

作者

Timothy D. Ruppel

PerkinElmer, Inc.

Shelton, CT 06484 USA

SAMHSA制定的尿液 中苯甲酰芽子碱 GC/MS分析法

简介

美国卫生部（DHHS）及物质滥用和精神健康服务管理局（SAMHSA）制定美国联邦药物测试项目中关于尿液中各项药物测试的强制指南。该强制指南规定在尿液样品药品测试报告阳性结果

之前，需要实验室进行初始药物测定和药物确证测定两个分析测定。初始药物检测通过免疫分析筛查5个药物类别（如安非他明，可卡因，鸦片，苯环利定和大麻）。免疫筛查法包括放射免疫检测（RIA）及酶免疫检测（EIA，EMIT）等。

免疫筛查样品测定结果为阳性需要进一步的色谱分离确证和质谱鉴定。SAMHSA规定苯甲酰芽子碱测试方法定量限近似为100ng/mL，苯甲酰芽子碱是可卡因的特征代谢产物。

概述

确证分析尿液中药物的主要有以下7个步骤：

- 1、在尿液样品中加入氘代内标；
- 2、调节尿液的PH值；
- 3、水解尿液（仅鸦片和大麻）；
- 4、固相萃取（SFE）尿液中的药物，蒸发至干；
- 5、衍生萃取物（PCP除外），蒸发至干；
- 6、有机溶剂复溶；
- 7、注入1-3 μ L至气相色谱质谱联用仪，使用3离子比例的报告鉴定及定量测定。

玻璃器皿

所有的玻璃器皿，包括自动进样瓶和小体积的进样瓶内插管必须进行硅烷化处理，以防止样品吸附。将所有的玻璃器皿在10%DMDCS/甲苯溶液中浸泡10min，然后依次使用甲醇，正己烷清洗，最后风干。

试剂

醋酸100mM=2.86mL冰醋酸加入500mL的水中；

磷酸缓冲盐100mM pH6=1.7g Na_2HPO_4 + 12.14g Na_2HPO_4 加入1000mL水中溶解，pH偏高用100 mM NaH_2PO_4 调节，pH偏低用100 mM Na_2HPO_4 调节。

二氯甲烷/异丙醇/氨水(78:20:2)萃取溶剂=40mL IP-OH+4mL conNH_4OH +156mL MeCl_2 ，每天新配。

药物标准品及氘代内标为Cerillant ((Round Rock, TX)，内标：d3-BE。

仪器设备

气相色谱：PerkinElmer® Clarus® 680 GC；

进样口：毛细管注射器使用压力脉冲无分流进样，250°C；

进样口衬管：Siltek™带有玻璃毛(Cat. No. N6502010)；

气相色谱柱：Elite-5（5%苯基/95%甲基硅烷）12m x 0.2mm x 0.33 μ m(Cat. No. N9316110)，载气He流速2.0mL/min；

气相柱温箱温度：100°C开始保持0.5min，20°C/min升至310°C，保持4min；

压力脉冲无分流进样：该程序是在进样过程中增加进样口压力，从而使更多的样品以很窄的带宽进入色谱柱，然后减少载气的流速至色谱的正常操作线速度。该程序的时间设置如下：

在-0.71min，CAR2设置为5mL/min（进样之前增加压力）；-0.7min SPL2设置为0（无分流进样）；0.7 min CAR2设置为2 mL/min（进样后正常流速）；0.8min设置SPL2为50（进样后，打开分流阀）。

质谱：PerkinElmer Clarus SQ 8 MS, 270 L/sec分子涡轮泵，EI模式。选择离子监测（SIM）模式采集数据，每个离子采集20-50毫秒。主要离子用于鉴定和定量分析，另外两个离子用于确证及鉴定。三个离子色谱峰的顶点必须在标准品扫描的保留时间 ± 2 之内，离子比例与标准品的离子比例相差不超过20%。氘代的内标可以仅选择两个离子，一个主要离子和一个确证离子。

PFPA SIM离子：

BE: 300,421,316 d3-BE: 303,424 RT:5.17min

BSTFA SIM离子：

BE: 240,316,256 d3-BE: 243,364 RT:4.76min

固相萃取

采用高分子树脂的固相萃取（SPE）柱从尿液基体中萃取药物，当尿液样品通过树脂柱时，药物被保留，清洗树脂柱床除去盐及其它的干扰物。使用较强的溶剂将药物从树脂柱床中淋洗下来，以完成样品的净化。萃取柱使用Supra-Clean SPE柱，C18-S2—mg/3mL 50u (Cat. No. N9306462)。

