质产品无缝衔接，仅需将采血管（或其他样品管）放置到样品架，系统可自动执行从样品前处理到 LCMS 分析过程间的所有操作。

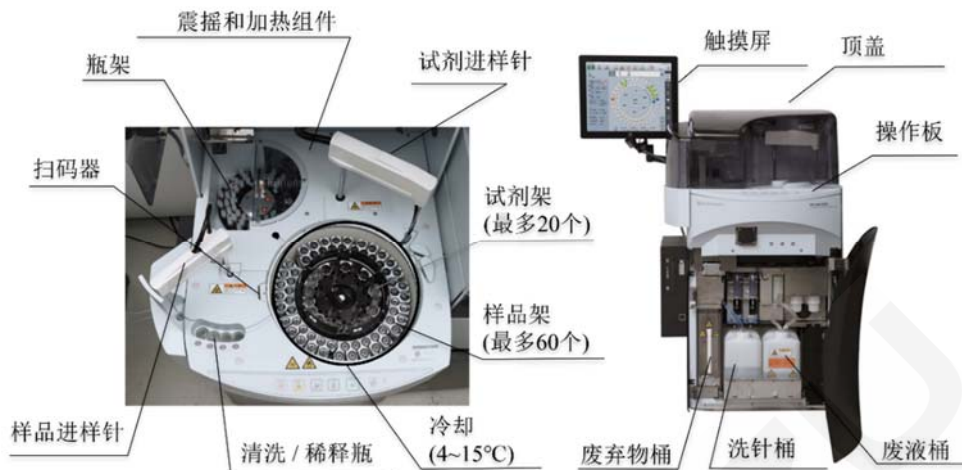


图 5. CLAM-2030 硬件组成

样品中沉淀的蛋白以及不溶物主要利用过滤管下部的 PTFE 滤膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 进行分离。样品和沉淀试剂在过滤管中充分混合均匀后，过滤管放置于收集管上方，通过抽吸过滤方法，将上清液收集于收集管中，并将收集管丢弃。

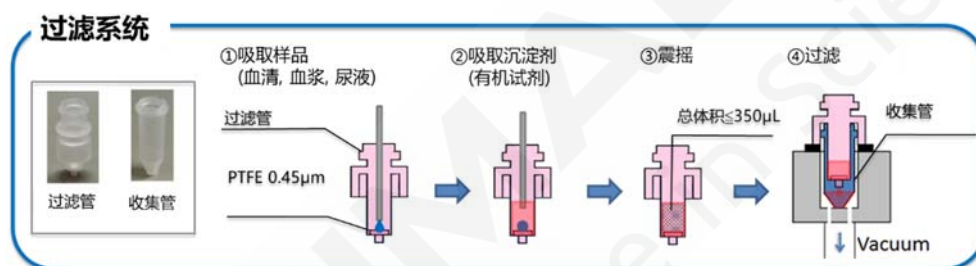


图 6. CLAM-2030 工作原理

CLAM-2030 自动执行的前处理流程包含吸取样品、吸取试剂、涡旋震荡、过滤、加热（如有需要）、样品转移至 LC-MS/MS 仪器的进样器。

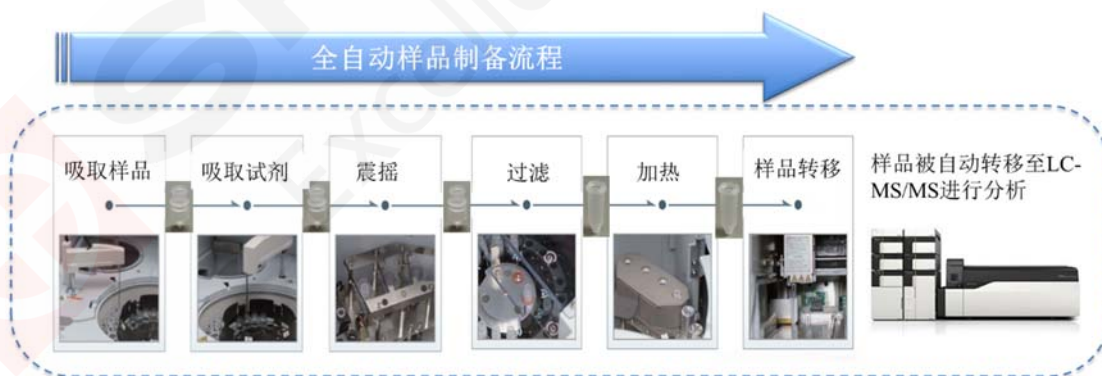


图 7. CLAM-2030 执行自动分析流程图

### 1.2.2 CLAM-2030 特点

#### (1) 提高工作效率

利用传统手动蛋白沉淀方法处理一个样本大约需要人工操作 15 分钟，而利用 CLAM-2030 执行的自动蛋白沉淀方法，人工操作流程简单，只需三步 1) 注册样品；2) 选择样品处理程序；3) 点击“开始”按钮。操作者只需花 3 分钟时间完成以上 3 个步骤，其他程序全部由 CLAM-2030 自动完成，大大提高了工作效率。



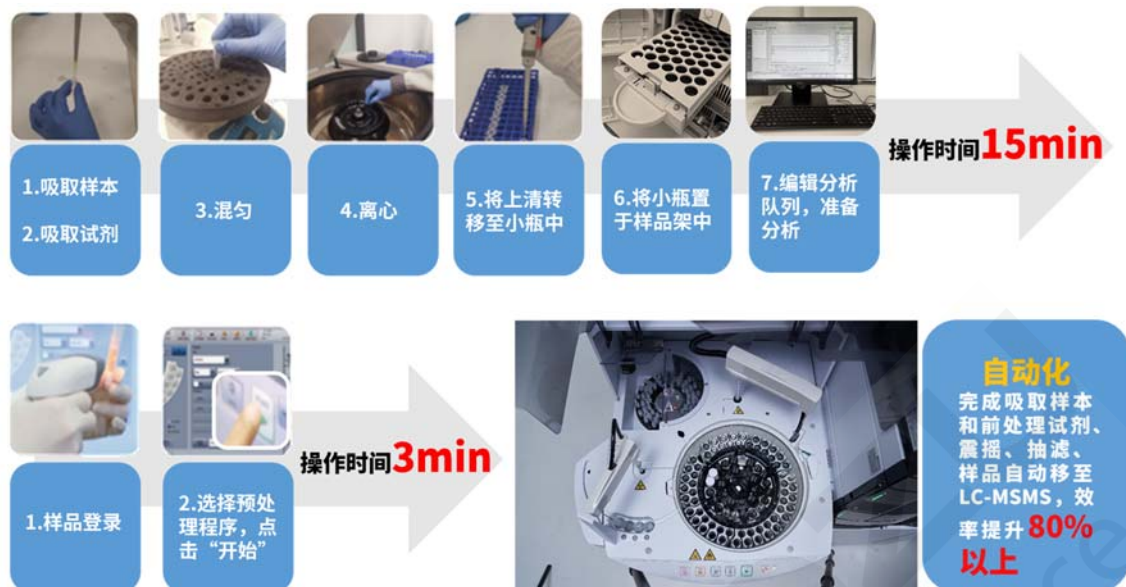


图 8. 传统手动蛋白沉淀方法和 CLAM-2030 执行的自动蛋白沉淀方法时间对比图

CLAM-2030 共有 60 个样品位，在执行样品分析时，可以将样品前处理时间和 LCMSMS 分析时间重叠，样品前处理几乎不占用整体分析时间，因此在多样品分析过程中，更具有效率优势。

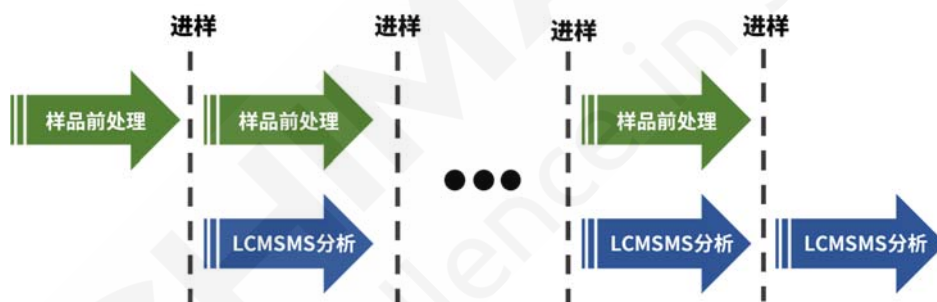


图 9. CLAM-2030 处理多个样品的分离流程图

## (2) 高准确性和可重复性

CLAM-2030 定量分析可使用商品化试剂盒，从而提高样品分析效率和通量，并保证了检测结果的准确性和可重复性。试剂盒中一般包含基质标曲、质控、空白、内标、稀释剂、色谱柱以及流动相，操作者只需利用 LC 条件（流动相为试剂盒中提供）、MRM 通道信息（CE 能量可以用试剂盒中的溶剂标进行优化）建立 LC-MS/MS 方法，然后根据说明在 CLAM-2030 软件的“setting”界面设置所需试剂、质控，建立样品提取程序（按照试剂盒说明进行设置），之后进入“analysis”界面设置标准品、质控样和未知样品的位置，点击开始进行在线处理和分析。CLAM-2030 软件具备多种功能实现数据验证：软件含有试剂登录、校准曲线、质控、系统维护等功能，保证数据的可操作性。

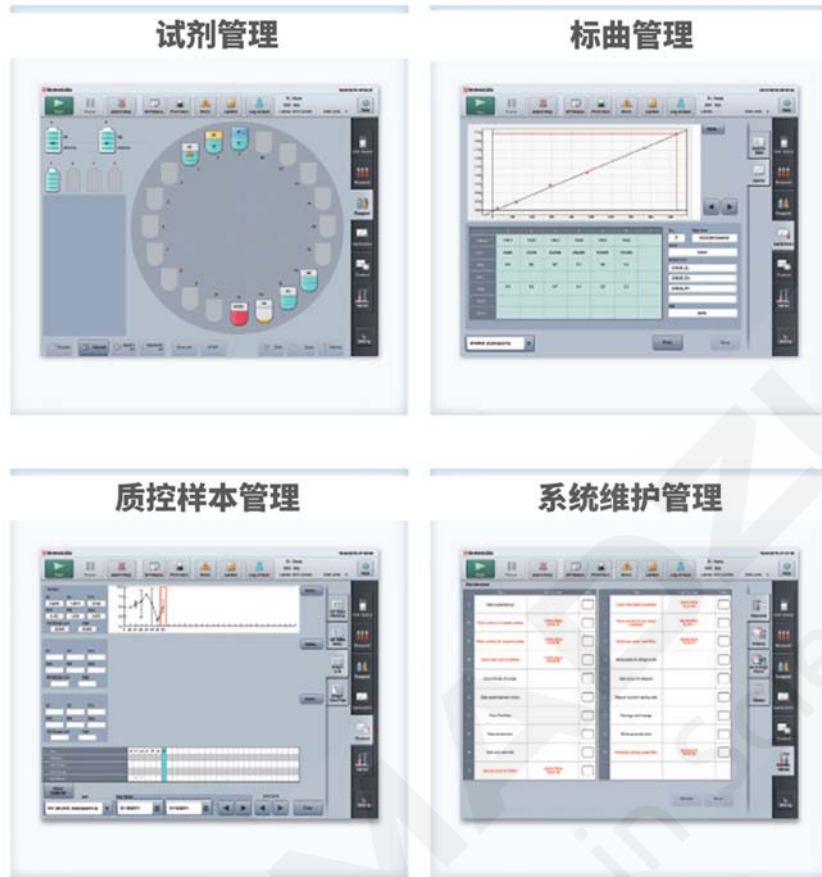


图 10. CLAM-2030 软件多功能设置

### (3) 保障操作者安全

自动处理减少了使用者接触生物样本而导致的潜在传染疾病的风险；废水和处理后的废弃物保持隔离，样品处理完毕后可一起处理，大大降低操作者生物感染风险。

## 二、 CLAM-2030 在公安行业的应用

### 2.1 毒品分析

当今全球毒品违法犯罪形势不断加剧，新型合成毒品及新精神活性物质不断涌入，芬太尼类、合成大麻素类、卡西酮类等新型毒品更新换代速度极快，毒品毒物的检测判定作为执法依据变得尤为关键，也对分析方法提出了更高要求。超高效液相色谱-串联质谱技术具有快速、高效、灵敏度高的优势，其多反应监测模式（MRM）可以有效避免因基质干扰而造成的假阳性现象，是痕量有机物分析的首选技术手段。

公安行业在毒品分析中最常用的样品前处理方法为蛋白沉淀法，可有效缓解样品量大、人手不足、时间紧的现实需求。蛋白质沉淀法是一种简单、快速、方便的生物样品预处理技术，其优点包括：1、几乎适用于任何极性的小分子化合物；2、前处理方法开发非常简单，一个标准的操作流程基本适合所有的化合物；3、快速；4、回收率较高。但手动蛋白沉淀法操作费时费力，操作人员频繁接触甲醇、乙腈、有机酸等沉淀试剂和生物样品，具有潜在的化学危害和生物干扰风险。

面对传统毒品和新兴毒品带来的检测挑战，岛津研发的全自动化生物样本前处理系统 CLAM-2030 提供了更可重现的解决方案，可帮助消除手动制备前处理过程中出现引入的人为误差，并提高实验室的安全性。岛津和公安司法领域相关工作人员利用 CLAM-2030 和全系列三重四极杆质谱产品联用系统开发了一系列生物基质中的毒品和新精神活性物质的检测方法，这些基质包括全血、血浆、唾液、尿液等，证明该套系统适用于各种不同生物样品和检测化合物，且满足回收率和重复性要求。

# CLAM-2030 与 LC-MS/MS 联用测定尿样中的苯丙胺类毒品

**摘要：**本文使用岛津生物样本全自动在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS联用系统，建立了人尿样中3种苯丙胺类毒品的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到LC-MS/MS自动进样器均靠仪器自动完成，减少了人为误差，提高分析的准确度，适合尿样中苯丙胺类毒品的快速定量检测。本实验中基质标曲不同浓度点准确度在92.8~109.9%之间，不同浓度加标样品重复进样6次，保留时间RSD均小于0.4%，峰面积RSD均小于5%，质控样本实测浓度在允许波动范围内。

**关键词：**CLAM-2030 LC-MS/MS 尿样 苯丙胺类毒品

近年来毒品的滥用呈明显增长的趋势，其中苯丙胺类毒品属于最常见的毒品种类之一。它是一类人工合成的中枢神经兴奋剂，极易形成药物依赖性，对吸食者的危害主要体现在精神损害（如精神病样症状）和生理损害（导致急性心肌缺血和心律失常等，并有可能导致猝死）。苯丙胺类毒品主要包括苯丙胺，甲基苯丙胺，3,4-亚甲基二氧基苯丙胺和3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺等，在吸食者体内主要以原形形式经尿液排出，因此尿样中苯丙胺类含量的检测对于判断涉毒人员是否吸食过该类毒品至关重要。

蛋白质沉淀法是尿样等生物样品前处理时常用的一种手段，其几乎适用于任何极性的小分子化合物且回收率较高。但是离线蛋白质沉淀法操作费时费力，操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀试剂和生物样品，具有潜在的生物危害风险。

本文利用该系统建立了尿样中苯丙胺，甲基苯丙胺和3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺含量的检测方法，以供相关检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵	: LC-30AD x 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18, 100 mm x 2.1 mm I.D., 2  $\mu$ m  
 流 动 相 : A相-水+0.1%甲酸+5mM 甲酸铵, B相-甲醇+0.1%甲酸+5mM 甲酸铵  
 流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 20%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
0.20	泵	B Conc	20
2.50	泵	B Conc	70
2.80	泵	B Conc	95
3.40	泵	B Conc	95
3.50	泵	B Conc	20
5.00	泵	B Conc	20
13.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)  
 加热气流速 : 空气 10.0 L/min  
 雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min  
 干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min  
 扫描模式 : 多反应监测(MRM)

加热模块温度 : 400 °C  
 接口温度 : 300 °C  
 D L 温度 : 250 °C  
 接口电压 : 4 kV  
 M R M 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

ID	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
1	苯丙胺 (AMP)	136.10	91.00*	-14.0	-17.0	-19.0
			119.10	-14.0	-15.0	-25.0
2	甲基苯丙胺(MAMP)	150.10	91.00*	-18.0	-21.0	-36.0
			119.10	-18.0	-15.0	-24.0
3	3,4-亚甲基二氧基甲基 苯丙胺(MDMA)	194.10	163.20*	-15.0	-13.0	-30.0
			105.10	-15.0	-15.0	-20.0

\*代表定量离子对

### 1.3 CLAM-2030 自动前处理

在CLAM-2030控制软件界面KIT.Cond菜单的子菜单protocol项下, 编辑样品自动前处理程序, 具体步骤为: (1)在过滤管中加入20  $\mu$ L甲醇活化过滤管, 准备上样; (2)吸取尿样30  $\mu$ L上样; (3)加入120  $\mu$ L甲醇沉淀蛋白; (4) 2100 rpm震荡60秒; (5)抽滤120秒; (6)样品转移至自动进样器进样2  $\mu$ L, 流程如图1所示。

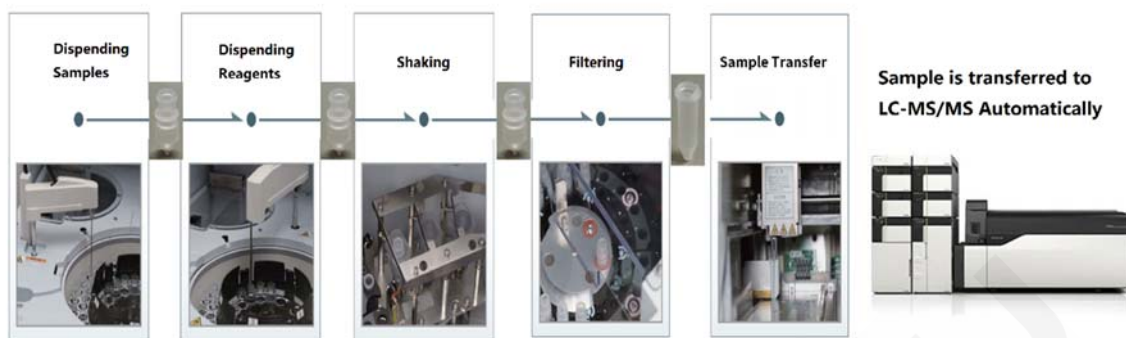


图 1. CLAM-2030 自动前处理流程

## 2. 结果与讨论

本实验采用岛津生物样本全自动在线前处理系统CLAM-2030进行尿样的前处理，样品处理结束后会自动将样品输送到LC-MS/MS的自动进样器单元进行进样分析。本文中样品自动前处理程序包括吸取样品、吸取蛋白沉淀剂、振摇和过滤，总时间约5 min，在LC-MS/MS进行分析的同时，自动前处理程序也在同时进行，并且CLAM-2030会根据前处理流程同时处理2-3个样品，即对样品的处理进行到振摇这一步骤时，系统会自动开始序列中下一个样品的处理。这种交叉处理样本的行为使得每个样品的LC-MS/MS分析时间间隔为5 min，如图2所示。



图 2. CLAM-2030 与 LC-MS/MS 联用工作模式

### 2.1 基质标准品色谱图

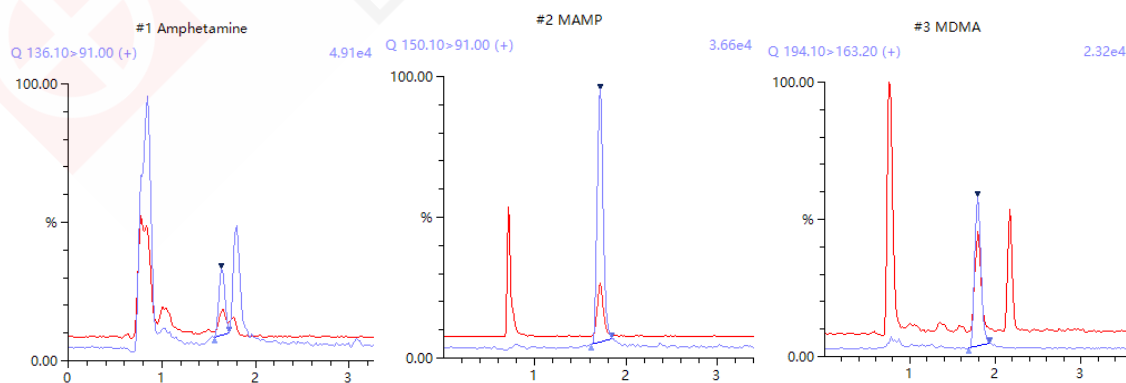


图 3. 3 种苯丙胺类目标物色谱图 (浓度: 5.0 ng/mL, 左: AMP; 中: MAMP; 右: MDMA)

## 2.2 校准曲线

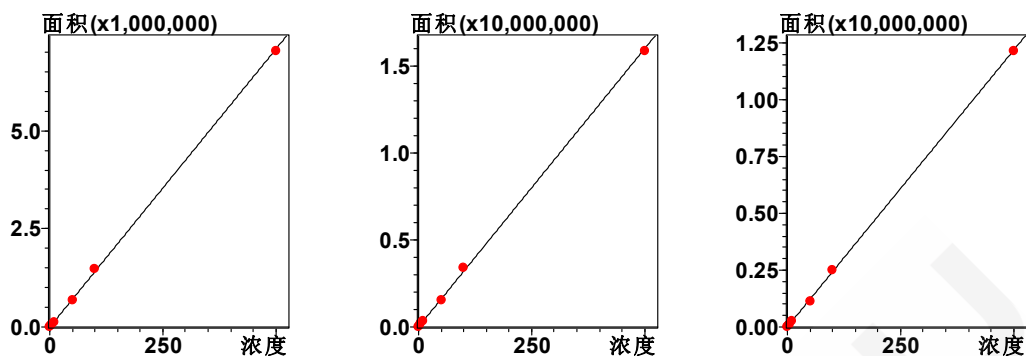


图 4.3 种苯丙胺类目标物校准曲线 (1~500 ng/mL, 左: AMP; 中: MAMP; 右: MDMA)

在空白尿样中添加目标物标准溶液, 依次配制成浓度分别为1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0、500 ng/mL的加标溶液, 按上述1.3处理流程处理样品后分析, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果如图4及表3所示。

表 3. 校准曲线 (权重 1/C)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
AMP	$Y = (14163.4)X - (5874.4)$	1.0~500	0.9998	93.7~109.9
MAMP	$Y = (31945.8)X + (2068.6)$	1.0~500	0.9996	92.8~106.2
MDMA	$Y = (24346.0)X - (81.5)$	1.0~500	0.9997	93.4~103.6

## 2.3 精密度实验

浓度为5、50、500 ng/mL的空白尿样加标样, 按照1.3的处理流程, 分别连续平行测定6次, 考察该系统的精密度, 结果如表4所示, 表明CLAM-2030自动前处理液质联用系统对目标物的分析方法精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

名称	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
AMP	5	0.30	4.99
	50	0.26	3.76
	500	0.28	3.04
MAMP	5	0.27	4.24
	50	0.24	3.26
	500	0.27	2.14
MDMA	5	0.32	2.77
	50	0.24	2.03
	500	0.27	1.31

