

“毒驾”案件中质谱证据的采集及应用

王元凤^{1,2}, 闫 惠², 杜 然¹, 刘建伟^{1,2}

(1. 中国政法大学证据科学教育部重点实验室, 北京 100040;

2. 司法文明协同创新中心, 北京 100025)

摘要:吸毒后驾驶(简称“毒驾”)案件中,科学证据的检验方法对相关法律法规的制订以及案件公平公正的处理具有重要意义。本研究以微量陈旧血样中安非他明类毒品为分析目标,建立了一种气相色谱-正离子化学电离-串联质谱(GC/PCI-MS/MS)检测方法,并将其应用于370份交通事故案件中“酒驾”检测后剩余的微量陈旧血样。结果表明,该方法的灵敏度高、回收率好,测试样品中安非他明类毒品的检出率约为0.27%。上述研究结果不仅为我国“毒驾”案件的处理提供了一种高效的检测方法,而且为相关法律措施的制订提供了重要的参考数据和研究思路。

关键词:“毒驾”案件;安非他明类毒品;质谱证据;气相色谱-正离子化学电离-串联质谱(GC-PCI-MS/MS)

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2015)02-0141-07

doi:10.7538/zpxb.youxian.2014.0063

Collection and Application of Scientific Evidence Based on MS in Drug-Driving Cases

WANG Yuan-feng^{1,2}, YAN Hui², DU Ran¹, LIU Jian-wei^{1,2}

(1. Key Laboratory of Evidence Science, China University of Political Science and Law,
Beijing 100040, China;

2. Collaborative Innovation Center of Judicial Civilization, Beijing 100025, China)

Abstract: Scientific evidence in drug-driving cases and its analysis methods play an important roles in traffic-related legislation and legal justice. The method of gas chromatography-positive chemical ionization-tandem mass spectrometer (GC-PCI-MS/MS) was utilized in sample preparation and analysis process, in order to detect the amphetamines in trace and decayed blood samples. 370 blood sample residues were collected from traffic accident cases and tested for blood alcohol concentration (BAC), which were re-tested for amphetamines. The results indicate that the method has low limits of detection (LODs) for four amphetamines, show a good linearity and high extraction recoveries. Approximately 0.27% of the blood sample residues are positive for amphetamines. The results provide an efficient method for drug-driving cases as well as important data for the related legislation.

收稿日期:2014-04-09;修回日期:2014-06-03

基金项目:国家自然科学基金(61108075);中国政法大学青年教师学术创新团队项目资助

作者简介:王元凤(1979—),女,辽宁沈阳人,副教授,从事微量物证检验与毒物毒品分析。E-mail: yuanfengw@cupl.edu.cn

网络出版时间:2014-12-02;网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7538/zpxb.youxian.2014.0063.html>

Key words: drug-driving cases; amphetamines; scientific evidence based on MS; gas chromatography-positive chemical ionization-tandem mass spectrometer(GC-PCI-MS/MS)

“毒驾”是驾驶人以非医疗目的吸食毒品后,在药物作用期间驾驶机动车的行为。毒品的种类繁多,吸食毒品后一般会伴有机体功能失调和组织病理变化,如疲倦、反应迟钝、谵妄、运动失调等,这些症状会导致驾驶人的判断力降低,甚至完全丧失。与“酒驾”相比,“毒驾”行为会对社会安全产生更为严重的威胁^[1-2]。从20世纪70年代起,西方国家首先开启了“毒驾”问题研究,并相继设定了专门的法律条款治理“毒驾”问题^[3-4]。从2003年起,澳大利亚维多利亚州政府率先采用路边随机检测的形式调查并治理“毒驾”问题^[5-6]。此外,各国学者相继采用模拟驾驶等方式研究不同种类的毒品对驾驶行为的影响,这为相关法律法规的制订提供了重要的依据^[7-10]。

在我国,继“酒驾”入刑政策实施之后,“毒驾”现象也引起了越来越多的社会关注。但该问题之所以尚未引起相关部门的直面应对,其主要原因在于:1)我国缺少对于全社会驾驶员吸毒情况的普遍调查,这种基础数据的缺失为相关法律法规的制订造成了不小的障碍;2)需要建立能够与现有的“酒驾”检测兼容的“毒驾”分析方法,这是法庭科学技术部门开展“毒驾”检测工作必不可少的。

