

甲基苯丙胺（冰毒）检测解决方案

The Solution of Methamphetamine Detection

李志远 (Li Zhiyuan), 程海燕 (Cheng Haiyan), 李立军 (Li Lijun), 郭立海 (Guo Lihai), 靳文海 (Jin Wenhai)

SCIEX, 亚太应用支持中心 (北京), 中国

SCIEX, Asia Pacific application support center (Beijing), China

关键词: 甲基苯丙胺 (冰毒)、解决方案、噪音干扰、污染

Key Words: Methamphetamine, Solution, Noise Interference, Contamination

前言

冰毒即甲基苯丙胺, 又称甲基安非他明、去氧麻黄素。其本身具有旋光性, 市面上常见的是右旋体盐酸盐, 分子式 $C_{10}H_{15}N \cdot HCl$, 分子量186.5。为无色片状结晶, 熔点 $170^{\circ}C - 2^{\circ}C$, 沸点 $212^{\circ}C$, 易溶于水、乙醇、不溶于乙醚, 游离碱有氨臭。由于其熔点和沸点相对较低, 因此, 甲基苯丙胺存在一定得挥发性, 对于实验室日常检测存在很大的空气污染风险。

甲基苯丙胺纯品呈白色或无色, 为结晶体或粉末状, 出售时常被加工成块状、粉状、膏状, 以及片剂、粉剂等形态。如果在实验室环境中存在大量固体粉末存在, 在整个实验室空气环境中极有可能存在甲基苯丙胺的空气污染。

甲基苯丙胺的疏水常数LogP值 = 2.07, 化合物的logP值是在正辛醇与水对数(octanol/cwater)之间分配系数的对数, 是一种公认的化合物亲水性的测量方法。甲基苯丙胺其疏水常数相对合理, 处于中等极性水平, 因此无论在水、有机试剂中其溶解性均相对较好。因为其较好的溶解性, 其更容易在日常检测中有残留和污染风险。

甲基苯丙胺的解离常数 $pK_a = 9.87$, 当PH值越小时, 其更容易形成 $M+H$ 峰, 但其保留能力相应会有所下降, 因此, 在反相色谱体系中, 如果流动相体系是酸性体系, 其保留时间相对较短, 出峰时间会更早。

由于甲基苯丙胺性质的特殊性, 在甲基苯丙胺的日常检测中经常出现以下问题:

- 1、噪音干扰: 很多的甲基苯丙胺检测实验室在进行数据检测时都会遇到噪音干扰问题, 主要表现在色谱图基线太高, 对定量检出限、阳性、阴性判断等都有很大的影响。
- 2、污染问题: 对于很多检测人员污染问题是目前面临最大的挑战, 严重时可导致无论进什么样品都会出现色谱峰的情况, 这就会严重影响实际检材样品阴性、阳性的正确判断。

本文目的在于解决测试中遇到的上述问题, 提供甲基苯丙胺 (冰毒) 检测的解决方案和实验室标准操作规程。

仪器设备

高性能的Triple Quad™ 4500和4000 QTRAP®质谱系统, 搭载SCIEX ExionLC™液相色谱系统, 对于数据的采集提供强有力的硬件支持, 完全满足甲基苯丙胺的检测需求。



SCIEX ExionLC™液相色谱系统
SCIEX Triple Quad™ 4500质谱系统

质谱方法

扫描方式	MRM
离子源	ESI, 正离子模式
CUR	35 psi
IS	+5500 V
TEM	550 °C
GS1	55 psi
GS2	60 psi

离子对信息:

Q1	Q3	Dwell	ID	DP	CE
150.1	119.1	100	MA 1	55	16
150.1	91.1	100	MA 2	55	16

色谱条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 μm
50 \times 4.6 mm

流动相A: 水 (含5 mM 醋酸铵+0.1%甲酸)

流动相B: 乙腈

洗脱比例: A: B = 30: 70 (v/v)

流速: 1.0 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 5 μL

样品前处理推荐

血浆、全血样品提取方法:

标准曲线的提取:

标准曲线配置在全血中 (注意, 加入试剂的量小于全血体积的5%, 即, 可取5 μL 标准溶液加入到95 μL 全血中, 保证体积比即可), 取上述全血1倍体积, 加入至少3倍体积 (或者更多) 的沉淀试剂 (如甲醇、乙腈等), 涡旋, 16000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心后, 取上清液进样分析。

