

LCMS-IT-TOF 对尿样中的毒物筛选

LCMSMS-054

摘要： 本文使用岛津超快速液相色谱仪 UFLCXR 和离子阱 - 飞行时间串联质谱仪 LCMS-IT-TOF 联用分离和检测 2 个尿液样品，利用岛津公安系统常用毒品、毒物筛选列表筛选出了样品中的阿普唑仑、舒乐安定、三唑仑三种组分。使用分子式预测软件对目标离子进行了预测，通过多级谱图对目标离子进行了更准确的定性。

关键词： 毒品筛选 超快速液相色谱仪 离子阱 - 飞行时间串联质谱仪

毒物是指在一定条件下，经生物体吸收后，引起生物机体功能性或器质性损害的物质，凡是以小剂量进入机体，通过物理或化学作用而导致健康受损的物质称为毒物。毒物和药物在很早以前就已经明确，它俩没有明确的界定，一定剂量是药物，超过一定剂量就是毒物。毒物检测有其自身特点：1、检材组分复杂，毒物在其中含量低；2、毒物在机体中分布不一，如不熟悉分布，会采到代表性差的标本；3、毒物品种多，有些结构极为相似，准确定性比较困难；4、中毒事件要求报告时间快，给检验者带来心理压力极大。为快速、准确确认样品中的毒物成分，选取合适的分析仪器尤为重要。

UFLCXR 是岛津超快速液相色谱系列产品，通用性强，可在常规分析和快速分析之间灵活切换，成本低，可由岛津普通液相 LC-20A 升级而成，分离效果好，使用专用的 2.2 μm 的快速柱，结合仪器的自身优越性能，可得到优异的快速分离结果。LCMS-IT-TOF 是岛津的专利产品离子阱飞行时间质谱，同时具备离子阱多级质谱功能（最多 10 级）和飞行时间质谱的高分辨率高质量数准确度，且通过专利技术，实现每一级的高质量数准确性。使用 LCMS-IT-TOF 可通过保留时间、精确到小数点后 4 位的质量数、同位素分布及多级质谱图等多种手段对样品中的未知物进行定性，因此特别适合含量较低或受基质干扰较严重的样品的定性检测。本文利用 UFLCXR 和 LCMS-IT-TOF 的联用，建立快速、准确的毒品筛选和定性方法，供相关检测人员参考。



图1 LCMS-IT-TOF 效果图

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超快速液相色谱仪 (UFLCXR) 与离子阱 - 飞行时间串联质谱仪 (LCMS-IT-TOF) 联用系统。具体配置为 LC-20AD×2(输液泵), DGU-20A3(在线脱气机), SIL-20AC(自动进样器), CTO-20AC(柱温箱), CBM-20A(系统控制器), LCMS-IT-TOF(离子阱 - 飞行时间串联质谱仪), LCMSsolution Ver. 3.6(色谱工作站)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：UFLCXR 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II
(2.0 mm × 75 mm, 2.2 μm)

流动相：A 相：1% 甲酸水溶液；
B 相：乙腈溶液

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱

Time	Module	Action	Value
0.01	Pumps	B.Conc	20
1.00	Pumps	B.Conc	90
6.00	Pumps	B.Conc	90
6.01	Pumps	B.Conc	20
9.00	Controller	STOP	

质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF

离子源：ESI, 正负离子同时扫描

扫描范围：MS1 m/z 100-500；MS2 m/z 50-500；
MS3 m/z 50-350；

加热模块温度：200°C

CDL 温度：200°C

雾化气流速：1.5 L/min

干燥气流速：10 L/min

离子源电压：正离子 +4.5 kV，负离子 -3.5 kV

检测器电压：1.56 kV

离子累积时间：10 ms

CID 参 数：energy, 50%; collision gas, 50%;

