

T/ NAIA

团 体 标 准

T/ NAIA XXX-XXXX

污水中 11 种新精神活性类毒品及代谢物 含量的检测 液相色谱-三重四级杆质谱 法

Determination of 11 new psychoactive drugs and metabolites in sewage

Liquid chromatography - tandem mass spectrometry

××××-××-××发布

××××-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：众旺达（宁夏）技术咨询有限公司、宁夏中科精科检测技术有限公司、宁夏凯普检验检测有限公司司法鉴定所、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：刘娜娜、李熠、梁懿丹、李超、宋克纯、孙飞、徐亚宁、李慧芳、王彤、何保宏、朱潜、张小飞。

本文件为首次发布。

污水中 11 种新精神活性类毒品及代谢物含量的检测

液相色谱-三重四级杆质谱法

1 范围

本文件规定了污水检材中 11 种新精神活性类毒品（曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、2-亚乙基-1,5-二甲基-3,3-二苯基吡咯烷（以下简写为 EDDP）、美沙酮）的液相色谱-三重四极杆质谱检验方法。

本文件适用于污水检材中曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、EDDP、美沙酮的定性定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GA/T122 毒物分析名词术语

3 术语和定义

GA/T 122 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

本方法以自来水为空白样品，结合自来水制备的标准工作溶液作对照，按平行操作的要求，对污水样品进行提取、净化和浓缩，采用液相色谱-三重四极杆串联质谱法（LC-MS-MS）在多反应监测（MRM）模式下进行检测，以保留时间（tR）和质谱特征碎片离子进行定性分析，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

实验用水应符合GB/T 6682中规定的一级水。除非另有说明，在分析中使用的试剂均为分析纯，试剂包括：

5.1.1 甲醇：色谱纯。

5.1.2 乙腈：色谱纯。

5.1.3 甲酸：色谱纯。

5.1.4 浓氨水：优级纯。

5.1.5 盐酸。

- 5.1.6 5%氨甲醇溶液：量取氨水50 mL，加甲醇稀释至1000 mL，混匀。
- 5.1.7 0.1%甲酸水溶液：量取甲酸1.0 mL，加水稀释至1000mL，混匀。
- 5.1.8 0.1%甲酸乙腈溶液：量取甲酸1.0 mL，加乙腈稀释至1000mL，混匀。
- 5.1.9 0.1mg/mL标准物质溶液：根据标准物质纯度和盐型换算后，用甲醇分别配制0.1mg/mL曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、EDDP、美沙酮标准物质溶液，混匀，密封，置于冰箱中-20℃（冷冻）保存，有效期一年。
- 5.1.10 5 μ g/mL混合标准工作溶液：移取0.1mg/mL的曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、EDDP、美沙酮标准物质溶液各1.0mL，用甲醇定容至20mL，混匀，密封，置于冰箱中-20℃（冷冻）保存。有效期6个月。实验中所用其它浓度的混合标准工作溶液均由5 μ g/mL混合标准工作溶液用0.1%甲酸水溶液稀释得到。

5.2 材料

- 5.2.1 玻璃纤维滤膜：1.2 μ m。
- 5.2.2 具盖离心管，50mL。
- 5.2.3 水系微孔滤膜：0.22 μ m。
- 5.2.4 固相萃取柱：阳离子交换固相萃取柱（60mg，3CC）或等效固相萃取柱。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 6.2 电子天平：分度值为0.01mg。
- 6.3 固相萃取装置。
- 6.4 浓缩器（真空浓缩器或氮吹浓缩器）。
- 6.5 移液器。
- 6.6 振荡器。

7 操作方法

7.1 样品处理

7.1.1 过滤

将污水检材样品解冻并充分摇匀，加入盐酸（5.1.5）调节pH值至小于2，用玻璃纤维滤膜（5.2.1）过滤，取滤液待分析用。

7.1.2 固相萃取

依次用4 mL甲醇（5.1.1）、4 mL水和4 mL pH为2的水对固相萃取柱（5.2.4）进行活化，流速不超过4mL/min。移取7.1.1处理的污水检材样品50mL于具塞离心管（5.2.2）中，转移至已活化好的固相萃取柱中，控制过柱流速为4.0mL/min，用4mL甲醇（5.1.1）淋洗，控制流速为4.0mL/min，离心或真空抽固相萃取柱至干燥，用4mL 5%氨甲醇溶液（5.1.6）洗脱，控制流速为1.0mL/min，收集洗脱液。置于浓缩器（6.4）上60℃浓缩

至近干，加入0.1%甲酸水溶液（5.1.7）250 μ L，混匀，水系微孔滤膜（5.2.3）过滤，作为检材样品提取液，待上机检测。各检材样品需分别独立制备2份平行检材样品提取液。

7.2 空白样品

取自来水加入盐酸（5.1.5）调节pH值至小于2，用玻璃纤维滤膜（5.2.1）过滤后，与检材样品平行操作，得到空白样品提取液，待上机测试。

7.3 混合标准工作溶液制备

取7.2中pH值小于2，用玻璃纤维滤膜（5.2.1）过滤后的自来水50mL，添加5 μ g/mL混合标准工作溶液（5.1.10），使其中11种物质的浓度为1ng/L~200ng/L之间，与检材样品平行操作，得到标准工作溶液，待上机检测。

