

doi: 10.12452/j.fxcxb.250417301

液相色谱-串联质谱法检测生物检材中东莨菪碱、消旋山莨菪碱和阿托品

邓淑铃¹, 朱峰², 张昊², 王鑫楠², 霍宗利², 王联红^{3*}, 刘华良^{1,2*}

(1. 南京医科大学 公共卫生学院, 江苏 南京 211166; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009;
3. 南京大学 环境学院 水污染控制与资源绿色循环全国重点实验室, 江苏 南京 210023)

摘要:建立了快速检测曼陀罗中毒患者的胃内容物、血浆和尿液中消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法。以甲醇提取胃内容物、血浆和尿液,在C₁₈色谱柱上进行梯度洗脱分离,流动相为0.1%甲酸水溶液-甲醇,采用正离子电喷雾离子化多反应监测(MRM)模式采集,定量方式为基质匹配曲线外标法。3种生物碱在0.1~10 ng/mL范围内线性关系良好,相关系数(r)均大于0.999;在胃内容物、血浆和尿液中,3种生物碱的检出限(LOD)分别为0.02~0.05 $\mu\text{g/kg}$ 、0.01~0.03 ng/mL和0.04~0.05 ng/mL,定量下限(LOQ)分别为0.07~0.09 $\mu\text{g/kg}$ 、0.03~0.10 ng/mL和0.08~0.10 ng/mL,在3种生物检材中高、中、低3个加标浓度下的平均回收率为82.6%~115%,相对标准偏差(RSD, $n=6$)为0.70%~8.5%,其中批内RSD为2.2%~8.5%,批间RSD为0.70%~7.9%。该方法定性准确,检出限满足患者的中毒剂量,适用于中毒事件的病因溯源分析。

关键词: LC-MS/MS; 生物样本; 消旋山莨菪碱; 阿托品; 东莨菪碱

中图分类号: O657.7; S859.81 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)01-0150-07

Determination of Scopolamine, Racanisodamine and Atropine in Biological Samples by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

DENG Shu-ling¹, ZHU Feng², ZHANG Hao², WANG Xin-nan², HUO Zong-li²,
WANG Lian-hong^{3*}, LIU Hua-liang^{1,2*}

(1. School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China; 3. State Key Laboratory of Water Pollution Control and Green Resource Recycling, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: A liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was established for the rapid detection of racanisodamine, atropine and scopolamine in gastric contents, plasma and urine of patients with Datura stramonium poisoning. The gastric contents, plasma and urine were extracted with methanol. An C₁₈ column was used for the qualitative and quantitative analysis of scopolamine, racanisodamine and atropine by matrix-matched curve external standard method in multiple reaction monitoring (MRM) mode, with 0.1% formic acid aqueous solution-methanol as the mobile phase in a gradient elution and electrospray ionization (ESI) with a positive ion source. The results showed that scopolamine, racanisodamine and atropine exhibited a good linear relationship ($r > 0.999$) in the range of mass concentrations from 0.1 to 10 ng/mL. The limits of detection (LODs) in gastric contents, plasma and urine were 0.02–0.05 $\mu\text{g/kg}$, 0.01–0.03 ng/mL and 0.04–0.05 ng/mL, and the limits of quantification (LOQs) were 0.07–0.09 $\mu\text{g/kg}$, 0.03–0.10 ng/mL and 0.08–0.10 ng/mL, respectively. Average recoveries of the three alkaloids at the low, medium and high spiked concentration levels were 82.6%–115%, and the relative standard deviations (RSDs) were 0.70%–8.5%, with intra-batch RSDs were 2.2%–8.5% and inter-batch RSDs were 0.70%–7.9% ($n=6$).

收稿日期: 2025-04-17; 修回日期: 2025-06-18

基金项目: 江苏省重点研发计划(社会发展)项目(BE2023720); 南京大学2024年大型科研仪器开放共享自主研究课题

* 通讯作者: 王联红, 博士, 高级工程师, 研究方向: 环境分析, E-mail: 626212291@qq.com

刘华良, 博士, 研究员, 研究方向: 食物中毒检验方法研究, E-mail: lhl-1@163.com

网络首发日期: 2025-11-14

The method is qualitatively accurate, with the detection limit meeting the patient's poisoning dose, and it is suitable for the etiological traceability analysis of poisoning events.

