

膜提取气相色谱/质谱大体积进样 检测海洛因吸食者尿液中的代谢物

蔡锡兰* 吴国萍

(江苏公安专科学校技术系, 南京 210012)

1 引言

采用固相膜提取技术对尿样进行处理,用GC/MS大体积进样方法测定海洛因吸食者尿液中的代谢物浓度,并系统考察了吗啡、单乙酰吗啡的提取回收率、线性关系等指标,所建立的方法对吗啡和单乙酰吗啡的回收率均大于80%;最低检出限为0.01 mg/L。用代谢物特征离子与内标物特征离子峰高比测定吗啡与单乙酰吗啡的浓度,在每mL尿添加0.02~50 μg范围内,二者均有良好的提取线性关系,并对一例海洛因滥用者的尿液进行了成功检测。

2 实验部分

2.1 主要仪器及工作条件 Autosystem XL/TurboMass 气相色谱质谱联用仪(PE公司)。GC: PE-MS 5 毛细管柱, 20 m × 180 μm(id) 50℃(1.5 min) $\xrightarrow{40^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280℃(10 min); 大体积进样, 利用程序升温毛细管分流/不分流进样器(PSS), 50℃(0.5 min) $\xrightarrow{200^\circ\text{C}/\text{min}}$ 320℃(18 min)。进样量: 50 μL。MS: 电离源 E1; 传输线温度: 280℃; 电离电压 70 eV; 离子源温度: 260℃; 全扫范围: 50~500 amu。

2.2 主要试剂及器材 1 g/L 盐酸吗啡、单乙酰吗啡、200 mg/L SKF-525A 乙醇溶液冷藏备用。碳酸钠和碳酸氢钠的缓冲溶液。甲醇、二氯甲烷、无水乙醇均为优级纯。空白尿液和吸食海洛因者尿液。固相萃取装置。

2.3 检材的前处理 (a)有机固相膜用二氯甲烷浸泡清洗杂质, 甲醇活化晾干后备用。(b)添加回收率及精密度实验: 取10 mL 试管, 分别加入1 g/L 吗啡标准液, O⁶-单乙酰吗啡标准液 10、5、2、1 μL, SKF-525A 2 μL, 再加入4 mL 空白尿液, 混匀。利用缓冲溶液调节尿液中PH值, 超声波振荡后用活化的固相萃取膜提取。(c)检材尿液提取: 取10 mL 干净试管, 加入SKF-525A 2 μL 及4 mL 检材尿液后续b所述过程。(d)有机物洗脱: 用二氯甲烷淋洗薄膜, 合并洗脱液水浴挥干, 无水乙醇定容供GC/MS分析。

3 结果与讨论

3.1 大体积进样 利用程序升温毛细管分流/不分流进样器使样品液态导入, 用载气将溶剂吹扫出分流排空阀。后程序升温汽化溶质进入色谱柱分析, 利用溶剂吹扫功能可实行大体积进样, 有效地排除溶剂, 提高检测灵敏度为10~100倍。最高进样量可达150 μL。

3.2 内标物的选择 海洛因进入人体后很快转变为O⁶-单乙酰吗啡, 继而代谢为吗啡及其结合物, 主要由尿液排出。因此, 在一定时间内, 海洛因吸食者的尿液检出吗啡和单乙酰吗啡, 并以此作为吸食海洛因的证据。我们采用添加内标的方法。选择SKF-525A作内标, 不仅它在色谱过程中与海洛因及其代谢物吗啡、单乙酰吗啡完全分离, 而且与吗啡具有相似的碱性结构, 因而与吗啡具有相近提取行为。

3.3 回收率 对添加吗啡与单乙酰吗啡及内标物的空白尿提取后进行GC/MS分析。以吗啡(*m/z* 285)、单乙酰吗啡(*m/z* 268), 与内标(*m/z* 86)的特征碎片离子峰高比作为测量参数, 与标准样品比较测定回收率。测定结果吗啡标准品加入量为1~10 μg 回收率在80%~88%; 单乙酰吗啡标准品加入量为1~10 μg, 回收率在81%~89%。*n* = 4, 吗啡RSD在1.5%~5.4%, 单乙酰吗啡RSD在3.3%~9.5%, 能满足毒物分析指标的要求。

3.4 回归方程 分别以吗啡和单乙酰吗啡的添加量为横坐标(*x*), 以离子峰高比作纵坐标(*y*), 得出回归方程: 吗啡为 $y = 1.26 \times 10^{-4} x + 0.045$; 单乙酰吗啡为 $y = 1.25 \times 10^{-4} x + 0.063$ 。吗啡和单乙酰吗啡最小检测量为0.01~0.02 mg/L; 相关系数 *r* = 0.957。在尿中浓度为0.02~50 μg 范围呈良好的提取线性关系。

3.5 海洛因吸食者尿液测定 对一位海洛因吸食者停药后不同时间收集的尿样分析, 比较吗啡与单乙酰吗啡的浓度, 数据显示, 吸食后前期, 吗啡与单乙酰吗啡的浓度均很低, 而单乙酰吗啡浓度更低, 表明海洛因在体内有一代谢过程。随后二者均出现一浓度最高点(36 h), 然后其浓度逐渐降低。6天后, 尿中已检测不出吗啡与单乙酰吗啡, 而单乙酰吗啡似乎消失更快。对于尿样中吗啡与单乙酰吗啡的浓度, 其比值关系存在哪些规律, 有待于进一步探讨。