7.4 仪器检测

7.4.1 仪器条件

以下为参考条件：

- a) 色谱柱：C18 柱，(2.1mm×100mm, 2.0 μ m)或其他等效柱；
- b) 柱温：40°C；
- c) 流动相 A 相：4 mmol/L 乙酸铵+0.1%甲酸水溶液；
- d) 流动相 B 相：乙腈；
- e) 流速：0.4mL/min；
- f) 进样量：2 μ L；
- g) 洗脱：梯度洗脱，梯度洗脱条件见表 1；
- h) 扫描方式：正离子扫描；
- i) 检测方式：多反应监测；
- j) 电喷雾电压：4 kV；
- k) 离子源温度：300°C；
- l) 雾化器压力：270 kpa；
- m) 11 种检测目标物的定性、定量离子对和碰撞能量条件见表 2；

表1 梯度洗脱条件

时间 min	流动相A相	流动相B相
0	90	10
4	75	25
4.5	30	70
5	20	80
7	20	80
7.1	90	10

表 2 11 种检测目标物的定性、定量离子对和碰撞能量条件

目标物	母离子	子离子对	Q1偏差(V)	碰撞能量eV	Q2偏差(V)
曲马多	264.20	58.00*	-21	-30	-20

		246.40	-10	-12	-27
芬太尼	337.10	188.40*	-24	-22	-21
		105.10	-13	-39	-19
氯硝西洋	316.10	270.00*	-15	-25	-28
		213.90	-15	-37	-23
氟硝西洋	314.10	268.10*	-22	-26	-27
		239.00	-11	-34	-16
艾司唑仑	295.20	205.20*	-14	-24	-30
		267.10	-14	-39	-21
阿普唑仑	309.10	274.10*	-15	-27	-30
		281.00	-19	-26	-29
舒芬太尼	387.20	238.20*	-11	-20	24
		355.40	-21	-19	-24
右美沙芬	272.20	147.20*	-13	-31	-15
		213.30	-19	-27	-21
依托咪酯酸	217.20	113.20*	-11	-9	-20
		105.20	-13	-22	-19
EDDP	278.20	234.30*	-10	-30	-24
		249.30	-13	-23	-27
美沙酮	310.10	265.20*	-16	-16	-29
		105.20	-21	-26	-22

*为定量离子

7.4.2 标准参考图谱

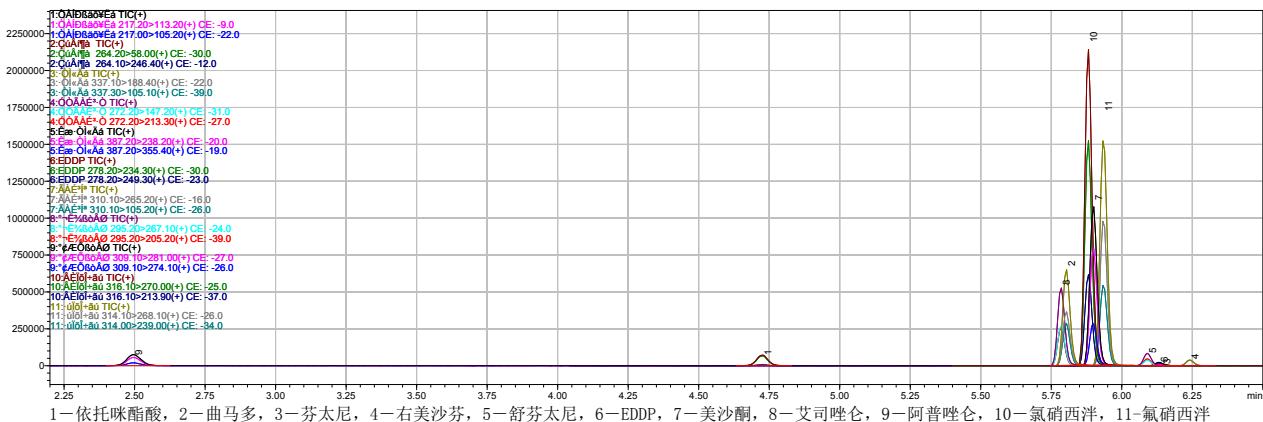


图 1 11 种目标化合物总离子流图

7.4.3 进样

分别吸取混合标准工作溶液(7.3)、空白样品提取液(7.2)、检材样品提取液(7.1)，按7.4.1仪器条件进样分析。每份检材样品提取液和添加样品提取液各进样分析2~3次。记录各样品提取液和混合标准工作溶液中目标物的保留时间及峰面积值。

