

血液等生物样品中氟乙酸钠的离子色谱测定法

胡培勤, 黄辉春, 熊敏

深圳市罗湖区疾病预防控制中心理化检验科 广东 深圳 518020

摘要:目的 建立血液等生物样品中氟乙酸钠的离子色谱测定方法。方法 采用 Ionpac® AS9-HC 阴离子交换柱和 AG9-HC 保护柱, 流动相为 9.0 mmol/L 碳酸钠溶液。样品中的蛋白质经乙腈沉淀, 离心, 过 C₁₈ 柱, 经 0.22 μm 过滤头过滤, 直接进样测定。结果 该方法的线性范围为 0.1~10.0 mg/L, 相关系数为 0.999 8 (n=6), 相对标准差 (RSD) 为 6.7%~0.26%。最低检出限为 0.01 mg/L, 定量检出限为 0.1 mg/kg。样品回收率为 93.8%~103.6%。结论 该方法操作简单, 快速, 准确, 分离效果好, 可与常见共存阴离子同时分析, 灵敏度高, 重现性好, 可满足对血样、尿样、食品及饲料样中氟乙酸钠的测定。

关键词: 色谱法, 离子交换, 氟乙酸钠, 血液

中图分类号: O657.7 文献标志码: A 文章编号: 1001-5914(2011)06-0542-02

Determination of Sodium Fluoroacetate in Biological Samples by Ion Chromatography HU Pei-qin, HUANG Hui-chun, XIONG Min. Luohu District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518020, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of sodium fluoroacetate in the blood and other biological samples by ion chromatographic. **Methods** IonpacR AS9-HC anion exchange column, AG9-HC guard column were used, mobile phase was 9.0 mmol/L sodium carbonate solution. Through protein precipitation with acetonitrile, centrifugation, C₁₈ column, 0.23 μm filter, the samples were tested directly. **Results** The linear range was 0.1-10.0 mg/L, the correlation coefficient (r) was 0.999 8 (n=6), the relative standard deviations (RSD) were 6.7%-0.26%. Minimum detection limit was 0.01 mg/L, quantitative detection limit was 0.1 mg/kg. The rates of recovery were 93.8%-103.6%. **Conclusion** The method presents wide linear range and is simple, rapid, accurate and applicable to the determination of sodium fluoroacetate in blood, urine, food and feed samples.

Key words: Chromatography, ion exchange; Sodium fluoroacetate; Blood

氟乙酸钠(又名 1080)是一种急性剧毒灭鼠药,其纯品为精细的白色粉末,有淡的乙酸味,易溶于水,难溶于有机溶剂,其毒性比氟乙酰胺高达数百倍。近年来这类鼠药不仅土法生产泛滥,而且名称繁多,已制成混合型灭鼠药,随处可获得,它们的主要成分均是氟乙酸钠、氟乙酰胺和毒鼠强等。氟乙酸钠的检测对于突发性食物中毒及鉴定刑事中毒案件的断定起着决定性的作用。关于氟乙酸钠的气相色谱(GC)^[1]、色谱-质谱联用(MS)^[2]、核磁共振法(NMR)^[3]等检测方法均有报道,以上方法各具特点,但由于专属性差,干扰多,前处理要进行衍生化,检测时间长,仍无法满足实际工作需要,特别是在突发性公共卫生案件中,无法快速准确地进行分析。笔者探讨了离子色谱测定法。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 ICS-1000 型离子色谱仪、Ionpac® AS9-HC 色谱柱、AG9-HC 保护柱(美国 Dionex 公司)、Brsnson 1510 型微波超声器、Sigakson 3K30 型高速离心机(北京博励行仪器有限公司)、0.22 μm 水性滤膜针头滤器,净化柱为 C₁₈ 柱(使用前依次用 10 ml 甲醇和 105 ml 水通过,静置活化 30 min),氟乙酸钠(优级纯,临用前配制成 1 000 mg/L),乙腈(优级纯),淋洗液(贮备液)为 900 mmol/L 碳酸钠溶液(临用时稀释 100 倍),水为二级纯水。

1.2 色谱条件 进样量为 25 μl, 淋洗液为 9.0 mmol/L Na₂CO₃, 淋洗液, 流量为 1.0 ml/min, 电导检测器灵敏度为 10 μS。