Key words: LC-MS/MS; biological samples; racanisodamine; atropine; scopolamine

莨菪烷类生物碱是茄科有毒植物(含曼陀罗等)的核心有毒物质,以消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱为主^[1-2],其结构式见图1。曼陀罗全株均具毒性,其中以种子的毒性最为剧烈^[3-4]。

莨菪烷类生物碱能阻断M胆碱受体,对呼吸中枢有兴奋作用,中毒后可能出现躁动、抽搐、谵妄、幻觉和意识障碍等异常症状,甚至发生休克、昏迷和呼吸麻痹等严重并发症,极其严重时可造成死亡^[3,5]。快速准确测定生物基质中的目标生物碱,不仅是明确中毒诊断的关键依据,更是溯源有毒植物种类、评估中毒严重程度的重要技术支撑。但对于复杂的生物检材,仍存在灵敏度低和代谢组分检测难等问题。

高效液相色谱法(HPLC)^[6]、气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)^[7]与液相色谱-串联质谱技术(LC-MS/MS)^[8-14]是当前检测生物样本中生物碱的常规分析手段。HPLC在毒物检测中存在显著局限性,其检出限较高,通常在100 μg/L以上,在实际中毒事件中难以满足毒物痕量检测的要求;且目标物易受基质干扰,在低浓度检测时,仅依赖保留时间进行定性,将导致选择性降低并可能产生假阳性结果。GC-MS适用于易挥发成分,而大多数生物碱的沸点较高,需要衍生化处理,操作繁琐耗时。LC-MS/MS的优势在于它兼具液相色谱和质谱的优点,分离能力好,并可获得化合物的相对分子质量、特征性结构碎片等质谱参数。另外,多反应监测技术可进一步提高检测的选择性。因此,LC-MS/MS在中毒样品的痕量分析方面具有很大优势。然而当前研究存在不足:大部分研究局限于检测某一种生物碱,或是来源相同的几种生物碱,而针对来源不同的多种有毒生物碱的检测研究则十分匮乏。此外,该领域普遍面临技术瓶颈,例如目标检测物的覆盖范围有限,以及样本前处理过程中的回收率偏低等问题。

本研究建立了同时检测血浆、尿液和胃内容物中东莨菪碱、消旋山莨菪碱和阿托品的LC-MS/MS法。该方法定性可靠,灵敏度高,检测耗时短,检测对象覆盖了中毒患者涉及的全部生物样本种类。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

LC-30A型超高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);Q-Trap 5500三重四极杆串联质谱仪(美国AB SCIEX公司),Thermo Scientific Multifuge X1R Pro离心机(美国Thermo Fisher公司);Elmasonic P型超声波清洗仪(德国Elma有限公司);ACQUITY UPLC BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm×1.7 μm,美国Waters公司)。

甲酸、乙酸铵、甲醇(色谱纯,美国TEDIA公司);乙酸乙酯、甲酸、氨水、乙腈、甲醇(分析纯, Sinopharm Chemical Reagent有限公司);消旋山莨菪碱(纯度为97.3%,CAS:17659-49-3,上海安谱瑾世标准技术服务有限公司);阿托品(纯度为98.3%,CAS:51-55-8,坛墨质检-标准物质中心);东莨菪碱(纯度为99.7%,CAS:51-34-3,上海安谱瑾世标准技术服务有限公司);人工胃液(500 mL,江苏艾迪生生物科技有限公司);无菌牛血浆(50 mL,郑州平睿生物科技有限公司);尿液(采自本实验研究人员,均知情同意且无东莨菪碱、消旋山莨菪碱和阿托品等相关药物的摄入史);亨氏婴儿原味营养米粉(250 g,网购);0.22 μm水系聚四氟乙烯(PTFE)滤膜、0.45 μm水系聚醚砜(Polyethersulfone, PES)滤膜(江苏绿盟科学仪器有限公司);0.22 μm PES滤膜、0.22 μm尼龙(Polyamide, PA)滤膜、

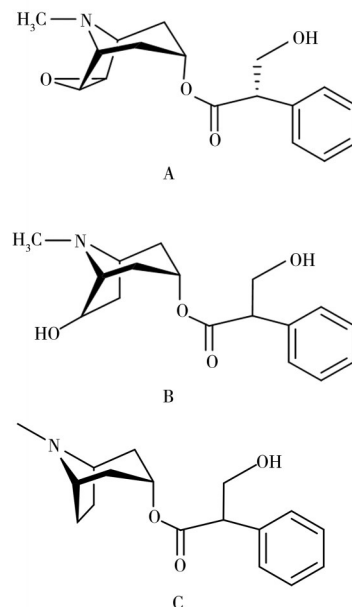


图1 东莨菪碱(A)、消旋山莨菪碱(B)和阿托品(C)的结构图

Fig. 1 Structural diagrams of scopolamine (A), racanisodamine (B) and atropine (C)