## 2.4 质控样品测试结果

空白样品中分别加入5, 50和500 ng/mL标准样品作为质控样QCL, QCM和QCH, 标示浓度和允许波动范围如表5所示, 实际检测浓度在允许波动范围内。

表 5. 质控样品检测结果

化合物	标示浓度 (ng/mL)			允许波动范围 (ng/mL)			实测浓度 (ng/mL)		
	QCL	QCM	QCH	QCL	QCM	QCH	QCL	QCM	QCH
AMP	5	50	500	4-6	40-60	400-600	4.5	45.7	471.7
MAMP	5	50	500	4-6	40-60	400-600	4.8	48.2	491.3
MDMA	5	50	500	4-6	40-60	400-600	4.6	46.9	487.4

### 3 . 结论

本文使用岛津全自动在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS在线联用系统，建立了人尿样中3种苯丙胺类毒品的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到LC-MS/MS自动进样器均靠仪器自动完成，减少了人为误差，提高分析的准确度，适合尿样中苯丙胺类毒品的快速定量检测。本实验中基质标曲不同浓度点准确度在92.8~109.9%之间，不同浓度加标样品重复进样6次，保留时间RSD均小于0.4%，峰面积RSD均小于5%，质控样本实测浓度在允许波动范围内。实验结果表明：该方法适合尿样中3种苯丙胺类毒品的快速定量检测。



# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用测定尿样中的氯胺酮及其代谢物含量

**摘要：**本文使用岛津全自动生物样本在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS在线联用系统，建立了人尿样中氯胺酮及其代谢物脱氢去甲氯胺酮的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到LC-MS/MS自动进样器均靠仪器自动完成，减少了人为误差，提高分析的准确度，适合尿样中苯丙胺类毒品的快速定量检测。本实验中基质标曲不同浓度点准确度在88.7~112.6%之间，不同浓度加标样品重复进样6次，保留时间RSD均小于0.1%，峰面积RSD均小于4.5%，质控样本实测浓度在允许波动范围内。

**关键词：**CLAM-2030 LC-MS/MS 尿样 氯胺酮及其代谢产物

近年来毒品的滥用呈明显增长的趋势，其中氯胺酮（俗称“K粉”）属于最常见的毒品种类之一。它是苯环己哌啶的衍生物，属于分离性麻醉剂，吸食氯胺酮可能引发对吸食者肺部，心脏和大脑的永久损害，甚至导致死亡。氯胺酮的代谢产物包括去甲氯胺酮和脱氢去甲氯胺酮，大部分由肾脏排出。按照国际毒品检验标准，只要在生物检材中检出去甲氯胺酮或脱氢去甲氯胺酮即可作为吸食氯胺酮的证据。

蛋白质沉淀法是尿样等生物样品前处理时常用的一种手段，其几乎适用于任何极性的小分子化合物且回收率较高。但是离线蛋白质沉淀法操作费时费力，操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀试剂和生物样品，具有潜在的生物危害风险。

本文利用该系统建立了尿样中氯胺酮及其代谢物脱氢去甲氯胺酮含量的检测方法，以供相关检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵	: LC-30AD x 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18, 100 mm x 2.1 mm I.D., 2  $\mu$ m  
 流 动 相 : A相-水+0.1%甲酸+5mM 甲酸铵, B相-甲醇+0.1%甲酸+5mM 甲酸铵  
 流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 25%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.20	泵	B Conc	20
0.80	泵	B Conc	70
1.00	泵	B Conc	95
1.30	泵	B Conc	95
1.40	泵	B Conc	20
3.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)  
 加热气流速 : 空气 10.0 L/min  
 雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min  
 干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min  
 扫描模式 : 多反应监测(MRM)

加热模块温度 : 400 °C  
 接口温度 : 300 °C  
 D L 温度 : 250 °C  
 接口电压 : 4 kV  
 M R M 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

ID	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
1	氯胺酮	238.10	125.10*	-17.0	-28.0	-20.0
			179.15	-12.0	-17.0	-16.0
2	脱氢去甲氯胺酮	222.10	142.15*	-16.0	-26.0	-23.0
			141.15	-12.0	-37.0	-22.0

\*代表定量离子对

### 1.3 CLAM-2030 自动前处理

在 CLAM-2030 控制软件界面 KIT.Cond 菜单的子菜单 protocol 项下, 编辑样品自动前处理程序, 具体步骤为: (1) 在过滤管中加入 20  $\mu$ L 甲醇活化过滤管, 准备上样; (2) 吸取尿样 30  $\mu$ L 上样; (3) 加入 120  $\mu$ L 甲醇沉淀蛋白; (4) 2100 rpm 震荡 60 秒; (5) 抽滤 120 秒; (6) 样品转移至自动进样器进样 2  $\mu$ L, 流程如图 1 所示。

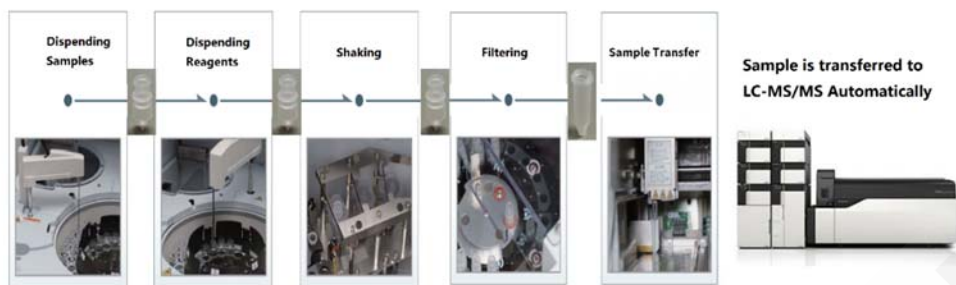


图 1. CLAM-2030 自动前处理流程

## 2. 结果与讨论

本实验采用岛津生物样本全自动在线前处理系统CLAM-2030进行尿样的前处理, 样品处理结束后会自动将样品输送到LC-MS/MS的自动进样器单元进行进样分析。本文中样品自动前处理程序包括吸取样品、吸取蛋白沉淀剂、振摇和过滤, 总时间约5 min, 在LC-MS/MS进行分析的同时, 自动前处理程序也在同时进行, 并且CLAM-2030会根据前处理流程同时处理2-3个样品, 即对样品的处理进行到振摇这一步骤时, 系统会自动开始序列中下一个样品的处理。这种交叉处理样本的行为使得每个样品的LC-MS/MS分析时间间隔为5 min, 如图2所示。



图 2. CLAM-2030 与 LC-MS/MS 联用工作模式

### 2.1 基质标准品色谱图

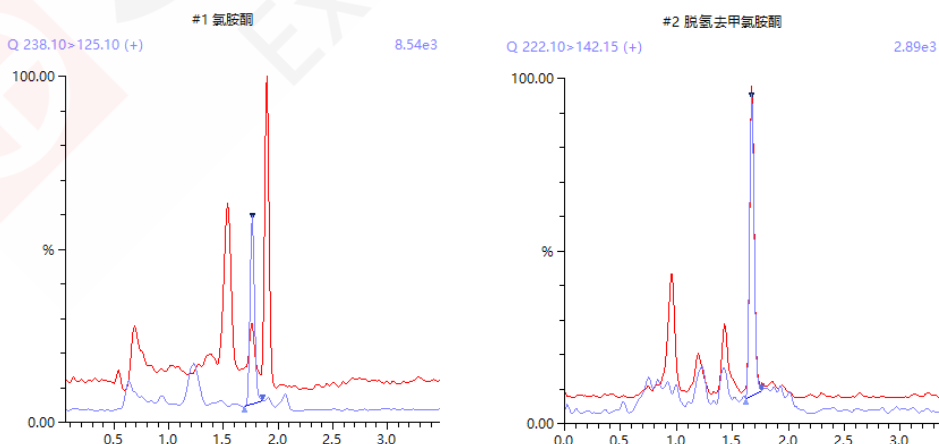


图 3. 空白尿样加标 0.5 ng/mL 氯胺酮和脱氢去甲氯胺酮色谱图

## 2.2 校准曲线

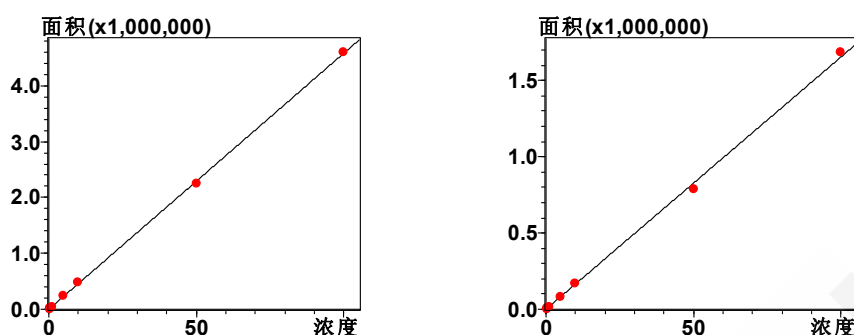


图 4. 氯胺酮和脱氢去甲氯胺酮校准曲线 (0.2~100 ng/mL, 左: 氯胺酮; 右: 脱氢去甲氯胺酮)

在空白尿样中添加目标物标准溶液, 依次配制成浓度分别为0.2、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100 ng/mL的加标溶液, 按上述1.3处理流程处理样品后分析, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果如图4及表3所示。

表 3. 校准曲线 (权重 1/C)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
氯胺酮	$Y = (45780.9)X + (878.8)$	0.2~100	0.9998	88.7~106.8
脱氢去甲氯胺酮	$Y = (16540.1)X + (505.1)$	0.2~100	0.9995	90.0~112.6

## 2.3 精密度实验

浓度为0.5、5、50 ng/mL的空白尿样加标样, 按照1.3的处理流程, 分别连续平行测定6次, 考察该系统的精密度, 结果如表4所示, 表明CLAM-2030自动前处理液质联用系统对目标物的分析方法精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

名称	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
氯胺酮	0.5	0.03	3.56
	5	0.04	1.56
	50	0.03	2.18
脱氢去甲氯胺酮	0.5	0.04	4.24
	5	0.05	3.34
	50	0.03	1.27

## 2.4 质控样品测试结果

空白样品中分别加入0.5, 5和50 ng/mL标准样品作为质控样QCL,QCM和QCH, 标示浓度和允许波动范围如表5所示, 实际检测浓度在允许波动范围内。

表 5. 质控样品检测结果

化合物	标示浓度 (ng/mL)			允许波动范围 (ng/mL)			实测浓度 (ng/mL)		
	QCL	QCM	QCH	QCL	QCM	QCH	QCL	QCM	QCH
氯胺酮	0.5	5	50	0.4-0.6	4-6	40-60	0.52	5.10	48.8
脱氢去甲氯胺酮	0.5	5	50	0.4-0.6	4-6	40-60	0.46	4.98	47.4

### 3. 结论

本文使用岛津全自动在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS在线联用系统，建立了人尿样中氯胺酮及其代谢物脱氢去甲氯胺酮的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到LC-MS/MS自动进样器均靠仪器自动完成，减少了人为误差，提高分析的准确度，适合尿样中苯丙胺类毒品的快速定量检测。本实验中基质标曲不同浓度点准确度在88.7~112.6%之间，不同浓度加标样品重复进样6次，保留时间RSD均小于0.1%，峰面积RSD均小于4.5%，质控样本实测浓度在允许波动范围内。实验结果表明：该方法适合尿样中氯胺酮及其代谢物脱氢去甲氯胺酮的快速定量检测。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用快速测定尿样中的致幻剂

## 麦角酸二乙胺

**摘要:** 本文采用CLAM-2030自动样品前处理液质联用系统,以尿样中麦角酸二乙胺(LSD)的快速检测为例,探讨了该系统用于涉毒检材处理的可行性。采用CLAM-2030自动样品前处理仪对尿样以蛋白质沉淀方式进行前处理后,与LCMS-8050在线联用进行检测。分析结果显示,在0.005~200 ng/mL线性范围内,校准曲线相关系数为0.9964;检出限和定量限分别为0.001 ng/mL和0.002 ng/mL;低、中、高三个浓度加标样的回收率在74.81~90.41%之间(n=6);保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.12~0.56%和1.79~5.43%之间(n=6)。结果表明CLAM-2030自动前处理液质联用系统重复性及精密度良好,可用于尿样中毒品检测。采用该系统,涉毒检材前处理实现了自动化,提高了工作效率,减少了有机试剂及生物样品对实验员的潜在伤害。

**关键词:** CLAM-2030自动样品前处理系统 液质联用 尿样 麦角酸二乙胺

尿液是涉毒案件中常用的生物检材,其中药物原体和代谢物浓度较高。研究证明,药物原体及代谢物浓度以及浓度比对于摄药时间、摄药量、摄药方式的判断具有重要参考价值。然而尿样基质较为复杂,对测试干扰大,因此对尿样检材进行合适的前处理对分析结果的准确性至关重要。

蛋白质沉淀法(PPT)是一种简单、快速、方便的生物样品预处理技术,其优点包括:1、几乎适用于任何极性的小分子化合物;2、一个标准的操作流程适合所有的化合物;3、快速;4、回收率高。但手动PPT操作费时费力,操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀试剂和生物样品,具有潜在的生物危害风险,因此亟需发展一种自动化程度高、安全性好的自动PPT仪器。

本文以尿样中致幻剂麦角酸二乙胺(LSD)的检测为例,说明了CLAM-2030自动前处理液质联用系统用于尿液检材中毒品检测的可行性及便捷性,考察了CLAM-2030处理样品时的回收率及重复性,此外还考察了线性范围和灵敏度。采用本文中的方法,样品前处理实现了自动化,分析速度快,灵敏度高,重复性好,能够对尿样中的LSD进行快速检测。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050,具体配置如下:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>SR</sub>
输液泵	: LC-30AD x 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack XR-ODS III, 75 mm x 2.1 mm I.D., 1.6  $\mu$ m  
 流 动 相 : A相-水+0.1%甲酸+2mM 乙酸铵, B相-甲醇+0.1%甲酸+2mM 乙酸铵  
 流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C  
 进 样 量 : 3  $\mu$ L  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 20%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	20
3.50	泵	B Conc	95
4.50	泵	B Conc	95
4.51	泵	B Conc	20
6.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)  
 加热气流速 : 空气 10.0 L/min  
 雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min  
 干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min  
 扫描模式 : 多反应监测(MRM)

加热模块温度 : 400  $^{\circ}$ C  
 接口温度 : 300  $^{\circ}$ C  
 D L 温度 : 250  $^{\circ}$ C  
 接口电压 : 0.5 kV  
 M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

中文名称	CAS.No.	英文名称 (简称)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
麦角酸二乙胺	50-37-3	Lysergic acid diethylamine(LSD)	324.15	223.10* 208.10	-15 -15	-24 -31	-24 -21

\*代表定量离子对

### 1.3 样品制备

在CLAM-2030控制软件界面,选择自动前处理参数,包括蛋白沉淀剂使用量、涡旋转速、涡旋时间、抽滤时间等建立前处理KIT。样品分析过程中直接调用该KIT即可快速启动分析工作,无需再次输入参数,一劳永逸,方便快捷。

#### 1.3.1 样品前处理流程:

(1)、吸取20  $\mu$ L甲醇活化过滤管;(2)、加入尿样30  $\mu$ L;(3)、加入120  $\mu$ L甲醇沉淀蛋白;(4)、2100 rpm震荡60秒;(5)、抽滤120秒;(6) 样品转移至自动进样器进样3  $\mu$ L。

#### 1.3.2 回收率测定处理流程:

前加标处理流程: 1.3.1步骤 (2) 改为加入30  $\mu$ L超纯水然后再加入30  $\mu$ L含LSD的尿样(LSD浓度分别为0.2、10、200 ng/mL), 其余同1.3.1;

后加标处理流程: 1.3.1步骤步骤 (6) 改为加入含LSD的超纯水30  $\mu$ L (LSD浓度分别为0.2、10、200 ng/mL)、2100 rpm震荡60秒, 最后样品转移至自动进样器进样3  $\mu$ L; 其余同1.3.1。

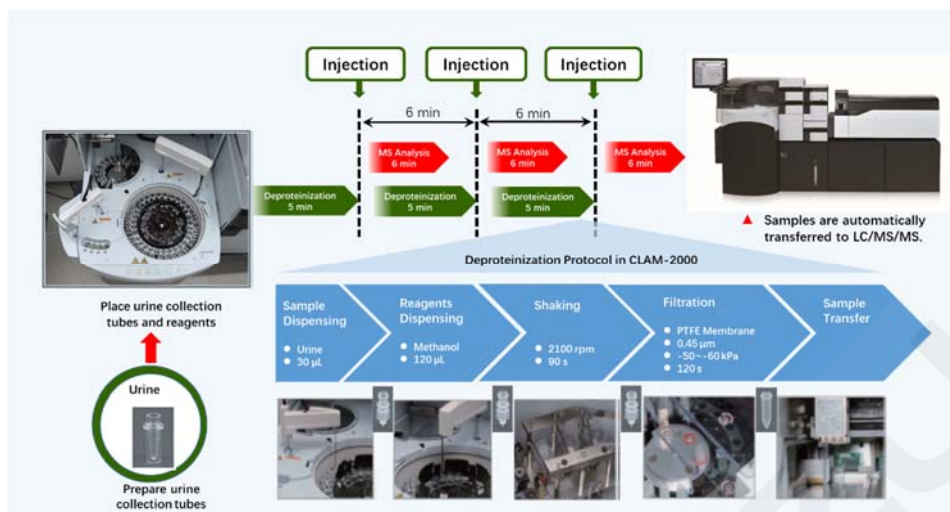


图 1. CLAM-2030 处理样品流程示意图

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品及空白基质的 MRM 色谱图

取空白尿样及空白尿样加标样（LSD加标浓度0.02 ng/mL），采用1.3.1处理流程处理，得到如图2和图3的色谱图，空白尿样基质不干扰目标物的检测。

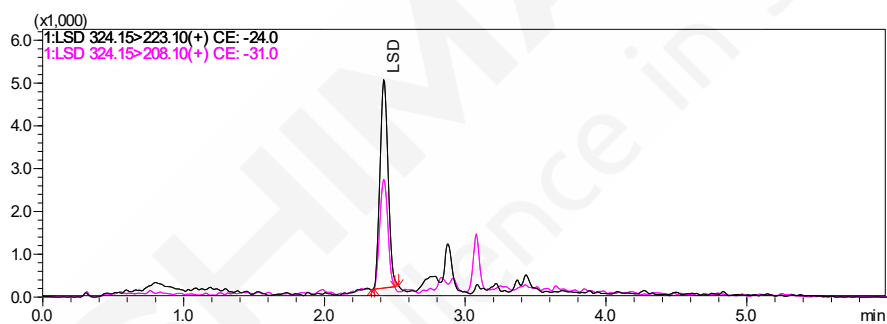


图 2. 0.02 ng/mL 尿样加标样 CLAM-2030 处理后进样分析的 MRM 色谱图

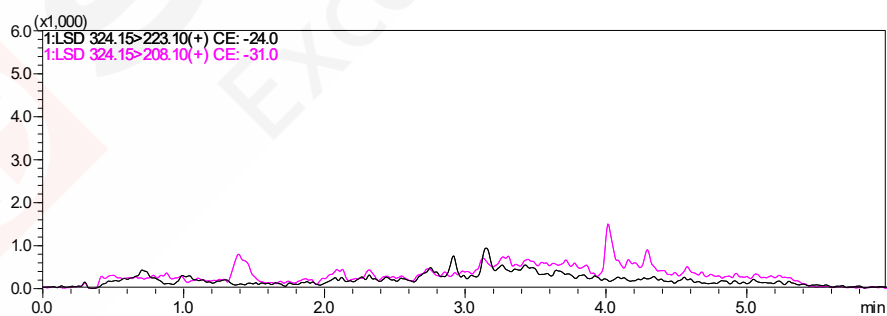


图 3. 尿样空白的 MRM 色谱图

### 2.2 校准曲线

在空白尿样中添加LSD标准溶液（100 µg/mL），依次配制成浓度分别为0.005、0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、200 ng/mL的加标样品，按上述1.3.1处理流程处理样品后分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果如图5及表3所示。对浓度为0.005 ng/mL加标样按1.3.1处理后分析，得到分析结果中定量通道（324.15>223.10）



的信噪比为24.65。

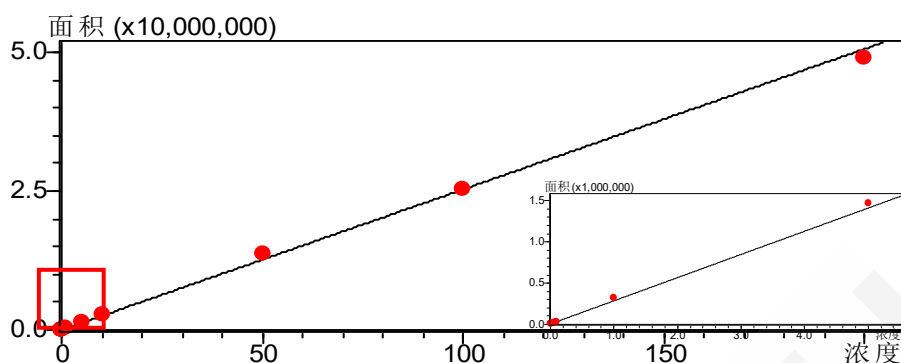


图 4. LSD 标准工作曲线

表 3. 工作曲线参数 (权重 1/C2)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
LSD	$Y = (281480)X + (4882.76)$	0.005~200	0.9964	87.2~113.9

### 2.3 精密度实验

浓度为0.1、5、100 ng/mL的空白尿样加标样，按照1.3.1的处理流程，分别连续平行测定6次，考察该系统的精密度，结果如表4所示，表明CLAM-2030系统对LSD的分析方法精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

名称	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
LSD	0.1	0.56	5.43
	5	0.23	3.07
	100	0.12	1.79

### 2.4 回收率实验

按照1.3.2回收率测试处理流程，分别处理低、中、高三个浓度样品，以前加标样品峰面积和相应浓度后加标样品峰面积的比值作为回收率，则CLAM-2030处理LSD的回收率在74.81~90.41%之间。

表 5. 加标回收实验结果(n=6)

目标物名称	加标浓度 (ng/mL)	回收率(%)	回收率 RSD (%)
LSD	0.1	74.81	4.95
	5.0	90.41	3.77
	100.0	85.23	1.88

## 3. 结论

本文以麦角酸二乙胺为例，探讨了CLAM-2030自动样品前处理液质联用系统用于尿液中毒品自动化快速检测的可行性。分析结果显示低、中、高三个浓度加标样的回收率在74.81~90.41%之间，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.12~0.56%和1.79~5.43%之间 (n=6)，表明仪器具有良好回收率和稳定性，此外线性范围、检出限和定量限均满足日常检测要求。由此可知CLAM-2030自动前处理液质联用系统可用于尿样中毒品检测。

