

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定生物基质中毒品浓度

## LCMSMS-084

**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-8080 联用测定唾液和血浆中 15 种毒品的方法。该方法在 9 min 内完成吗啡、可待因、杜冷丁、曲多马、冰毒、MDMA、氯胺酮、美沙酮、地西洋、硝西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、艾司唑仑、三唑仑、咪达唑仑等常见毒品的分离，在唾液和血浆中的线性范围均为 0.5~500 ng/mL，相关系数均在 0.997 以上。分别用唾液和血浆基质配制 0.5 ng/mL、5.0 ng/mL、50 ng/mL 的标准溶液考察重复性，唾液基质中连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.004% ~ 0.182% 和 1.095% ~ 4.772% 之间，血浆基质中连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.006% ~ 0.097% 和 0.392% ~ 3.912%，仪器精密度良好。唾液中 15 种毒品的定量限在 0.160~0.323 ng/mL 之间，检出限在 0.040~0.081 ng/mL 之间；血浆中 15 种毒品的定量限在 0.075~0.239 ng/mL 之间，检出限在 0.019~0.060 ng/mL 之间。

**关键词：** 三重四极杆质谱 唾液 血浆 毒品

精神活性药物导致行为能力下降影响道路交通安全，因服药和吸毒导致车祸的案件逐年增多，已成为一个全球性的公众健康安全问题。根据调查研究表明，服用精神活性药物后对于驾驶操作能力有直接影响。我国道路交通安全法第二十二条规定饮酒、服用国家管制的精神药品或者麻醉品的，不得驾驶机动车。我国卫生部发布的受国家管制的麻醉药品有 118 种，精神药品有 119 种，并明确规定上述品种包括其盐及制剂。我国刑法中第二百五十七条定义的毒品，是指鸦片、海洛因、甲基苯丙胺（冰毒）、吗啡、大麻、可卡因以及国家规定管制的其他能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品。

目前人体内毒品检测的方法有免疫测试法、气相色谱法、液相色谱、液质联用法、气质联用法及毛细管电

泳法。目前检验检疫部门对出入境人员尿液进行毒品检测的方法 SN/T 2603-2010 主要采用胶体金免疫法快速检测吗啡、甲基安非他明等毒品，但是该方法假阳性较高。近年来，液相色谱-质谱联用技术（LC-MS/MS）的高灵敏度和高选择性，使其在生物分析中得到广泛应用，也成为法医毒物分析的强有力工具。LC-MS/MS 技术能够同时测定多种毒品，提高了分析的通量。目前毒品检测主要以尿检、血检为主，近年来唾液也成为检测毒品的有效物质，而且唾液的采集较尿液、血液更为方便，不易逃检。建立简单、快速、准确分析生物基质中，例如血浆、唾液中毒品检测的 LC-MS/MS 方法对于公安交通管理部门快速检测及阳性结果确认毒驾提供，有效防止逃检现象，提高对吸毒驾驶的监管力度。

## 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-8080 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-8080 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 SP1 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

- 色谱柱：Inertsil ODS-4 3.0 mm I.D. × 100 mm L., 2 μm
- 流动相：A 相 -10 mM 醋酸铵, 0.1% 甲酸水溶液；  
B 相 - 乙腈
- 流速：0.6 mL/min
- 柱温：40°C
- 进样量：10 μL
- 洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 6%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	6
2.50	Pumps	Pump B Conc.	40
6.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.01	Pumps	Pump B Conc.	6
9.00	Controller	Stop	

## 质谱条件

分析仪器:	LCMS-8080	雾化气流速:	5.0 L/min
离子源:	ESI, 正离子模式分析	加热气流速:	12.0 L/min
Probe 温度:	400°C	离子源电压:	4.5 kV
HSID 温度:	300°C	扫描模式:	多反应监测 (MRM)
		MRM 参数:	见表 2