q(frequency), 0.251

校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数

1.3 样品制备

样品经 0.22 μm 滤膜过滤后进样

结果讨论

2.1 1号样品筛查结果

在药物完全未知的情况下进行定性分析，基质空白和基质加标为一组样品进行筛查。使用公安行业的筛查数据库，MetID 软件进行筛查。筛查得到阿普唑仑、三唑仑两种药物。

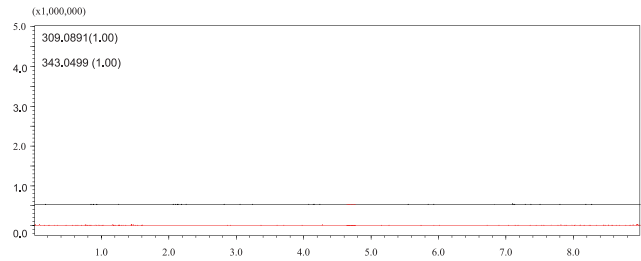


图2 基质空白的提取离子流色谱图

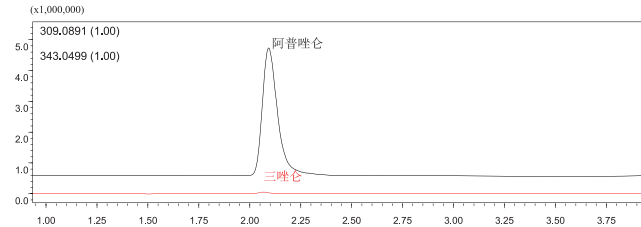
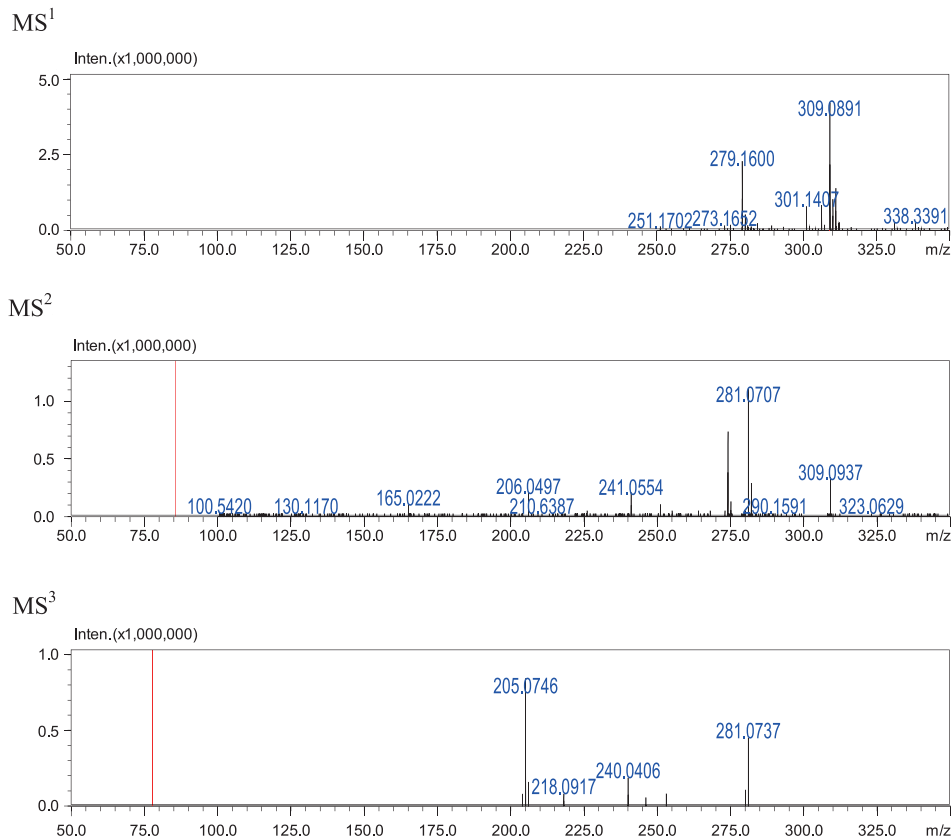