CLAM-2030系统可实现涉毒检材检测实验中关键工作流程的自动化,最大限度的减少操作人员与生物样本和有机试剂等的接触,只需简单放入检材、必要试剂和专用处理管,便可进行在线自动前处理,最大程度消除了手动处理生物样品带来的未知生物感染风险及有机试剂等的伤害,数据的重复性、样品的回收率等均符合检定规程SFZ JD0107005-2016血液、尿液中238种毒(药)物的检测液相色谱-串联质谱法的要求,可为法医生物检材的处理、检测提供一种新手段



## CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用在滥用药物检测中的应用

**摘要:** 利用LC-MS/MS方法分析生物基质中的药物和药物化合物时,通常需要使用手动前处理方式进行样品制备。在本研究中,我们报告了一种全自动前处理系统,可直接与LC-MS/MS联用进行苯丙胺、可卡因和鸦片制剂的测定。该方法中包含42种目标化合物和20种氘代内标物。样品前处理是通过直接与LC-MS/MS系统(Nexera X2反相LC分离和LCMS-8060, Shimadzu)连接的可编程液体处理器(CLAM-2030, Shimadzu)进行的。在正离子化模式下进行采集,每种化合物使用高达15个多反应监测(MRM)通道,每个MRM通道均有优化的碰撞能量(MRM扫描模式),从而在定量之外实现定性库检索。已成功设计该方法为平行样品制备和分析提供支持,因此大幅提高了样品处理通量,缩短了周期时间。

**关键词:** CLAM-2030自动样品前处理系统 液质联用 滥用药物

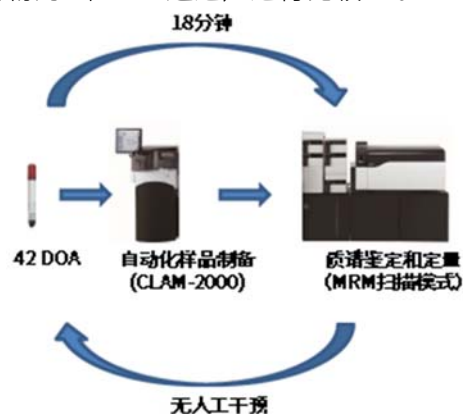
鸦片制剂、苯丙胺(包括类似物)和可卡因是广泛使用的滥用药物(DOA)。许多实验室已开发出LC-MS/MS方法用于鉴定和定量这些化合物<sup>[1-5]</sup>。临床和法医毒理学(怀疑药物过量、监控吸毒者、毒驾和兴奋剂检查)中的许多应用均需使用这些检测方法。

为了在不影响准确度、精确度和检测限的情况下最大程度地减少假阳性或假阴性结果,开发方法时结合了MRM检测的灵敏度和MRM扫描模式的鉴定能力。该方法可以监测每种化合物多达15个MRM通道,实现准确且精确的定量,以及库可检索化合物的鉴定。每个MRM通道均优化了离子的碰撞能量。利用每个MRM通道的离子强度构建MRM扫描谱图,从而与已记录的库MRM扫描谱进行检索匹配。

为了开发临床毒理学分析中使用的自动通用样品制备方法,将自动样品前处理系统(CLAM-2030)连接到LC-MS/MS系统(LCMS-8060)。将样品试管放到自动系统后,无需人工干预,样品被自动输送到含过滤膜的处理管中,然后向处理管中加入试剂,混合,然后过滤。最后,将提取物进样到LC-MS/MS系统中。

从精密度、重复性、基质效应、提取率、基质间一致性、稀释试验和稳健性方面对该程序进行了全面验证。

为了检测可行性,将该方法用于病人的全血或血浆样品分析,并与已经过验证的LC-MS/MS方法(每个目标化合物的2个MRM通道)进行比较<sup>[5]</sup>。



## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8060

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Restek Raptor Biphenyl, 100 mm x 2.1 mm I.D., 2.7  $\mu$ m  
流 动 相 : A 相-2 mmol/L 甲酸铵和 0.002%甲酸, B 相-含有 2 mmol/L 甲酸铵  
和 0.002%甲酸的甲醇  
进 样 量 : 3  $\mu$ L 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C  
流 速 : 0.3 mL/min, 11-16.2 min 流速为 0.5 mL/min  
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 10%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.0	泵	B Conc	10
2.0	泵	B Conc	40
10.5	泵	B Conc	100
13.5	泵	B Conc	100
13.51	泵	B Conc	10
17.0	控制器	STOP	

#### 质谱条件

离子化模式 : ESI +/- 加热模块温度 : 400  $^{\circ}$ C  
加热气流速 : 空气 10.0 L/min 接 口 温 度 : 300  $^{\circ}$ C  
雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min D L 温 度 : 250  $^{\circ}$ C  
干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min 驻 留 时 间 : 3-10 msec  
扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM) M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

中文名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
2-Cl	308.00	290.85*	-11	-14	-13
		275.85	-11	-24	-29
2C-B	260.05	242.90*	-10	-12	-11
		227.85	-10	-22	-23
3,4-亚甲基二氧吡咯戊 酮	276.15	126.10*	-10	-14	-12
		175.00	-10	-12	-17
4-MTA	182.10	117.10*	-12	-21	-11
		165.05	-12	-12	-10
6-乙酰吗啡	328.35	164.95*	-12	-39	-16
		211.00	-12	-27	-21
6-乙酰吗啡-D3	331.35	165.15*	-24	-43	-17
		211.10	-24	-27	-21

苯丙胺	136.10	91.00*	-10	-22	-17
		119.05	-10	-15	-20
苯丙胺-D5	141.10	93.10*	-15	-18	-17
		124.15	-15	-14	-13
芽子定甲酯	182.10	118.00*	-12	-23	-11
		91.05	-12	-29	-20
BDB	194.10	135.00*	-13	-20	-13
		177.05	-13	-12	-17
苯甲酰芽子碱	290.15	168.05*	-11	-10	-16
		77.00	-11	-29	-13
苯甲酰芽子碱-D3	293.15	171.20*	-14	-20	-17
		77.05	-14	-56	-13
丁丙诺啡	468.30	54.95*	-16	-52	-20
		396.00	-16	-41	-26
丁丙诺啡-D4	472.30	59.10*	-13	-50	-22
		88.10	-13	-50	-16
可卡乙碱	318.15	196.00*	-20	-10	-20
		76.95	-20	-32	-30
可卡乙碱-D3	321.15	199.25*	-12	-21	-22
		85.20	-12	-32	-16
可卡因	304.15	182.00*	-11	-10	-20
		76.95	-11	-30	-29
可卡因-D3	307.15	185.15*	-22	-19	-20
		85.25	-22	-31	-15
可待因	300.15	215.00*	-11	-25	-22
		151.95	-11	-62	-28
可待因-D3	303.15	215.25	-14	-26	-20
		181.20	-14	-37	-17
右美沙芬	272.20	171.00*	-10	-20	-17
		215.05	-10	-12	-14
二氢可待因	302.20	198.95*	-11	-33	-19
		127.95	-11	-64	-23
二氢可待因-D3	305.20	199.15*	-15	-35	-21
		128.30	-15	-55	-25
芽子碱甲酯	200.15	182.05*	-12	-18	-18
		82.05	-12	-26	-13
芽子碱甲酯-D3	203.15	185.25*	-14	-18	-13
		85.20	-14	-26	-30
EDDP	278.20	234.00*	-10	-17	-20
		249.05	-10	-13	-16
EDDP-D3	281.20	234.30*	-19	-31	-16
		249.35	-19	-25	-17
麻黄碱-D3	169.15	151.25*	-17	-14	-16
		91.20	-17	-33	-17
乙吗啡	314.20	152.00*	-12	-65	-14
		165.00	-12	-42	-16

氢可酮	300.15	198.95*	-11	-31	-20
		127.90	-11	-59	-22
氢吗啡酮	286.15	185.00*	-10	-30	-19
		157.00	-10	-42	-15
MBDB	208.15	134.95*	-20	-6	-20
		50.95	-20	-60	-19
m-CPP	197.10	118.10*	-12	-34	-11
		154.00	-12	-20	-15
MDA	180.10	105.05*	-12	-21	-22
		163.05	-12	-13	-16
MDA-D5	185.10	110.15*	-13	-22	-11
		168.15	-13	-13	-18
MDEA	208.15	163.00*	-11	-13	-15
		105.00	-11	-25	-10
MDEA-D5	213.15	163.15*	-23	-14	-30
		105.20	-23	-28	-18
MDMA	194.10	163.05*	-13	-15	-28
		105.05	-13	-25	-18
MDMA-D5	199.10	165.15*	-21	-15	-18
		107.15	-21	-25	-11
甲氧麻黄酮	178.10	145.05*	-13	-20	-14
		160.05	-13	-15	-10
美沙酮	310.20	310.20*	-18	-8	-21
		76.95	-18	-30	-13
美沙酮-D9	319.20	268.25*	-20	-20	-20
		105.05	-20	-25	-20
甲基苯丙胺	150.15	91.00*	-10	-22	-20
		119.05	-10	-16	-21
甲卡西酮	164.10	131.05*	-30	-21	-23
		146.05	-30	-16	-30
甲硫丙胺	156.1	97.00*	-11	-23	-10
		58.00	-11	-12	-23
哌醋甲酯	234.15	84.00*	-20	-8	-20
		91.00	-20	-46	-17
吗啡	286.15	152.00*	-10	-60	-15
		201.00	-10	-27	-20
吗啡-D3	289.15	152.10*	-14	-59	-26
		201.15	-14	-26	-21
纳洛酮	328.15	310.00*	-12	-21	-21
		212.00	-12	-39	-22
纳洛酮-D5	333.15	315.20*	-12	-20	-22
		258.10	-12	-29	-27
纳曲酮	342.15	324.05*	-12	-22	-15
		270.05	-12	-28	-28
纳曲酮-D3	345.15	327.15*	-16	-22	-23
		270.15	-16	-28	-29

去甲丁丙诺啡	414.25	54.90*	-28	-63	-24
		83.05	-28	-50	-14
去甲麻黄碱	152.10	134.05*	-10	-15	-13
		115.05	-10	-25	-11
去乙芬氟拉明	204.10	159.00*	-14	-20	-15
		109.05	-14	-40	-18
去甲羟考酮	302.15	199.00*	-11	-37	-20
		196.95	-11	-26	-20
去甲羟考酮-D3	305.15	287.15*	-22	-17	-20
		190.10	-22	-25	-20
去甲伪麻黄碱	152.10	134.05*	-10	-15	-13
		115.05	-10	-25	-11
羟考酮	316.15	298.00*	-12	-20	-20
		240.95	-12	-29	-24
羟考酮-D3	319.15	301.10*	-23	-19	-21
		259.10	-23	-26	-27
福尔可定	399.25	114.05*	-14	-36	-11
		381.05	-14	-25	-18
利太林酸	220.15	84.10*	-14	-22	-14
		56.05	-14	-44	-22

\*代表定量离子对

### 1.3 样品制备

样品自动输送到含过滤膜的处理管中，然后向处理管中加入试剂，混合，然后过滤。

向含PTFE过滤膜的处理管（0.45 μm孔径，预先用20 μL甲醇活化平衡）准确地加入100 μL乙腈。然后加入50 μL血浆（或全血）和10 μL内标溶液（0.2 mg/L，溶剂为乙腈），将混合物震荡120秒（1900 rpm），然后施加真空压力（-60到-65kPa）120秒将其过滤到收集管中。最后，将3 μL提取物进样到LC-MS-MS系统中。

## 2. 结果与讨论

利摩日大学医院的药理学-毒理学实验室致力于获得国际标准组织 (ISO) 15189标准 (认证编号：8-2607) 的认证。这些要求用于本方法。

开展稳健性研究来评估由标准曲线提供的可接受定量准确度。在4周内，使用新鲜制备的校准标准品来定量新鲜制备的质控准品（5和50 ng/mL）。首先使用和质控样同一天制备的校准标准品数据来处理质控样数据，然后使用最多4周内的校准标准品数据对质控样数据进行重新处理。

### 2.1 方法学验证结果

表3中总结了验证研究的结果。获得了所有探讨参数的验收标准。关于批内和批间 (n=6) 的精确度和准确度，CV值小于15%（苯甲酰芽子碱、可卡乙碱、EDDP和纳曲酮除外，这四种化合物的LLOQ报告值小于20%）。使用含1/x或1/x<sup>2</sup>加权回归的二次模型，所有化合物标准曲线（从LLOQ到500 ng/mL）的相关系数均高于0.99。根据每个化合物需求，LLOD和LLOQ设置为1、2.5或5 ng/mL。在本报告的实验条件下无基质效应现象 (n=6)。稀释试验 (n=

3) 也报告获得了良好的结果。

用最多一个月前获得的标准曲线对质控品 (5和50 ng/mL) 进行定量, 产生的准确度变化范围在70和130%之间。5 ng/mL和50 ng/ml质控品的最大CV值分别为13.0%和14.9%。使用一个月后采集的标准曲线对质控品进行定量, 也获得了较好的准确度。5 ng/ml和50 ng/ml质控品的最大CV值分别为13.4%和14.2%。图1说明了2种同分异构体化合物的方法。

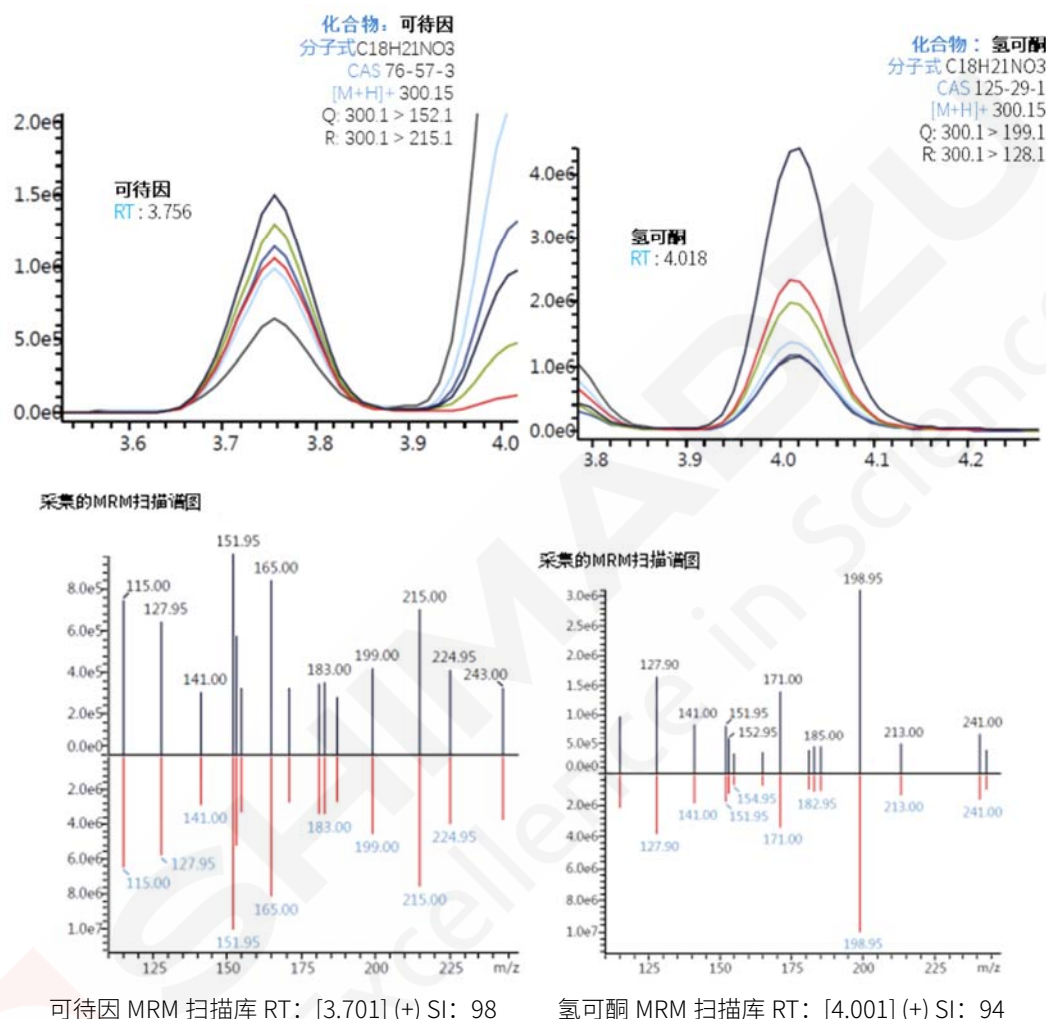


图 1. 运用 CLAM-2030 提取方法从血浆样品提取的可待因和氢可酮的 MRM 扫描模式 MS/MS 数据

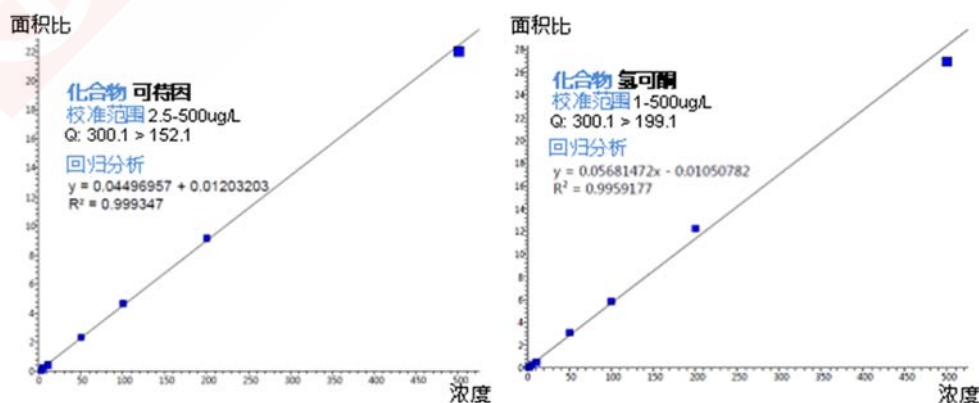


图 2. 提取自血浆样品的可待因和氢可酮的标准曲线数据 (校准范围: 1-500 ug/L)