鉴于此,本工作以4种常见的安非他明类毒品为分析目标,以370份公安交通管理部门进行“酒驾”检测后剩余的微量、陈旧血液样品为分析对象,以三氟乙酰(TFA)衍生化方法作为样品的前处理手段,以气相色谱-正离子化学电离-串联质谱法(GC-PCI-MS/MS)作为分析途径,拟建立一种低检出限、高精密度的“毒驾”案件检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与设备

Varian GC3900 气相色谱仪,Varian SAT-URN2000 质谱仪:美国 Agilent 公司产品;HH S11-Ni4 电热恒温水浴锅:北京三二八科学仪器有限公司产品;IKA VORTEX GENIUS3 涡旋振荡器,飞鸽牌 TGL-20B 离心机:上海安

亭科学仪器厂产品。

1.2 试剂与样品

苯丙胺(amphetamine, AM)盐酸盐,甲基苯丙胺(methyl amphetamine, MA)硫酸盐,3,4-亚甲二氧基苯丙胺(3,4-methylenedioxy-amphetamine, MDA)盐酸盐,3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺(3,4-methylenedioxymethamphetamine, MDMA)盐酸盐标准品:均由公安部物证鉴定中心提供;普罗地芬盐酸盐(SKF-525),N-甲基-双-三氟乙酰胺(MBTFA):美国 Sigma 公司产品;甲醇(色谱纯):美国 Fisher 公司产品;正己烷(色谱纯):上海安谱公司产品;三氯甲烷、氢氧化钠(分析纯):北京化工厂产品;甲基安非他明检测试剂盒(产品标准编号 YZB/国 0709—2010):艾博生物医药有限公司产品。

实验使用的空白血采自健康志愿者;乙醇检测后剩余微量血液检材由北京市公安局公安交通管理局事故处提供,共370份,均为2013年1~3月期间发生交通事故后采集自当事人的血液,保存期限约为1年,每份检材的样品量约为3~5 mL。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备 准确称量5 mg 标准品 AM、MAM、MDA、MDMA,以无水甲醇为溶剂,配制浓度为1 g/L 标准母液(以游离碱计)。准确称取25 mg SKF-525,以无水甲醇为溶剂,配制浓度为1 g/L SKF-525 内标母液。标准母液和内标母液均置于冰箱中冷藏保存,使用时按照需要进行稀释。准确称取4 g NaOH,用去离子水配制成浓度为2 mol/L NaOH 水溶液。

1.3.2 样品提取 由于安非他明类毒品中均含有活性胺基,样品极性较大,进行气相色谱分析时容易出现拖尾等现象,所以本研究采用TFA 衍生化方式,使活性胺基变为稳定的三氟乙酰胺,从而改善色谱的分离效果。本研究在 Musshoff 等^[11]报道的样品前处理方法的基础上,对其进行了优化,具体步骤如下:

1) 取200 μ L 空白添加血样或者真实血样于1.5 mL 离心试管中,加入100 μ L 2 mg/L 内标溶液,30 μ L 2 mol/L NaOH 溶液,混合均

匀。向混合液中加入 500 μL 有机溶剂(正己烷或者三氯甲烷),涡旋振荡 15 min。

2) 以 20 000 r/min 离心 10 min 后,取 200 μL 有机层,转移至 0.5 mL 离心试管中,加入 40 μL MBTFA,70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 20 min,进行 TFA 衍生化。取 1 μL 衍生化产物,供气相色谱分析。

1.3.3 色谱条件 色谱柱:DB5-MS(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);进样口温度 280 $^{\circ}\text{C}$;程序升温:起始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;载气(He,99.999%)流速 1.0 mL/min;不分流进样;进样体积 1 μL ;离子阱检测器;离子阱温度 170 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度 170 $^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟 3 min。

1.3.4 质谱条件 EI-MS SIS 模式检测时,电离能 70 eV,碎片扫描范围 m/z 40~400,选择定性监测离子为:AM (m/z 91、119),MAM (m/z 91、119),MDA (m/z 135、162),MDMA (m/z 135、154、162)。CI-MS/MS 模式检测时,使用甲醇为反应气,碎片扫描范围 m/z 40~400,选择定性监测离子为:AM (m/z 119、232),MAM (m/z 119、246),MDA (m/z 163、276),MDMA (m/z 163、290)。

2 结果与讨论

2.1 分析方法的优化

TFA 衍生化结合 GC/MS 是分析生物检材中苯丙胺类毒品的常见方法^[12-17]。然而,为了适应“毒驾”数据调查以及“毒驾”司法鉴定等特殊需求,需要在分析方法的灵敏度、准确性以及证据信息含量等方面对仪器分析方法进行优化。因此,选择 TFA 衍生化结合 GC-PCI-MS/MS 法作为分析手段,以甲醇为反应气,通过化

