超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法用于 161 种毒物的定性定量分析

LCMSMS-257

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用快速地进行 161 种目标毒物定性定量分析方法。根据岛津“毒物快速筛查方法包”中的方法，经过 QuEChERS 前处理后，上机进行 MRM 分析；为了确证筛查结果，进行了 MRM 同时触发产物离子扫描，通过二级质谱库搜索，得到匹配度较高的目标化合物；盲样中共筛查出 Amphetamine、Ketamine、MDA、MDMA、Morphine 五种化合物，外标法定量分析得出上述五种目标物含量分别为 0.21、0.11、0.10、0.19 和 0.20 ng/mL。该方法无需优化仪器参数，具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于 161 种毒物的快速定性定量分析。

关键词： 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱 毒物 筛查

近年来，滥用药物和非法使用毒品已成为一个社会问题，导致越来越多的犯罪以及精神类药物和安眠药物的成瘾性倾向。同时，滥用药物还出现了多元化的趋势。在法医、毒理和临床领域寻找和确认的违规化合物，这需要一个快速和高灵敏度的分析方法。目前，液相色谱四极杆质谱联用仪 (LC/MS/MS) 已经被广泛用于此类分析，对于低浓度化合物也能提供高选择性的定量分析结果，减少样品前处理时间、降低成本并提高工作效率。针对法医及重症监护一线通常需要分析的化合物，岛津开发出了“毒物快速筛查方法包”，该方法包系统涵盖 161 种毒物的快速定性定量方法，无需考虑进行实时分析所需的诸如分离条件、MRM 优化以及测定参数设置等其他实验条件。方法包还涵盖基于 QuEChERS 的药物毒物筛查样品前处理方案，可为相关人员提供从样品前处理、数据采集到数据分析的整体解决方案。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8060 联用，应用“毒物快速筛查方法包”，对人体血液中 161 种目标毒物的筛查得到定性定量分析结果。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A$_5$ 在线脱气机，SIL-30ACMP 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8060 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.80 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Phenomenex Kinetex (2.1 mm×100 mmL, 2.6 μm)

流动相：A 相 - 水 +0.1% 甲酸 +10 mM 乙酸铵，B 相 - 乙腈 +0.1% 甲酸 +10 mM 乙酸铵

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

进样量：1 μL 洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
7.50	Pumps	Pump B Conc.	95
10.00	Pumps	Pump B Conc.	95
10.01	Pumps	Pump B Conc.	5
15.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI

加热气：空气 15.0 L/min

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10.0 L/min

碰撞气：氩气

接口温度：300℃

DL 温度：250℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数：见毒物筛查方法包 2.0 版

1.3 样品前处理方法

按照“毒物筛查方法包”中前处理方法进行。具体如下：0.5 mL 全血中加入 1 mL 水至 15 mL 离心管中混匀 (添加两个 4 mm 不锈钢珠)，再加入 1.5 mL 乙腈涡混后，加入 Q-sep™ QuEChERS 盐包 (含有 6 g $MgSO_4$ 和 1.5 g NaOAc)0.5 g， 剧烈摇晃离心管 20 s 后，3000 rpm 离心 10 min，上清液移至另一 15 mL 离心管中，添加 100 μL 0.1% 甲酸乙腈溶液，氮气吹干后使用 200 μL 甲醇复溶，然后 10000 rpm 离心 5 min，取 150 μL 过 0.22 μm 滤膜后装入放有内衬管的 1.5 mL 进样瓶中上机分析。

结果讨论

2.1 样品 MRM 色谱图

使用“毒物筛查方法包”中的方法对样品按照上述 1.4 的前处理方法处理后分析，检出了五种化合物，分别为 Amphetamine、Ketamine、MDA、MDMA、Morphine。色谱图如图 1 所示。

