

三重四极杆质谱法快速检测人体尿液中海洛因的代谢产物

LCMSMS-129

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-8040 联用快速测定人体尿液中海洛因代谢产物的方法。空白尿样经处理后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。吗啡和单乙酰吗啡在 1.5 分钟内得到快速分离和检测。两种目标物具有良好的线性相关性，相关系数均为 0.9999。采取空白尿样基质加标三个不同浓度进行日内和日间的精密度考察，所得精密度 RSD% 均在 8.78% 以下，回收率范围为 72.7%~123%，方法检出限在 91~130 ng/L 之间。

关键词：尿液 海洛因代谢物 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱

20 世纪 80 年代以来，海洛因的滥用已成为威胁人类健康和生命的严重社会问题，各国政府已采取了许多措施来打击吸、贩毒。尿液中海洛因代谢产物的检测是确认吸毒的科学依据。海洛因进入人体后迅速代谢为 6-单乙酰吗啡 (6-monoacetylmorphine, 6-MAM)，继而代谢为吗啡 (morphine, MOR)。少部分吗啡以游离形式随尿液排出，通常尿液组成复杂，干扰成分多，且待测物的含量往往较低，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，这些样品前处理方法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，成本高。因此发展准确、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。

岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040，采用多反应监测模式，能有效的排除基质干扰，具有高的分离效率。本实验建立岛津超高效液相色谱与三重四极杆串联质谱联用法快速分离、准确检测尿样中的吗啡和单乙酰吗啡，可以确证吸毒者是否吸食海洛因。

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-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20As 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，

LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D. × 50 mmL, 1.6 μm

流动相：A-10 mM 乙酸铵 (含 0.1% 甲酸)，B-乙腈，A/B=90%/10% (V/V)

洗脱方式：等度洗脱

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40°C

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

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：50 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 1

表1 MRM参数

化合物名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias (V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias (V)
吗啡	Morphine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	286.1	165.00*	-19.0	-26.0	-21.0
			286.1	201.10	-19.0	-42.0	-30.0
单乙酰吗啡	Monoacetylmorphine	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	328.1	165.05*	-30.0	-39.0	-30.0
吗啡			328.1	211.05	-30.0	-27.0	-14.0

*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 的吗啡和单乙酰吗啡，用超纯水依次稀释至 1000 µg/L 的混合标样。将 1000 µg/L 的 2 种混合标样，用水逐级稀释成浓度为 0.5、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

采集正常人尿液贮存于 -18℃冰箱中，解冻后取上层清液过 0.22 µm 微孔滤膜 2 次，加标 2 种混合标样，用超纯水稀释 10 倍后直接用于液质分析。空白基质分析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质谱扫描图

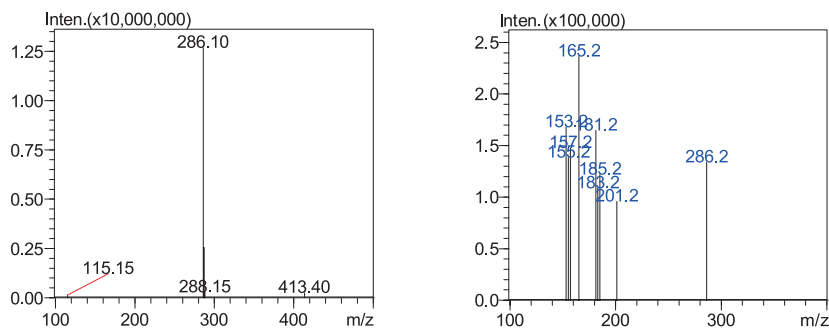


图1 吗啡的一级质谱图（左图）和产物离子质谱扫描图（CE值为-38V）（右图）

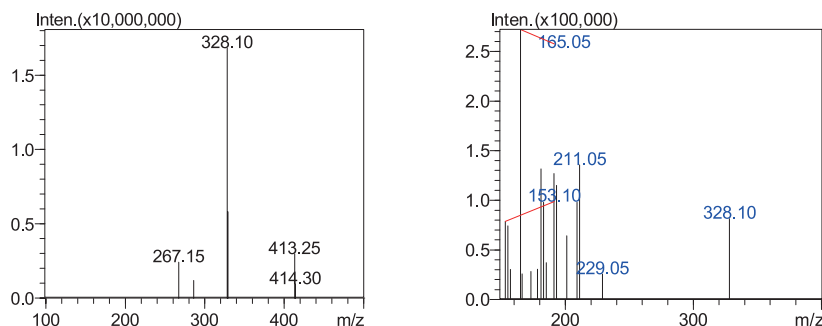


图2 单乙酰吗啡的一级质谱图（左图）和产物离子质谱扫描图（CE值为-38V）（右图）

2.2 专属性实验

专属性是通过对人体空白尿液的检测进行验证的。图 3（左图）是空白尿液的 MRM 图，由图 3（左图）实验结果表明尿样基质不干扰待测物的测定。正离子多反应监测模式下，典型的多反应监测图谱如图 3（右图）所示。