表 2 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	驻留时间 (ms)	EV (V)	CE(V)	CCL4(V)
吗啡	286.05	153.15*	100	10.0	-58.0	-10.0
		165.15		10.0	-56.0	-8.0
可待因	300.10	153.10*	10	40.0	-40.0	-20.0
		199.05	10	20.0	-59.0	-12.5
杜冷丁	248.10	220.10*	10	10.0	-29.0	-10.0
		174.15	10	10.0	-27.0	-15.0
曲多马	264.10	58.40*	10	20.0	-52.0	-3.0
		246.20	10	10.0	-17.0	-15.0
甲基安非他明	150.30	119.20*	10	10.0	-15.0	-10.0
		91.20	10	20.0	-27.0	-5.0
MDMA	194.05	163.10*	10	20.0	-18.0	-15.0
		105.15	10	20.0	-36.0	-6.0
氯胺酮	238.10	125.15*	10	10.0	-24.0	-10.0
		179.10	10	10.0	-39.0	-8.0
美沙酮	310.10	265.05*	10	10.0	-19.0	-15.0
		105.15	10	10.0	-38.0	-8.0
地西洋	284.90	222.00*	10	40.0	-38.0	-20.0
		154.00	10	30.0	-42.0	-12.5
硝西洋	281.95	236.05*	10	30.0	-34.0	-20.0
		207.05	10	20.0	-49.0	-15.0
氯硝西洋	315.90	270.00*	10	40.0	-33.0	-15.0
		241.00	10	30.0	-46.0	-15.0
阿普唑仑	309.00	280.95*	10	20.0	-34.0	-20.0
		274.00	10	40.0	-34.0	-25.0

艾司唑仑	295.00	266.95*	10	20.0	-34.0	-25.0
		240.95	10	20.0	-32.0	-12.5
三唑仑	343.00	314.95*	10	40.0	-36.0	-8.0
		307.95	10	20.0	-38.0	-10.0
咪达唑仑	326.00	291.00*	10	20.0	-38.0	-12.5
		249.00	10	10.0	-48.0	-20.0

注：\*表示定量离子

### 1.3 标准工作溶液的配制

标准物质：共 15 种，分别为吗啡、可待因、杜冷丁、曲马多、甲基安非他明、MDMA、氯胺酮、美沙酮、地西洋、硝西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、艾司唑仑、三唑仑和咪达唑仑。

标准工作溶液配制：用乙腈配制 50  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准中间溶液，用乙腈稀释成 25  $\mu\text{g/mL}$ 、12.5  $\mu\text{g/mL}$ 、5  $\mu\text{g/mL}$ 、2.5  $\mu\text{g/mL}$ 、0.25  $\mu\text{g/mL}$ 、0.10  $\mu\text{g/mL}$ 、0.05  $\mu\text{g/mL}$  不同浓度的混合标准工作液。

### 1.4 标准曲线的配制

分别用 500  $\mu\text{L}$  唾液和血浆作为空白基质，分别加

入 5  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准工作溶液配制成 0.5  $\text{ng/mL}$ 、1.0  $\text{ng/mL}$ 、2.5  $\text{ng/mL}$ 、25  $\text{ng/mL}$ 、50  $\text{ng/mL}$ 、125  $\text{ng/mL}$ 、250  $\text{ng/mL}$ 、500  $\text{ng/mL}$  标准曲线。

### 1.4 样品前处理方法

取 50  $\mu\text{L}$  的唾液样品，加入 200  $\mu\text{L}$  的乙腈沉淀，涡旋振荡后 4500 转 / 分钟离心 10 分钟，取上清液直接进样分析。

取 50  $\mu\text{L}$  的血浆样品，加入 200  $\mu\text{L}$  的乙腈沉淀，涡旋振荡后 4500 转 / 分钟离心 10 分钟，取上清液直接进样分析。

## 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

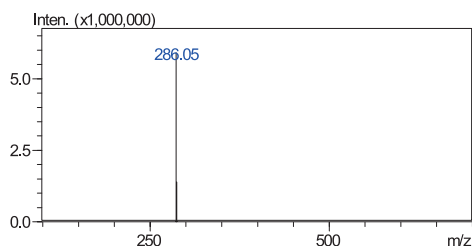


图1 吗啡的一级质谱图

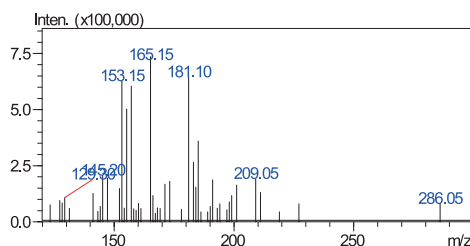


图2 吗啡的产物离子扫描图(CE值-50 V)