学软电离的形式,最大限度地保留目标物的准分子离子峰。为了获得最佳的分析效果,先后考察了有机溶剂的种类(正己烷和三氯甲烷)、萃取时间、时间编程、碰撞诱导裂解电压以及灵敏度调节等多项影响因素,并最终确定以正己烷为萃取剂萃取 15 min。4 种苯丙胺类毒品和内标的相关实验参数列于表 1。在优化的实验条件下,4 种苯丙胺类毒品和内标物与 TFA 衍生化产物均可获得良好的色谱分离结果,其色谱图示于图 1。准分子离子及碎片离子的质谱信息列于表 2。

2.2 分析方法的确证

取 1 mL 空白血,通过添加 50 mg/L 标准品混合液,配制毒品浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg/L 标准品添加系列血液样品。按 1.3.2 节进行前处理,GC-PCI-MS/MS 方法检测。以添加的标准品浓度为横坐标、待测物峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标,绘制标准曲线,并计算线性相关系数 R^2 。以血液样品中的最低添加浓度(信噪比 $S/N \geq 3$)作为检出限(LOD),详细结果列于表 3。实验表明,4 种苯丙胺类毒品在 0.1~5 mg/L 范围内呈线性关系($R^2 > 0.99$),最低检测限可达 mg/L 级。按照标准曲线中线性范围的低、中、高 3 个浓度,依据 1.3.1 节的添加方法分别配制 0.2、1.0、5.0 mg/L 标准品添加血液样品($n=5$)。按照 1.3.2 节进行萃取和处理,使用 GC-PCI-MS/MS 方法检测,根据目标物与内标峰面积的比值计算相对标准偏差(RSD)和回收率,结果列于表 4。由表 4 可知,该方法的加标回收率在 79.70%~104.89%之间,相对标准偏差均在 6.5%以下。

表 1 GC-PCI-MS/MS 法分析苯丙胺类毒品的相关实验参数
Table 1 Working parameters of GC-PCI-MS/MS for amphetamines

目标物	保留时间/min	时间编程/min	母离子/(m/z)	CID 电压/V	电子倍增器电压/V	灯丝电流/ μA
AM	7.696	5.0~8.5	232	0.4	300	100
MAM	9.157	8.5~10.5	246	0.3	200	100
MDA	11.870	10.5~12.5	276	0.3	300	100
MDMA	13.239	12.5~15.0	290	0.5	200	100
SKF525	19.039	15.0~26.0	354	0.6	300	50

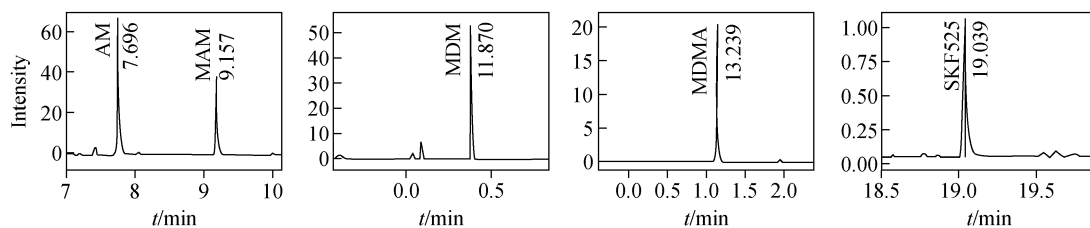


图1 4种苯丙胺类毒品和内标的TFA衍生化产物色谱图

Fig. 1 The chromatographs of TFA derivatives of four amphetamines and internal standard

表2 不同电离模式下,4种苯丙胺类毒品衍生化产物的准分子离子和碎片离子结构图

Table 2 The pseudo molecular ions and fragment ions of TFA derivatives of four amphetamines under CI and EI mode

毒品	CI 电离模式		EI 电离模式	
	准分子离子	碎片离子	碎片离子	
AM	 m/z 232	 m/z 119	 m/z 91	 m/z 119
MAM	 m/z 246	 m/z 119	 m/z 91	 m/z 119
MDA	 m/z 276	 m/z 163	 m/z 135	 m/z 162
MDMA	 m/z 290	 m/z 163	 m/z 135	 m/z 162
			 m/z 154	