7.4.4 计算

根据上机测试的标准工作溶液系列浓度为横坐标，标准工作溶液对应目标化合物响应值为纵坐标进行线性拟合，得到线性方程。根据检材样品提取液中目标化合物的定量离子对峰面积值，按公式(1)计算出检材样品中目标物的含量。

$$C = \frac{Y - a}{b} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

C—检材样品中目标物的含量，单位为纳克每升（ng/L）；

Y —检材样品提取液中目标化合物定量离子对峰面积的平均值；

a—线性方程的截距；

b —线性方程的斜率。

7.4.4.2 精密度计算

记录 7.4.4.1 中计算得到的检材样品中目标物的含量, 按公式(2)计算相对相差:

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

RD—相对相差 (%) ;

C_1 、 C_2 —2份检材样品中目标物的含量；

\bar{C} —2份检材样品中目标物的含量的平均值。

8 结果评价

8.1 定性结果评价

8.1.1 阳性结果评价

检材样品提取液中出现与混合标准工作溶液中目标物保留时间相同（偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内）的色谱峰，且检材样品提取液中各目标物的定性离子对的峰面积比与浓度接近的混合标准工作溶液中对应的定性离子对的峰面积比进行比较，偏差不超过表 4 规定的范围，且空白样品无干扰，则阳性结果可靠。

表 4 定性离子对峰面积比的最大允许偏差范围

定性离子对峰面积比	$\geqslant 50\%$	20%~50%	10%~20%	$\leqslant 10\%$
最大允许偏差范围	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

8.1.2 阴性结果评价

检材样品提取液中未出现与混合标准工作溶液中目标物一致的色谱峰，且添加样品提取液中出现与混合标准工作溶液中目标物一致的色谱峰，空白样品无干扰，则阴性结果可靠。

8.2 定量结果评价

如果 2 份检材样品中目标物含量的相对相差小于等于 20%，定量数据可靠，其含量按 2 份检材样品中目标物含量的平均值计算。如果 2 份检材样品中目标物含量的相对相差大于 20%，定量数据不可靠，应重新进行定量分析。

9 方法检出限和定量限

本方法中 11 种目标物的检出限为 0.5ng/L，定量限为 2ng/L。

附录 A
(资料性附录)

11 种检测目标物（曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、EDDP、美沙酮）的相关信息参见表 A.1。

表 A.1 11 种检测目标物的相关信息

中文名称	CAS 编号	英文缩写	分子式	分子量
曲马多	27203-92-5	Tramadol	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	249.3
芬太尼	437-38-7	Fentanyl	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O	336.5
氯硝西泮	1622-61-3	Clonazepam	C ₁₅ H ₁₀ ClN ₃ O ₃	315.7
氟硝西泮	1622-62-4	Flunitrazepam	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	313.3
艾司唑仑	29975-16-4	Estazolam	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₄	294.7
阿普唑仑	28981-97-7	Alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	308.8
舒芬太尼	60561-17-3	Sufentanil citrate	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂ S	386.6
右美沙芬	125-71-3	dextromethorphan	C ₁₈ H ₂₅ NO	271.4
依托咪酯酸	56649-48-0	Etomidate acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂	216.2
2-亚乙基-1,5-二甲基-3,3-二苯基吡咯烷	30223-73-5	EDDP	C ₂₀ H ₂₃ N	277.4
美沙酮	76-99-3	Methadone	C ₂₁ H ₂₇ NO	309.4

附录 B (资料性附录)

曲马多、芬太尼、氯硝西泮、氟硝西泮、艾司唑仑、阿普唑仑、舒芬太尼、右美沙芬、依托咪酯酸、EDDP、美沙酮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图, 见图 B.1 至 B.22。

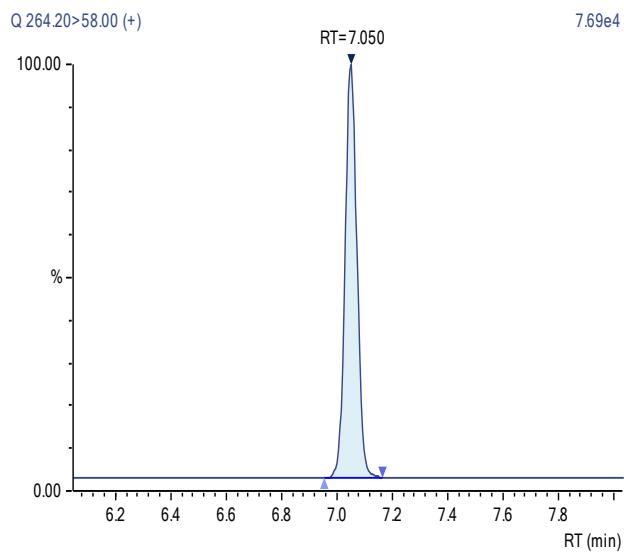


图 B. 1 曲马多的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (264. 20/58. 00)
(264. 10/246. 40)