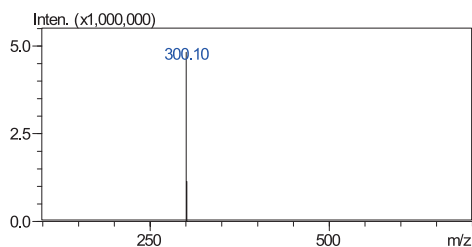


图3 可待因的一级质谱图

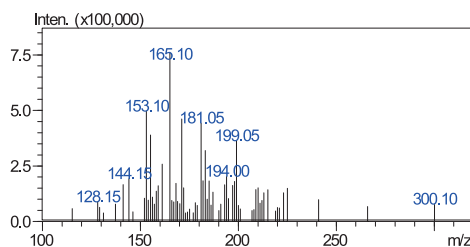


图4 可待因的产物离子扫描图(CE值-50V)

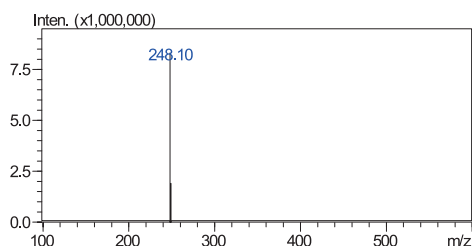


图5 杜冷丁的一级质谱图

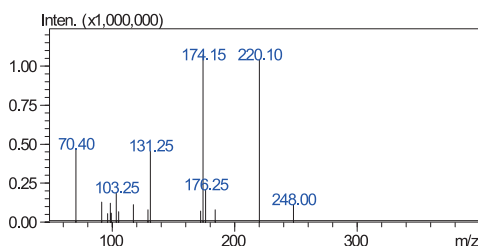


图6 杜冷丁的产物离子扫描图(CE值-40V)

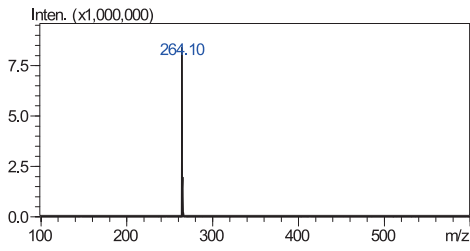


图7 曲马多的一级质谱图

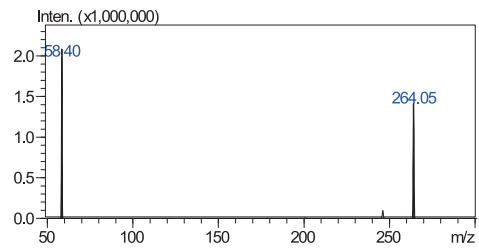


图8 曲马多的产物离子扫描图(CE值-20V)

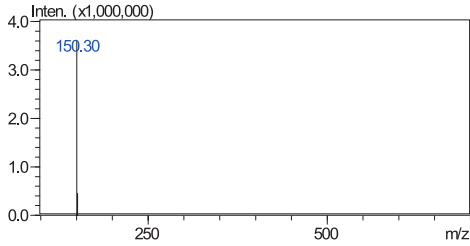


图9 冰毒的一级质谱图

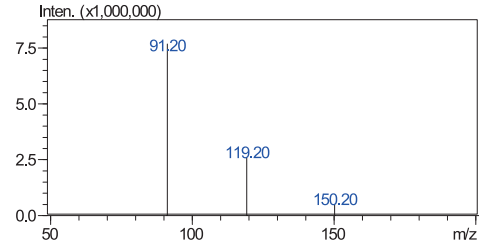


图10 冰毒的产物离子扫描图(CE值-20V)

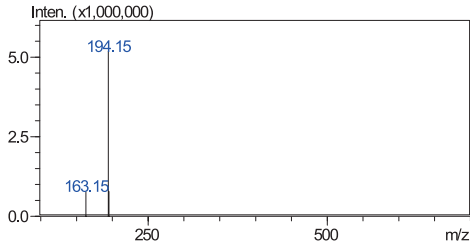


图11 MDMA的一级质谱图

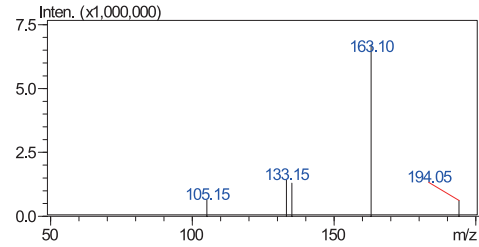


图12 MDMA的产物离子扫描图(CE值-20V)

