

团体标准

T/ NAIA XXX-XXXX

污水中 11 种毒品及其代谢物和人口标记 物可替宁的测定 液相色谱-三重四极杆质 谱法

Determination of 11 illicit drugs and their metabolites residues & cotinine of
demographic marker in sewage

Liquid chromatography- tandem mass spectrometry

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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、宁夏凯普检测有限公司、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：刘娜娜、张院萍、路喜龙、宋克纯、徐亚宁、李慧芳、王彤、何保宏、杨永刚、朱潜、何晓丽、周晶晶、李宁军、孙飞、撒世军、李超、张小飞。

本文件为首次发布。

污水中 11 种毒品及代谢物和人口标记物可替宁含量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了污水中 11 种化合物（O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺）和人口标记物可替宁含量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于污水中 11 种毒品（O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺）和人口标记物可替宁含量的液相色谱-质谱/质谱法测定。

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

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

本方法用工作曲线作对照，按照平行操作要求，向污水检材样品加入同位素内标，并进行提取、净化、浓缩，采用液相色谱-三重四极杆质谱法在多反应监测模式下检测，以保留时间和特征离子对进行定性，内标法定量。

5 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，实验用水符合GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 盐酸（HCl）。

5.2 甲醇（CH₃OH）：HPLC 级。

5.3 乙腈（C₂H₃N）：HPLC 级。

5.4 甲酸（HCOOH）：HPLC 级。

5.5 氨水（NH₃·H₂O）：HPLC 级。

5.6 甲酸水溶液：0.1%(CH₃OH)。

移取 1000 μL 甲酸（5.4）于 1000 mL 水中。

5.7 氨水-甲醇溶液： 5+95

用氨水（5.5）和甲醇（5.2）按 5:95 体积比混合。

5.9 标准物质溶液：

5.9.1 标准物质储备液：

O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺标准物质储备溶液：分别称取 O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺标准物质适量，精密称量，配制成 0.1 mg/mL 标准物质储备溶液，溶剂为甲醇。密封，置于冰箱冷冻保存，有效期 12 个月。

可替宁标准储备溶液：称取可替宁标准物质适量，精密称量，配制成 1.0 mg/mL 标准物质储备溶液，溶剂为甲醇。密封，置于冰箱冷冻保存，有效期 12 个月。

5.9.2 混合标准物质中间液：

将 O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺、可替宁标准物质储备溶液用甲醇稀释得到，密封，置于冰箱冷冻保存，有效期 6 个月。

5.9.3 混合标准物质使用液：

配制 O⁶-单乙酰吗啡、可卡因、可待因、苯甲酰爱康宁、吗啡、氯胺酮、去甲氯胺酮、MDMA、MDA、甲基苯丙胺、苯丙胺标准物质使用液浓度分别为：0.5~50 µg/L，对应可替宁标准物质使用液溶液 5~500 µg/L，溶剂为甲醇。密封，置于冰箱冷藏保存，有效期 1 个月。

5.10 氘代内标溶液：

5.10.1 氘代内标混合中间液：

移取浓度为 0.1mg/mL 的 O⁶-单乙酰吗啡-D₃、可卡因-D₃、可待因-D₃、苯甲酰爱康宁-D₃、吗啡-D₃、氯胺酮-D₄、去甲氯胺酮-D₄、MDMA-D₅、MDA-D₅、甲基苯丙胺-D₅、苯丙胺-D₅、可替宁-D₃ 内标标准物质甲醇溶液，配制成 10 µg/mL 氘代内标混合中间液，溶剂为甲醇。密封，置于冰箱冷冻保存，有效期 12 个月。

