

# 超高效液相色谱法检测人体尿样中的安非他明和氯胺酮

LC-076

**摘要：**本文使用岛津 LC-30A 液相色谱仪，采用反相色谱法，缓冲盐 / 乙腈 =90/10(v/v) 为流动相，紫外检测器的检测波长为 210 nm，建立了紫外检测法测定人体尿样中的安非他明和氯胺酮。本方法尿样处理过程简便快捷，采集正常人的尿样于 -18 °C 冷藏，解冻后取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜，加标不同浓度的标样后稀释 10 倍直接用于分析，避免繁琐的固相萃取等净化操作，大大节约时间。安非他明和氯胺酮在 0.2-10 μg/mL 的浓度范围内线性良好，线性相关系数 R 大于 0.9999。对 2 种毒品浓度为 0.5 μg/mL、2 μg/mL、10 μg/mL 的六个平行标准品进行分析，重复性结果 (RSD% 表示)：2 种物质在三个不同浓度下的保留时间 RSD 范围为 0.0346%-0.388%，峰面积 RSD 范围为 0.378%-4.30%，具有良好重复性。尿样基质加标计算得出仪器对 2 种毒品的检出限范围为 0.012-0.017 μg/mL，定量限范围为 0.040-0.057 μg/mL，具有较高的检测灵敏度。实际尿样加标低中高不同浓度的 2 种毒品，回收率范围为 84.73%-106.4%，方法学精密度 RSD 范围为 1.31%-4.12%，结果表明该方法简单、快速、高效。

**关键词：**尿样 毒品 超高效液相色谱 紫外检测

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“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”, 因此同时检测体液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。

通常尿样易于获得经常成为检测的对象, 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。岛津 Nexera UHPLC LC-30A 具有高扩展性能, 可以在 130MPa 高耐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。本文使用 LC-30A 建立了一种超高效液相色谱紫外检测法测定人体尿样中的毒品, 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。

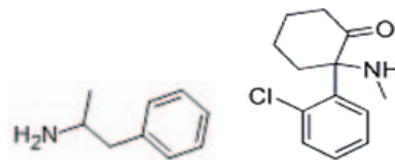


图1 安非他明 (左) 和氯胺酮 (右) 的结构式

## ■ 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

#### 1.1.1 试剂

乙腈：HPLC 级；水：超纯水；三乙胺、磷酸二氢钾、磷酸（均为分析纯）；

2 种毒品储备液：由北京市公安局提供，安非他明储备液浓度为 1 mg/mL，氯胺酮储备液浓度为 1 mg/mL。

#### 1.1.2 仪器

LC-30A，包括 CBM-20A 系统控制器，LC-30AD 高精度溶液输送泵 ×2，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，SPD-20A 紫外检测器，LabSolutions 工作站。

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack ODSII (3.0 mmI.D. × 100 mmL., 2.2 μm)；

流动相：A-20 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/10 mM 三乙胺 (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 调节 pH 至 3.0)，B- 乙腈，A/B=90/10 (v/v)；

流速：0.9 mL/min；

洗脱方式：等度洗脱；

柱温：35 ；

紫外检测波长：210 nm；

进样量：10 μL。

### 1.3 样品处理

#### 1.3.1 毒品混合标准溶液的配制

取不同量的毒品单标储备液，用超纯水稀释，配制成浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 及 10.0 μg/mL 的标准系列，储存在棕色小瓶中，于 4 °C 冰箱中存放。

#### 1.3.2 试样的制备

采集正常人体尿样贮存于冰箱 -18 °C 冷藏，解冻后过 0.22 μm 微孔滤膜，取上清液加标不同浓度目标分析物直接稀释 10 倍后用于超高效液相色谱分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 毒品标准谱图及标准曲线

2 种毒品浓度为 10.0 μg/mL 标准溶液色谱图如图 2 所示。由图 3 可以看出在 0.2-10.0 μg/mL 的浓度范围内，2 种物质的线性相关性良好，线性相关系数在 0.9999 以上（见表 1）。

