

采用 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统分析毒驾样品中的 11 种常见毒品

作者

蒋畅、杨霞、胡培斌
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统和 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统建立了一种分析毒驾样品（血浆、唾液和尿液）中 11 种常见毒品的方法。结果表明，Agilent Captiva EMR Lipid 过滤柱和 Agilent Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱对目标化合物具有较高的回收率，并且 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统表现出优异的线性范围（1 pg/mL – 100 ng/mL）和灵敏度（定量限为 1 pg/mL – 100 pg/mL）。

前言

毒驾是指“吸食、注射鸦片、海洛因、甲基苯丙胺（冰毒）、吗啡、大麻、可卡因，以及国家规定管制的其他能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品后驾驶机动车，并且血液、唾液中毒品含量达到或超过规定阈值的行为”^[1]。这种行为存在严重的安全隐患。因毒驾引发的交通事故不断增多，导致多人伤亡的恶性交通事故更是时有发生。我国公安部于 2017 年 5 月颁布了《车辆驾驶人员体内毒品含量阈值与检验》(GA1333-2017)^[1]，明确规定了 11 种毒品在血液和唾液中的含量阈值，但是该标准未对具体实验室检测方法做出规定。

本文使用了全新的 Agilent Captiva EMR Lipid 过滤柱和 Agilent Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱分别对血液和尿液进行前处理，然后使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统和 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统对样品中 11 种毒品的含量进行测定。整个样品前处理过程简单、快速，分析过程只需 13 min，灵敏度可达 pg/mL 级，完全满足 GA1333-2017 的要求。

实验部分

试剂和样品

所有 11 种毒品标准品以及尿样均来自于某市公安局客户。

甲酸、乙酸、乙酸铵、乙酸乙酯、异丙醇、氨水购自 Dikma 公司，乙腈（质谱纯）、甲醇（质谱纯）购自 Merck 公司 (Kenilworth, USA)。水由 Milli-Q 超纯水系统制得。

仪器和设备

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统，配备 G7120A 型二元泵、G7167B 型自动液体进样器、G7116B 型柱温箱和 G7117B 型二极管阵列检测器；

Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统；

Eppendorf Mini Spain plus 离心机；

Agilent Captiva EMR Lipid 过滤柱，1 mL（部件号 5190-1002）；

Agilent Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱，30 mg，3 mL（部件号 12108303）；

Agilent Captiva Nylon 0.2 μm 滤膜。

液相色谱条件

色谱柱： Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18 色谱柱
2.1 mm × 50 mm × 1.8 μm（部件号 959757-902）

柱温： 35 °C

进样体积： 1 μL

流动相： A) 0.1% 乙酸 + 5 mmol/L 乙酸铵水溶液
B) 甲醇

运行时间： 13 min

流速： 0.2 mL/min

梯度程序：	时间 (min)	B%
	0	5
	1	5
	2	15
	8	30
	8.5	95
	13	95

质谱条件

采集极性： 正模式/负模式

鞘气温度： 400 °C

鞘气流速： 12 L/min

干燥气温度： 250 °C

干燥气流速： 6 L/min

雾化器压力： 30 psi

毛细管电压： (+) 2500 V; (-) 3000 V

喷嘴电压： (+) 0 V; (-) 500 V

Delta EMV: (+) 300 V; (-) 500 V

校准曲线的绘制

用甲醇水溶液（水:甲醇 = 50:50）将 11 种毒品标准品混合溶液稀释成 1 pg/mL–100 ng/mL 的系列校准标样，由此绘制标准曲线，并用外标法进行定量。

血浆样品前处理

在 Captiva EMR Lipid 过滤柱上加入 400 μL 1% 甲酸的乙腈溶液，然后用移液枪加入 100 μL 血浆，并用移液枪反复抽吸混合液体 3–5 次，使蛋白质发生沉淀；对过滤柱加压或抽真空 1 min（2–4 英寸汞柱）；收集滴落的液体，直接上机检测。

