

## 微波萃取-气相色谱法测定血液中的甲基苯丙胺

孙洪锋<sup>1</sup>, 谷学新<sup>1</sup>, 王继芬<sup>2</sup>, 倪为贵<sup>1</sup>, 李文君<sup>2</sup>, 李 瑛<sup>2</sup>

(1. 首都师范大学化学系, 北京 100037; 2. 中国人民公安大学, 北京 100038)

**摘要**:建立了人体血液中甲基苯丙胺的微波萃取-气相色谱测定方法。分别考察了萃取溶剂种类、用量、样品 pH 值以及萃取温度、时间等因素对萃取率的影响,并与液-液萃取法进行比较。结果表明,在相同条件下,微波萃取率高于液-液萃取。血液中甲基苯丙胺的最佳提取条件为:调节血样 pH 为 13,以乙酸乙酯为萃取溶剂,于 30 °C 下微波提取 8 min。在此条件下平均萃取率达到 81.4%,相对标准偏差为 6.4% ( $n = 5$ )。提取液经气相色谱-氢火焰离子化检测器检测,甲基苯丙胺和基体之间得到了很好的分离,对血液中甲基苯丙胺的最低检测限为 220  $\mu\text{g/L}$ 。该方法是一种快速、准确、灵敏的测定血液中甲基苯丙胺的方法。

**关键词**:微波萃取;气相色谱;甲基苯丙胺;血液

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2007)04-0590-04 栏目类别:研究论文

## Determination of Methamphetamine in Human Blood Using Microwave Extraction-Gas Chromatography

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

(1. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China;

2. Chinese People's Public Security University, Beijing 100038, China)

**Abstract**: A method was developed for the determination of methamphetamine (MAM) in human blood using microwave extraction-gas chromatography (GC). To improve the extraction efficiency, experimental parameters on the extraction, including such as extraction solvent and its amount, pH value of blood sample, extraction time and temperature were investigated. Comparing with conventional liquid-liquid extraction method, the microwave extraction showed better efficiency under the optimal conditions. The optimal conditions were as follows: the pH of blood sample at 13, ethyl acetate as extraction solvent, extraction at 30 °C for 8 min. The average recovery of MAM with this extraction method was 81.4%, and the relative standard deviation was 6.4%. The limit of detection was 220  $\mu\text{g/L}$  for MAM in the blood. Using this method, MAM 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 determination of MAM in blood samples.

**Key words**: microwave extraction; gas chromatography (GC); methamphetamine; blood

甲基苯丙胺(methamphetamine, MAM)俗称冰毒,属于苯丙胺类兴奋剂。其代谢产物为苯丙胺,在人体内大约有 45% 的甲基苯丙胺以原体形式存在。近年来随着非法生产的急剧增加,其滥用在全国迅速蔓延,给人类的身心健康和社会稳定带来了严重的影响。生物样品中甲基苯丙胺的提取方法基本上停留在液-液萃取<sup>[1]</sup>、超声萃取以及加热回流等传统方式上。近年来固相萃取<sup>[2]</sup>、固相微萃取<sup>[3]</sup>和微波萃取技术<sup>[4]</sup>已经广泛应用于法庭和法医科学。其

中微波辅助萃取技术是近年来发展起来的一种快速、高效、安全的萃取方法。

微波辅助萃取技术是基于不同物质对微波能的吸收程度不同,使基体物质中的某些区域和萃取体系中的某些组分被选择性地加热,从而使被萃取物质从基体或体系中分离出来,进入到微波吸收能力较弱的萃取剂中<sup>[5]</sup>。该技术已被广泛应用于生物<sup>[6]</sup>、环境<sup>[7]</sup>、食品<sup>[8,9]</sup>等样品的前处理。Franke 等<sup>[4]</sup>利用微波辅助萃取-气相色谱法(GC)测定了血

收稿日期:2007-01-30

第一作者:孙洪锋,男,硕士研究生,E-mail: xiaofeng2191@sina.com.

通讯联系人:谷学新,男,教授,硕士生导师,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子课题(No. LG027-6).

液样品中利多卡因等药物的含量,国内也有利用微波衍生化-气相色谱-质谱法(GC-MS)测定毛发中苯丙胺类药物的报道<sup>[10]</sup>,但目前关于生物样品中甲基苯丙胺的微波萃取方法还未见报道。本文采用微波萃取技术直接对人体血液中的甲基苯丙胺进行提取,并通过气相色谱法进行测定,为检测甲基苯丙胺中毒甚至死亡的案例提供了科学的检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、材料和试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪,配氢火焰离子化检测器(FID);MSP-100E 微波萃取仪(北京雷鸣科技公司);日本日立 20PR-520 自动高速冷冻离心机,最大转速 20 000 r/min;HZS-D 水浴振荡器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司)。空白血液(北京市血液中心)。甲基苯丙胺标准品(国家麻醉药品实验室)。甲醇为色谱纯,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、氢氧化钠均为分析纯。