0.45 μm PA 滤膜(宁波鸿谱仪器科技有限公司)。

1.2 标准溶液的配制

单标储备液(1 mg/mL)和混合标准液(10 $\mu\text{g/mL}$): 精密称取消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱标准品各 10 mg(精确至 0.000 1 g), 加乙腈适量使其溶解并稀释定容于 10 mL 容量瓶中, 摇匀后得到 1 mg/mL 的单标储备液。分别准确移取上述各单标储备液 0.1 mL 至同一 10 mL 容量瓶中, 先加入少许 10% 乙腈溶解再定容至刻度, 得到 3 种生物碱质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准液。以上标准溶液均于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光密封冷冻保存备用, 其中单标储备液与混合标准液的有效期分别为 6 个月和 1 个月。

混合标准工作液: 精密量取一定体积的混合标准液, 用 10% 乙腈溶液逐级稀释成 10、100、1 000 ng/mL 的混标中间液, 再进一步配制成系列质量浓度(1、2、5、10、20、50、100 ng/mL)的混合标准工作液, 使用前现配。

空白基质溶液: 称取 1.0 g(精确至 0.001 g)不含 3 种生物碱的胃内容物和 1.0 mL 不含 3 种生物碱的血浆和尿液, 采用“1.4”步骤处理即得空白基质溶液。

基质匹配标准曲线工作溶液: 用经“1.4”步骤处理过的空白基质溶液稀释混合标准工作液, 配制 3 种生物碱的质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 ng/mL 的系列工作溶液。

1.3 样品制备

胃内容物样品制备: 取人工胃液 20 mL 于 50 mL 离心管, 加入 2 g 米粉(按液固比 10:1 混合), 在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下水浴振荡 5 min 模拟胃内容物情况。

1.4 样品前处理

胃内容物: 取 1 g 胃内容物于 15 mL 离心管中, 加入 0.25 mL 0.2 mol/L NaOH 溶液、2 mL 乙酸铵-氨水缓冲溶液(pH 9.0 $\pm$ 0.5), 充分混匀, 加入 5 mL 甲醇, 涡旋混合 2 min, 超声 5 min, 10 000 r/min 离心 5 min。取 1 mL 上清液, 加入 1 mL 纯净水, 过 0.22 μm PES 滤膜, 待测。

血浆、尿液: 准确吸取 1 mL 血浆或尿液于 15 mL 离心管中, 加入 2 mL 乙酸铵-氨水缓冲溶液(pH 9.0 $\pm$ 0.5), 充分混匀, 加入 5 mL 甲醇, 涡旋混合 2 min, 超声 5 min, 10 000 r/min 离心 5 min。取 1 mL 上清液, 加入 1 mL 纯净水, 过 0.22 μm PES 滤膜, 待测。

1.5 实验条件

1.5.1 色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.7 μm , 美国 Waters 公司); 柱温: $35\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量: 5 μL ; 流速: 0.3 mL/min; 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为甲醇。梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 20% B; 0.5~3.0 min, 20%~30% B; 3.0~3.9 min, 30%~95% B; 3.9~4.0 min, 95%~20% B, 保持 2.0 min。

1.5.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI); 电离方式: 正离子; 离子源温度(TEM): $500\text{ }^{\circ}\text{C}$; 离子化电压: 5 500 V; 气帘气压力: 40 kPa; 碰撞气(CAD)为 Medium; 喷雾气流速(GS1): 30 L/min; 辅助加热气流速(GS2): 50 L/min; 多反应监测(MRM)模式, 质谱参数见表 1。

表 1 消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱的质谱检测参数

Table 1 MS/MS detection parameters of racanisodamine, atropine and scopolamine

Compound	Retention time/min	Parent ion(m/z)	Product ion(m/z)	Collision energy/eV	Declustering potential/V
Scopolamine(东莨菪碱)	2.52	304.0	138.1 [*] , 156.0	27, 22	77, 77
Racanisodamine(消旋山莨菪碱)	2.50	306.3	140.0 [*] , 122.3	35, 42	94, 94
	3.00				
Atropine(阿托品)	3.95	290.0	124.0 [*] , 93.1	33, 45	89, 89

*quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取溶剂的选择 生物碱一般具有碱性, 在碱性条件下以游离态生物碱的形式存在, 更容易溶解于有机溶剂中, 进而易于被萃取出来。因此本实验在用有机溶剂提取前加入碱性缓冲溶液, 使样

品处于碱性环境,以降低目标物的极性并释放游离生物碱,使尽可能多的生物碱转移到有机相中,提高提取效率^[13]。

依据3种待测生物碱的性质,对比了甲醇、乙腈和乙酸乙酯3种提取溶剂对胃内容物、血浆和尿液中3种生物碱的提取效果。结果表明,对于胃内容物和血浆,提取效果:甲醇>乙腈>乙酸乙酯;对于尿液,提取效果:甲醇>乙酸乙酯>乙腈,因此选择甲醇作为3种生物样本的提取溶剂。

