

新型固相微萃取膜的制备及其在生物检材中毒物提取的应用

杨瑞琴¹, 谢文林²

(1. 中国人民公安大学 刑事科学技术系, 北京 100038; 2. 吉林省公安厅公安科学技术研究所, 吉林 长春 130051)

摘 要: 用酰胺类化合物和气相色谱固定液制备了一种新型固相微萃取膜, 对膜的性质、吸附解吸条件进行了研究; 应用该类固相微萃取膜成功地分离了尿液中的吗啡、苯巴比妥以及血液中的敌敌畏, 并利用气相色谱 - 质谱联用技术对分离后的样品进行了分析。

关键词: 固相微萃取膜; 气相色谱 - 质谱; 生物检材; 毒物; 吗啡; 苯巴比妥; 敌敌畏

中图分类号: O652. 6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2004)02 - 0066 - 03

Preparation of a Novel Solid Phase Micro - extraction Membrane and Its Application in Extracting Toxicant from Biological Materials

YANG Rui-qin¹, XIE Wen-lin²

(1. Faculty of Forensic Science, Chinese People's Public Security University, Beijing 100038, China; 2. Jilin Institute of Criminal Science Technology, Jilin Public Security Department, Changchun 130051, China)

Abstract: Solid phase micro-extraction membrane (SPMEM) is a new, simple and solventless sample preparation technique which integrates sampling, extraction and concentration into a single step. It has the advantages of both the solid phase micro-extraction (SPME) and membrane separation.

In this paper, a new kind of membrane used for SPME was prepared with amide compounds. The extraction conditions such as adsorption time, desorption solvents, desorption methods and time were studied and optimized. The morphine and phenobarbital in the urine, DDVP in the blood were well separated with this SPME membrane, and were examined by GC - MS. All the data were acquired in scan mode except that of morphine which was obtained in a selected ion monitoring (SIM) mode. Ions used for identification were those with m/z 57, 115, 162, 215, 285.

Key words: Solid phase micro-extraction membrane; Preparation; GC - MS; Biological material; Toxicant; Morphine; Phenobarbital; Dichlorvos

固相微萃取法 (SPME) 目前已在分析化学领域得到广泛应用。特别是在刑事技术领域内, 由于其需要检材量少而得到了更为广泛的应用^[1~3]。该项技术可以直接与 GC 或 HPLC 联用, 但需要一套专门的设备, 价格较贵, 仅适用于易挥发的物质或液体介质。由于分析技术的多样性和分析对象的复杂性, 特别是在刑事技术领域内分析对象的不可知性、多样性、微量化, 就需要一种可广泛适用, 并对不同介质中的目的物进行分离的全新方法。固相微萃取膜是一种全新的分离方法, 该项技术将固相微萃取技术的吸附性和膜分离的选择性通过定向合成的方法有机地结合在一起, 同时具备了这两种方法的优点, 既方便简单, 又节省溶剂, 同时可减少对环境的污染。该技术可对生物样品中的微量物质进行分离, 不需要专用设备, 费用比液液提取法低, 是最经济的提取方法之一。

本文研制了一种新型固相微萃取膜, 并对其分离条件进行了讨论。应用该技术对尿液中的吗啡、苯巴比妥以及血液中的敌敌畏进行了提取分离, 采用气 - 质联用技术对样品进行了测试, 结果令人满意。

收稿日期: 2003 - 03 - 17; 修回日期: 2004 - 01 - 07

基金项目: 公安部资助项目 (20002224201)

作者简介: 杨瑞琴 (1971 -), 女, 山西繁峙人, 副教授, 博士。

1 实验部分

1.1 实验试剂与样品

吗啡、苯巴比妥标样由公安部物证鉴定中心提供, 敌敌畏(80%乳油)购自河北新丰农药化工股份有限公司; 所用无水乙醇、丙酮、二甲基乙酰胺等试剂均为分析纯。

尿液样品制备是通过在健康人尿液中添加吗啡, 质量浓度为 $300 \mu\text{g/L}$; 苯巴比妥类药物中毒嫌疑人尿液; 血液样品直接采用敌敌畏中毒的兔子的血液(注射量 0.1 mL/kg) 2 mL 。

1.2 固相微萃取膜的制备

将尼龙 66 用二甲基乙酰胺溶解, 加入气相色谱所用 XAB-2、Tenax 或其他固定液, 再加入保护剂吡啶, 搅拌混匀, 倒在水平玻璃板上, 利用刮尺刮成厚度约为 0.5 mm 的薄膜, 3 min 后放入清水中浸泡 3 次, 取出晾干, 再放入乙醇中漂洗 3 次, 阴干后密封保存。