实际样品提取:

取1倍体积的全血, 加入与标准曲线相同量的沉淀试剂 (如乙腈), 涡旋, 16000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心后, 取上清液进样分析。

尿液样品提取方法:

尿液样品的前处理, 可直接用水进行稀释后直接进样, 为防止样品中存在蛋白, 也可以用甲醇或乙腈进行稀释 (同时出去蛋白), 16000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心后, 取上清液直接进样。

注意事项:

建议样品处理后, 先大比例稀释再进样, 例如尿液或者全血一般浓度可能达到mg/mL的浓度级别, 需要预稀释到ng/mL的浓度水平再进样, 先进实测样品, 其响应值最好不要超过 E^6 , 之后再标准曲线上清液稀释相同的倍数, 采集定量数据, 其目的是保证基质效应倍数一致, 定量才能准确。如果由于稀释倍数过大导致不能检出, 再重新调整标准曲线和样品的稀释倍数。(由于有基质效应的干扰, 标准曲线应该保持跟实测样品相同的稀释倍数, 保证定量数据的准确性, 如果只做定性时可不考虑稀释倍数问题)。

进样顺序推荐

样品尽量不要重复进样, 特别是空白样品 (推荐是纯水), 建议的进样顺序是:

1. 两针纯水样品 (两个小瓶, 两个样品), 查看出峰情况和基线。
2. Sd1-Sd6 (标准曲线)
3. 两针纯水样品 (两个小瓶, 两个样品), 可以多摆放几个不同样品进样。
4. 实际检材样品

注意事项:

该进样顺序的推荐, 目的在于帮助客户判断仪器和样品是否存在污染问题, 同时可以监控仪器和色谱柱的残留问题, 上述所有进的纯水样品中应该没有甲基苯丙胺色谱峰出现, 此时的实际样品测试结果才有效, 如果纯水样品中出现甲基苯丙胺色谱峰, 需要考察出峰原因, 排除干扰。

常见问题解决方案

噪音干扰问题:

可在无色谱柱的情况下进样查看仪器的信号噪音, 样品可以是纯水, 可能遇到的进样谱图如下:

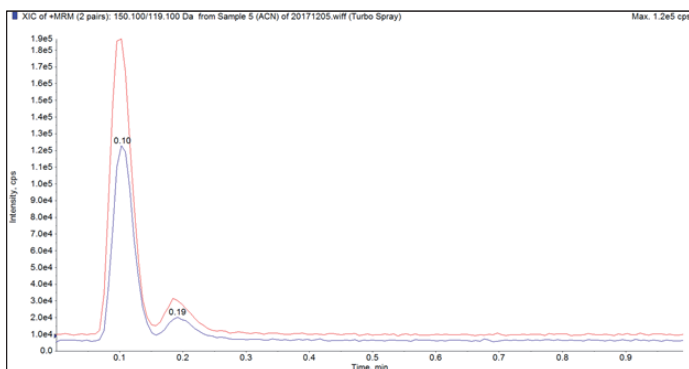


图1-1. 某公安厅噪音干扰情况（数据采集使用4000 QTRAP®）

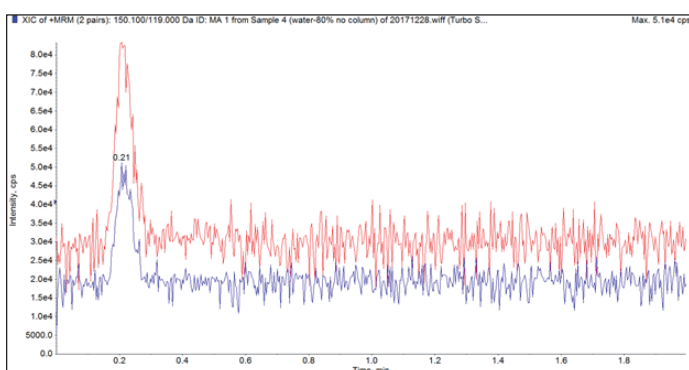


图2-1. 某公安局噪音干扰情况（数据采集使用4000 QTRAP®）

从图中可以看出两处不同实验室在没有色谱柱的情况下，纯水样品进样，噪声干扰均达到的 $1.0E^4$ 以上，并且均有不同程度的出峰情况，这已经严重干扰实际检材样品的测定，对于阴性、阳性结果的判断存在很大争议，检测人员已经没有办法准确的对检材样品做出定性和定量结果的判断。