唾液样品前处理

取唾液样品 0.5 mL，向其中加入 1.5 mL 乙腈，使蛋白质发生沉淀；在 15000 rpm 的转速下离心，取上清液上机检测。

尿液样品前处理

取尿液 1 mL，向其中加入 1 mL 2% 甲酸水溶液，涡旋混合；然后将溶液加载到经 1 mL 甲醇活化和 1 mL 2% 甲酸溶液平衡的 Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱上，依次用 1 mL 2% 甲酸溶液和 1 mL 含 2% 甲酸的 40% 甲醇溶液淋洗；在真空状态下抽干 5–10 min（10–15 英寸汞柱）；再用 1 mL 新鲜配制的乙酸乙酯:异丙醇:氨水 (50:50:20) 溶液洗脱，将流速控制为每 3–5 秒一滴；自然滴落结束后，再加入 1 mL 乙酸乙酯:异丙醇:氨水 (50:50:20) 溶液洗脱，再次自然滴落，将流速控制为每 3–5 秒一滴，再用低真空抽滤（2–3 英寸汞柱）；收集滴落的液体后，在低于 37 °C 的温度下用氮气吹至近干，加入 100 μL 0.025 mol/L 盐酸溶液，用氮气吹干，再复溶于 1 mL 甲醇:水 (50:50) 中；经 0.2 μm 滤膜过滤后上机检测。

结果与讨论

表 1 列出了 GA1333-2017 中涉及的 11 种毒品的名称及其血液和唾液中的含量阈值。表 2 为 11 种毒品的动态多反应监测 (dMRM) 离子对。

表 1. GA1333-2017 中涉及的 11 种毒品的名称及其血液和唾液中的含量阈值

GA1333-2017 要求检验的目标化合物 ^[1]	分子式	分子量	血液含量阈值 (ng/mL)	唾液含量阈值 (ng/mL)	CAS 号
6-单乙酰吗啡	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	327.14706	10	5	2784-73-8
吗啡	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.13649	10	20	57-27-2
可卡因	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.14706	10	10	50-36-2
苯甲酰爱康宁	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289.13141	50	10	519-09-5
四氢大麻酚	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314.22458	2	1	1972-08-3
四氢大麻酸	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	344.19876	5	/	56354-06-4
甲基苯丙胺	C ₁₀ H ₁₅ N	149.12045	20	25	537-46-2
苯丙胺	C ₉ H ₁₃ N	135.1048	20	25	300-62-9
3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193.11028	20	25	42542-10-9
3,4-亚甲二氧基苯丙胺	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179.09463	20	25	4764-17-4
氯胺酮	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	237.09204	20	20	6740-88-1

表 2. 11 种毒品的 dMRM 离子对

化合物名称	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)	池加速电压 (eV)	保留时间 (min)	保留时间窗口 (min)	极性
6-单乙酰吗啡 (6-Acetylmorphine)	328.2	211	140	28	4	6.3	1	正
	328.2	165	140	44	4	6.3	1	
苯丙胺 (Amphetamine)	136.1	119	70	4	4	5.95	1	正
	136.1	91	70	16	4	5.95	1	
苯甲酰爱康宁 (Benzoylcegonine)	290.1	168	110	20	4	8.36	1	正
	290.1	77.1	110	65	4	8.36	1	
可卡因 (Cocaine)	304.2	182	120	16	4	10.1	1	正
	304.2	82.1	120	32	4	10.1	1	
氯胺酮 (Ketamine)	238.1	220	80	12	4	9	1	正
	238.1	125	80	32	4	9	1	
3,4-亚甲二氧基苯丙胺 (MDA)	180.1	163	70	8	4	6.47	1	正
	180.1	105	70	24	4	6.47	1	
3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺 (MDMA)	194.1	163	90	8	4	6.65	1	正
	194.1	105	90	24	4	6.65	1	
甲基苯丙胺 (Methamphetamine)	150.1	119	80	8	4	6.32	1	正
	150.1	91	80	20	4	6.32	1	
吗啡 (Morphine)	286.2	165	150	40	4	2.7	1	正
	286.2	152	150	65	4	2.7	1	
四氢大麻酚 (THC)	313.2	245.1	160	28	4	12.07	1	负
	313.2	179.1	160	28	4	12.07	1	
四氢大麻酸 (THC-COOH)	343.2	299.2	130	20	4	11.46	1	负
	343.2	245.1	130	32	4	11.46	1	

