

超高效液相色谱与串联质谱联用快速检测 人体尿样中毒品的残留

LCMSMS-046

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用快速测定人体尿样中毒品的分析方法。空白尿样经处理后，用超高效液相色谱 LC-30A 分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定性定量分析。2 种毒品在 6 分钟内得到快速分离和检测。安非他明和氯胺酮在 1–100 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液浓度范围内具有良好的线性相关性，相关系数在 0.9997–0.9998 之间。对 5 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液连续 6 次进样进行精密度实验，安非他明的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.12% 和 2.95% 以下；氯胺酮的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.19% 和 3.06% 以下，仪器精密度良好。采取空白尿样基质加标低中高三个不同浓度的方法计算回收率进行方法验证，2 种毒品的的方法回收率范围为 92.57%–104.4%，精密度 RSD% 在 0.83%–2.27% 之间，安非他明的检出限为 0.26 $\mu\text{g/L}$ ，氯胺酮的检出限为 0.17 $\mu\text{g/L}$ ，可以满足日常痕量分析要求。实验结果表明该方法简便、高效、快速、高灵敏度，为涉嫌吸毒人员的快速筛查提供参考依据。

关键词：毒品尿样 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱

安非他明 (Amphetamine, 结构式见图 1) 是一种苯丙胺类中枢兴奋剂，主要作用于中枢神经和交感神经，属于中枢神经兴奋类毒品，是近年来较为流行的毒品，吸食人员较多。这种苯丙胺类毒品由于其见效快，药力维持时间长，联合国禁毒署专家认为它们将有可能取代海洛因和鸦片等毒品而成为 21 世纪全球滥用范围最广的毒品。根据卫生部、国家食品药品监督管理局关于《苯丙胺类兴奋剂滥用及相关障碍的诊断治疗指导原则》的通知，安非他明在人体内约 70% 经肝脏转化代谢，其余 30% 随尿排出体外。

氯胺酮 (Ketamine, 结构式见图 1) 俗称“K 粉”，是一种应用于外科手术的注射用麻醉药，由于氯胺酮过量注射后可使人产生一种梦幻感和精神亢奋等“分离性幻觉”，所以也被滥用作毒品，自 20 世纪 90 年代中期从国外滥用蔓延至我国，主要在舞厅、迪吧等娱乐场所滥用。它与苯丙胺、可卡因等药物一起被列入了滥用药物和毒品的范围。

随着毒品的泛滥，两种或者多种毒品的混合使用也越来越多。近年来在毒品市场上出现了合并滥用毒品，如“摇头丸”（苯丙胺类兴奋剂）和“K 粉”，因此同时检测液体中不同类型的混合毒品对于打击毒品犯罪，发展准确、快速、高效的检测方法无论从禁毒或毒理研究等方面来说都有重要的意义。

通常尿样由于采样简单且易于获得经常成为分析的对象，但尿样基质组成复杂，干扰成分多，且目标物的含量往往较低，因此分析尿样基质中的毒品往往必须进行一定的样品前处理。常见的样品前处理有固相萃取、

固相微萃取、液液萃取等，这些样品前处理都可以不同程度的达到对目标物提纯、净化、浓缩的作用，但是操作步骤较为繁琐、费时。岛津 Nexera UHPLC LC-30A 具有高扩展性能，可以在 130MPa 高压系统中使用具有超强分离能力的色谱柱，该色谱柱更长，填料粒径更小，有助于超快速和高分离分析的同时实现。岛津 LCMS-8030 具有超快速扫描、超快速正负极性切换，自动调整的 MRM 优化参数，可以获得对多组分的高灵敏分析。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用建立了一种快速测定人体尿样中毒品的分析方法。该方法具有简便、快速、高效、高灵敏度，避免繁琐的固相萃取等净化操作，大大节约分析时间。

