

快速溶剂萃取-凝胶色谱净化-GC/MS 结合测定血中的滥用药物

徐洁蕾¹, 应剑波², 李晓飞²

(1. 浙江大学, 浙江 杭州 310058; 2. 杭州市公安局物证鉴定所, 浙江 杭州 310004)

摘要:建立了血中 10 种滥用药物的快速溶剂萃取与气相色谱-质谱联用的分析方法。取一定量的三氧化二铝放入萃取池中作为吸附剂,通过快速溶剂萃取仪萃取血中的 10 种滥用药物,经在线初步净化后,运用自动凝胶渗透色谱净化仪进一步净化,样品用气相色谱-质谱联用仪进行全扫描和选择离子模式分析。结果表明:3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺、非那西汀、氯胺酮、曲马多、可卡因、蒂巴因、罂粟碱、那可汀在 $1.2\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好,杜冷丁在 $2.4\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好,海洛因在 $1.2\sim 6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。10 种滥用药物的回收率在 91%~97% 之间,相对标准偏差均小于 10%。

关键词:滥用药物;快速溶剂萃取;凝胶色谱;气相色谱-质谱(GC/MS)

中图分类号:O 657.63 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2010)02-0125-04

Determination of Components of Mixed Drugs of Abuse in the Blood Using GC/MS Coupled with Accelerated Solvent Extraction and Gel Permeation Chromatographic Purification

XU Jie-lei¹, YING Jian-bo², LI Xiao-fei²

(1. Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Public Security Bureau of Hangzhou, Hangzhou 310004, China)

Abstract: A method for the determination of 10 mixed drugs of abuse in blood was developed by gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS) coupled with accelerated solvent extraction(ASE). The target analytes were extracted with $V(\text{ethyl acetate}) : V(\text{cyclohexane}) = 1:1$ by accelerated solvent extraction, and cleaned by auto gel permeation chromatography(GPC). The qualitative and quantitative analysis were carried out by GC/MS. The total ion chromatogram and selected ion chromatogram were obtained. The calibration of mdma, phenacetinum, ketamine, ramadol, cocaine, thebaine, papaverine, narcotine have a good linear relationship in the range of $1.2\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, meperidine has a good linear relationship in the range of $2.4\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and herion has a good linear relationship in the range of $1.2\sim 6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The linearity correlation coefficients of 10 mixed drugs of abuse are between 0.993 and 0.997. The average recoveries are 91%—97% with relative

收稿日期:2009-05-15;修回日期:2009-12-07

基金项目:杭州市科技局计划项目(20061133B22)资助

作者简介:徐洁蕾(1979~),女(汉族),浙江人,助理研究员,从事公共卫生领域研究。E-mail:xjl09@yahoo.com.cn

通信作者:应剑波(1977~),男(汉族),工程师,从事毒物分析研究。E-mail:yjb9732131@yahoo.com.cn

standard deviations of 2%—9.5%.

Key words: drug abuse; accelerated solvent extraction (ASE); gel permeation chromatographic (GPC); gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)

近几年药物滥用已由传统的阿片、海洛因发展为兴奋剂、致幻剂、镇静催眠剂等精神药物,品种繁多。常见于成瘾滥用、麻醉犯罪以及过量服用,因此对血、尿等体液中该类药物及其代谢物的检测在司法鉴定中具有重要的意义。血、尿中该类药物和代谢物的筛选分析一般采用液液萃取法^[1-3],固相萃取法^[4-7],固相微萃取法^[8-9],微波萃取^[10]等。但这些方法操作程序较为复杂、自动化程度不高、仪器使用条件苛刻,方法的重现性、精密度等完全依赖操作人员的水平,对分析人员的要求较高,具有一定的局限性。快速溶剂萃取法具有有机溶剂用量少、快速、基体影响小、自动化程度高、萃取效率高、使用方便、安全性好等特点,已被确认为美国 EPA 标准方法(编号 3545)。目前,国内快速溶剂萃取法多用于检验农药、鼠药、石油类等物质^[11-12],而检验滥用药物的报道极少。本工作采用快速溶剂萃取,凝胶色谱浓缩净化与 GC/MS 结合分析国内常见的 10 种滥用药物。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Dionex ASE 100 型快速溶剂萃取仪:美国戴安公司产品;GPC VARIO 凝胶渗透色谱仪:德国 LC tech 公司产品;安捷伦 6890 气相色谱仪-5975N 质谱联用仪:美国安捷伦公司产品;安捷伦 7683 自动进样器:美国安捷伦公司产品;VF-5 石英毛细管色谱柱。环己烷、乙酸乙酯(均为高效液相色谱级):购自迪马公司;氧化铝(分析纯,将氧化铝加热至 350 °C,15 h);颗粒装硅藻土:购自美国戴安公司。