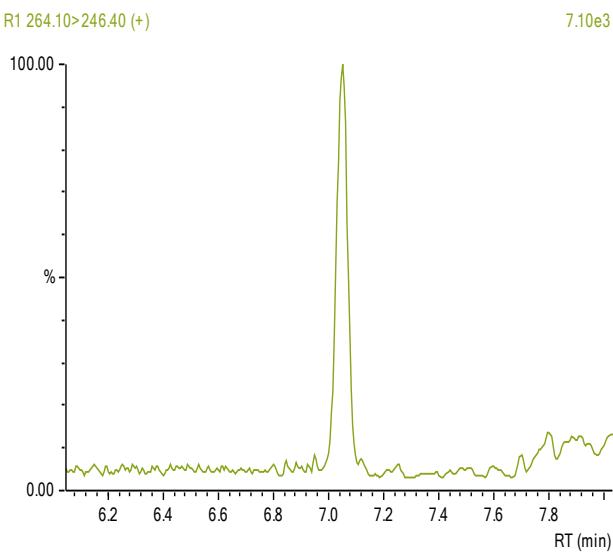


图 B. 21 曲马多的 LC-MS 分析 MRM 色谱图

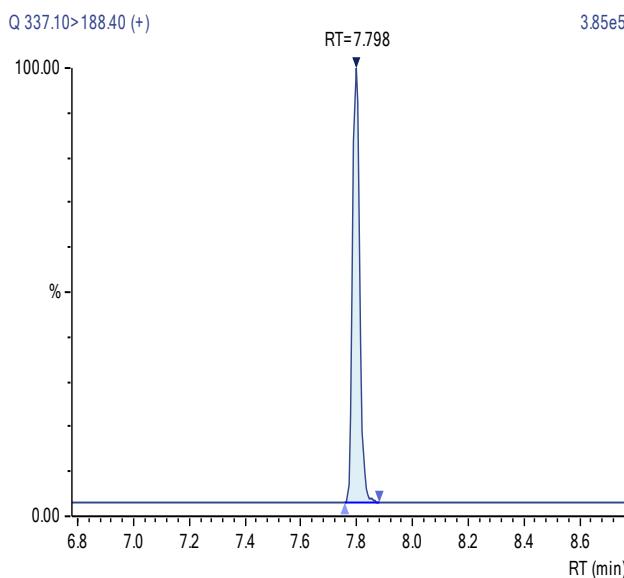


图 B. 2 芬太尼的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (264. 10/246. 40)

图 B. 3 芬太尼的 LC-MS 分析 MRM 色谱图(337. 10/188. 40)

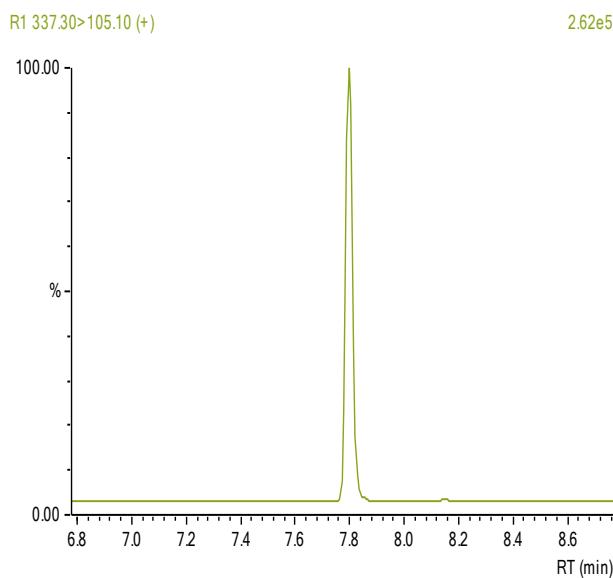


图 B. 4 芬太尼的 LC-MS 分析 MRM 色谱图(337. 30/105. 10)

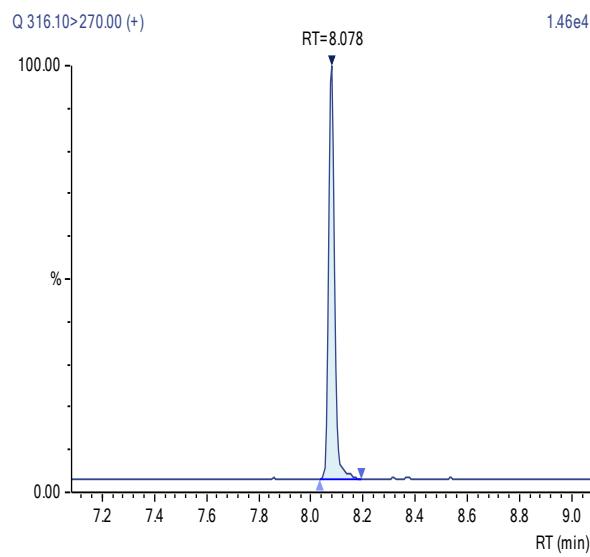


图 B. 5 氯硝西泮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (316.10/270.00)

