

气质联用法快速检测中毒患者体液中毒鼠强

罗达龙*, 陈学松, 刘慧妍

(广西梧州食品药品检验所, 梧州 543002)

摘要: **目的** 建立毒鼠强中毒患者的胃内容物、血液和尿液中快速检测毒鼠强的气质联用方法。**方法** 运用 C₁₈ 小柱对胃内容物与血液进行除杂、净化后, 通过气质联用仪上的大体积进样与程序升温进样, 并利用小口径毛细管色谱柱 HP-5MS(0.18 mm×20 m, 0.18 μm)进行检测, 用选择离子模式对 *m/z* 92、132、212、240 进行采集。**结果** 从样品前处理到确证完成全过程耗时约 20 min。**结论** 该方法具操作简易快速、定性准确、灵敏度高等特点, 能应用于应急检验, 为患者抢救工作节省了宝贵的时间。

关键词: 气质联用; 快速检测确证; 胃内容物; 血液; 尿液; 毒鼠强中毒

Determination of the body fluids from tetramine poisoning patients by gas chromatography-mass spectrometry

LUO Da-Long*, CHEN Xun-Song, LIU Hui-Yan

(Wuzhou Institutes for Food and Drug Control, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Wuzhou 543002, China)

ABSTRACT: Objective To establish a gas chromatography-mass spectrometry selected ion monitoring method for the determination of tetramine in the gastric content, the blood or the urine from the poisoned patients. **Methods** The C₁₈-solid phase extraction column was adopt to purify the substrate of the gastric contents or the blood. Large volume injection of samples with a programmed temperature vaporize (PTV) system were discussed. With the conditions of small diameter capillary chromatographic column (HP-5MS: 20 m×0.18 mm, 0.18 μm), selected ion monitoring (SIM) acquired mode were selected for *m/z* 92, 132, 212, and 240. **Results** The whole process took about 20 min. **Conclusion** This method is rapid, accurate, and sensitive. It can be applied to emergency inspection, and save precious time for the patient in the tetramine poisoning rescue work.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; rapid detection confirmation; gastric content; blood; urine; tetramine poisoning

1 引言

毒鼠强(tetramine), 化学名为四亚甲基二砷四胺, 为剧毒速效的灭鼠药, 无色、无味。它对所有温血动物都有剧毒, 中国农业部、中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)曾于 1982 年联合发文严禁使用这些化合物作为灭鼠药, 但仍有人使用而

造成中毒事件^[1-3]。为给毒鼠强中毒患者的诊断治疗提供及时可靠的依据, 有必要建立一种操作简易快速、定性准确、灵敏度高的检测方法。毒鼠强气质联用法作为唯一确证方法, 没有统一国家标准, 传统前处理过程复杂繁琐, 耗时过长, 通常需要几个小时, 难以适应突发公共卫生事件的快速毒检要求。而且往往会在分析复杂基质如: 人的胃内容物、血液、尿液

*通讯作者: 罗达龙, 主管药师, 主要研究方向为药品、食品检验。E-mail: 364634386@qq.com

*Corresponding author: LUO Da-Long, Pharmacist, Wuzhou Institutes for Food and Drug Control, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Wuzhou 543002, China. E-mail: 364634386@qq.com

等时,由于净化不够,杂质带入系统,使仪器耗损严重,甚至引起结论判断错误。

对于毒鼠强检测方法,目前通过利用大口径柱快速测定方法^[4],利用大体积进样测定^[5],以提高检测灵敏度;有利用液液萃取的方法^[6],达到减少前处理的时间等研究,以及多种毒鼠强检测方法^[7-15]报道。本研究是运用了固相萃取除杂技术作为前处理,结合大体积进样、程序升温气化(programmed temperature vaporizer, PTV)进样、小口径毛细管柱,通过选择离子模式(selected ion monitoring, SIM)对中毒病人体液(胃内容物、血液和尿液)中的毒鼠强进行检测确证。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