表 3. 方法验证数据

相关内标	LLOQ	SI	回收率 (%) (%RSD)		批内精确度 (%) (%RSD)			批间精确度 (%) (%RSD)			稀释试验 (%) (%RSO)		
	(ng/ml)	(LLOQ)	LLOQ(n=6)	500 ng/mL (n=6)	LLOQ(n=6)	50ng/mL(n=6)	500 ng/mL (n=6)	LOQ(n=6)	50 ng/mL (n=6)	500 ng/mL (n=6)	(1.5*ULOQ)/10(n=3)	(1.5*ULOQ)/4(n=3)	(1.5*ULOQ)/2(n=3)
可卡因-D3	2,5	85	103.1 (4.2)	112.5 (3.1)	102.2 (6.3)	95.5(3.4)	88.4 (0.9)	99.9 (4.0)	102.7 (5.3)	105.2 (6.6)	88.6 (9.6)	108.2 (1.7)	102.1 (3.7)
可卡因-D3	2,5	89	112.0(11.7)	111.8 (3.2)	93.7 (8.4)	86.0(2.2)	94.3 (0.6)	102.7 (7.6)	96.9 (3.9)	102.5 (4.2)	85.4 (5.0)	104.1 (4.1)	101.4 (3.9)
可卡因- D3	1	98	92.3(10.7)	106.8 (2.9)	103.8 (3.5)	101.5 (2.0)	85.3 (0.9)	113.6 (6.7)	102.5 (4.5)	103.9 (4.7)	89.9 (11.1)	113.3 (0.7)	104.5 (3.0)
可卡因-D3	2,5	95	111.6 (6.7)	106.6 (2.3)	94.8 (6.3)	88.5 (3.1)	92.6 (1.2)	109.3 (9.6)	102.6 (6.6)	106.1 (4.2)	94.9 (3.2)	103.3 (3.9)	95.8 (2.2)
6-乙酰吗啡- D3	5	94	93.4 (9.8)	91.4 (4.4)	95.6 (9.7)	99.1 (4.1)	86.8 (2.8)	96.0 (7.4)	97.8(5.2)	107.8(9.9)	90.9 (14.2)	112.2 (2.0)	104.7 (8.6)
苯丙胺-D5	5	90	95.6 (9.4)	102.8 (2.1)	104.7 (8.9)	112.0 (4.2)	85.3 (0.7)	103.8 (9.1)	96.1 (6.0)	104.6 (5.3)	89.0 (10.4)	107.3 (5.6)	103.6 (4.6)
吗啡-D3	5	94	114.5 (10.4)	110.6 (8.7)	114.0(2.8)	107.4 (7.0)	104.2 (3.8)	93.7 (5.6)	97.0(2.0)	108.9 (7.5)	91.2 (1.2)	111.2 (5.0)	101.0 (4.3)
MDEA-D5	5	95	77.1 (12.2)	100.9 (0.9)	93.6 (9.0)	96.7 (2.1)	95.1 (1.0)	101.3 (8.8)	99.6 (2.3)	107.5 (10.2)	89.4 (6.2)	104.5 (3.1)	100.6 (4.3)
苯甲酰芽子碱-D3	1	94	103.7 (2.1)	105.8 (3.0)	117.5 (3.5)	85.7 (0.7)	86.0 (1.4)	113.9 (7.6)	96.4(2.2)	101.5 (4.1)	87.9 (7.7)	111.2 (3.0)	106.8 (2.3)
丁丙诺啡-D4	2,5	96	106.5 (13.4)	107.5(1.8)	95.4 (10.6)	101.8 (5.0)	104.7 (3.4)	107.2 (9.0)	97.0 (3.2)	104.1 (10)	85.7 (5.9)	110.5 (5.0)	107.0 (12.7)
可卡乙碱-D3	1	96	92.4 (7.1)	95.1 (2.4)	116.0 (1.4)	87.4 (0.8)	86.7(0.8)	115.1(7.8)	94.3 (3.1)	104.2 (7.0)	86.9 (1.6)	110.0 (4.1)	108.1 (5.1)
可卡因-D3	1	96	83.8(0.3)	99.5 (2.4)	100.7 (3.0)	92.7 (1.2)	87.3 (0.6)	99.7 (5.1)	100.2 (3.0)	95.1 (5.8)	85.8 (3.1)	108.9 (3.6)	93.9 (3.8)
可待因-D3	2,5	96	99.9(12.4)	96.9 (7.2)	104.5 (8.3)	87.0 (1.3)	89.7 (6.1)	100.5 (13.9)	95.7 (8.0)	99.0 (10.1)	89.0 (13)	106.2 (4.8)	99.4 (3.1)
可卡因-D3	1	97	94.8(6.1)	107.3 (2.6)	106.0 (4.5)	103.7 (2.1)	89.1 (1.9)	106.3 (6.3)	107.6 (5.0)	103.7(7.2)	88.2 (11.9)	114.2 (5.0)	103.2 (3.0)
二氢可待因-D3	2,5	93	105.8 (6.0)	108.9 (8.1)	94.9 (8.7)	98.9 (2.3)	86.4(2.8)	101.1 (9.3)	95.6 (5.1)	104.5 (7.7)	88.1 (7.4)	111.0 (5.7)	105.8 (3.9)
芽子碱甲酯-D3	1	93	89.6(11.2)	110.6 (15)	104.8 (8.9)	90.5 (1.1)	92.1(6.6)	108.6 (16.1)	97.5 (5.2)	103.5 (6.5)	89.5 (2.8)	112.4 (5.5)	98.9 (4.6)
EDDP-D3	1	92	102.8 (1.5)	91.1 (2.6)	117.2 (4.3)	85.8 (1.3)	86.1 (2.5)	113.0(12.4)	97.0 (4.3)	100.4 (5.9)	85.4 (8.6)	109.1 (3.4)	105.5 (4.3)
MDEA- D5	2,5	91	78.2 (16.4)	81.5 (5.1)	82.7 (11.2)	90.7 (2.8)	85.5 (1.7)	102.4 (13.3)	98.8 (8.8)	98.9 (3.5)	85.9 (4.3)	104.8 (1.8)	100.3 (4.2)
MDMA-D5	1	88	78.3 (3.1)	78.2 (4.2)	115.0 (5.8)	85.5 (3.6)	89.0 (2.5)	109.5 (12.8)	98.2 (3.8)	102.6 (8.8)	85.9 (3.6)	108.7 (6.6)	100.7 (5.1)
吗啡-D3	5	96	84.3(15.0)	84.1(4.2)	89.1 (4.1)	91.7 (1.5)	85.6 (1.7)	103.6 (11.4)	92.6 (5.1)	110.3 (5.4)	91.0 (4.9)	104.4 (5.6)	95.0 (4.5)
苯甲酰芽子碱-D3	1	97	71.5 (6.2)	87.0 (3.6)	103.1 (5.0)	90.3 (1.5)	85.1 (1.4)	103.5 (9.9)	100.2 (2.6)	95.9 (4.1)	89.2 (7.2)	114.8 (2.6)	99.1 (2.0)
苯甲酰芽子碱-D3	2,5	93	101.1 (6.9)	96.0 (2.3)	84.8 (7.6)	90.8 (3.0)	86.8(2.8)	112.6 (6.8)	94.6(6.0)	105.7(6.9)	89.9 (13.5)	113.3 (1.4)	109.3 (7.7)
MDA-D5	5	91	79.4 (1.5)	97.3 (5.8)	94.3 (10)	101.7 (3.9)	86.0 (3.4)	90.2 (6.6)	95.3 (3.6)	101.7(9.5)	87.9 (5.7)	105.7 (7.5)	106.1 (14.4)
MDEA- D5	1	91	77.3(12.0)	87.8(3.7)	112.1 (3.7)	88.2 (3.2)	88.3 (1.4)	112.9 (7.6)	97.6(2.6)	103.3 (5.4)	86.0 (6.4)	105.6 (3.5)	103.2 (2.2)
MDMA- D5	5	81	81.8 (6.5)	78.7 (6.2)	103.7 (3.2)	103.6 (2.3)	85.6 (1.2)	91.4 (7.8)	99.6 (4.1)	103.9 (7.3)	85.1 (2.1)	112.1 (5.5)	101.4 (4.7)
MDEA- D5	1	86	73.8 (19.6)	87.3 (5.1)	106.9 (7.7)	94.8 (4.1)	85.8 (2.8)	104.2 (9.2)	99.9 (3.5)	100.4(1.9)	85.1 (5.5)	109.2 (2.2)	102.4 (2.7)
美沙酮-D9	1	98	83.9 (4.1)	89.4 (3.4)	105.1 (7.0)	93.6 (0.8)	85.5 (0.4)	106.2 (7.7)	101.7 (3.2)	103.6 (8.3)	85.1 (10.6)	111.3 (2.2)	103.4 (3.5)
二氢可待因-D3	1	93	92.3(17.0)	114.0 (3.3)	106.0 (8.0)	109.7 (2.0)	86.2 (1.7)	111.7(11.4)	99.4 (6.3)	101.7(6.8)	88.3 (1.7)	114.5 (5.7)	107.1 (2.1)
苯丙胺-D5	2,5	97	80.1 (15.0)	85.7 (8.4)	84.1 (3.5)	99.4 (1.75)	87.3 (5.5)	102.1 (6.0)	96.4 (8.4)	105.4 (6.5)	88.8 (9.8)	101.8 (6.3)	99.2 (6.9)
苯丙胺-D5	2,5	95	94.2 (17.0)	103.1(6.9)	90.1 (5.3)	101.6 (4.3)	87.5 (3.1)	110.3 (7.9)	92.4 (3.8)	95.8 (6.2)	89.6 (8.0)	106.6 (5.9)	104.7 (4.9)
可卡因-D3	1	99	81.3 (4.4)	90.7 (0.9)	101.8(3.7)	89.6 (2.2)	85.6 (3.3)	103.0 (6.3)	99.6 (5.0)	98.4 (8.4)	88.0 (2.7)	112.5 (4.1)	90.5 (2.2)
吗啡-D3	5	95	65.8(12.7)	77.9 (9.6)	88.9 (10.2)	94.0 (2.8)	87.3 (2.2)	102.7 (12.5)	98.0 (4.7)	107.1 (9.3)	92.6 (4.5)	110.5 (3.1)	100.6 (5.9)
纳洛酮-D5	2,5	92	103.4(4.4)	102.6(10.3)	88.9 (10.2)	94.0 (2.8)	87.3 (2.2)	102.7 (12.5)	98.0 (4.7)	107.1(9.3)	85.2 (8.7)	108.3 (4.9)	101.2(8.0)
纳曲酮-D3	1	91	95.9(13.9)	85.8 (1.8)	115.9 (6.3)	86.9 (2.0)	88.7 (1.5)	119.9 (5.4)	93.4 (4.6)	100.7(8.4)	86.9 (9.8)	102.7 (0.6)	97.9 (1.6)
丁丙诺啡-D4	5	86	81.4(12.3)	88.9 (8.7)	100.2 (14.9)	93.2 (9.5)	100.1 (2.9)	96.1 (10.7)	92.9 (6.6)	98.0(3.8)	87.4 (11.6)	92.7 (9.4)	89.6 (7.6)
麻黄碱-D3	5	98	109.7(12.4)	101.2 (14.3)	90.4 (12.2)	87.6 (2.4)	89.4 (2.6)	100.0 (13.9)	99.7 (11.1)	108.0(13.9)	105.7 (4.9)	104.1 (5.4)	101.3 (5.3)
MDEA-D5	1	83	72.8(16.9)	90.4 (3.3)	105.8 (5.6)	86.7 (3.4)	85.7 (2.4)	110.5 (8.1)	97.6 (3.0)	104.3 (6.3)	85.8 (6.5)	106.7 (3.3)	102.0 (4.0)
去甲羟考酮-D3	2,5	80	109.3 (8.0)	106.2 (4.4)	104.5 (14.5)	86.9 (5.0)	85.1 (2.2)	104.1 (13.4)	93.7 (4.6)	103.9 (11.2)	85.6 (1.7)	112.2 (1.7)	107.0 (5.0)
麻黄碱-D3	5	91	90.2 (4.2)	92.8 (6.9)	94.6 (9.7)	89.8 (8.4)	96.8 (7.4)	101.1 (15.2)	101.2 (6.5)	107.6 (10.8)	93.7 (4.3)	110.9 (5.3)	98.5(4.3)
羟考酮-D3	1	96	85.8(9.8)	112.7 (3.8)	86.7 (5.1)	92.3 (2.0)	85.6(4.5)	113.2(6.7)	98.1 (5.0)	102.7 (5.1)	86.2 (4.9)	108.3 (6.8)	104.6 (1.1)
吗啡-D3	2,5	98	69.7(14.3)	90.7 (10.3)	105.8 (5.9)	92.1 (4.5)	91.7 (4.9)	104.3 (9.0)	93.8 (6.2)	108.6 (6.5)	87.1 (4.2)	105.6 (3.3)	96.0 (5.3)
MDEA- D5	5	96	99.6 (11.2)	95.4 (8.3)	93.2 (2.9)	103.3 (2.0)	90.3 (2.6)	97.2 (9.5)	99.1 (3.4)	106.0 (5.2)	93.1 (6.2)	112.6 (2.3)	110.5 (3.8)

## 2.2 整个程序在实际患者中的应用

为了考察全自动样品前处理和LC-MS/MS联用方法的准确性，将运用“CLAM-2030和LCMS-8060”方法检测的43个患者样品（血浆或全血）的定量结果与LCMS-8050系统（使用实验室中经常使用的QuEChERS盐提取方法进行手动样品前处理，该方法已验证）所定量的结果进行对比<sup>[5]</sup>。“CLAM-2030和LCMS-8060”方法通过MRM扫描模式检测，而LCMS-8050系统使用常规MRM方法检测样品。患者血液或血浆样品通过实验室的常规程序获得，例如常规药物检测、DUID（药毒驾）或紧急药物过量。图3显示在这些化合物的定量方面具有总体一致性。

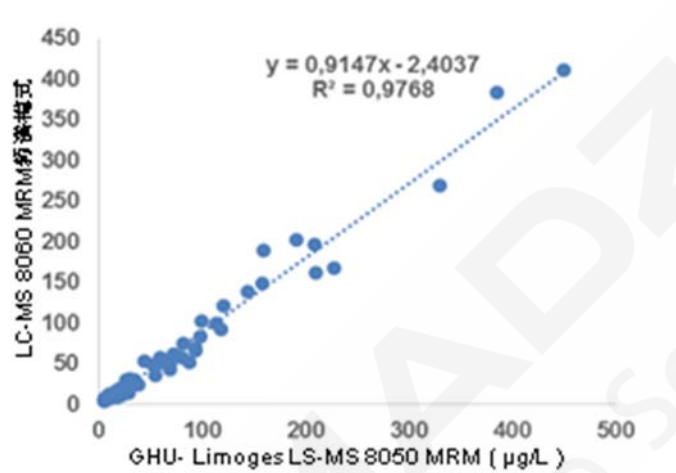


图3. 回归分析：比较两种方法检测 43 例患者血液或血浆样品的结果

## 3. 结论

我们报告了首个全自动LC-MS/MS分析方法用于定性和定量分析血液中DOA，其中还使用MRM扫描模式进行了库搜索。分析程序全部或部分采用自动化技术，消除了手动样品前处理造成的人为误差，并节省了实验室的操作时间，在系统自动执行分析的同时，技术人员可执行其它手动任务。

我们开发出一种方法：将样品管放到系统上后无需人工干预。样品制备与LC-MS/MS系统同步，因此不浪费任何时间。我们使用MRM扫描采集方法，该方法包含被测目标物所有的特色MRM通道。在之前公布的其它方法中，使用产物离子扫描法对所有分子施加两个或三个碰撞能量。我们对每个化合物最多15个通道的碰撞能量均进行了优化。通过这种方法可以获得非常具体而丰富的质谱信息。另外，不使用阈值触发，因此在整个计划采集期间对所有MRM进行了测量。因此，即使在极低的信号强度下，也可生成MRM扫描图。相比标准2-3MRM通道方法，使用极快的延迟时间和驻留时间，测量其它MRM通道的负担不会改变灵敏度，并且经验证42个分子全部符合ISO 15189验证的要求。我们针对42 DOA的分析验证了该方法的特异性、灵敏度和稳健性。我们用患者的一组样品比较了该方法与实验室所认证方法的性能。通过校准曲线重复分析对系统稳定性和稳健性进行研究，结果表明具有良好的重现性。出于质控目的，向未知样品中添加氘代内标，使用最多一个月前的校准曲线来定量未知样品，我们估计可以达到低于20%的不确定度。在急诊患者样品分析的情况下，以这样的速度将未知样品的浓度定量达到该准确度水平，意味着可能在限定的时间范围内施行急救治疗，而使用

常规的样品处理和分析通常无法做到这一点。

## 参考文献

1. Cailleux A, Le Bouil A, Auger B, Bonsergent G, Turcant A, Allain P. Determination of opiates and cocaine and its metabolites in biological fluids by high-performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1999;23: 620-4.
2. Moeller MR, Steinmeyer S, Kraemer T. Determination of drugs of abuse in blood. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;713:91- 109.
3. Sausseureau E, Lacroix C, Gaulier JM, Goulle JP. On-line liquid chromatography/tandem mass spectrometry simultaneous determination of opiates, cocaine and amphetamines in dried blood spots. *J Chromatogr B.* 2012;885-886:17.
4. Anzillotti L, Odoardi S, Strano-Rossi S. Cleaning up blood samples using a modified “QuEChERS” procedure for the determination of drugs of abuse and benzodiazepines by UPLC-MSMS. *Forensic Sci Int.* 2014;243:99- 106.
5. Dulaurent, S., El Balkhi, S., Poncelet, L., Gaulier, J.M., Marquet, P., Saint-Marcoux, F. (2016) QuEChERS sample preparation prior to LC-MS/MS determination of opiates, amphetamines, and cocaine metabolites in whole blood, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(5), 1467-1474.
6. Sauvage, F.L., Gaulier, J.M., Lachatre, G., Marquet, P (2008) Pitfalls and Prevention Strategies for Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry in the Selected Reaction-Monitoring Mode for Drug Analysis, *Clinical Chemistry*, 54:9, 1519-1527.

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定尿液中 9 种合成大麻素类新精神活性物质

**摘要：**本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪CLAM-2030和超高效液相三重四极杆质谱仪LCMS-8050联用系统测定尿液中 5F-MDMB-PICA 等 9 种合成大麻素类新精神活性物质。此联用系统从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到 LCMS/MS自动进样器，全部仪器自动完成，不涉及手动前处理操作。减小了人为误差，提高分析的准确度，适合尿液中合成大麻素类毒品的快速定量检测。本实验中基质校准曲线的线性范围为0.5~100 ng/mL，准确度在82.0%~116.6%之间。选择低中高三个浓度对照品溶液，分别连续进样测定3次，保留时间和峰面积RSD%分别在0.07 %~0.28 %和0.77 %~6.87 %之间。质控样品的平均回收率在76.5~110.8%之间，RSD%在0.45 ~6.72之间。

**关键词：**CLAM-2030 在线自动前处理 三重四极杆质谱 合成大麻素

合成大麻素类新精神活性物质比大麻毒品更容易上瘾、价格低廉、隐蔽性强、不易检测，常被吸毒者作为传统毒品的替代品吸食，在国内滥用案件急剧增加，危害日益凸显。2013年起我国开始将部分合成大麻列入精麻药品管制目录，2021年5月公安部、国家卫生健康委员会和国家药品监督管理局联合发布《关于将合成大麻素类物质和氟胺酮等18种物质列入<非药用类麻醉药品和精神药品管制品种增补目录>的公告》，决定正式整类列管合成大麻素类新精神活性物质，2021年7月1日起施行，我国成为全球首个整类列管合成大麻素的 国家。

蛋白沉淀法是毒物分析过程中对生物样品进行前处理的一种常用方式。对于富含蛋白质的检材，在进行分离、提取时要将大量干扰测定的蛋白质沉淀除去，使待测毒物仍留存于溶液中。但是离线蛋白沉淀法操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀剂和生物样品，具有潜在的生物危害风险。

岛津开发的CLAM-2030与LC-MS/MS联用系统，可对全血、血浆、血清、尿液、唾液等生物样品自动进行蛋白沉淀操作，然后将上清液自动传输至LC-MS/MS进行定量检测。本文利用该系统建立了尿液中5F-MDMB-PICA 等 9 种合成大麻素类新精神活性物质的检测方法，分析速度快，准确度高，可供公安司法领域检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津临床质谱 LCMS-8050CL，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>SR</sub>
输液泵	: LC-30ADx2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20A	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.93

## 1.2 分析条件

### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)

流 动 相 : A-0.1%甲酸-水溶液; B-0.1%甲酸-乙腈溶液

进 样 体 积 : 10  $\mu$ L 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C

流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 40%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
6.00	泵	B Conc	95
8.00	泵	B Conc	95
8.10	泵	B Conc	40
10.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)

加热模块温度 : 400 $^{\circ}$ C

加热气流速 : 空气 10.0 L/min

接 口 温 度 : 300 $^{\circ}$ C

雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min

D L 温 度 : 250 $^{\circ}$ C

干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min

接 口 电 压 : 4 kV

扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM)

M R M 参 数 : 见表2

表 2. 9 种合成大麻素类新精神活性物质和内标的 MRM 参数

序号	中文名称	英文缩写	前体离子	产物离子	Q1 Pre (V)	CE(V)	Q3 Pre (V)
1	3,3-二甲基-2-[1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	5F-MDMB-PICA	377.30	232.15*	-14.0	-21.0	-25.0
				144.00	-14.0	-40.0	-14.0
2	3,3-二甲基-2-[1-(4-氟丁基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	4F-MDMB-BUTINACA	364.25	219.05*	-13.0	-25.0	-23.0
				304.25	-10.0	-17.0	-30.0
3	N-(1-甲基-1-苯基乙基)-1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰胺	5F-CUMYL-PINACA	368.20	233.10*	-14.0	-20.0	-26.0
				250.10	-10.0	-12.0	-27.0
4	3,3-二甲基-2-[1-(4-戊烯基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	MDMB-4en-PINACA	358.25	145.05*	-13.0	-41.0	-14.0
				213.10	-13.0	-26.0	-23.0
5	3,3-二甲基-2-[1-(5-氟戊基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	5F-ADB	378.25	233.10*	-14.0	-24.0	-25.0
				145.10	-14.0	-43.0	-15.0
6	3,3-二甲基-2-[1-(4-氟丁基)吡啶-3-甲酰氨基]丁酸甲酯	4F-MDMB-BICA	363.20	218.10*	-13.0	-21.0	-24.0
				144.10	-10.0	-40.0	-15.0
7	N-(1-甲基-1-苯基乙基)-1-(4-氟丁基)吡啶-3-甲酰胺	4CN-CUMYL-BUTINACA	361.20	226.10*	-10.0	-22.0	-25.0
				243.15	-13.0	-12.0	-27.0
8	N-(1-氨基酰基-2,2-二甲基丙基)-1-丁基吡啶-3-甲酰胺	ADB-BUTINACA	331.20	201.05*	-24.0	-25.0	-21.0
				286.20	-12.0	-15.0	-10.0

9	N-(1-氨甲酰基-2,2-二甲基丙基)-1-(4-戊烯基)吡唑-3-甲酰胺	ADB-4en-PINACA	343.20	213.10*	-12.0	-26.0	-23.0
				145.10	-12.0	-42.0	-27.0

\*代表定量离子对。

### 1.3 校准曲线溶液配制

分别取9种合成大麻素类新精神活性物质对照品储备液(100 μg/mL),用甲醇逐级稀释,分别得到0.05, 0.1, 0.2, 1, 2, 5和10 μg/mL的混合标准工作溶液。分别取各浓度的混合标准工作溶液100 μL,加入900 μL空白尿液得到浓度分别为0.5, 1, 2, 10, 20, 50和100 ng/mL基质校准曲线溶液。

### 1.4 样品前处理

在 CLAM-2030 工作站界面优化自动前处理参数、蛋白沉淀剂使用量、震摇转速、震摇时间、抽滤时间等。确定样品自动前处理程序具体操作为:

- (1) 吸取 20 μL 甲醇活化过滤管,准备上样;
- (2) 吸取校准曲线溶液或尿液样品 30 μL 上样;
- (3) 吸取样本提取剂 120 μL;
- (4) 转速 3000 rpm 震摇 60 s 进行提取;
- (5) 使用-50~-60 kPa 的负压抽滤过滤管 90 s;
- (6) 接收管转移至自动进样器,进样 10 μL (详见图 1)。

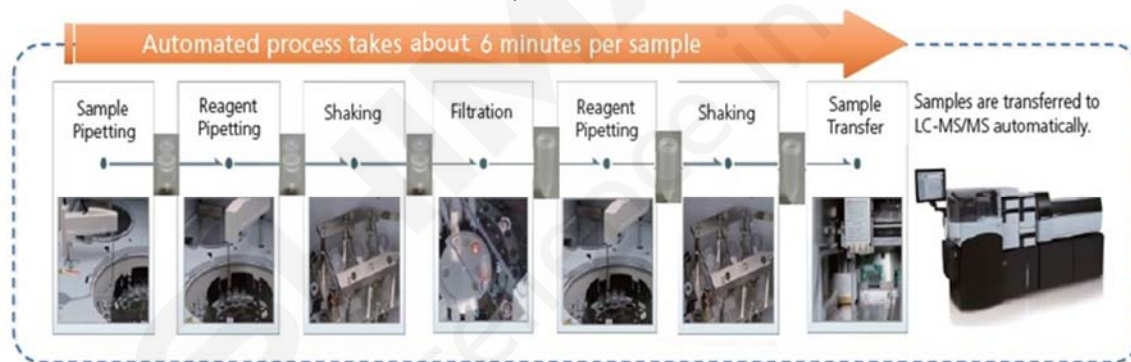
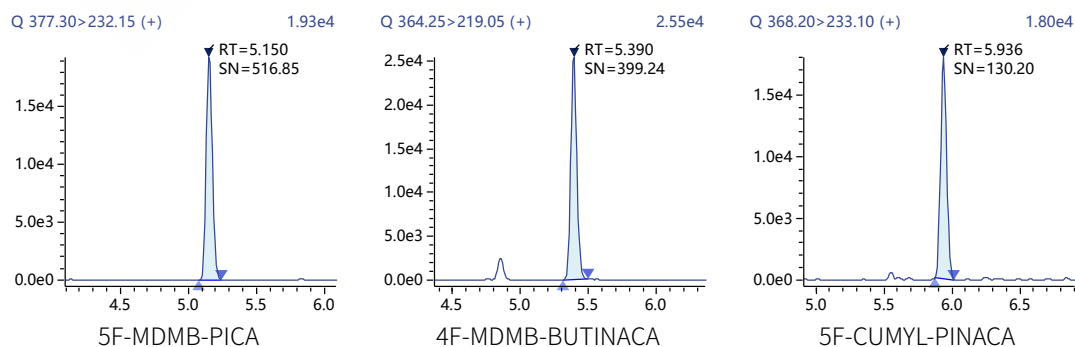