5.10.2 氘代内标混合使用液：

将氘代内标混合中间液配制成 250 µg/L 的氘代内标混合使用液，溶剂为甲醇。密封，置于冰箱冷藏保存，有效期 1 个月。

6 仪器与设备

6.1 液相色谱-三重四极杆质谱仪：液相色谱带有梯度洗脱功能，质谱为带电喷雾离子源（ESI）的。

6.2 色谱柱：填料粒径 1.8 µm，柱长 100 mm，内径 2.1 mm 的 C₁₈ 反向液相色谱柱，及其它等效柱。

6.2 混合型强阳离子交换反相柱：MCX，30mg/3mL 或等效固相萃取柱。

6.3 固相萃取装置：自动或手动，流速可调节。

6.4 氮吹浓缩或真空浓缩装置。

6.5 一般实验室常用仪器和设备。

7 样品

7.1 样品采集与保存

按照 HJ/T 91 和 HJ/T 614 的相关规定进行水样的采集。

用预先洗涤干净并干燥的样品瓶（1000 mL）采集水样，水样体积应不超过样品瓶总体积的 4/5，防止冷冻过程中由于体积膨胀造成样品瓶破裂，装瓶后拧紧瓶盖，倒置摇晃 3 次，检查样品瓶密封性，并立即用盐酸（5.1）调 pH 小于 2。置于 -20 °C 冷冻保存，并于 2 日内送往实验室进行分析。

7.2 试样制备

7.2.1 预处理

将污水样品完全解冻后，充分摇匀。过 0.45 μm 玻璃纤维滤膜，并量取 50.0 mL 加入 20 μL 氘代内标标准使用液（5.10.2）。

7.2.2 固相萃取及浓缩

依次用 4 mL 甲醇（5.2）、4 mL 水和 4 mL pH 为 2 的水对固相萃取小柱（6.2）进行活化，流速不超过 4 mL/min；取上述样品（7.2.1）通过活化好的固相萃取小柱，控制流速约为 2 mL/min；用 4 mL 水和 4 mL 甲醇（5.2）淋洗固相萃取小柱，流速不超过 4 mL/min，并增加固相萃取装置（6.3）的压力，使小柱内的水分排干；用 4 mL 氨水-甲醇溶液（5.7）从小柱洗脱目标化合物，洗脱流速小于 1 mL/min。

将上述淋洗液置于浓缩装置中，浓缩至近干。用 250 μL 0.1% 甲酸溶液（5.6）复溶，混合均匀，过 0.22 μm 滤膜，待测。

7.3 空白样品

以自来水为空白样品，与污水样品平行操作，得到空白提取液。

8 分析步骤

8.1 仪器参考条件

8.1.1 液相色谱参考条件

流动相 A：0.1% 甲酸水溶液（5.6），流动相 B：乙腈（5.3），梯度程序见表 1；柱温：35 °C，流速：0.2 mL/min，进样体积：5 μL。

表1 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
1	95	5
2	85	15
8	70	30

8.5	5	95
13	5	95

8.1.2 质谱参考条件

- a) 电离方式：电喷雾离子源（ESI），正离子扫描。
- b) 监测方式：多反应离子检测（MRM）。
- c) 电喷雾电压：4000 V。
- d) 雾化器压力：45 psi。
- e) 离子源温度：350 ℃。
- f) 12种检测目标物定性、定量离子对及碰撞能量条件见表2；
- g) 12种氘代内标定性、定量离子对及碰撞能量条件见表3；

表2 11种毒品及其代谢物和人口标记物可替宁的多反应离子监测分析参数

目标物	母离子	定量离子	碰撞能量 (V)	定性离子	碰撞能量 (V)	碎裂电压 (V)
O ⁶ -单乙酰吗啡	328.2	211	28	165	44	140
可卡因	304.2	182	16	82.1	32	120
可待因	300.2	199.2	31	165.3	52	115
苯甲酰爱康宁	290.1	168	20	77.1	65	110
吗啡	286.2	165	40	152	65	150
氯胺酮	238.1	220	12	125	32	80
去甲氯胺酮	224.1	206.9	8	125.2	26	70
MDMA	194.1	163	8	105	24	90
MDA	180.1	163.1	6	104.9	22	60
甲基苯丙胺	150.1	119	8	91	20	80
苯丙胺	136.1	119	4	91	16	70
可替宁	177.1	98	20	80	26	90