2.1.2 超声时间的选择 对比了5种超声时间对胃内容物、血液和尿液中3种生物碱提取效果的影响。如图2所示,当超声时间为5 min时,胃内容物中3种生物碱的提取效果最高;而超声时间对血浆和尿液的提取效果影响不大,因此选择超声时间为5 min。

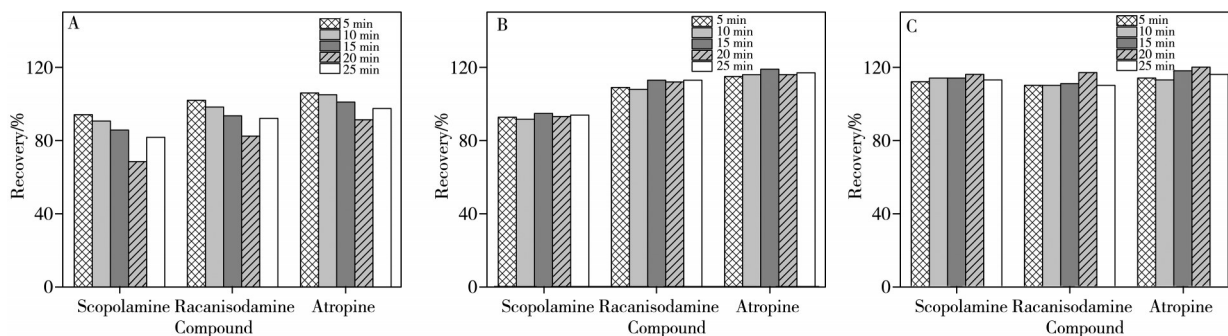


图2 超声时间对胃内容物(A)、血浆(B)和尿液(C)中东莨菪碱、消旋山莨菪碱和阿托品提取效率的影响

Fig. 2 Effect of ultrasound time on the extraction efficiencies of scopolamine, racanisodamine and atropine in gastric contents(A), plasma(B) and urine(C)

2.1.3 滤膜的选择 为有效滤除高速离心后残留的小粒径杂质,同时避免滤膜吸附目标物造成目标物损失,本研究对比了标准溶液直接测定(不过滤膜)以及分别过0.45 μm 水系PES滤膜、0.22 μm 水系PTFE滤膜、0.22 μm 尼龙滤膜、0.22 μm PES滤膜、0.45 μm 尼龙滤膜后再测定对目标物浓度的影响(以不过滤膜的浓度为100%计),发现0.22 μm 水系PTFE滤膜和0.45 μm 水系PES滤膜均强烈吸附3种生物碱。这与水系滤膜的组成密切相关,其原料中含有聚乙二醇等组分^[15],溶液中带正电的生物碱可与滤膜表面分布的羟基等活性基团相结合,从而导致3种生物碱在过滤过程中损失;与之相比,0.22 μm PES滤膜基本不吸附目标物,对样品浓度的影响最小,3种生物碱的浓度分别为未过滤膜时的99.32%、99.28%和96.13%。故最终选择0.22 μm PES滤膜用于样品溶液的过滤。

2.2 流动相的选择

本文检测的3种化合物均为含氮杂环生物碱,其离子化效率可通过在流动相中加酸得以提升。鉴于此,本实验以0.1%甲酸为水相,综合分析了甲醇和乙腈两种有机相的效果。由图3可知,在两种有机相中,东莨菪碱和消旋山莨菪碱的响应强度无显著差异,但阿托品在甲醇作为有机相时表现出更强的响应和更高的灵敏度。故选定甲醇作为有机相。

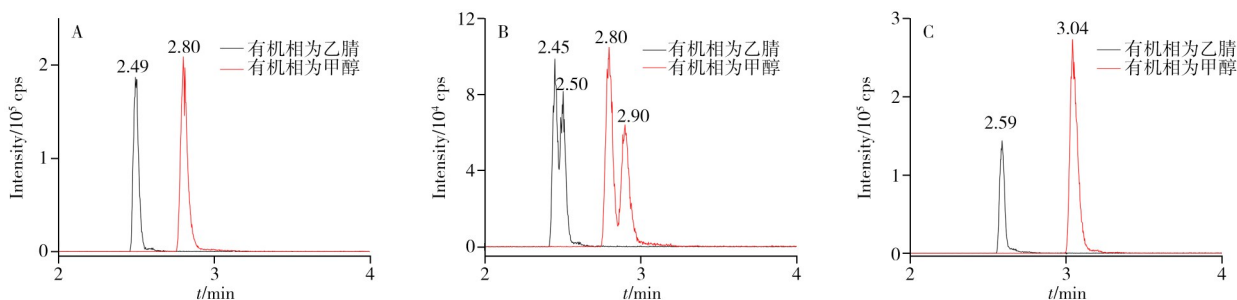


图3 东莨菪碱(A)、消旋山莨菪碱(B)和阿托品(C)标准品的对比色谱图(10 ng/mL)