安捷伦 7890A-5975C 气质联用仪,配有瑞士 CTC 多功能进样器、PTV 进样口;超纯水器(ELGA PURELAB ClassicUVF);超声波清洗器;高速离心机;C18 固相萃取小柱(天津博纳艾杰尔科技有限公司)

乙腈(HPLC 级,美国 Fisher 公司),其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。实验用水为经 ELGA PURELAB ClassicUVF 净化系统过滤的去离子水;毒鼠强标准品购自国家标准物质中心。

2.2 色谱条件

色谱柱:HP-5MS(20 m×0.18 mm, 0.18 μm);载气为高纯氦气;进样量:50 μL;在 PTV 进样期间(0.8 min),分流排空阀控制在 80 mL/min 的流量,进样完成后,分流排空阀关闭(1.0 min);PTV 温度程序如下:40 °C 维持 1 min,以 250 °C/min 速率升至 250 °C 维持 2 min,以 250 °C/min 速率升至 300 °C 维持 7 min。柱流速:以恒流模式 0.5 mL/min。柱温箱:90 °C(2 min),以 100 °C/min 速率升至 150 °C,以 50 °C/min 速率升至 280 °C 维持 4 min。

2.3 质谱条件

电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV;扫描特征离子(m/z):92、132、212、240;GC/MS 接口温度:280 °C;离子源温度:230 °C;四级杆温度:150 °C。

2.4 标准溶液的制备

准确称取毒鼠强标准品 5 mg,置于 100 mL 容量瓶中,用乙腈溶解并定容,配成 50 μg/mL 对照溶液。

2.5 供试样品的制备

取血液、胃内容物或尿液 2 mL,加入 1 mol/L 醋酸铵(PH6) 4 mL 漩涡混合 2 min,混合液 4000 r/min 离心 3 min,取上清液(约 4 mL)过 C18-SPE 小柱(3 mL 甲醇,3 mL 水活化),弃去,加水 3 mL 洗脱,弃去洗脱液,加入乙腈 3 mL 冲洗,并收集冲洗液,上气质联用仪测定。

3 结果

3.1 毒鼠强在胃内容物、血液和尿液中的回收率

将毒鼠强加入空白胃内容物样品、血液样品和尿液样品中,采用本文“2.5”方法进行处理,测定毒鼠强在胃内容物、血液和尿液中的回收率,每种添加量水平测定 3 次,取平均值作为实际检出,结果见表 1。

表 1 胃内容物样品、血液样品和尿液样品的回收率试验结果($n=3$)

Table 1 Recoveries of the gastric contents, the blood or the urine ($n=3$)

基质	添加量 (μg/kg)	检出量 (μg/kg)	回收率 (%)	RSD(%)
胃内容物	10.0	8.1	81.0	4.8
	25.0	20.6	81.2	3.7
	50.0	47.9	95.8	2.2
血液	10.0	8.0	80.0	4.2
	25.0	22.2	88.8	3.6
	50.0	46.4	92.8	2.5
尿液	10.0	8.5	85.0	4.7
	25.0	21.8	87.2	3.3
	50.0	47.6	95.2	2.4

结果表明,胃内容物回收率为 81%~96%,血液回收率为 80%~93%,尿液回收率为 85%~96%,方法准确率高。

3.2 样品提取方法的优化

通过液液萃取法与固相萃取法比较两种提取方法,分别上气质联用仪,用 SIM 模式进行采集,对比基质净化效果。

液液萃取法:血液或尿液样品:取血液或尿液 5 mL 置 15 mL 离心管中,加入 5 mL 丙酮,漩涡震荡 2 min;4000 r/min 离心 5 min;胃内容物样品:取胃内容物 5 mL 置研钵中,加入 5 mL 丙酮与 2 g 硫酸镁,

