

# CLAM-2030-LCMS-8050CL 联用系统结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”对血浆样品中毒物进行全自动化快速筛查、定性分析

## LCMSMS-402

**摘要：** 本文基于 CLAM-2030-LCMS-8050CL 联用系统结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”（Ver. 2），将血浆样品用 CLAM-2030 自动前处理装置处理，以岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 CL 联用系统进行分析，实现了血浆样品中毒品的全自动化前处理以及快速筛查定性，样品前处理与分析可在 20 min 内完成。八种加标物质阿普唑仑（Alprazolam）、苯丙胺（Amphetamine）、苯甲酰胺康宁（Benzoylcegonine）、艾司唑仑（Estazolam）、氯胺酮（Ketamine）、摇头丸（MDMA）、冰毒（Methamphetamine）、咪达唑仑（Midazolam）均被筛查出；依据 MRM 同时触发产物离子扫描结果进行二级质谱库搜索，结果显示八种检出物的匹配度均在 70% 及以上，表明筛查结果可靠性良好。

**关键词：** CLAM-2030 药物毒物快速筛查方法包 三重四极杆质谱 血浆样品

当前药物滥用和非法使用毒品已成为一个严重的社会问题，血液是涉毒案件中常用的一种生物检材，其中毒物药物的准确检测是确认涉毒案件的科学依据。血液组成复杂，干扰成分多，分析血液基质中的毒品必须进行一定的样品前处理。蛋白沉淀是一种常见的预处理方法，但人工操作繁琐、费时、费力，且涉毒血液中的未知成分可能对操作人员造成潜在的生物危害。因此开发全自动化、快速且生物安全性高的前处理方式具有重要意义。为此岛津公司 CLAM-2030 自动前处理装置应运而生，针对尿液、血液等样品中的毒物、兴奋剂等违禁药物可全自动进行蛋白质沉淀制备样品，整个处理过程在密闭的环境中进行，可有效避免污染，降低操作者的感染风险。样品处理结束无需人为操作，

由机械臂自动转移至液质联用系统进行分析，这个分析过程完全自动化，平行性好，大量节省人力物力。

同时针对当前刑侦、法医、毒理等相关领域通常需要分析的化合物，岛津公司又适时推出“药物毒物快速筛查”方法包，无需准备标准样品，即可进行 161 种药物、毒物的同时筛查、定性分析。本文利用岛津 CLAM-2030 自动前处理装置，结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”（Ver. 2），使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 CL 联用，实现了血浆样品中八种毒物的全自动化前处理、快速筛查、定性分析。方法具有样品前处理完全自动化、分析速度快、筛查结果可靠的特点，可为司法刑侦领域人员提供参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津 CLAM-2030 自动前处理装置及超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 CL 三重四极杆质谱仪配 ESI 离子源，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。



图 1 岛津 CLAM-2030-LCMS-8050 CL 联用系统

## 1.2 分析条件

### 液相条件

参考“药物毒物快速筛查方法包” (Ver. 2)

柱温: 40°C

进样量: 3  $\mu$ L

洗脱方式: 梯度洗脱, 参考“药物毒物快速筛查方法包” (Ver. 2)

### 质谱条件

离子化模式: ESI

碰撞气: 氩气

加热气: 空气 10.0 L/min

接口温度: 300°C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

DL 温度: 250°C

干燥气: 氮气 10.0 L/min

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见方法包

## 1.3 样品前处理方法

在 CLAM-2030 工作站界面优化自动前处理参数、蛋白沉淀剂使用量、震摇转速、震摇时间、抽滤时间等。确定样品自动前处理程序具体操作为 (1)、吸取 10  $\mu$ L 甲醇活化过滤管, 准备上样; (2)、吸取血浆样品 20  $\mu$ L 上样; (3)、吸取沉淀剂 40  $\mu$ L 至过滤管进行沉淀蛋白; (4)、转速 2400 rpm 震摇 90 秒; (5)、使用 -50~-60 kPa 的负压抽滤过滤管 120 s 使溶液进入接收管; (6)、吸取 10  $\mu$ L 水进行稀释; (7)、转速 2400 rpm 震摇 90 秒; (8)、接收管转移至液相自动进样器, 进样 3  $\mu$ L。