Fig. 3 Comparative chromatograms of scopolamine(A), racanisodamine(B) and atropine(C) standard samples (10 ng/mL)

2.3 专属性验证

生物样品按照“1.4”步骤处理后,在“1.5”仪器条件下检测,得到消旋山莨菪碱、阿托品和东

莨菪碱的色谱图如图 4 所示。以胃内容物为例, 由图 4 可知, 在最佳分离条件下进行梯度洗脱, 消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱的色谱峰峰形对称而尖锐, 且质谱信号良好, 方法专属性较好。

2.4 方法学验证

2.4.1 基质效应 为了评估并校正胃内容物、血浆和尿液中的蛋白质等干扰物质对目标化合物离子化效率的抑制或增强作用, 考察了本方法的基质效应 (ME)。通过比较由空白基质溶液和纯溶剂溶液配制的标准溶液标准曲线斜率, 依据公式 $ME = [(\text{基质标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率}) - 1] \times 100\%$ 进行计算^[16]。ME 为负时表示存在基质抑制效应, 为正时则表示存在基质增强效应; 其绝对值的不同范围对应不同强度: 弱基质效应 ($|ME| \leq 20\%$), 中等基质效应 ($20\% < |ME| \leq 50\%$), 强基质效应 ($|ME| > 50\%$)^[17-18]。由表 2 可知, 3 种生物碱在胃内容物、血浆和尿液中均存在不同程度的基质效应。为此, 本研究采用基质匹配标准曲线进行定量分析, 以消除基质效应所带来的干扰。

2.4.2 线性关系、检出限和定量下限 为减少基质效应干扰, 本研究以空白基质绘制基质标准曲线。取基质匹配标准曲线工作溶液, 按“1.5”条件进行测定, 以目标物的峰面积 (消旋山莨菪碱采用两个峰面积相加后的总和表示) 为纵坐标, 以标准品的质量浓度为横坐标拟合基质标准曲线。根据 ISO 11843-4: 2020^[19] 计算方法检出限 (LOD) 和 ICH Q2(R1)^[20] 的校准曲线法计算定量下限 (LOQ)。如表 2 所示, 3 种生物碱在 0.1~10 ng/mL 质量浓度范围与色谱峰面积的线性关系良好, 在各基质中的相关系数 (r) 均大于 0.999。在胃内容物、血浆和尿液中, 3 种生物碱的 LOD 分别为 0.02~0.05 $\mu\text{g/kg}$ 、0.01~0.03 ng/mL 和 0.04~0.05 ng/mL, LOQ 分别为 0.07~0.09 $\mu\text{g/kg}$ 、0.03~0.10 ng/mL 和 0.08~0.10 ng/mL。

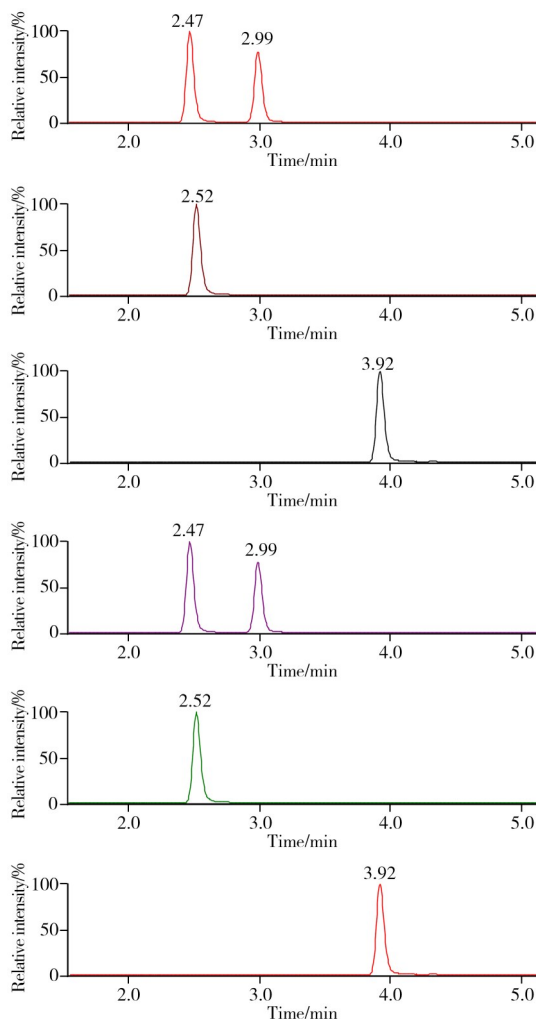


图 4 胃内容物中 3 种生物碱的多反应监测质量色谱图 (1 ng/mL)

