

全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS 结合 LCMS-8045 快速测定全血中的四种毒品

LCMSMS-353

摘要：本文建立了一种使用全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS 及岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用快速测定全血中甲基苯丙胺 (MAMP)、甲卡西酮 (Methcathinone)、3, 4- 亚甲基二氧甲基苯丙胺 (MDMA) 和氯胺酮 (Ketamine) 含量的方法。以全血空白基质配制标曲，外标法定量，线性相关系数不低于 0.9985，检出限和定量限分别在 0.001-0.005 ng/mL 和 0.003-0.016 ng/mL 之间。对低、高两个浓度的加标样品分别用 ATLAS-USIS 平行处理 6 个，四种毒品上机分析保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~0.28% 和 1.98~5.37% 之间，回收率在 63.3~77.8% 之间，表明 ATLAS-USIS 精密度及回收率良好。该方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，且有效避免了涉毒血液样品对实验人员的生物感染风险，可为司法刑侦人员提供参考。

关键词：ATLAS-USIS 自动前处理装置 LCMS-8045 涉毒全血样品

血液中毒物浓度可以有效反映毒品作用强度、对行为能力影响程度或中毒程度，是常用的生物检材。国际法庭毒理协会 (The International Association of Forensic Toxicologists, TIAFT) 已公布血液中 800 多种毒物、药物的治疗浓度和中毒浓度参考资料。实际检测中常用液-液萃取的方式处理涉毒血样，但人工操作繁琐、费时、费力，且涉毒血样中的未知成分可能对操作人员造成潜在的生物危害。岛津公司全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS 针对尿液、血液及唾液等样品中的毒物、兴奋剂

等违禁药物可自动进行液-液萃取制备样品，整个处理过程在相对密闭的环境中进行，可有效避免样品污染，减少操作者的感染危险。样品处理结束，复溶后即可进行液质联用分析或气质联用分析，自动化程度高，大量节省人力物力。

本文利用岛津全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS，结合 LCMS-8045 建立了全血中 4 种毒品的高自动化、高灵敏度、快速检测方法。对司法刑侦领域人员具有参考意义。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS 及超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.86 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18 (2.1 mm×100 mm L., 2.0 μm)

流动相: A 相 - 水 +0.2% 甲酸, B 相 - 甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 5 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%, 洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	20
4.50	Pumps	Pump B Conc.	95
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
6.01	Pumps	Pump B Conc.	20
8	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

接口电压: 0.5 kV

MRM 参数: 见表 2

碰撞气: 氦气

接口温度: 300°C

D L 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

表2 MRM优化参数

化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
MAMP	33817-09-3	150.20	91.10*	-16.0	-21.0	-18.0
			119.15	-15.0	-14.0	-23.0
Methcathinone	5650-44-2	164.15	146.15*	-17.0	-14.0	-27.0
			130.10	-17.0	-29.0	-25.0
			163.15*	-20.0	-13.0	-17.0
MDMA	64057-70-1	194.15	105.15	-20.0	-25.0	-19.0
			125.05*	-11.0	-26.0	-23.0
Ketamine	6740-88-1	238.15	179.10	-11.0	-18.0	-18.0

*表示定量离子

1.3 样品前处理

(1) 取 2 mL/份空白血样 15 份 (由于全血样品粘度较大, 考虑到萃取效果等所用血液样品为 4 倍稀释全血样品, 下同), 用 ATLAS-USIS 自动前处理装置的 MainSeq 2 程序处理, 将处理得到的样品用 2 mL 初始流动相溶解、0.22 μm 滤膜过滤, 制得空白基质 (注: ATLAS-USIS 的 MainSeq 2 程序处理样品时, 取 2 mL 样品, 用 3 mL 乙醚萃取, 然后取 2.4 mL 上清液进行干燥处理, 最后用 2 mL 流动相将干燥剩余物复溶)。将 1 mg/mL 标准样品 (甲醇溶解) 储备液以空白基质逐级稀释得到浓度分别为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00、50.00、100.00 ng/mL 的标准溶液。

(2) 取准确体积的 1 mg/mL MAMP、Methcathinone、MDMA 及 Ketamine 标样储备液, 加到空白血样中, 依次配制得到浓度分别为 50.00、1.00 ng/mL 的基质加标溶液, 每个浓度平行取样 6 份, 用 ATLAS-USIS 自动前处理装置的 MainSeq 2 程序进行前处理, 将处理得到的样品用 2 mL 初始流动相溶解, 0.22 μm 滤膜过滤后上机分析, 用于考察 ATLAS-USIS 处理血样时的回收率及重复性。

结果与讨论

2.1 标准样品 MRM 色谱图

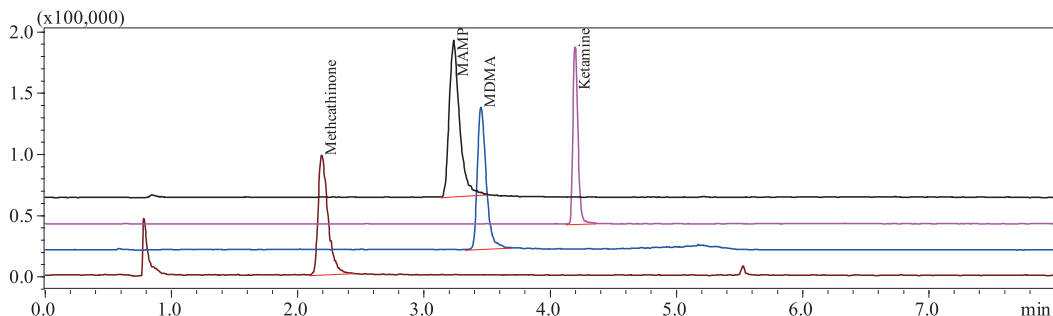


图1 0.5 ng/mL标准样品MRM色谱图

2.2 线性范围

将浓度为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00、50.00、100.00 ng/mL 标准工作液，按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，结果如图 2 所示，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

