

膜提取-GC/MS 大体积进样检测海洛因吸食者尿液中的代谢物

蔡锡兰 吴国萍

(江苏公安专科学校技术系 南京 210012)

本文采取有机固相膜提取技术,对尿样进行前处理,用 GC/MS 大体积进样方法测定代谢物及其浓度。为避免提取与测定中的误差,采用添加 SKF-525A 内标物跟踪提取检测,用代谢物特征离子与内标物特征离子峰高比法测定代谢物的浓度。所建立的方法对吗啡和单乙酰吗啡的回收率均大于 80%,最低检出限为 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$,在没毫升尿添加 0.02-0.05 μg 范围内,二者均有良好的线性关系。

1 实验部分

1.1 主要仪器及工作条件

1.1.1 PE GC/MS: Autosystem XL/TurboMass 气质联用仪。

1.1.2 GC: PE-MS5 毛细管柱: 20m \times 0.18mm, 50 $^{\circ}\text{C}$ (1.5min)40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 280 $^{\circ}\text{C}$ (18min) 大体积进样 PSS: 50 $^{\circ}\text{C}$ (0.5min)200 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 320 $^{\circ}\text{C}$ (18min). Split valve initial: ON,0.5min: OFF,4.5min:ON, 进样量: 50 μl 。

1.2.3 MS: 电离源 EI,传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$, 电离电压 70 eV, 离子源温度: 260 $^{\circ}\text{C}$, 扫描范围: 50-500amu.

2 结果与讨论

2.1 大体积进样 利用程序升温毛细管分流/不分流进样器(PSS)可以使样品液体导入,用载气将溶剂吹扫出分流排空阀。然后程序升温汽化溶质进入色谱柱分析,利用这样的溶剂吹扫功能可实行大体积进样,最高进样量可达 150 μl 。可有效的排除溶剂,提高检测灵敏度为 10~100 倍。

2.2 内标物的选择 本文的方法主要是提取和定量测定尿样中的游离吗啡和单乙酰吗啡。选择 SKF-525A 作内标。它在色谱过程中与海洛因及其代谢物吗啡、单乙酰吗啡完全分离;而且它与吗啡具有相似的碱性结构,因而应与吗啡具有相近提取行为。表 1 为吗啡、单乙酰吗啡、海洛因及内标物 SKF-525A 的保留时间 t_r 及选择特征离子。

表 1 待测物的 t_r 及特征碎片离子

组分	SKF-525A	吗啡	单乙酰吗啡	海洛因
t_r	10' 70"	11' 58"	12' 62"	13' 13"
特征离子 (m/z)	86	285	268	327

表 2 尿样中添加吗啡与单乙酰吗啡的回收率

标准品加入量 (μg)	吗啡		单乙酰吗啡	
	回收率 \pm S(%)	RSD%(n=4)	回收率 \pm S(%)	RSD%(n=4)
10	88.2 \pm 1.56	1.5	89.4 \pm 3.52	3.3
5	80.5 \pm 6.12	6.22	82.2 \pm 5.32	5.4
2	80.8 \pm 5.13	5.4	83.5 \pm 8.42	9.51
1	80.4 \pm 4.15	4.4	81.2 \pm 8.73	9.4

2.3 回收率

对添加吗啡及单乙酰吗啡与单乙酰吗啡几内标物的空白尿提取后进行 GC/MS 分析。以吗啡 (m/z 285)、单乙酰吗啡 (m/z 268) 及内标 (m/z 86) 的特征碎片离子峰高比作为测量参数, 与标准样品比较测定回收率, 测定结果见表 2。

2.4 回归方程 分别以吗啡和单乙酰吗啡的添加量为横坐标 (x), 以离子峰高比作纵坐标 (y), 得出吗啡和单乙酰吗啡的提取回归方程, 见表 3。吗啡和单乙酰吗啡在尿中浓度为 0.02~50 μg 范围呈良好的提取线性关系。

表 3 尿样中添加吗啡与单乙酰吗啡的提取关系

组分	线性方程 $y=ax+b$	相关系数 r	线性范围 $\mu\text{g/ml}$	最小检测量 $\mu\text{g/ml}$
吗啡	$Y_1=1.26 \times 10^{-4}x_1+0.045$	0.957	0.02~50	0.02
单乙酰吗啡	$Y_2=1.25 \times 10^{-4}x_2+0.063$	0.976	0.02~50	0.01

2.5 海洛因吸食者尿液测定 表 4 为一例尿样的测定结果。

表 4 一例海洛因尿样的代谢物测定浓度

编号	取样量 (ml)	取样时间 (h)	吗啡		单乙酰吗啡	
			检测总量 (μg)	浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	检测总量 (μg)	浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
1	4	12	\	\	\	\
2	4	24	0.232	0.058	+	\
3	4	36	7.076	1.769	12.012	3.003
4	4	48	2.212	0.553	2.352	0.588
5	4	84	0.876	0.219	2.864	0.716
6	4	120	0.299	0.075	+	\
7	4	144	\	\	\	\

注：“+”可检测出；“\”未能得出结果。

表 4 中数据为一位海洛因吸食者停药后不同时间收集的尿样, 比较吗啡与单乙酰吗啡的浓度可看出, 吸食后前期吗啡与单乙酰吗啡的浓度均很低, 而单乙酰吗啡的浓度更低, 表明海洛因在体内有一代谢过程, 随后二者均出现浓度最高点 (36h), 然后其浓度逐渐降低。6 天后, 尿中已检测不出吗啡与单乙酰吗啡, 而单乙酰吗啡似乎消失更快。对于尿样中吗啡与单乙酰吗啡的浓度其比值关系存在哪些规律, 有待于进一步探讨。

Determination of Heroin Metabolites in Human Urine by ME-GC/MS Large-Volume Injection Method

Cai Xilan, Wu Guoping

(Department of Technology, Jiangsu Public Security College, Nanjing 210012, China)

Abstract

The article determines the heroin metabolites in urine by using the solid phase membrane extractor and GC/MS Large-Volume injection method. The recovery, linearity, and minimum detection level of morphine and monoacetylmorphine were determined. The recoveries of morphine and monoacetylmorphine were more than 80%; the minimum detection levels of them were below 0.01 $\mu\text{g/ml}$; good linearity for both morphine and monoacetylmorphine were obtained between 0.02~50 μg . One urine specimens of heroin abuse were determined successfully by using this method.