由于这 11 种毒品化合物的极性跨度较大，且包含苯丙胺类碱性化合物和大麻素类酸性化合物，这对样品前处理的要求较高。而且，将样品酸化后，苯丙胺类化合物带正电，通过离子相互作用被保留在 Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱上；而大麻素类的化合物则通过非极性作用吸附在 Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱上。由于高浓度有机溶剂会洗脱掉吸附在该固相萃取柱上的大麻素类化合物，因此在淋洗时并不适合采用 100% 甲醇这样常用的淋洗溶剂，所以最后选用含 2% 甲酸的 40% 甲醇溶液作为第二步淋洗溶剂。另外，苯丙胺类药物易于挥发，且易在样品前处理过程中随溶剂蒸发而发生损失，这样的情况下只能加入盐酸使其以盐的形式沉淀。因此最好在氮吹即将结束时加入盐酸，以避免形成氯化铵盐。大麻素类化合物极易吸附在塑料容器的表面，为了最大程度减小样品损失并保证方法的重现性，建议使用新鲜配制的样品储备液和校准标准样品，并采用经硅烷化或甲醇冲洗和干燥的玻璃器皿，并在样品前处理结束后立即进行分析。

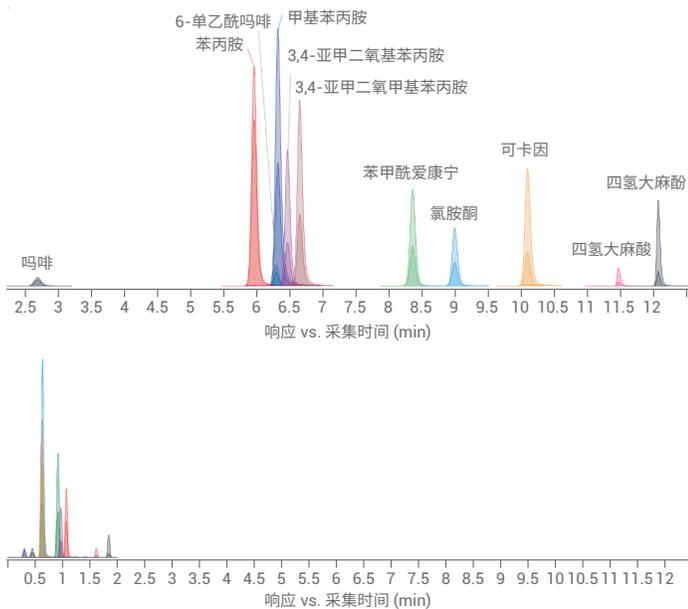
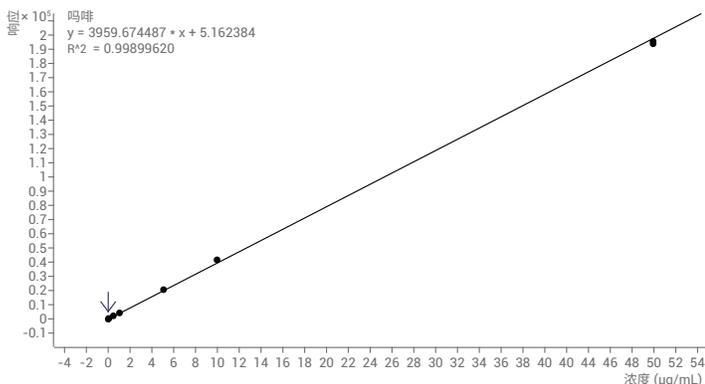


图 1. 11 种毒品 (50 ng/mL) 的总离子流色谱图



本方法的色谱分析时间为 13 min (见图 1 上图)。由于各种化合物极性差别较大，且采集模式兼有正模式和负模式，因此选择 dMRM 采集模式。总离子流色谱图如图 1 下图所示，采用该梯度洗脱程序得到的色谱峰峰形良好。为实现高通量超快速检测，也可将分析时间压缩至 2 min。