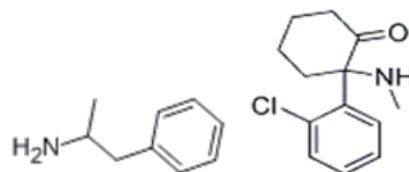


图1 安非他明 (左) 和氯胺酮 (右) 的结构式

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 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-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.42 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器: LC-30 A 系统
 色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0
 mmI.D. × 75 mmL., 2.2 μm
 流动相: A - 10 mM 乙酸铵 (含体积分数 0.1%
 甲酸), B - 甲醇, A/B=65%/35% (V/V)
 流速: 0.2 mL/min
 进样体积: 2 μL
 柱温: 40°C

质谱条件

分析仪器: LCMS-8030
 离子源: ESI, 正离子扫描
 离子源接口电压: 4.5 kV
 雾化气: 氮气 3.0 L/min
 干燥气: 氮气 15 L/min
 碰撞气: 氩气
 脱溶剂管温度: 250°C
 加热模块温度: 400°C
 扫描模式: 多反应监测 (MRM)
 驻留时间: 100 ms
 延迟时间: 3 ms
 MRM 参数: 见表 1

表1 MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
安非他明	136.10	91.15*	-20.0	-20.0	-19.0
	136.10	119.15	-20.0	-15.0	-24.0
氯胺酮	238.00	125.05*	-21.0	-30.0	-26.0
	238.00	179.10	-21.0	-20.0	-13.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制

将浓度各为 100 mg/L 的安非他明和氯胺酮, 用超纯水依次稀释至 1000 μg/L 的混合标样。将 1000 μg/L 的 2 种毒品混合标样, 用水逐级稀释成浓度为 1、2、5、10、20、50、100 μg/L 的标准工作液用于建立标准曲线。

1.3.2 样品前处理方法

采集正常人尿样贮存于 -18°C 冰箱中, 解冻后取上层清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 加标 2 种毒品混合标样用超纯水稀释 10 倍后直接用于液质分析。空白基质采取尿样不加标的方式, 其余处理步骤相同。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

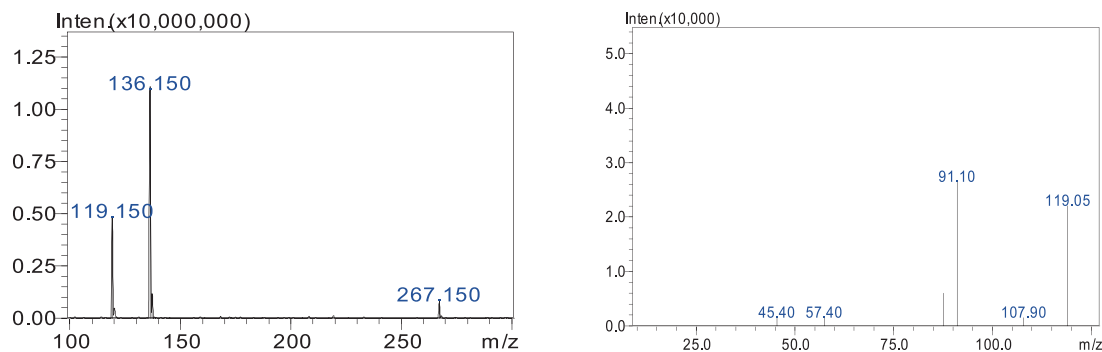


图2 安非他明的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为 -20V) (右图)

