

LCMS-8050 结合岛津“法医毒物数据库” 对生物检材中 29 种毒品进行快速筛查、 定性分析

LCMSMS-525

摘要：本文基于 LCMS-8050 液相色谱 - 三重四级杆质谱联用系统结合岛津“法医毒物数据库”，参照公安行业标准《生物检材中吗啡等 29 种毒品及代谢物筛选 液相色谱 - 质谱法》，无需标准品实现快速建立筛查方法。在空白尿液样品中浓度为 10 ng/mL 的 24 种毒品加标，结果均被筛查出；据 MRM 同时触发产物离子扫描结果进行二级质谱库搜索，结果显示检材中添加的 24 种毒品物质的匹配度均在 70% 及以上，表明筛查结果可靠性良好。

关键词：法医毒物数据库 液相色谱 - 质谱法 毒品 筛查

毒品分为传统毒品、合成毒品、新精神活性物质（新型毒品）以及国家规定管制的其它能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品。对于毒化检验而言，涉及到的毒品种类越来越多，《麻醉药品及精神药品品种目录》中列明了 121 种麻醉药品和 130 种精神药品，且对于生物检材（血液、尿液）而言组成复杂，干扰成分多，做到准确、可靠的定性筛查对生物检材毒品检验具有重要意义。

公安行业标准《生物检材中吗啡等 29 种毒品及代谢物筛选 液相色谱 - 质谱法》规定了法庭科学领域生物检材（血液、尿液）中吗啡等 29 种毒品的液相色谱 - 质谱筛选方法。为毒品检验提供了可靠依据，但在使用过程中也存在诸多难点，如：毒品的标准物质

难以完全获取，在复杂生物基质下难以确保筛查结果可靠性等。

针对当前刑侦、法医、毒理等相关领域需要分析的各类化合物，岛津公司的“法医毒物数据库”，包含 2159 种化合物 MRM 条件以及大于 7000 张 MS/MS 谱图，可以根据检验实际需要进行全部化合物筛查或根据筛查化合物种类快速建立针对性筛法方法，快速灵活实现定性筛查。本文利用岛津“法医毒物数据库”，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-20A_{XR} 和三重四级杆质谱 LCMS-8050 联用，实现了尿液样品中毒品、毒物快速筛查方法建立，根据实验室已有的 24 种毒品标准品进行验证分析，结果表明该方法分析速度快、筛查结果可靠，可为司法刑侦领域人员提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LCMS-8050 超高效液相色谱三重四级杆质谱联用系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A_{5R}

输液泵：LC-20AD_{XR}×2

自动进样器：SIL-20A_{XR}

柱温箱：CTO-20A

质谱仪：LCMS-8050

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

液相条件

参考岛津“法医毒物数据库”（PN：225-31175-92）

柱温：40°C

进样量：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，参考“法医毒物数据库”

质谱条件

离子化模式：ESI（±）正负模式同时采集

加热气：空气 10.0 L/min

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

碰撞气：氩气

接口温度：300°C

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

MRM 参数：见方法包

1.3 样品前处理方法

样品前处理根据标准要求采用沉淀蛋白法进行：

移取尿液检材样品 0.5 mL，于具盖离心管中。加入乙腈 3 mL，用振荡器振荡 10 min，离心 20 min，收集上清液，氮吹浓缩至近干，用乙腈 / 水（体积比 1:1）0.5 mL 定容，经有机微孔滤膜过滤，作为检材样品提取液，供仪器检测。

■ 分析结果

2.1 岛津“法医毒物数据库”简介

岛津“法医毒物数据库”根据化合物类型对应不用的最佳液相条件，共分为两套方法文件：ODS 柱方法（1250 种化合物）以及联苯柱方法（1281 种化合物），两套方法文件中涉及的化合物有交叉，其中 ODS 柱方法中包含 636 种毒品、259 种农药、118 种精神药物、112 种医疗药物、83 种安眠药、62 种天然毒素，在公安、法医领域应用较多。