## ■ 分析结果

### 2.1 样品前处理流程

岛津 CLAM-2030-LCMS-8050 CL 联用系统可以实现并行前处理, 即在一个样品自动前处理时, 系统会根据前处理程序, 同时自动开始下一个样品的前处理, 并可以多个样品同时处理 (见图 2), 大大缩短了前处理时间, 若实验单个样品前处理时间为 6 min, 质谱分析时间为 5 min, 并行前处理功能使样品在线自动前处理与液质分析时间重叠, 从在线自动前处理到液质分析完成仅需 6 min, 大大节省分析时间, 优化仪器的使用和样品通量。本实验样品前处理时间为 4 min, 质谱分析时间为 15 min。

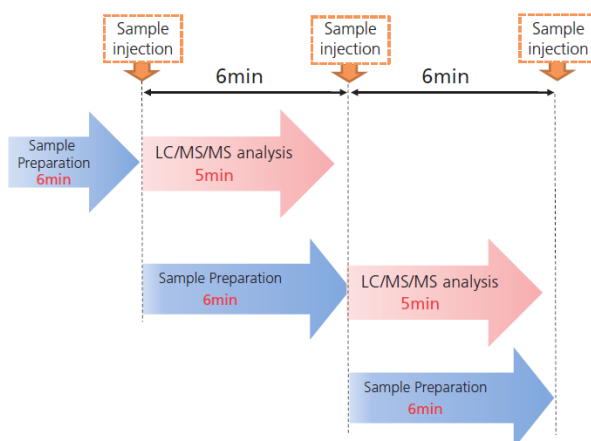
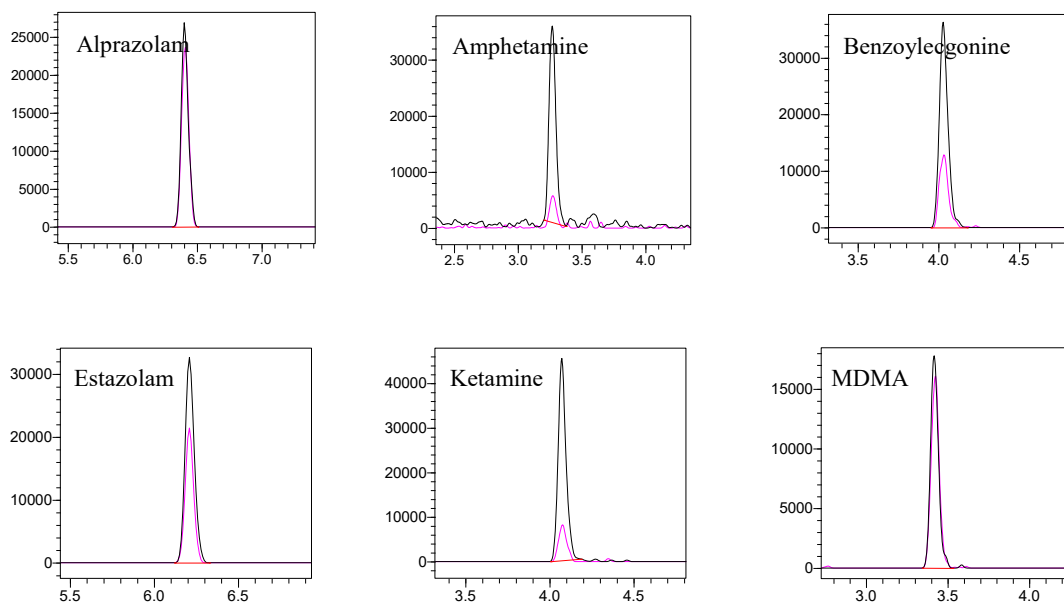


