

全自动 OnlineSPE-LC/MSMS 法快速测定尿样中的碱性毒品

(1.PromoChrom Technologies Ltd. 2.北京绿绵科技有限公司)

安非他明、麻黄碱具有有多种生理活性和药理疗效，如镇静、镇痛、镇咳等，还具有一定的毒性和麻醉性，连续服用易产生习惯成瘾问题。近年来，吸毒和药物滥用对人们的生活和社会安定构成了极大威胁，成为备受关注的社会问题，因此，开发出准确、快速、简便的检测尿样等体液中毒品类物质的分析方法具有重要意义。

本文将提供一种使用 PromoChrom 公司的 SPE-04 在线固相萃取仪结合液质联用技术直接、快速检测尿样中的 9 种碱性毒品的方法。样品经在线固相萃取净化后直接进入液质联用仪中分析，样品制备和仪器分析全部自动完成。

该方法也可直接转移至 PromoChrom 公司的离线固相萃取平台（SPE-01、SPE-03），萃取完成后，手动转移样品至液质联用仪进行分析。

1、仪器

高效液相色谱仪：Agilent 1260 Infinity LC。

质谱检测器：Agilent 6460A MSD。

在线固相萃取仪：SPE-04 Online SPE（带衍生功能），PromoChrom Technologies。

2、方法适用的目标物

目标分析物为 amphetamine（安非他明），metamphetamine（甲基苯丙胺），MDA（4,5-亚甲基二氧基苯丙胺），MDMA（3,4-亚甲基二氧甲基苯丙胺），MDEA（甲基二乙醇胺），phentermine（芬特明），phenylpropanolamine（去甲麻黄碱），ephedrine（麻黄碱）和 pseudoephedrine（伪麻黄碱）。

3、分析方法

取 1mL 尿液样品于样品瓶中（准确移取），直接用于固相萃取。

3.1 在线固相萃取条件

固相萃取柱：Bond Elut Plexa PCX，30 mg/3 mL，PromoChrom Technologies；（将方法略为调整后，也可以使用其它强阳离子交换柱）。

淋洗溶剂：溶剂 1 为甲醇；溶剂 2 为 2%甲酸的内标溶液（含 MDA-D5, MDMA-D5, MDEA-D6, amphetamine-D6, metaamphetamine-D9 各为 500 ng/mL. 使用当天配制）；溶剂 3 为水；溶剂 4 为甲醇+氨水（90：10），氨水浓度为 28-30%，使用当天配制）；衍生试剂 1 为 2%甲酸水溶液。

SPE-04 在线固相萃取方法设置：

行号	操作	体积	流速	注释
0	Elute C1 with 1	2.5	5	用甲醇预淋洗 2.5 毫升，流速 5 毫升/分。
1	Rinse vial with 2	1.7	5	将 1.7 毫升内标溶液混入样品，然后加回到 SPE 柱。同时甲酸使分析物带正电荷，便于被阳离子交换柱吸附。
2	Rinse vial with 1	1.5	5	用甲醇清洗样品瓶，洗液加入 SPE 柱。
3	Elute C1 with 4	0.2	5	将淋洗溶剂切换到溶剂 4。
4	Collect	1.0	5	继续用溶剂 4 淋洗，收集 1.0 毫升组分。溶剂 4 里的氨水使碱性化合物的正电荷消除，便于洗脱。
5	Load fraction to heater	0.4	0	将 0.6 毫升组分和 0.4 毫升衍生试剂 1（2%甲酸溶液）混合后导入衍生室。混合后可以中和组分的碱性并使组分溶液的组成和 LC 的起始流动相更接近，使 HPLC 分析的峰形和分离更好。
6	Inject reactant	0.5	5	将组分引入进样阀的样品环。环体积为 20 微升。
7	Start LC	1	0	触发 LC-MS 开始分析样品。

3.2 液质联用条件

色谱柱：Poroshell 120 EC-C18，3X50mm，2.7um，Agilent；

流动相：A 为含 0.1%甲酸的甲醇，B 为 0.1%甲酸水溶液；

流速：0.8 mL/min；

梯度淋洗的条件如下表：

Time (min)	0.0	1.5	3.5	3.6	6.6	6.7
B%	15	15	30	90	90	15

分析停止时间为 7 分，平衡时间为 2 分钟。

3.3 离线固相萃取方法

离线固相萃取仪：SPE-01 或 SPE-04 或 SPE-03, PromoChrom Technologies;

固相萃取柱：Bond Elut Plexa PCX, 30 mg/3 mL, PromoChrom Technologies; (将方法略为调整后, 也可以使用其它强阳离子交换柱)。

淋洗溶剂：溶剂 1 为甲醇, 溶剂 2 为 2%甲酸的内标溶液 (含 MDA-D5, MDMA-D5,

MDEA-D6, amphetamine-D6, metaamphetamine-D9 各为 500 ng/mL. 使用当天配制), 溶剂 3 为水, 溶剂 4 为乙酸乙酯+乙醇+氨水 (50: 50: 15, 氨水浓度为 28-30%, 使用当天配制)。

样品：样品瓶中的尿样体积为 0.7 毫升 (准确移取)。

离线固相萃取仪器方法设置：

行号	操作	体积	流速	注释
0	Elute 1	5	2.5	用甲醇预淋洗 2.5 毫升, 流速 5 毫升/分。
1	Rinse 2	5	1.7	将 1.7 毫升内标溶液混入样品, 然后加回到 SPE 柱。在这一步, 甲酸使碱性化合物带正电荷, 便于被阳离子交换柱吸附。
2	Rinse 1	5	1.5	用甲醇清洗样品瓶, 洗液加入 SPE 柱。
3	Elute 4	5	0.2	将淋洗溶剂切换到溶剂 4。
4	Collect1	5	1.5	继续用溶剂 4 淋洗, 收集 1.5 毫升组分。溶剂 4 里的氨水使碱性化合物的正电荷消除, 便于洗脱。

收集的组分在 45 度下用氮吹仪浓缩近干。用 1.0 mL HPLC 的起始流动相定容。在本方法中, 起始流动相为甲醇+水+甲酸 (15: 85: 0.1)。溶剂 4 中的乙醇在浓缩过程中可以把组分里的水带走, 不会造成浓缩后有水滴残存。