

[论著]

固相萃取 – LC – MS/MS 法同时 测定污水中苯丙胺和甲基苯丙胺*

孙会会¹ 王 晶¹ 胡 琨¹ 李 娜¹
张秀秀¹ 李一鸣¹ 刘振兴¹ 袁明俊¹ 常 颖^{2**}

¹(山东省德州市公安局物证鉴定研究中心, 山东 德州 253000)

²(公安部物证鉴定中心, 北京 100038)

摘要 目的: 建立一种采用固相萃取 – 液相色谱 – 串联质谱法同时检测污水中苯丙胺和甲基苯丙胺的定性定量方法。方法: 采用固相萃取法对污水前处理, 以 Agilent ZORBAX Eclipse C₁₈ 为液相色谱柱, 乙腈 – 0.1% 甲酸水溶液为流动相, 1.0 mL · min⁻¹ 流速进行梯度洗脱; 以电喷雾电离 (ESI⁺) , 多反应监测模式 (MRM) 采集信号, 内标 – 校准曲线法定量。结果: 苯丙胺和甲基苯丙胺均在 2.5 ng · L⁻¹ ~ 500 ng · L⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数均大于 0.99, 日内精密度和日间精密度均在 4% 以下, 回收率在 88.4% ~ 104.5%。结论: 该方法简单快速, 回收率高、重现性好, 适用于污水中苯丙胺和甲基苯丙胺的检测, 为客观地、实时地监测毒品滥用情况提供重要技术支持。

关键词 苯丙胺; 甲基苯丙胺; 污水; 液相色谱 – 串联质谱

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2019.03.006

中图分类号 O657.7 + 2; X832

Simultaneous determination of amphetamine and methamphetamine in wastewater by solid – phase extraction – liquid chromatography – tandem mass spectrometry

SUN Huihui¹, WANG Jing¹, HU Kun¹, LI Na¹, ZHANG Xiuxiu¹, LI Yiming¹,
LIU Zhenxing¹, YUAN Mingjun¹, CHANG Ying²

¹(Material Evidence Authentication and Research Center of
Dezhou Public Security Bureau, Shandong Dezhou 253000)

²(Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing, 100038)

Abstract *Objective:* A method was established to simultaneous determination of amphetamine and methamphetamine in wastewater by solid – phase extraction – liquid chromatography – tandem mass spectrometry (SPE – LC – MS/MS). *Methods:* Solid – phase extraction was used to deal with wastewater samples. The analytes were separated on Agilent ZORBAX Eclipse C₁₈ by a gradient elution with acetonitrile – 0.1% methanoic acid aqueous solution as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. A mass spectrometry was equipped with electrospray ionization (ESI) source in the positive ion mode. Signal was collected in multiple reaction monitoring mode (MRM). The quantitative analysis was on the basis of internal standard – calibration curve. *Results:* The linear range was 2.5 ng/L – 500 ng/L for the analysis of amphetamine and methamphetamine (r > 0.99). In addition, the intra and inter – day relative standard deviations were lower than 4%. The recovery rate was 88.4% – 104.5%. *Conclusion:* The established method is simple and rapid, and has high recovery rate and a good reproducibility, which is fit for analysis of amphetamine and methamphetamine in wastewater and can provide important technical

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (2018JB043)

** 通信作者: E – mail: changying2308@163.com

supports for objective and real-time monitoring of drug abuse.

Keywords amphetamine; methamphetamine; wastewater; LC-MS/MS

毒品滥用已成为全球性的问题,毒品不仅危害人类的身体健康,祸及家庭,而且危及社会公共安全,甚至导致犯罪率的高发。因此,掌握毒品滥用的模式、程度、种类等信息对于及时有效地规划禁毒工作意义重大^[1-2]。污水分析法于2001年美国学者Daughton CG^[3]首次提出,并由意大利的Zuccato等人于2005年率先付诸实施。该方法基于人类滥用毒品后,经过人体代谢途径排出并进入城市污水处理系统,通过监测污水中毒品及代谢物的浓度,结合服务区人口数、污水处理厂的流量等情况,评估服务区内毒品滥用情况^[4]。2016年Been Fred等通过收集德国和瑞士19个污水处理厂样本,评估了不同区域药物滥用的差异^[5]。2016年Thai PK等采用污水分析法检测澳大利亚昆士兰州4-甲基甲卡西酮和2-甲基氨基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-丙酮的使用情况和随时间变化的趋势^[6]。