图 2 CLAM-2030 并行前处理示意图

## 2.2 样品筛查结果

方法包中提供了完整的液质分析解决方案：1) 方法包中包含的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。实际工作中实验人员用 CLAM-2030 自动前处理装置处理好样品后，只需按方法包中列出条件简单准备流动相、色谱柱等实验条件即可快速启动分析工作。

参照“药物毒物快速筛查方法包”中的方法 MRM\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm 对样品按照上述 1.3 的前处理方法处理后进样分析，阿普唑仑 (Alprazolam)、苯丙胺 (Amphetamine)、苯甲酰胺康宁 (Benzoylecgonine)、艾司唑仑 (Estazolam)、氯胺酮 (Ketamine)、摇头丸 (MDMA)、冰毒 (Methamphetamine)、咪达唑仑 (Midazolam) 均被筛查出。MRM 色谱图如图 3 所示。



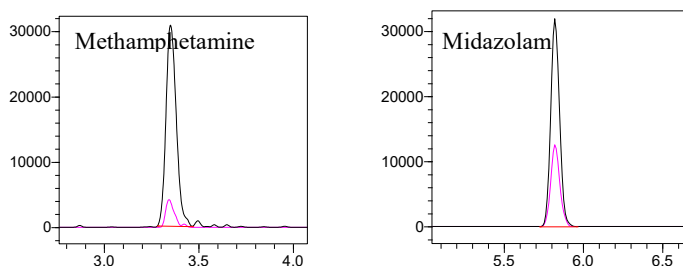


图 3 检出化合物 MRM 色谱图

### 2.3 谱库搜索结果

方法包提供优化后的同步检查扫描参数以用于筛查分析：通过方法包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，采用的“SSS\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm”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 4 所示（图 4 以氯胺酮（Ketamine）为例，说明了搜库结果构成）。八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。

表 1 各个检出物搜库匹配度结果

编号	化合物	匹配度
1	阿普唑仑	78
2	苯丙胺	92
3	苯甲酰爱康宁	79
4	艾司唑仑	73
5	氯胺酮	86
6	摇头丸	80
7	冰毒	95
8	咪达唑仑	75



图 4 Ketamine 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

## 2.4 精密度结果

表 2 各个检出物 (1.25 ng/mL) 精密度结果表

编号	化合物	保留时间 RSD% (n=6)	峰面积 RSD% (n=6)
1	阿普唑仑	0.1	7.0
2	苯丙胺	0.3	3.0
3	苯甲酰爱康宁	0.2	5.5
4	艾司唑仑	0.1	7.5
5	氯胺酮	0.2	3.9
6	摇头丸	0.3	6.4
7	冰毒	0.3	4.3
8	咪达唑仑	0.1	7.0

## 结论

本文使用 CLAM-2030 自动前处理装置，结合岛津“药物毒物快速筛查方法包”（Ver. 2），采用超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 CL 联用系统，实现了血浆样品中药物毒物的全自动化前处理和快速筛查、定性分析。八种加标物质均被筛查出；依据二级质谱库搜索，得到所有检出物的匹配度均在 70% 及以上，且精密度良好，所有化合物的保留时间和峰面积稳定性均良好，表明筛查结果可靠性良好；在没有目标物标品的情况下得到了各个检出物的定性结果供相关人员参考。通过 CLAM-2030 全自动前处理装置

结合方法包，实现了样品前处理自动化，减少了有机试剂及生物样品对操作者造成的潜在感染风险及身体伤害，从样品处理到给出定性结果只需 15 分钟左右时间，大大提高了工作效率。

#### 附录：方法包中包含化合物清单

本方法包中包含司法刑侦领域中常见的 161 种毒品及药物，通过 LabSolutions LCMS 软件，可在方法包中方法的基础上轻松自定义方法文件，增加或减少待分析目标化合物。并且该方法包中的分析参数列表可以用于针对待分析目标化合物创建特定的新方法文件。