Fig. 4 MRM mass spectrometry chromatograms of three alkaloids in gastric contents (1 ng/mL)

表 2 3 种生物碱的线性方程、相关系数、检出限、定量下限与基质效应

Table 2 Regression equations, correlation coefficients, limits of detection, limits of quantification and matrix effects of three alkaloids

Sample	Compound	Regression equation	r	LOD/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	ME/%
Plasma	Scopolamine	$Y=437\ 148X-24\ 511$	0.999 9	0.02	0.09	21
	Racanisodamine	$Y=193\ 996X-6\ 434$	0.999 1	0.03	0.10	27
	Atropine	$Y=425\ 749X+20\ 089$	0.999 8	0.01	0.03	-48
Urine	Scopolamine	$Y=280\ 105X+12\ 528$	0.999 8	0.05	0.09	-22
	Racanisodamine	$Y=153\ 117X+7\ 081$	0.999 9	0.04	0.08	27
	Atropine	$Y=393\ 847X+27\ 606$	0.999 7	0.04	0.10	-52
Gastric contents	Scopolamine	$Y=292\ 313X+18\ 555$	0.999 6	0.02 $\mu\text{g/kg}$	0.07 $\mu\text{g/kg}$	-19
	Racanisodamine	$Y=187\ 297X-4\ 178$	0.999 5	0.05 $\mu\text{g/kg}$	0.09 $\mu\text{g/kg}$	-23
	Atropine	$Y=374\ 063X+20\ 743$	0.999 7	0.03 $\mu\text{g/kg}$	0.07 $\mu\text{g/kg}$	-54

2.4.3 准确度与精密度 称取胃内容物、血浆和尿液各 18 份, 各添加 0.1 mL 3 种不同浓度梯度的混合标准溶液, 每个浓度水平设置 6 个平行样本, 采用本方法进行测定, 依据测定结果计算各待测物质的平均回收率以评价准确度, 同时计算平行样的相对标准偏差 (RSD) 以评价方法的批内精密度和批间精密度。其中, 将同一天 6 次平行实验的加标样品测定结果的 RSD 记为批内精密度, 将连续 6 d 测定值

的 RSD 记为批间精密度的。由表 3 可知, 3 种生物碱在血浆、尿液和胃内容物中的回收率为 82.6%~115%, 批内 RSD 为 2.2%~8.5%, 批间 RSD 为 0.70%~7.9%($n=6$), 方法准确度和精密度均较满意。

表 3 3 种生物碱的平均回收率和相对标准偏差

Table 3 Average recoveries and relative standard deviations of three alkaloids

Sample	Compound	Added/(ng·mL ⁻¹)	Average recovery/%	Inter-batch RSD/%	Intra-batch RSD/%
Plasma	Scopolamine	1.2, 7.8, 12	100, 106, 106	7.9, 4.0, 1.4	8.5, 4.8, 2.5
	Racanisodamine	1.2, 7.8, 12	104, 101, 113	5.8, 5.3, 3.6	2.3, 2.2, 3.3
	Atropine	1.2, 7.8, 12	103, 110, 107	1.3, 1.2, 0.90	7.5, 3.1, 7.9
Urine	Scopolamine	1.0, 6.3, 10	98.2, 113, 106	3.0, 1.2, 6.1	3.5, 6.1, 5.9
	Racanisodamine	1.0, 6.3, 10	97.5, 102, 103	1.3, 2.6, 2.0	3.5, 4.8, 5.2
	Atropine	1.0, 6.3, 10	99.6, 108, 113	2.8, 1.4, 0.70	7.7, 5.0, 3.0
Gastric contents	Scopolamine	1.1, 7.1, 11	85.4, 87.2, 96.7	1.1, 1.0, 0.90	7.7, 5.0, 3.0
	Racanisodamine	1.1, 7.1, 11	87.5, 106, 107	2.9, 1.8, 2.9	5.6, 2.6, 2.5
	Atropine	1.1, 7.1, 11	82.6, 111, 115	1.8, 0.80, 1.8	4.7, 3.6, 3.6

2.4.4 稳定性 取 1 g 空白胃内容物和 1 mL 空白血浆和尿液, 加入消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱的混合标准工作液, 配制得到 10 ng/mL 的空白胃内容物、血浆和尿添加样, 分别放置 1、2、3、4、5 d, 按照“1.4”方法处理后, 在“1.5”仪器条件下检测, 计算各成分浓度的 RSD。结果表明, 3 种生物碱在胃内容物、血浆和尿液中的 RSD 为 2.3%~8.9%, 在规范要求的 10% 以内, 说明 3 种目标物在胃内容物、血浆和尿液中的稳定性良好。