近年来,基于污水分析的污水流行病学(wastewater-based epidemiology, WBE)作为评估毒品消耗量的方法被世界各国广泛应用,该方法能够客观地评估某地区毒品的滥用量,是一种重要的毒情监测手段。苯丙胺(amphetamine, AMPH)和甲基苯丙胺(methamphetamine, METH)属于苯丙胺类兴奋剂,该类毒品的滥用所引起的疾病仅次于以海洛因为代表的阿片类药物,且该类药物的滥用人群主要为青少年^[7]。本文以污水分析法为基础,建立了一种基于固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时分析污水中苯丙胺和甲基苯丙胺的方法,对于客观地、实时地监测本地区毒品滥用情况,有利地打击毒品犯罪提供了重要的技术支持。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Shimadzu Prominence UFLC (LC-20AD 泵, Shimadzu 公司); AB Sciex 3200 Q Trap (AB 公司); 移液器(德州艾本德股份有限公司); VORTEX-GENIE2 涡轮振荡器(Scientific Industries 公司); TGL-16C 离心机(上海安亭科学仪器厂); 水浴氮吹仪(北京东方精华苑科技有限公司); 固相萃取仪(CNW 公司, Germany); Oasis HLB 固相萃取小柱

(60mg/3mL, Waters 公司); Milli-Q 超纯水系统(Milipore-Q 公司)。

1.2 试剂

苯丙胺、甲基苯丙胺、苯丙胺-D11、甲基苯丙胺-D1 标准溶液均购自 Cerilliant 公司(Round Rock, TX, USA); 甲酸、氨水(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, Merck 公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Agilent ZORBAX Eclipse C₁₈ (4.6 mm × 150mm, 5.0μm) 为液相色谱柱, 柱温 40℃, 进样量 1μL, 流动相以 0.1% 甲酸水溶液(A 相)-乙腈(B 相)体系, 流速为 1.0mL · min⁻¹, 采用梯度洗脱程序, 见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 t/min	流动相 B/%	流动相 A/%
0.01	10	90
1.00	10	90
5.00	60	40
6.00	60	40
6.10	10	90
8.00	stop	

2.2 质谱条件

以电喷雾电离(ESI), 采用正离子模式, 多反应检测模式检测, 离子化电压: +5500V, 碰撞气: Medium; 气帘气: 35psi; 喷雾气: 65psi; 辅助加热气: 65psi; 离子源温度: 650℃; 接口加热: On。经优化后, 苯丙胺、苯丙胺-D₁₁、甲基苯丙胺、甲基苯丙胺-D₁₁ 质谱参数如表 2 所示。

在优化后的色谱-质谱条件下, 苯丙胺、苯丙胺-D₁₁、甲基苯丙胺、甲基苯丙胺-D₁₁ 的保留时间分别是 3.79min、3.75min、3.95min 和 3.91min, 分析物和内标物的峰形良好, 如图 1 所示。

表 2 苯丙胺、苯丙胺-D₁₁、甲基苯丙胺、甲基苯丙胺-D₁₁质谱参数

名称	离子对/m/z	去簇电压 (declustering potential , DP) /V	碰撞电压 (collision energy , CE) /V
苯丙胺	136. 2 > 91. 2 [*]	13	24
(amphetamine)	136. 2 > 119. 3		13
苯丙胺-D ₁₁	147. 4 > 98. 2 [*]	13	26
(amphetamine-D ₁₁)	147. 4 > 130. 3		14
甲基苯丙胺	150. 3 > 91. 2 [*]	23	25
(methamphetamine)	150. 3 > 119. 1		17
甲基苯丙胺-D ₁₁	161. 4 > 97. 3 [*]	19	27
(methamphetamine-D ₁₁)	161. 4 > 127. 2		16