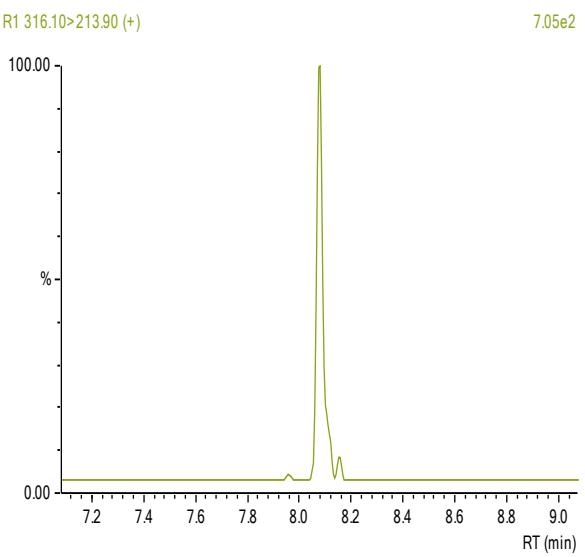


图 B. 6 氯硝西泮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (316.10/213.90)

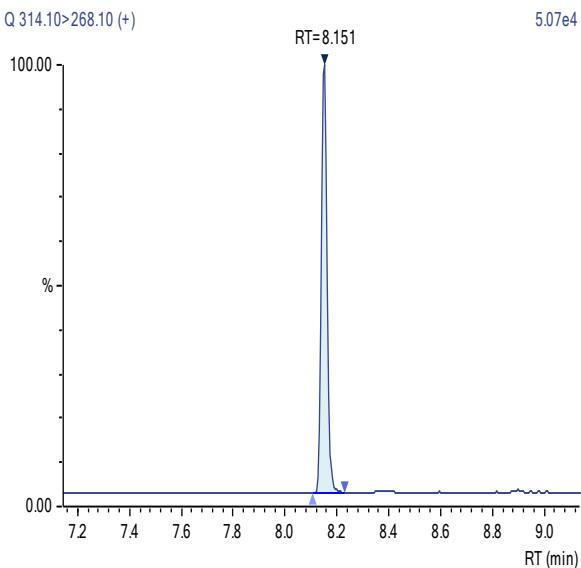


图 B. 7 氟硝西泮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (314.10/268.10)

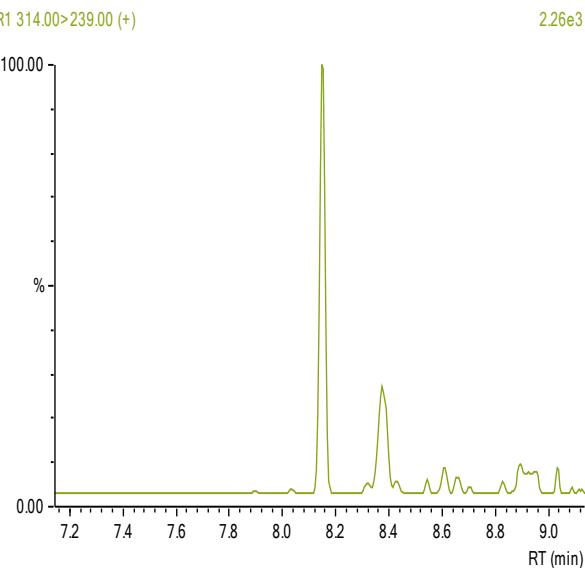


图 B. 8 氟硝西泮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (314.00/239.00)

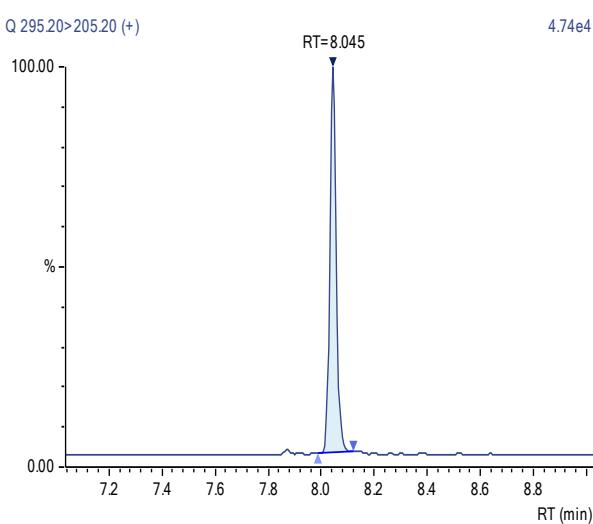


图 B. 9 艾司唑仑的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (295.20/205.20)

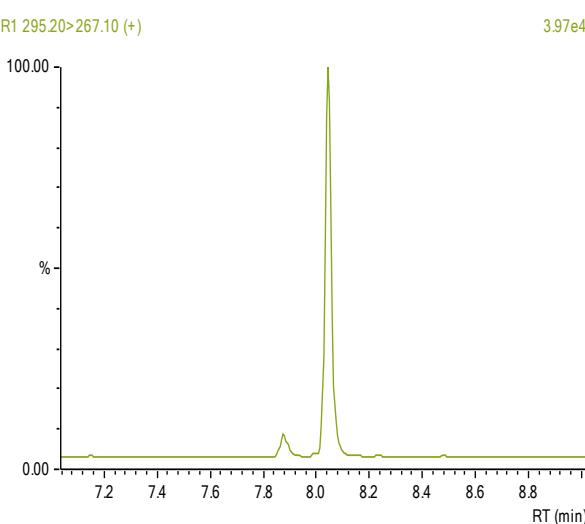


图 B. 10 艾司唑仑的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (295.20/267.10)