经过反复排查，上述情况中遇到的噪音干扰问题可归结为流动相的污染，其主要来源有可能是流动相本身（甲醇、乙腈、水等）、流动相瓶子、瓶口分液器、移液器枪头等。



图3. 容易被污染的器皿。

噪声干扰问题解决方案推荐：

1. 建议甲醇、乙腈等有机试剂现用现开，开过的（特别是放在预处理室的）不要再使用。
2. 水相建议现用现配。
3. 甲酸和醋酸铵的使用，应该严格注意污染问题，仪液器和移液枪头可以专用，并密封存放保存。
4. 流动相瓶子请多次清洗后再使用（干净的纯净水和干净的乙腈，反复清洗）。
5. 色谱柱也有可能导致基线噪音高，正常没有色谱柱进样和有色谱柱进样基线噪音应该大致相同。
6. 换上干净的流动相一直冲洗仪器（反复、多次purge），之后反复进空白样品（建议是纯水样品），可降低噪音。
7. 此外，为避免仪器室内环境和空气中甲基苯丙胺暴露量过多对流动相的污染，应尽量保证流动相瓶子封存完好，Phenomenex公司生产的流动相安全过滤器和瓶盖（型号：SecurityCAP™ Mobile Phase Starter），其使用可以大大降低流动相被空气中暴露的甲基苯丙胺污染的风险，可应用在甲基苯丙胺检测的实验室中。

经过降噪处理后，可以得到以下谱图：

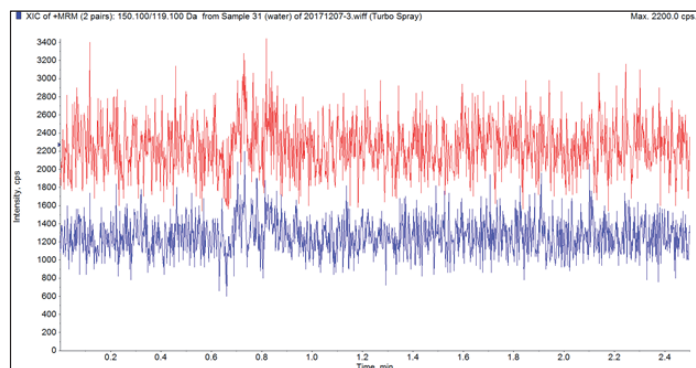


图1-2. 某公安厅噪音降低后情况（数据采集使用4000 QTRAP®）

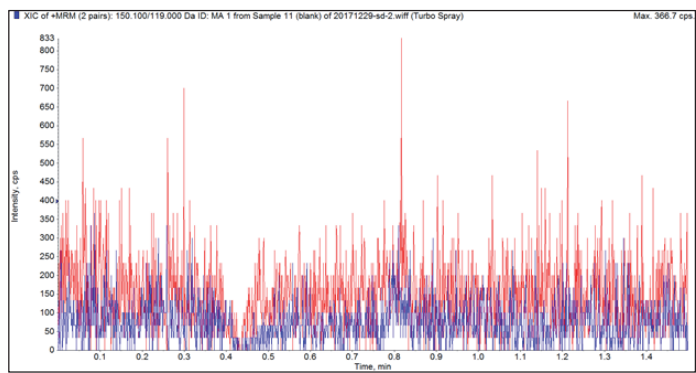


图2-2. 某公安局噪音降低后情况（数据采集使用4000 QTRAP®）

经过污染排查和降噪处理，从上述图中可以查看到两处不同实验室的噪音降低了几十倍，其降噪效果十分明显，通过该方法进行降噪处理后，数据的采集、样品的测试，噪声干扰问题将不会造成太大影响。

污染问题：

目前，客户端存在最严重的问题是检测室甲基苯丙胺的污染，导致无论是什么样的样品（甚至是纯水样品），在数据分析时均会出现甲基苯丙胺出峰的情况（如图5所示），这对于阳性结果的判断产生非常大的阻碍。