注: * 表示定量离子对

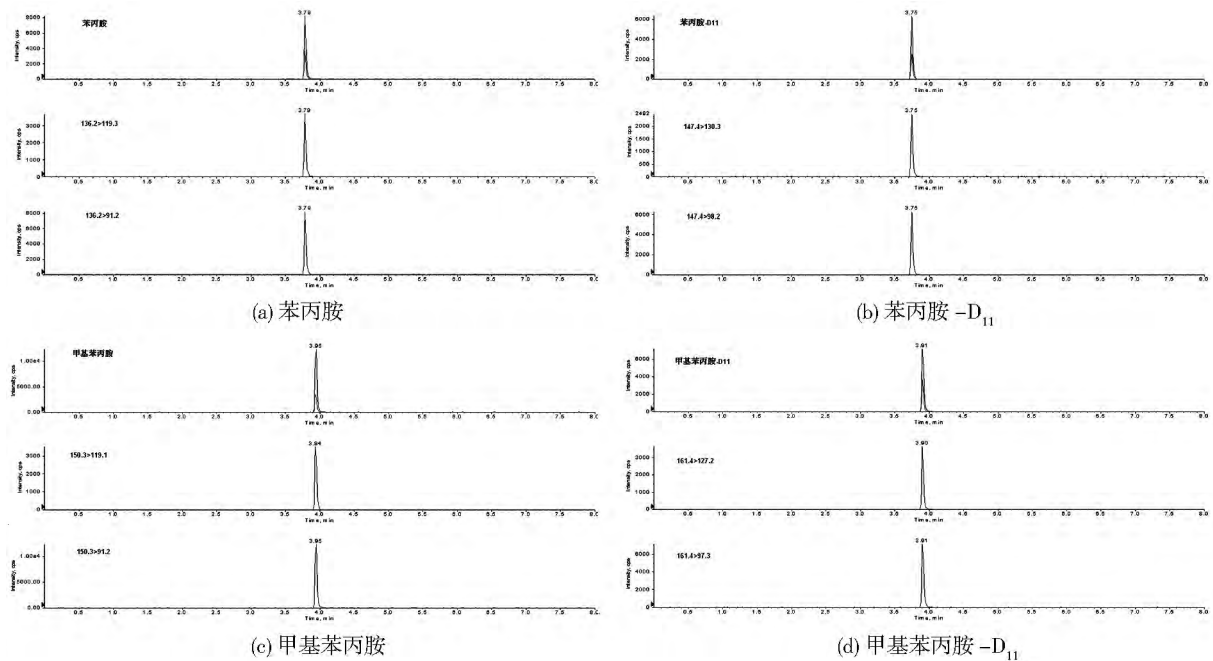


图 1 苯丙胺、苯丙胺-D₁₁、甲基苯丙胺、甲基苯丙胺-D₁₁MRM 色谱图

2.3 样品前处理

2.3.1 污水的过滤 采集的污水样品于冰箱中冷冻保存,解冻后的水样经 0.45μm 玻璃纤维滤膜过滤,存于 50mL 试管中,待固相萃取备用。

2.3.2 固相萃取 依次用 2mL 去离子水和 2mL pH 7.5 水溶液对 Oasis HLB 固相萃取小柱(60mg/3mL)进行活化;取过滤后水样 50mL,加入 100ng·mL⁻¹ 苯丙胺-D₁₁和甲基苯丙胺-D₁₁混合标准溶液 20μL 混匀,以 1mL·min⁻¹~2 mL·min⁻¹速度上样;待上样完成后,以 200μL 5% 甲醇溶液洗涤固相萃取柱;真空干燥后以 2mL 甲醇进行洗脱;35℃ 下

以氮气将样品浓缩近干,以初始流动相定容至 200μL,供 LC-MS/MS 分析。

2.4 方法学考察

2.4.1 方法专属性考察 取两份超纯水,其中一份加入一定量的内标物,作为空白对照;另一份超纯水中加入一定量的苯丙胺和甲基苯丙胺及对应的内标物,依照“2.3.2 固相萃取”进行前处理,经 LC-MS/MS 分析,结果表明超纯水中未检出苯丙胺和甲基苯丙胺成分,添加目标物后的超纯水中检出苯丙胺和甲基苯丙胺成分,且保留时间与图 1 中标准品的保留时间一致,结果见图 2。