研磨 2 min 后; 两种提取液分别取有机层 2 mL 置 2 mL 离心管, 于 15000 r/min 离心 1 min, 取上清液上气质联用仪测定。

固相萃取法: 按本文“2.5”供试样品的制备。

3.3 色谱柱的选择

文献^[3,4]均采用 HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 或 DB-5MS(30 m×0.32 mm, 0.25 μm) 等较大口径毛细管柱, 可提高柱容量来增加检测灵敏度, 本研究用 PTV 进样口的溶剂吹扫功能与 HP-5MS(20 m×0.18 mm, 0.18 μm), 可在保证灵敏度的基础上, 加快出峰时间, 从而减少分析时间。故本次研究选取了 HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 与 HP-5MS(20 m×0.18 mm, 0.18 μm) 做比较。

3.4 色谱条件的选择

相对于普通进样器与普通的气相分流不分流进样口, 一般有效进样量为 1 μL; 但本次研究采用了大体积进样(50 μL)与 PTV 进样模式, 为达到提取后不需对提取液进行浓缩, 即可上样, 并在进样口端实现溶剂吹扫, 使目标物聚焦后进入色谱柱, 大大节省了前处理的时间。因之前有文献^[5]对此作出研究, 说明其可行性, 故本次研究均采用大体积进样。