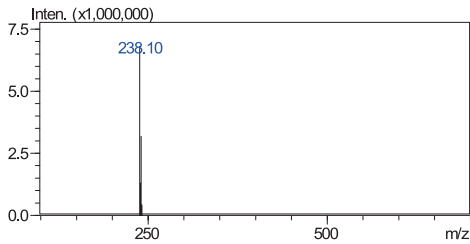


图13 氨胺酮的一级质谱图

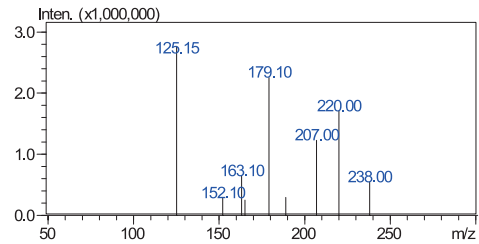


图14 氨胺酮的产物离子扫描图(CE值-25V)

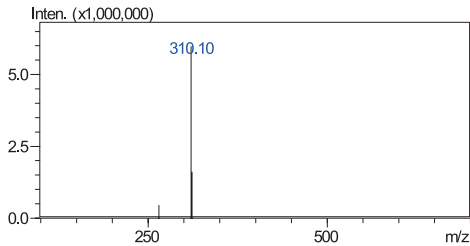


图15 美沙酮的一级质谱图

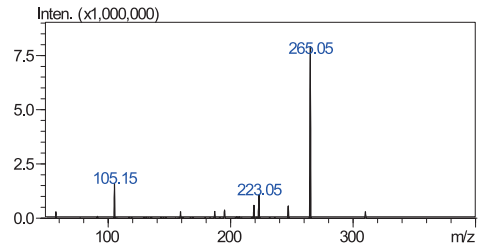


图16 美沙酮的产物离子扫描图(CE值-25V)

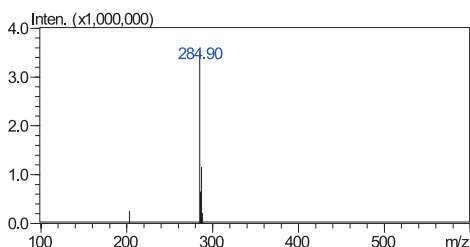


图17 地西洋的一级质谱图

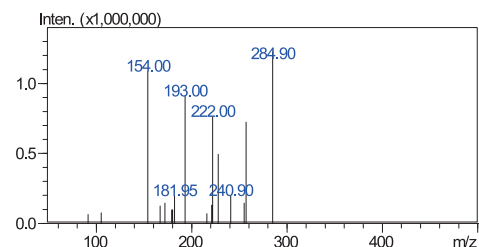


图18 地西洋的产物离子扫描图(CE值-35V)

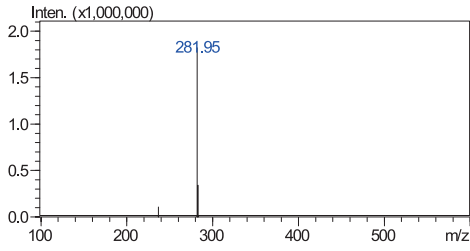


图19 硝西洋的一级质谱图

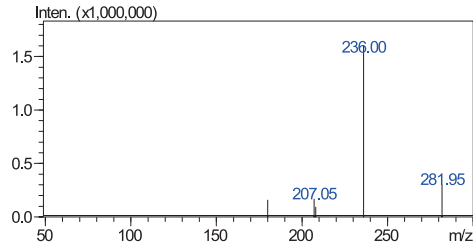


图20 硝西洋的产物离子扫描图(CE值-35V)