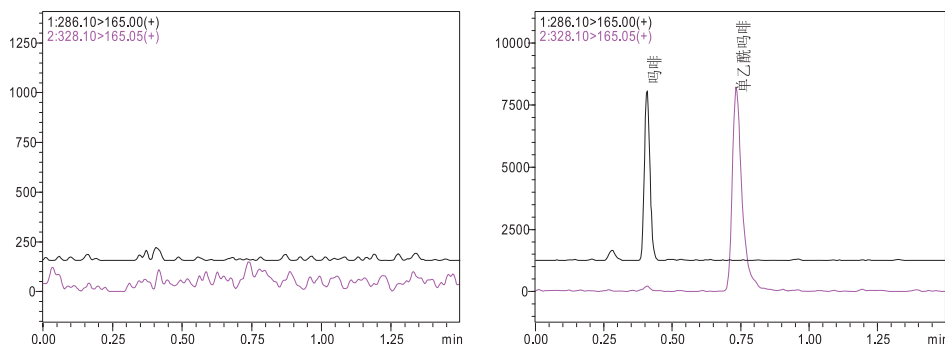


图3 空白尿液的MRM图（左图）及吗啡5 μg/L和单乙酰吗啡10 μg/L的MRM图（右图）

2.3 线性关系

将标准工作液浓度为 0.5、1、2、5、10、20 和 50 μg/L 的吗啡及标准工作液浓度为 1、2、5、10、20、50 和 100 μg/L 的单乙酰吗啡按 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，外标法建立校准曲线，如图 4 所示。吗啡和单乙酰吗啡在各自的浓度范围内，线性相关性良好，相关系数均为 0.9999（见表 2）。

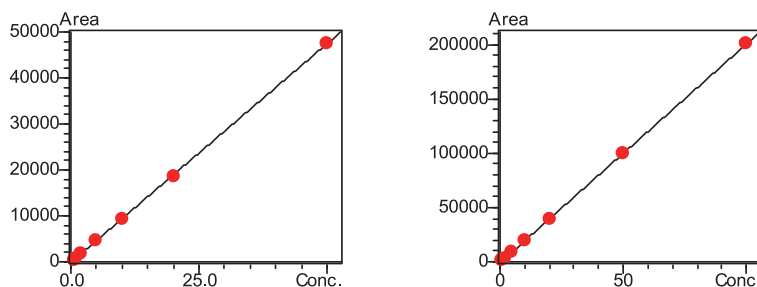


图4 吗啡（左图）和单乙酰吗啡（右图）的标准工作曲线

表2 吗啡和单乙酰吗啡的标准曲线

编号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 (R)
1	吗啡	$Y = (950.424)X + (-91.8708)$	0.5~50	0.9999
2	单乙酰吗啡	$Y = (2012.72)X + (-802.491)$	1.0~100	0.9999

2.4 方法精密度和回收率考察实验

往空白尿样中添加 2 种混合标样按照 1.3.2 样品前处理方法，使目标分析物的最终浓度均为 1、10、50 μg/L，在不同浓度下两种物质的日内及日间精密度的 RSD% 均在 8.78% 以下，回收率范围为 72.7%~123%（见表 3 和表 4）。

表3 日内方法学考察 (n=3)

化合物	回收率 (%)			精密度 (RSD%)		
	1 μg/L	10 μg/L	50 μg/L	1 μg/L	10 μg/L	50 μg/L
吗啡	108	72.7	89.2	6.63	4.41	1.66
单乙酰吗啡	123	100	104	4.34	3.25	2.26

表4 日间方法学考察 (n=3)

化合物	回收率 (%)			精密度 (RSD%)		
	1 μg/L	10 μg/L	50 μg/L	1 μg/L	10 μg/L	50 μg/L
吗啡	119	84.3	84.9	8.39	8.78	2.21
单乙酰吗啡	109	97.8	107	7.08	4.76	2.75

2.5 基质效应

分别配制三份低中高不同浓度的标准溶液和样品加标液，以相同浓度样品加标液所得峰面积同标准溶液所得峰面积的比值换算成百分比作为基质效应进行考察，所得基质效应结果在 80.0%~120.0% 之间，认为基质效应影响可以忽略，实验结果见表 5，由表 5 可知不同浓度下的基质效应结果在 85.7%~117.3% 之间，精密度 RSD% 在 1.14%~6.95% 之间，表明基质效应影响可以忽略。

表5 基质效应考察

化合物	基质效应 (%)			精密度 (RSD%)		
	1 µg/L	10 µg/L	50 µg/L	1 µg/L	10 µg/L	50 µg/L
吗啡	117.3	85.7	88.9	6.95	2.96	1.14
单乙酰吗啡	105.5	104.2	105.7	2.90	5.01	4.57

2.6 方法检出限和定量限

为了考察方法灵敏度，按照 1.3.2 样品前处理方法配制加标浓度为 1.0 µg/L 的基质样品 7 份，平行进样 7 次。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检出限和定量限，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量限 LOQ=4 × MDL，测定结果如表 6 所示。

表6 方法检出限和定量限 (µg/L)

编号	名称	浓度 (µg/L)	标准偏差 (S)	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	吗啡	1.0	0.029	0.091	0.36
2	单乙酰吗啡	1.0	0.040	0.13	0.52

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-8040 联用快速测定人体尿液中海洛因代谢产物的分析方法。吗啡和单乙酰吗啡在各自的浓度范围内线性良好，相关系数均为 0.9999，方法检出限在 91~130 ng/L 之间。采取空白尿样基质加标三个不同浓度进行日内和日间的精密度考察，所得精密度 RSD% 均在 8.78% 以下，回收率范围为 72.7%~123%。实验结果表明使用岛津超高效液相色谱 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用仪建立该分析方法具有简便、高效、快速、高灵敏度，可以满足法庭毒物分析的需求。