数据库中提供了完整的液质分析解决方案：1) 方法文件列出了质谱分析条件，液相色谱分析条件，各化合物保留时间信息，报告文件等，由于这些分析方法已在实验室验证，因此可显著减少分析方法开发所需的时间；2) 方法包中包含经过优化后的各化合物质谱分析参数，可大幅度减少参数优化所需的时间和精力；3) 使用与方法包完全一致的分析参数，无需使用标准品，即可实现对样品的快速定性筛查。4) 可实现一针筛查方法中包含的所有化合物，也可以通过软件选择所需筛查化合物进行快速方法建立。

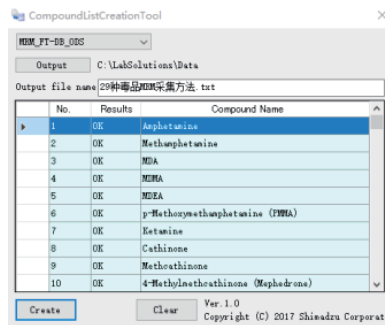
本实验利用数据库按照标准规定的 29 种毒品快速建立筛查方法，按 ODS 柱方法中列出条件准备流动相、色谱柱等实验条件即可快速启动分析工作。

2.2 29 种毒品快速筛查方法建立流程

1、通过岛津“法医毒物数据库”中对应的 ODS 柱方法化合物列表中化合物中文名称或 CAS 号确认是否匹配标准中化合物，经过确认 ODS 柱方法包含标准中的 28 种毒品质谱条件，联苯柱方法中含有其余一种舒芬太尼的条件，将其英文名称复制到“Compound List Creation Tool”（化合物列表生成工具）中，选择保存路径，点击“Create”生成包含化合物保留时间、离子对信息的化合物列表文档。

	D	E	F	G
1	Name	Name (Chinese 1)	CASNo	Ret. Time
2	Amphetamine	苯丙胺	300-62-9	3.36
3	Methamphetamine	甲基苯丙胺	33817-09-3	3.466
4	MDA	替苯丙胺	4764-17-4	3.502
5	MDMA	甲醇测试标样(1-(1,4,2542-10-9		3.559
6	MDEA	3,4-亚甲二氧基-N-82801-81-8		3.851
7	p-Methoxyyme	1-(4-甲氧基苯基)-13398-68-3		3.698
8	Ketamine	氯胺酮	6740-88-1	4.183
9	Cathinone	2-氨基苯丙酮	1196-28-7	2.738
10	Methcathinone	甲卡西酮	5650-44-2	2.895
11	4-Methylmethi	2-(甲基氨基)-1-(4-	1189805-46-	3.908
12	Morphine	吗啡	57-27-2	1.797
13	6-Acetyl-Mor	6-乙酰吗啡	2784-73-8	3.249





No.	Results	Compound Name
1	OK	Amphetamine
2	OK	Methamphetamine
3	OK	MDA
4	OK	MDEA
5	OK	MDEA
6	OK	p-Methoxymethamphetamine (PMMA)
7	OK	Ketamine
8	OK	Cathinone
9	OK	Methcathinone
10	OK	4-Methylmethcathinone (Mephedrone)

图1 “Compound List Creation Tool”生成 29 种毒品化合物列表流程

2、在 Labsolutions LCMS 采集软件中打开数据库中“LC_FT-DB_ODS”方法文件，其中包含 ODS 柱方法液相条件，在方法菜单中点击导入化合物，将 29 种毒品化合物列表文档导入即可生成包含保留时间、质谱信息、液相条件的筛查方法，无需标准品，仪器采集分析时间为 15 min。

