

GPC-GCMS法测定血液中有毒物质

GCMS-104

摘要：本文建立了岛津在线 GPC-GCMS 系统测定人体血液中 17 种有毒物质的方法。血样经乙腈简单提取后，经过 GPC 系统进行净化，去除血液中的蛋白质、脂肪及色素等大分子物质后，大体积进样到 GCMS 进行分析。使用外标法绘制 17 种有毒物质的校准曲线，线性良好，相关系数为 0.99 以上；标准溶液连续 6 次进样，测得结果保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06% 和 5.25% 以下，表明仪器精密度良好。

关键词：GPC-GCMS 血液 有毒物质

近年来，随着人们工作和生活压力的增大，患各类神经症和心理障碍的人群逐渐增加。因此使用安眠药和镇静药的人也越来越多，这其中使用不当和服用安眠镇静类药物成瘾者比较普遍存在着。

滥用药物是指连续使用后产生依赖性，并具有滥用倾向的精神活性物质。随着药物滥用行为的日益泛滥，以及药物滥用导致的犯罪事件日益增加，滥用药物分析已经成为司法毒物鉴定不可或缺的重要部分；同时，有机磷农药是常用的杀虫剂，急性中毒时有发生。在中毒致死案件的司法鉴定中，有机磷农药作为常见致死物质，其分析也是司法鉴定当中毒药物分析的项目之一。

在实际检测中，由于生物检材成分复杂，存在大量的干扰物，因此在生物检材中进行定性定量分析具有较大难度。目前检测 血液中此类物质，需根据检测的特定物质调节 pH 值后进行提取、浓缩、检验，操作繁琐且所需血液量大。本文采用乙腈简单提取样品，PSA 初步净化后，再经 GPC 系统净化，大体积进样到 GCMS 进行分析，即简化了样品前处理方法，又提高了分析灵敏度，可以很好地适应司法鉴定工作及刑事案件的原因调查等，为毒物检测提供一个新的有效方法。

实验部分

1.1 仪器

GPC-GCMS 仪器

1.2 分析条件

GPC 条件：

色谱柱：Shodex CLNpak EV-200 (2.1 mm × 150 mm)

流动相：丙酮 / 环己烷 (3/7, V/V)

流速：0.1 mL/min

柱温：40°C

进样量：20 μL

GCMS 条件：

色谱柱：惰性石英管：5 m × 0.53 mm

预 柱：Rtx-5 MS, 5 m × 0.25 mm × 0.25 μm

分析柱：Rtx-5 MS, 25 m × 0.25 mm × 0.25 μm

柱温程序：82°C (5 min)_8°C /min_300°C (9.75 min)

PTV 进样口温度程序：120°C (5 min)_100°C /min_250°C (35.7 min)

进样口压力程序：120 kPa (0 min)_100 kPa/min_180 kPa (4.4 min)_49.9 kPa/min_120 kPa (35.8 min)

隔垫吹扫程序：5.0 mL/min—10 mL/min—0 mL/min (6 min)—10 mL/min—5 mL/min (5 min)

不分流进样时间：7 min

溶剂切割时间：9 min

接口温度：280°C

离子源温度：210°C

采集方式：SIM

1.3 标准溶液配制

标准物质：共 17 种，分别为戊巴比妥、异戊巴比妥、安定、硝甲安定、氯硝安定、阿普唑仑、利多卡因、三唑仑、卡巴西平、苯佐卡因、眠尔通、乙酰甲胺磷、乐果、对硫磷、苯巴比妥、氯氮平和舒乐安定。

标准工作溶液配制：用乙醇配制 1 mg/mL 的混合标准储备溶液，用 GPC 流动相（丙酮：环己烷 =3:7, V/V）配置成 10 ppm 的标准溶液中间使用液。用 GPC 流动相稀释为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/L 的标准溶液使用液。

1.4 样品前处理方法

移取 1 mL 血液样品，加入 3 mL 的乙腈溶液，震荡提取 5 min 后，加入 150 mg 的 $MgSO_4$ 和 50 mg 的 PSA，震荡离心后，取上清液氮吹至 0.5 mL 以下，乙腈定容至 1 mL 后上 GPC-GCMS 分析。