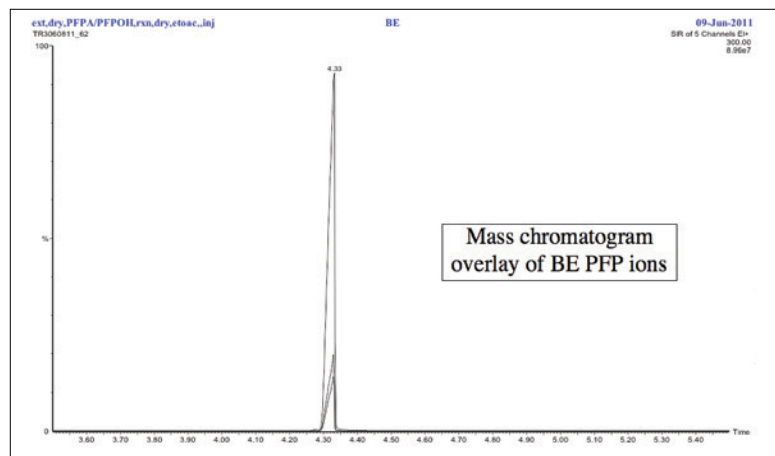
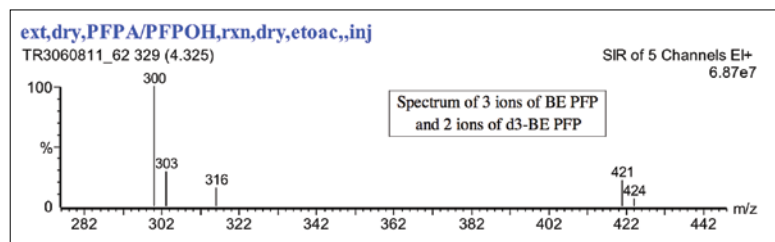
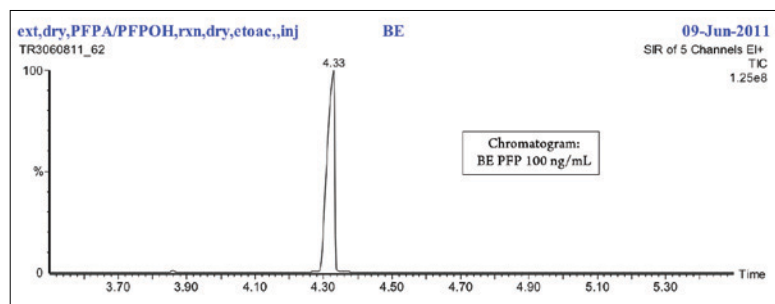
试验

萃取程序：1-2mL尿液样品+内标+2mL100mM磷酸缓冲盐(pH6)。

SPE柱萃取：先后用3mL甲醇、3mL水分别淋洗萃取柱，然后加入1mL磷酸缓冲盐(pH6)。加入样品，分别使用3mL水，1mL100mM的HCl，1mL甲醇清洗。利用3mL二氯甲烷/异丙醇/氨水(78:20:2)淋洗萃取柱，收集萃取溶液至离心管中。小于50℃蒸发至干，利用50μL的PFPA复溶，加入25μL的PFPOH，N₂氛围，盖紧，混匀，70℃加热20min，小于50℃蒸发至干。100μL乙酸乙酯复溶，转移至自动进样瓶的内衬管中，进样1μL。

注：如果有羟基存在，PFPA将会溅射，因此衍生之前，样品应该干燥且没有醇存在。

校准范围：方法确证近似水平=100ng/mL，10%（10 ng/mL），40%（40 ng/mL），100%（100ng/mL），125%（125 ng/mL），500%（500ng/mL），1000%（1000ng/mL）。

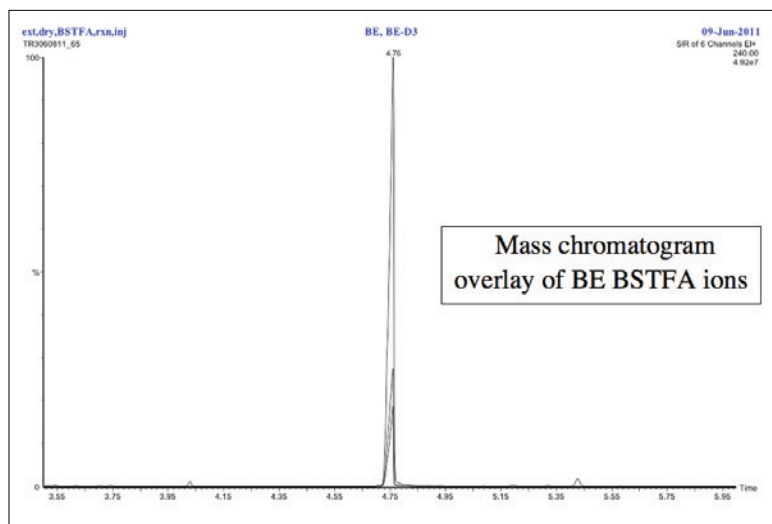
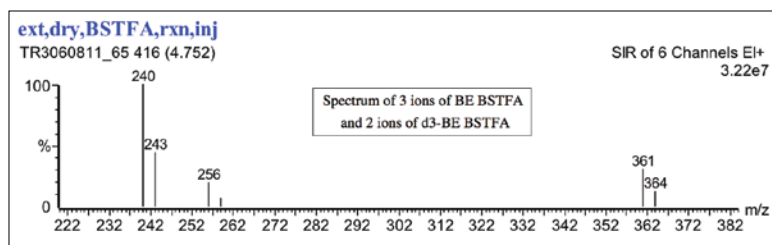
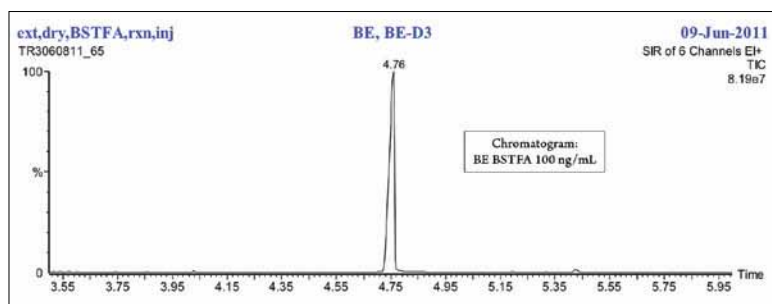


