

## 气相色谱-微池电子捕获器检测尿液中的三唑仑

覃华菁

( 柳州市疾病预防控制中心, 广西 柳州 545001 )

**摘要** :建立了气相色谱-微池电子捕获检测器( GC- $\mu$ ECD )检测尿液中三唑仑的方法。筛选了 pH 值、提取溶剂、涡旋时间,优化了液-液萃取条件。在 0.2 ~ 50 ng/mL 范围内,线性关系良好,相关系数为 0.999 5;方法的检出限为 0.1 ng/mL,日内和日间测定的相对标准偏差分别为 4.17% 和 5.31%,平均回收率为 93.9%。该方法操作简便、灵敏度高、线性范围广、回收率高,完全能够满足日常检测工作的需要。

**关键词** :气相色谱;微池电子捕获检测器;三唑仑;尿液

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713( 2008 )03-0398-02 栏目类别 :技术与应用

## Determination of triazolam in human urine by gas chromatograph-micro electron capture detector

QIN Huajing

( Liuzhou Center for Disease Control and Prevention, Liuzhou 545001, China )

**Abstract** :Triazolam is often abused in criminal activities. It is necessary to develop a simple, fast and sensitive method for determining triazolam in human urine. After the triazolam in urine was extracted with ether at pH 9, the analysis was performed on an HP-5 capillary column with gas chromatograph-micro electron capture detector ( GC- $\mu$ ECD ). The calibration curve of triazolam showed good linearity in the range of 0.2 ~ 50 ng/mL with the correlation coefficient of 0.999 5. The inter-day relative standard deviation ( RSD ) and intra-day RSD were 4.17% and 5.31%, respectively. The average recovery was 93.9%. This simple, sensitive and accurate method can be easily implemented for monitoring triazolam in urine.

**Key words** :gas chromatography ( GC ); micro electron capture detector (  $\mu$ ECD ); triazolam ; human urine

三唑仑是常用的安定类药物。除了正常服用外,吸食毒品者也用其作为替代剂和抑制剂,犯罪嫌疑人也常常利用三唑仑口服吸收快、催眠快的特点进行麻醉抢劫。市售三唑仑药片中有效成分含量甚微( 每片仅有 0.25 mg ),有效成分经人体代谢后,尿中三唑仑的浓度就更加低微,因此尿中三唑仑的检验难度颇大。对尿中三唑仑的分析方法研究有气相色谱-质谱法<sup>[1,2]</sup>、液相色谱-质谱法<sup>[3]</sup>、气相色谱法<sup>[4]</sup>、高效液相色谱法<sup>[5]</sup>,但这些方法有的需要大型仪器;有的对样品的前处理步骤过于繁琐,如酶水解、衍生化等,且并非所有的实验室均具备相应的条件;有的检出限过高,满足不了实际工作的要求。用一种简便、快捷、灵敏的方法准确地检验出尿中的三唑仑,对于确证人的中毒原因具有重要意义。

### 1 实验部分

#### 1.1 标准品与试剂

三唑仑标准品( Sigma 公司提供 ),以甲醇为溶剂,配制成 100  $\mu$ g/mL 的标准储备液,冰箱冷藏保存,临用前稀释成实验所需标准工作液。甲醇为色谱纯,乙醚、碳酸钠、盐酸等均为分析纯。

#### 1.2 仪器及色谱条件

Agilent 6890N 气相色谱仪( GC ),微池电子捕获检测器(  $\mu$ ECD ),ChemStation 化学工作站。

色谱柱 :HP-5 毛细管柱( 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m )。柱温采用程序升温 :150  $^{\circ}$ C 保持 1 min,以 20  $^{\circ}$ C/min 升至 300  $^{\circ}$ C,保持 5 min;进样口温度 280  $^{\circ}$ C; $\mu$ ECD 温度 325  $^{\circ}$ C。载气为高纯氮气。进

样量 1 μL。进样方式 :恒流模式 ,1.5 mL/min ,脉冲不分流进样 ,在 207 kPa ( 30 psi )压力下保持 1 min 0.75 min 后打开分流阀 ,以 60 mL/min 吹扫。尾吹气为高纯氮气 ,流速 30 mL/min。

1.3 样品处理

取尿液 1 mL ,用饱和碳酸钠溶液调 pH 值至 9 ,加入乙醚 1.5 mL ,涡旋振荡 2 min ,再以 4 000 r/min 速率离心 6 min 吸出乙醚层 ,重复提取 1 次。合并乙醚层后于 50 ℃水浴中通氮气吹干 ,残渣加入 50 μL 甲醇溶解 ,取 1 μL 进样。

1.4 工作曲线的制作

取适量三唑仑标准工作液 ,用尿液配制成三唑仑质量浓度为 0.1 ~ 100 ng/mL 的系列标准溶液 ,按“ 1.3 ”节所述方法操作。以峰面积( *Y* )对质量浓度( *X* )进行线性回归 ,制作工作曲线。

1.5 回收率与精密度

取适量空白尿液 ,分别加入适量三唑仑标准溶液 ,使其质量浓度为 0.5 ,5 ,20 ng/mL ,每个浓度 5 份。按“ 1.3 ”节所述方法操作 ,连续测定 3 d ,计算回收率、日内相对标准偏差( RSD )和日间 RSD。

