

## 微波萃取-气相色谱法测定尿液中的苯丙胺类毒品

王继芬<sup>1</sup>, 孙洪峰<sup>2</sup>, 叶能胜<sup>2</sup>, 谷学新<sup>2</sup>, 李文君<sup>1</sup>, 李 瑛<sup>1</sup>

(1. 中国人民公安大学刑事科学技术系, 北京 100038; 2. 首都师范大学化学系, 北京 100037)

**摘要** :建立了人体尿液中甲基苯丙胺(MA)、3,4-亚甲二氧基苯丙胺(MDA)、3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺(MDMA)的微波萃取-气相色谱(GC)测定方法。分别考察了萃取溶剂种类、用量、pH值以及萃取温度、时间等因素对萃取率的影响。实验结果表明,尿液中MA、MDA、MDMA的最佳提取条件为:调节尿样pH为12,以环己烷为萃取溶剂,于40℃下微波提取10 min。在此条件下MA、MDA、MDMA的平均回收率分别为92.25%、85.94%和91.50%,相对标准偏差分别为5.5%、5.5%和6.1%( $n=5$ )。提取液经气相色谱-氢火焰离子化检测器(GC-FID)检测,3种药物与基体得到了很好的分离,对尿液中MA、MDA、MDMA的最低检测限分别为10、20和20 ng/mL。该方法未对药物进行衍生化,是一种快速、准确、灵敏度高的同时测定尿液中MA、MDA、MDMA的方法。

**关键词** :微波萃取;气相色谱;甲基苯丙胺;3,4-亚甲二氧基苯丙胺;3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺;尿液

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2008)02-0254-05 栏目类别:研究论文

## Determination of amphetamines in human urine using microwave extraction-gas chromatography

WANG Jifen<sup>1</sup>, SUN Hongfeng<sup>2</sup>, YE Nengsheng<sup>2</sup>, GU Xuexin<sup>2</sup>, LI Wenjun<sup>1</sup>, LI Ying<sup>1</sup>

(1. Department of Criminal Science and Technology, Chinese People's Public Security University, Beijing 100038, China; 2. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China)

**Abstract** : A method has been developed for the determination of methamphetamine (MA), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in human urine using microwave extraction-gas chromatography (GC). To improve the extraction efficiency, experimental parameters of the extraction, including extraction solvent and its amount, pH value of the urine sample, extraction time and temperature were investigated. The optimal conditions were as follows: the pH value of urine sample at pH 12, cyclohexane as extraction solvent, extraction at 40 °C for 10 min. The average recoveries of MA, MDA and MDMA with this extraction method were 92.25%, 85.94% and 91.50%, the relative standard deviations were 5.5%, 5.5% and 6.1% ( $n=5$ ), and the limits of detection were 10, 20 and 20 ng/mL, respectively. Using this method, MA, MDA and MDMA need not be derivatized and can be separated from the matrix. The results indicate that the developed method is rapid, accurate and sensitive, and can be used for the simultaneous determination of MA, MDA and MDMA in urine samples.

**Key words** : microwave extraction; gas chromatography (GC); methamphetamine; 3,4-methylenedioxyamphetamine; 3,4-methylenedioxymethamphetamine; urine

苯丙胺(amphetamine, 又称安非他明)类毒品是一类人工非法合成的有机胺类兴奋剂,它主要作用于中枢神经和交感神经,属于中枢神经兴奋类毒品,所以又称为苯丙胺类兴奋剂。目前,苯丙胺类毒品在我国滥用现象形势严峻,严重影响了青少年的

身心健康和社会稳定。国内外文献报道苯丙胺类兴奋剂药物的检测方法主要有气相色谱法(GC)<sup>[1,2]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[3]</sup>、毛细管电泳法(CE)<sup>[4]</sup>、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)<sup>[5,6]</sup>和高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS)<sup>[7]</sup>等。其中体

收稿日期 2007-10-13

第一作者:王继芬,副教授。E-mail: jifenjifen@tom.com.

通讯联系人:谷学新,教授。Tel: (010)68902490-802, E-mail: guxuexin@263.net.

