

固相萃取 GC-MS/MS 法检验 家兔尿液中氯胺酮^①

李国平^②

(辽宁警官高等专科学校技术系 辽宁省大连市 116033)

摘要 研究了家兔尿中氯胺酮的检验方法。用 1mol/L 氢氧化钠溶液调正检尿液 pH 为 9—10, 上 GDX-403 柱, 以氯仿洗脱。选取 209m/z 离子碎片为母离子, 进行 GC-MS/MS 分析, 通过与氯胺酮标准品的保留时间及二级质谱图比对定性, 外标定量。结果显示氯胺酮在 0.02—40μg/mL 范围内线性关系良好, 所得校准曲线的回归方程为: $y = 3990.31 + 47045.2x$, $r^2 = 0.9995$ 。检出限为 20ng/mL。平均回收率为 89.36%。

关键词 家兔, 氯胺酮, 尿液, GC-MS/MS。

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2006)02-0231-03

1 前言

氯胺酮, 化学名称为 2-(2 氯苯基)-2-(甲氨基)环己酮, 是苯环己派啉的衍生物。具有镇痛、遗忘、抗惊厥、神经保护及诱发精神异常等多项作用。近年来, 在某些娱乐场所出现, 常与其他毒品混合使用, 已成为一种新型毒品。快速、准确提取检验氯胺酮已经成为司法鉴定需要。关于血中氯胺酮的提取检验主要以液-液提取、高效液相色谱检验为主。近年也有用固相微萃取法提取, 气相-气-质联用法或毛细管电泳等方法检验的文献^[1]。本文建立了固相萃取 GC-MS/MS 法检验家兔尿液中氯胺酮的方法。

2 检验方法

2.1 仪器与试剂

Trace Gc Ultra-Polaris Q MS 仪(美国 FINNIGAN 公司)。

GDX-403 树脂(60—80 目)(天津市化学试剂二厂); 盐酸氯胺酮对照品为公安部物证鉴定中心提供; 氯仿、甲醇、氢氧化钠等试剂均为优级纯试剂; 实验用水为去离子水。

氯胺酮储备液的配制: 准确称取 0.0100g 盐酸氯胺酮, 溶于 10mL 去离子水中, 用 1mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 为 9—10, 以氯仿萃取, 每次 10mL, 萃取 5 次。合并萃取液稀释至 100mL。使用时逐级稀释^[1]。

① 辽宁警官高等专科学校科研基金资助项目

② 联系人, 电话: (0411) 86831191-3329; E-mail: liguoping68@163.com

作者简介: 李国平(1968—), 男, 吉林省白城市人, 副教授, 从事刑事技术的教学及科研工作。

收稿日期: 2005-10-11; 接受日期: 2005-10-19

2.2 色谱及质谱条件

2.2.1 色谱条件

RT X5-MS 色谱柱(30m×0.25mm×0.25 μ m),柱温 40 $^{\circ}$ C(1min),120 $^{\circ}$ C/min 280 $^{\circ}$ C(3min),进样口 250 $^{\circ}$ C;不分流;载气:氦气;流速 1.0mL/min。

2.2.2 质谱条件

限温 200 $^{\circ}$ C;传输线温度 280 $^{\circ}$ C;灯丝电流 10 μ A;电子倍增器电压为自动调谐值。MS/MS 条件:Parent ion:209m/Z,其他为仪器默认条件。

2.3 检材处理方法

向健康家兔(1.5kg)腹腔内注射氯胺酮水溶液(含盐酸氯胺酮 10mg),1h 后,将家兔溺死,取其尿液。同时取未注射药物,直接溺死家兔的尿液作空白对照。用 1mol/L 氢氧化钠液调 pH 为 9-10,待检。

各取 20mg GDX-403,用甲醇活化 20min,去离子水淋洗,分别将 1mL 尿液检材与处理后 GDX-403 混合,装入下端放有脱脂棉的玻璃管中,用去离子水淋洗,抽干水分。2mL 氯仿洗脱 2 次,用氯仿定容至 100mL 待测。

2.4 检验方法

选取 209m/Z 离子碎片为母离子,进行 GC-MS/MS 分析,通过与氯胺酮标准品的保留时间及二级质谱图比对定性,外标定量。

3 结果与讨论

3.1 校准曲线

取空白尿液,加入不同浓度的氯胺酮溶液,配成浓度为 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、4.0、8.0 μ g/mL 标准药液。按照检材的处理方法操作,记录 MS-MS 各谱图的基峰面积。以氯胺酮的 MS-MS 谱图的基峰面积对氯胺酮的浓度进行回归计算。结果表明尿中氯胺酮在 0.4-4.0 μ g/mL 范围内线性关系良好,所得校准曲线的回归方程为: $y = 3990.31 + 47045.2x$, $r^2 = 0.9995$ 。