3.5 方法比较

通过比较液液萃取法结合大口径色谱柱的 SIM 模式下的离子流图(图 1), 与固相萃取法结合小口径色谱柱的 SIM 模式下的离子流图(图 2)。

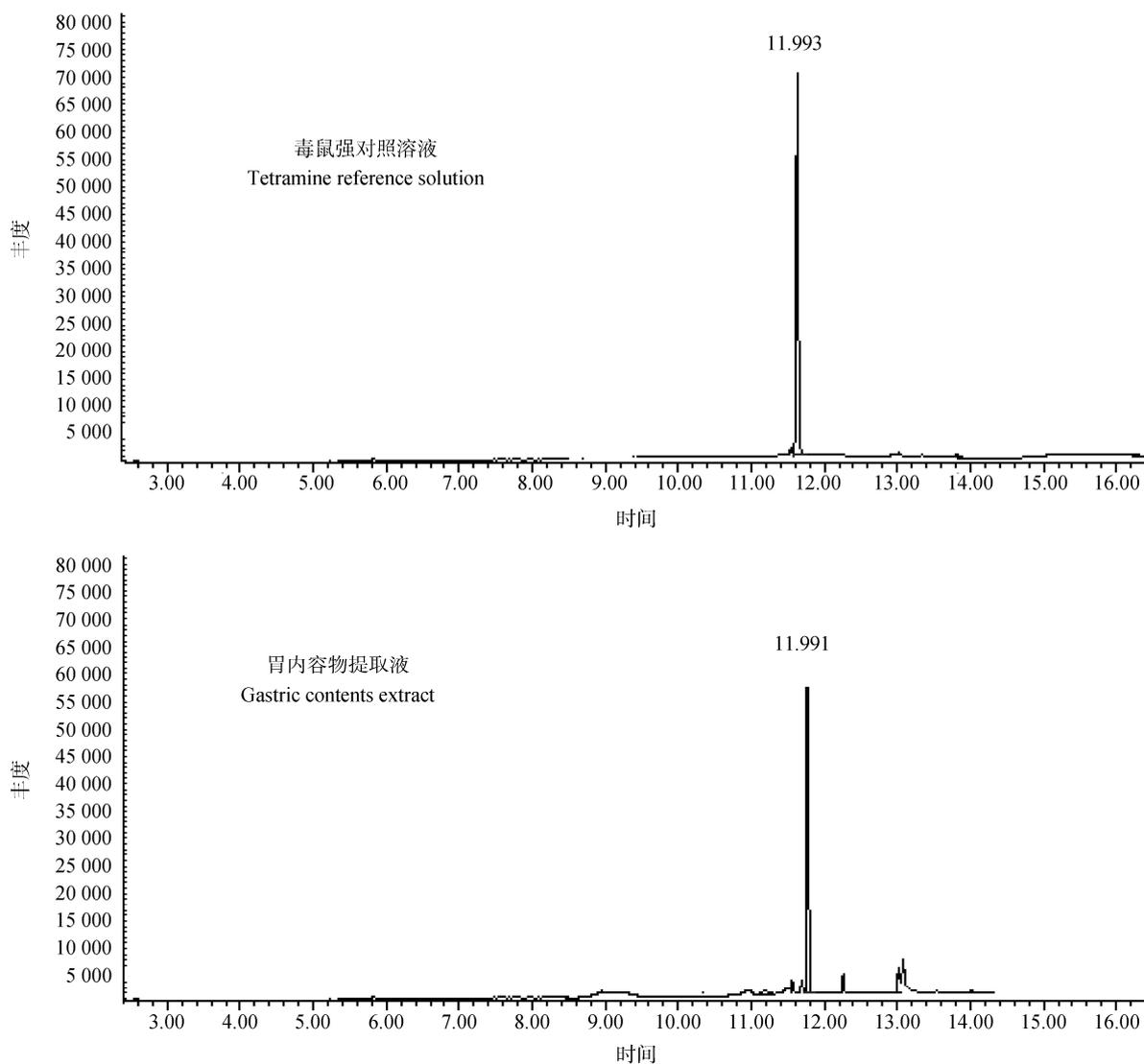
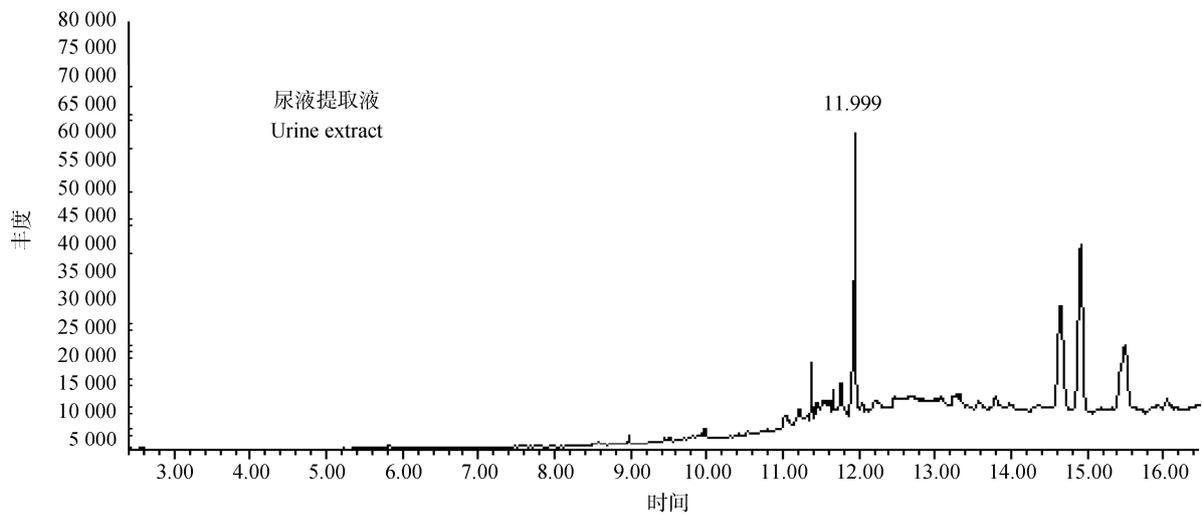
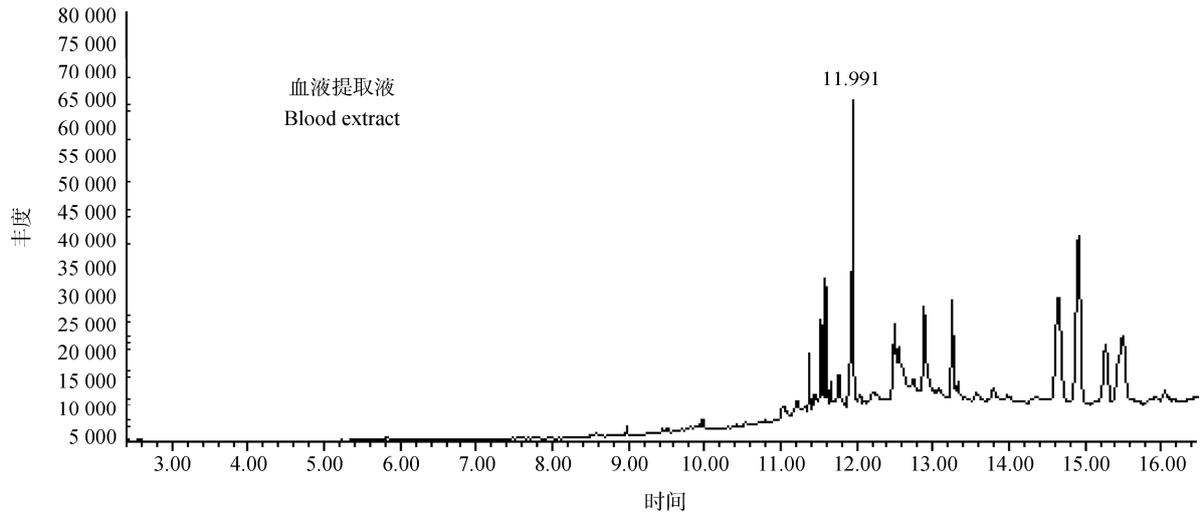