表3 11种毒品及其代谢物和人口标记物可替宁的多反应离子监测分析参数

目标物	母离子	定量离子	碰撞能量 (V)	定性离子	碰撞能量(V)	碎裂电压 (V)
O ⁶ -单乙酰基吗啡-D ₃	331.1	211	26	165	40	125
可卡因-D ₃	307.1	185	20	111	34	105
可待因-D ₃	303.2	165	58	152	78	115

目标物	母离子	定量子离子	碰撞能量 (V)	定性子离子	碰撞能量(V)	碎裂电压 (V)
苯甲酰爱康宁-D ₃	293.0	171.2	18	105	36	100
吗啡-D ₃	289.1	165	44	152	70	120
氯胺酮-D ₄	242.0	211	12	129	34	75
去甲氯胺酮-D ₄	228.1	211.1	8	129.1	26	75
MDMA-D ₅	198.0	167	25	138	33	75
MDA-D ₅	185.2	168	6	138.1	16	70
甲基苯丙胺-D ₅	155.2	124.1	4	96.1	16	65
苯丙胺-D ₅	141.1	124.2	4	93.1	22	55
可替宁-D ₃	180.0	78.1	69	101	22	75

8.1.3 仪器调谐

不同厂家的仪器调谐参数存在一定差异,应按照仪器使用说明书在规定时间和频次内对质谱进行仪器质量数和分辨率的校正,以确保仪器处于最佳质量状态。

8.2 校准

8.2.1 标准工作曲线的建立

取与污水等量自来水过膜,并量取 50.0 mL 加入 20 μL 氘代内标标准使用液(5.10.2),添加混合标准使用液(5.10.1),使其中 11 中目标物浓度为 1ng/L、5ng/L、10ng/L、50ng/L、100ng/L、500ng/L,对应可替宁浓度为 10 ng/L、50ng/L、100ng/L、500ng/L、1000ng/L、5000ng/L,按照固相萃取及浓缩(7.2.2)进行操作,得到标准工作曲线提取液,待测。

按照仪器参考条件(8.1),由低浓度到高浓度依次对标准工作曲线提取液进行测定,以目标化合物的质量浓度(ng/L)为横坐标,以其对应的响应值与该化合物内标物的响应值的比值和内标物浓度的乘积为纵坐标,建立标准工作曲线。