图 1 CLAM-2030 在线自动前处理过程 1.4 基质校准曲线溶液和样品前处理

## 2. 结果与讨论

### 2.1 校准曲线溶液的MRM色谱图

按1.2中的分析条件进行测定,0.5 ng/mL的基质校准曲线溶液的MRM色谱图如下图2所示,各化合物的S/N均大于10,灵敏度良好,符合定量要求。



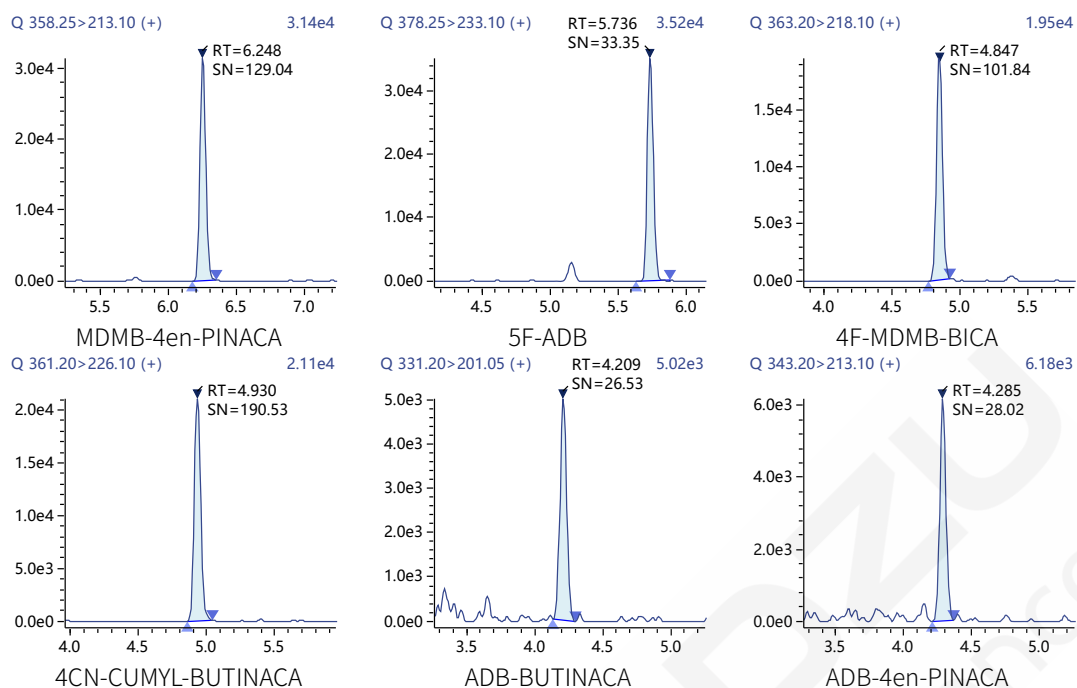


图 2.9 种合成大麻素类新精神活性物质基质校准曲线溶液 MRM 色谱图(0.5 ng/mL)

## 2.2 线性范围

按 1.2 中的分析条件进行测定，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性范围为 0.5~100 ng/mL，线性关系良好，相关系数均大于 0.997，准确度在 82.0%~116.6%之间，线性方程等参数见表 3。

表 3. 校准曲线参数 (权重 1/C)

序号	名称	校准曲线	相关系数 r	准确度%
1	5F-MDMB-PICA	$Y = (134097)X + (-6789.16)$	0.9993	89.2~107.5
2	4F-MDMB-BUTINACA	$Y = (174410)X + (-4942.90)$	0.9991	92.2~111.1
3	5F-CUMYL-PINACA	$Y = (102106)X + (9527.36)$	0.9996	89.6~110.1
4	MDMB-4en-PINACA	$Y = (180292)X + (990.718)$	0.9994	87.2~107.1
5	5F-ADB	$Y = (166477)X + (30788.2)$	0.9985	91.5~112.5
6	4F-MDMB-BICA	$Y = (121575)X + (-5100.60)$	0.9980	89.9~108.9
7	4CN-CUMYL-BUTINACA	$Y = (135573)X + (15596.8)$	0.9972	82.0~116.6
8	ADB-BUTINACA	$Y = (38255.8)X + (-3292.50)$	0.9991	91.6~105.8
9	ADB-4en-PINACA	$Y = (43453.8)X + (-1936.36)$	0.9994	91.8~108.2

## 2.3 精密度实验

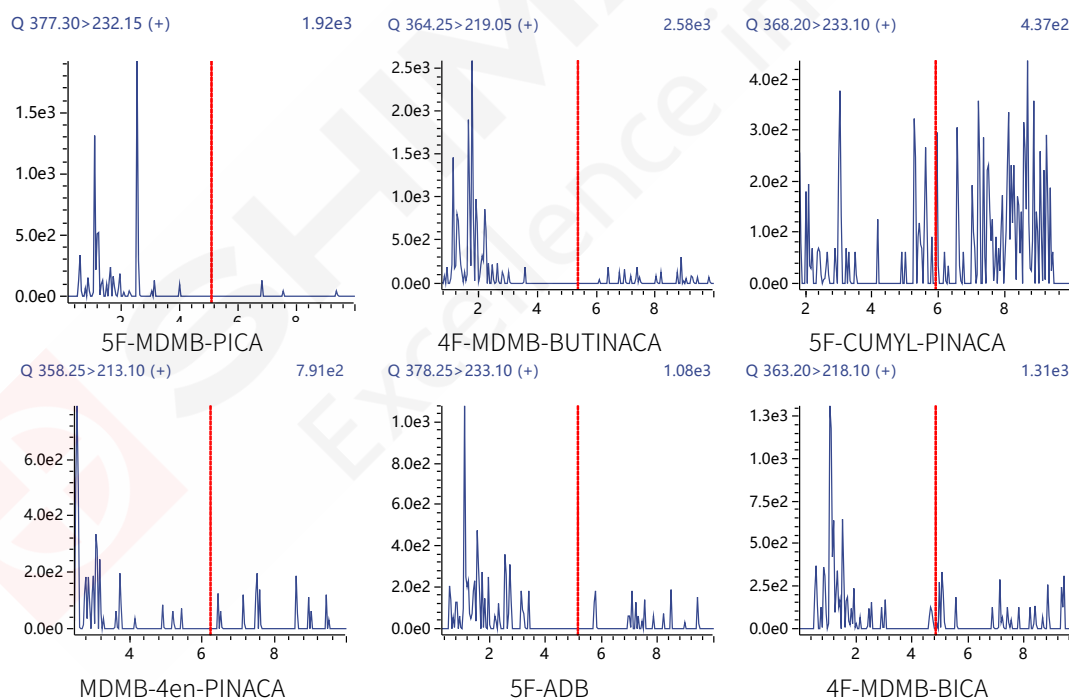
按 1.2 中的分析条件进行测定，选择低中高三个浓度对照品溶液，分别连续进样测定 3 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的相对标准偏差如表 4 所示，RSD%分别在 0.07%~0.28%和 0.77%~6.87%之间，实验结果表明，该分析方法具有良好的精密度。

表 4. 保留时间和峰面积精密度结果 (n=3)

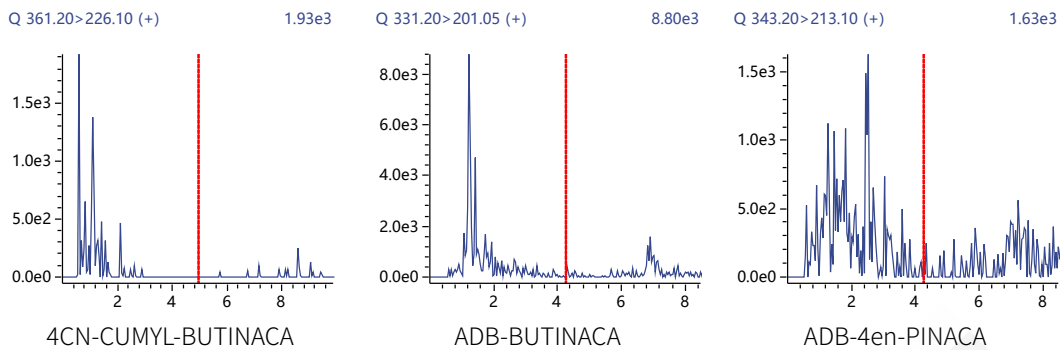
序号	名称	低浓度(1 ng/mL)		中浓度(10 ng/mL)		高浓度(100 ng/mL)	
		保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
1	5F-MDMB-PICA	0.11	4.10	0.04	0.98	0.01	0.76
2	4F-MDMB-BUTINACA	0.09	6.07	0.04	5.07	0.02	4.15
3	5F-CUMYL-PINACA	0.09	5.92	0.04	4.76	0.02	0.88
4	MDMB-4en-PINACA	0.05	4.50	0.03	1.80	0.01	1.89
5	5F-ADB	0.10	8.21	0.03	5.49	0.02	1.48
6	4F-MDMB-BICA	0.10	1.15	0.06	2.96	0.01	2.76
7	4CN-CUMYL-BUTINACA	0.09	0.86	0.05	3.02	0.02	2.31
8	ADB-BUTINACA	0.17	4.24	0.11	1.69	0.01	1.84
9	ADB-4en-PINACA	0.10	2.01	0.08	3.04	0.02	2.59

## 2.4 实际样品分析

取 1 mL 尿液样品置于标准样品杯中，放置在 CLAM-2030 的样品盘上，仪器自动按 1.4 程序前处理后，输送到 LCMS/MS 自动进样器进行分析，结果如图 3 所示，所测样品中未检出 9 种合成大麻素类新精神活性物质。







注：图中红色竖线表示目标物的出峰位置

图 3. 尿液样品溶液 MRM 色谱图

## 2.5 回收率

向尿液中样品溶液添加 9 种合成大麻素类新精神活性物质标准品溶液，配制成 9 种合成大麻素类新精神活性物质浓度为 1 和 100 ng/mL 的样品加标溶液，每个水平重复测定 3 次，质控样品的准确度和精密度结果如表 5 所示，平均回收率在 76.5~110.8%之间，RSD% 在 0.45 ~6.72%之间。

表 5. 方法回收率结果(n=3)

序号	名称	加标浓度(1 ng/mL)		加标浓度(100 ng/mL)	
		平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)
1	5F-MDMB-PICA	95.2	2.45	103.8	0.76
2	4F-MDMB-BUTINACA	97.9	6.72	104.4	4.15
3	5F-CUMYL-PINACA	89.2	2.72	103.7	0.88
4	MDMB-4en-PINACA	93.3	4.38	108.9	1.89
5	5F-ADB	76.5	5.27	94.3	1.49
6	4F-MDMB-BICA	100.1	1.99	108.3	2.76
7	4CN-CUMYL-BUTINACA	90.5	0.45	102.2	2.32
8	ADB-BUTINACA	107.6	3.80	110.8	1.84
9	ADB-4en-PINACA	108.0	1.65	110.5	2.59

## 3. 结论

本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和超高效液相三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统测定尿液中 5F-MDMB-PICA 等 9 种合成大麻素类新精神活性物质。此联用系统从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤以及将处理完的样品输送到 LCMS/MS 自动进样器，全部仪器自动完成。不涉及手动前处理操作，减小了人为误差，提高分析的准确度。本实验中基质校准曲线的线性范围为 0.5~100 ng/mL，准确度在 82.0%~116.6%之间。选择低中高三个浓度对照品溶液，分别连续进样测定 3 次，保留时间和峰面积 RSD% 分别在 0.07%~0.28%和 0.77%~6.87%之间。质控样品的平均回收率在 76.5~110.8%之间，RSD% 在 0.45~6.72%之间。实验结果表明，该方法适合尿液中合成大麻素类毒品的快速定量检测。

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定血液中 15 种合成卡西酮类新精神活性物质

**摘要：**本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪CLAM-2030和三重四极杆液质联用仪LCMS-8050测定血液中15种合成卡西酮类新精神活性物质。本实验用甲卡西酮-D3作为内标，采用内标法建立基质校准曲线，线性范围为2~200 ng/mL，各目标物相关系数均大于0.998，准确度在84.8%~119.8%之间。重复性保留时间和峰面积RSD%分别在0.01 %~0.23 %和0.07 %~8.67 %之间。样品中各化合物的加标回收率在76.1~103.9%之间，RSD%在0.39~8.44%之间。

**关键词：**CLAM-2030 在线自动前处理 血液 合成卡西酮

合成卡西酮是一种具有强烈兴奋和致幻作用的新精神活性物质。起初用作抗抑郁和抗震颤麻痹的药物，但最终都由于成瘾和滥用的问题而退出使用。吸食卡西酮类物质能导致类似甲基苯丙胺的兴奋作用和类似麦角酸二乙胺（LSD）的致幻作用，同时还伴有心动过速、血压升高等反应。我国对合成卡西酮类新精神活性物质主要采取列管的方式，目前已列管50多种合成卡西酮。

合成卡西酮类物质种类繁多，主要的检测方法有气相色谱质谱法、液相色谱质谱法和光谱法等，常存在前处理复杂，耗时长，有机溶剂污染等问题。蛋白沉淀法是毒物分析过程中对生物样品进行前处理的一种常用方式。对于富含蛋白质的检材，在进行分离、提取时要将大量干扰测定的蛋白质沉淀除去，使待测毒物仍留存于溶液中。但是离线蛋白沉淀法操作人员频繁接触甲醇、乙腈、高氯酸等沉淀剂和生物样品，具有潜在的生物危害风险。

岛津开发的CLAM-2030与LC-MS/MS联用系统，可对全血、血浆、血清、尿液、唾液等生物样品自动进行蛋白沉淀操作，然后将上清液自动传输至LC-MS/MS进行定量检测。本文利用该系统建立了血液中15种合成卡西酮类新精神活性物质检测方法，分析速度快，准确度高，可供公安司法领域检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>SR</sub>
输液泵	: LC-30AD x 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20A	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.93

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m, 岛津  
(上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)

流 动 相 : A-10mM 甲酸铵+0.1%甲酸-水溶液; B-0.1%甲酸-乙腈溶液

进 样 体 积 : 1  $\mu$ L 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C

流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B Conc	5
6.00	泵	B Conc	16
7.00	泵	B Conc	16
9.00	泵	B Conc	70
10.00	泵	B Conc	70
10.10	泵	B Conc	5
13.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+) 加热模块温度 : 400  $^{\circ}$ C

加热气流速 : 空气 10.0 L/min 接 口 温 度 : 300  $^{\circ}$ C

雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min D L 温 度 : 250  $^{\circ}$ C

干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min 接 口 电 压 : 4 kV

扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM) M R M 参 数 : 见表2

表 2. 15 种卡西酮类新精神活性物质和内标的 MRM 参数

序号	中文名称	英文缩写	前体 离子	产物 离子	Q1 Pre (V)	CE(V)	Q3 Pre (V)
1	(S)-卡西酮	(S)-Cathinone	150.05	117.10*	-19	-24	-22
				132.10	-29	-17	-30
2	甲卡西酮	MC	164.10	131.05*	-19	-21	-21
				146.15	-13	-17	-28
3	3,4-亚甲二氧基 甲卡西酮	Methylone	208.05	160.05*	-13	-19	-14
				132.05	-18	-28	-23
4	2-氟甲卡西酮	2-FMC	182.05	149.10*	-11	-23	-24
				164.10	-23	-17	-30
5	4-氟甲卡西酮	4-FMC	182.05	149.10*	-15	-22	-23
				164.10	-24	-17	-29
6	乙卡西酮	Ethcathinone	178.10	130.05*	-23	-30	-22
				160.15	-24	-17	-30
7	4-氯乙卡西酮	4-CEC	212.05	144.05*	-12	-29	-25
				194.05	-26	-14	-30

8	3,4-亚甲二氧基 丙卡西酮	Propylone	236.10	188.10 *	-11	-19	-19
				218.15	-14	-16	-22
9	4-氟乙卡西酮	4-FEC	196.10	150.10*	-16	-19	-14
				178.10	-12	-16	-29
10	4-溴乙卡西酮	4-BEC	256.00	159.10 *	-22	-18	-14
				144.05	-30	-29	-26
11	6-甲氧基-3,4-亚甲二 氧基甲卡西酮	6-MeO- Methylone	238.05	58.15*	-15	-13	-20
				190.10	-30	-18	-30
12	4-甲基甲卡西酮	4-MMC	178.10	145.10*	-22	-21	-23
				160.15	-23	-16	-30
13	3-甲基甲卡西酮	3-MMC	178.10	145.10*	-21	-23	-24
				160.10	-23	-17	-30
14	4-溴甲卡西酮	4-BMC	242.00	145.10*	-11	-17	-22
				132.00	-21	-22	-26
15	3,4-亚甲二氧基 乙卡西酮	Ethylone	222.10	174.10 *	-11	-20	-17
				204.10	-13	-15	-21
16	甲卡西酮-D3	MC-D3	167.10	149.15*	-22	-16	-23
				131.10	-20	-22	-25

\*代表定量离子对。

### 1.3 校准曲线溶液配制

分别取15种卡西酮类新精神活性物质对照品储备液(100 µg/mL)，用甲醇逐级稀释，分别得到20, 50, 100, 250, 500, 1000和2000 ng/mL的混合标准工作溶液。分别取各浓度的混合标准工作溶液100 µL，加入900 µL空白血液得到浓度分别为2, 5, 10, 25, 50, 100和200 ng/mL基质校准曲线溶液。

### 1.4 样品前处理

在 CLAM-2030 工作站界面优化自动前处理参数、蛋白沉淀剂使用量、震摇转速、震摇时间、抽滤时间等。确定样品自动前处理程序具体操作为：

- (1) 吸取 20 µL 甲醇活化过滤管，准备上样；
- (2) 吸取基质校准曲线溶液或血液样品 60 µL 上样；
- (3) 吸取样本提取剂 180 µL；
- (4) 转速 3500 rpm 震摇 120 s 进行提取；
- (5) 使用-50~-60 kPa 的负压抽滤过滤管 90 s；
- (6) 接收管转移至自动进样器，进样 1 µL (详见图 1)。

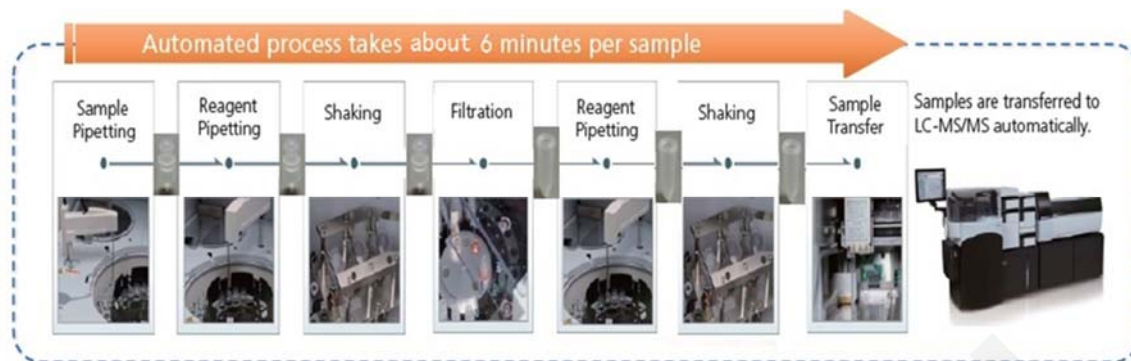


图 1. CLAM-2030 在线自动前处理过程

## 2. 结果与讨论

### 2.1 基质校准曲线溶液MRM色谱图

按1.2中的分析条件进行测定，2 ng/mL的基质校准曲线溶液中各化合物的S/N均大于10，灵敏度良好，符合定量要求。部分卡西酮类物质的MRM色谱图如下图2所示。

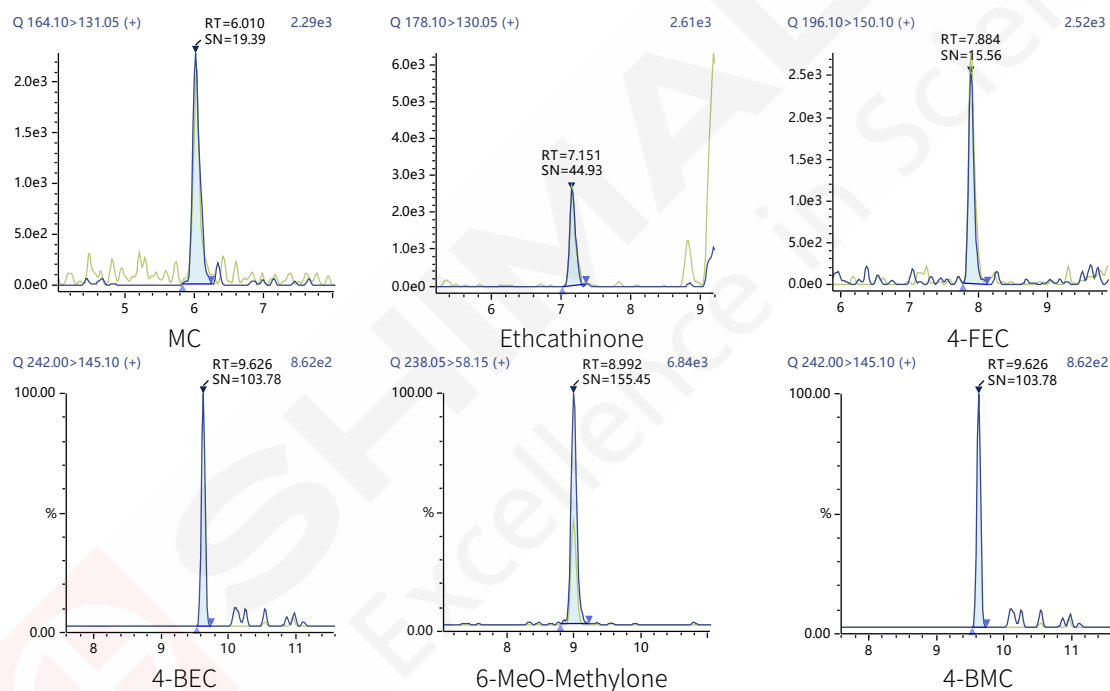


图 2. 部分卡西酮类新精神活性物质基质校准曲线溶液 MRM 色谱图(2 ng/mL)

### 2.2 线性范围

按 1.2 中的分析条件进行测定，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以内标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性范围为 2~200 ng/mL，线性关系良好，相关系数均大于 0.998，准确度在 84.8%~119.8%之间，线性方程等参数见表 3。

表 3. 校准曲线参数 (权重 1/C)

序号	名称	校准曲线	相关系数 r	准确度%
1	(S)-Cathinone	$Y = (0.0776441)X + (0.00151952)$	0.9994	84.8~110.2
2	MC	$Y = (0.176612)X + (0.00171417)$	0.9996	91.4~111.5
3	Methylone	$Y = (0.647316)X + (-0.000257633)$	0.9994	95.3~104.6
4	2-FMC	$Y = (0.0578112)X + (-0.00286812)$	0.9988	91.5~111.0
5	4-FMC	$Y = (0.220839)X + (-0.00264703)$	0.9995	93.4~106.0
6	Ethcathinone	$Y = (0.242044)X + (-0.00240607)$	0.9994	96.2~105.3
7	4-CEC	$Y = (0.0597824)X + (-0.000973565)$	0.9986	91.3~112.2
8	Propylone	$Y = (0.409115)X + (0.000807178)$	0.9997	96.6~103.3
9	4-FEC	$Y = (0.165579)X + (0.000854461)$	0.9989	90.9~106.5
10	4-BEC	$Y = (0.0769105)X + (-0.00434444)$	0.9981	89.4~119.8
11	6-MeO-Methylone	$Y = (0.441806)X + (0.00453396)$	0.9998	96.2~103.9
12	4-MMC	$Y = (0.181843)X + (-0.00813112)$	0.9985	85.2~119.8
13	3-MMC	$Y = (0.770083)X + (0.00770517)$	0.9992	97.2~106.2
14	4-BMC	$Y = (0.0645581)X + (-0.00190425)$	0.9996	93.4~106.0
15	Ethylone	$Y = (0.527000)X + (0.00488459)$	0.9995	93.3~107.8