3.2 检出限

信噪比(s/n)为 3:1 时,检出浓度为 20ng/mL。

3.3 回收率

用空白家兔尿分别配制与标准溶液浓度相同的氯胺酮溶液,按检材处理方法处理检材,以标准溶液作对照,计算回收率分别为,平均回收率为 89.36%。

3.4 精密度试验

分别取含氯胺酮的尿液,分别做 5 次平行试验,RSD=6.89%。

3.5 色谱质谱图

在以上条件下家兔尿中氯胺酮的色谱质谱图如下。

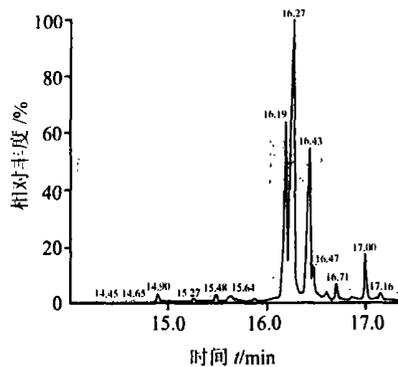


图 1 尿液中氯胺酮 GC-MS 的总离子流色谱图

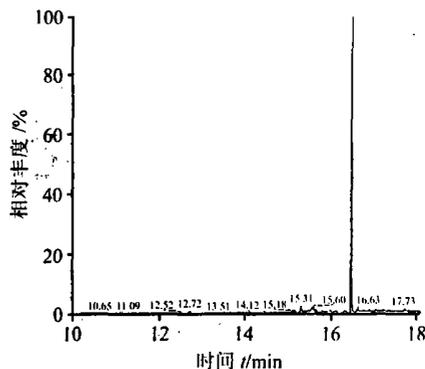


图 2 尿液中氯胺酮 GC-MS/MS 的总离子流色谱图

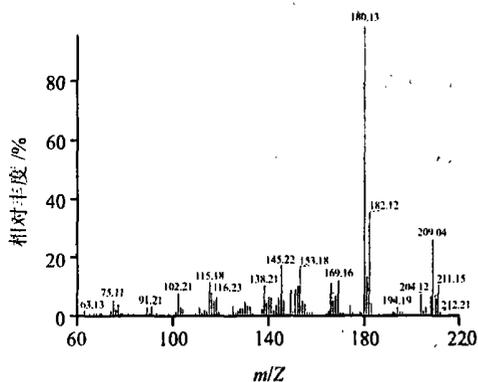


图 3 尿液中氯胺酮的质谱图

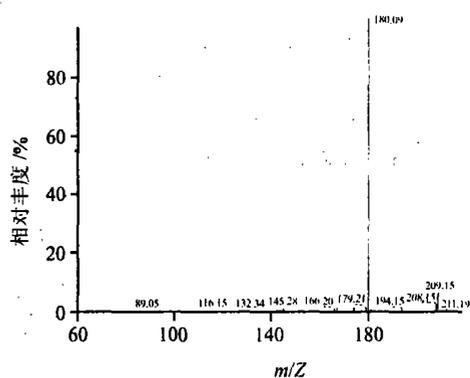


图 4 尿液中氯胺酮 MS-MS 质谱图(209 为母离子)

4 讨论

从以上谱图可以看出,尿液的普通 GC-MS 色谱图,氯胺酮峰前都有一些干扰,而 MS-MS 色谱图和质谱图都消除了干扰,提高了信噪比,使生物检材中的微量氯胺酮得以检出。

参考文献

- [1] 姚丽娟, 王郎, 孟品佳等. 血中氯胺酮的固相萃取及毛细管电泳检测[J]. 公安大学学报(自然科学版), 2005, (1): 1—3.

Determination of Ketamine in Urine of Rabbit by GC-MS/MS with Solid Phase Extraction

LI Guo-Ping

(Criminal Technology Department Liaoning Police Academy, Dalian, Liaoning 116033, P. R. China)

Abstract The pH in urine sample was adjusted to 9—10 by NaOH solution, and the ketamine in urine of rabbit was extracted by GDX-403, eluted with chloroform, and determined by GC-MS/MS with parent ion of 209 for qualitative analysis and external standard method for quantitative analysis. The linear range of 0.02—4.0 μg/mL, correlation coefficients of 0.9995, recovery of 89.36% and the limits of detection of 20 ng/mL for urine were obtained, respectively.

Key words Rabbit, Ketamine, Urine, GC-MS/MS.