结果讨论

2.1 标准谱图

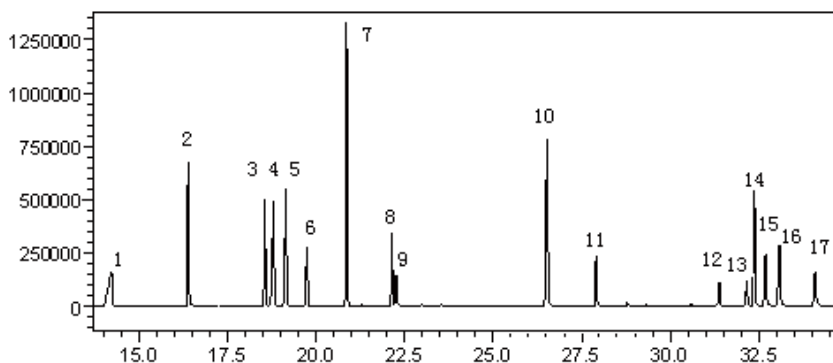


图1 0.6 μ g/mL 的 17 种有毒物质标准品的 SIM 图

表1 17 种有毒物质名称、保留时间及特征离子

NO.	化合物名称	保留时间(min)	目标离子(m/z)	参考离子 (m/z)
1	乙酰甲胺磷	14.200	136	92、125、142
2	苯佐卡因	16.417	120	165、92、65
3	乐果	18.592	87	93、125、229
4	异戊巴比妥	18.817	156	141、197、157
5	戊巴比妥	19.167	156	141、157、197
6	眠尔通	19.758	83	96、144、114
7	利多卡因	20.883	86	120、87、234
8	对硫磷	22.175	109	97、291、137
9	苯巴比妥	22.267	204	117、232、161
10	卡巴西平	26.533	193	192、236、165
11	安定	27.933	256	283、284、221
12	硝甲安定	31.400	280	253、234、206
13	氯硝安定	32.175	280	314、315、288
14	氯氮平	32.400	243	256、326、192
15	舒乐安定	32.725	259	205、294、239
16	阿普唑仑	33.133	273	279、308、204
17	三唑仑	34.175	313	342、238、279

2.2 线性范围

将不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2~18 所示；所得校准曲线线性关系良好，相关系数及检出限见表 2。