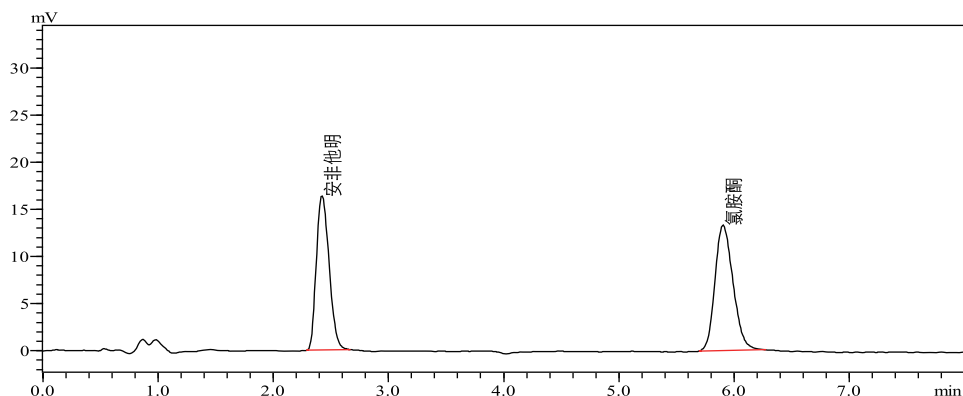


图2 毒品标样10.0 μg/mL的色谱图

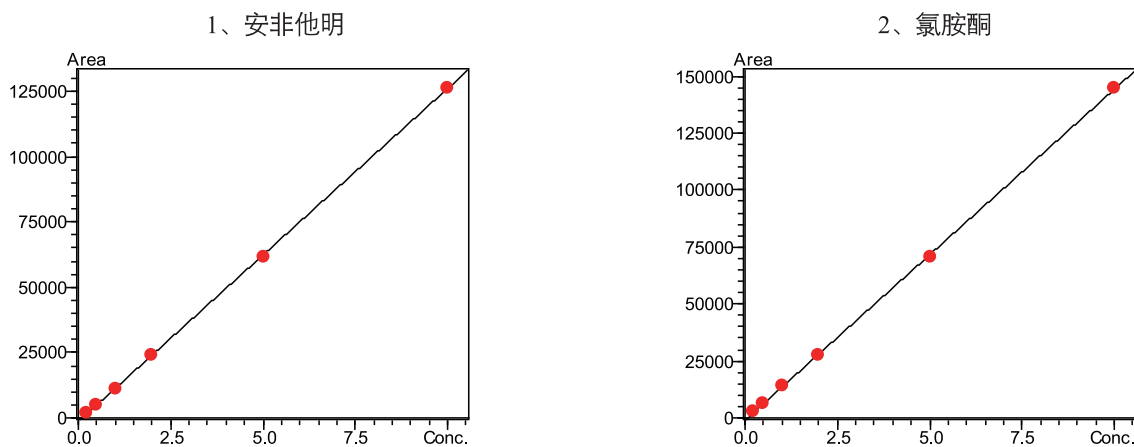


图3 毒品标样0.2-10 µg/mL的校准曲线

表1 毒品标样的标准曲线 $Y=AX+B$

化合物名称	A	B	R
安非他明	12749.6	-1389.89	1.000
氯胺酮	14519.2	-1008.82	0.9999

## 2.2 精密度实验

为了考察仪器的精密度，本文分别对 2 种毒品浓度为 0.5、2.0、10.0 µg/mL 标准样品进行了 6 次重复实验，重复性结果 (RSD% 表示)：安非他明在低中高不同浓度的保留时间 RSD 范围为 0.0346%-0.388%，峰面积的 RSD 范围为 0.611%-2.56%；氯胺酮在低中高不同浓度的保留时间 RSD 范围为 0.0355%-0.0829%，峰面积的 RSD 范围为 0.378%-4.30%，结果汇总如表 2 和 3 所示。