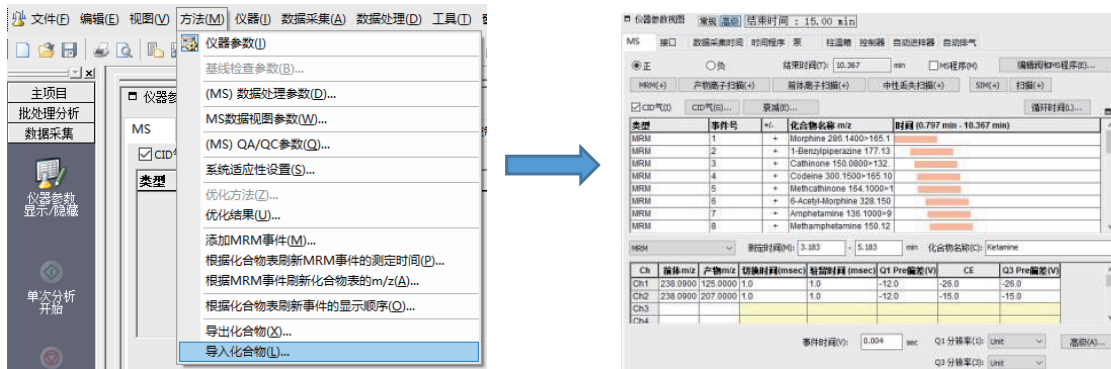


图 2 29 种毒品快速筛查方法建立流程

2.3 筛查分析结果

将 24 种毒品标准溶液 (化合物清单见表 1) 使用初始流动相稀释得到 20 ng/mL 的系列混合标准工作溶液, 按照 2.2 建立的毒品筛查方法进行筛查分析, 结果显示 24 种毒品均被筛查出, 标准溶液色谱图见图 3, 部分化合物 MRM 图谱见图 4。

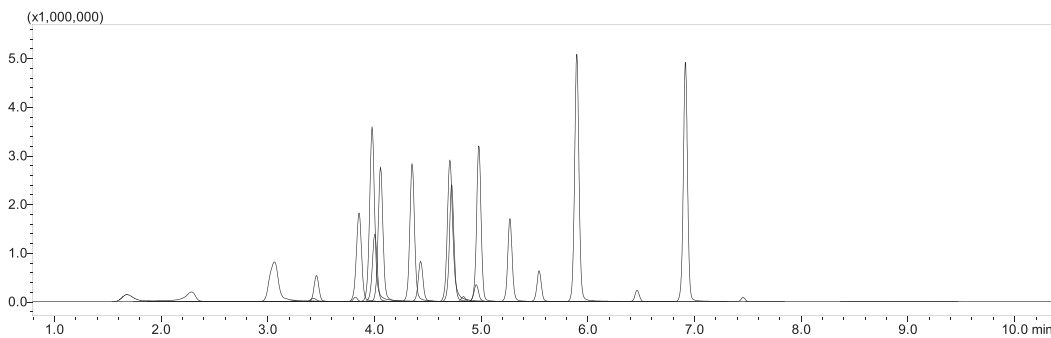
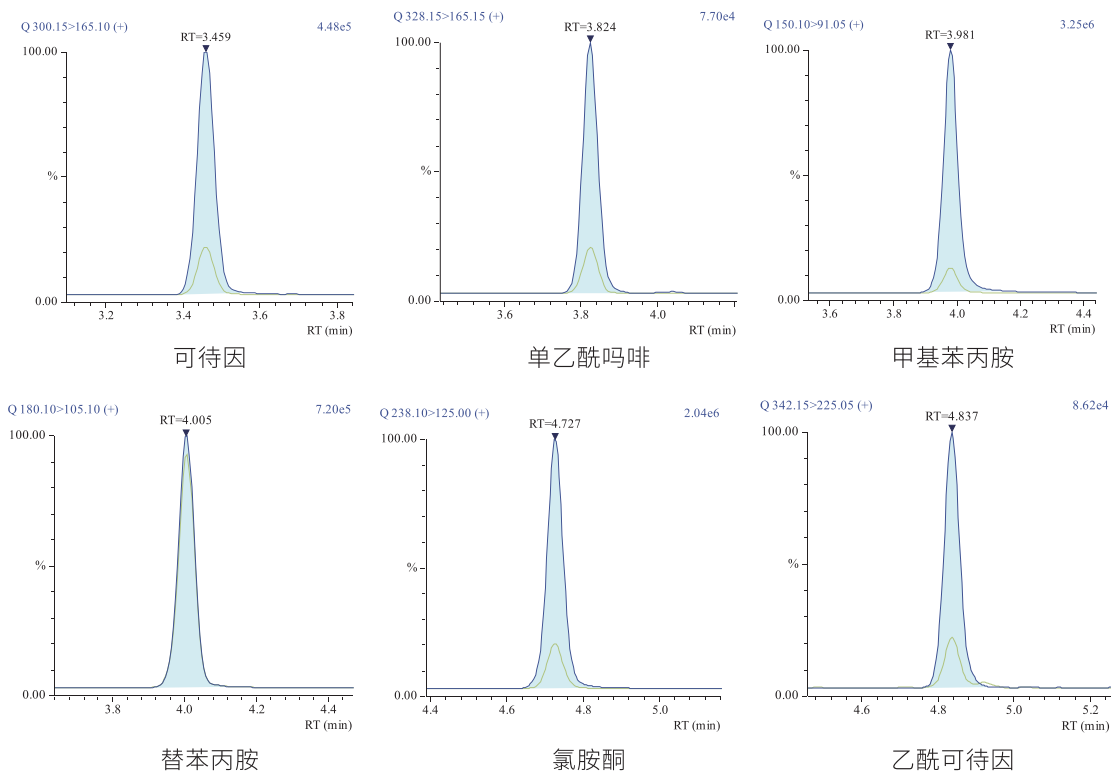