8.2.1 标准参考图谱

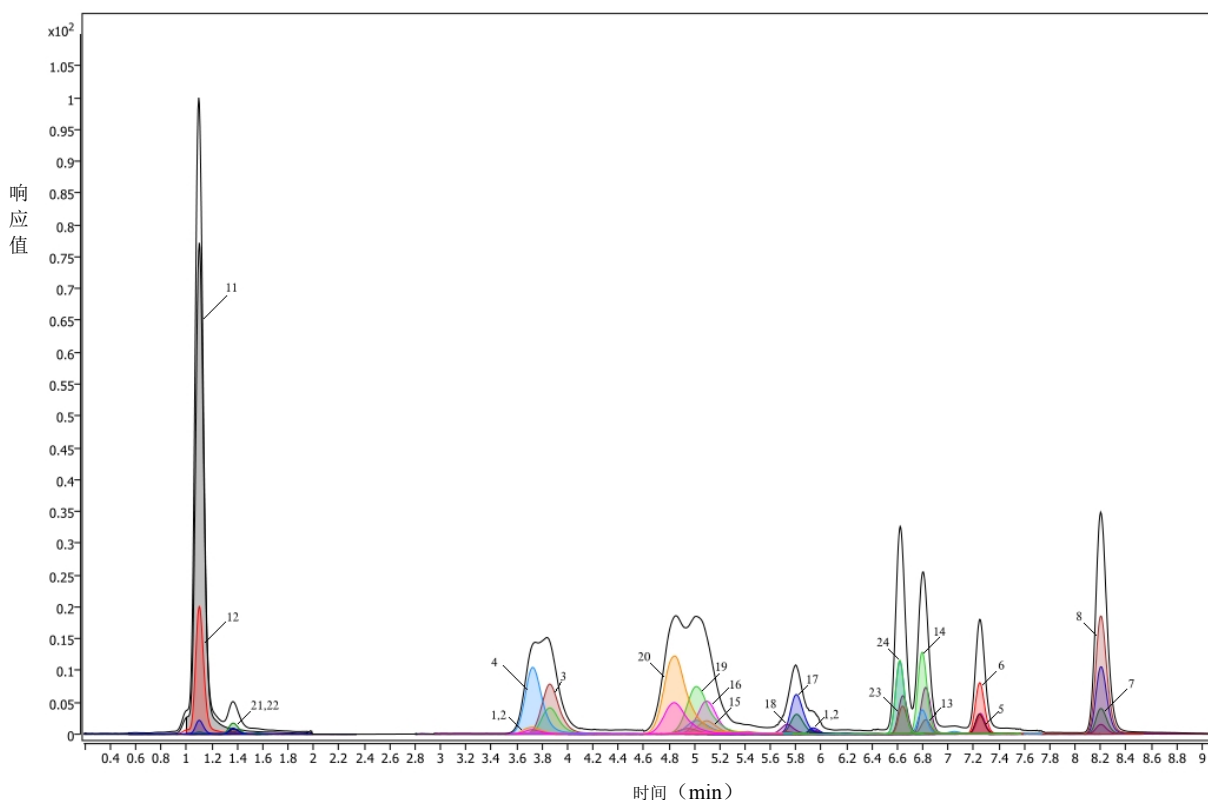
在本标准推荐的仪器参考条件下,目标化合物的总离子流图见图 1(除可替宁浓度为 500 ng/L,其余目标物浓度为 50 ng/L,氘代内标物浓度均为 20 ng/L)。

8.3 试样测定

按照与标准工作曲线的建立(8.2.1)相同的仪器条件进行试样(7.2)的测定。

8.4 空白试验

按照与试样测定(8.3)相同的仪器条件进行空白试样(7.2)的测定。



1—O⁶单乙酰吗啡, 2—O⁶单乙酰吗啡 D₃, 3—苯丙胺, 4—苯丙胺 D₅, 5—苯甲酰安康宁, 6—苯甲酰爱康宁 D₃, 7—可卡因, 8—可卡因 D₃, 9—可待因, 10—可待因 D₃, 11—可替宁, 12—可替宁 D₃, 13—氯胺酮, 14—氯胺酮 D₄, 15—MDA, 16—MDA-D₅, 17—MDMA, 18—MDMA-D₅, 19—甲基苯丙胺, 20—甲基苯丙胺 D₅, 21—吗啡, 22—吗啡 D₃, 23—去甲氯胺酮, 24—去甲氯胺酮 D₄

图 1 11 种毒品及代谢物和人口标记物可替宁总离子流图

9 结果计算和表示

9.1 定性测定

选择 1 个母离子和 2 个子离子对目标化合物进行监测。在同样测试条件下, 试样中的目标化合物的保留时间与标准工作溶液中该目标化合物的保留时间的相对偏差的绝对值应小于 2.5 %, 且对试样中目标化合物定性离子的相对离子丰度 (K_{sam}) 与浓度接近的标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度 (K_{std}) 进行比较, 偏差不超过表 4 规定的范围, 则可判定样品中存在对应的目标化合物。

$$K_{sam} = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: K_{sam} ——样品中目标化合物定性离子的相对丰度, %;

A_2 ——样品中目标化合物二级质谱定性离子响应值;