基金项目:中国人民公安大学院士基金项目(No. LG027-6)和北京市教育委员会共建项目建设计划资助(编号 JD100410669)。

内检材中苯丙胺类毒品的分析研究是当前法庭科学研究的热点。尿液是检测分析滥用毒品应用最为广泛的体内检材。在对苯丙胺类毒品滥用者尿样的检验过程中,传统的前处理主要是液-液萃取和固相萃取<sup>[8]</sup>方法。近年来,固相微萃取<sup>[9]</sup>、液相微萃取<sup>[5,10]</sup>和微波萃取技术<sup>[11]</sup>已经广泛应用于法庭科学领域。其中微波萃取技术是近年来发展起来的一种快速高效、可自动控制制样条件的萃取方法。作者已采用微波萃取技术对人体血液中的甲基苯丙胺(MA)直接提取进行了研究<sup>[2]</sup>。甲基苯丙胺、3-*A*-亚甲二氧基苯丙胺(MDA)、3-*A*-亚甲二氧基甲基苯丙胺(MDMA)是常被滥用的3种苯丙胺类毒品,本文在前期工作的基础上,建立了同时检测尿液中MA、MDA和MDMA的微波萃取-气相色谱分析方法。所建立的方法简单实用、选择性好及回收率高,已经应用到滥用苯丙胺类毒品人群的尿液检测中,获得了理想效果。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、材料和试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(美国安捷伦科技公司);配氦火焰离子化检测器(FID);日本岛津QP-5050 GC-MS 配 CLASS-5000 数据处理工作站;MSP-100E 微波萃取仪(北京雷鸣科技公司);氮吹仪(北京八方世纪科技有限公司);Sigma 3K15 高速冷冻离心机(德国)。空白尿(采自健康志愿者);MA 盐酸盐、MDA 盐酸盐和 MDMA 盐酸盐对照品(国家麻醉药品实验室);甲醇(色谱纯);乙酸乙酯、环己烷、氯仿、异丙醇、浓盐酸、无水甲醇、碳酸钠、碳酸氢钠和氢氧化钠均为分析纯。

### 1.2 气相色谱分析条件

色谱柱:HP-5 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.5 μm);柱温采用程序升温:120 °C 保持 2 min,以 8 °C/min 升高到 200 °C,再以 30 °C/min 升高到 280 °C,保持 5 min;进样口温度 280 °C;FID 温度 300 °C;载气:氮气,流速 3.0 mL/min,分流比 10:1;进样体积 1 μL。

### 1.3 GC-MS 分析条件

色谱柱:HP-1 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 1 μm);柱温采用程序升温:100 °C 保持 2 min,以 10 °C/min 升高到 210 °C,再以 30 °C/min 升高到 280 °C 保持 5 min;进样口温度 280 °C;传输线温度 230 °C;载气:氮气,流速 2.0 mL/min,不分流进样;进样体积 1 μL。

离子源:电子轰击离子(EI)源,轰击电压 1.5 kV;扫描方式:SCAN;扫描范围:40~400 u。

### 1.4 标准溶液的配制

分别准确称取 MA 盐酸盐 9.92 mg,MDA 盐酸盐 7.20 mg 和 MDMA 盐酸盐 7.14 mg 于 2.0 mL 容量瓶中,加入 1 mL 甲醇使其完全溶解后定容至 2.0 mL,混匀配制成浓度(以游离碱计算)分别为 4.00,3.00 和 3.00 g/L 的标准储备液,密封保存于 -20 °C。将标准储备液稀释成 1.00 g/L 和 0.100 g/L 的混合标准溶液备用。

### 1.5 样品前处理

#### 1.5.1 微波萃取法

取 2 mL 尿液于微波样品罐中,振荡摇匀,静置 2 h。滴加 2~3 滴 4 mol/L NaOH。加入 6 mL 环己烷,在微波功率 85 W 时按设定温度(40 °C)进行微波萃取 10 min,取出密封罐,冷却至室温。把反应液转移到离心管中,以 9 000 r/min 离心 10 min。取上清液加 2~3 滴盐酸甲醇溶液,用氮吹仪在常温下吹干,分别用 100 μL 和 300 μL 甲醇定容。用 10 μL 注射器取 1 μL 进行 GC-FID 和 GC-MS 测定。