### 2.3 精密度实验

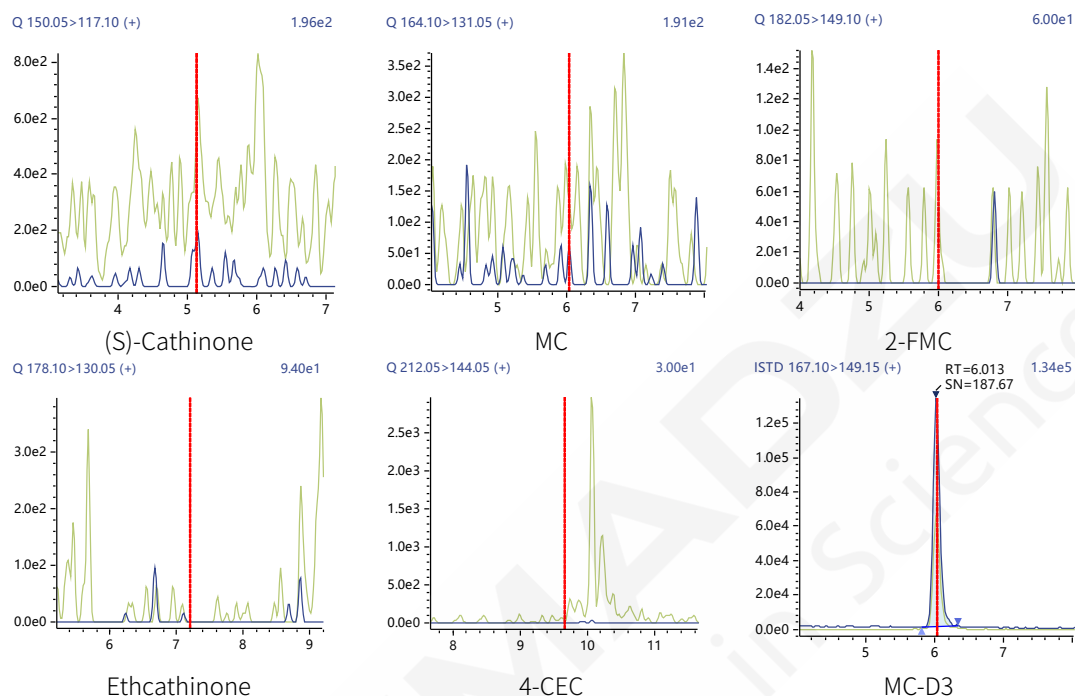
按 1.2 中的分析条件进行测定, 选择低中高三个浓度对照品溶液, 分别连续进样测定 3 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的相对标准偏差如表 4 所示, RSD%分别在 0.01%~0.23%和 0.07%~8.67%之间, 实验结果表明, 该分析方法具有良好的精密度。

表 4. 保留时间和峰面积精密度结果 (n=3)

序号	名称	低浓度(5 ng/mL)		中浓度(25 ng/mL)		高浓度(200 ng/mL)	
		保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
1	(S)-Cathinone	0.23	7.00	0.18	5.93	0.06	0.07
2	MC	0.08	2.98	0.04	3.79	0.03	0.90
3	Methylone	0.04	4.23	0.04	3.49	0.05	0.77
4	2-FMC	0.06	8.62	0.13	4.07	0.06	3.96
5	4-FMC	0.01	7.36	0.05	6.17	0.02	1.48
6	Ethcathinone	0.07	7.48	0.05	6.21	0.05	0.91
7	4-CEC	0.02	3.97	0.02	6.95	0.05	1.78
8	Propylone	0.01	5.90	0.01	7.20	0.04	3.04
9	4-FEC	0.10	8.40	0.03	4.84	0.04	1.22
10	4-BEC	0.01	2.27	0.02	6.81	0.05	1.17
11	6-MeO-Methylone	0.05	4.00	0.01	6.03	0.04	2.67
12	4-MMC	0.04	8.67	0.01	3.51	0.05	1.04
13	3-MMC	0.02	3.09	0.01	5.53	0.05	1.67
14	4-BMC	0.02	6.03	0.03	6.03	0.04	0.55
15	Ethylone	0.02	5.17	0.03	5.92	0.04	2.67

## 2.4 实际样品分析

取 1 mL 血液样品置于标准样品杯中，放置在 CLAM-2030 的样品盘上，仪器自动按 1.4 程序前处理后，输送到 LC-MS/MS 自动进样器进行分析，结果如图 3 所示，所测样品中未检出 15 种合成卡西酮类新精神活性物质，检出内标物甲卡西酮-D3。



注：图中红色竖线表示目标物的出峰位置

图 3. 血液样品溶液中部分化合物和内标物的 MRM 色谱图

## 2.5 回收率

向血液样品溶液添加 15 种卡西酮类新精神活性物质标准品溶液，配制成 15 种卡西酮类新精神活性物质浓度为 25 和 200 ng/mL 的样品加标溶液，每个水平重复测定 3 次，质控样品的准确度和精密度结果如表 5 所示，平均回收率在 76.1~103.9%之间，RSD%在 0.39~8.44%之间。

表 5. 方法回收率结果(n=3)

序号	名称	加标浓度(25 ng/mL)		加标浓度(200 ng/mL)	
		回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)	回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)
1	(S)-Cathinone	85.7	6.35	103.9	3.96
2	MC	86.7	6.49	100.2	3.61
3	Methylone	91.7	4.27	102.2	3.63
4	2-FMC	85.6	0.39	87.7	4.69
5	4-FMC	82.9	2.55	96.9	4.10
6	Ethcathinone	85.3	3.24	97.8	2.69
7	4-CEC	76.1	3.92	88.9	5.14
8	Propylone	89.7	3.51	98.0	3.42
9	4-FEC	84.0	2.23	96.6	4.63

10	4-BEC	91.0	8.44	87.6	5.59
11	6-MeO-Methylone	89.7	3.46	103.1	4.44
12	4-MMC	82.5	1.08	98.3	4.55
13	3-MMC	85.9	2.03	98.7	3.37
14	4-BMC	81.6	3.88	88.1	1.78
15	Ethylone	91.9	2.24	102.2	3.37

### 3. 结论

本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪CLAM-2030和三重四极杆液质联用仪LCMS-8050测定血液中15种合成卡西酮类新精神活性物质。此联用系统从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤以及将处理完的样品输送到LCMS/MS自动进样器，全部仪器自动完成。不涉及手动前处理操作，减小了人为误差，提高分析的准确度。本实验的方法学数据表明，该方法线性、重复性和加标回收率均满足检测需求，可供公安司法领域检测人员参考。



## 2.2 毒物药物分析

法医毒物化学是研究毒物的分离、检验及毒物的毒性、中毒机理、代谢等问题的一门学科。其鉴定内容主要包括：体内常见毒（药）物及其代谢物的检验、滥用药物及其制毒化学品的检验、血液中酒精含量的测定及评价等。通过分析检测结果，揭露罪犯毒杀手段，为侦破和审理中毒案件提供证据，同时为临床提供诊断、治疗、预防措施的依据，协助正确处理违章造成的毒物公害等。毒物分析具有分析目的不确定性、分析案件复杂性、检材多样性及特殊性的特点，对分析方法开发和样品的前处理都提出了较高的要求。法医毒物分析主要方向包括物质的鉴定、生物样品中药物、毒物及内源性物质的定性与定量分析等方向。生物样品的基质复杂、干扰物多、待测物浓度与内源性物质相比明显偏低，且样品取样量少，因此要求生物分析方法的特异性强、灵敏度高、重现性好。

公安行业在毒品分析中最常用的样品前处理方法为蛋白沉淀法，蛋白质沉淀法是一种简单、快速、方便的生物样品预处理技术，其优点包括：1、几乎适用于任何极性的小分子化合物；2、前处理方法开发非常简单，一个标准的操作流程基本适合所有的化合物；3、快速；4、回收率较高。但手动蛋白沉淀法操作费时费力，操作人员频繁接触甲醇、乙腈、有机酸等沉淀试剂和生物样品，具有潜在的化学危害和生物干扰风险。

面对毒物药物分析中的挑战，岛津研发的全自动化生物样本前处理系统CLAM-2030提供了更可重现的解决方案，可帮助消除手动制备前处理过程中出现引入的人为误差，并提高实验室的安全性。岛津和公安司法领域相关工作人员利用CLAM-2030和全系列三重四极杆质谱产品联用系统开发了一系列生物基质中的毒物药物的检测方法，这些基质包括全血、血浆、唾液、尿液等，证明该套系统适用于各种不同生物样品和检测化合物，且满足回收率和重复性要求。

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用分析尸检样品

**摘要：**使用全集成、自动化样品制备模块与LCMS系统联用，开发了一种更快、更准确、可重复的尸检样品分析方法。

**关键词：**CLAM-2030自动样品前处理系统 液质联用 尸检样品

目前，法医实验室所采用的包括SPE或LLE在内的样品前处理方法不仅耗时，而且在多步骤的样品处理过程中会引入人为误差。自动化样品前处理方法提供了更可重现的解决方案，可消除手动前处理过程中引入的人为误差，并提高实验室的安全性。临床实验室自动化模块（CLAM）系列旨在满足这些需求，并提供可提高实验室效率的解决方案。

## 1. 实验部分

### 1.1 校准曲线溶液配制

采用购自Restek Corporation（宾夕法尼亚州贝尔丰特）和Cerilliant Corporation（德克萨斯州圆石城）的15种药物标准品，在岛津LCMS-8060三重四极杆质谱上建立了LC-MS/MS分析方法。四种氘代内标（阿普唑仑-D5、吗啡-D3、氢可酮-D3和delta-9-THC-D3）均购自Cerilliant Corporation。

将四种内标利用甲醇配制成内标工作液，其中阿普唑仑-D5、吗啡-D3和氢可酮-D3的最终浓度为100 ng/mL，delta-9-THC-D3的最终浓度为10 ng/mL。将15种药物标准品溶解在甲醇中，配制成10 µg/mL的储备溶液。利用空白人全血将以上储备液依次稀释至10, 50, 100, 500和1000 ng/mL的浓度。

### 1.2 样品制备

该应用使用尸检人全血样品、人体脾脏组织、人脑组织和加标全血样品。在利用CLAM-2030进行样品制备前，按照1:4的稀释比例，将组织样本进行均质化处理。设置CLAM-2030样品前处理程序，首先分别向各个样品处理管中添加20µL蒸馏水，然后分别加入10µL样品。之后，使用100µL 50/50的甲醇/乙腈溶液进行蛋白质沉淀。将以上混合物在CLAM-2030系统中以1900 rpm的速度涡旋处理30秒。接着向该混合物中添加20µL内标溶液，然后再振荡30秒。经过60秒过滤后，进行样品收集并自动将其转移至LCMS-8060系统中。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 校准曲线

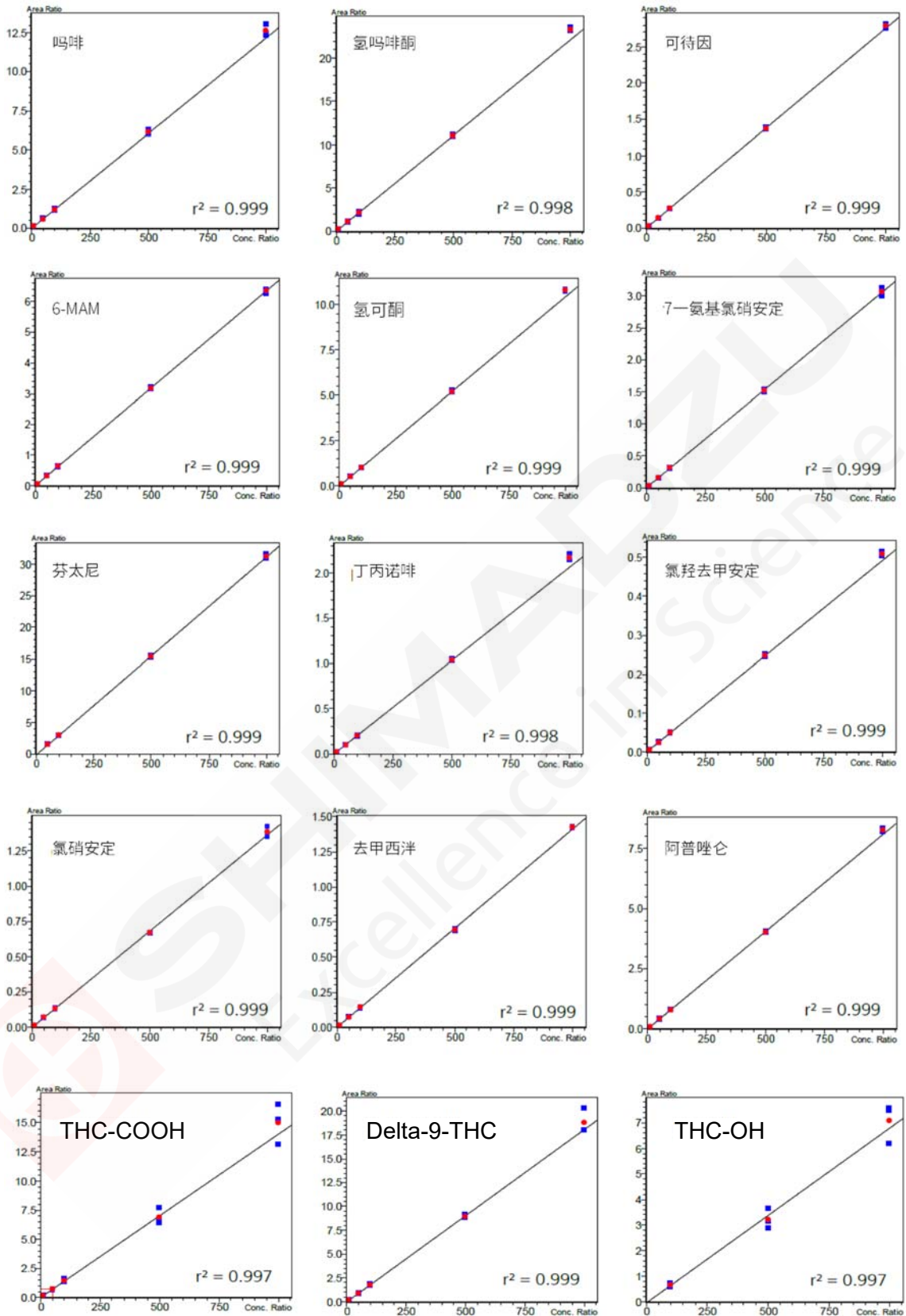


图 1. 15 种化合物标准曲线

## 2.2 手动前处理方法和 CLAM-2030 自动前处理的结果比较

表 1. 比较手动前处理方法和 CLAM-2030 自动前处理的结果

样品 ID	尸检样本	发现药物超出 10 ng/mL 截止值	手动前处理结果 (ng/mL)	CLAM-2030 和 LCMS-8060 联合自动前处理结果 (ng/mL)				手动前处理和 CLAM 自动前处理的平均差异%
				重复 1	重复 2	重复 3	% RSD	
A	心脏血	吗啡	400	446.1	445.4	442.1	0.476	11%
		可待因	19	22.3	20.9	21.2	3.478	13%
		阿普唑仑	593	557.9	558.1	557.7	0.043	-6%
B	胸腔血	吗啡	363	373.0	365.1	369.7	1.071	2%
		可待因	31	31.9	32.3	33.2	1.952	5%
		去甲西洋	135	154.8	149.5	156.2	2.317	14%
C	股骨血	氢可酮	177	175.9	177.9	174.2	1.048	-1%
		氢吗啡酮	30	30.3	29.9	30.8	1.438	1%
D	心脏血	7-氨基氯硝安定	72	48.5	47.7	46.4	2.147	-34%
E	心脏血	THC-COOH	已检测到*	42.2	42.3	49.9	9.937	不适用
F	脾脏** (ng/g) 匀浆稀释因子 = 5	吗啡	493	493.7	457.1	347.7	17.551	-12%
G	大脑** (ng/g) 匀浆稀释因子 = 5	吗啡	147	169.7	168.9	176.6	2.460	17%

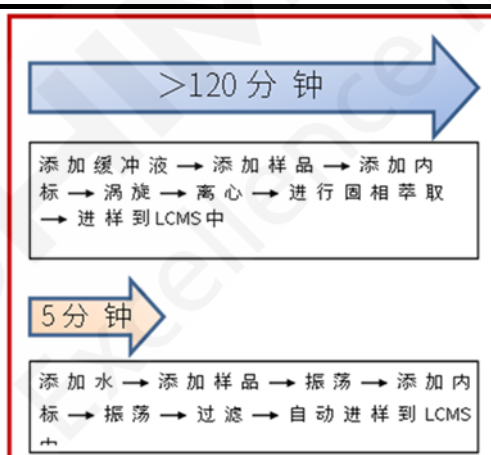


图 2. 手动前处理和 CLAM-2030 自动前处理所用时间对比

## 3. 结论

CLAM-2030全自动前处理系统与岛津LCMS联用，可提供一种全新的分析方法，无需手动操作，即可分析生物样品中的药物。由于样品前处理和样品分析同时重叠进行，所以该方法大大提高了样本分析通量，使得分析人员有时间执行其他任务。和标准手动制备方法相比，该自动化样品制备方法可使药物分析的RSD控制在10%以内。

## 致谢

我们对得克萨斯大学西南医学院的Ruth Gordillo和塔兰特县法医检验中心的积极参与以及Restek公司提供色谱柱表示衷心的感谢。

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用快速对血浆样品中毒物进行快速筛查

**摘要:** 本文基于CLAM-2030-LCMS-8050CL联用系统结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”(Ver. 2), 将血浆样品用CLAM-2030自动前处理装置处理, 以岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱LCMS-8050 CL联用系统进行分析, 实现了血浆样品中毒物的全自动化前处理以及快速筛查定性, 样品前处理与分析可在20 min内完成。八种加标物质阿普唑仑(Alprazolam)、苯丙胺(Amphetamine)、苯甲酰胺康宁(Benzoylecgonine)、艾司唑仑(Estazolam)、氯胺酮(Ketamine)、摇头丸(MDMA)、冰毒(Methamphetamine)、咪达唑仑(Midazolam)均被筛查出; 依据MRM同时触发产物离子扫描结果进行二级质谱库搜索, 结果显示八种检出物的匹配度均在70%及以上, 表明筛查结果可靠性良好。

**关键词:** CLAM-2030 药物毒物快速筛查方法包 三重四极杆质谱 血浆样品

当前药物滥用和非法使用毒品已成为一个严重的社会问题, 血液是涉毒案件中常用的一种生物检材, 其中毒药物的准确检测是确认涉毒案件的科学依据。血液组成复杂, 干扰成分多, 分析血液基质中的毒品必须进行一定的样品前处理。蛋白沉淀是一种常见的预处理方法, 但人工操作繁琐、费时、费力, 且涉毒血液中的未知成分可能对操作人员造成潜在的生物危害。因此开发全自动化、快速且生物安全性高的前处理方式具有重要意义。为此岛津公司CLAM-2030自动前处理装置应运而生, 针对尿液、血液等样品中的毒物、兴奋剂等违禁药物可全自动进行蛋白质沉淀制备样品, 整个处理过程在密闭的环境中进行, 可有效避免污染, 降低操作者的感染风险。样品处理结束无需人为操作, 由机械臂自动转移至液质联用系统进行分析, 这个分析过程完全自动化, 平行性好, 大量节省人力物力。

同时针对当前刑侦、法医、毒理等相关领域通常需要分析的化合物, 岛津公司又适时推出“药物毒物快速筛查”方法包, 无需准备标准样品, 即可进行161种药物、毒物的同时筛查、定性分析。本文利用岛津CLAM-2030自动前处理装置, 结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”(Ver. 2), 使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱LCMS-8050 CL联用, 实现了血浆样品中八种毒物的全自动化前处理、快速筛查、定性分析。方法具有样品前处理完全自动化、分析速度快、筛查结果可靠的特点, 可为司法刑侦领域人员提供参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050CL, 具体配置如下:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵	: LC-30AD x 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-30A	质谱仪	: LCMS-8050CL
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91

## 1.2 分析条件

### 液相色谱条件

液相条件：参考“药物毒物快速筛查方法包” (Ver. 2)

进样量：3 mL/min                      柱温：40°C

### 质谱条件

离子化模式：ESI                      加热模块温度：400 °C

加热气流速：空气 10.0 L/min        接口温度：300 °C

雾化气流速：氮气 3.0 L/min        D L 温度：250 °C

干燥气流速：氮气 10.0 L/min        接口电压：0.5 kV

扫描模式：多反应监测(MRM)        M R M 参数：见方法包

## 1.3 样品制备

在CLAM-2030工作站界面优化自动前处理参数、蛋白沉淀剂使用量、震摇转速、震摇时间、抽滤时间等。确定样品自动前处理程序具体操作为 (1)、吸取10 μL甲醇活化过滤管，准备上样；(2)、吸取血浆样品20 μL上样；(3)、吸取沉淀剂40 μL至过滤管进行沉淀蛋白；(4)、转速2400 rpm震摇90秒；(5)、使用-50~-60 kPa的负压抽滤过滤管120 s使溶液进入接收管；(6)、吸取10 μL水进行稀释；(7)、转速2400 rpm震摇90秒；(8)、接收管转移至液相自动进样器，进样3 μL。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 样品前处理流程

岛津CLAM-2030和LCMS-8050 CL联用系统可以实现并行前处理，即在一个样品自动前处理时，系统会根据前处理程序，同时自动开始下一个样品的前处理，并可以多个样品同时处理 (见图1)，大大缩短了前处理时间，若实验单个样品前处理时间为6 min，质谱分析时间为5 min，并行前处理功能使样品在线自动前处理与液质分析时间重叠，从在线自动前处理到液质分析完成仅需6 min，大大节省分析时间，优化仪器的使用和样品通量。本实验样品前处理时间为4 min，质谱分析时间为15 min。

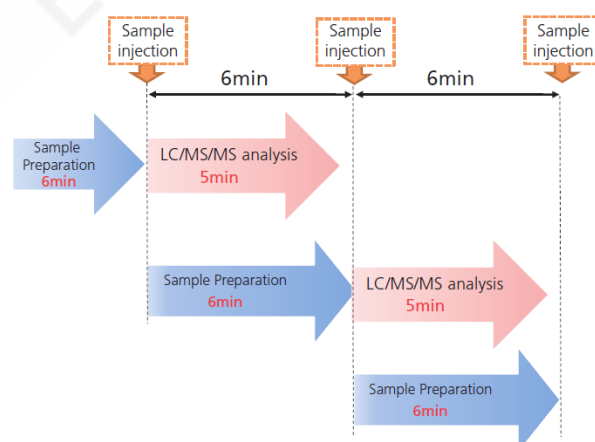


图 1. CLAM-2030 并行前处理示意图

## 2.2 样品筛查结果

方法包中提供了完整的液质分析解决方案：1) 方法包中包含的方法文件列出了质谱分析条件，液相色谱分析条件，各化合物保留时间信息，报告文件等，由于这些分析方法已在实验室验证，因此可显著减少分析方法开发所需的时间；2) 方法包中包含经过优化后的各化合物质谱分析参数，可大幅度减少参数优化所需的时间和精力；3) 使用与方法包完全一致的分析参数，无需使用标准品，即可实现对样品的快速定性筛查。实际工作中实验人员用 CLAM-2030 自动前处理装置处理好样品后，只需按方法包中列出条件简单准备流动相、色谱柱等实验条件即可快速启动分析工作。