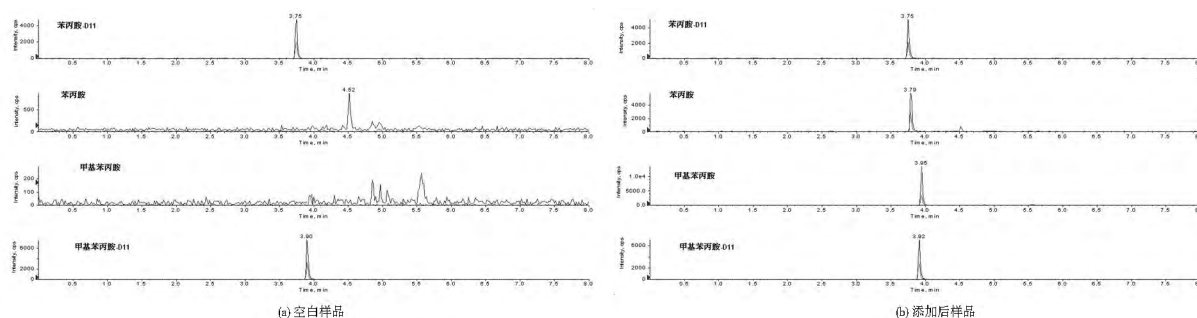


图2 空白样品和添加后样品的MRM色谱图

2.4.2 工作曲线和检出限 配置苯丙胺、甲基苯丙胺浓度为 $2.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $250 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准溶液,添加苯丙胺-D₁₁、甲基苯丙胺-D₁₁使其浓度为 10 ng/mL ,以分析物与其同位素氘代内标的峰面积之比为纵坐标(y),以分析物与其氘代同位素内标浓度之比为横坐标(x)进行线性回归,得到苯丙胺线性方程: $y = 0.2x + 0.262$ ($r = 0.9973$),甲基苯丙胺的线性方程: $y = 0.12x + 0.0677$ ($r = 0.9998$)。

结果表明:苯丙胺和甲基苯丙胺在 $2.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ~ $500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系,以 $S/N = 3$ 苯丙胺、甲基苯丙胺的最低检出限是 1.5 和 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$;以 $S/N = 10$ 苯丙胺、甲基苯丙胺的定量限均为 $2.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4.3 方法回收率、精密度和基质效应 方法回收率:在 50 mL $\text{pH} = 2$ 的超纯水中定量加入目标物(甲基苯丙胺和苯丙胺)和相应内标,目标物共设置三个梯度(4 ng 、 10 ng 和 20 ng),每个梯度设置三个平行。同时设置一组流程空白,流程空白仅加入内标不加目标物。使用 2.3.2 中所述方法对样品进行前处理,并用 2.1 和 2.2 所述方法测定样品。根据

空白和加标样品的测定数据计算方法回收率。目标物方法回收率在 $88.4 \pm 2.9\%$ ~ $104.5 \pm 2.8\%$ 之间,详细数据列于表 3 中。

基质效应: 化学分析中,基质常常对分析物的分析过程有显著的干扰,并影响分析结果的准确性。选用目标物含量相对较低的污水处理厂进水样品来代替空白基质。基质效应共设置三个梯度(4 ng 、 10 ng 和 20 ng),每个梯度三个平行,同时设置一组空白对照组。样品采用 2.3.2 中所述方法进行前处理,处理好以后,在每组样品中定量加入目标物和内标,空白对照组仅加入内标不加目标物。使用前述方法测定样品。根据空白对照组和加标样品的测定数据计算基质效应,目标物基质效应在 $-9.6 \pm 9.4\%$ ~ $-1.1 \pm 1.2\%$ 之间,详细数据列于表 3 中。