### 1.2 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 3 min,以 10 °C/min 升高到 180 °C,再以 30 °C/min 升高到 280 °C,保持 5 min;进样口温度 280 °C;检测器温度 300 °C;载气:氮气,流速 2.0 mL/min;进样体积 1 μL,分流比 15:1。

### 1.3 标准溶液的配制

准确称取甲基苯丙胺标准品 9.92 mg 于 2.0 mL 容量瓶中,加 1 mL 甲醇完全溶解后定容至 2.0 mL,混匀,密封保存于 -20 °C 下。将标准储备液稀释成 1 g/L 和 0.1 g/L 的标准溶液,备用。

### 1.4 样品前处理

#### 1.4.1 微波萃取法

取 2 mL 血液于微波样品罐中,加 10 μL 1 g/L 甲基苯丙胺标准溶液,振荡摇匀,静置 2 h。加 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> 缓冲溶液(pH 10.83),滴加 2 滴 1 mol/L NaOH,使样品的 pH 达到 13。加入 6 mL 乙酸乙酯,在微波功率为 85 W、30 °C 条件下微波萃取 8 min。取出样品罐,冷却至室温后将样品转移到离心管中,于 9 000 r/min 下离心 10 min。取上层清液,加入 2~3 滴盐酸甲醇溶液,用氮吹仪在常温下将其吹干,用甲醇溶解残渣并定容至 100 μL。用 10 μL 注射器取 1 μL 进行 GC-FID 测定。

#### 1.4.2 液-液萃取法

取 2 mL 血液置于可密封的锥形瓶中,加 10 μL 1 g/L 甲基苯丙胺标准溶液,振荡摇匀,静置 2 h。

加 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> 缓冲溶液(pH 10.83),滴加 2 滴 1 mol/L NaOH,使样品的 pH 达到 13。加入 6 mL 乙酸乙酯,振荡提取 8 min 后将其转移至离心管中,余下操作同“1.4.1”节。

### 1.5 标准曲线的绘制

分别取 1 mL 1 g/L 甲基苯丙胺标准溶液,用甲醇配制 1, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 mg/L 的系列标准溶液并进行 GC/FID 分析。以峰面积与质量浓度绘制标准曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微波萃取条件的优化

#### 2.1.1 不同溶剂对萃取率的影响

分别以 6 mL 乙酸乙酯、环己烷、氯仿-异丙醇(体积比为 9:1)混合溶液作为萃取溶剂。其余步骤按“1.4.1”节的微波萃取方法处理样品。实验结果表明:乙酸乙酯的提取率最高,MAM 与基体可以很好地分离;环己烷的萃取率最低;以氯仿-异丙醇混合溶液及环己烷作为萃取溶剂时,MAM 不能与基体组分干扰分离。这是因为异丙醇在血液中的溶解度比较大,吸收微波的能力比较强(异丙醇有较大的介电常数和电导率),从而提高了溶剂的活性,使溶剂和样品之间的相互作用增大,但在萃取率提高的情况下基体的干扰也相应地增大。这与 Ganzler 等<sup>[11]</sup>的研究成果相符合。环己烷的提取率偏低是因为环己烷属于非极性溶剂,对微波能没有吸收,从而降低了溶剂和样品间的相互作用。故选择乙酸乙酯作为萃取剂。

#### 2.1.2 萃取温度对萃取率的影响

以 6 mL 乙酸乙酯作为萃取溶剂,分别在 20, 30, 40, 50, 60, 70 和 80 °C 下进行微波萃取,其余步骤按“1.4.1”节的微波萃取方法处理样品。结果表明:在 30 °C 时萃取效率最高(见图 1);高于 30 °C 后,随着温度的升高,萃取率明显下降,并且基体干扰明显增多,温度达到 60 °C 以上时,目标化合物已经不能和基体干扰组分分开。这是因为血液中的红细胞和蛋白质在较高的温度下容易变性凝固,从而降低了血液中的甲基苯丙胺分子和有机溶剂的相互作用,导致萃取率降低。故选择 30 °C 作为萃取温度。

#### 2.1.3 萃取时间对萃取率的影响

以 6 mL 乙酸乙酯作为萃取溶剂,在 30 °C 的萃取温度下,分别萃取 2, 4, 6, 8, 10, 12 min,其余步骤按“1.4.1”节的微波萃取方法处理样品。结果表明:随着时间的增加,萃取率明显增加,8 min 之后萃取率增幅不大。故选择 8 min 作为萃取时间。