图3 基质加标样品 (L-2) 的提取离子流色谱图

根据质谱图来预测化合物分子式。分子式预测软件中设定元素组成为 C、H、N、O 和 Cl，原子最大个数分别是 50、50、10、10。设定质量数偏差范围 5 ppm，并使用不饱和度、氢碳比和氮规则。用三级质谱图来预测分子式。

质量数为 309.0891 的组分峰的多级质谱图及预测结果：



根据分子式预测软件的搜索结果进一步证实，该分子式是 $C_{17}H_{13}N_4Cl$ ，为阿普唑仑。

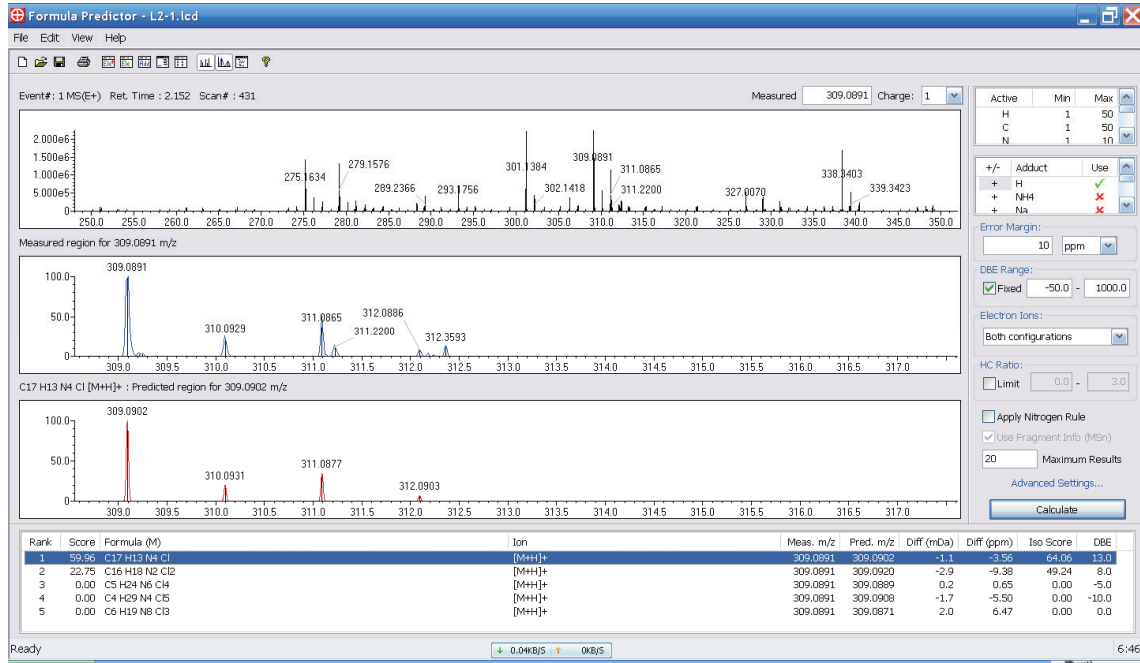
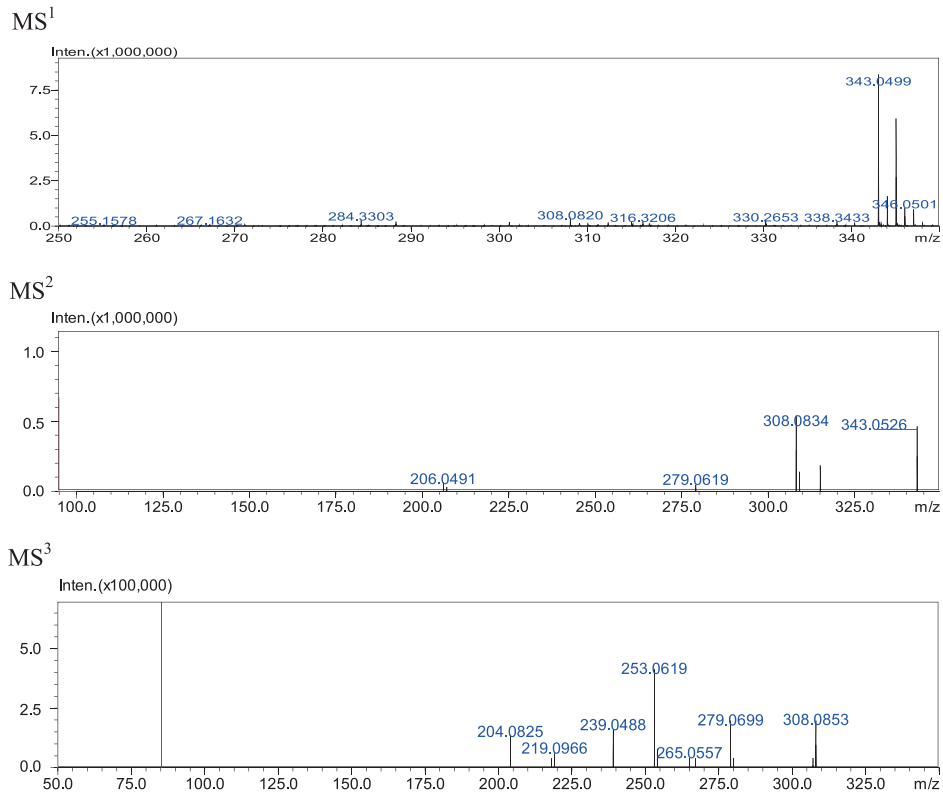