标准对照品:3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺(mdma)、非那西汀(phenacetinum)、杜冷丁(meperidine)、氯胺酮(ketamine)、曲马多(ramadol)、吗啡(mafei)、可卡因(cocaine)、蒂巴因(thebaine)、罂粟碱(papaverine)、海洛因(herion)、那可汀(narcotine)均购自公安部物证鉴定中心,上述标样均用甲醇配制成浓度为 1 g · L⁻¹的储备液。

pH 10.8 碳酸盐缓冲液:53.0 g 无水碳酸

钠,42.0 g 碳酸氢钠,加水溶解至 500 mL。

空白血浆:购自杭州市中心血站,含柠檬酸钠抗凝剂。

1.2 样品处理

取 34 mL 的萃取池,依次加入 5 g 三氧化二铝和 1 g 硅藻土。将硅藻土压紧,备用。

取 5 mL 血液,加入 0.5 mL pH 10.8 缓冲液,混匀后倒入装有 10 g 硅藻土的蒸发皿中,再倒入事先准备好的装有三氧化二铝和硅藻土的萃取池中,置于快速溶剂萃取仪的样品卡口处,按设定的提取程序运行:系统压力 12 kPa,加热炉温度 120 °C,加热时间 5 min,静态萃取时间 5 min。萃取溶剂为 V(乙酸乙酯):V(环己烷)=1:1 的溶液,用 60% 溶剂冲洗;氮气吹扫时间 90 s,静态萃取次数 2 次。萃取完毕后,将萃取液倒入 50 mL 试管中离心,取上清液供 GPC 浓缩净化,定容至 2 mL,提取液待分析测定。

1.3 实验条件

1.3.1 气相色谱-质谱条件 色谱柱:弹性毛细管柱 VF-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm);程序升温:初温 80 °C,保持 1 min,以 20 °C · min⁻¹升至 280 °C,保持 12 min;流速 1.0 mL · min⁻¹;进样口温度 260 °C;不分流进样,进样 1 μL;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;辅助接口温度 280 °C;EI 电压 70 eV;扫描方式:SCAN 和 SIM 同时采集;溶剂延迟时间 4.2 min。

1.3.2 凝胶色谱条件^[14] GPC 净化柱(25 mm×400 mm);填料:50.0 g Bio-Beads S-X3 (Bio-Rad);流动相为 V(乙酸乙酯):V(环己烷)=1:1 的溶液;流速 5.0 mL · min⁻¹;杂质丢弃时间(GPC-Forerun)1 020 s;主要收集时间(GPC-main faction)820 s;高位激光真空度 18 kPa,低位激光真空度 21 kPa。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的考察

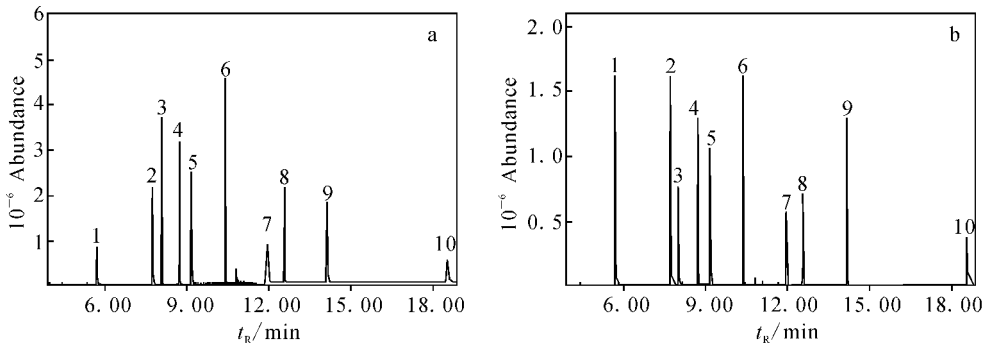
根据 10 种滥用药物在所选色谱条件下的 t_R 值和 TIC 图,确定各药物的选择监测离子,列于表 1。色谱图和选择离子图示于图 1。

