

采用 Agilent 7200 GC/Q-TOF 表征和分类缉获的违禁毒品中的海洛因

应用简报

法医学

作者

Koluntaev Dmitry
InterLab Inc.
俄罗斯，莫斯科

Sergei Syromyatnikov 和
Igor Sarychev
俄罗斯联邦药物管制服务中心
俄罗斯，莫斯科

Sofia Aronova
安捷伦科技有限公司
加利福尼亚州圣克拉拉市

摘要

采用非目标物 GC/Q-TOF 分析方法成功区分了可能来自不同犯罪集团的市售海洛因样品。使用 Agilent Mass Profiler Professional 软件的统计学分析工具建立了样品预测模型，它能够以超过 90% 的准确度确定未知样品属于哪个样品组。



Agilent Technologies

前言

打击违禁毒品走私是执法机构的主要职责之一。在调查毒品贩卖的刑事案件期间，一个主要的任务是找到将麻醉品带入国内的犯罪组织。通过法医检测了解查获的毒品的组成和质量对于查找和摧毁此类犯罪集团至关重要。

使用违禁毒品的化学成分确定其来源，需要对不同地方查获的毒品进行比较研究。最常见的违禁毒品是海洛因，也就是所谓的市售海洛因。这些毒品通常是多组分混合物，不仅包含海洛因，也包含多种添加剂，如具有药物活性的化合物和中性物质。确定这些未加工混合物的组成需要一种能够精确鉴定和定量复杂基质中大量化学组分的方法。

四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱仪具有精确质量数分析能力，尤其适用于表征此类复杂的市售海洛因样品。本应用简报介绍了一种使用 Agilent 7200 GC/Q-TOF 系统对比研究市售海洛因样品的方法。海洛因样品的表征谱图是利用 Mass Profiler Professional (MPP) 做进一步统计学分析的基础。本方法鉴定出了两个主要海洛因样品组，所建立的样品分类预测模型可精确测定具体的样品属于哪个样品组。此类模型为确定市售海洛因的来源和查找分销毒品的犯罪组织提供了宝贵的法医学工具。

实验

仪器

本研究联合采用 Agilent 7890B 气相色谱系统与 Agilent 7200 系列 GC/Q-TOF 系统。表 1 中列出了仪器条件。

样品前处理

市售海洛因样品从查获的 22 批海洛因中抽取。首先将海洛因样品用氯仿萃取，然后用乙胺进行处理以去除增量剂。收集下相做进一步研究。

表 1. Agilent 7890 气相色谱和 Agilent 7200 GC/Q-TOF 质谱的仪器条件

条件	主要成分	次要成分
色谱柱	HP-5MS 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 膜厚	
进样量	0.3 μL	0.5 μL
分流比	400:1	30:1
分流/不分流进样口温度	280 °C	
柱温箱升温程序	在 100 °C 保持 1 分钟 以 10 °C/min 升至 280 °C, 保持 3 min 以 10 °C/min 升至 300 °C, 保持 5 min	
载气	氦气, 1.2 mL/min, 恒流	
传输线温度	290 °C	
电离模式	EI	
离子源温度	230 °C	
四极杆温度	150 °C	
扫描范围	50 m/z 至 500 m/z	
谱图采集速率	5 Hz, 轮廓质谱图和棒状质谱图均适用	
发射电流	12 μA	35 μA
次要化合物使用的离子化参数		
时间段	碰撞能量 (eV)	时间范围 (min)
1	12	11.9–12.4
2	12	15.0–15.8
3	12	19.3–19.8

数据处理与统计学分析

在数据处理时，使用 MassHunter 定量分析软件包 (B.07) 中的未知物分析工具进行色谱峰解卷积，然后通过 NIST11 质谱数据库进行对比来鉴定化合物。使用精确质量数和同位素丰度信息以及 MassHunter 定量分析工具，如分子式生成器 (MFG) 和碎片分子式注释 (FFA) 来验证化合物的鉴定结果。

采用多元统计学分析包 MPP (12.6) 进行统计学分析，查找不同样品组中不同浓度的化合物。随后 MPP 软件使用这些数据创建样品的分类预测模型。

结果与讨论

数据采集与化合物鉴定

使用两种不同的采集方法来采集样品中主要成分和次要成分的数据。主要化合物的采集方法使用较低的灯丝发射电流，可避免灯丝饱和。采用较高的发射电流采集次要成分的分析数据，但是在主要成分流出期间降低离子化能量。