表2 安非他明在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.5 µg/mL		2.0 µg/mL		10.0 µg/mL	
	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间
1	5031	2.430	23505	2.421	128646	2.401
2	4815	2.426	23461	2.421	128694	2.400
3	4767	2.425	23106	2.421	129465	2.400
4	4776	2.424	23408	2.419	128185	2.399
5	4944	2.424	23324	2.421	128666	2.397
6	5038	2.428	23418	2.420	128639	2.402
RSD (%)	2.56	0.0989	0.611	0.0346	0.817	0.388

表3 氯胺酮在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.5 $\mu\text{g/mL}$		2.0 $\mu\text{g/mL}$		10.0 $\mu\text{g/mL}$	
	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间
1	6707	5.891	27812	5.873	144896	5.828
2	5976	5.884	27169	5.870	145616	5.829
3	6438	5.880	28173	5.872	144905	5.826
4	6729	5.879	28103	5.873	144032	5.824
5	6590	5.885	27020	5.867	145401	5.824
6	6598	5.878	27893	5.870	144878	5.827
RSD (%)	4.30	0.0829	1.75	0.0395	0.378	0.0355

### 2.3 样品分析

按照 1.3.2 所述步骤处理尿样，检测尿样中的安非他明和氯胺酮含量。

图 4 为正常人体尿样解冻后过滤稀释 10 倍的色谱图，图 5 为正常人体尿样经过同样的处理方式加标稀释 10 倍后浓度为 5.0  $\mu\text{g/mL}$  的色谱图，可以看出尿样基质并没有干扰到目标物的分析。我们采取在正常人体尿样中添加低中高不同浓度的 2 种毒品，平行实验三次，计算回收率和方法学精密度（见表 4），回收率范围为 84.73%-106.4%，RSD 范围为 1.31%-4.12%，结果令人满意。