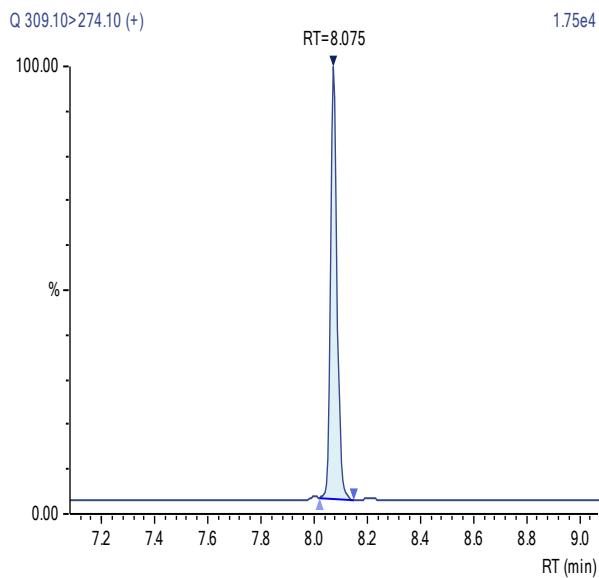


图 B.11 阿普唑仑的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (309.10/274.10)
(309.10/281.00)

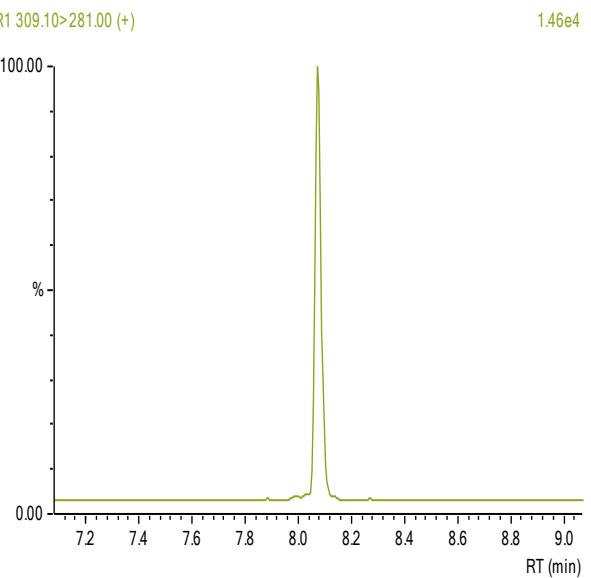


图 B.12 阿普唑仑的 LC-MS 分析 MRM 色谱图

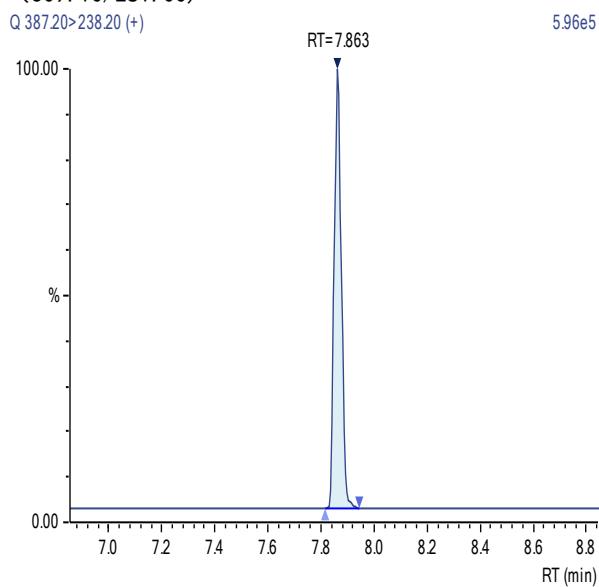


图 B.13 舒芬太尼的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (387.20/238.20)
(387.20/355.40)