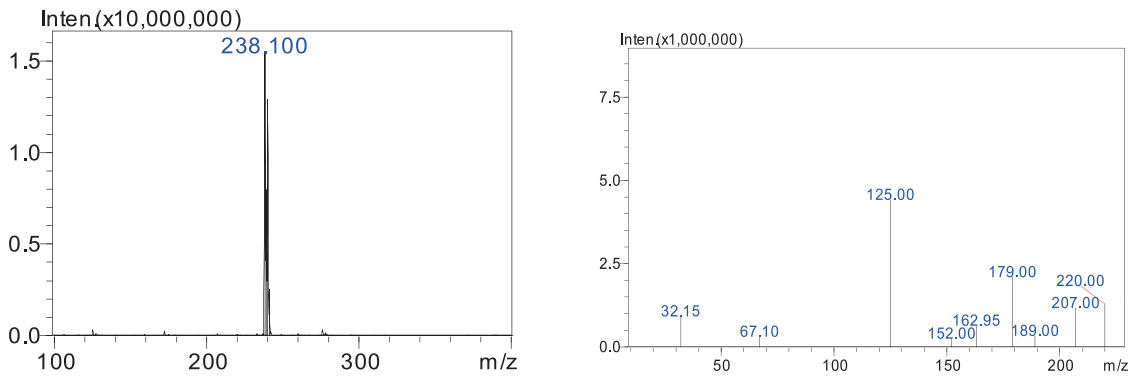


图3 氯胺酮的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为-30V）（右图）

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

10 μg/L 的混合标样 MRM 色谱图如图 4 所示。

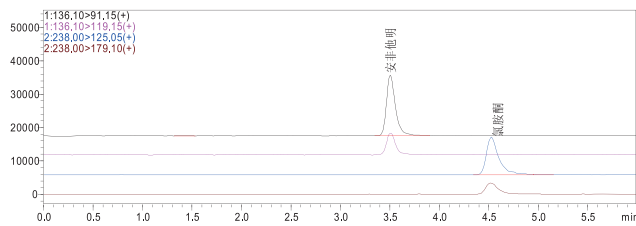


图 4 10 μg/L 标准样品安非他明和氯胺酮的 MRM 色谱图

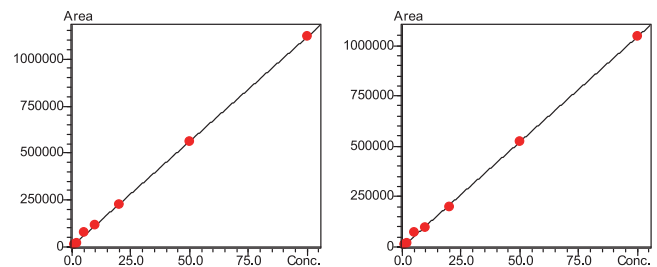


图 5 安非他明（左图）和氯胺酮（右图）的标准工作曲线

2.3 线性关系

将浓度为 1、2、5、10、20、50 和 100 μg/L 的 2 种毒品混合标准工作液，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，七点外标法建立校准曲线，如图 5 所示。安非他明和氯胺酮在 1–100 μg/L 的浓度范围内，线性相关性良好，相关系数在 0.9997–0.9998 之间（见表 2）。

表 2 安非他明和氯胺酮的标准曲线

编号	化合物名称	标准曲线	相关系数
1	安非他明	$Y = 11123.6X + 5670.44$	0.9998
2	氯胺酮	$Y = 10438.8X - 102.131$	0.9997

2.4 检出限和定量限

往空白尿样中加入 2 种毒品混合标液，按照 1.3.2 中的处理方式，最终加标浓度为 1 μg/L，平行测定 6 份。仪器对安非他明和氯胺酮尿样基质的方法检出限分别为 0.26、0.17 μg/L，定量限分别为 0.85、0.55 μg/L，检出限和定量限结果与标样测定结果相差不大，表明该方法具有良好的灵敏度，由表 3 可知，本方法具有优于《司法鉴定技术规范》（SF/Z JD0107004–2010）中《生物检材中苯丙胺类兴奋剂、度冷丁和氯胺酮的测定》的检测灵敏度。

表 3 安非他明和氯胺酮的检出限和定量限

化合物名称	标样浓度 1 μg/L		尿样基质加标 1 μg/L	
	检出限 (μg/L)	定量限 (μg/L)	检出限 (μg/L)	定量限 (μg/L)
安非他明	0.19	0.64	0.26	0.85
氯胺酮	0.10	0.33	0.17	0.55