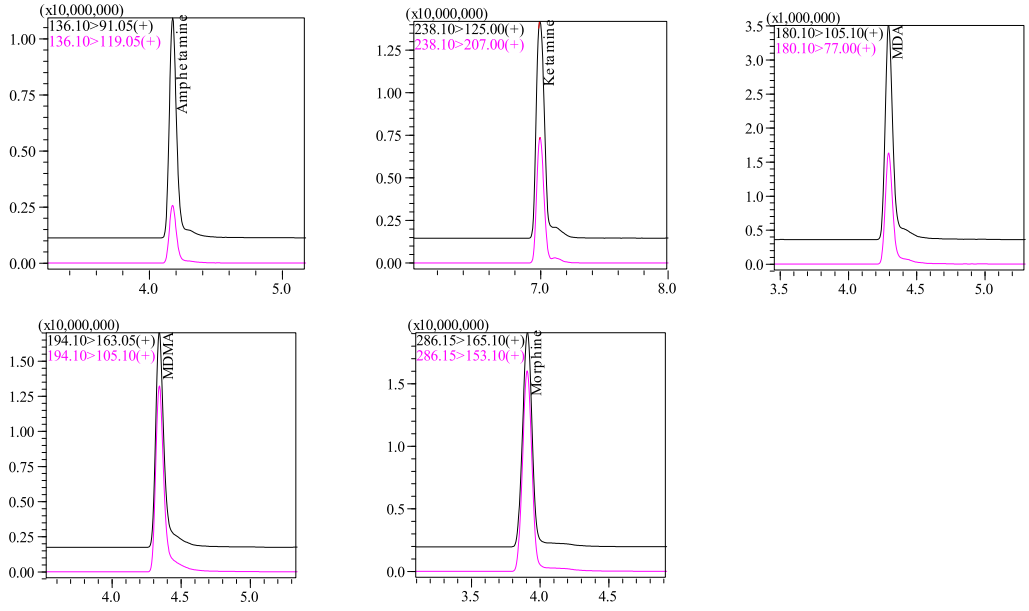


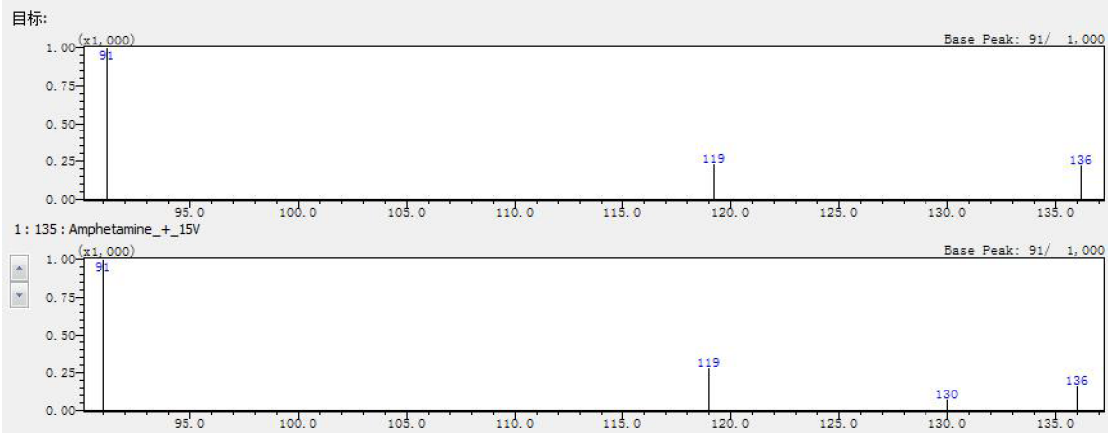
图1　样品色谱图

2.2 谱库搜索

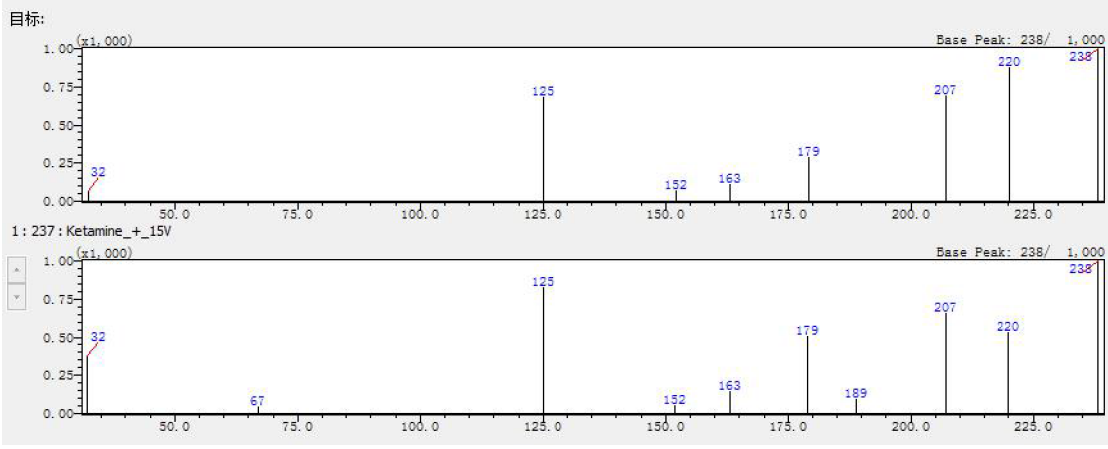
为避免假阳性，根据方法包中的触发产物离子扫描方法采集，得到数据使用二级质谱库进行谱库搜索，得到的匹配度结果如表 2 和图 1。