图 3 20 ng/mL 24 种毒品标准溶液 TIC 图



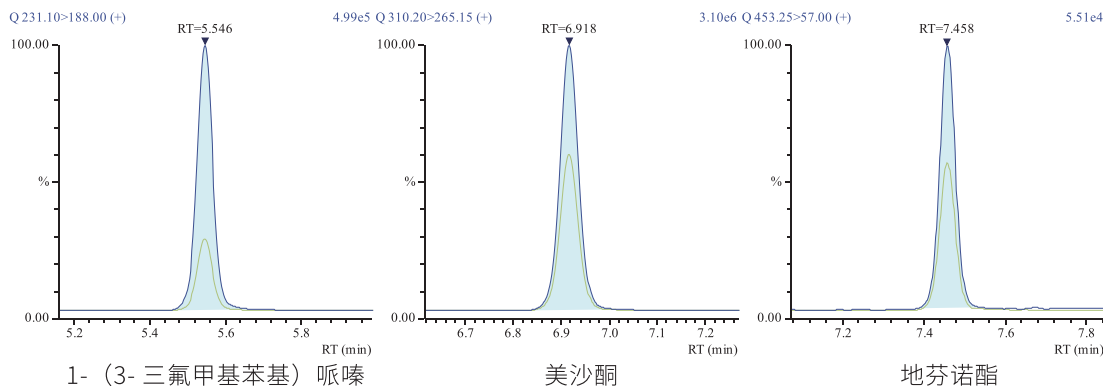


图 4 部分化合物 MRM 色谱图

2.4 谱库搜索结果

数据库提供同步检查扫描参数以用于筛查分析：通过数据库中的二级质谱数据库，可以对产物离子扫描结果进行相似度检索，进一步对疑似阳性检出化合物进行定性确证，确保检查结果的准确性。本应用案例中，29 种毒品同步检查扫描方法采用的“SSS_LC_FT-DB_ODS”方法中包含触发产物离子扫描功能，当超过设定的筛查扫描阈值时，同步筛查扫描功能启动，可自动对检出化合物进行产物离子扫描，得到检出物的二级质谱并进行谱库搜索，得到匹配度，根据匹配度可对检出物进行进一步定性。本次分析得到的匹配度结果和搜库结果分别如表 1 和图 5 所示（图 5 以氯胺酮（Ketamine）为例，说明了搜库结果构成）。24 种检出物的匹配度结果均在 70% 及以上，说明得到的筛查结果可靠性良好。