表 1 10 种药物的 SIM 分析参数

Table 1 SIM analytical parameters for 10 mixed drugs

序号	t_R/min	组分	选择离子/ (m/z)	扫描范围
1	5.794	3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺	58*, 135, 77	50~200
2	7.756	非那西汀	108*, 137, 179	50~200
3	8.086	杜冷丁	71*, 218, 247	50~250
4	8.745	氯胺酮	180*, 209	50~250
5	9.174	曲马多	58*, 263	50~300
6	10.422	可卡因	182*, 82, 303	50~350
7	11.964 2	蒂巴因	311*, 296	200~350
8	12.587 9	蒂巴因	327*, 369, 310	300~400
9	14.155 1	罂粟碱	338*, 324	300~400
10	18.569 0	那可汀	220*, 205	200~250

注: * 为定量离子



注: 1. 3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺; 2. 非那西汀; 3. 杜冷丁; 4. 氯胺酮;
5. 曲马多; 6. 可卡因; 7. 蒂巴因; 8. 海洛因; 9. 罂粟碱; 10. 那可汀

图 1 10 种滥用药物的色谱图(a)和选择离子流图(b)

Fig. 1 Chromatogram(a) and selected ion monitoring chromatogram(b) of 10 mixed drugs of abuse

2.2 萃取温度的选择

实验考察了萃取温度在 100、110、115、120、125 °C 条件下的萃取效果, 结果证明, 随着温度的升高, 滥用药物的萃取率增大, 温度越高, 萃取的杂质也相应增加。在 115 °C 条件下, 可取得满意效果, 故萃取温度选为 115 °C。

2.3 三氧化二铝重量的选择

实验发现, 血液直接和硅藻土混合后经快速溶剂萃取, 提取液中含有的色素等杂质较多。氧化铝具有吸附色素、蜡质、脂肪的作用^[14], 为降低杂质对后期检测结果的影响, 在萃取池底部放入一些氧化铝, 以达到在线净化的目的。

取 4 份 5 mL 待检测血液, 分别与硅藻土混匀后, 装入底部加有 3、4、5、6 g 三氧化二铝的萃

取池中进行比较实验。结果证明: 加入 5 g 三氧化二铝的吸附效果较好, 故选择 5 g 三氧化二铝作为吸附剂。

2.4 方法的回收率和线性范围

在优化的实验条件下, 测定了 10 种滥用药物的线性范围、回归方程相关系数, 结果列于表 2。对回收率测定, 取空白试样添加 1 μg 分析物, 测定 3 次。

2.5 讨论

本工作采用所建立的方法考察了 pH 值对血中吗啡提取率的影响。结果发现, 在 pH 10.8 时比 pH 8.5 时的提取率高, 这与孟品佳等^[15]研究的结果一致。

表 2 10 种滥用药物的线性范围、平均回收率和相对标准偏差

Table 2 Linearity, recoveries, the relative standard deviations of 10 mixed drugs of abuse