色谱图解卷积先采用未知物分析工具，然后通过与 NIST11 质谱数据库比对来鉴定化合物。海洛因样品中最常见的组分为吗啡生物碱和吗啡衍生物。除了一个样品外，其他所有样品均含吗啡的单酰衍生物，包括 6-单乙酰吗啡和乙酰可待因。大多数样品也检测出了许多其他常见的生物碱和药物活性物质（表 2）。

表 2. 市售海洛因中的常见化合物

生物碱类	
化合物	对应的样品数
诺斯卡品	50
罂粟碱	50
袂康宁	43
吗啡	40
氢化可塔宁	13
可待因	10
掺杂物	
化合物	对应的样品数
咖啡因	55
右美沙芬	27
托利卡因	18
对乙酰氨基酚	5

为了表征市售海洛因样品中鸦片生物碱的含量，使用以下公式测定了生物碱的相对比率：

$$U_n = \frac{S_n}{S_{ac} \times \Sigma n_i}$$

U_n = 生物碱 n 的相对比
 S_n = 生物碱 n 的峰面积
 S_{ac} = 乙酰可待因的峰面积
 Σn_i = 所有检测到的生物碱的峰面积总和

图 1 以图形形式绘制了 20 种样品的生物碱相对比率，显示了根据不同生物碱的构成，样品可以分类成两个主要样品组。

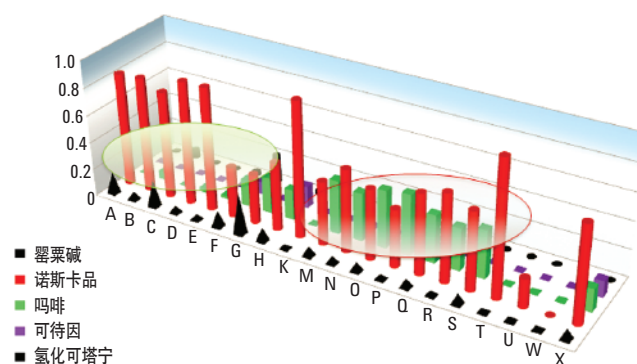


图 1. 相对于乙酰可待因比较了市售海洛因样品中鉴定出的天然生物碱

对于少数无法获得高数据库匹配分值的化合物，需要采用其他确证步骤，如使用精确质量数信息和 MassHunter 定性分析结构解析工具，包括具有数据库检索功能的分子式生成器 (MFG) 和碎片分子式注释 (FFA)。图 2 显示了初步鉴定为 6-乙酰-醋酸巴豆素的质谱图，55 个样品中有 36 个可检出该化合物。

当分子离子在数据库中命中时，软件即可对其进行鉴定。MFG 和 FFA 基于数据库命中的经验式和精确质量数质谱数据，可以给出作为经验式组成部分的碎片分子式。这些注释离子显示为绿色（图 2）。如果由于存在不属于化合物的干扰离子或者离子统计分析结果太差，而导致给定碎片离子无法与谱库进行良好匹配时，离子将保持显示为红色。分子离子及其同位素理论上存在同位素分布叠加（粉色矩形框）。使用串接质谱对化合物的鉴定做进一步确证，以验证 m/z 282.1081 的离子是否是 m/z 367.1418 离子的产物离子。