匹配度结果均在 75 分以上，得到更加可靠的定性结果。

表2 谱库搜索匹配度结果表

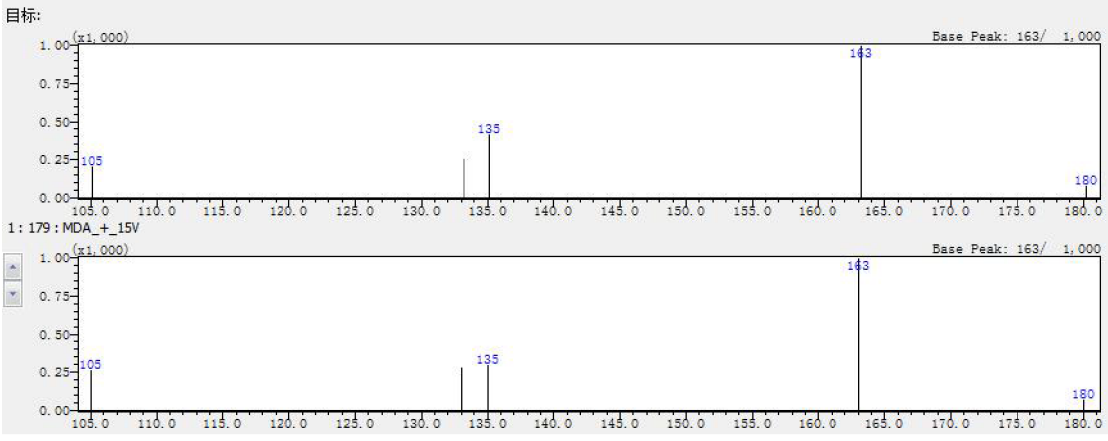
	化合物	匹配度
1	Amphetamine	96
2	Ketamine	91
3	MDA	97
4	MDMA	95
5	Morphine	76