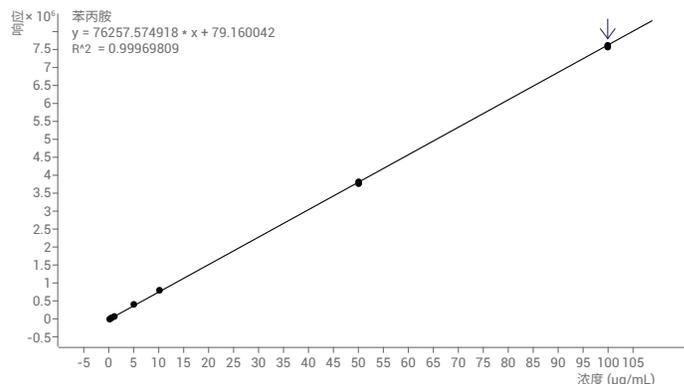
检测限和线性范围

使用 6470 三重四极杆液质联用系统对浓度极低的 11 种毒品进行检测，并对各种毒品在其定量限 (LOQ) 浓度下的检测稳定性进行考察，连续进样 7 针后求其浓度相对标准偏差 (RSD)，并推算出各种毒品的仪器检测限 (IDL = t * %RSD * amount)。结果列于表 3 中。

表 3. 11 种毒品的 LOQ 和 IDL

化合物名称	LOQ (pg/mL)	RSD (%), n=7	IDL (pg/mL)
苯甲酰爱康宁	5	8.1	1.27
甲基苯丙胺	10	11.2	3.52
3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺	5	7.7	1.21
氯胺酮	5	9.2	1.45
可卡因	1	18	0.57
吗啡	10	9	2.83
苯丙胺	5	12.3	1.93
3,4-亚甲二氧基苯丙胺	10	10.3	3.24
6-单乙酰吗啡	10	13.4	4.21
四氢大麻酸	100	12.4	38.97
四氢大麻酚	1	9.2	0.29

图 2 为所得到的 11 种毒品的校准曲线。苯甲酰爱康宁、MDMA、氯胺酮、苯丙胺的线性范围为 5 pg/mL–100 ng/mL，可卡因的线性范围为 1 pg/mL–100 ng/mL，甲基苯丙胺、吗啡、MDA、6-单乙酰吗啡的线性范围为 10 pg/mL–100 ng/mL，四氢大麻酸的线性范围为 100 pg/mL–100 ng/mL，四氢大麻酚的线性范围为 1 ng/mL–100 ng/mL。