t_R/min	组分	回归方程	线性范围/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	r^2	回收 率/%	RSD/% ($n=3$)
6.992	3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺	$Y=6.20 \times 10^2 x + 9.87 \times 10^2$	1.2~7.2	0.993	97	3
7.95	非那西汀	$Y=2.22 \times 10^4 x + 1.93 \times 10^4$	1.2~7.2	0.997	91	4
8.28	杜冷丁	$Y=3.28 \times 10^4 x + 4.41 \times 10^4$	2.4~7.2	0.997	95	9.5
8.94	氯胺酮	$Y=2.39 \times 10^4 x + 1.02 \times 10^4$	1.2~7.2	0.997	93	2
9.37	曲马多	$Y=6.66 \times 10^4 x + 13.8$	1.2~7.2	0.993	92	4
10.62	可卡因	$Y=2.60 \times 10^4 x - 70.1$	1.2~7.2	0.994	96	3
12.31	蒂巴因	$Y=2.73 \times 10^3 x + 2.30 \times 10^3$	1.2~7.2	0.999	96	3
12.91	蒂巴因	$Y=3.14 \times 10^3 x + 2.07 \times 10^3$	1.2~6	0.991	96	3
14.62	罂粟碱	$Y=1.07 \times 10^4 x + 7.52 \times 10^3$	1.2~7.2	0.995	96	3
19.964	那可汀	$Y=9.04 \times 10^3 x - 7.86 \times 10^2$	1.2~7.2	0.993	96	3

3 小结

本工作采用 ASE-GPC-GC/MS 相结合同时测定血中 10 种滥用药物的方法, 具有萃取效率高、提取杂质少、精密度高、省时省力等特点。该方法的回收率等各项方法学指标均符合微量分析要求, 简化了萃取过程, 提高了滥用药物的提取、净化等过程的自动化程度, 防止了污染, 减少了损失。

参考文献:

- [1] 王国建, 任桂芳, 李敏刚, 等. 尿中咪达唑仑提取方法及检验[C]. 第三届全国毒物分析学术交流会议论文集, 2000: 228-230.
- [2] 陈朝阳, 王玉瑾, 安健康. GC/MS 法同时检测生物样品中苯丙胺、甲基苯丙胺及 MDMA[J]. 中国药物依赖性杂志, 2005, 14(2): 149-151.
- [3] 刘克林, 朱玉军, 刘凤, 等. 生物样品中鸦片类毒品检验概述[J]. 刑事技术, 2004, 1: 32-36.
- [4] 沈敏, 向平, 沈保华. 体液中常见滥用药物的系统筛选分析[J]. 中国司法鉴定, 2000, 1: 1-6.
- [5] 周娣, 张文芳, 周健. 全自动固相萃取仪与 GC/MS 的结合应用—生物检材中的药毒物检测分析[J]. 质谱学报, 2002, 23(4): 225-228.
- [6] 刘克林, 沈伟峰, 张春水, 等. 腐败生物检材中毒物毒品检测几种新技术的应用介绍[J]. 刑事技术,

2002, 2: 30-35.

- [7] 朱彬玲, 张兰, 张绍雨. 血清中盐酸曲马多的膜式固相萃取及 GC/MS SIM 测定[J]. 法医学杂志, 2006, 22(6): 428-430.
- [8] 张绍雨, 黄增萍. 尿中苯丙胺、甲基苯丙胺、MDA 和 MDMA 的固相微萃取和 GC/MS/SIM 测定[J]. 中国法医学杂志, 2005, 20(2): 86-88.
- [9] 雷晓玲, 王俊德. 固相微萃取在药品和生物样品分析中的应用[J]. 色谱, 2002, 20(3): 210-215.
- [10] 孙洪锋, 谷学新, 王继芬, 等. 微波萃取-气相色谱法测定血液中的甲基苯丙胺[J]. 色谱, 2007, 25(4): 590-593.
- [11] 张桃英, 饶竹. 快速溶剂萃取-气相色谱测定果蔬中有机氯农药残留的研究[J]. 农药科学与管理, 2005, 26(10): 10-13.
- [12] 许雄飞, 丁庆云, 张秀影, 等. 快速溶剂萃取红外分光法测定土壤中石油类[J]. 光谱实验室, 2008, 25(3): 341-344.
- [13] 田国刚, 应剑波, 李晓飞, 等. 凝胶色谱净化浓缩联用仪在毒物分析中的应用[J]. 刑事技术, 2008, 3(3): 23-26.
- [14] 陆惠民. 毒物分析[M]. 北京: 警官教育出版社, 1995: 196.
- [15] 孟品佳, 王景翰, 姜兆林, 等. 生物体液中吗啡的提取方法研究[J]. 法医学杂志, 1999, 15(1): 17-18.