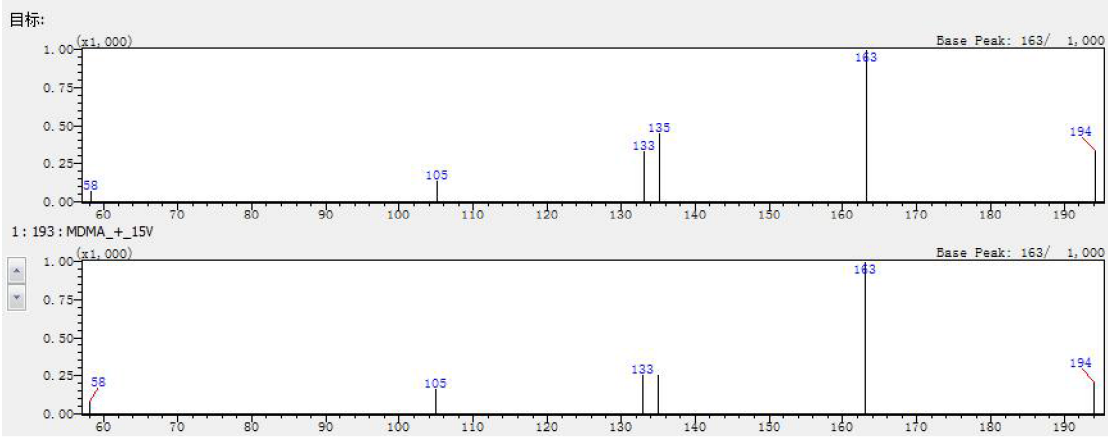
Amphetamine



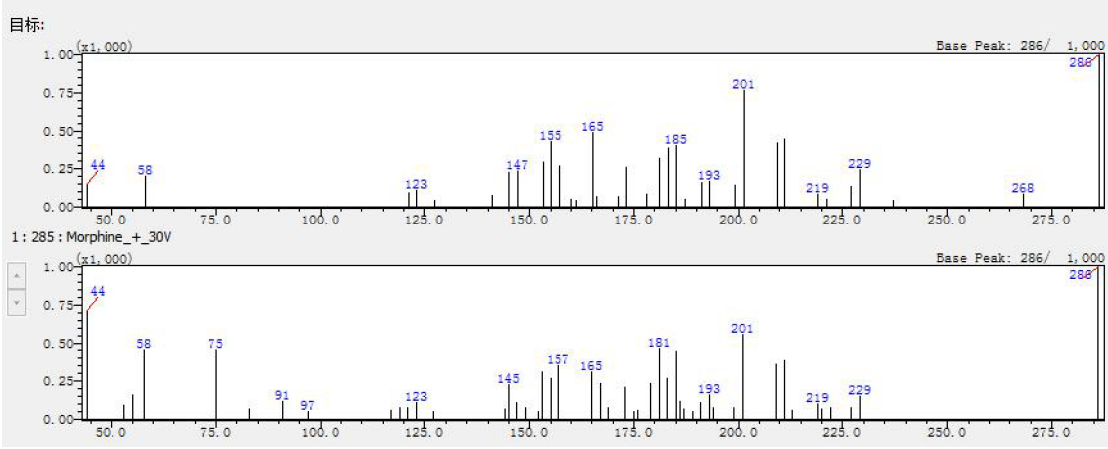
Ketamine



MDA



MDMA



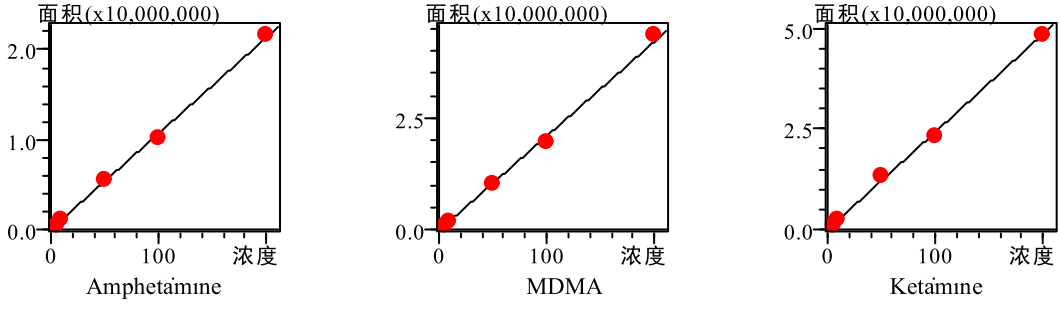
Morphine

图1 阳性样品中化合物二级质谱图（上）与毒物库中二级质谱图（下）匹配情况

定量结果

3.1 线性范围

配置 5、10、50、100、200 ng/mL 五个浓度的基质加标液，上机分析，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示，线性方程、线性范围和相关系数结果见表 3。