方法精密度: 采取对同一水样连续前处理($n = 3$)的方式来衡量前处理方法和实验操作的日内精密度,用对同一水样进行多天重复前处理($n = 3$)的方式来衡量前处理方法和实验操作的日间精密度。方法日内、日间精密度的详细实验数据列于表 4 中。

表3 方法回收率和基质效应

目标物	方法回收率(%) ($n = 3$)			基质效应(%) ($n = 3$)		
	4ng	10ng	20ng	4ng	10ng	20ng
METH	88.4 ± 2.9	92.6 ± 3.2	95.2 ± 0.5	-9.6 ± 9.4	-1.1 ± 1.2	-6.9 ± 5.6
AMP	104.1 ± 1.3	103.7 ± 4.3	104.5 ± 2.8	-6.9 ± 4.1	-3.0 ± 1.9	-2.6 ± 1.3

表4 方法精密度

目标物	日内精密度(RSD%) ($n = 3$)			日间精密度(RSD%) ($n = 3$)		
	$5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$80 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$80 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$
METH	1.1	2.1	3.2	2.5	2.6	3.5
AMP	1.7	2.5	3.3	2.1	2.7	3.8

3 结果

2018 年 10 月,连续 7 天采集德城区上实环境(德州)污水处理有限公司和临邑县银河(临邑)有

限公司的污水,以本文建立的 SPE-LC-MS/MS 法对该污水进行分析,同时以德州市自来水为对照水样,检测结果如表 4 所示。

表 4 苯丙胺和甲基苯丙胺的含量检测结果

样品	采样时间	进水		出口	
		苯丙胺(ng·L ⁻¹)	甲基苯丙胺(ng·L ⁻¹)	苯丙胺(ng·L ⁻¹)	甲基苯丙胺(ng·L ⁻¹)
德城区	2018 年 10 月 8 日	-	21.48	-	15.56
	2018 年 10 月 9 日	-	19.48	-	14.96
	2018 年 10 月 10 日	-	32.76	-	8.68
	2018 年 10 月 11 日	-	17.24	-	14.16
	2018 年 10 月 12 日	-	19.64	-	11.48
	2018 年 10 月 13 日	-	17.96	-	19.24
	2018 年 10 月 14 日	-	17.4	-	16.24
	平均值		20.85		14.33
临邑县	2018 年 10 月 8 日	-	8.68	-	10.52
	2018 年 10 月 9 日	-	8.4	-	7.56
	2018 年 10 月 10 日	-	12	-	8.04
	2018 年 10 月 11 日	-	17.6	-	10.64
	2018 年 10 月 12 日	-	10.12	-	9.34
	2018 年 10 月 13 日	-	16.48	-	9.52
	2018 年 10 月 14 日	-	10.72	-	23.48
	平均值		12.00		11.3
自来水水样	-	-	-	-	-

注: - 表示低于定量限

通过以上两个污水处理厂的数据分析,污水中苯丙胺的浓度均低于定量限,甲基苯丙胺均被检出。最高浓度出现在德城区,浓度为 32.76 ng·L⁻¹,最低浓度出现在临邑县,浓度为 8.4 ng·L⁻¹。

从德城区和临邑县的数据比较来看,德城区数据的平均值要大于临邑县,表明一般娱乐场所较多、人口密度较大的城区污水中甲基苯丙胺的含量较县城高。

比较同一地区的进水和出水数据,一般进水中甲基苯丙胺的含量高于出水,甲基苯丙胺的平均去除率为 25%。个别时间点,出现了负去除率,推测认为可能污水处理过程中前体化合物转化为目标化

合物以及污水处理过程中颗粒物吸附的毒品解吸后将目标物释放到污水中等^[8]。

4 讨论

本文建立了一种固相萃取-液相色谱-串联质谱法对污水中苯丙胺和甲基苯丙胺含量进行检测的方法,方法前处理简单,回收率高,重现性好。该方法采用内标法进行定量,消除了操作等原因造成的干扰,保证了结果的准确^[9-10],同时该方法也成功应用于实际污水样品中苯丙胺和甲基苯丙胺的检测,为禁毒部门实时监测本地毒品滥用情况提供有利的技术支持。

5 参考文献

[1] Krizman - Matasic I, Senta I, Kostanjevecki P, et al. Long-term monitoring of drug consumption patterns in a large-sized European city using wastewater-based epidemiology: Comparison of two sampling schemes for the assessment of multiannual trends [J]. Sci Total Environ, 2019, 647: 474-485.

