

固相微萃取、顶空衍生化检测尿液中 O-6 单乙酰吗啡

厦门市公安局刑警支队技术处(361003) 王 波
厦门大学化学系(361003) 王翊如

在对吸毒嫌疑人员进行尿液检验的工作中,有时检测结果阳性而被检人不承认吸毒,经查有些确实没有吸毒行为,其原因是通过合法或正常的途径摄入吗啡,如在有些止咳及镇痛药物中存在合法的吗啡,被检人由于生病而服用了这类药物,则其尿检结果就可能呈阳性。从理论上说,吸食海洛因后,会在尿液中出现 O-6 单乙酰吗啡(以下简称 MAM),而摄入鸦片中其它生物硷包括吗啡则不会代谢出 MAM,以此可以做为吸食海洛因的司法证据。但 MAM 在尿液中含量少,且不稳定,不易提取,80 年代初在国外曾有检验方法的报导,但不易操作,对试剂及器材要求较高。我们采用目前较先进提取方法——固相微萃取法,使用 BSTFA (N,O-双-三甲基硅三氟乙酰胺)做衍生化试剂,GC/MS SIM 方式在吸毒嫌疑人的尿液中检出 MAM。此方法不使用有机溶剂,无需净化,操作简便,快速,对包括尿液在内的生物检材的检验具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 样品及试剂

O-6 单乙酰吗啡,吗啡,可待因,SKF(国家麻醉品实验室)吸毒嫌疑人员尿样(取自本市某派出所)。

衍生化试剂 BSTFA,固相微萃取进样器(吸附剂:含键合 C₁₈ 的硅胶颗粒)。

1.2 仪器及条件

仪器:HP5890GC/5972MS 气质联用仪
色谱柱:Ultra 1 - Crosslinked Methyl Silicon Gum
25m × 32mm → 52μm
工作条件:进样口温度 260°;接口温度 270°;程序升温:150°(2min)20°/min → 250°(5min)10°/min → 260°(3min)。
载气:氮气;EPP:1PSI;无分流进样:溶剂延时 7min。
电离方式:EI;电子轰击 70EV,扫描方式:单离子扫描

1.3 实验过程

1.3.1 配制样品标准溶液

取标准样品分别配制储备液:内标 SKF1mg/ml、吗啡 10mg/ml、可待因 1mg/ml、MAM2mg/ml 甲醇液。

1.3.2 吗啡、可待因、MAM 衍生化产物保留时间、特征峰的测定

分别取微量吗啡、可待因、MAM 溶于 BSTFA 衍生化试剂中,取 1μl 衍生化产物直接进样,全扫描以确定其分子离子峰及物征峰。所测三种物质 BSTFA 衍生物的分子离子峰、特征峰及谱图见表 1。

1.3.3 检验条件及工作曲线的测定。

见表 2、表 3 及图 1、图 2、图 3、图 4。

表 1 吗啡、可待因、MAM 的 BSTFA 衍生物的保留时间、分子离子峰、特征峰

化合物(衍生化产物)	保留时间	分子离子峰	特征峰
吗啡	11.934	429	73,146,196,236,324,371,429
可待因	11.096	371	73,115,146,178,234,343,371
MAM	12.565	399	73,124,162,204,287,340,399