1.3 标准曲线的绘制 准确称取 100 mg 氟乙酸钠标准样品于 100 ml 容量瓶中,用纯水定容至刻度,浓度为 1 000 mg/L 的贮备液置于冰箱保存。取适量贮备液配制成 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L 氟乙酸钠标准系列,每个浓度点连续进样 6 次,以峰面积的均值与对应浓度绘制标准曲线。

1.4 样品前处理

1.4.1 血液样品 取样 0.20 ml 于 10 ml 离心管中,加 1.0 ml 高纯水,然后用纯乙腈定容至 4 ml,在旋涡混合器上充分混匀,离心 10 min,上清液备用。取上清液 3 ml 经 0.22 μm 水性滤膜针头滤器、C₁₈ 柱,弃去前约 1 ml,收集洗脱液待测。

1.4.2 尿样 取 0.5~1.0 ml 于 10 ml 离心管中,加纯水 1.0 ml 高纯水,用乙腈定容至 10 ml。在旋涡混合器上充分混匀,离心 10 min,上清液备用。取上清液 9 ml,经 0.22 μm 水性滤膜针头滤器、C₁₈ 柱,弃去前约 1 ml,收集洗脱液待测。

1.4.3 饲料及食物样品 称取 1.0 g 于 10 ml 离心管中,用高纯水定容至 10 ml,在旋涡混合器上充分混匀,浸泡 2 h 或超声 30 min。离心 10 min,上清液备用。取上清液约 8 ml 经 0.22 μm 水性滤膜针头滤器、C₁₈ 柱,弃去前约 1 ml,收集洗脱液待测。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择 Dionex Ion Pac AS9-HC 柱是以烷醇季铵为功能基、疏水性很低的高容量分析柱,与常见的无机酸根

作者简介 胡培勤(1958-),女,高级工程师,从事环境监测及食品卫生研究工作。

Cl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻相比,氟乙酸根 FCH₂COO⁻在这种阴离子柱上的亲和作用比较弱,必须采用低浓度的淋洗液(9 mmol/L Na₂CO₃)或离子强度弱的淋洗液(如 Na₂B₄O₇)。这两种淋洗液分离效果都很好。生物样品成分较复杂,既要使被测物与杂质峰达到好的分离效果,又要测定时间较短,而 Na₂B₄O₇ 不是常用的淋洗液,在处理突发性公共卫生案例时,需重新配置淋洗液,调试仪器,达不到应急处理的目的。采用 9.0 mmol/L Na₂CO₃ 为淋洗液,氟乙酸钠在 8 min 出峰,出峰时间较短,效果较好。

2.2 样品预处理的选择 血样及尿样用乙腈沉淀蛋白质后进行分析。图 1 可见,干扰杂质少,氟乙酸钠峰分离较好。在实验中发现,样品的取样量与乙腈的加入量有关,对测定结果有影响,经多次试验选用最佳方法,选用纯水稀释样品。血样稀释 15 倍时出现乳化现象,稀释 20 倍时蛋白质可较好地沉淀,在 7.6 min 出现干扰峰,而用尿样原液测试、用纯水稀释 2 倍、10 倍,测试结果均不理想,不出峰,当稀释 20 倍时,在 8.6~8.9 min 出峰(氟乙酸钠峰)。样品取样量与乙腈 20 倍稀释测定效果较好,回收率在 93%以上。取试样(血样)0.2 ml (尿样) 0.5 ml,于 10 ml 离心管中,加 1.0 ml 高纯水,用乙腈定容血样至 4 ml,定容尿样至 10 ml,经离心、过滤后测定。乙腈在此作为基体改进剂并具有沉淀蛋白质的作用。