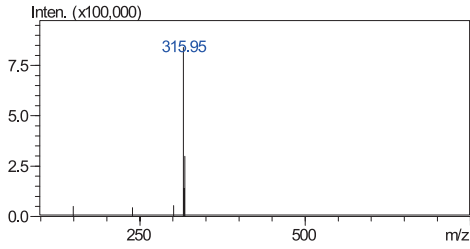


图21 氯硝西洋的一级质谱图

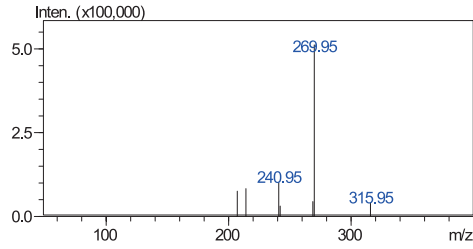


图22 氯硝西洋的产物离子扫描图(CE值-40V)

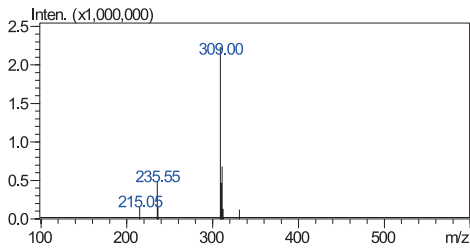


图23 阿普唑仑的一级质谱图

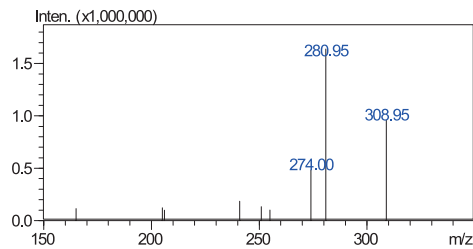


图24 阿普唑仑的产物离子扫描图(CE值-35V)

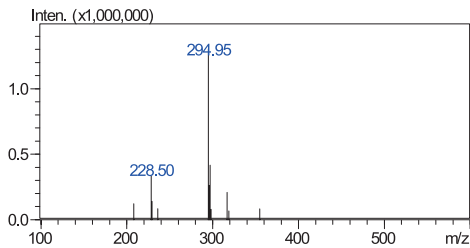


图 25 艾司唑仑的一级质谱图

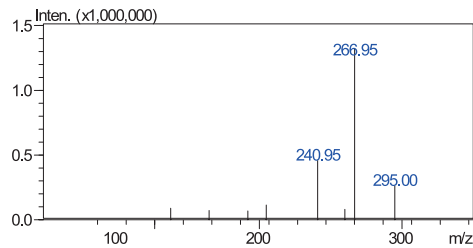


图 26 艾司唑仑的产物离子扫描图(CE 值-35V)

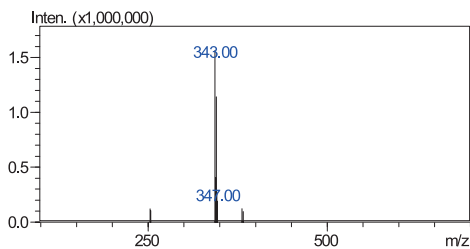


图 27 三唑仑的一级质谱图

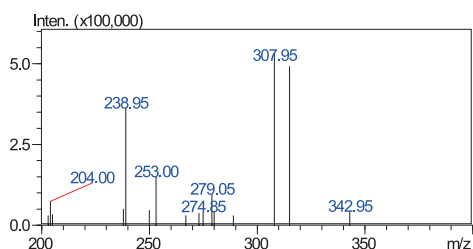


图 28 三唑仑的产物离子扫描图(CE 值-45V)

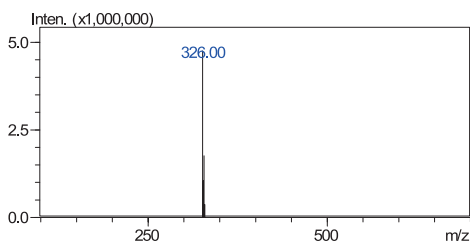


图 29 咪达唑仑的一级质谱图

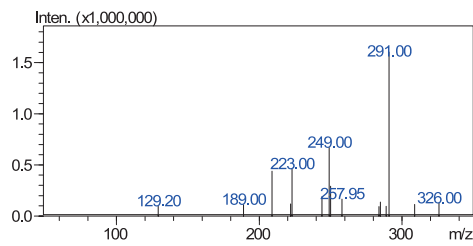


图 30 咪达唑仑的产物离子扫描图(CE 值-45V)