表3 血液添加样品的GC-PCI-MS/MS检测法的检出限和线性范围

Table 3 The detection limit and linearity range of GC-PCI-MS/MS method for the analysis of blood samples

毒品	保留时间/min	标准曲线	相关系数 R^2	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	LOD/($\mu\text{g/L}$)
AM	7.696	$y=6.6978x-1.3907$	0.9962	0.1~5	0.25
MAM	9.157	$y=3.5224x-0.4557$	0.9955	0.1~5	0.15
MDA	11.870	$y=2.0117x-0.1966$	0.9946	0.1~5	0.15
MDMA	13.239	$y=0.8659x-0.0593$	0.9960	0.1~5	0.5

表 4 血液添加样品的 GC-PCI-MS/MS
检测法的回收率
Table 4 The recovery of GC-PCI-MS/MS method
for the blood samples

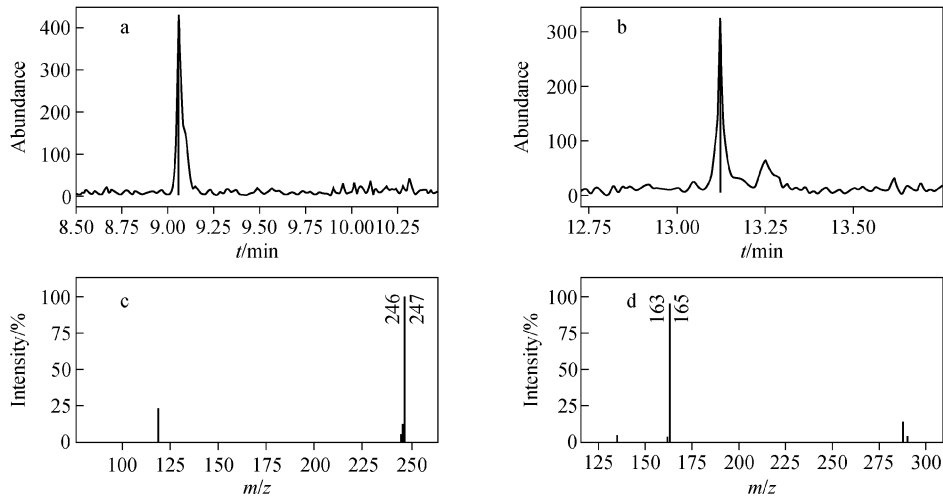
毒品	浓度/(mg/L)	RSD/% (n=5)	回收率/%
AM	5	1.8	91.24
	1	4.6	86.85
	0.2	4.5	104.89
MAM	5	2.8	99.98
	1	3.6	86.10
	0.2	6.5	90.72
MDA	5	2.2	79.70
	1	2.8	86.10
	0.2	5.8	97.21
MDMA	5	2.3	79.70
	1	2.4	86.38
	0.2	5.3	80.25

将本研究建立的 GC-PCI-MS/MS 方法与文献^[18]报道的 GC/EI-MS SIS 方法进行横向比较。从方法灵敏度的角度来看,对于相同添加浓度(10 mg/L)的 4 种苯丙胺类毒品,GC-PCI-MS/MS 方法对于 AM、MDA、MDMA 等目标物的响应要明显高于 GC/EI-MS SIS 方法;此外,GC/EI-MS SIS 方法在分析 MAM 时的优势比较微弱。从分析方法提供的证据信息角度来看,在 CI 模式下,可以在获得目标物碎片离子信息的同时保留目标物的分子结构信

息,这对于“毒驾”行为的证明更为全面;而在 EI 模式下,通常仅能获得目标物的碎片离子信息,这对于“毒驾”行为的证明力度相对欠缺。总而言之,与 GC/EI-MS SIS 法相比,GC-PCI-MS/MS 法利用串联质谱技术,在 GC/MS 基础上获得了更多的离子信息以及更加完整的物质结构信息,这使得分析方法的定性定量更加准确。

2.3 分析方法的应用

为了向立法部门提供更为有力的方法支撑,本研究对 370 份在北京地区发生交通事故的驾驶员血液样品进行“毒驾”测试(苯丙胺类毒品)。首先,使用试剂盒对血液检材(蒸馏水稀释,体积比 1 : 1)进行初筛。然后,对于阳性的实验结果,采用 GC-PCI-MS/MS 方法对其进行确证实验,结果示于图 2。结果表明,在 370 个血液样品中,1 个样品的初筛结果为阳性。使用 GC-PCI-MS/MS 方法对其进行复核后发现,该样品中含有 MAM(约 0.20 mg/L)和 MDMA(约 0.08 mg/L)两种苯丙胺类毒品。上述实验结果表明,2013 年 1~3 月期间,在北京地区发生交通事故的驾驶员中,吸食苯丙胺类毒品的概率约为 0.27%。虽然这一数字存在一定的偶然性,并不能代表所有时间段、所有地区、所有种类的“毒驾”情况,然而,它足以证明我国的“毒驾”问题是不容小觑的,“毒驾”法律法规的出台势在必行。