使用BSTFA作为衍生试剂。

试验

萃取程序：1-2mL尿液样品+内标+2mL100mM磷酸缓冲盐(pH6)。SPE柱萃取：先后用3mL甲醇、3mL水分别淋洗萃取柱，然后加入1mL磷酸缓冲盐(pH6)。加入样品，分别使用3mL水，1mL100mM 的HCl，1mL甲醇清洗。利用3mL二氯甲烷/异丙醇/氨水(78:20:2)淋洗萃取柱，收集萃取溶液至离心管中。小于50℃蒸发至干，50μLBSTFA加入1%TMCS复溶，N₂氛围，盖紧，混匀，70℃加热20min。加入1μLBSTFA溶液（不要将BSTFA蒸发）。

结果



定量限：1mL尿液10ng/mL

检测限：1mL尿液小于2ng/mL

线性相关系数 (R²) >0.999 10 ng/mL-1000 ng/mL

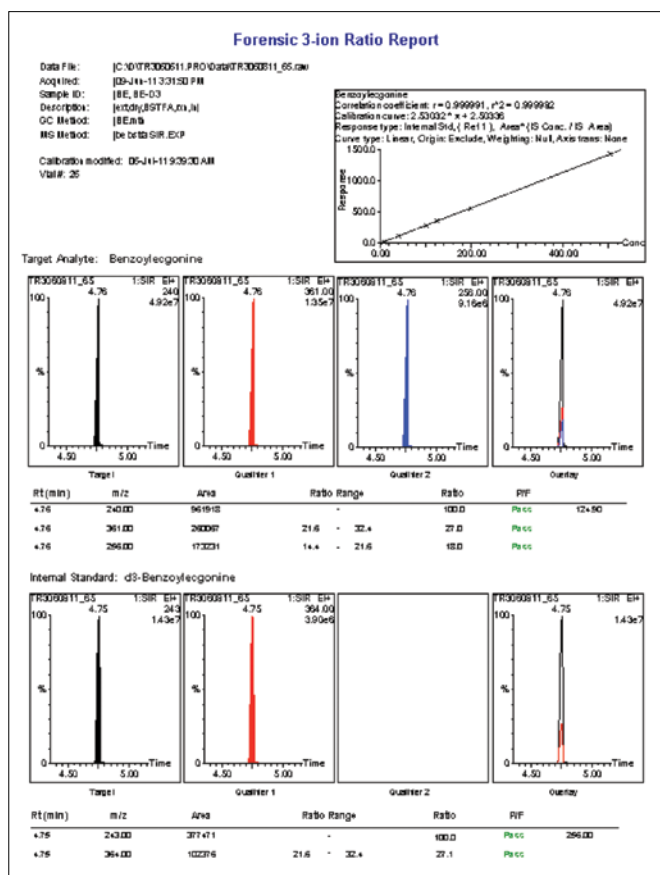
结论

本应用文献建立了符合美国联邦药物测试项目要求的尿液中苯甲酰芽子碱的分析方法。法医和临床实验室可以用同样的方法测定毒理学样本中非限制药物。通过使用较短的气相色谱柱，较快的流速进入质谱，很快的气相色谱炉温降温及自动进样器的预清洗程序，从而提高了样品通量。

PerkinElmer公司Clarus SQ 8 GC/MS的操作系统在SIM扫描模式时，给出了灵敏的法定可靠色谱数据。TurboMass™ GC/MS软件包括3离子比例确证的计算及简单易懂的数据报告模板。

参考文献

1. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 8th Ed, Randall C. Baselt, Biomedical Publications, 2008.
2. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, Fed Reg, 73: 71857 (Nov. 25, 2008).
3. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, 75 Fed Reg, 75: 22809 (April 30, 2010).
4. Pierce Catalog (Rockford, IL).



PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器（上海）有限公司

地址：上海张江高科园区李冰路67弄4号

邮编：201203

电话：800 820 5046 或 021-38769510

传真：021-50791316

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自所有者或所有者的财产。