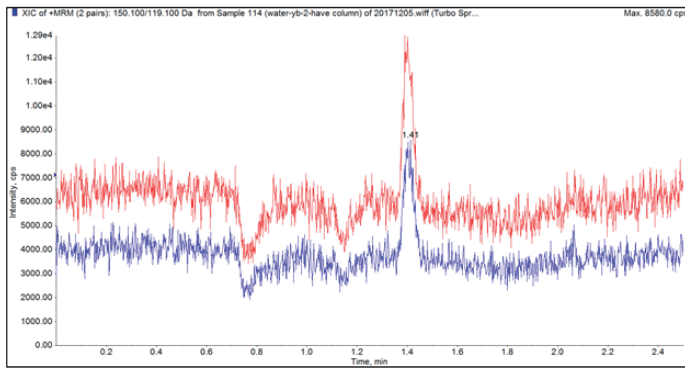


图5. 纯水样品柱上进样出峰情况（数据来源于4000 QTRAP®）

污染问题解决方案：

经过排查，排除污染主要可以从以下几个方面：

1. 环境污染：

仪器所在的室内不要出现浓度过高的样品或冰毒纯品样品，预处理室内样品要严格避免污染，高浓度标准品盖子要盖好，溶液有滴洒立刻反复擦干净，固体粉末也有可能挥发，尽量避免与其他预处理设备接触。此外环境污染还可能致比如移液枪、枪头、EP管等的污染，建议全部使用新开封的。

对于需要使用LC-MS法检测的项目，建议使用单独的前处理室，进行样品的存放和预处理，避免与其他高污染源（如冰毒纯品检材）的接触。

2. 试剂污染：

基线噪音降低后，要重新对实验所需的甲醇、乙腈、水等试剂进样考察，新开封后，装小瓶直接进样分析，可不接色谱柱，如果有出峰情况，需逐一排查后再使用，配制流动相的地方要尽量远离高浓度样品出现的地方，最好在另一个房间进行，现用现配。