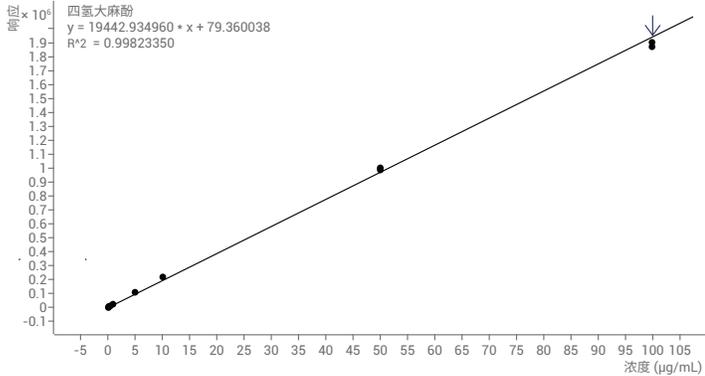
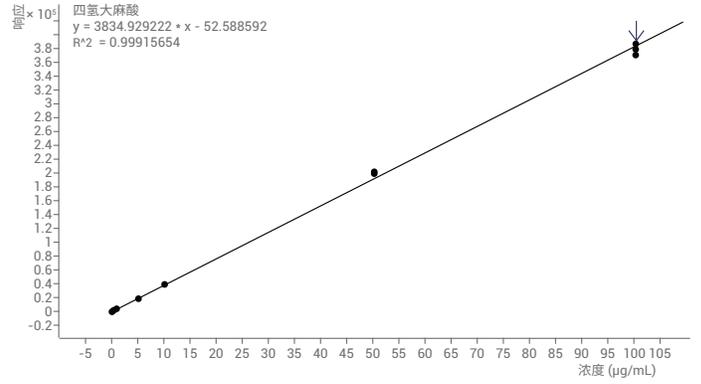
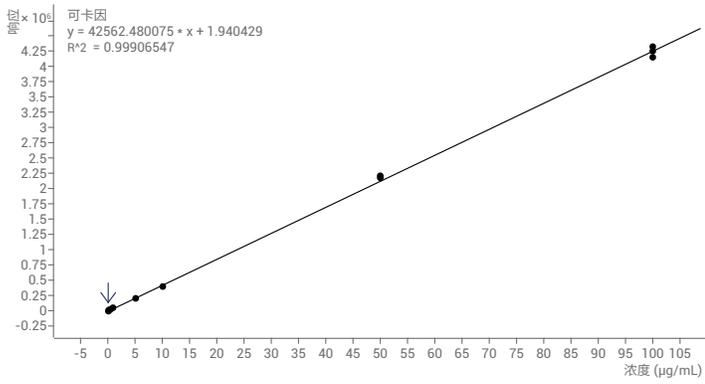
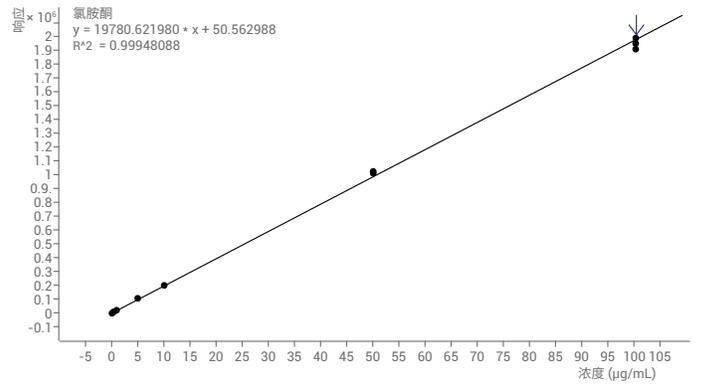
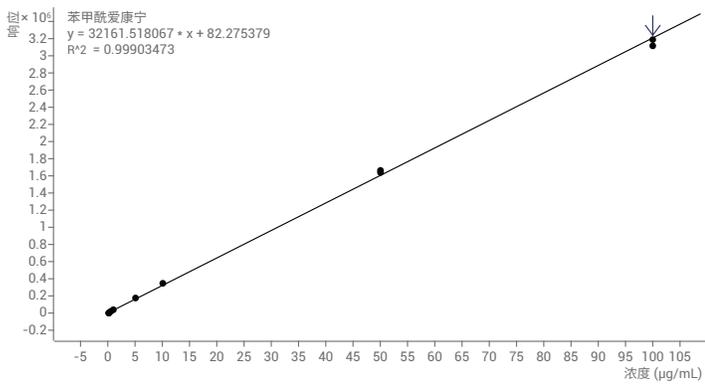
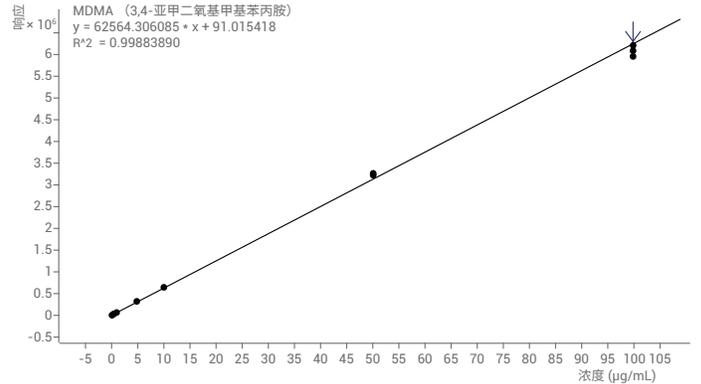
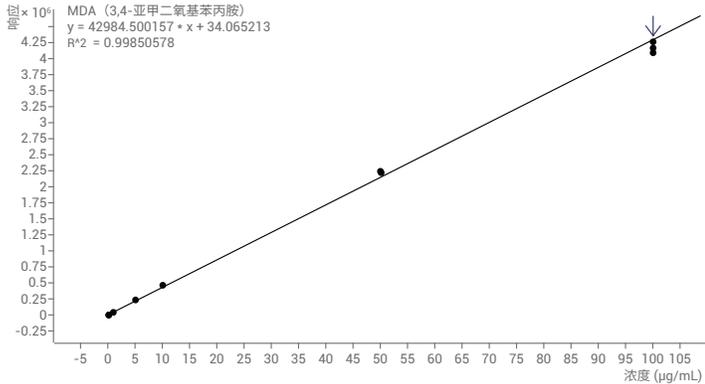
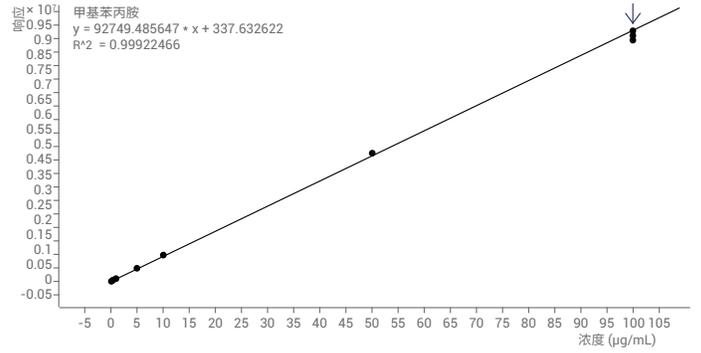
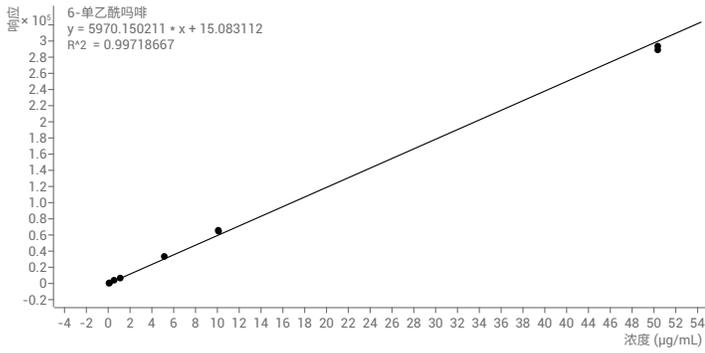