1.3 吸附、解吸过程

将固相微萃取膜利用无水乙醇浸泡约 30 min , 以洗去残留的杂质和激活其吸附性。剪取多个 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ mm}$ 固相微萃取膜小条, 放入待处理的样品中, 常温常压下静态吸附一定时间, 取出用清水漂洗, 用滤纸吸干其表面的水。然后将固相微萃取膜置入 10 mL 小试管中, 加入 0.1 mL 乙醇或丙酮, 在超声波作用下解吸 1 min , 静置后可用于分析。

1.4 仪器与实验条件

GC-17A/QP5050A 气相色谱/质谱联用仪(日本岛津公司); SB3200T 超声波发生器(必能信超声有限公司)。

气相色谱条件: 色谱柱为 J & W DB-1ht $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.1 \mu\text{m}$ 弹性石英毛细管柱; 吗啡分析采用程序升温, 柱温 200 保持 1 min , 然后以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 250 , 保持 2 min ; 敌敌畏分析采用柱温 110 保持 5 min ; 苯巴比妥采用 200 保持 10 min 。汽化室温度 250 , 载气为高纯氦气, 流速 1.0 mL/min , 进样量 $1 \mu\text{L}$, 分流比 $100:1$ 。

质谱条件: 离子源为 EI 源, 连接口温度 230 , 电子能量 70 eV , 电子倍增器电压为 1.0 kV , 扫描范围: 吗啡 $m/z = 57, 115, 162, 215, 285$; 敌敌畏和苯巴比妥采用全扫描, 扫描范围: $50 \sim 400 \text{ u}$ 。溶剂延迟 $3, 2$ 或 0 min 。

2 结果与讨论

2.1 固相微萃取膜性质

2.1.1 吸附容量 配制 20 mg/L 咖啡因水溶液, 经固相微萃取膜分离后, 采用气相色谱法测定溶液中剩余药物含量, 反推得到该固相微萃取膜的吸附容量为 $247 \sim 260 \text{ ng/mm}^2$ 。

2.1.2 膜厚度 固相微萃取膜的厚度是由刮尺和玻璃板之间的距离决定的, 可以在 $0.1 \sim 1 \text{ mm}$ 之间。从理论上说, 膜越厚, 其吸附容量越大, 但如果膜太厚, 成孔剂可能被包夹, 反而导致吸附容量降低; 如膜太薄, 被吸附物质仅吸附在膜的表面, 在后续操作中易造成被吸附物质流失; 由于该膜主要用于定性分析, 因此, 萃取膜的厚度被控制在 0.5 mm 。

2.2 吸附条件的优化

对 20 mg/L 咖啡因水溶液, 剪取 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ mm}$ 的膜分别浸泡 $1, 3, 5, 8, 12 \text{ min}$, 实验表明吸附 5 min 后, 吸附量不再随吸附时间而增加。因此, 选定样品的吸附时间为 5 min 。

另外, 实验表明, 当溶液中含有如丙基解痉素(SKF525A)这样的内标样品时, 会与某些检材样品(如氯丙嗪)产生竞争吸附, 吸附量减少, 吸附饱和时间相应增长。

2.3 解吸条件的选择

2.3.1 解吸剂 制作的膜可以溶解在氯仿和间苯酚等溶剂中, 实验证明, 选用甲醇、乙醇、丙酮等作为解吸溶剂较为合适。结果表明, 采用以上 3 种溶剂得到的解吸率均可达 $99\% \sim 100\%$ 。

2.3.2 解吸方法与时间 采用加热、超声、微波等物理方法都可以加速被吸附物质的解吸, 缩短解

吸时间。如氯丙嗪在加入解吸溶剂后,常规静态下,约需 6 h 才会完全解吸,但在超声波作用下,仅需 5 min 即可达到解吸需要。另外,以上 3 种方法均不会对所用固相微萃取膜造成任何影响。

实验表明,本文测试检材在超声波或加热作用下,0.5 min 内解吸率均可达到 90 % 以上,本实验采用超声波解吸 1 min。

2.4 固相微萃取膜的应用

由于所选膜是由聚酰胺类和酰胺类配位物合成,因此,主要用于分离含氮、磷、硫等元素的化合物。

受固相微萃取膜用量和吸附容量的限制,该法只能用做样品定性分析的前处理,不适于定量分析。但是当目标物浓度很低时,加入合适内标,也可以进行定量分析。例如当尿液中吗啡的质量浓度低于 1 mg/L 时,采用内标法进行 5 次实验,回收率平均值为 82 %。但当吗啡质量浓度大于 2 mg/L 时,受膜吸附容量限制,回收率快速下降,当然如果加大膜的使用量,可以提高样品回收率。