1	7-Aminoclonazepam	55	Diltiazem	109	Milnacipran
2	7-Aminoflunitrazepam	56	Diphenhydramine	110	Mirtazapine
3	7-Aminonimetazepam	57	Diprophyline	111	Morphine
4	7-Aminonitrazepam	58	Diquat	112	Mosapramine
5	8-Hydroxyetizolam (M-III)	59	Donepezil	113	Nemonapride
6	9-Hydroxyrisperidone	60	Dosulepin	114	Nicotine
7	Acetaminophen	61	Duloxetine	115	Nimetazepam
8	Acetylpheneturide	62	Ecgonine methyl ester	116	Nitrazepam
9	Aconitine	63	Ephedrine	117	Nortriptyline
10	Allylisopropylacetylurea	64	Escitalopram	118	Olanzapine
11	alpha-Hydroxyalprazolam	65	Estazolam	119	Oxazepam
12	alpha-Hydroxybrotizolam	66	Ethenzamide	120	Paliperidone
13	alpha-Hydroxymidazolam	67	Ethyl loflazepate	121	Paroxetine
14	alpha-Hydroxytriazolam	68	Etizolam	122	Pemoline
15	Alprazolam	69	Fenitrothion(MEP)	123	Pentazocine
16	Amitriptyline	70	Fludiazepam	124	Pentobarbital
17	Amobarbital	71	Flunitrazepam	125	Perospirone
18	Amoxapine	72	Flurazepam	126	Perphenazine
19	Amphetamine	73	Fluvoxamine	127	Phenobarbital
20	Aripiprazole	74	Gabapentin	128	Pimozide
21	Atropine	75	Glibenclamide	129	Pioglitazone
22	Barbital	76	Gliclazide	130	Primidone
23	Benzoyl ecgonine	77	Glimepiride	131	Promethazine
24	Biperiden	78	Haloperidol	132	Propericiazine
25	Blonanserin	79	Haloxazolam	133	Propofol
26	Bromazepam	80	Hydroxyzine	134	Quazepam
27	Bromocriptine	81	Ibuprofen	135	Quetiapine
28	Bromovalerylurea	82	Imipramine	136	Risperidone
29	Bromperidol	83	Ketamine	137	Ropivacaine

30	Brotizolam	84	Lamotrigine	138	Salicylic acid
31	Bupivacaine	85	Levetiracetam	139	Sertraline
32	Caffeine	86	Levomepromazine	140	Sildenafil
33	Carbamazepine	87	Lidocaine	141	Spiperone
34	Carpipramine	88	Lorazepam	142	Sulpiride
35	Chlordiazepoxide	89	Lormetazepam	143	Tadalafil
36	Chlorpheniramine	90	Loxoprofen	144	Tandospirone
37	Chlorpromazine	91	Malathion	145	Temazepam
38	Clobazam	92	Maprotiline	146	THC
39	Clocapramine	93	MDA	147	THC-COOH
40	Clomipramine	94	MDMA	148	Thiamylal
41	Clonazepam	95	Medazepam	149	Timiperone
42	Clotiazepam	96	Mefenamic acid	150	Tofisopam
43	Clozapolam	97	Memantine	151	Topiramate
44	Clozapine	98	Mepivacaine	152	Trazodone
45	Cocaine	99	Mequitazine	153	Triazolam
46	Codeine	100	Metformin	154	Trihexyphenidyl
47	Colchicine	101	Methamphetamine	155	Vardenafil
48	Desipramine	102	Methomyl	156	Valproic Acid
49	Desmethylclotiazepam	103	Methylephedrine	157	Warfarin
50	Desmethyldiazepam	104	Methylphenidate	158	Zolpidem
51	Dextromethorphan	105	Mexazolam	159	Zopiclone
52	Diazepam	106	Mexiletine	160	Zopiclone-N-oxide
53	Diclofenac	107	Mianserin	161	Zotepine
54	Dihydrocodeine	108	Midazolam		