#### 1.5.2 液-液萃取法

取 2 mL 尿液于密封锥形瓶中,振荡摇匀,静置 2 h。滴加 2~3 滴 4 mol/L NaOH。加入 6 mL 环己烷,振荡 10 min,把反应液转移到离心管中,以 9 000 r/min 离心 10 min。取上清液加 2~3 滴盐酸甲醇溶液,用氮吹仪在常温下吹干,用 100 μL 甲醇定容。用 10 μL 注射器取 1 μL 进行 GC-FID 测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 GC-FID 色谱图

在“1.2”节色谱条件下,微波萃取尿液样品中的 MA,MDA,MDMA 可以与基体干扰很好的分离,色谱图见图 1。

### 2.2 微波萃取条件的优化

#### 2.2.1 不同溶剂对萃取率的影响

分别取 6 mL 乙酸乙酯、环己烷、氯仿和异丙醇的混合溶剂(体积比为 9:1)以及环己烷和甲苯的混合溶剂(体积比分别为 1:1,2:1,5:1,11:1)作为萃取溶剂,按“1.5.1”节的微波萃取方法处理样品。实验结果表明:乙酸乙酯、氯仿和异丙醇的混合溶剂作为萃取溶剂时,基体对药物有明显的干扰。环己烷作为萃取溶剂时,干扰很小,提取率较高。环己烷和甲苯的混合溶剂作为萃取溶剂时,在提取率增大的同时,MDA、MDMA 出峰处的干扰明显增大。因此选择环己烷作为萃取溶剂。