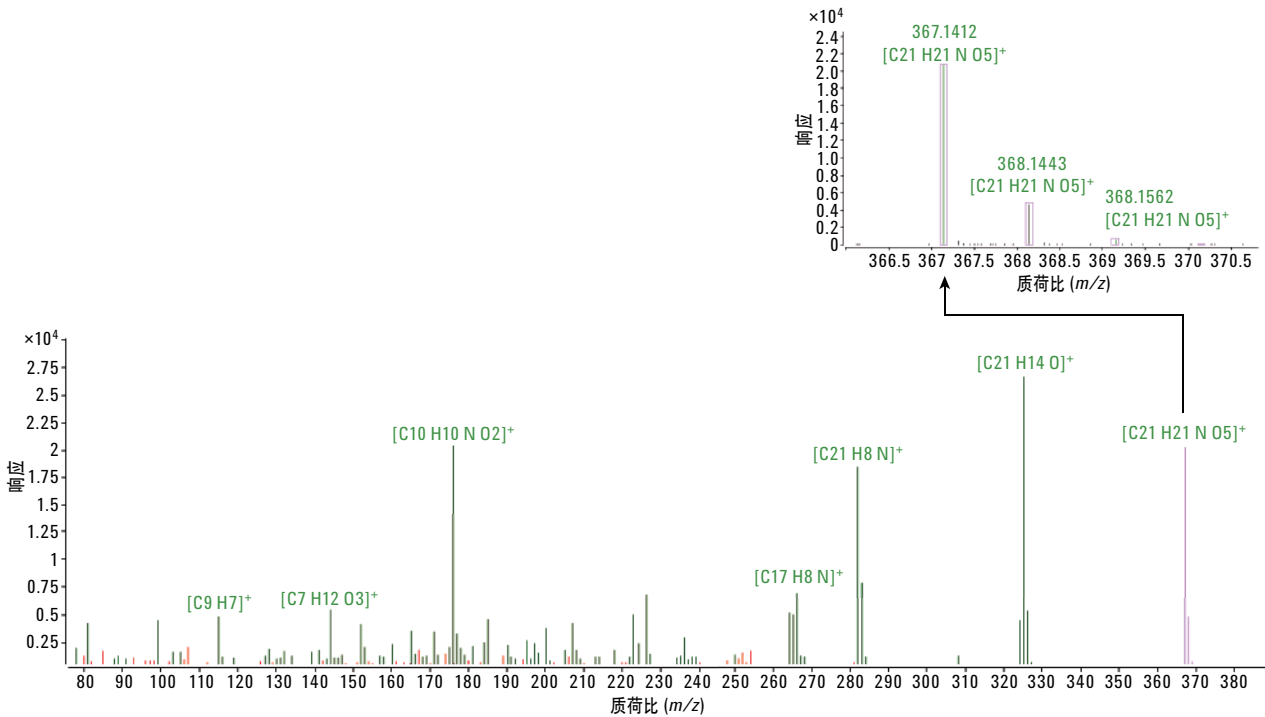


图 2. 使用 MFG 和 FFA 以及数据库检索初步鉴定为 6-乙酰-醋酸巴豆素的标注质谱图。分子离子及其同位素（右上角的放大图）理论上存在同位素分布叠加（粉色矩形框），表明观测比率的准确性

主成分分析

主成分分析 (PCA) 用于观察主要成分和次要成分的数据聚类情况。图 3 的 PCA 图表明当采用 GC/Q TOF 法分析主要成分时 (A 图), 样品组之间没有显著的分。当使用次要成分的数据采集法时, 所采集的数据显示出这些成分至少可以分为两大样品组 (B 图)。

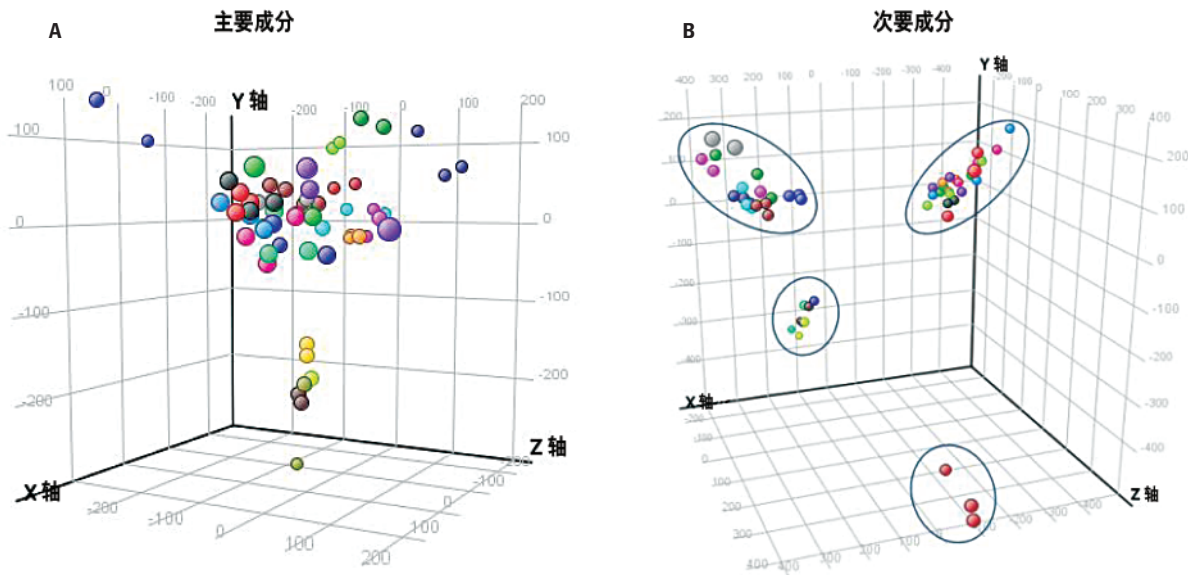


图 3. 采用 GC/Q TOF 分析组分所得到的 PCA 图, 表明当采用 GC/Q TOF 法分析主要成分时, 样品组之间没有显著的分。当使用次要成分的数据采集法时, 所采集的数据显示出这些成分至少可以分为两大样品组 (B 图)