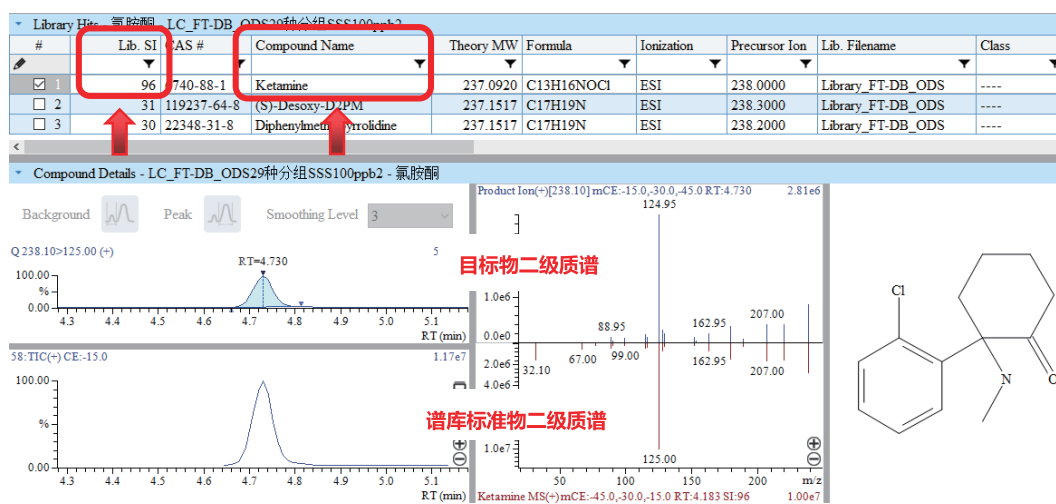


图 5 Ketamine 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

表 1 各个检出物搜库匹配度结果

	中文名	英文名称	相似度
1	氯胺酮	Ketamine	96
2	苯甲酰爱康宁	Benzoyl Ecgonine	87
3	四氢大麻酚	THC	72
4	地芬诺酯	Diphenoxylate	83
5	美沙酮	Methadone	93
6	丁丙诺啡	Buprenorphine	100
7	1- (3- 三氟甲基苯基) 哌嗪	TFMPP	81

8	芬太尼	Fentanyl	96
9	哌替啶	Meperidine (Pethidine)	88
10	乙酰可待因	6-Acetylcodeine	93
11	1- (3- 氯苯基) 哌嗪	MCPD	89
12	曲马多	Tramadol	92
13	苯丙胺	Amphetamine	90
14	甲基苯丙胺	Methamphetamine	83
15	替苯丙胺	MDA	85
16	二亚氧基双氧安非他命	MDMA	95
17	安非他命	MDEA	92
18	卡西酮	Cathinone	81
19	甲卡西酮	Methcathinone	89
20	4- 甲基甲卡西酮	Mephedrone (4-MMC)	84
21	吗啡	Morphine	74
22	单乙酰吗啡	6-Acetyl-Morphine	92
23	可待因	Codeine	75
24	苄基哌嗪	1-Benzylpiperazine	83

2.5 实际样品筛查分析结果

2.5.1 空白尿液样品分析及定性

空白尿液经过按照 1.3 中的前处理方式处理后上机发现化合物替苯丙胺疑似阳性检出，响应强度极高，保留时间为 3.900 min，相对离子丰度比为 165.9，MRM 图谱见图 6，其余化合物均无响应，若无标准品，很难进一步进行确证，所以采用了同步检查扫描方法得到产物离子图谱，在数据库中进行检索，检索结果见图 8，从检索结果可以看出样品中产物离子为 77.05、105.05 两个离子，替苯丙胺谱库标准物二级质谱中其余特征离子均未有响应，相似度结果仅为 52，可以确定此样品中的响应结果仅为基质干扰，可判定为替苯丙胺未检出。