图 4 m/z 309.0891 离子三级质谱图分子式预测结果

质量数为 343.0499 的组分峰的多级质谱图及预测结果:



根据分子式预测软件的搜索结果进一步证实，该分子式是 $C_{17}H_{12}N_4Cl_2$ ，为三唑仑。

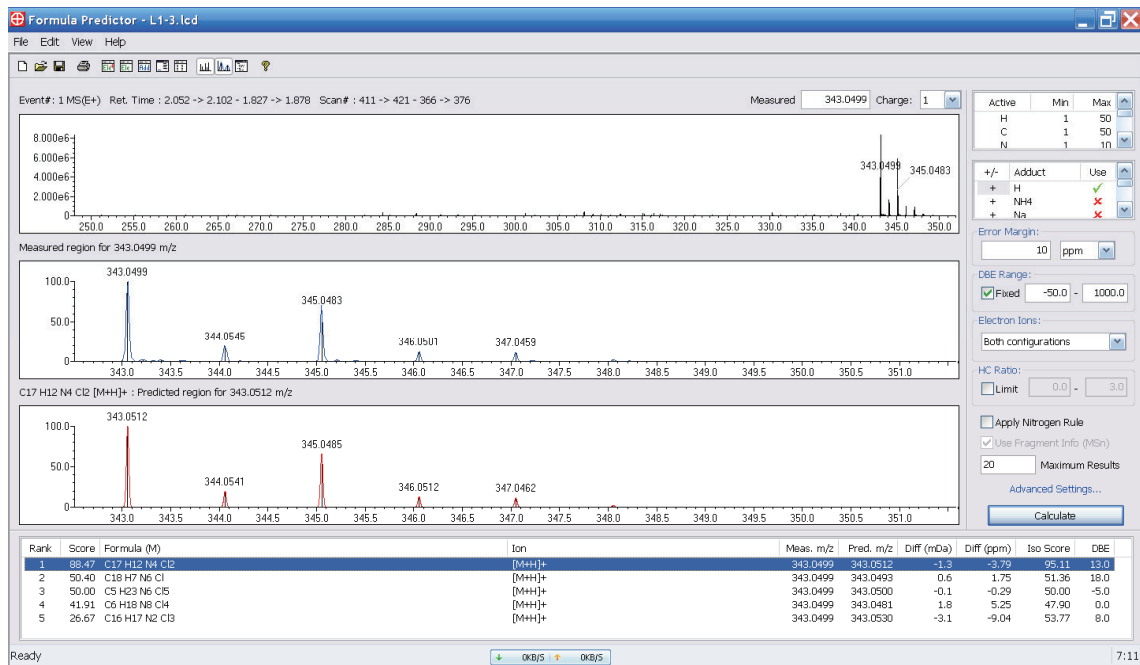


图5 m/z 343.0499离子三级质谱图分子式预测结果

2.2 2号样品的筛查结果