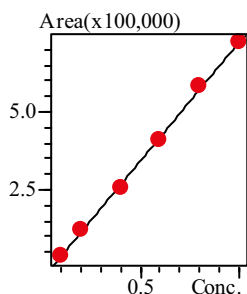


图2 乙酰甲胺磷

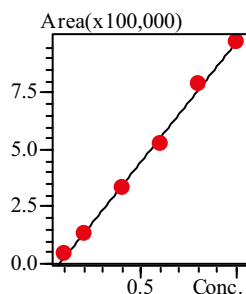


图3 苯佐卡因

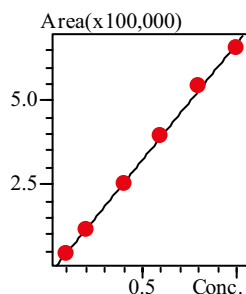


图4 乐果

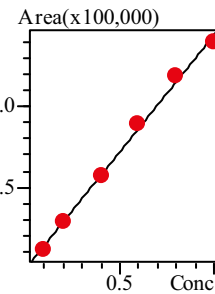


图5 异戊巴比妥

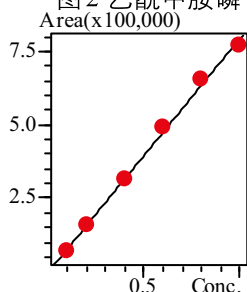


图6 戊巴比妥

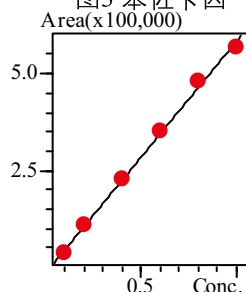


图7 眠尔通

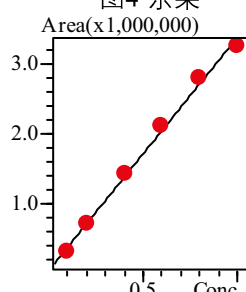


图8 利多卡因

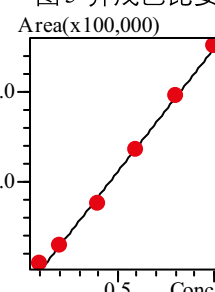


图9 对硫磷

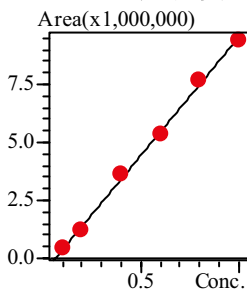


图10 苯巴比妥

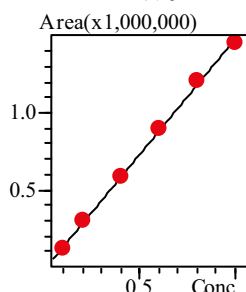


图11 卡巴西平

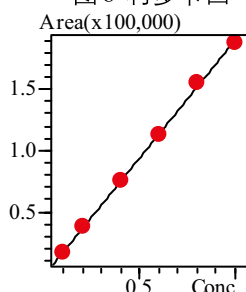


图12 安定

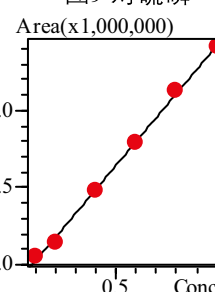


图13 硝甲安定

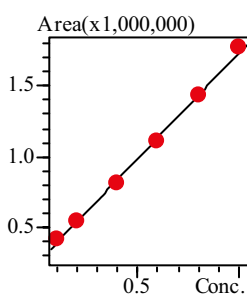


图14 氯硝安定

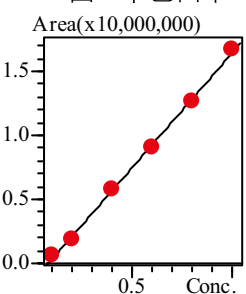


图15 氯氮平

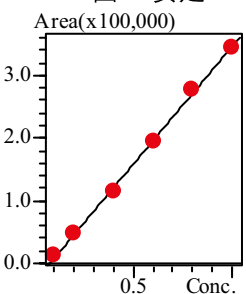


图16 舒乐安定

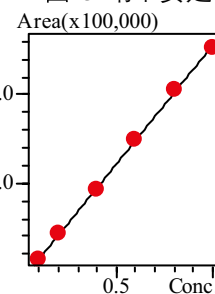


图17 阿普唑仑

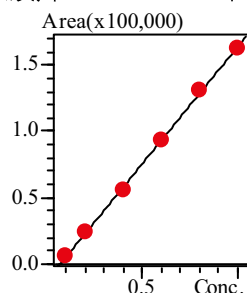


图18 三唑仑

表2 17种有毒物质校准曲线相关系数及检出限

No.	名称	相关系数 r	检出限 (mg/L)
1	乙酰甲胺磷	0.9995	0.004
2	苯佐卡因	0.9996	0.004
3	乐果	0.9993	0.002
4	异戊巴比妥	0.9992	0.002
5	戊巴比妥	0.9995	0.003
6	眠尔通	0.9993	0.002
7	利多卡因	0.9992	0.002
8	对硫磷	0.9993	0.003
9	苯巴比妥	0.9987	0.007
10	卡巴西平	0.9994	0.003
11	安定	0.9996	0.002
12	硝甲安定	0.9976	0.012
13	氯硝安定	0.9985	0.011
14	氯氮平	0.9991	0.001
15	舒乐安定	0.9992	0.001
16	阿普唑仑	0.9996	0.003
17	三唑仑	0.9996	0.006

2.3 精密度测试

对 0.8ppm 的混合标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示: 标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别在 0.01 % ~ 0.06 % 和 1.48 % ~ 5.25% 之间, 仪器精密度良好。

表3 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	样品名称	RSD%	
		R.T.	Area
1	乙酰甲胺磷	0.06	2.52
2	苯佐卡因	0.02	2.52
3	乐果	0.02	2.52
4	异戊巴比妥	0.01	2.52
5	戊巴比妥	0.01	2.52
6	眠尔通	0.02	3.39
7	利多卡因	0.01	2.51
8	对硫磷	0.01	3.43
9	苯巴比妥	0.01	5.25
10	卡巴西平	0.01	1.89
11	安定	0.01	1.48
12	硝甲安定	0.01	3.95
13	氯硝安定	0.01	2.40
14	氯氮平	0.01	4.52
15	舒乐安定	0.01	0.91
16	阿普唑仑	0.01	1.99
17	三唑仑	0.01	1.68

2.4 基质加标实验

选用不含 17 种有毒物质的血样为空白样品, 进行基质加标实验, 加入 0.1 和 1.0 μg 的样品加标量, 平行试验 3 次, 回收率见表 4

表 4 17 种有毒物质的样品加标回收率

No.	样品名称	加标量 (0.1 μg)		加标量(1.0 μg)	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	乙酰甲胺磷	85.3	3.58	91.0	3.30
2	苯佐卡因	72.4	1.72	75.3	3.34
3	乐果	110.7	2.27	99.0	4.04
4	异戊巴比妥	103.7	3.10	97.3	1.57
5	戊巴比妥	82.7	2.52	89.0	3.37
6	眠尔通	71.4	3.57	76.7	2.00
7	利多卡因	77.3	3.25	80.0	3.30
8	对硫磷	87.7	1.32	89.3	1.71
9	苯巴比妥	78.0	1.28	79.0	2.53
10	卡巴西平	98.3	1.55	97.7	3.25
11	安定	86.0	2.01	89.0	2.25
12	硝甲安定	99.0	1.01	99.3	3.24
13	氯硝安定	110	1.57	102.0	2.94
14	氯氮平	111.7	1.37	104.3	2.41
15	舒乐安定	103.3	1.48	103.7	2.01
16	阿普唑仑	87.3	1.75	92.3	1.65
17	三唑仑	81.3	2.56	84.7	2.97

■ 结论

本文建立了在线 GPC-GCMS 系统测定人体血液中 17 种有毒物质的方法。该方法样品处理简单, 快速, 测定浓度范围内线性良好; 标准溶液连续 6 次测定结果峰面积相对标准偏差分别小于 5.25%, 重现性良好。该方法可很好地适应司法鉴定工作及刑事案件的原因调查等, 为毒物检测提供了一个新的有效方法。