注:a. MAM 色谱峰;b. MDMA 色谱峰;c. MAM 质谱图;d. MDMA 质谱图

图 2 初筛结果为阳性的血液样品的确证实验分析结果

Fig. 2 The confirmation results of positive-screening blood sample

3 结论

对于微量陈旧血样中的苯丙胺类毒品, TFA 衍生化结合 GC-PCI-MS/MS 是一种灵敏、准确、证据信息量丰富的证据提供方法。该方法适合我国现阶段司法实践的需求, 可以成为“毒驾”数据调查以及“毒驾”证据分析的有效手段。370 份实际样品检测结果表明, 现阶段北京地区存在吸食苯丙胺类毒品后驾驶的情况, 这一现象应引起相关立法部门的注意。

致谢:感谢北京市公安局公安交通管理局在样品收集方面提供的大力支持; 感谢澳大利亚莫纳什大学 Olaf H DRUMMER 教授提供的澳大利亚维多利亚州“毒驾”路边检测方面的参考资料。

参考文献:

- [1] 陈帅锋, 李文君, 陈桂勇. 我国吸毒后驾驶问题研究[J]. 中国人民公安大学学报: 社会科学版, 2012, 28(1): 57-64.
CHEN Shuaifeng, LI Wenjun, CHEN Guiyong. Study of drug-driving problem in China[J]. Journal of Chinese People's Public Security University: Social Science Edition, 2012, 28(1): 57-64 (in Chinese).
- [2] KELLY E, DARKE S, ROSS J. A review of drug use and driving: Epidemiology, impairment, risk factors and risk perceptions[J]. Drug and Alcohol Review, 2004, 23(3): 319-344.
- [3] ARMENTANO P. Cannabis and psychomotor performance: A rational review of the evidence and implications for public policy[J]. Drug Testing and Analysis, 2013, 5(1): 52-56.
- [4] RAVERA S, MONTEIRO S P, JACOB de GIER J, et al. A European approach to categorizing medicines for fitness to drive: Outcomes of the DRUID project[J]. British Journal of Clinical Pharmacology, 2012, 74(6): 920-931.
- [5] KELLY E, DARKE S, ROSS J. A review of drug use and driving: Epidemiology, impairment, risk factors and risk perceptions[J]. Drug and Alcohol Review, 2004, 23(3): 319-344.
- [6] LENNE M G, DIETZE P, RUBOLD G, et al. Opioid dependence and driving ability: A review in the context of proposed legislative change in Victoria[J]. Drug and Alcohol Review, 2000, 19(4): 427-439.
- [7] SILBER B Y, PAPAFOITOU K, CROFT R J, et al. The effects of dexamphetamine on simulated driving performance[J]. Psychopharmacology, 2005, 179(3): 536-543.
- [8] JONES A W. Age- and gender-related differences in blood amphetamine concentrations in apprehended drivers: Lack of association with clinical evidence of impairment[J]. Addiction, 2007, 102(7): 1 085-1 091.
- [9] BROOKHUIS K A, de WAARD D, SAMYN N. Effects of MDMA (ecstasy), and multiple drugs use on (simulated) driving performance and traffic safety [J]. Psychopharmacology, 2004, 173(3/4): 440-445.
- [10] LAMERS C T, RAMAEKERS J G, MUNTJEWERFF N D, et al. Dissociable effects of a single dose of ecstasy (MDMA) on psychomotor skills and attentional performance[J]. Journal of Psychopharmacology, 2003, 17(4): 379-387.
- [11] MUSSHOFF F, MADEA B. Driving under the influence of amphetamine-like drugs[J]. Journal of Forensic Sciences, 2012, 57(2): 413-419.
- [12] 向平, 卓先义, 沈保华, 等. 生物检材中苯丙胺类兴奋剂和氯胺酮的 LC-MS/MS 分析[J]. 中国法医学杂志, 2006, 21(3): 149-151.
XIANG Ping, ZHUO Xianyi, SHEN Baohua, et al. Determination of amphetamines and ketamine in biological specimens by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2006, 21(3): 149-151 (in Chinese).
- [13] 沈敏, 沈保华, 向平. GC/MS/MS 法在头发中毒品及代谢物的筛选分析中的应用[J]. 质谱学报, 2002, 23(1): 11-20.
SHEN Min, SHEN Baohua, XIANG Ping. Application of GC/MS/MS to screening for drugs of abused in hair [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2002, 23(1): 11-20 (in Chinese).
- [14] 王玫. GDX-403 固相萃取分析尿、血中安非他明类毒品[J]. 中国法医学杂志, 1999, 14(2): 99-101.
WANG Mei. Solid extraction of amphetamines from urine and blood samples[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 1999, 14(2): 99-101