在药物完全未知的情况下进行定性分析，基质空白和基质加标为一组样品进行筛查。使用公安行业的筛查数据库，MetID 软件进行筛查。筛查得到舒乐安定、三唑仑两种药物。

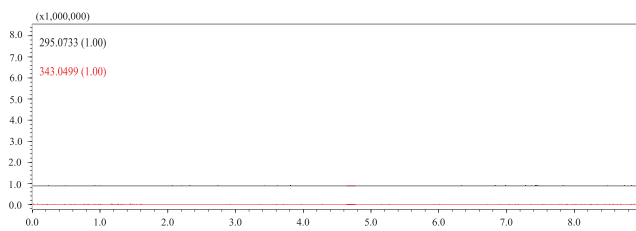


图6 基质空白的提取离子流色谱图

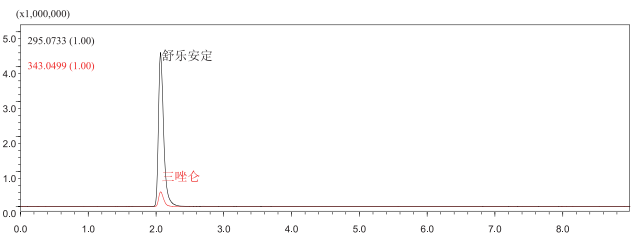
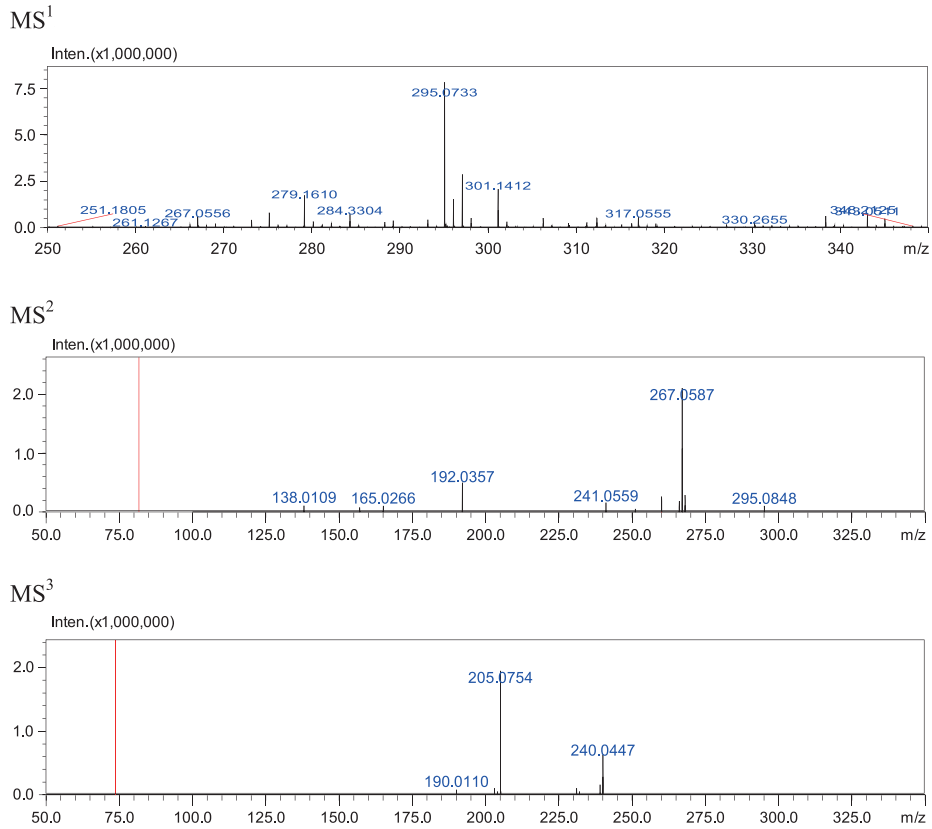