参照“药物毒物快速筛查方法包”中的方法 MRM\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm 对样品按照上述 1.3 的前处理方法处理后进样分析，阿普唑仑 (Alprazolam)、苯丙胺 (Amphetamine)、苯甲酰胺康宁 (Benzoylcegonine)、艾司唑仑 (Estazolam)、氯胺酮 (Ketamine)、摇头丸 (MDMA)、冰毒 (Methamphetamine)、咪达唑仑 (Midazolam) 均被筛查出。MRM 色谱图如图 3 所示。

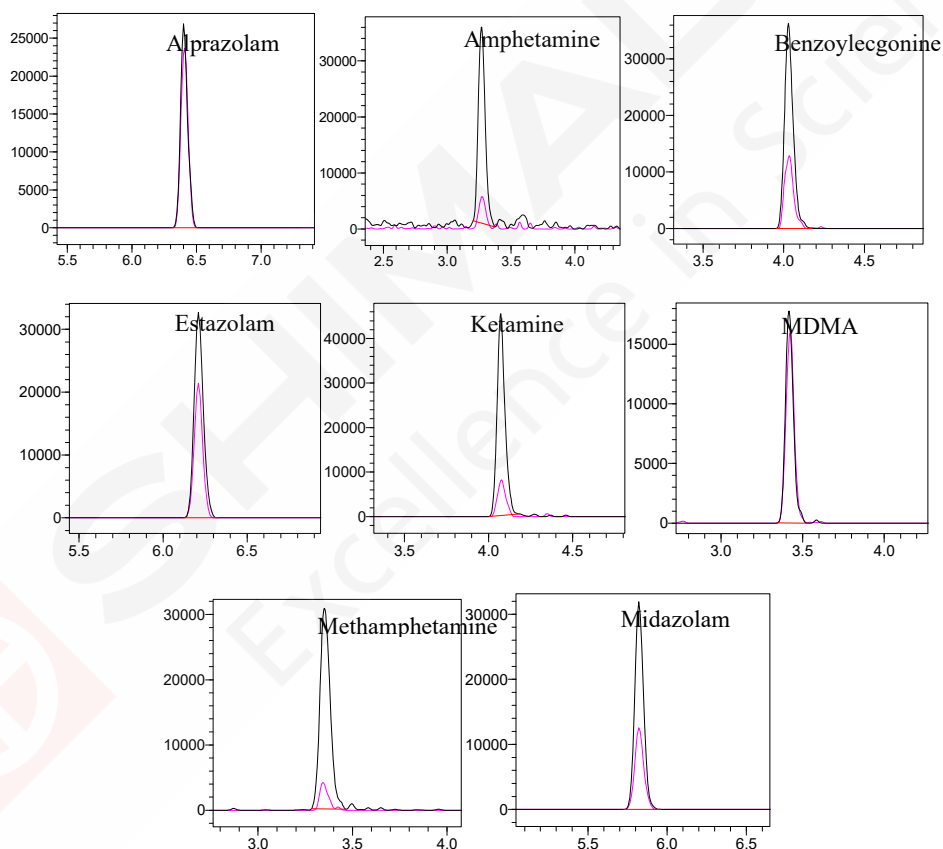


图 2. 检出化合物 MRM 色谱图

## 2.3 谱库搜索结果

方法包提供优化后的同步检查扫描参数以用于筛查分析：通过方法包中的二级质谱数据库，可以对产物离子扫描结果进行相似度检索，进一步对疑似阳性化合物进行定性确证，确保检查结果的准确性。本应用案例中，采用的“SSS\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm”方法中包含触发产物离子扫描功能，当超过设定的筛查扫描阈值时，同步筛查扫描功能启动，可自动对检出化合物进行产物离子扫描，得到检出物的二级质谱并进行谱库搜索，得到匹配度，

根据匹配度可对检出物进行进一步定性。本次分析得到的匹配度结果和搜库结果分别如表1和图4所示（图4以氯胺酮（Ketamine）为例，说明了搜库结果构成）。八种检出物的匹配度结果均在70%及以上，说明得到的筛查结果可靠性良好。

表 1. 各个检出物搜库匹配度结果

编号	化合物	匹配度
1	阿普唑仑	78
2	苯丙胺	92
3	苯甲酰爱康宁	79
4	艾司唑仑	73
5	氯胺酮	86
6	摇头丸	80
7	冰毒	95
8	咪达唑仑	75

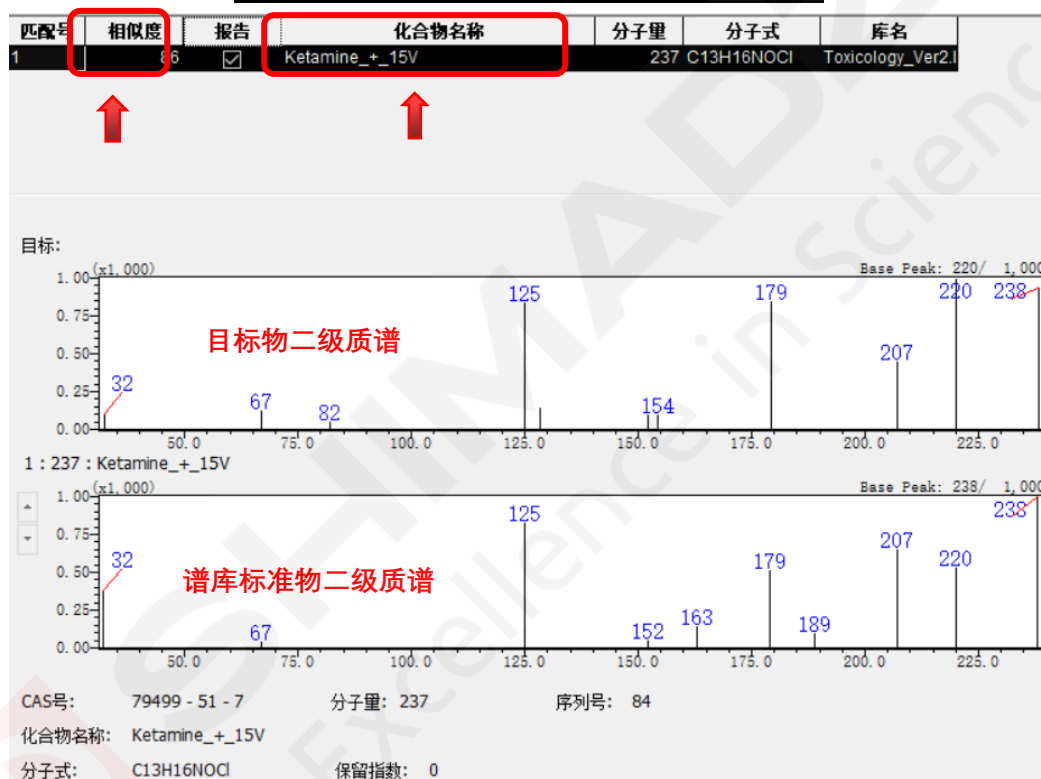


图 3. Ketamine 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

## 2.4 精密度结果

表 2. 各个检出物（1.25 ng/mL）精密度结果表

编号	化合物	保留时间 RSD% (n=6)	峰面积 RSD% (n=6)
1	阿普唑仑	0.1	7.0
2	苯丙胺	0.3	3.0
3	苯甲酰爱康宁	0.2	5.5
4	艾司唑仑	0.1	7.5
5	氯胺酮	0.2	3.9
6	摇头丸	0.3	6.4
7	冰毒	0.3	4.3
8	咪达唑仑	0.1	7.0



### 3. 结论

本文使用 CLAM-2030 自动前处理装置, 结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”(Ver. 2), 采用超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 CL 联用系统, 实现了血浆样品中药物毒物的全自动化前处理和快速筛查、定性分析。八种加标物质均被筛查出; 依据二级质谱库搜索, 得到所有检出物的匹配度均在 70%及以上, 且精密度良好, 所有化合物的保留时间和峰面积稳定性均良好, 表明筛查结果可靠性良好; 在没有目标物标品的情况下得到了各个检出物的定性结果供相关人员参考。通过 CLAM-2030 全自动前处理装置结合方法包, 实现了样品前处理自动化, 减少了有机试剂及生物样品对操作者造成的潜在感染风险及身体伤害, 从样品处理到给出定性结果只需 15 分钟左右时间, 大大提高了工作效率。

## 附录：方法包中包含化合物清单

本方法包中包含司法刑侦领域中常见的 161 种毒品及药物, 通过 LabSolutions LCMS 软件, 可在方法包中方法的基础上轻松自定义方法文件, 增加或减少待分析目标化合物。并且该方法包中的分析参数列表可以用于针对待分析目标化合物创建特定的新方法文件。

1	7-Aminoclonazepam	55	Diltiazem	109	Milnacipran
2	7-Aminoflunitrazepam	56	Diphenhydramine	110	Mirtazapine
3	7-Aminonimetazepam	57	Diprophyline	111	Morphine
4	7-Aminonitrazepam	58	Diquat	112	Mosapramine
5	8-Hydroxyetizolam (M-III)	59	Donepezil	113	Nemonapride
6	9-Hydroxyrisperidone	60	Dosulepin	114	Nicotine
7	Acetaminophen	61	Duloxetine	115	Nimetazepam
8	Acetylpheneturide	62	Ecgonine methyl ester	116	Nitrazepam
9	Aconitine	63	Ephedrine	117	Nortriptyline
10	Allylisopropylacetylurea	64	Escitalopram	118	Olanzapine
11	alpha-Hydroxyalprazolam	65	Estazolam	119	Oxazepam
12	alpha-Hydroxybrotizolam	66	Ethenzamide	120	Paliperidone
13	alpha-Hydroxymidazolam	67	Ethyl loflazepate	121	Paroxetine
14	alpha-Hydroxytriazolam	68	Etizolam	122	Pemoline
15	Alprazolam	69	Fenitrothion(MEP)	123	Pentazocine
16	Amitriptyline	70	Fludiazepam	124	Pentobarbital
17	Amobarbital	71	Flunitrazepam	125	Perospirone
18	Amoxapine	72	Flurazepam	126	Perphenazine
19	Amphetamine	73	Fluvoxamine	127	Phenobarbital
20	Aripiprazole	74	Gabapentin	128	Pimozide
21	Atropine	75	Glibenclamide	129	Pioglitazone
22	Barbital	76	Gliclazide	130	Primidone
23	Benzoyl ecgonine	77	Glimepiride	131	Promethazine
24	Biperiden	78	Haloperidol	132	Propericiazine
25	Blonanserin	79	Haloxazolam	133	Propofol
26	Bromazepam	80	Hydroxyzine	134	Quazepam
27	Bromocriptine	81	Ibuprofen	135	Quetiapine
28	Bromovalerylurea	82	Imipramine	136	Risperidone
29	Bromperidol	83	Ketamine	137	Ropivacaine

30	Brotizolam	84	Lamotrigine	138	Salicylic acid
31	Bupivacaine	85	Levetiracetam	139	Sertraline
32	Caffeine	86	Levomepromazine	140	Sildenafil
33	Carbamazepine	87	Lidocaine	141	Spiperone
34	Carpipramine	88	Lorazepam	142	Sulpiride
35	Chlordiazepoxide	89	Lormetazepam	143	Tadalafil
36	Chlorpheniramine	90	Loxoprofen	144	Tandospirone
37	Chlorpromazine	91	Malathion	145	Temazepam
38	Clobazam	92	Maprotiline	146	THC
39	Clocapramine	93	MDA	147	THC-COOH
40	Clomipramine	94	MDMA	148	Thiamylal
41	Clonazepam	95	Medazepam	149	Timiperone
42	Clotiazepam	96	Mefenamic acid	150	Tofisopam
43	Cloxacolam	97	Memantine	151	Topiramate
44	Clozapine	98	Mepivacaine	152	Trazodone
45	Cocaine	99	Mequitazine	153	Triazolam
46	Codeine	100	Metformin	154	Trihexyphenidyl
47	Colchicine	101	Methamphetamine	155	Vardenafil
48	Desipramine	102	Methomyl	156	Valproic Acid
49	Desmethylclotiazepam	103	Methylephedrine	157	Warfarin
50	Desmethyldiazepam	104	Methylphenidate	158	Zolpidem
51	Dextromethorphan	105	Mexazolam	159	Zopiclone
52	Diazepam	106	Mexiletine	160	Zopiclone-N-oxide
53	Diclofenac	107	Mianserin	161	Zotepine
54	Dihydrocodeine	108	Midazolam		

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统测定血液中的乙基葡萄糖醛酸苷

**摘要:** 本文参考《GA/T 1633-2019 法庭科学 血液、尿液中乙基葡萄糖醛酸苷检验 气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法》建立了一种使用岛津在线自动前处理仪CLAM-2030和三重四极杆液质联用仪LCMS-8050测定血液中的乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 的检测方法。实验结果表明, 该方法检出限小于0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 基质校准曲线的线性范围为0.1~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 准确度在85.3%~106.3%之间。重复性保留时间和峰面积RSD%分别在0.07%~0.09%和1.99%~2.65%之间。质控样品的平均回收率在101.3~117.4%之间, RSD%在1.77~4.31%之间, 满足标准的相关要求, 适合血液中乙基葡萄糖醛酸苷的液相色谱-质谱法检测。

**关键词:** 乙基葡萄糖醛酸苷 CLAM-2030 血液 GA/T 1633-2019

乙基葡萄糖醛酸苷 (Ethyl Glucuronide, EtG) 是乙醇在人体内代谢的标志性代谢物。相较于乙醇, 其在血液中存在时间更久, 通常情况下, EtG在血液中的存在时间约为12 h, 血液中EtG检测结果是判定个体在12 h内是否饮酒的重要证据。此外, 血液中EtG的测定, 对判定乙醇来源、区分是否血液腐败产生乙醇有着重要的意义。

EtG的检测方法有LC-MS/MS和GC-MS/MS等, GC-MS/MS检测时, 需要对EtG进行衍生, 前处理较为复杂, 而用LC-MS/MS检测EtG则不需要衍生。

岛津开发的CLAM-2030与LC-MS/MS联用系统, 可对全血、血浆、血清、尿液、唾液等生物样品自动进行蛋白沉淀操作, 然后将上清液自动传输至LC-MS/MS进行定量检测。本文使用该联用系统, 参考《GA/T 1633-2019 法庭科学 血液、尿液中乙基葡萄糖醛酸苷检验 气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法》, 建立了血液中EtG的LC-MS/MS分析方法。该方法前处理简单, 灵敏度和准确度高, 适合血液中的EtG检测方法。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和质谱 LCMS-8050, 具体配置如下:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>SR</sub>
输液泵	: LC-30ADx2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20A	质谱仪	: LCMS-8050
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.93

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu\text{m}$ , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-31012-05)  
流动相 : A-0.01%甲酸-水溶液; B-甲醇溶液



(6) 接收管转移至自动进样器，进样 1  $\mu\text{L}$  (详见图 1)。

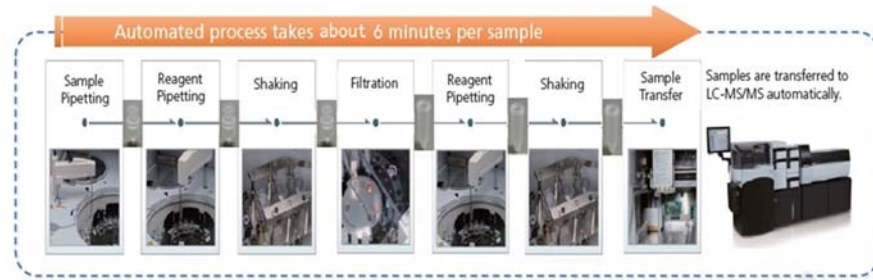


图 1. CLAM-2030 在线自动前处理过程

## 2. 结果与讨论

### 2.1 检出限和定量限溶液MRM色谱图

按1.2中的分析条件进行测定，0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的检出限溶液色谱图的S/N大于3，0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 定量限溶液色谱图的S/N大于10，灵敏度良好，符合定量要求。检出限和定量限溶液的MRM色谱图如下图2所示。

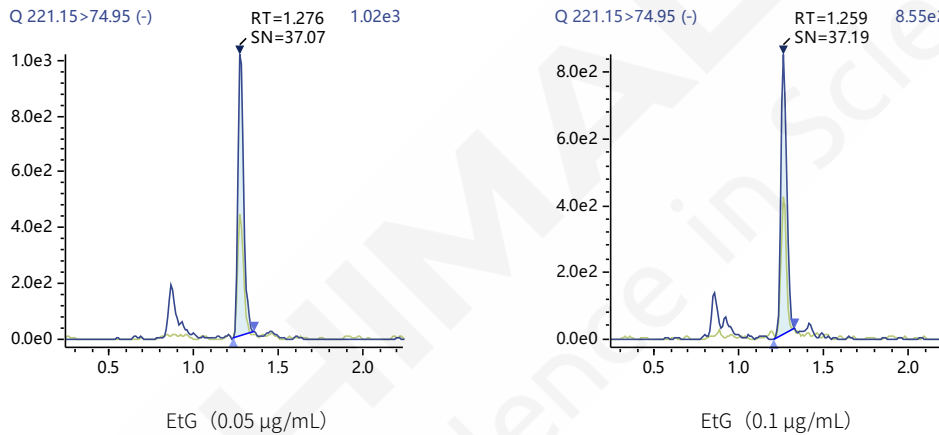


图 2. EtG 检出限和定量限溶液 MRM 色谱图

### 2.2 校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性范围为 0.1~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，线性关系良好，相关系数大于 0.999，准确度在 85.3%~106.3%之间，校准曲线如下图 3 所示

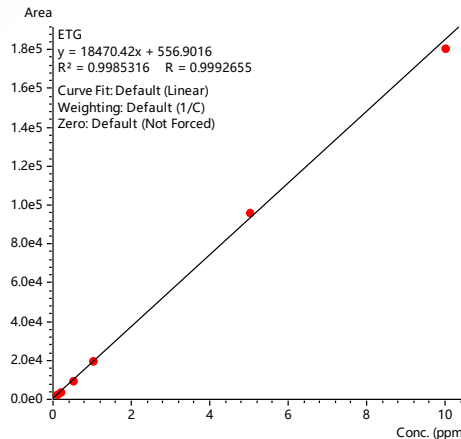


图 3. EtG 校准曲线

### 2.3 精密度实验

按 1.2 中的分析条件进行测定，选择低中高三个浓度对照品溶液，分别连续进样测定 4 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的相对标准偏差如表 3 所示，RSD%分别在 0.07 %~0.09%和 1.99 %~2.65%之间，实验结果表明，该分析方法具有良好的精密度。

表 3. 保留时间和峰面积精密度结果 (n=4)

序号	浓度 (µg/mL)	保留时间(RSD%)	峰面积(RSD%)
1	0.1	0.09	2.65
2	1	0.07	2.16
3	10	0.07	1.99

### 2.4 回收率

向空白血液中添加 EtG 标准品溶液，配制成浓度为 0.1, 1 和 10 µg/mL 的样品加标溶液，每个水平重复测定 3 次，加标样品的准确度和精密度结果如表 4 所示，平均回收率在 101.3~117.4%之间，RSD%在 1.77~4.31%之间。

表 4. 方法回收率结果(n=3)

序号	加标浓度 (µg/mL)	回收率(RSD%)	相对标准偏差(RSD%)
1	0.1	105.0	4.31
2	1	117.4	1.43
3	10	101.3	1.77

## 3. 结论

本文建立了一种使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 测定血液中 EtG 的方法。此联用系统从吸取样品、沉淀剂，到样品混匀、过滤以及将处理完的样品输送到 LCMS/MS 自动进样器，全部仪器自动完成。不涉及手动前处理操作，减小了人为误差，提高分析的准确度。本实验中检出限小于 0.05 µg/mL，基质校准曲线的线性范围为 0.1~10 µg/mL，准确度在 85.3%~106.3% 之间，方法灵敏度和准确度高，适合血液中乙基葡萄糖醛酸苷的检测，可供公安司法领域检测人员参考。

# CLAM-2030 与 LCMS-8050 联用系统建立抗精神病药治疗 药物监测定量分析方法

**摘要：** 本文使用岛津全自动在线前处理系统CLAM-2030和LC-MS/MS在线联用系统建立了血浆中11种抗精神病药的全自动定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，减少了人为误差，提高分析的准确度。基质标曲不同浓度点准确度在93.5~105.6%之间，质控样本实测浓度在试剂盒说明书列出的允许波动范围内。

**关键词：** CLAM-2030 抗精神病药 治疗药物监测 前处理

治疗药物监测(Therapeutic drug monitoring, TDM)是临床药理学的重要研究内容之一，主要通过采用灵敏的现代分析测试手段来定量分析患者血液样本中的药物及其代谢产物的浓度，探讨血药浓度与药物疗效、毒性之间的关系，以确定药物有效浓度及毒性浓度之间的范围，并可根据药物动力学公式来计算最佳的治疗剂量，做到用药个体化，指导临床合理用药。

由于抗精神病药能产生十分严重的不良反应，在体内吸收不规则，个体差异大，易产生药物蓄积性中毒等。因此TDM在抗精神病类药物的临床使用中发挥了重要作用，通过对抗精神病药的监测，可以及时调整患者的用药方案，避免药物并发症等其他不良反应。

目前抗精神病药的TDM方法有薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。但是TLC检测结果的假阳性高，HPLC缺点是灵敏度低，在生物样本的定量分析过程中有一定的局限性，LC-MS/MS因具有高灵敏度、检出限低的特点，可以进行多组分定性、定量检测。

为了提高临床检验工作效率，减少人力成本，目前医院和第三方医学检验单位都在寻求一种样本全自动在线前处理设备。岛津中国今年推出的CLAM-2000自动化生物样本前处理系统可以极大地提高了工作效率和自动化程度，减少了人为误差；减少分析人员接触生物样本机会，降低生物感染的风险；与LC-MS/MS自动连接，提高效率。

本文基于抗精神病药商品化试剂盒，使用岛津全自动在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS联用系统建立了11种抗精神病药的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，减少了人为误差，提高分析的准确度。该方法方便、快捷，实现了11抗精神病药的同时快速分析，供相关人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和质谱 LCMS-8060，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>SR</sub>
输液泵	: LC-30ADx2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	质谱仪	: LCMS-8060
前处理模块	: CLAM-2030	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91

## 1.2 分析条件

### 液相色谱条件

色 谱 柱 : 试剂盒 Neuroleptics 1 提供  
流 动 相 : A相-0.1%甲酸水溶液 B相-0.1%甲酸乙腈  
进 样 体 积 : 0.5  $\mu$ L 柱 温 : 30 $^{\circ}$ C  
流 速 : 0.6 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)  
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 20%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.20	泵	B Conc	20
0.21	泵	B Conc	50
0.70	泵	B Conc	50
0.71	泵	B Conc	70
2.30	泵	B Conc	70
2.31	泵	B Conc	20
3.00	控制器	STOP	20

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(+)  
加热气流速 : 空气 15.0 L/min  
雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min  
干燥气流速 : 氮气 5.0 L/min  
扫描模式 : 多反应监测(MRM)

加热模块温度 : 400  $^{\circ}$ C  
接 口 温 度 : 300  $^{\circ}$ C  
D L 温 度 : 200  $^{\circ}$ C  
接 口 电 压 : 1.5 kV  
M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