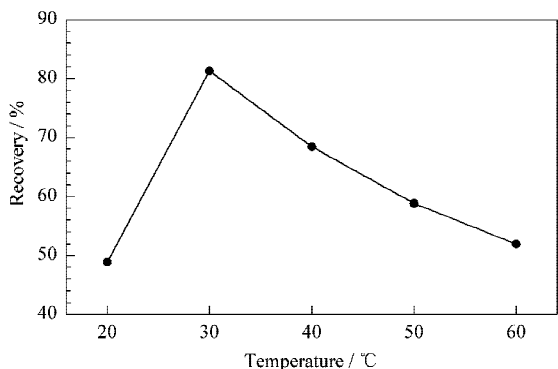


图 1 温度对 MAM 萃取率的影响

Fig. 1 Effect of temperature on extraction of MAM from blood sample

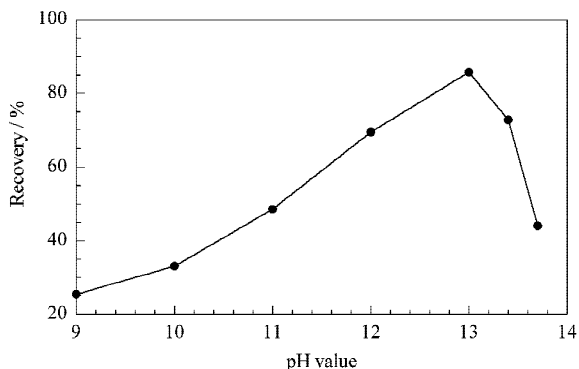


图 2 样品溶液的 pH 值对 MAM 萃取率的影响

Fig. 2 Effect of pH value on extraction of MAM from blood sample

2.1.4 溶剂用量对萃取率的影响

分别取乙酸乙酯 2, 4, 6, 8, 10, 12 mL 作为萃取溶剂, 在 30 °C 的萃取温度下保持 8 min, 其余步骤按“1.4.1”节的微波萃取方法处理样品。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。故选择乙酸乙酯的用量为 6 mL。

2.1.5 样品 pH 值对提取率的影响

以 6 mL 乙酸乙酯作为萃取溶剂, 在 30 °C 的萃取温度下保持 8 min, 分别调节样品 pH 值为 9, 10, 11, 12, 13, 13.4, 13.7, 其余步骤按“1.4.1”节的微波萃取方法处理样品, 结果表明: 在样品溶液的 pH 值为 13 时, 萃取效果最佳(见图 2)。这是因为甲基苯丙胺在碱性环境下以单分子形式存在, 与萃取溶剂有较强的作用力, 所以随着碱性的增强, 萃取率升高。但在较高的碱性(pH > 13)环境中, 血液中的红细胞和蛋白质变性, 导致血液的粘稠度增加, 萃取效率降低。故选择将样品的 pH 调至 13。

2.2 线性范围、回收率以及精密度的测定

以标准溶液的峰面积( $y$ )对其质量浓度

( $x$ , mg/L)作图, 在 4 ~ 140 mg/L 范围内两者呈良好的线性关系( $r^2 = 0.9993$ ), 线性方程为  $y = 1.3757x - 2.7946$ 。

取空白血液 2 mL, 按“1.4.1”节的方法处理样品, 从所得到的色谱图中查出 MAM 的保留时间处基线的噪声强度。根据工作曲线中最低浓度 4 mg/L 的色谱峰高和浓度的比值, 计算出 3 倍基线噪声的血液中的 MAM 的浓度, 得 MAM 的最低检出限为 220  $\mu$ g/L。

分别配制质量浓度为 5 mg/L 的 MAM 全血溶液各 5 份, 按“1.4.1”节的最佳微波萃取条件和“1.4.2”节液-液萃取方法分别处理样品。样品的回收率按标准曲线计算。其回收率和精密度如表 1, 色谱图见图 3。

表 1 两种萃取方法甲基苯丙胺的回收率( $n = 5$ )

Table 1 Recovery of methamphetamine using two extraction methods ( $n = 5$ )

Extraction method	Added/ $\mu$ g	Found/ $\mu$ g	Recovery/ %	RSD/ %
MWE	10.0	8.14	81.4	6.4
LLE	10.0	3.67	36.7	8.7