2.5 精密度实验

配制浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的混合标样, 依次进样, 平行测定 6 次, 安非他明在不同浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06–0.12% 和 0.58–2.95% 之间, 氯胺酮在不同浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.10–0.19% 和 0.97–3.06% 之间, 仪器具有良好的精密度 (见表 4)。

表 4 安非他明和氯胺酮保留时间和峰面积的重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (20 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
安非他明	0.12%	2.95%	0.06%	1.33%	0.08%	0.58%
氯胺酮	0.19%	3.06%	0.10%	1.68%	0.11%	0.97%

2.6 基质加标实验

图 6 为空白尿样按照 1.3 中样品制备方法所得 MRM 色谱图, 往空白尿样中添加 2 种毒品标样, 使目标分析物的浓度均为 5、20、100 $\mu\text{g/L}$, 平行实验测定 3 次, 在不同浓度下安非他明的加标回收率在 92.57–100.1% 之间, RSD% 在 0.83%–2.27% 之间; 氯胺酮的加标回收率在 100.5–104.4% 之间, RSD% 在 0.88%–1.92% 之间 (见表 5)。空白尿样基质加标浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 的 MRM 色谱图如图 7 所示。从图 7 中可以看到, 5 $\mu\text{g/L}$ 的基质加标样品有很好的响应。

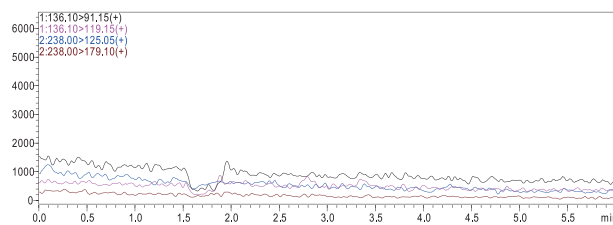


图 6 空白尿样的 MRM 色谱图

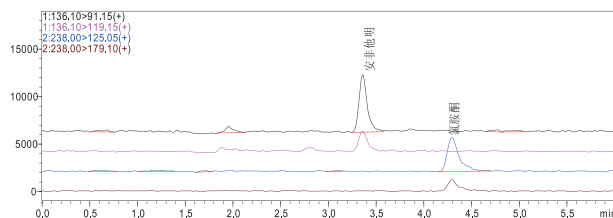


图 7 空白尿样加标浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 的 MRM 色谱图

表 5 空白尿样基质加标回收率 (n=3)

化合物名称	Low-5 $\mu\text{g/L}$		Medium-20 $\mu\text{g/L}$		High-100 $\mu\text{g/L}$	
	Recovery%	RSD%	Recovery%	RSD%	Recovery%	RSD%
安非他明	92.57%	2.27%	98.10%	0.95%	100.1%	0.83%
氯胺酮	104.4%	1.92%	102.5%	1.51%	100.5%	0.88%

结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用快速测定人体尿样中毒品残留的分析方法。尿样经 0.22 μm 滤膜过滤后加标稀释后直接进行检测, 安非他明和氯胺酮在 1–100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好, 相关系数在 0.9997–0.9998 之间。安非他明的方法检出限为 0.26 $\mu\text{g/L}$, 氯胺酮的检出限为 0.17 $\mu\text{g/L}$, 能达到《司法鉴定技术规范》(SF/Z JD0107004–2010) 中《生物检材中苯丙胺类兴奋剂、度冷丁和氯胺酮的测定》规定的安非他明的检出限为 0.5 $\mu\text{g/L}$, 氯胺酮的检出限为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 的分析要求。尿样基质加标低中高不同浓度, 2 种目标分析物的方法回收率范围为 92.57%–104.4%, 精密度 RSD% 在 0.83%–2.27% 之间。实验结果表明该方法简便、高效、快速、高灵敏度, 可以满足日常分析要求, 有望用于涉嫌吸毒人员的快速筛查。