- (in Chinese).
- [15] 沈敏,沈保华,向平,等. 血、尿中甲基苯丙胺以及代谢产物苯丙胺的分析研究[J]. 法医学杂志, 1997,13(3):129-132.
- SHEN Min, SHEN Baohua, XIANG Ping, et al. Study on the analysis of methamphetamine and its metabolite amphetamine in blood and urine[J]. Journal of Forensic Medicine, 1997, 13 (3): 129-132(in Chinese).
- [16] 李雯佳,廖林川,陈莉莉,等. GC 法检测血液和尿液中甲基苯丙胺和咖啡因[J]. 中国法医学杂志, 2009,24(1):11-14.
- LI Wenjia, LIAO Linchuan, CHEN Lili, et al. Simultaneous determination of methamphetamine and caffeine in whole blood and urine by GC[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2009, 24 (1): 11-14(in Chinese).
- [17] 邸玉敏,朱军,常靖,等. SPE-GC/MS、GC/NPD 法检测血液中苯丙胺类毒品[J]. 刑事技术, 2010,(3):11-14.
- DI Yumin, ZHU Jun, CHANG Jing, et al. Determination of amphetamine-type stimulants in blood by solid-phase extraction using gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography-nitrogen-phosphor detector technique[J]. Forensic Science and Technology, 2010, (3): 11-14 (in Chinese).
- [18] 孟品佳,王燕燕,朱丹. 生物样品中苯丙胺类毒品的小体积液相萃取及 GC/MS 分析[J]. 应用化学, 2008,25(12):1 448-1 454.
- MENG Pinjia, WANG Yanyan, ZHU Dan. Small-volume liquid extraction of amphetamines from bio-samples and GC/MS analysis[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2008, 25 (12): 1 448-1 454(in Chinese).
- [19] YINON J, RATON B. Forensic Applications of Mass Spectrometry[M]. Boca Raton, CRC Press, 1994.

2015 第三届原位电离质谱会议通知(第一轮)

由中国质谱学会主办、华质泰科承办的“2015 第三届原位电离质谱会议”(AIMS2015)即将于 2015 年 4 月 24—25 日在成都举办,我们诚挚的邀请您莅临这一盛会,与同仁共享新理念,研讨新热点,交流新经验,推动实时科学与质谱行业的整体发展。欢迎质谱工作者和相关专业的学者积极参与!

一、会议主题

1. 原位电离技术前沿基础;
2. 原位电离质谱技术应用;
3. 原位电离技术产业化;
4. 原位电离主题培训。

二、墙报征文要求

1. 征文范围:凡未在刊物上公开发表的关于原位电离技术研究的论文或综述,原位电离技术在食品药品安全、环境卫生、化工医药、生物技术、临床诊断、法庭医学及其它相关研究领域的新理论、新技术、新方法等的学术论文均可向本次大会投稿;

2. 应征论文需提供 2 个 A4 版面以内的全文或论文摘要。同时接受英文稿件,稿件录入大会会刊;

3. 应征论文全文或摘要请用 E-mail 投至邮箱:aims@aspecttechnologies.com,邮件主题中须注明“第三届中国原位电离质谱会议论文”或“2015AIMS 论文”字样,并注明主题编号;请在投稿时注明拟采取的交流方式:“墙报”、“或申请“口头报告”。

三、参会费用

1. 国内参会代表会务费:1 980 元/人,学生代表会务费:1 280 元/人;
2. 交通及酒店住宿等费用参会代表自行承担。

四、报名联系方式

电话: +86-10-6439-9978;传真: +86-10-6439-9499

联系人: Echo Jia(手机 13699211622)、Penny Zhang(手机 15821607091)

E-mail: aims@aspecttechnologies.com; info@aspecttechnologies.com