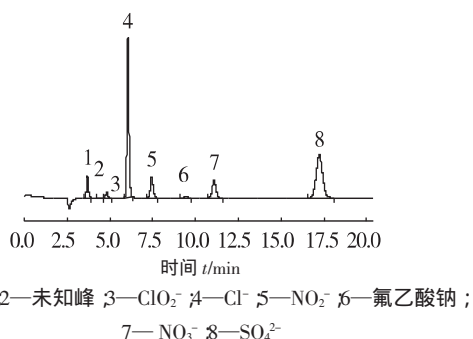


图 1 生物样品中氟乙酸钠的色谱图

2.3 食物及饲料样品溶解条件比较 食物是氟乙酸钠中毒的主要途径,用离子色谱法检测食物中的氟乙酸钠,主要考虑样品提取要充分,干扰峰要小。按 1.3.2 的饲料及食物样品检测步骤(取样、提取、过滤、分析),分别于浸泡后即刻(0.31 mg/L)、浸泡 15 min(0.69 mg/L)、30 min(1.04 mg/L)、1 h(1.22 mg/L)、2 h(1.74 mg/L)、4 h(1.75 mg/L)进行测定,浸泡 2 h 测定结果基本恒定;另外,观察超声 15 min(1.32 mg/L)、20 min(1.55 mg/L)、30 min(1.73 mg/L)、45 min(1.74 mg/L)时的测定结果,结果显示,超声 30 min 与浸泡 2 h 测定结果基本一致。最后选用浸泡 2 h 或超声 30 min 为最佳提取时间。在食物中毒案件中快速检测很关键,超声 30 min 为首选。本研究所建立的方法具有前处理简单的优点,步骤包括提取、过滤、离子色谱分析,在 40 min 的短时间内完成样品的前

处理和色谱分析。图 1 可见,在氟乙酸钠的出峰位置没有干扰杂质峰出现,对测定结果没有影响。在 6 个不同的梯度浓度的氟乙酸钠出峰时间叠加性好,提示具有较好的稳定性。

2.4 线性范围、检测限 按 1.3.1 方案操作,每个浓度点连续进样 6 次测定,以氟乙酸钠含量(mg/L)与相应的峰面积(μS·min)进行直线回归处理,得到回归方程为 $y=0.0432x-0.0006$, $r=0.9998$ 。以氟乙酸钠测定标准物的峰面积(A)及响应值,求出标准曲线斜率(K)及空白样品连续 11 次进样响应值的标准差(S_A),根据公式 $Q=3S_A/K$ ^[4],计算最低检出限为 0.01 mg/L,即定量检出浓度为 0.1 mg/kg。

表 1 血样、尿样、饲料样品中氟乙酸钠的离子色谱法

样品	测定结果及加标回收率 (n=3)				
	本底值 ($\bar{x}\pm s$,mg/L)	加标值 (mg/L)	测定值 ($\bar{x}\pm s$,mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
血样 1	<0.01	0.25	0.24±0.009 1	93.6	3.8
血样 2	0.311±0.008 1	0.5	0.81±0.025 3	100.0	3.1
尿样 1	<0.01	1.0	1.03±0.045 9	103.0	4.4
尿样 2	<0.01	1.0	0.99±0.002 9	96.8	0.29
饲料	0.39±0.014	1.0	1.38±0.026	99.3	1.9
食物	<0.01	0.5	0.49±0.016	98.9	3.3

2.5 精密度试验 分别对氟乙酸钠浓度为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L 的标准系列连续测定 6 次,保留时间的 RSD 为 0.1%~0.30%(n=6)。峰面积均值的 RSD 为 0.26%~6.7%(n=6)。

2.6 样品测定及回收率试验 采用加入法分别向血样中加入 0.25、0.5 mg/L 氟乙酸钠标准溶液 1.0 ml,尿样和饲料加入 1.0 mg/L 的标准溶液 1.0 ml,重复 1.3.2 节的步骤测定本方法的回收率,其平均回收率分别 93.6%~103%。见表 1。

3 小结

本研究采用抑制电导检测-离子色谱法(Ionpac[®] AS9-HC 色谱柱)对血、尿及食物和饲料中的氟乙酸钠进行测定,样品前处理简单,快速准确,适用于生物样品中氟乙酸钠的测定。

参考文献:

- [1] 陈礼明,杜书明,陈娜,等.生物样品中氟乙酸钠的气相色谱分析[J].中华劳动卫生职业病杂志,2006,24(5):302-303.
- [2] 顾明松,胡绪英,刘勤,等.流动注射-高分辨飞行时间质谱检测毒饵大米的氟乙酰胺[J].质谱学报,2002,23(4):214-219.
- [3] 关福玉,繆振春,刘荫棠,等.¹⁹F 核磁共振测定氟乙酰胺[J].军事医学科学院院刊,1997,21(2):116-119.
- [4] 牟世芬,刘克纳.离子色谱方法及应用[M].北京:化学工业出版社,2000:64.

(收稿日期 2010-04-08 修回日期 2010-08-25)
(本文编辑 杜宇欣)