#### 2.2.2 萃取温度对萃取率的影响

取 6 mL 环己烷作为萃取溶剂,分别在 25,30,40,50,60,70 和 80 °C 下进行微波萃取,其余步骤同

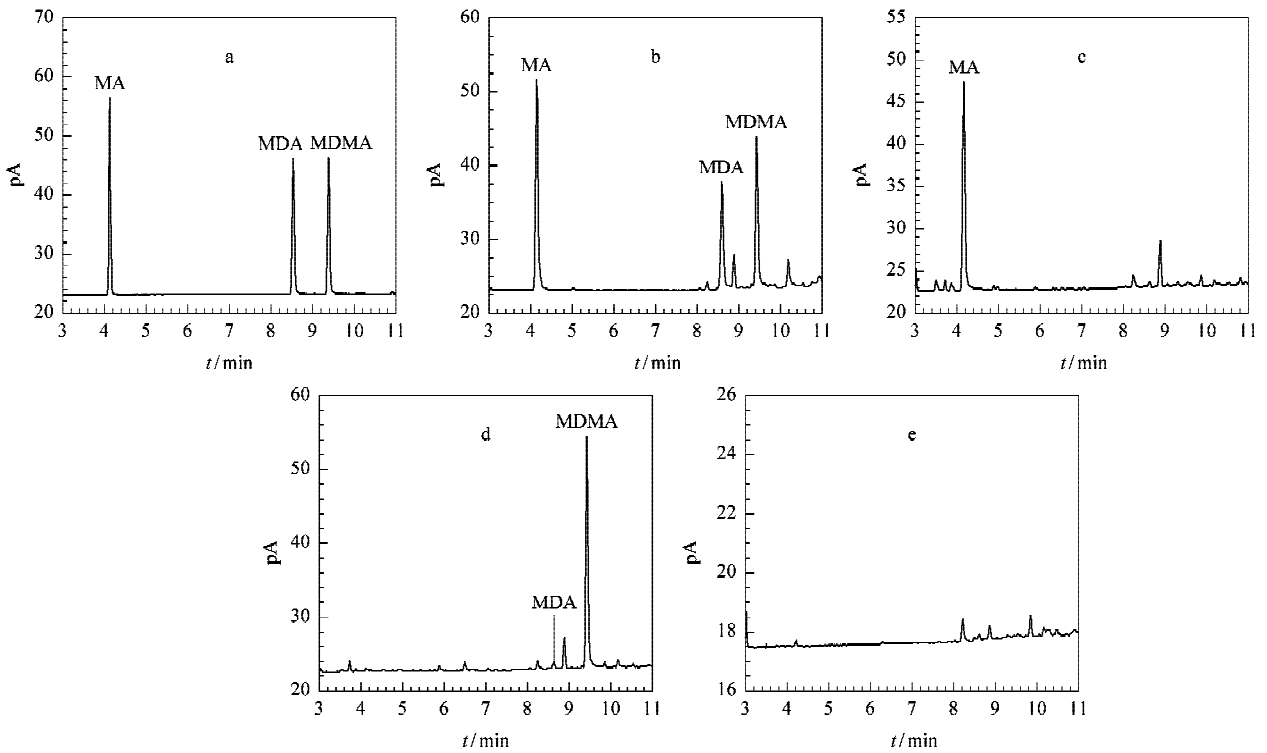


图 1 (a) MA, MDA, MDMA 混合对照品 (0.05 mg/mL), (b) MA, MDA, MDMA 加标 (0.05 mg/mL) 尿样、(c, d) 法医案例中吸食苯丙胺类毒品者尿样和 (e) 空白尿样的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of (a) a mixture of MA, MDA, MDMA standards (0.05 mg/mL), (b) a urine sample spiked with MA, MDA, MDMA standards (0.05 mg/mL), (c, d) real urine samples in medico-legal cases and (e) a blank urine sample

“1.5.1”节所述。实验结果表明:随着温度的升高,萃取率升高;但是高于 50 °C 时,干扰增大。故选择 40 °C 作为最佳的萃取温度。

2.2.3 萃取时间对萃取率的影响

取 6 mL 环己烷作为萃取溶剂,在 40 °C 下,分别微波萃取 2, 5, 8, 10, 12, 15 min, 其余步骤同“1.5.1”节所述。结果(见图 2)表明:随着时间的增加,萃取率明显增加,10 min 之后萃取率变化不大,故选择 10 min 作为萃取时间。

2.2.4 溶剂用量对萃取率的影响

分别取环己烷 2, 4, 6, 8, 10, 12 mL 作为萃取溶剂,在 40 °C 下萃取 10 min, 其余步骤同“1.5.1”节所述。结果表明:随着萃取溶剂用量的增加,萃取率明显增加,大于 6 mL 以后,萃取率变化不大。故环己烷用量选择 6 mL。

2.2.5 尿液 pH 值对萃取率的影响

取 6 mL 环己烷作为萃取溶剂,在 40 °C 的萃取温度下保持 10 min, 分别调节尿液的 pH 值为 9, 10, 11, 12, 13 和 13.7, 其余步骤同“1.5.1”节所述, 结果(见图 3)表明:在尿液的 pH 值大于 12 时,萃取率变化不大。故选择 pH 值为 12。

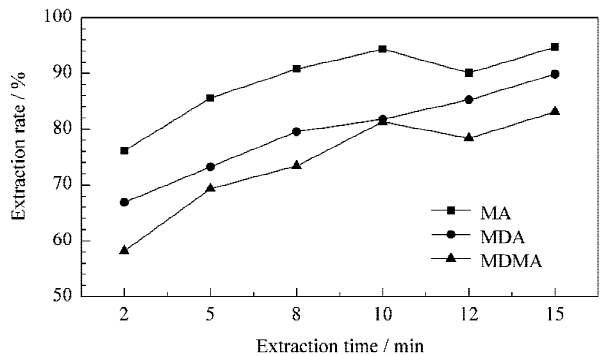


图 2 萃取时间对萃取率的影响  
Fig. 2 Effect of extraction time on the recoveries of MA, MDA and MDMA