## 2.2 唾液和血浆加标样品的 MRM 色谱图

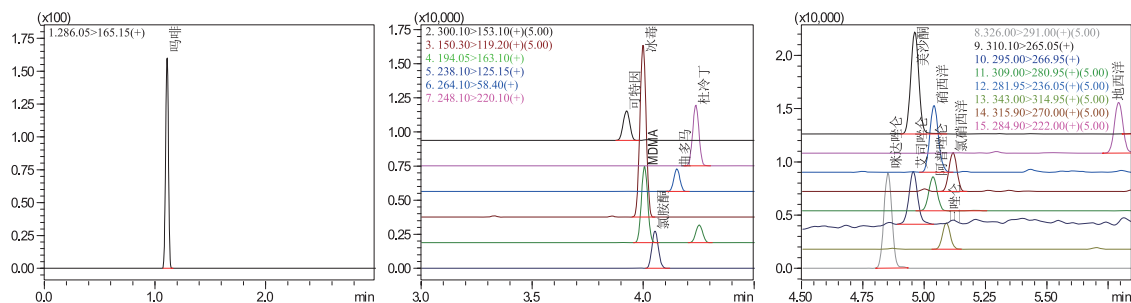


图 31 0.5 ng/mL 唾液基质加标样品的 MRM 色谱图

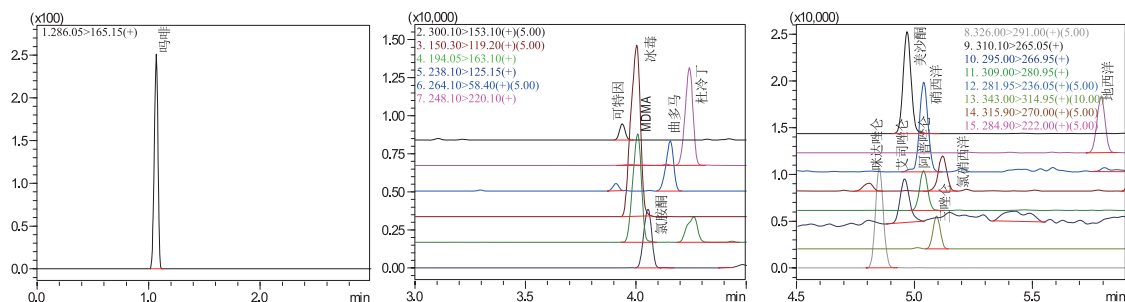


图 32 0.5 ng/mL 血浆基质加标样品的 MRM 色谱图

## 2.3 线性范围

将 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.5 ng/mL、12.5 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、125 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/mL 不同浓度的标准溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。所得校准曲线的线性方程及相关系数见表 3、4，其中表 3 为唾液基质的标准曲线相关信息，表 4 为血浆基质的标准曲线相关信息。

表 3 唾液基质的校准曲线参数(线性回归, 权重为 $1/C^2$ )

No.	名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r
1	吗啡	$Y = (580.033)X + (-19.7882)$	0.5~500	95.4~104.3	0.9995
2	可待因	$Y = (395.129)X + (243.265)$	0.5~500	90.1~106.8	0.9987
3	杜冷丁	$Y = (22619.5)X + (919.273)$	0.5~500	93.2~106.6	0.9985
4	曲多马	$Y = (7692.30)X + (-919.915)$	0.5~500	93.9~109.2	0.9980
5	冰毒	$Y = (7281.31)X + (-108.875)$	0.5~500	93.1~106.7	0.9984
6	MDMA	$Y = (17051.9)X + (-838.796)$	0.5~500	95.3~108.5	0.9985
7	氯胺酮	$Y = (8743.10)X + (912.014)$	0.5~500	92.1~103.5	0.9991
8	美沙酮	$Y = (45025.5)X + (-535.210)$	0.5~500	91.3~106.8	0.9986
9	地西洋	$Y = (5070.12)X + (283.090)$	0.5~500	95.7~106.9	0.9993
10	硝西洋	$Y = (5661.27)X + (363.078)$	0.5~500	94.9~104.6	0.9992
11	氯硝西洋	$Y = (2964.47)X + (-276.627)$	0.5~500	94.1~105.4	0.9985
12	阿普唑仑	$Y = (16218.3)X + (708.876)$	0.5~500	91.6~106.9	0.9983
13	艾司唑仑	$Y = (19112.4)X + (3058.30)$	0.5~500	93.5~107.5	0.9986
14	三唑仑	$Y = (2182.69)X + (74.1949)$	0.5~500	91.8~107.8	0.9980
15	咪达唑仑	$Y = (10142.1)X + (-1384.01)$	0.5~500	93.5~106.3	0.9993