按上述试验步骤,对解吸后的吗啡乙醇溶液、敌敌畏乙醇液以及苯巴比妥的乙醇液分别进行 GC - MS 实验,得到总离子流图和质谱图(见图 1 ~ 3)。

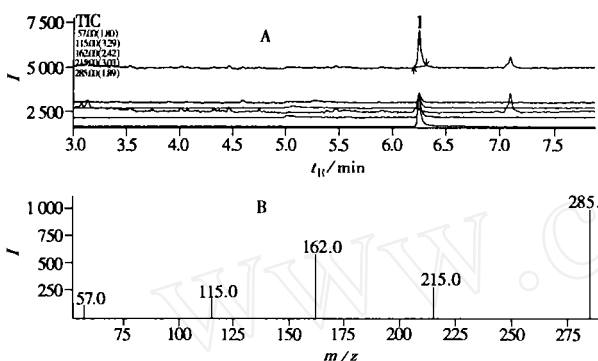


图 1 尿液中吗啡的总离子流图(A)和质谱图(B)

Fig. 1 TIC and mass spectrum of morphine in urine
1. 吗啡(morphine)

由结果可见,自制的固相微萃取膜具有很好的吸附和解吸附能力,并且不浪费溶剂,既方便简单、省时省力,同时减少了溶剂对环境的污染。在此,仅就生物检材中吗啡、敌敌畏、苯巴比妥作一些探索性的工作。另外,该固相微萃取膜还可以对生物检材等不同介质中的多种化合物进行分离提取与分析,有关工作正在研究。

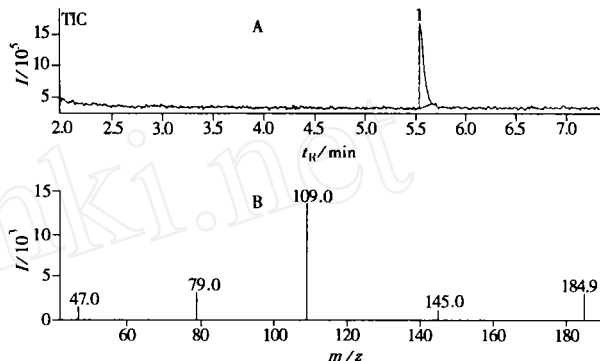


图 2 血液中敌敌畏的总离子流图(A)和质谱图(B)

Fig. 2 TIC and mass spectrum of DDVP in blood
1. 敌敌畏(DDVP)

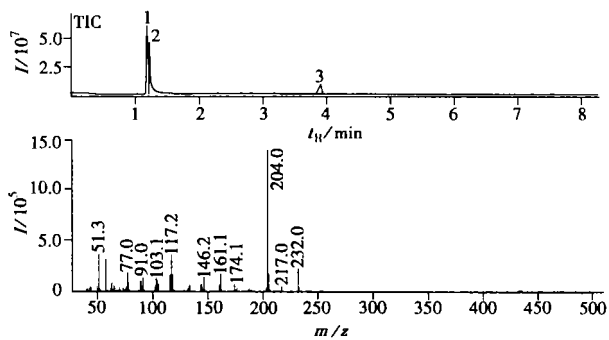


图 3 尿液中苯巴比妥的总离子流图和质谱图

Fig. 3 TIC and Mass spectrum of phenobarbital in urine
1,2. 乙醇(ethanol); 3. 苯巴比妥(phenobarbital)

参考文献:

- [1] LUCAS A C S, BERMEJO A M, TABERNERO MJ, *et al.* Use of solid-phase microextraction(SPME) for the determination of methadone and EDDP in human hair by GC - MS[J]. *Forensic Science International*, 2000, 107(1 - 3): 225 - 232.
- [2] OKAJIMA K, NAMERA A, YASHIKI M, *et al.* Highly sensitive analysis of methamphetamine and amphetamine in human whole blood using headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography - mass spectrometry[J]. *Forensic Science International*, 2001, 116(1): 15 - 22.
- [3] HARA K, KASHIMURA S, HIEDA Y, *et al.* Simple extractive derivatization of methamphetamine and its metabolites in biological materials with extrelut column for their GC - MS determination[J]. *J Anal Toxicol*, 1997, 21(1/2): 54 - 58.