[2] 周志刚,郑蓝君,王嘉玲. 固相萃取 UPLC-MS/MS 法同时检测水体中 3 种毒品代谢物 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37

- (10): 1876–1881.
- [3] Daughton CG. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: scientific and regulatory issues [M]. Washington, D. C.: American Chemical Society, 2001: 348–364.
- [4] 侯臣之, 花镇东, 徐鹏, 等. 基于污水分析法的毒情评估研究及应用进展 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(4): 502–508.
- [5] Been F, Bijlsma L, Benaglia L, et al. Assessing geographical differences in illicit drug consumption – A comparison of results from epidemiological and wastewater data in Germany and Switzerland [J]. Drug Alcohol Depend, 2016, 161: 189–199.
- [6] Thai PK, Lai FY, Edirisinghe M, et al. Monitoring temporal changes in use of two cathinones in a large urban catchment in Queensland, Australia [J]. Sci Total Environ, 2016, 545: 250–255.
- [7] 张存敏, 罗健, 段灵, 等. 西南地区某市青少年苯丙胺类兴奋剂使用者药物滥用及服务需求定性研究 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2018, 27(6): 450–454.
- [8] Subedi B, Kannan K. Mass loading and removal of select illicit drugs in two wastewater treatment plants in New York State and estimation of illicit drug usage in communities through wastewater analysis [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48(12): 6661–6670.
- [9] 张震, 张俊, 闫跃飞, 等. 液相色谱串联质谱内标法与外标法检测生鲜乳中黄曲霉素 M1 含量的比较 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(13): 211–214.
- [10] 罗玥, 陈祥贵, 艾涛波, 等. 气相色谱内标法及外标法测定酒中甲醇方法的比较 [J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4308–4313.

收稿日期: 2019–03–26

修回日期: 2019–04–12

(上接第 194 页)

- [7] Krasnova IN, Justinova Z, Cadet JL. Methamphetamine addiction: involvement of CREB and neuroinflammatory signaling pathways [J]. Psychopharmacology, 2016, 233(10): 1945–1962.
- [8] Cao G, Zhu J, Zhong Q, et al. Distinct roles of methamphetamine in modulating spatial memory consolidation, retrieval, reconsolidation and the accompanying changes of ERK and CREB activation in hippocampus and prefrontal cortex [J]. Neuropharmacology, 2013, 67: 144–154.
- [9] Kamei H, Nagai T, Nakano H, et al. Repeated methamphetamine treatment impairs recognition memory through a failure of novelty-induced ERK1/2 activation in the prefrontal cortex of mice [J]. Biol Psychiatry, 2006, 59(1): 75–84.
- [10] Knierim JJ. The hippocampus [J]. Curr Biol, 2015, 25(23): R1116–1121.
- [11] Burnham V, Sundby C, Laman-Maharg A, et al. Luteinizing hormone acts at the hippocampus to dampen spatial memory [J]. Horm Behav, 2017, 89: 55–63.
- [12] Eichenbaum H. Memory: Organization and Control [J]. Annu Rev Psychol, 2017, 68: 19–45.
- [13] Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, et al. Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory [J]. Science, 2004, 305(5680): 96–99.
- [14] Burton AC, Nakamura K, Roesch MR. From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: neural correlates of reward-guided decision-making [J]. Neurobiol Learn Mem, 2015, 117: 51–59.
- [15] Miyamoto Y, Iegaki N, Fu K, et al. Striatal N-acetylaspartate synthetase shat1/Nat81 regulates depression-like behaviors via mGluR3-mediated serotonergic suppression in mice [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2017, 20(12): 1027–1035.

收稿日期: 2019–01–12

修回日期: 2019–04–13