表 4 血浆基质的校准曲线参数 (线性回归, 权重为  $1/C^2$ )

No.	名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r
1	吗啡	$Y = (987.854)X + (-100.696)$	0.5~500	95.7~103.1	0.9996
2	可待因	$Y = (556.778)X + (93.2702)$	0.5~500	95.4~105.8	0.9991
3	杜冷丁	$Y = (32440.5)X + (-18.5882)$	0.5~500	91.9~105.2	0.9993
4	曲多马	$Y = (3398.95)X + (-116.767)$	0.5~500	96.1~102.9	0.9996
5	冰毒	$Y = (14028.9)X + (-366.519)$	0.5~500	94.9~104.3	0.9990
6	MDMA	$Y = (39228.2)X + (-273.987)$	0.5~500	92.1~106.5	0.9991
7	氯胺酮	$Y = (20998.1)X + (-348.991)$	0.5~500	94.4~106.0	0.9994
8	美沙酮	$Y = (47810.6)X + (2011.36)$	0.5~500	94.4~105.3	0.9993
9	地西洋	$Y = (7725.84)X + (-974.943)$	0.5~500	93.6~103.9	0.9994
10	硝西洋	$Y = (7895.80)X + (900.410)$	0.5~500	94.5~105.7	0.9992
11	氯硝西洋	$Y = (3345.56)X + (213.103)$	0.5~500	96.5~103.9	0.9995
12	阿普唑仑	$Y = (21522.8)X + (-587.656)$	0.5~500	93.5~106.8	0.9992
13	艾司唑仑	$Y = (24186.2)X + (1042.73)$	0.5~500	93.2~104.6	0.9993
14	三唑仑	$Y = (1810.25)X + (-124.519)$	0.5~500	94.2~105.6	0.9992
15	咪达唑仑	$Y = (10359.3)X + (-99.8911)$	0.5~500	93.8~108.9	0.9991

#### 2.4 重复性实验

对不同浓度混合标准溶液连续测定 6 次, 考察仪器的重复性, 保留时间和峰面积的重复性结果如表所示, 其中表 5 为唾液基质中所测得重复性数据, 表 4 为血浆基质中所测得重复性数据。结果显示: 唾液基质中不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.004% ~ 0.182% 和 1.095% ~ 4.359% 之间, 血浆基质中不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.006% ~ 0.097% 和 0.392% ~ 3.912% 之间, 仪器精密度良好。

表 5 唾液基质中保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (0.5 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
吗啡	0.182	3.188	0.034	2.661	0.044	1.095
可待因	0.041	3.761	0.020	2.684	0.015	2.625
杜冷丁	0.015	2.977	0.006	1.728	0.010	1.188
曲多马	0.020	4.104	0.010	3.772	0.009	2.607
冰毒	0.022	3.101	0.031	2.113	0.027	1.810
MDMA	0.015	3.848	0.052	2.391	0.014	1.794
氯胺酮	0.020	3.351	0.013	2.262	0.015	1.401
美沙酮	0.020	2.669	0.007	1.872	0.008	1.340
地西洋	0.013	3.990	0.010	2.771	0.009	2.565
硝西洋	0.024	2.365	0.010	1.985	0.010	1.685
氯硝西洋	0.017	4.079	0.012	2.709	0.010	1.963
阿普唑仑	0.024	2.713	0.010	2.408	0.007	1.659
艾司唑仑	0.020	4.193	0.004	3.001	0.009	2.142
三唑仑	0.041	3.507	0.029	2.011	0.027	2.343
咪达唑仑	0.016	4.359	0.009	2.849	0.009	1.740