图 2.11 种毒品 (苯甲酰爱康宁、MDMA、氯胺酮、苯丙胺、可卡因、甲基苯丙胺、吗啡、MDA、6-单乙酰吗啡、四氢大麻酸和四氢大麻酚) 的校准曲线

回收率实验

根据 GA1333-2017 中规定样品中的毒品检测阈值，在空白样品中添加标准品并最终配制成相应浓度的样品（血浆 2 ng/mL，唾液 1 ng/mL，尿液 2 ng/mL），经过样品前处理后，上机检测并计算回收率。

表 4. 11 种毒品在三种基质中的回收率

化合物名称	尿液 (2 ng/mL)	唾液 (1 ng/mL)	血浆 (2 ng/mL)
苯甲酰爱康宁	101.1%–104.4%	97.2%–108.7%	82.5%–96.0%
甲基苯丙胺	96.8%–98.7%	102.6%–114.8%	96.0%–111.9%
3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺	100.2%–102.3%	95.4%–105.9%	95.2%–108.7%
氯胺酮	99.7%–101.4%	94.2%–105.3%	91.8%–101.7%
可卡因	102.6%–105.5%	94.7%–105.2%	91.5%–106.9%
吗啡	52.9%–54.9%	41.1%–51.8%	35.9%–42.6%
苯丙胺	84.6%–88.4%	98.4%–108.6%	96.3%–108.4%
3,4-亚甲二氧基苯丙胺	89.3%–91.7%	93.2%–107.9%	96.9%–111.2%
6-单乙酰吗啡	63.4%–65.0%	119.8%–131.1%	102.2%–113.1%
四氢大麻酸	65.1%–74.8%	81.9%–97.4%	78.2%–91.2%
四氢大麻酚	74.1%–82.4%	67.6%–79.5%	60.2%–67.7%

在 11 种毒品中，吗啡的绝对回收率较低。如果期望提高回收率，可在样品前处理前加入同位素内标，对吗啡的浓度进行校正，以获得更准确的样品含量。

结论

本文采用 1290 Infinity II 液相色谱系统/ 6470 三重四极杆液质联用系统 (LC/MS/MS) 与全新的 Captiva EMR Lipid 过滤柱和 Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱相结合，开发出一种对血液、唾液和尿液中的 11 种毒品化合物进行分析的方法。结果表明，除吗啡外，其余 10 种毒品均获得了良好的回收率。该方法的线性范围和灵敏度均满足 GA1333-2017 规定的含量阈值要求。

参考文献

1. GA1333-2017 车辆驾驶人员体内毒品含量阈值与检验

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018
2018年5月20日，中国出版
5991-9380ZHCN