分层聚类分析

图 4 的分层聚类分析 (HCA) 使次要成分的聚类更加形象, 确定了存在两大主要的样品组。两种样品组中存在多种海洛因生物碱, 还包括其他药物活性剂和有机化合物, 如托利卡因、右美沙芬和对异丙氧基苯胺。

各种海洛因生物碱的不同相对浓度对于两种样品组的分离发挥了重要的作用。我们放大了 HCA 图中横跨所有样品的两处很小的垂

直剖面, 揭示了这些生物碱的作用。例如, 相对浓度较高 (显示为红色) 的 7,8-二氢-3-脱氧吗啡和氢化可待宁归类到右边的样品组, 但是相对浓度较低 (显示为蓝色) 的袂康宁和罂粟碱归类到左边的样品组。

对于不是衍生自海洛因的化合物, 也可以用于表征两大主要的样品组。例如, 相对浓度较低的对异丙氧基苯胺归类到左边的样品组, 而相对浓度较高的样品则归类到右边的样品组 (图 4)。

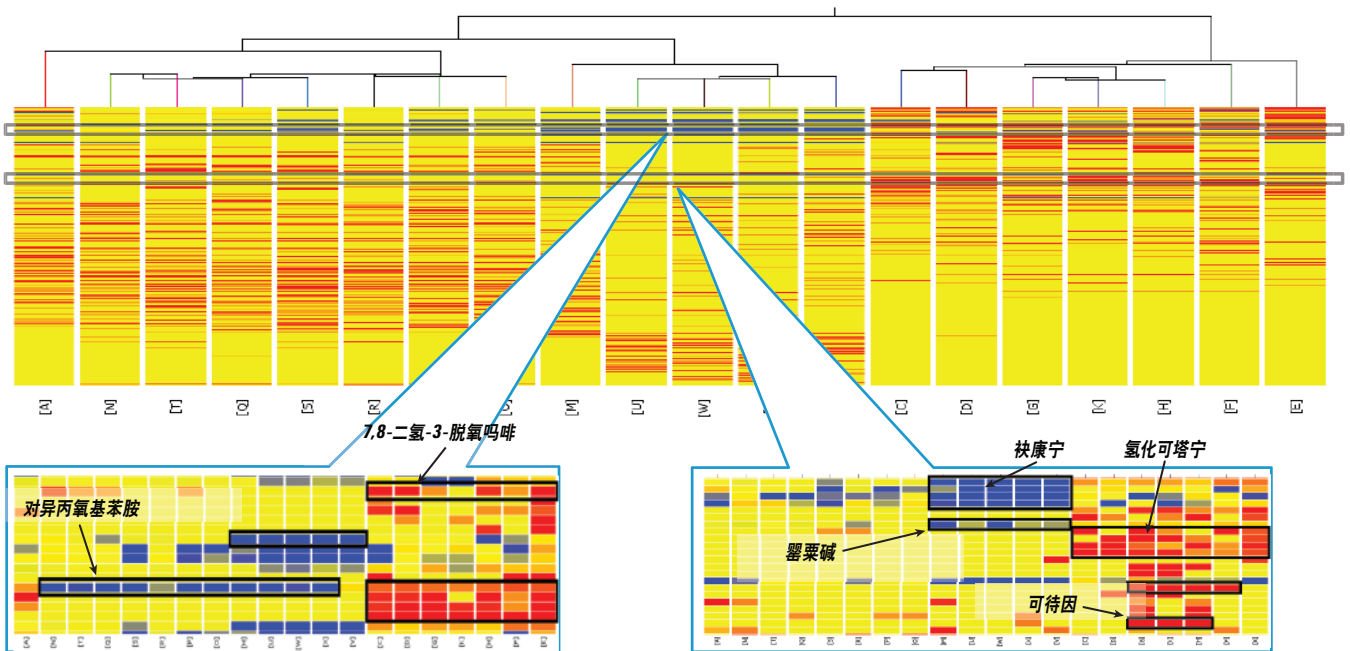


图 4. 分层聚类分析 (HCA) 确定了存在两大主要的样品组。显示了一些可能有助于两大样品组的分类的特征化合物

样品分类预测模型

使用 PCA 和分层聚类图获得了两种主要化合物的聚类图，这与半定量分析法鉴定样品中的杂质具有一致的分析结果（图 1）。这两种主要的聚类将进一步用于在 MPP 软件中建立样品分类预测模型。接着对先前已归类到两大样品组的样品使用第二 PCA 图做进一步评估，以确认样品只包含这两大样品组（图 5）。图 5 也使用火山图形象地显示了对此分类起特别作用的化合物。火山图显示了这两大样品组在丰度上的倍数变化的差异。使用的阈值为正负 2 倍的变化倍数以及 p 值为 0.05，以确保两组样品在统计学上有显著差异。