A_1 ——样品中目标化合物二级质谱定量离子响应值。

$$K_{std} = \frac{A_{std2}}{A_{std1}} \times 100\% \quad (2)$$

式中： K_{std} ——标准样品中目标化合物定性离子的相对丰度，%；

A_2 ——标准样品中目标化合物二级质谱定性离子响应值；

A_1 ——标准样品中目标化合物二级质谱定量离子响应值。

表 4 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

$K_{std}/\%$	K_{sam} 允许偏差 /%
$K_{std} > 50$	± 20
$20 < K_{std} \leq 50$	± 25
$10 < K_{std} \leq 20$	± 30
$K_{std} \leq 10$	± 50

9.2 结果计算和表达

以目标物与对应内标定量离子对的峰面积比（Y）为纵坐标、目标物浓度为横坐标进行线性拟合，得线性回归方程。根据各样品中目标物及对应内标定量离子对的峰面积值，按式（3）计算待测样品中目标物浓度。

$$C = \frac{Y - a}{b} \quad (3)$$

式中：

C ——待测样品中目标物质量浓度，ng/L；

Y ——待测样品中目标物与内标定量离子对的峰面积比；

a ——线性方程的截距；

b ——线性方程的斜率。

注：测定结果小数点后位数的保留与方法检出限一致，最多保留三位有效数字。

10 精密度

平行测定结果相对偏差应 $\leq 20\%$ 。

11 方法检出限和定量限

表 5 12 种检测目标物的方法检出限及定量限

目标物	检出限（ng/L）	定量限（ng/L）
吗啡	1.5	6.0
可待因	1.5	6.0
苯丙胺	0.5	2.0
甲基苯丙胺	0.5	2.0

目标物	检出限 (ng/L)	定量限 (ng/L)
MDA	1.0	4.0
MDMA	0.5	2.0
O6-单乙酰吗啡	1.0	4.0
去甲氯胺酮	0.5	2.0
氯胺酮	0.5	2.0
苯甲酰爱康宁	0.5	2.0
可卡因	0.5	2.0
可替宁	1.5	6.0

附录A

(资料性附录)

表A. 1 12种检测目标物及对应氘代内标相关信息

化合物名称	英文名或缩写	CAS 号
O ⁶ -单乙酰吗啡	6-Acetylmorphine	2784-73-8
可卡因	Cocaine	50-36-2
可待因	Codeine	76-57-3
苯甲酰爱康宁	Benzoylcegonine	519-09-5
吗啡	Morphine	57-27-2
氯胺酮	Ketamine	1867-66-9
去甲氯胺酮	Nor ketamine	79499-59-5
3,4-亚甲基二氧甲基苯丙胺	MDMA	42542-10-9
3,4-亚甲二氧基苯丙胺	MDA	4764-17-4
甲基苯丙胺	Methamphetamine	7632-10-2
苯丙胺	Amphetamine	300-62-9
可替宁	Cotinine	486-56-6
O ⁶ -单乙酰基吗啡-D ₃	6-Acetylmorphine-D ₃	136765-25-8
可卡因-D ₃	Cocaine-D ₃	138704-14-0
可待因-D ₃	Codeine-D ₃	70420-71-2
苯甲酰爱康宁-D ₃	Benzoylcegonine-D ₃	115732-68-8
吗啡-D ₃	Morphine-D ₃	67293-88-3
氯胺酮-D ₄	Ketamine-D ₄	1246815-97-3
去甲氯胺酮-D ₄	Nor ketamine-D ₄	1246816-68-1
3,4-亚甲基二氧甲基苯丙胺-D ₅	MDMA-D ₅	136765-43-0
3,4-亚甲二氧基苯丙胺-D ₅	MDA-D ₅	136765-42-9
甲基苯丙胺-D ₅	Methamphetamine-D ₅	60124-88-1
苯丙胺-D ₅	Amphetamine-D ₅	136765-27-0
可替宁-D ₃	Cotinine-D ₃	110952-70-0