2 结果与讨论

2.1 色谱图

三唑仑标准溶液、空白尿液和加标尿液的色谱图见图 1。微池电子捕获检测器的池体积仅为普通的电子捕获检测器的 1/10 ,因此灵敏度约高 10 倍。

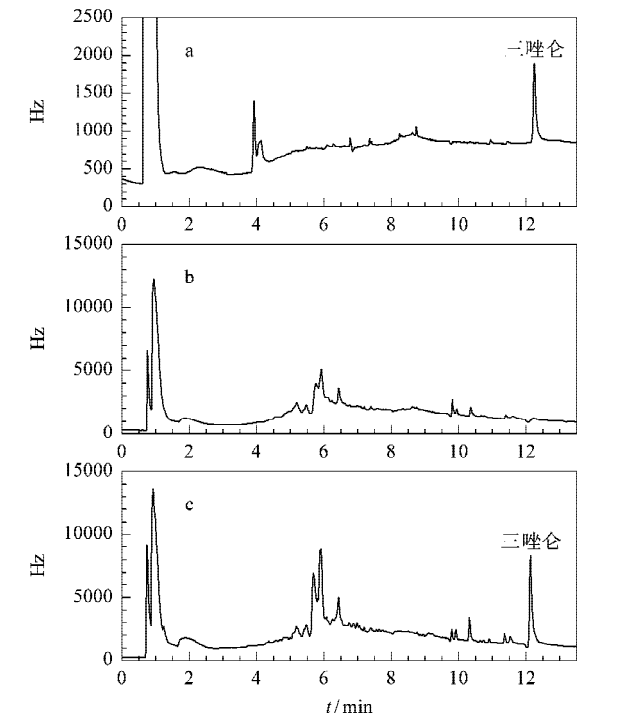


图 1 ( a ) 三唑仑标准品、( b )空白尿液和( c )加标尿样的 GC-μECD 图谱

2.2 工作曲线、检出限、回收率与精密度

三唑仑质量浓度为 0.2 ~ 50 ng/mL 时呈良好的线性关系 : $Y = 4\,237.8X + 762.54$  , $r = 0.999\,5$ 。以信噪比( *S/N* )为 3 计 ,检出限为 0.1 ng/mL。回收率、日内 RSD 与日间 RSD 见表 1。

表 1 三唑仑的回收率( <i>n</i> = 5 )、日内( <i>n</i> = 5 )与日间 RSD( <i>n</i> = 15 )			
加标量/( ng/mL )	回收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
0.5	95.7	4.18	5.16
5.0	93.3	3.52	5.33
20.0	92.7	4.81	5.44
平均值	93.9	4.17	5.31

2.3 pH 值的选择

根据三唑仑的化学结构式推断 ,碱性环境下比较有利于三唑仑的提取 ,因此将考察范围定为 pH 7 ~ 11。分别用 10% 的盐酸溶液和饱和碳酸钠溶液 ,将含三唑仑 2 ng/mL 的尿液 pH 值调为 7 ,9 ,11 ,用乙醚提取后测定 ,回收率分别是 76.5% ,96.4% 和 93.2%。当 pH 值为 9 时 ,回收率最高。

2.4 提取溶剂的选择

用含三唑仑 2 ng/mL 的尿液 ,在 pH 值为 9 的条件下按前述方法操作 ,比较了乙醚、乙酸乙酯、氯仿、正己烷、环己烷和苯的提取回收率 ,结果分别是 93.3% ,73.5% ,98.8% ,23.6% ,54.6% 和 95.3%。其中氯仿的回收率最高 ,但会带来较多的杂质 ,对检测造成较大的干扰 ;苯的回收率比乙醚稍高 ,但对人体的毒害较大 ;乙酸乙酯、环己烷的回收率相对较低 ,正己烷最低。综合考虑 ,选择乙醚作提取溶剂。

2.5 涡旋时间的选择

用含三唑仑 2 ng/mL 的尿液 ,调 pH 值至 9 ,均用乙醚提取 ,按前述方法操作 ,对涡旋时间 1 ,2 ,3 min 作以比较 ,回收率分别为 81.2% ,93.5% 和 95.6%。由此可见 ,涡旋时间 2 min 与 3 min 的回收率相近 ,但随着涡旋时间的延长 ,会带入更多的杂质 ,因此选择涡旋时间为 2 min 较合适。

3 检测实践案例

2006 年 8 月 7 日 ,受害人韦某在柳州市内某酒吧内的包厢内昏迷 ,随身财物丢失。从韦某的尿液中检出三唑仑的质量浓度为 21.7 ng/mL。韦某醒后证明其被麻醉抢劫。

参考文献 :

[ 1 ] 谭家镒 ,朱昱. 广东公安科技 ,2003( 2 ) :21  
[ 2 ] 侯云龙. 广东公安科技 ,2004( 4 ) :22  
[ 3 ] 顾景凯 ,夏荣 ,钟大放 ,等. 药学学报 ,2002 ,37( 2 ) :138  
[ 4 ] 姜兆林 ,朱昱 ,谭家镒 ,等. 色谱 ,2004 ,22( 6 ) :664  
[ 5 ] 卫洪清. 山西师范大学学报 :自然科学版 ,2003 ,17( 4 ) :63