表 6 血浆基质中保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (5.0 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
吗啡	0.080	2.296	0.079	1.527	0.096	0.540
可待因	0.089	3.813	0.031	1.954	0.015	0.589
杜冷丁	0.009	1.786	0.026	1.372	0.007	0.496
曲多马	0.097	3.055	0.081	2.153	0.038	0.902
冰毒	0.037	1.437	0.035	1.084	0.016	0.941
MDMA	0.040	1.756	0.037	1.363	0.013	0.985
氯胺酮	0.022	1.648	0.030	1.001	0.006	0.588
美沙酮	0.012	1.032	0.023	1.185	0.009	0.656
地西洋	0.029	1.299	0.017	1.281	0.008	0.448
硝西洋	0.039	1.932	0.018	1.337	0.008	0.392
氯硝西洋	0.023	3.058	0.019	1.889	0.008	0.916
阿普唑仑	0.010	2.008	0.020	1.085	0.008	0.886
艾司唑仑	0.016	3.448	0.024	1.527	0.007	0.968
三唑仑	0.050	3.912	0.025	2.432	0.009	1.057
咪达唑仑	0.035	1.908	0.024	1.654	0.006	1.251

## 2.5 灵敏度实验

为了考察方法的灵敏度,用唾液基质和血浆基质分别配制浓度为 0.5 ng/mL 标准溶液,平行进样 7 次分析结果。由 7 次进样测定的标准偏差(S)计算出检测限和最低定量浓度,此时检出限 MDL = 3.14 × S,定量下限 LOQ=4 × MDL。测定结果如表 5 所示。

表 7 灵敏度实验结果(n=7)

No.	名称	唾液基质			血浆基质		
		标准偏差(S)	定量限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)	标准偏差(S)	定量限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)
1	吗啡	0.015	0.193	0.048	0.011	0.138	0.035
2	可待因	0.022	0.278	0.069	0.017	0.214	0.053
3	杜冷丁	0.014	0.173	0.043	0.008	0.100	0.025
4	曲多马	0.020	0.246	0.062	0.015	0.188	0.047
5	冰毒	0.015	0.188	0.047	0.007	0.088	0.022
6	MDMA	0.018	0.222	0.056	0.008	0.100	0.025
7	氯胺酮	0.019	0.244	0.061	0.008	0.100	0.025
8	美沙酮	0.015	0.192	0.048	0.006	0.075	0.019
9	地西洋	0.020	0.252	0.063	0.012	0.151	0.038
10	硝西洋	0.019	0.239	0.060	0.011	0.138	0.035
11	氯硝西洋	0.013	0.160	0.040	0.015	0.188	0.047
12	阿普唑仑	0.017	0.215	0.054	0.010	0.126	0.031
13	艾司唑仑	0.026	0.323	0.081	0.018	0.226	0.057
14	三唑仑	0.022	0.281	0.070	0.019	0.239	0.060
15	咪达唑仑	0.020	0.254	0.064	0.012	0.151	0.038

## ■ 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-8080 联用测定唾液和血浆中 15 种毒品的方法。该方法在 9 min 内完成吗啡、可待因、杜冷丁、曲多马、冰毒、MDMA、氯胺酮、美沙酮、地西洋、硝西洋、氯硝西洋、阿普唑仑、艾司唑仑、三唑仑、咪达唑仑的分离，线性范围为 0.5~500 ng/mL，标准曲线各点准确度唾液基质中为 90.1~109.2%，血浆基质为 91.9~108.9%，相关系数均在 0.997 以上。用唾液基质配制 0.5 ng/mL、5.0 ng/mL、50 ng/mL 的标准溶液考察重复性，连续 6 次进样，唾液基质中不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.004% ~ 0.182% 和 1.095% ~ 4.359% 之间；血浆基质中不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.006% ~ 0.097% 和 0.392% ~ 3.912% 之间，仪器精密度良好。唾液中 15 种毒品的定量限在 0.160~0.323 ng/mL 之间，检出限在 0.040~0.081 ng/mL 之间；血浆中 15 种毒品的定量限在 0.075~0.239 ng/mL 之间，检出限在 0.019~0.060 ng/mL 之间。该方法具有分析速度快、灵敏高、重复性好的特点，适合唾液和血浆中毒品含量的快速检测。