2.5 方法比较

比较本方法与已报道的生物样本中生物碱的检测方法, 结果见表 4。本方法较其他方法的前处理时间更短、检测基质更丰富、定量下限更低、灵敏度更高。说明本方法是一种检测覆盖面更广、更能应用于应急检测的方法。

表 4 本方法与已报道的生物样本中生物碱检测方法的比较

Table 4 Comparison of the proposed method with those reported methods for the determination of alkaloids in biological samples

Sample	Analytical method	Preparation time/min	LOQ/(ng·mL ⁻¹)	Reference
Plasma	LC-MS/MS	>30	1	[14]
Urine	GC-MS	>10	4	[7]
Gastric contents and urine	LC-MS/MS	>20	0.5	[10]
Plasma and urine	LC-MS/MS	<10	0.03~0.10	This work
Gastric contents	LC-MS/MS	<10	0.07~0.09 μg/kg	This work

2.6 实际样品测定

实际案例为江苏省泰州市某家庭食物中毒事件, 发病前该病例食用了自制食品“焦屑”(由小麦、黄豆、糯米和芝麻经炒制、碾碎后混合而成, 用热水冲制后食用), 食用 1 h 后出现恶心、呕吐、神志不清、面色潮红和昏迷等中毒症状, 送医已中毒 2 h。医生采集中毒者的胃内容物、静脉血和尿液委托本实验室进行检测。本实验室怀疑病人误食了与芝麻相似的曼陀罗籽。采用本方法, 测得案例样品中曼陀罗籽毒性成分东莨菪碱、消旋山莨菪碱和阿托品的含量(见表 5)。若目标物的响应值超出标准曲线的线性上限, 则应适当减少取样量或稀释后重新测定。

综合比较各生物样本的检测结果可知, 生物碱浓度总体表现为尿液 > 胃内容物 > 血液, 此分布特征与莨菪烷类生物碱的潜伏期短及其在人体内的代谢途径相符。具体而言, 在胃内容物和血液中东莨菪碱的检出含量最高, 阿托品次之, 消旋山莨菪碱检出含量最低。然而在尿液中, 检出含量最高的是阿托品, 其次为东莨菪碱, 消旋山莨菪碱最低。呈现这种差异主要是因为生物碱代谢途径不同: 东莨菪碱几乎被肝脏完全代谢, 仅极少量以原型经肾脏排出; 而阿托品约 50% 以原型通过肾脏排出, 从而使得其在尿液中的浓度最高^[21]。

3 结 论

本文建立了同时检测胃内容物、血浆和尿液中消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱的 LC-MS/MS 法。

表 5 案例样品中 3 种目标物的检测结果(ng/mL)

Table 5 Detection results of three target substances in case samples(ng/mL)

Compound	Gastric contents	Urine	Plasma
Scopolamine	236 μg/kg	47.7	57.3
Racanisodamine	24.2 μg/kg	35.2	8.8
Atropine	69.6 μg/kg	312	14.4

经乙酸铵-氨水缓冲溶液调节样品的pH值后,用甲醇沉淀蛋白质并提取样品中的生物碱,并对前处理条件以及流动相进行了优化。方法学评价结果表明,消旋山莨菪碱、阿托品和东莨菪碱在0.1~10 ng/mL浓度范围内线性良好,定量下限分别为0.07~0.09 $\mu\text{g/kg}$ 、0.03~0.10 ng/mL和0.08~0.10 ng/mL,在胃内容物、血浆和尿液中高、中、低3个浓度水平的平均加标回收率为82.6%~115%,RSD为0.70%~8.5%,其中批内RSD为2.2%~8.5%,批间RSD为0.70%~7.9%($n=6$)。本方法简化了前处理过程,省略了净化步骤,操作时间短,而且灵敏度高、选择性好,适用于曼陀罗中毒的应急检测,能为曼陀罗植物中毒病例的快速诊断与精准治疗提供技术支撑。

参考文献:

- [1] Zhang H L, Yang X J, Liu W G, Han C X, Wang M C, Yang Q E. *J. Northwest For. Univ.* (张宏利, 杨学军, 刘文国, 韩崇选, 王明春, 杨清娥. 西北林学院学报), **2004**, (2): 98.
- [2] Sharma M, Dhaliwal I, Rana K. *Antioxidants*, **2021**, 10: 1291.
- [3] Xu N, Ran J X, Yang Z C, Lou S Z. *J. Insp. Quar.* (徐宁, 冉俊祥, 杨占臣, 娄少之. 检验检疫学刊), **2009**, (1): 62.
- [4] Cheng M. *Research on Rodenticidal Active Ingredients of Mandragora*. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University(程明. 曼陀罗杀鼠活性成分的研究. 杨凌: 西北农林科技大学), **2007**.
- [5] Zhao W Y, Wei H, Jing D H, Ma L. *Chin. J. Prac. Nerv. Dis.* (赵文艳, 魏惠, 景东华, 马利. 中国实用神经疾病杂志), **2018**, 21(6): 690.
- [6] Li S, Li S L, Wang D L, Su L Y. *Chin. J. Pharm. Anal.* (李赛, 李寿林, 王东亮, 苏凌璎. 药物分析杂志), **2025**, 45(1): 92-98.
- [7] Wu H Q, Zhang C H, Huang X L, Zhu Z X, Lin X S. *J. Instrum. Anal.* (吴惠勤, 张春华, 黄晓兰, 朱志鑫, 林晓珊. 分析测试学报), **2013**, 32(9): 1031-1037.
- [8] Liu Y X, Tian F D, Li X Y, Xiong G, Jiang X Y. *J. Kunming Med. Univ.* (刘悦鑫, 田方东, 李昕怡, 熊根, 江祥宇. 昆明医科大学学报), **2022**, (9): 147.
- [9] Cai Y G, Wu Y F, Ren J Y, Tian J Y, Tang X, Luo X, Wang Y J. *Forensic Sci. Technol.* (蔡玉刚, 吴永富, 任瑾瑜, 田佳怡, 唐雪, 罗旬, 王燕军. 刑事技术), **2025**, 50(2): 169-174.
- [10] Wang R H, Luan Y J, Dong Y, Du H Y, Wang A H. *Forensic Sci. Technol.* (王瑞花, 栾玉静, 董颖, 杜鸿雁, 王爱华. 刑事技术), **2018**, 43(4): 301-305.
- [11] She C M, Du H Y, Wang F L, He H Y, Wang X B. *Forensic Sci. Technol.* (余彩蒙, 杜鸿雁, 王芳琳, 何洪源, 王小宝. 刑事技术), **2017**, (2): 133.
- [12] Zhang C H, Wu H Q, Huang X L, Zhu Z X, Huang F. *Chin. J. Anal. Chem.* (张春华, 吴惠勤, 黄晓兰, 朱志鑫, 黄芳. 分析化学), **2012**, 40(6): 862-869.
- [13] Luo L, Liu H H, Wang F, Ren Y, Lin Q H. *J. Prev. Med. Inf.* (罗兰, 刘红河, 王甫, 任燕, 林启辉. 预防医学情报杂志), **2019**, 35(8): 832-839, 844.
- [14] Xiong X T, Wu H Q, Huang X L. *Chin. J. Anal. Chem.* (熊小婷, 吴惠勤, 黄晓兰. 分析化学), **2009**, 37(10): 1433-1438.
- [15] Sun H X, Zhang L, Chen H L. *Chem. Ind. Eng. Prog.* (孙海翔, 张林, 陈欢林. 化工进展), **2006**, 25(4): 378.
- [16] Tang Y X, Bai Y M. *J. Instrum. Anal.* (唐韵熙, 白亚敏. 分析测试学报), **2025**, 44(5): 868-875.
- [17] Pan Y B, Zhang M Y, Wan N, Wang B, Pan C P. *Chin. J. Pestic. Sci.* (潘永波, 张妙宜, 万娜, 王彬, 潘灿平. 农药学报), **2024**, 26(1): 189-202.
- [18] Wang D J, Wu X Q, Chen B, Tong K X, Xie Y J, Liu X Y, Shi Z H, Fan C L, Wang W W, Chen H. *J. Instrum. Anal.* (王德瑾, 吴兴强, 陈保, 仝凯旋, 谢瑜杰, 刘新月, 石志红, 范春林, 王雯雯, 陈辉. 分析测试学报), **2025**, 44(10): 2122-2133.
- [19] International Organization for Standardization. (2020)ISO 11843-4: 2020: Capability of Detection-Part 4: Methodology for Comparing the Minimum Detectable Value with a Given Value. Geneva, Switzerland: ISO.
- [20] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. (2005). ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and methodology Q2(R1). Geneva, Switzerland: ICH.
- [21] Liu F, Zhang Y H, Ma M Y, Qin Y X, Xu F. *Chin. J. Food Hyg.* (刘峰, 张银豪, 马明阳, 秦迎旭, 徐飞. 中国食品卫生杂志), **2022**, 34(2): 377-381.

(责任编辑: 丁 岩)