图7 基质加标样品(L-3)的提取离子流色谱图

根据质谱图来预测化合物分子式。分子式预测软件中设定元素组成为 C、H、N、O 和 Cl，原子最大个数分别是 50、50、10、10。设定质量数偏差范围 5 ppm，并使用不饱和度、氢碳比和氮规则。用三级质谱图来预测分子式。



根据分子式预测软件的搜索结果表明，该分子式是 C₁₆H₁₁N₄Cl，为舒乐安定。另一鉴别物三唑仑同上。

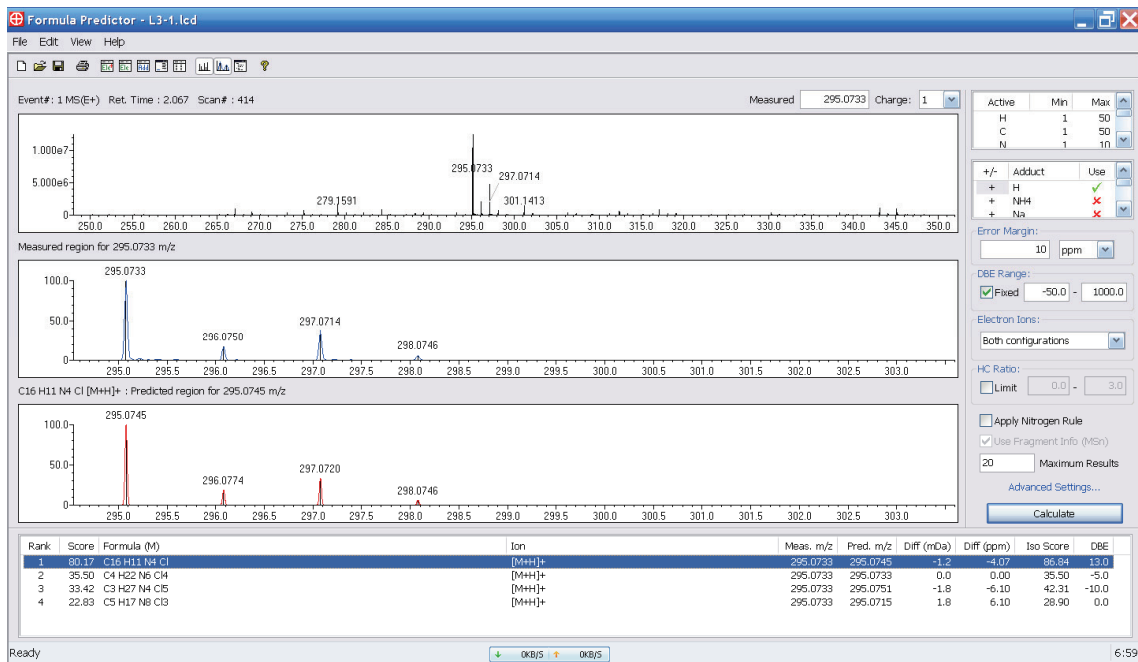
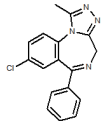
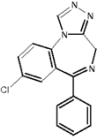
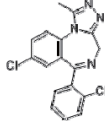