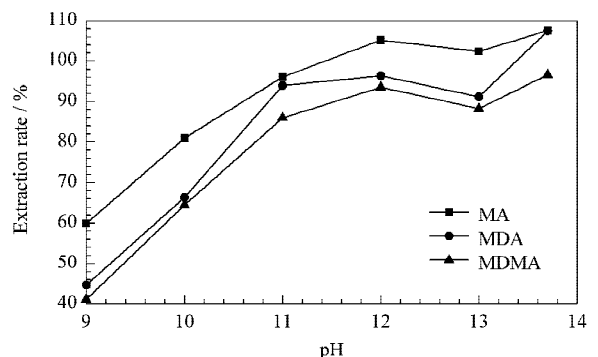


图 3 pH 值对萃取率的影响  
Fig. 3 Effect of pH on extraction

### 2.3 标准曲线和最低检出限

向空白尿液中加入 MA,MDA 和 MDMA 的混合标准溶液,配制尿液中 3 种药物质量浓度分别为 0.05,0.1,0.2,0.4,0.5,1,2,3,4,5,10,15 mg/L 的系列标准溶液。按“1.5.1”节方法处理样品,然后进行 GC-FID 分析。以药物峰面积( $A$ )对药物质量浓度( $C$ ,mg/L)绘制标准曲线,并求得直线回归方程和相关系数。最低检出限为按“1.5.1”节步骤处理样品所能检测到的尿液中的药物浓度(以 3 倍信噪比计算),结果见表 1。3 种药物浓度为 3 mg/L 的日内和日间回收率和精密度见表 2,其中日内(Intraday)为 1 d 内重复测定 5 次的回收率和精密度,日间(Interday)为 5 d 内冻融 5 次测定的回收率和精密度。

表 1 MA,MDA 和 MDMA 3 种药物的标准曲线方程、相关系数和检出限

Table 1 Linear regression equations, correlation coefficients and limits of detection of the MA,MDA and MDMA

Drug	Linear range/ (mg/L)	Linear regression equation	$r^2$	Detection limit/ ( $\mu\text{g/L}$ )
MA	0.05 - 15	$A = 38.565C + 9.903$	0.9984	10
MDA	0.05 - 15	$A = 22.710C + 0.1683$	0.9986	20
MDMA	0.05 - 15	$A = 25.454C + 7.564$	0.9989	20

$A$ : peak area;  $C$ : mass concentration, mg/L.

表 2 MA,MDA 和 MDMA 3 种药物浓度为 3 mg/L 的日内和日间回收率和精密度

Table 2 Intraday and interday recoveries and precisions of the MA,MDA and MDMA for 3 mg/L %

Drug	Intraday ( $n = 5$ )		Interday ( $n = 5$ )	
	recovery	RSD	recovery	RSD
MA	92.25	5.5	94.81	6.8
MDA	85.94	5.5	87.01	4.8
MDMA	91.50	6.1	93.84	6.9

### 2.4 方法的回收率及精密度的测定

取空白尿液,准确加入 MA,MDA 和 MDMA 的混合标准溶液,分别配制药物浓度为 1,3,5 mg/L 的尿液各 5 份,按“1.5”节所述两种方法处理样品,并进行 GC-FID 分析,计算平均回收率和精密度,结果见表 3。

### 2.5 在法医案例中的应用

将该方法应用于测定法医案例中 6 例吸食苯丙胺类毒品者的尿液中 MA,MDA 和 MDMA 的含量,并且与公安部物证鉴定中心提供的数据(采用 GC-MS 测定)进行了比较。分析结果见表 4(括弧中的数据为公安部物证鉴定中心提供的数据;“+”为阳性结果),其中 2 号样品为冰毒吸食者的尿样,色谱图见图 1-c,3 号样品为摇头丸吸食者的尿样,色谱图见图 1-d。

表 3 两种萃取方法对 MA,MDA 和 MDMA 3 种药物的提取回收率和精密度( $n = 5$ )

Table 3 Recoveries and precisions of MA,MDA and MDMA using the two extraction methods ( $n = 5$ )

Drug	Added/ (mg/L)	MWE		LLE	
		recovery/%	RSD/%	recovery/%	RSD/%
MA	1	89.05	6.1	69.88	6.5
	3	92.25	5.5	79.10	5.4
	5	91.88	4.3	75.68	4.6
MDA	1	78.65	4.3	72.81	5.9
	3	85.94	5.5	71.35	6.8
	5	89.35	5.6	69.43	4.3
MDMA	1	87.05	5.1	70.30	8.1
	3	91.50	6.1	73.33	6.5
	5	90.85	4.8	78.90	5.8

MWE: microwave extraction; LLE: liquid-liquid extraction.