化合物名	Name	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
阿立哌唑	Aripiprazole	448.10	285.15*	-30	-26	-14
			176.15	-15	-32	-18
氯氮平	Clozapine	327.10	270.10*	-24	-21	-29
			192.15	-11	-43	-13
脱氢阿立哌唑	Dehydroaripiprazole	446.10	285.15*	-20	-23	-29
			98.15	-11	-41	-10
去甲氯氮平	Desmethylclozapine	313.10	192.10*	-21	-39	-30
			270.10	-14	-23	-13
氟哌啶醇	Haloperidol	376.10	165.15*	-26	-23	-30
			165.15	-28	-40	-22
去甲奥氮平	N-Desmethyloanzapine	299.10	256.15*	-21	-23	-27
			198.10	-30	-37	-21
11-(1-哌嗪基)二苯并[B,F][1,4]硫氮杂卓	Norquetiapine	296.10	210.10*	-21	-29	-22
			183.10	-10	-41	-19



奥氮平	Olanzapine	313.10	256.15*	-22	-23	-27
			198.05	-23	-42	-20
喹硫平	Quetiapine	384.10	253.10*	-29	-23	-26
			221.15	-10	-38	-15
利培酮	Risperidone	411.20	191.15*	-14	-29	-20
			110.30	-19	-48	-20
9-羟基利培酮	9-OH-Risperidone	427.20	207.15*	-30	-27	-22
			110.15	-11	-42	-11
奥氮平	Olanzapine IS	316.10	256.15*	-25	-21	-28
			198.10	-22	-41	-20
氟哌啶醇内标	Haloperidol IS	382.10	123.00*	-13	-40	-12
			123.00	-30	-26	-28
氯氮平内标	Clozapine IS	335.10	275.10*	-25	-23	-29
			192.10	-11	-46	-12
阿立哌唑内标	Aripiprazole IS	456.10	293.15*	-22	-27	-25
			177.90	-30	-29	-22
	N-		198.10*	-21	-35	-21
去甲奥氮平内标	Desmethylolanzapine IS	307.10	261.15	-22	-25	-17
9-羟基利培酮内标	9-OH-Risperidone IS	431.10	211.20*	-30	-29	-22
			114.15	-11	-44	-12
利培酮内标	Risperidone IS	415.20	195.20*	-30	-28	-20
			114.20	-14	-50	-22
喹硫平内标	Quetiapine IS	388.10	255.15*	-28	-23	-27
			223.20	-28	-40	-23
去甲氯氮平内标	Desmethyloclozapine IS	321.10	192.15*	-23	-41	-30
			275.10	-24	-24	-29
11-(1-哌嗪基)二苯并[B,F][1,4]硫氮杂卓内标	Norquetiapine IS	304.10	210.10*	-22	-30	-22
			183.10	-21	-41	-12
脱氢阿立哌唑内标	Dehydroaripiprazole IS	454.10	293.10*	-15	-25	-20
			102.20	-30	-42	-20

\*代表定量离子对。

### 1.3样品前处理

在CLAM-2030控制软件界面KIT.Cond菜单的子菜单protocol 项下，编辑样品自动前处理程序，具体步骤为 (1)、在过滤管中加入20 μL甲醇活化过滤管，准备上样；(2)、吸取血浆样品25 μL上样；(3)、加入提取盐溶液12.5 μL；(5)、转速2000 rpm振荡60秒；(4)、试剂针吸取125 μL蛋白沉淀剂（含内标）；(5)、转速1000 rpm震荡90秒；(6)、使用-50~-60 kPa的负压抽滤过滤管120秒，转移至液相自动进样器进样0.5 μL（详见图1）。

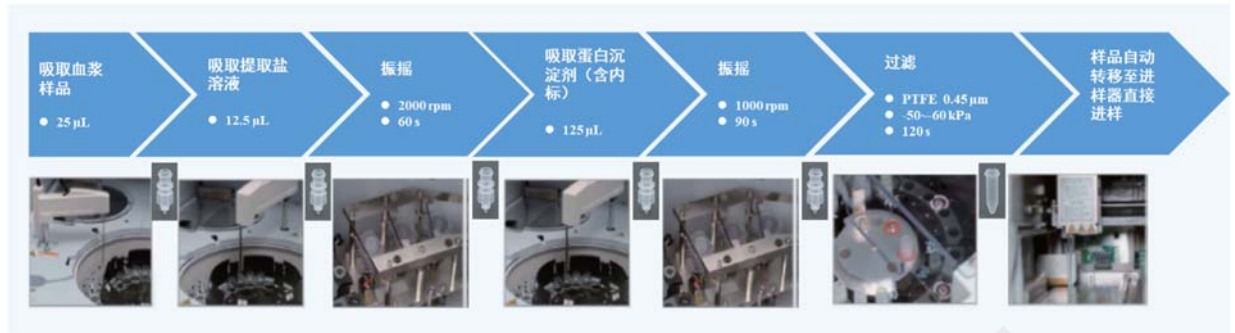
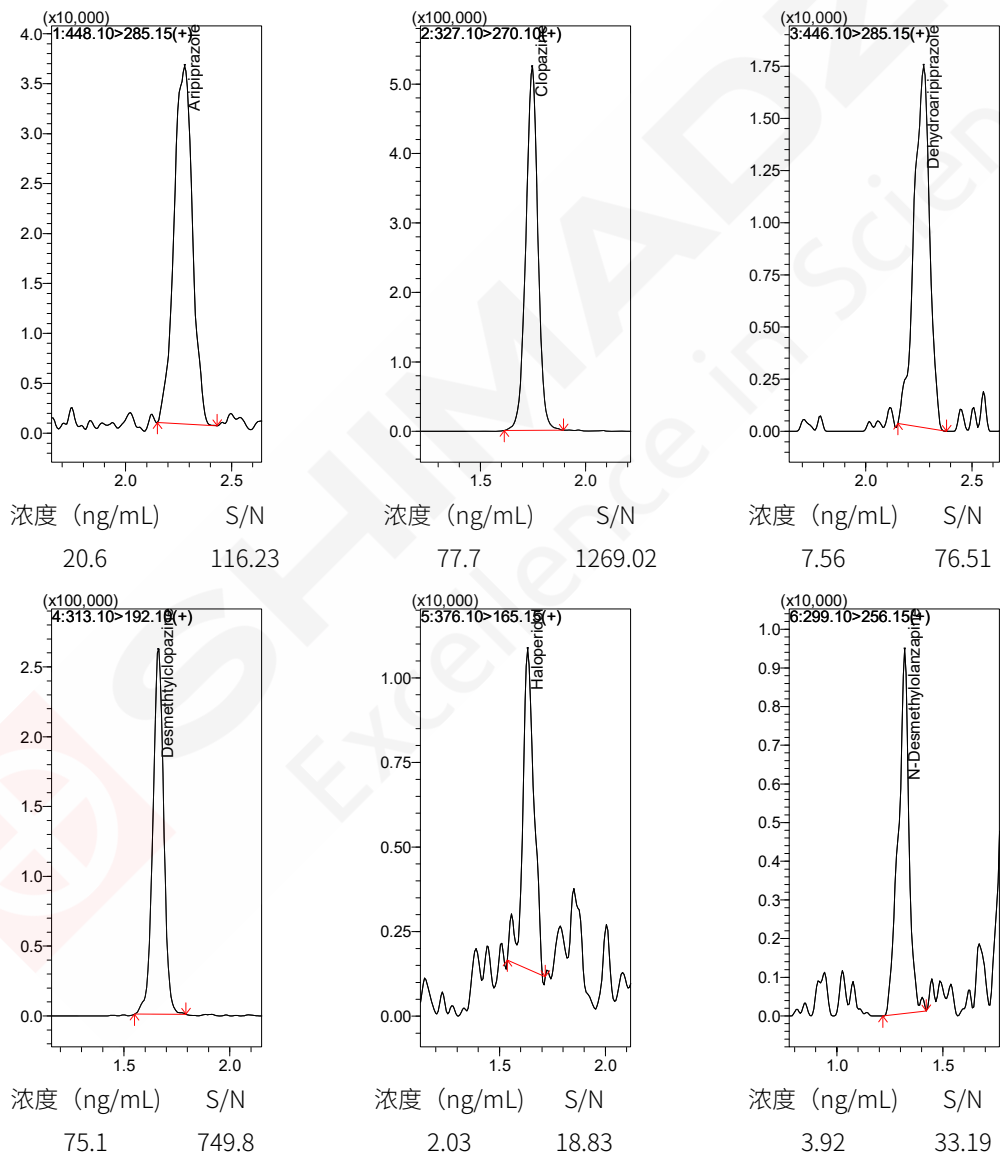


图 1. CLAM-2030 自动前处理流程

## 2. 结果与讨论

### 2.1 定量限基质标液MRM色谱图



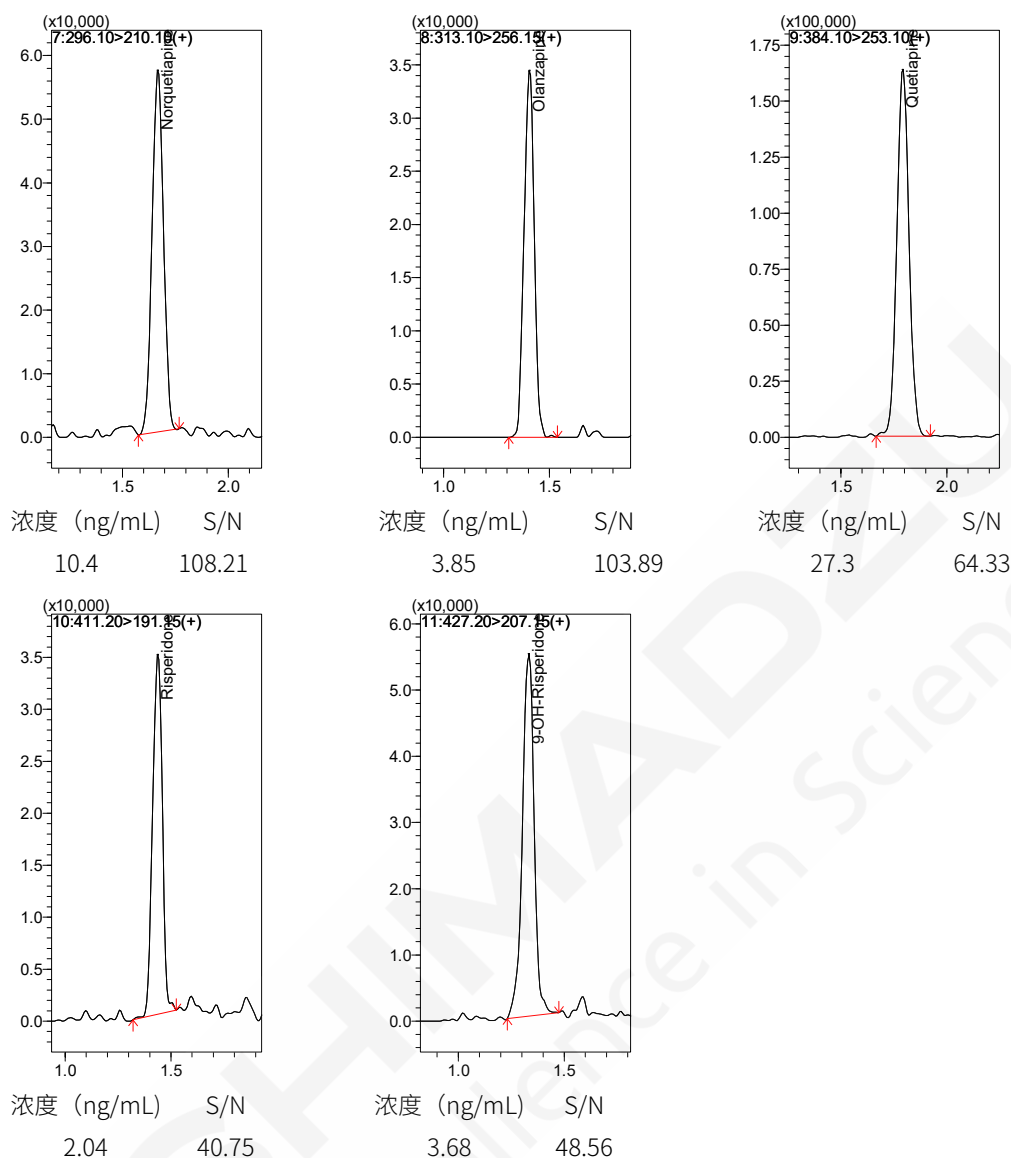


图 2.11 种抗精神病药定量下限色谱图

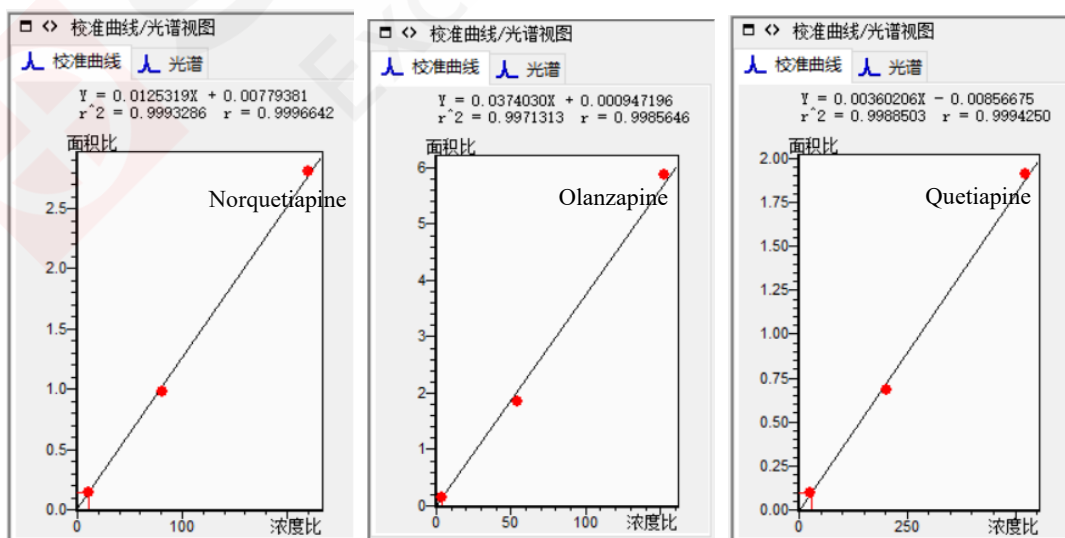
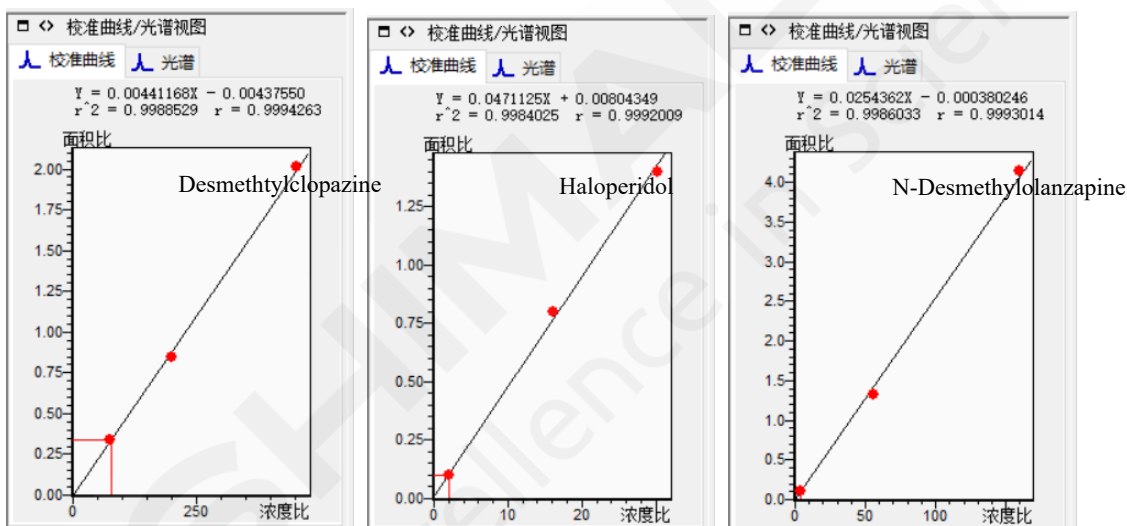
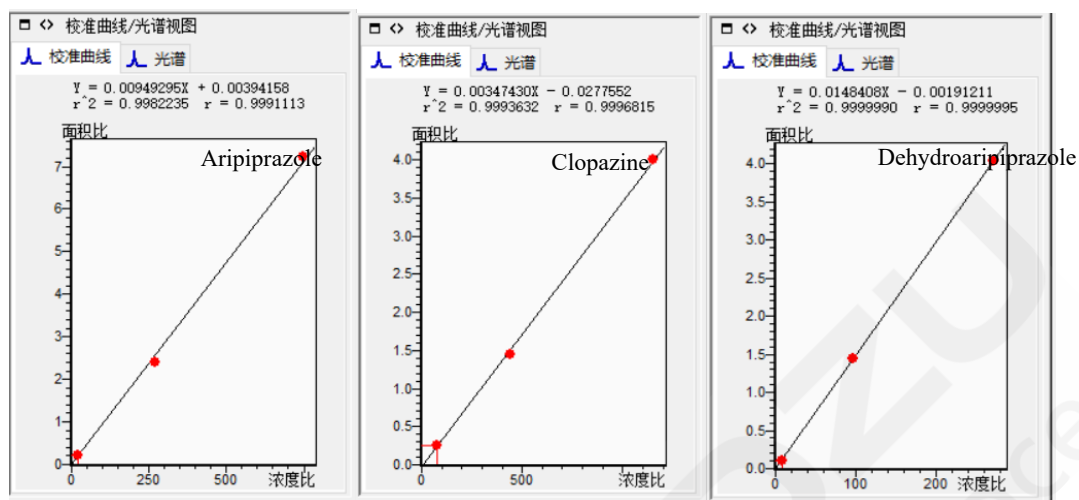
## 2.2 校准曲线

Neuroleptics 1试剂盒中各级别基质标品浓度和线性回归各浓度的准确度如表3所示,按1.4的自动前处理程序和1.3中的分析条件进行分析检测,利用内标法制作校准曲线,线性良好,线性方程、相关系数见图3。

表 3.11 种抗精神病药基质标曲浓度范围和标线准确度

Compounds	基质标曲浓度 (ng/mL)			准确度 (%)
	Calibrator1	Calibrator2	Calibrator3	
Aripiprazole	20.6	269	746	93.5~104.3
Clopazine	77.7	440	1149	96.6~102.3
Dehydroaripiprazole	7.56	97	273	99.9~100.2
Desmethyloclozapine	75.1	200	453	96.6~102.3
Haloperidol	2.03	16.1	30.3	97.6~104.7
N-Desmethylolanzapine	3.92	55.4	160	94.1~104.0
Norquetiapine	10.4	80.7	221	96.2~102.5
Olanzapine	3.85	54.1	153	91.6~105.6

Quetiapine	27.3	201	525	95.2~103.1
Risperidone	2.04	12.1	30.7	97.9~101.3
9-OH-Risperidone	3.68	49.5	138	97.4~101.7



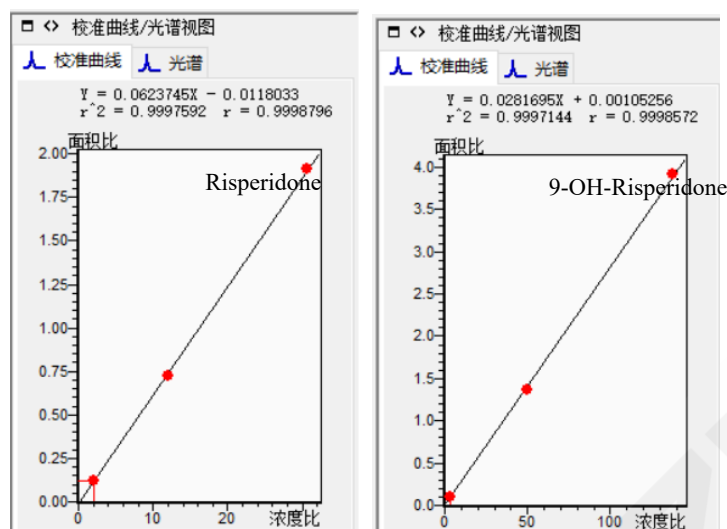


图 3.11 种抗精神病药基质标曲相关信息

### 2.3 质控样品检测结果

试剂盒Neuroleptics 1提供2个不同浓度质控样品QC1和QC2，标示浓度和允许波动范围如表4所示，实际检测浓度在允许波动范围内（表4）。

表 4. 质控样品检测结果

Compounds	标示浓度 (ng/mL)		允许波动范围 (ng/mL)		实测浓度 (ng/mL)	
	QC1	QC2	QC1	QC2	QC1	QC2
Aripiprazole	185	336	148-222	269-403	203.15	360.24
Clozapine	325	544	260-390	435-653	368.61	497.44
Dehydroaripiprazole	67.1	125	53.6-80.5	100-150	75.46	132.28
Desmethylclozapine	166	234	133-199	187-280	183.27	257.22
Haloperidol	4.03	17.9	3.22-4.83	14.3-21.4	4.62	17.75
N-Desmethyloanzapine	39.8	72.3	31.8-47.7	57.8-86.7	42.55	77.50
Norquetiapine	58.2	101	46.5-69.8	80.6-121	62.30	101.06
Olanzapine	37.9	68.6	30.3-45.4	54.9-82.4	41.88	68.37
Quetiapine	148	244	118-177	195-292	166.12	234.21
Risperidone	9.1	14.3	7.28-10.9	11.5-17.2	9.93	14.14
9-OH-Risperidone	33.6	61	26.9-40.3	48.8-73.3	35.78	66.37

### 3. 结论

本文使用岛津全自动在线前处理设备CLAM-2030和LC-MS/MS在线联用系统，建立了人血浆种11种抗精神病药的定量分析方法，整个实验流程不涉及手动前处理操作，从吸取样品、提取试剂、沉淀剂，到样品混匀、过滤，以及将处理完的样品输送到LC-MS/MS自动进样器均靠仪器自动完成，减少了人为误差，提高分析的准确度，适合临床样本抗精神病药的快速定量检测。本实验中基质标曲不同浓度点准确度在93.5~105.6%之间，质控样本实测浓度在试剂盒说明书列出的允许波动范围内。



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

## ⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

### 北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层  
邮政编码: 100020  
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

### 沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
邮政编码: 110016  
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

### 西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501  
邮政编码: 710065  
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座  
邮政编码: 830002  
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

### 郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
邮政编码: 450007  
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋  
邮政编码: 200233  
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

### 成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼  
B座12层  
邮政编码: 610063  
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

### 南京

南京市鼓楼区汉中中路2号亚太商务楼27层B座  
邮政编码: 210005  
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

### 重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座  
邮政编码: 400010  
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

### 武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室  
邮政编码: 430060  
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

### 广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦  
邮政编码: 510656  
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

### 昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室  
邮政编码: 650021  
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

### 深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C  
邮政编码: 518040  
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

### 长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室  
邮政编码: 410005

### 香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室  
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,  
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG  
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439  
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准  
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知