为确证岛津数据库检索结果可靠性，进行标准溶液对照，替苯丙胺标准溶液 MRM 图谱见图 7，保留时间为 4.031 min，相对离子丰度比为 35.4，与空白尿液样品中均差异较大，同时在空白尿液样品中进行 50 ng/mL 添加，检测图谱见图 8，可以看到在 4.047 分钟有响应，在谱库中进行相似度检索显示相似度为 92，确定此峰为加标目标化合物，进一步确定了 3.900 min 色谱峰是假阳性的判断。

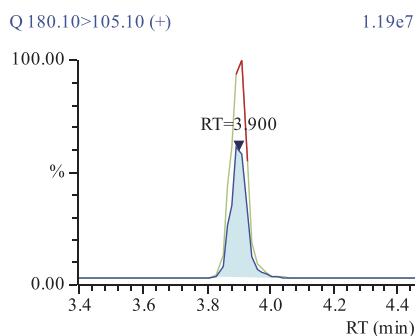


图 6 空白尿液疑似替苯丙胺阳性 MRM 图谱

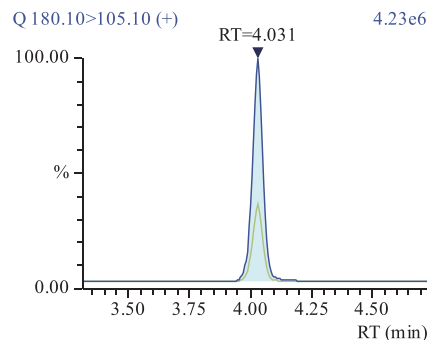


图 7 替苯丙胺标准溶液 MRM 图谱

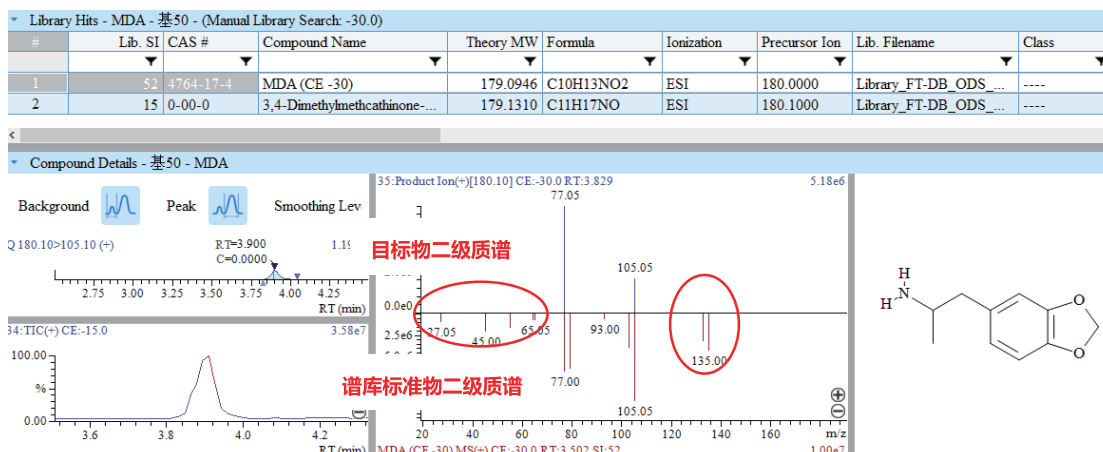


图 8 样品中替苯丙胺二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

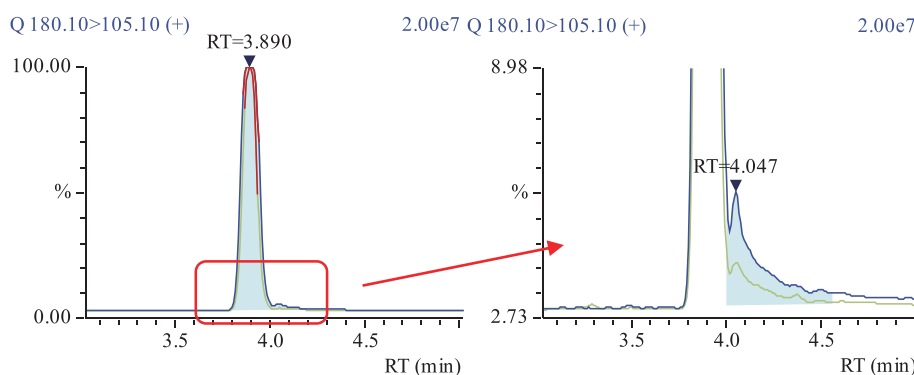


图 9 替苯丙胺标准溶液 MRM 图谱

2.5.2 添加回收实验及重复性考察

首先采用岛津 MRM 优化工具对 24 种毒品标准溶液进行自动化的电压优化以进一步提高检测灵敏度，取一份尿液空白样品 0.5 mL，添加 24 种毒品标准溶液，参考 1.3 前处理，制备出浓度为 10 ng/mL 的加标样品。重复进样 3 次，计算信噪比及重复性（见表 2）。结果显示，尿液基质在 10 ng/mL 的添加浓度下 24 种添加毒品成分均被检出，保留时间相对标准偏差在 0.05 %-0.43%，峰面积相对标准偏差在 0.39 %-4.26%，信噪比在 11.09-779.20 之间。

表 2 实际样品测试结果

编号	化合物名称	保留时间	保留时间 RSD% (n=3)	峰面积 RSD% (n=3)	S/N
1	氯胺酮	4.75	0.06	1.23	497.47
2	苯甲酰爱康宁	4.74	0.06	2.06	506.14
3	四氢大麻酚	5.63	0.08	3.91	73.00
4	地芬诺酯	7.49	0.05	4.26	62.41