表 2 固相微萃取法分析吗啡、可待因、MAM 的 BSTFA 衍生物的相对标准偏差

化合物(衍生化产物)	吗啡	可待因	O-6 单乙酰吗啡
相对标准偏差	12%	18%	16%

表 3 吗啡、可待因、MAM 的检出限

化合物(衍生化产物)	吗啡	可待因	O-6 单乙酰吗啡
检出限(μg/ml)	1.5	0.23	0.84

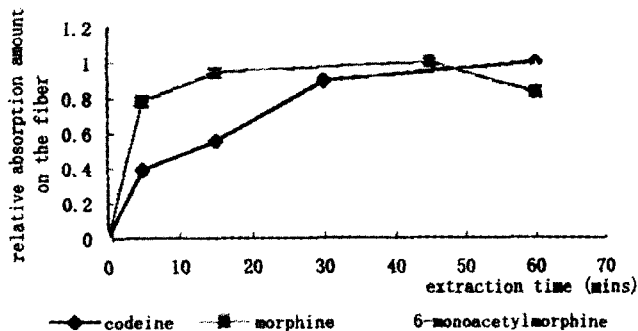


图 1 萃取时间与富集量关系

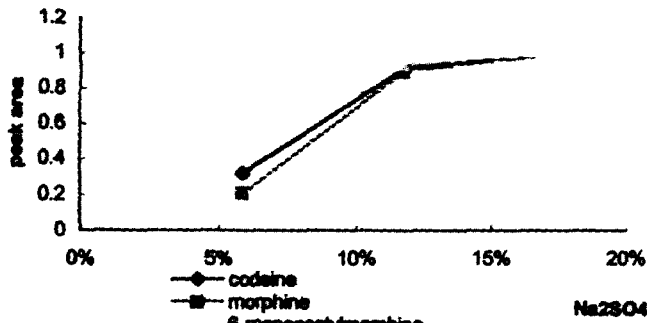


图2 无水硫酸钠影响曲线

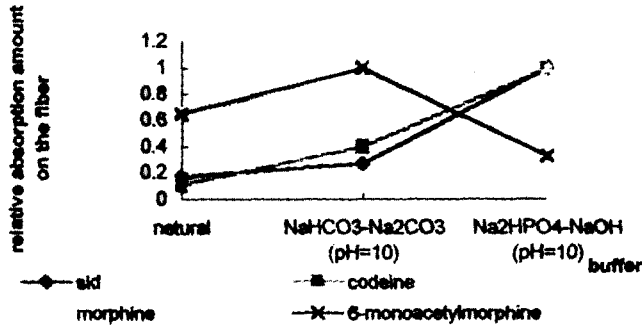


图3 缓冲液影响曲线

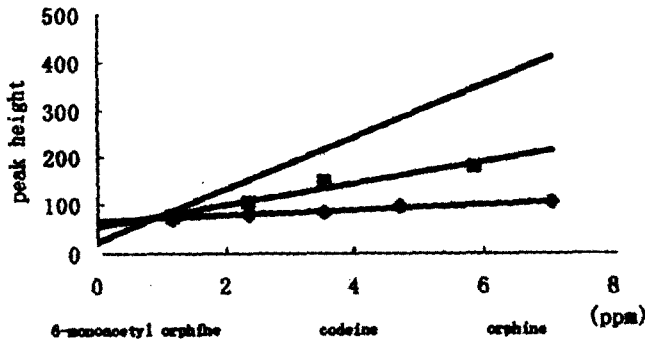


图4 工作曲线

1.3.4 检材检测:

取 1.5g 无水硫酸钠固体到 10ml 玻璃瓶中, 加入 3ml 尿样及浓盐酸 2ml, 90 度水浴 30 分钟, 用 50% 氢氧化钠水溶液调至 pH8, 再用 0.5M 碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液调至 pH10, 定容 10ml, 密封, 磁力搅拌, C18 萃取 15 分钟, BSTFA 密封, 60 度水浴下衍生 30 分钟. 进样,

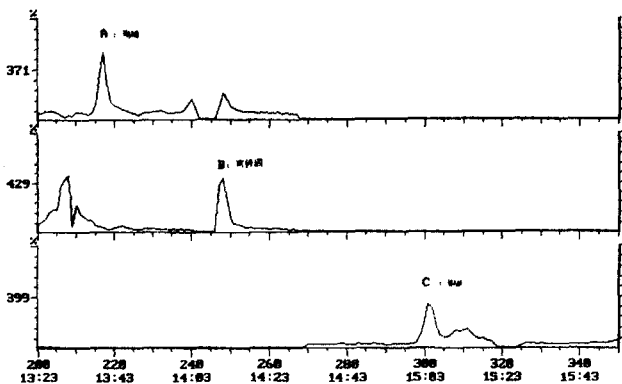


图5 吗啡盒尿检阳性

结果见图 5。

2 结果及讨论

2.1 实验结果:(见表 1、表 2、表 3 及图 1、图 2、图 3、图 4)

2.2 讨论

(1) 海洛因和可待因经代谢其最终产物都是吗啡, 但在人体中没有吗啡转变为 MAM 的途径, 这样, 通过检测 MAM 的存在, 可以做为摄入海洛因的司法证据。有资料表明, 可待因摄入后, 在近二十小时里会使尿液中吗啡的含量提高, 这样, 有些含有可待因的止咳糖浆, 如果服用到一定量, 也可在尿液中检出吗啡阳性结果, 更不用说有些药物直接加入鸦片、罂粟壳甚至吗啡了, 但无论是可待因还是其它鸦片中的生物硷, 都未发现代谢出 MAM 的报道。

(2) pH 值在萃取过程中影响很大, 由图 3 可以看到, 中性条件到 pH10, 萃取量变化不大, 但 pH 值过大则 MAM 的萃取量迅速降低。

(3) 增敏剂无水硫酸钠在整个体积中达到 15% 以上时达到平衡。

(4) 海洛因在体内代谢最终产物主要为吗啡, MAM 做为海洛因的代谢中间产物, 性质不稳定, 易分解, 不易提取净化, 尤其在尿液中含量少, 不容易检测。但做为法庭证据, 却又起着重要作用。本文在现有仪器方法条件下, MAM 检出限为 0.84 μ g/ml, 吗啡盒阳性的尿样 4 例中只检出一例; 在相同实验条件下使用仪器为 FINIGAN GCQ™(厦门大学化学系), 吗啡盒阳性的尿样 3 例, 阴性一例, 均检出 MAM 成分, 其中阳性结果见图 5。

(5) 固相微萃取不使用有机溶剂提取, 不需净化, 进样样品不含溶剂, 不仅可以避免使用有机溶剂, 同时装置简单、操作简便, 富集进样量相对来说比液体进样量要高。采用合适的富集物质, 多种药物在生物检验中的分析可成为一件比较容易的工作。

参考资料:

1. J. Fehn and G. Megges, Dtdctedion of O - 6Momoacetyl - Morphine in urine samples by GC/MS as evidence for heroin use. J. Anal. Toxicol. 1985; 9: 138-38
2. S. J. Mule and G. A. Casella, Rendering, the "Poppy - seed De fense" defenseless: identification of 6 - Monoacetyl - Morphine in urine by GC/MS. Clin Chem. 1988; 34: 1427-30
3. 张道宁, 吴采樱. 固相微量萃取的进展. 化学通报 1988: (3)

编辑:周 静 收稿日期:1999-01-15