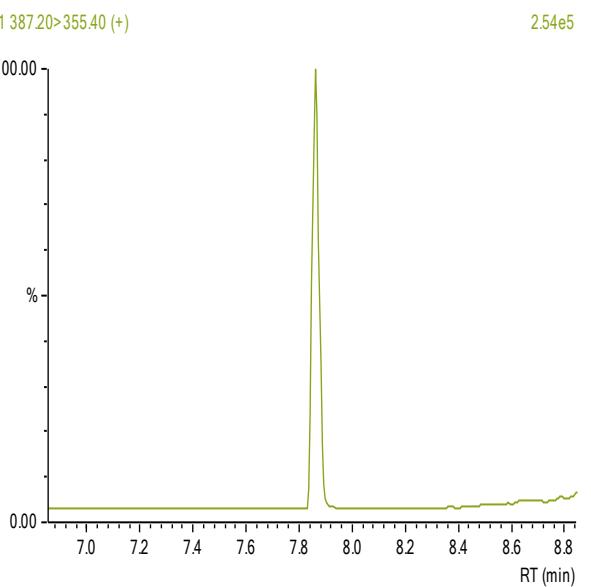


图 B.14 舒芬太尼的 LC-MS 分析 MRM 色谱图

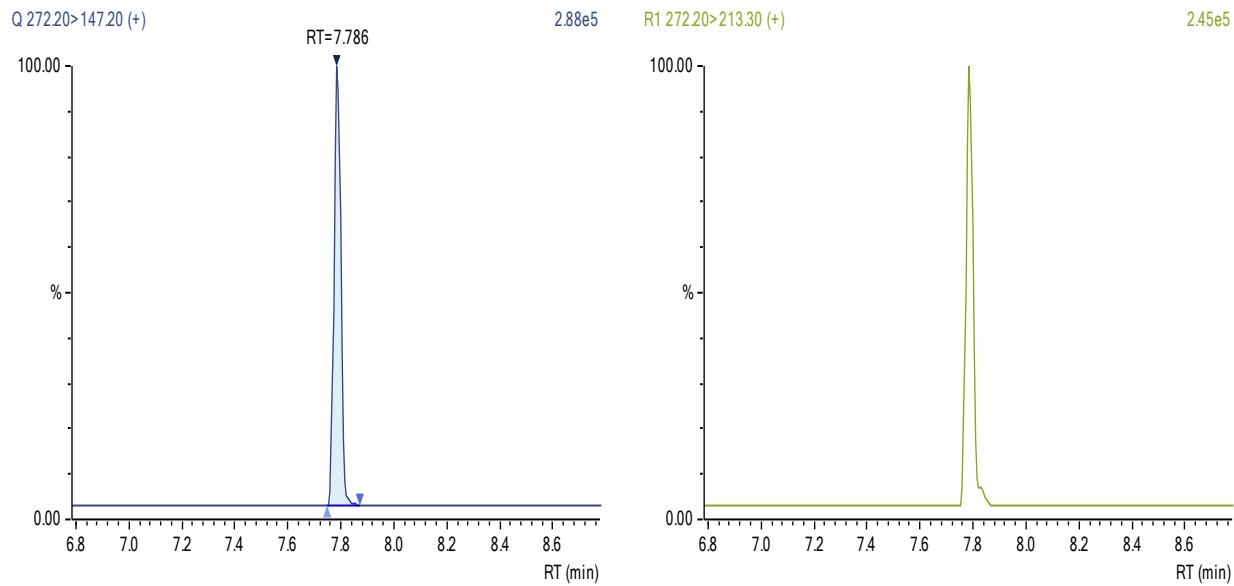


图 B.15 右美沙芬的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (272. 20/147. 20)
(272. 20/213. 30)

图 B.16 右美沙芬的 LC-MS 分析 MRM 色谱图

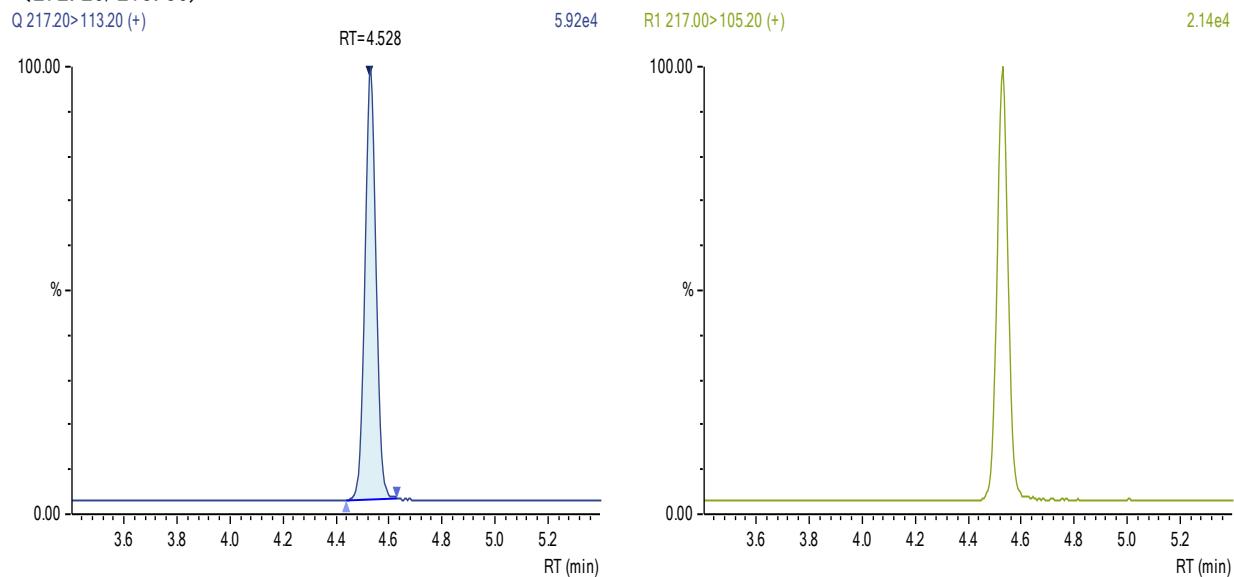


图 B.17 依妥咪酯酸的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (217. 20/113. 2) 图 B.18 依妥咪酯酸的 LC-MS 分析 MRM 色谱图
(217. 20/105. 2)