表 4 法医案例中吸食苯丙胺类毒品者尿液中 MA,MDA 和 MDMA 的含量

Table 4 MA,MDA and MDMA concentrations in urine of medico-legal cases

Sample code	Misuser		Mass concentrations <sup>2)</sup> /(mg/L)		
	age	sex	MA	MDA	MDMA
1	32	M	1.91 (+)		
2	32	M	14.3 (+)		
3	21	F		0.061 (+)	5.2 (+)
4	22	M	0.82 (1.2)		
5	?	?	13.4 (14.9)		
6	38	M	14.6 (+)		

1) unknown. 2) The figures in brackets provided by Institute of Forensic Science Ministry of Public Security.

### 2.6 GC-MS 定性分析

实验过程中,为了进一步增强检验结果的可靠性,我们还同时采用 GC-MS 的全扫描模式对微波萃取的吸食苯丙胺类毒品者的尿液样品进行了分析。根据其保留时间和质谱图进一步确定了检材中的毒品成分。图 4 为表 4 中 2 号样品的总离子流色谱图和质谱图(冰毒的主要成分为 MA,MA 的代谢产物为苯丙胺(AP)),图 5 为表 4 中 3 号样品的总离子流色谱图和质谱图(摇头丸的主要成分为 MDMA,MDMA 的代谢产物为 MDA)。

### 3 结论

本文采用微波萃取技术对人体尿液中甲基苯丙胺、3,4-亚甲二氧基苯丙胺和 3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺 3 种常见的苯丙胺类毒品的分析进行了研究,通过对微波萃取溶剂、萃取温度、尿液 pH 值等微波萃取条件的优化,建立了同时检测人体尿液中甲基苯丙胺、3,4-亚甲二氧基苯丙胺和 3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺的微波萃取-气相色谱分析方法。该方法简单快速、高效,重现性好和回收率高。将该方法应用于 6 例苯丙胺类毒品滥用者的尿液的检测,获得了理想结果。

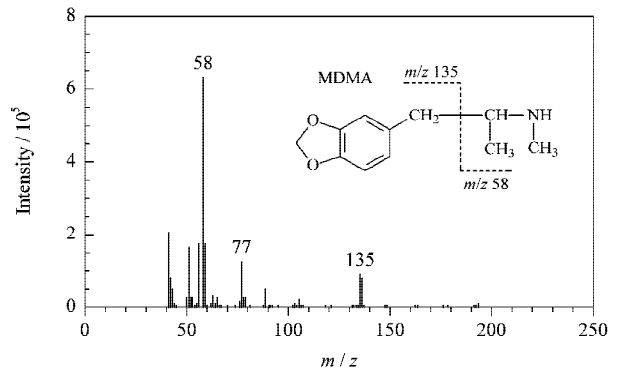
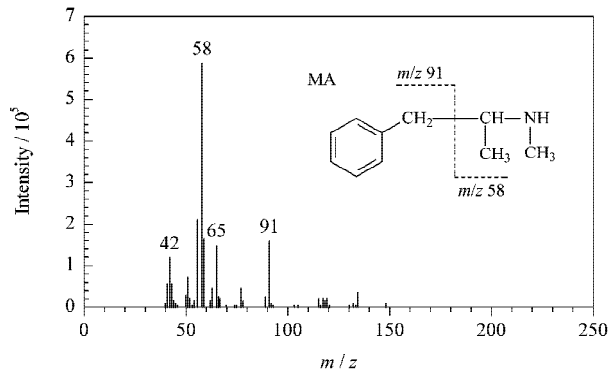
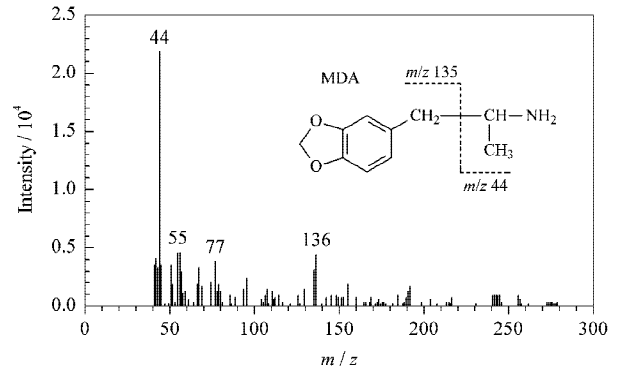
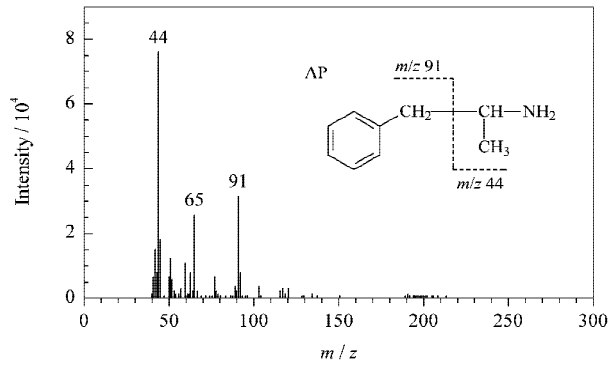
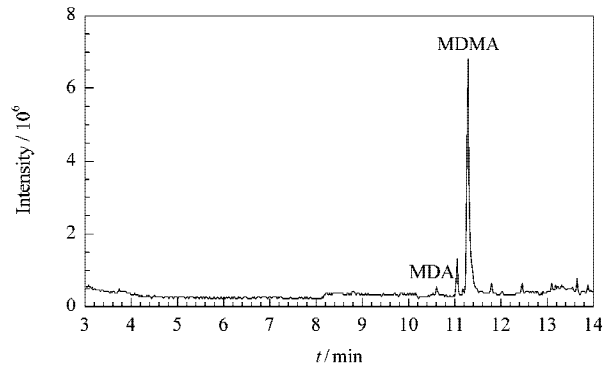
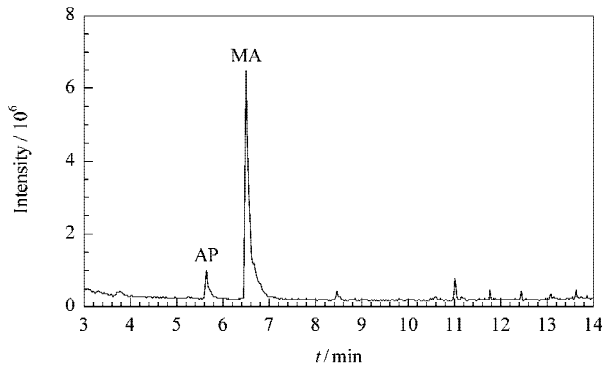