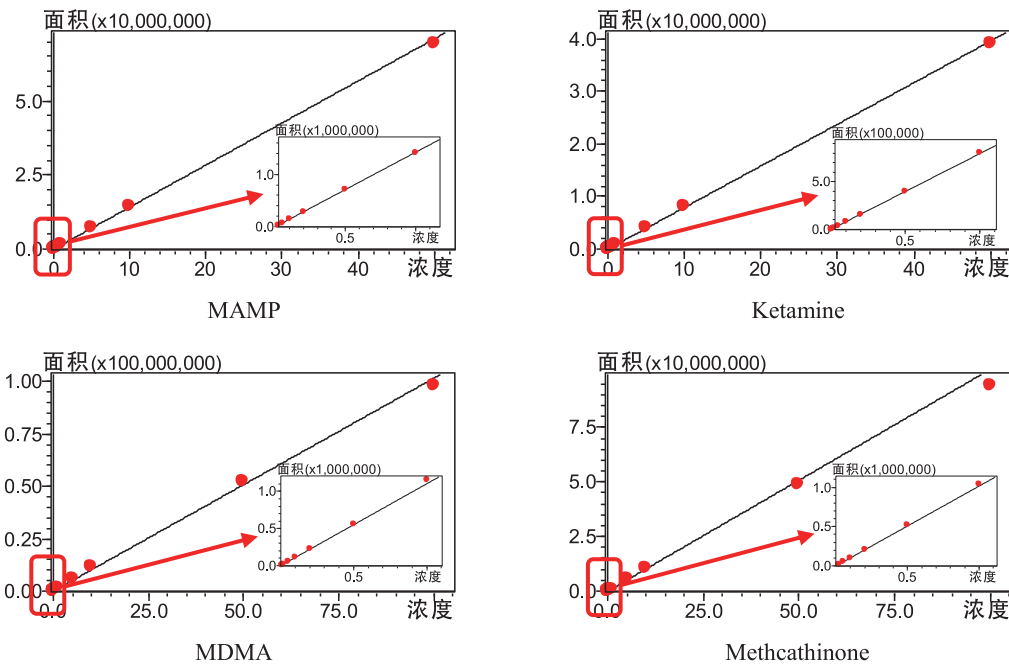


图2 校准曲线

表3 校准曲线参数(权重1/C²)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
MAMP	$Y = (1.42342e+006)X + (15.8465)$	0.020~50.00	0.9998	97.4~102.1
Ketamine	$Y = (796288)X + (-367.812)$	0.005~50.00	0.9998	97.8~102.4
MDMA	$Y = (1.10263e+006)X + (-155.363)$	0.010~100.00	0.9985	89.0~105.4
Methcathinone	$Y = (1.01564e+006)X + (104.338)$	0.020~100.00	0.9993	92.5~103.9

2.3 检出限和定量限

对浓度为 0.02 ng/mL 溶液进样分析，以 ASTM 法计算噪声，以噪声的 3 倍作为最低检出限 (即 S/N=3, LOD 表示)，以噪声的 10 倍作为最低定量限 (即 S/N=10, LOQ 表示)，则仪器对 4 种目标物的 LOD 和 LOQ 结果如表 4 所示。

表4 检出限和定量限

名称	LOD(ng/mL)	LOQ(ng/mL)
MAMP	0.005	0.015
Ketamine	0.001	0.003
MDMA	0.003	0.009
Methcathinone	0.005	0.016

2.4 ATLAS-USIS 精密度实验

将 ATLAS-USIS 自动前处理装置处理得到的样品采用 1.2 的方法进行分析, 考察 ATLAS-USIS 的重复性, 4 种目标物在低、高不同浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~0.28% 和 1.98~5.37% 之间, 结果表明 ATLAS-USIS 具有良好的精密度。

表5 ATLAS-USIS处理样品的保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

名称	RSD% (1 ng/mL)		RSD % (50 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area
MAMP	0.26	1.98	0.08	5.22
Ketamine	0.01	3.50	0.04	2.10
MDMA	0.13	2.49	0.03	4.31
Methcathinone	0.24	3.65	0.28	5.37

2.5 ATLAS-USIS 处理血样回收率实验

空白样品中添加 4 种目标物, 用 ATLAS-USIS 对样品处理后进样分析, 计算回收率, 结果如表 6 所示, 在低、高不同浓度下 4 种目标物的回收率在 63.3~77.8% 之间。

表6 ATLAS-USIS前处理装置回收率结果

名称	回收率 (% , 1 ng/mL)	回收率 (% , 50 ng/mL)
MAMP	77.8	70.7
Ketamine	68.8	70.8
MDMA	70.4	72.8
Methcathinone	69.5	63.3

结论

本文建立了一种使用岛津全自动样品前处理仪 ATLAS-USIS 及岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定全血样品中 MAMP、Methcathinone、MDMA 和 Ketamine 含量的方法。外标法定量, 线性相关系数不低于 0.9985, 检出限和定量限分别在 0.001-0.005 ng/mL 和 0.003-0.016 ng/mL 之间。低、高浓度加标样平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~0.28% 和 1.98~5.37% 之间, 回收率在 63.3~77.8% 之间, 表明 ATLAS-USIS 精密度及回收率良好。方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点, 且可有效减少样品污染及生物检材对操作者的感染风险, 可用于全血样品中这 4 种毒品含量的快速测定。