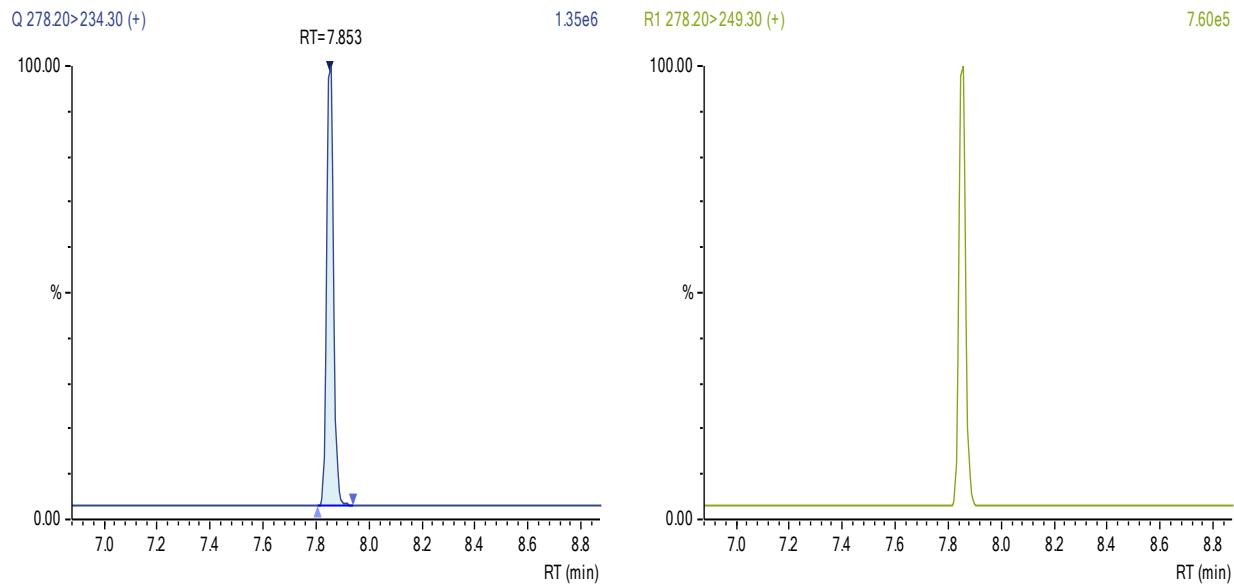


图 B. 19 EDDP 的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (278. 20/234. 30)
Q 310.10>265.20 (+)

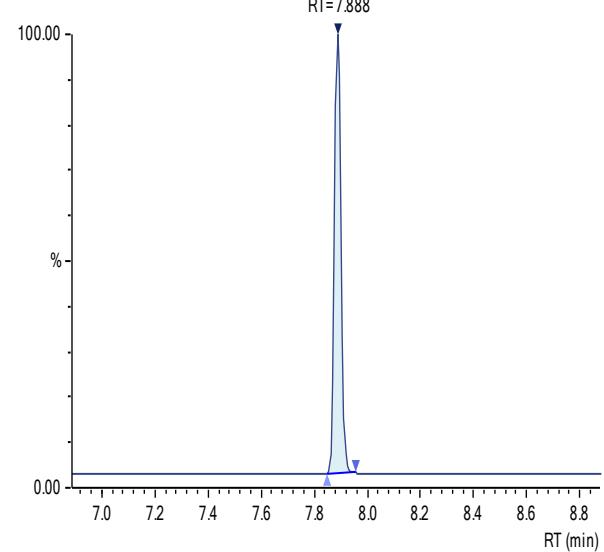


图 B. 21 美沙酮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (310. 10/265. 20)

图 B. 20 EDDP 的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (278. 20/249. 30)
R1 310.10>105.20 (+)
5.96e5

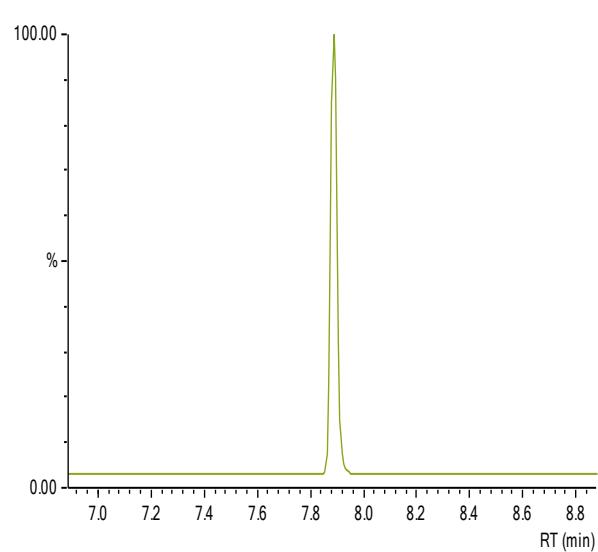


图 B. 22 美沙酮的 LC-MS 分析 MRM 色谱图 (310. 10/105. 20)