目前已开发了一些技术用于创建样品分类预测模型。MPP 软件提供了五种算法来建立此类模型：偏最小二乘判别分析 (PLS DA)、支持向量机 (SVM)、朴素贝叶斯 (NB)、决策树 (DT) 和神经网络方法 (NN)。DT 算法作为无监督分类学习法中最成功的一种方法，用于为两大样品组创建分类预测模型，该样品组由 31 种样品的数据推断而得（图 6）。该模型已证明样品组 1 的准确度为 91.7%，样品组 2 的准确度为 100%。然后使用这 31 种样品和其他未用于创建模型的 6 种样品测试样品分类预测模型。其中只有两个样品不能正确分类，表明这是一个合理的统计学步骤。

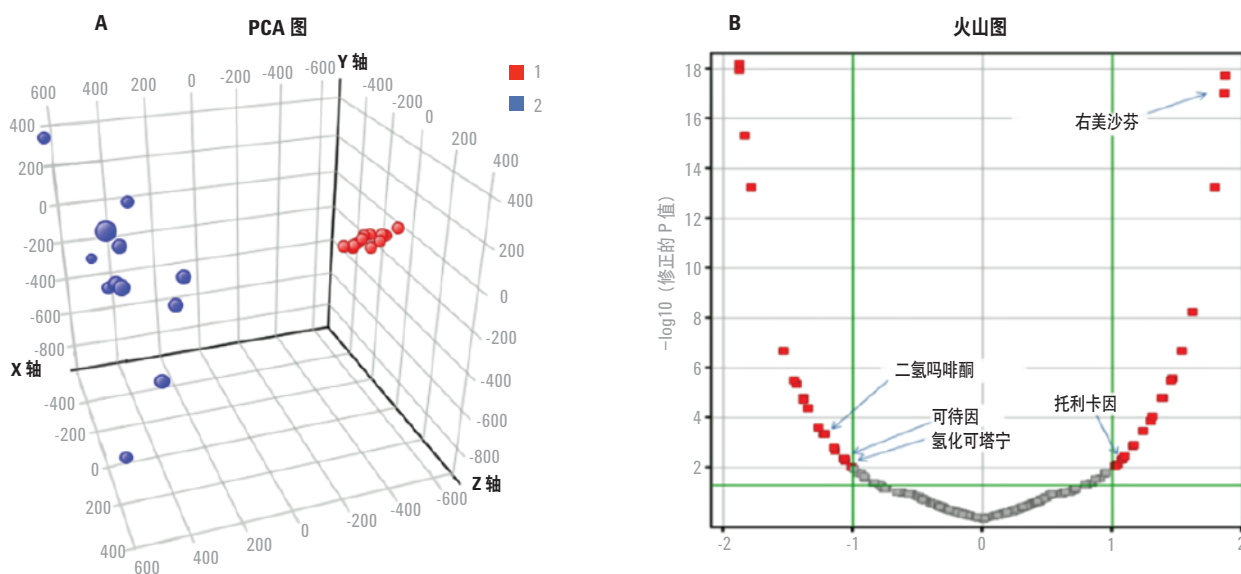


图 5. A) 选用两组评估用的次级样品组建立样品分类模型的 PCA 图；(B) 显示了两个次级样品组间含量显著不同的化合物的火山图

	[1] (Predicted)	[2] (Predicted)	Accuracy
Sample Group 1	11	1	91.667
Sample Group 2	0	12	100.000
Overall Accuracy			95.833

图 6. 决策树分类预测模型的验证算法输出界面，该模型的建立采用 GC/Q-TOF 法分析市售海洛因所得的数据。该模型对样品组 1 中样品的预测准确度为 91%，对样品组 2 中样品的预测准确度为 100%

结论

采用非目标物 GC/Q-TOF 分析方法可成功区分来自不同犯罪集团的市售海洛因样品。Agilent 7200 系列 GC/Q-TOF 提供精确质量数信息，这对于定性和定量几种鸦片生物碱和其他非鸦片类药物活性剂至关重要。Mass Profiler Professional 软件可以自动挖掘和处理数据，从而找出最具代表性的化合物，建立高准确度的样品分类预测模型。该模型可以确保将执法部门查获的未知海洛因样品分配到本文鉴定的两个市售海洛因样品组之一。

更多信息

有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站

www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014
中国印刷
2014 年 5 月 2 日
5991-4369CHCN



Agilent Technologies