3. 色谱柱污染：

实验证明，进过特别大浓度样品的色谱柱上会有甲基苯丙胺残留，且其很难被完全清洗干净，这种情况建议直接更换色谱柱（专用于甲基苯丙胺的检测）。

数据展示（数据来自于Triple Quad™ 4500质谱系统）

标准曲线和灵敏度考察：

标准曲线及色谱峰如下图所示：线性范围0.1 -1000 ng/mL（血浆浓度，样品处理过程参照“血浆、全血样品提取方法”）：

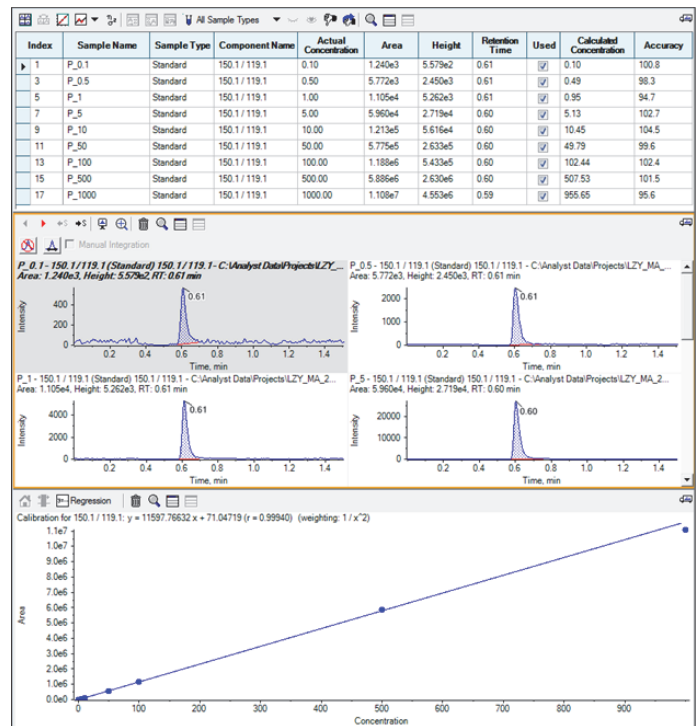


图6. 标准曲线及色谱图展示。

其中以 $m/z=150.1/119.1$ 为定量离子对，

线性回归方程为 $y=11597.76632x + 71.04719$, $r=0.99940$, 线性关系良好。

其中甲基苯丙胺在0.60 min出峰，峰型较好。

方法重现性考察：

重现性考察如下：进样浓度（血浆浓度）：0.10 ng/mL、0.50 ng/mL，连续进样8针得到以下数据：

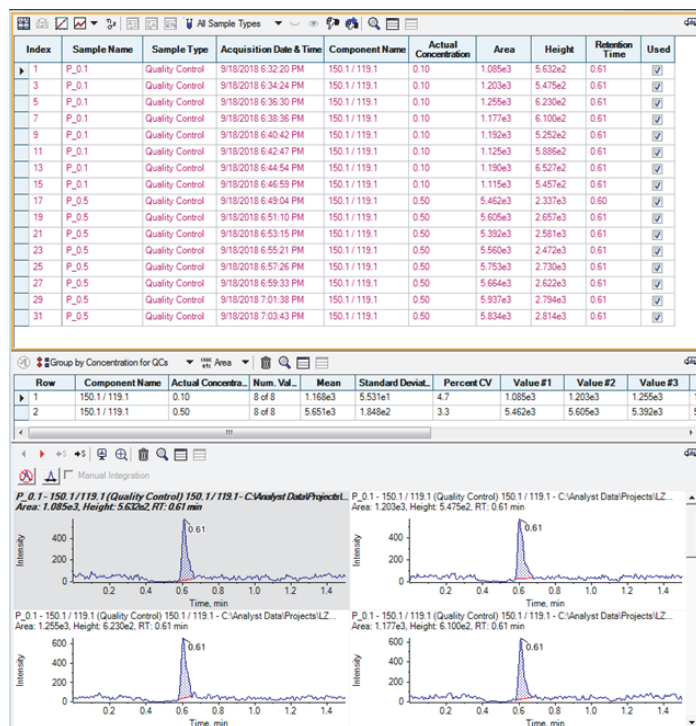


图7. 重现性考察。

其中血浆样品浓度分别为0.10 ng/mL、0.50 ng/mL，连续进样8针，其CV值分别为4.7 %和3.3 %，其中0.10 ng/mL为该方法最低定量限，其重现性良好。

实验操作步骤总结：

1. 进样前先换上干净的流动相，冲洗仪器，观察基线噪音，判断噪音是否干扰检材样品的测定。

如果基线过高，尝试排查污染来源（一般为流动相和色谱柱）。建议流动相直接开封、现用现配。如果很难排除水相的污染，可使用如屈臣氏或者娃哈哈这种可直接开封使用的水相。换上干净的流动相后，一直冲洗仪器（反复purge），可不接色谱柱，并反复进空白样品（纯水），如此反复操作，可明显降低仪器噪音。

2. 判断实验中所使用的各种东西是否存在污染，如进样小瓶（尽量全新开封），装入新开封的水，或者甲醇/乙腈，直接进样，不接色谱柱，看是否有色谱峰。

如果有峰，请首先检查试剂（如水或者甲醇/乙腈是否存在污染）和实验中使用其他东西（如，瓶口分液器、移液器、移液器枪头、进样小瓶等）是否存在污染，如果污染仍然存在，检查液相色谱仪的针座污染，如果判断为针座有污染可咨询液相厂家维修工程师如何清洗针座，并更换洗针液（可适当添加异丙醇增强洗针效果）。

注意：如果实验中发现有机试剂甲醇/乙腈，在放置一段时间后进样出峰，请反复更换样品后进样，避免一个样品重复进样，影响对污染源的判断，此种情况也有可能和针座污染和色谱柱污染有关。

3. 基线问题、污染问题解决后，即可做样分析。

目前，发现血浆样品进行测试时，甲基苯丙胺可能存在基质效应（信号增强），由于检材样品浓度较大，可以将实际样品进行稀释后进样（按流动相比比例稀释），但要注意的，稀释时要将标准曲线和实际样品（检材）同比例的进行稀释，以避免基质效应的影响，导致样品测试时定量浓度的不准确。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2018. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte.

Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8769-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

网址：www.sciex.com.cn

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

微博：@SCIEX