图8 m/z 343.0499 离子三级质谱图分子式预测结果

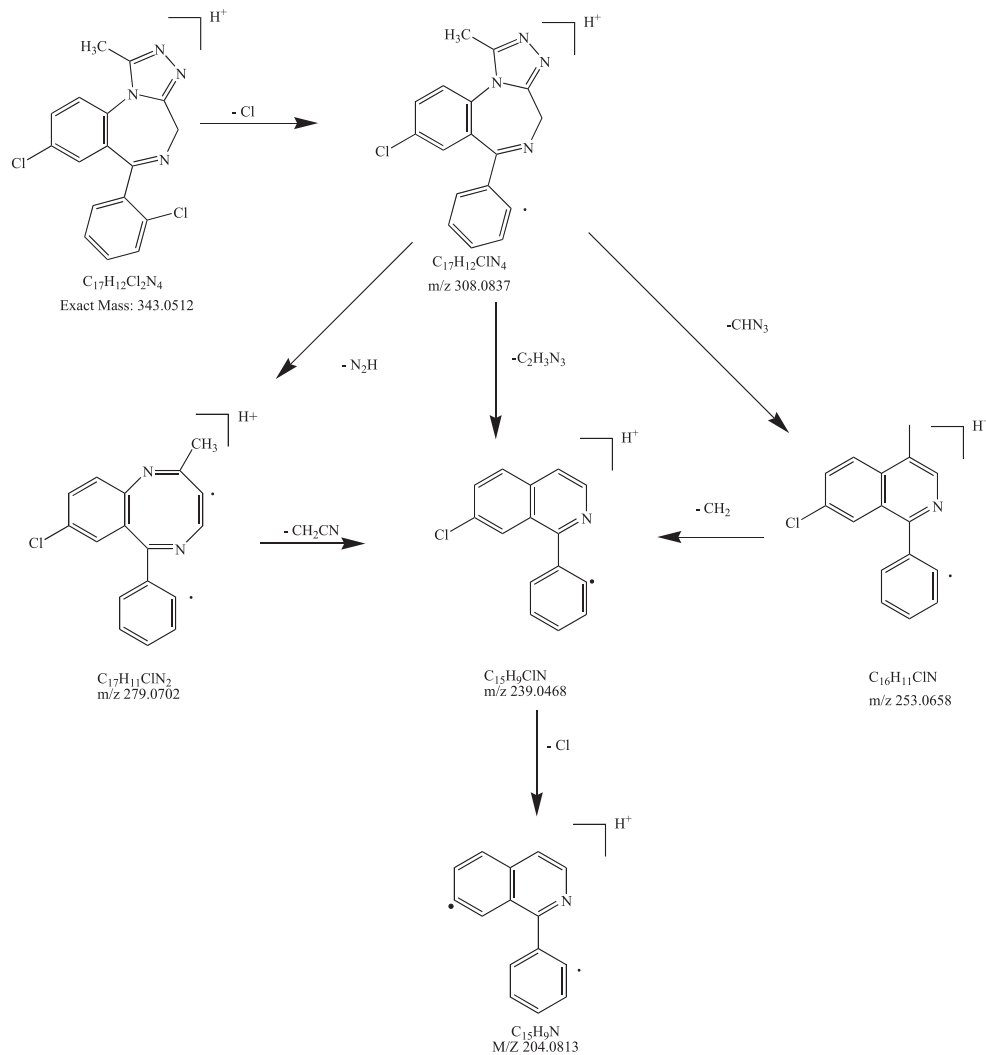
2.3 未知药物定性筛查结果汇总

表1. L1-L3 样品中检测出的 3 种药物

ID	名称	分子式	结构式	离子种类	理论 m/z	实测 m/z	质量数偏差 (ppm)
1	阿普唑仑	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄		[M+H] ⁺	309.0902	309.089	-3.56
2	舒乐安定	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₄		[M+H] ⁺	295.0745	295.0733	-4.07
3	三唑仑	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₄		[M+H] ⁺	343.0512	343.0499	-3.79

2.4 未知物裂解规律:

阿普唑仑、舒乐安定、三唑仑是同类化合物，具有相同的母核，因此，从三级质谱图上，可找到相同的碎片（三唑仑因有一个游离基，所以比另外两个在二级碎片和三级碎片上少一个氢），以三唑仑为例，它们的裂解规律如下：



■ 结论

使用岛津超快速液相色谱 UFLCXR 和岛津串联多级质谱仪 LCMS-IT-TOF 联用，分析了尿液基质加标样品，在添加药物未知的情况下，成功的定性检测出了阿普唑仑、舒乐安定、三唑仑三种药物，详见表 1，并给出了三种药物的多级质谱图。LCMS-IT-TOF 的多级数据可以减少分子式预测的不确定性，有利于得到可靠结果。