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

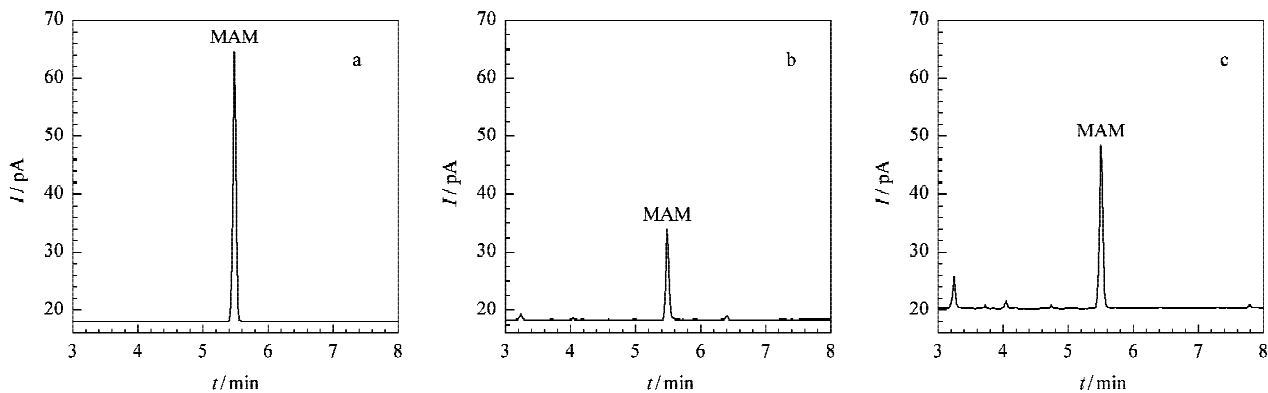


图 3 (a)甲基苯丙胺(MAM)的对照品(0.1 g/L)、(b)液-液萃取提取液和(c)微波萃取提取液的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of (a) methamphetamine (MAM) standard (0.1 g/L), (b) the extract using liquid-liquid extraction and (c) the extract using microwave extraction

### 3 结论

试验过程中,对微波萃取和液-液萃取的方法进行了比较,结果表明:在相同时间(8 min)内微波萃取比液-液萃取的提取率高,微波萃取也较少出现乳化现象。由于本实验是在密闭的聚四氟乙烯密封罐中进行,因此即使在较高的温度下,溶液也不会出现沸腾的现象,溶剂损失小。方法安全、简单、快速,回收率高。为生物样品中苯丙胺类药物的前处理提供了一种快捷和实用的方法。

#### 参考文献:

[1] Liu X Y, He X W, Wang J H. Modern Food Science and Technology (刘晓云,何小维,王继华. 现代食品科技), 2006, 22(1): 132

[2] Gong F J, Zhang R S. Journal of Forensic Medicine (龚飞君,张润生. 法医学杂志), 2006, 22(5): 353

[3] Fucci N, de Giovanni N, Chiarotti M. Forensic Sci Int, 2003, 134: 40

[4] Franke M, Winek C L, Kingston H M. Forensic Sci Int, 1996, 81: 51

[5] Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Trends in Anal Chem, 1994, 13(4): 176

[6] Liu K L, Zhang C S, Zhou S G, Bai Y P, Shen W F, Li W J. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (刘克林,张春水,周淑光,白燕平,沈伟峰,李文君. 理化检验:化学分册), 2003, 39(1): 20

[7] Hao J Y, Huang R H, Wang P Y, Deng X. Pesticides (郝金玉,黄若华,王平艳,邓修. 农药), 2001, 40(8): 15

[8] Zuloaga O, Etxebarria N, Fernandez L A, Madariaga J M. Talanta, 1999, 50: 345

[9] Yuan N, Yu B B, Zhang M S, Zeng J B, Chen X. Chinese Journal of Chromatography (袁宁,余彬彬,张茂升,曾景斌,陈曦. 色谱), 2006, 24(6): 636

[10] 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

[11] Ganzler K, Szinai I, Salgo A. J Chromatogr, 1990, 520: 257

#### 书讯

### 色谱技术丛书

## 气相色谱方法及应用(第二版)

本书荣获第七届石油和化学工业优秀科技图书奖一等奖

刘虎威 编著

出版日期:2007年6月

页数:280页

定价:¥35.00元

本书重点讲述气相色谱(GC)的分析方法、常用技术和应用,是给一般GC技术人员和操作人员的一本实用参考书。书中不少操作问题的讨论和建议是基于作者20多年GC工作经验和教学经验的总结。第一章为概述;第二章是色谱基本理论的简单讨论;第三章涉及GC的仪器组成和操作;第四章则集中介绍GC的各种进样技术,如填充柱进样、毛细管柱分流/不分流进样、冷柱上进样、程序升温汽化进样、大体积进样和阀进样;第五章是从总体上讲述毛细管GC的一般应用;接下来用专门的两章较详细地介绍了顶空色谱和裂解色谱;第八章讨论了近年来快速发展的几种GC新技术,包括快速气相色谱、保留时间锁定、微型气相色谱及其应用、高温气相色谱及其应用,以及多维气相色谱及其应用;第九章则简单地介绍了超临界流体色谱与应用。

本书可作为GC实验室人员培训教材和广大GC工作者的参考书,也可用作大中专学校相关专业的教学参考书。

化学工业出版社

购书热线(010)64518888,64519686(传真)

地址:北京市东城区青年湖南街13号

电子邮件:goushu999@126.com

邮编:100011