5	美沙酮	6.95	0.06	0.41	524.49
6	丁丙诺啡	6.49	0.07	1.72	31.00
7	1- (3- 三氟甲基苯基) 哌嗪	5.58	0.07	0.48	195.17
8	芬太尼	5.93	0.07	0.92	181.46
9	哌替啶	5.30	0.07	0.39	184.02
10	乙酰可待因	4.86	0.10	1.28	58.66
11	1- (3- 氯苯基) 哌嗪	4.99	0.05	4.14	31.96

12	曲马多	5.01	0.07	0.93	779.20
13	苯丙胺	3.89	0.05	0.93	81.91
14	甲基苯丙胺	4.01	0.07	0.98	66.48
15	替苯丙胺	4.04	0.07	2.21	28.12
16	二亚氧基双氧安非他命	4.09	0.07	2.35	554.25
17	安非他命	4.39	0.07	1.14	359.30
18	卡西酮	3.29	0.13	3.37	11.09
19	甲卡西酮	3.46	0.05	2.26	18.92
20	4- 甲基甲卡西酮	4.47	0.07	2.60	182.96
21	吗啡	2.31	0.43	1.07	151.75
22	单乙酰吗啡	3.86	0.05	2.14	34.68
23	可待因	3.49	0.05	1.37	255.19
24	苯基哌嗪	3.10	0.09	1.93	185.95

■ 结论

本文结合岛津“法医毒物数据库”，采用超高效液相色谱仪 LC-20A_{XR} 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 联用系统，实现了针对行业标准中特定目标化合物筛查方法的快速建立以及生物样品中药物毒物的快速筛查、定性分析，尿液基质在 10 ng/mL 的添加浓度下 24 种添加毒品成分均被检出，各化合物信噪比在 11.09-779.20 之间，依据二级质谱库搜索，24 种添加毒品的匹配度均在 70% 及以上，筛查结果可靠性良好，在没有目标物标品的情况下可以有效判断假阳性结果。筛查方法的建立简单、快速，筛查结果可靠，大大提高了工作效率。

岛津应用云