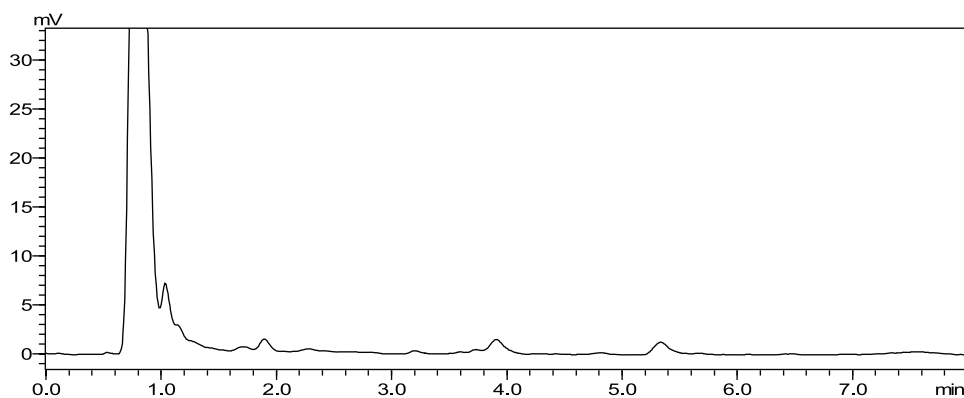


图4 正常人体尿样稀释10倍的色谱图

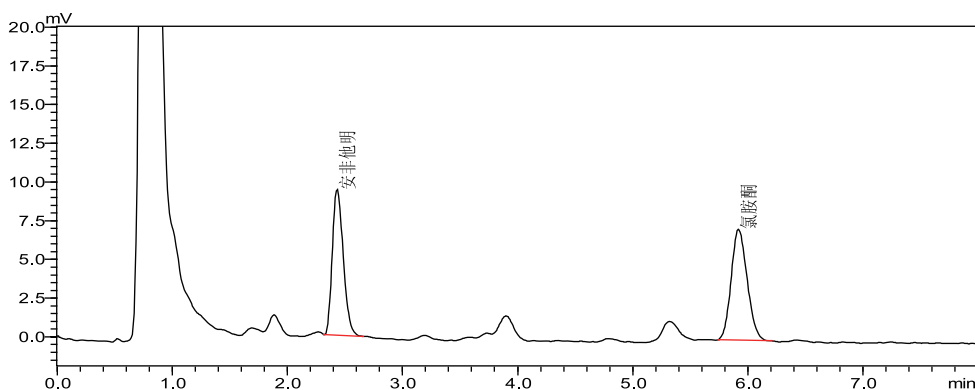


图5 正常人体尿样加标稀释10倍后浓度为5.0  $\mu\text{g/mL}$  的色谱图

表4 尿样基质加标不同浓度下的回收率和方法学精密度(n=3)

化合物	0.5 $\mu\text{g/mL}$		1.0 $\mu\text{g/mL}$		5.0 $\mu\text{g/mL}$	
	回收率	RSD%	回收率	RSD%	回收率	RSD%
安非他明	106.4%	4.12%	89.73%	3.41%	98.00%	1.81%
氯胺酮	92.80%	1.31%	84.73%	2.38%	94.99%	2.40%

为考察仪器对2种毒品的检测灵敏度,对标样浓度为0.5  $\mu\text{g/mL}$ 的2种毒品和尿样基质过滤稀释后加标浓度为0.5  $\mu\text{g/mL}$ 的标准品分别进行平行重复6针进样分析,得到尿样基质加标浓度为0.5  $\mu\text{g/mL}$ 的标准品的色谱图如图6所示,检出限和定量限结果如表5所示。由表5可知,仪器对基质样品和标样中的毒品的检出限、定量限相差不大,表明该方法具有良好的灵敏度。

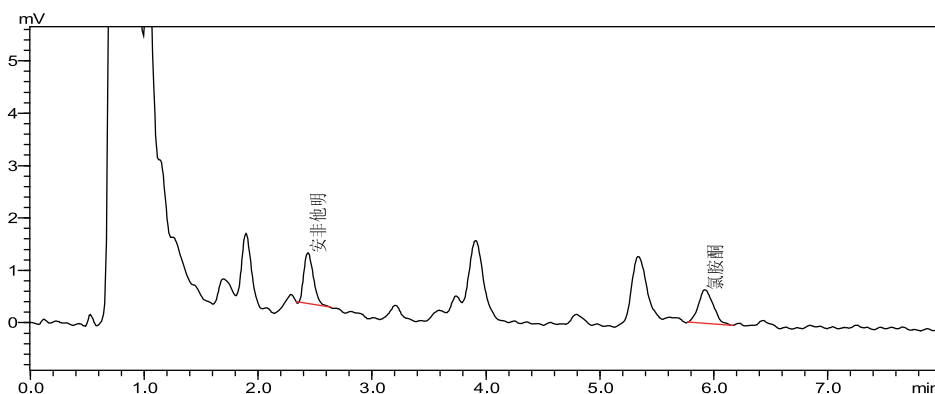

 图6 尿样基质加标浓度为0.5  $\mu\text{g/mL}$ 的2种毒品标样色谱图

表5 毒品的检出限、定量限

化合物名称	标样 0.5 $\mu\text{g/mL}$		基质加标 0.5 $\mu\text{g/mL}$	
	检出限 ( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/mL}$ )	检出限 ( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/mL}$ )
安非他明	0.010	0.033	0.012	0.040
氯胺酮	0.012	0.040	0.017	0.057

## 结论

本实验中使用超高效液相色谱仪(LC-30A),建立了紫外检测法检测尿样中的2种毒品,该方法简单,避免繁琐的样品前处理,采用超高效液相色谱仪缩短了分析时间,仅需6.5 min即可以完成对目标分析物的检测。本法具有分析速度快、灵敏度高和重复性好等优点,为法证分析涉嫌吸毒嫌疑人员和运动员服用兴奋剂的快速筛选和判断提供参考依据。