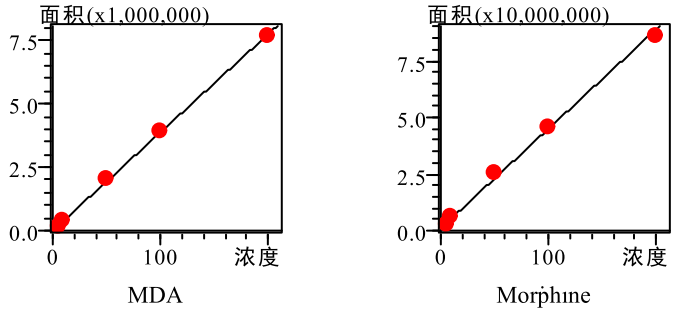


图2 校准曲线

表3 校准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围（ng/mL）	相关系数 R^2	准确度（%）
Amphetamine	Y = (106633)X + (36119.0)	5 ~ 200	0.9988	90.1 ~ 105.1
Ketamine	Y = (243057)X + (9580.3)	5 ~ 200	0.9972	92.2 ~ 103.2
MDA	Y = (38774.1)X + (3341.74)	5 ~ 200	0.9983	98.8 ~ 105.6
MDMA	Y = (211774)X + (29482)	5 ~ 200	0.9991	93.5 ~ 103.9
Morphine	Y = (440065)X + (16815)	5 ~ 200	0.9990	86.2 ~ 106.7

3.2 精密度实验

对 50.0 ng/mL 浓度的全血基质加标液连续 6 次进样，考察仪器的重复性，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。仪器重复性良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD%	
	R.T	Area
Amphetamine	0.09	1.19
Ketamine	0.05	0.89
MDA	0.04	1.35
MDMA	0.06	2.35
Morphine	0.08	3.56

3.3 样品定量结果

对 2.1 中筛查出的五种化合物 Amphetamine、Ketamine、MDA、MDMA、Morphine 使用外标法定量，结果见表 5，色谱图见图 1。与某考核单位进行定性定量结果比对，结果非常一致。

表5 阳性样品定量结果

名称	含量(ng/mL)
Amphetamine	0.21
Ketamine	0.11
MDA	0.10
MDMA	0.19
Morphine	0.20

结论

采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用，应用岛津“毒物快速筛查方法包”对人体血液中 161 种目标毒物筛查得到定性定量结果。经过 QuEChERS 前处理后，上机分析共筛出五种毒物，分别为 Amphetamine、Ketamine、MDA、MDMA、Morphine；为了确证筛查结果，进行了 MRM 同时触发产物离子扫描，通过二级质谱库搜索，匹配得到化合物与上述相同，匹配度在 76~97 之间；定量分析得到 Amphetamine、Ketamine、MDA、MDMA、Morphine 五种目标物含量分别为 0.21、0.11、0.10、0.19 和 0.20 ng/mL。该方法无需优化仪器参数，具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于 161 种目标毒物的快速定性定量分析。

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 (neg)
17	Amobarbital (neg)	71	Flunitrazepam	125	Perospirone
18	Amoxapine	72	Flurazepam	126	Perphenazine
19	Amphetamine	73	Fluvoxamine	127	Phenobarbital (neg)
20	Aripiprazole	74	Gabapentin	128	Pimozide
21	Atropine	75	Glibenclamide	129	Pioglitazone
22	Barbital (neg)	76	Gliclazide	130	Primidone
23	Benzoyl ecgonine	77	Glimepiride	131	Promethazine
24	Biperiden	78	Haloperidol	132	Propericiazine
25	Blonanserin	79	Haloxazolam	133	Propofol (neg)
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 (neg)
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 (neg)	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 (neg)
41	Clonazepam	95	Medazepam	149	Timiperone
42	Clotiazepam	96	Mefenamic acid	150	Tofisopam

43	Cloxazolam	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 (neg)
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		

注　负离子模式在括号中进行了标注，其余采用正离子模式