图 4 尿样中 MA 和其代谢产物 AP 的总离子流色谱图和质谱图

Fig. 4 Total ion current chromatogram and mass spectra of the MA and its metabolite AP extracted from a urine sample

图 5 尿样中 MDMA 和其代谢产物 MDA 的总离子流色谱图和质谱图

Fig. 5 Total ion current chromatogram and mass spectra of the MDMA and its metabolite MDA extracted from a urine sample

参考文献:

[ 1 ] Mitrevski B, Zdravkovski Z. Forensic Sci Int, 2005, 152 : 199  
 [ 2 ] Sun H F, Gu X X, Wang J F, et al. Chinese Journal of Chromatography (孙洪锋, 谷学新, 王继芬, 等. 色谱), 2007, 25(4) : 590  
 [ 3 ] Yang X H, Tian K Z, Wang F, et al. Chinese Journal of Chromatography (杨小红, 田开珍, 王峰, 等. 色谱), 2003, 21(5) : 497  
 [ 4 ] Esseiva P, Lock E, Gueniat O, et al. Sci Justice, 1997, 37 : 113  
 [ 5 ] Zhu D, Meng P J, He H Y. Chinese Journal of Chromatography (朱丹, 孟品佳, 何洪源. 色谱), 2007, 25(1) : 16

[ 6 ] Hidvegi E, Fabian P, Hideg Z, et al. Forensic Sci Int, 2006, 161 : 119  
 [ 7 ] Katagi M, Tatsuno M, Miki A, et al. J Chromatogr B, 2001, 759 : 125  
 [ 8 ] Churley M, Robandt P V, Kuhnle J A, et al. J Anal Toxicol, 2002, 26(6) : 347  
 [ 9 ] Jurado C, Gimenez M P, Soriano T. J Anal Toxicol, 2000, 24(1) : 11  
 [ 10 ] Casari C, Andrews A R J. Forensic Sci Int, 2001, 120(3) : 165  
 [ 11 ] Franke M, Winek C L, Kingston H M. Forensic Sci Int, 1996, 81(1) : 51