图 1 液液萃取法结合大口径色谱柱的离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of Liquid-liquid extraction combined with large diameter chromatographic column



续图 1

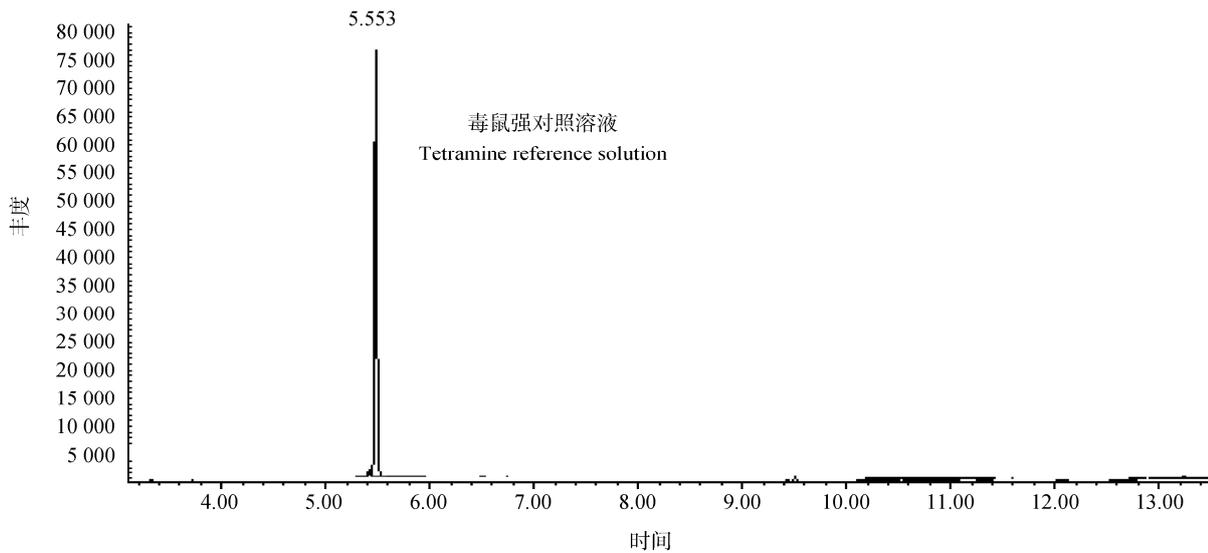
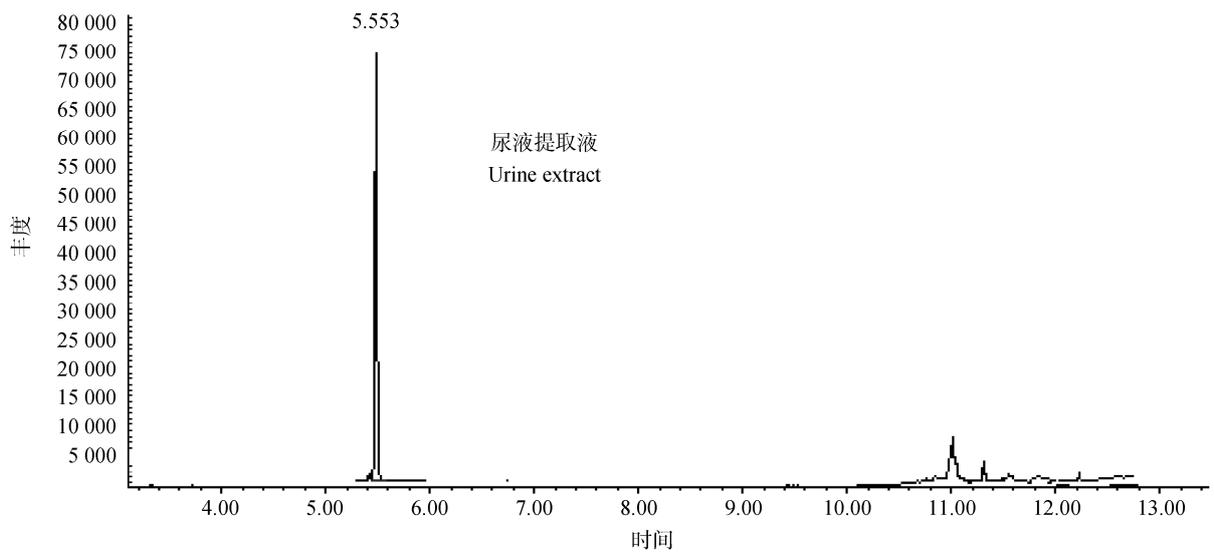
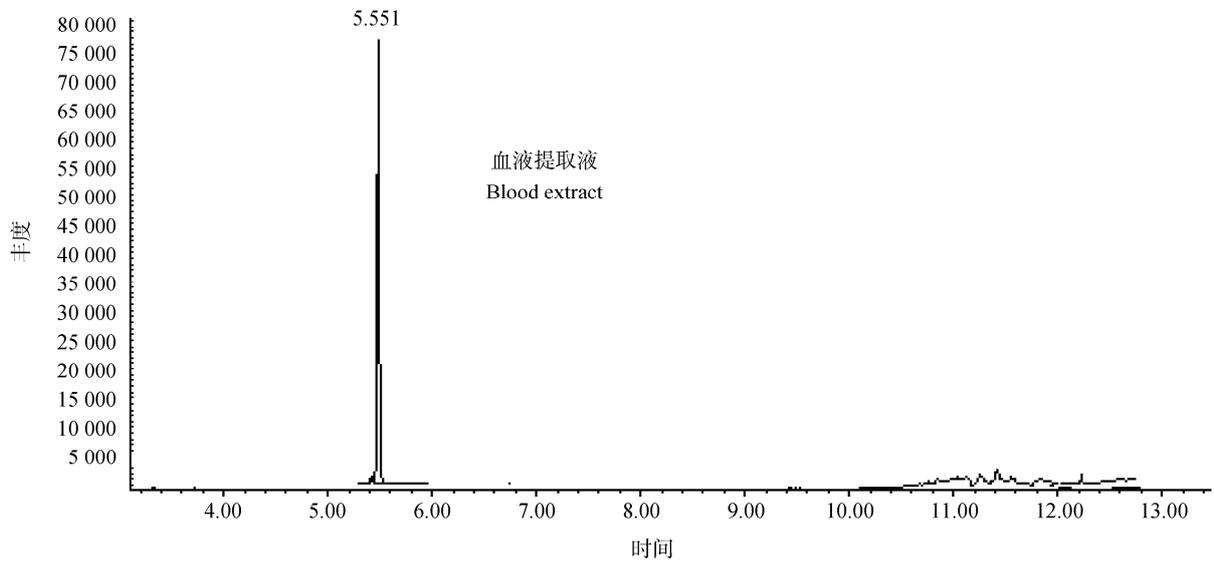
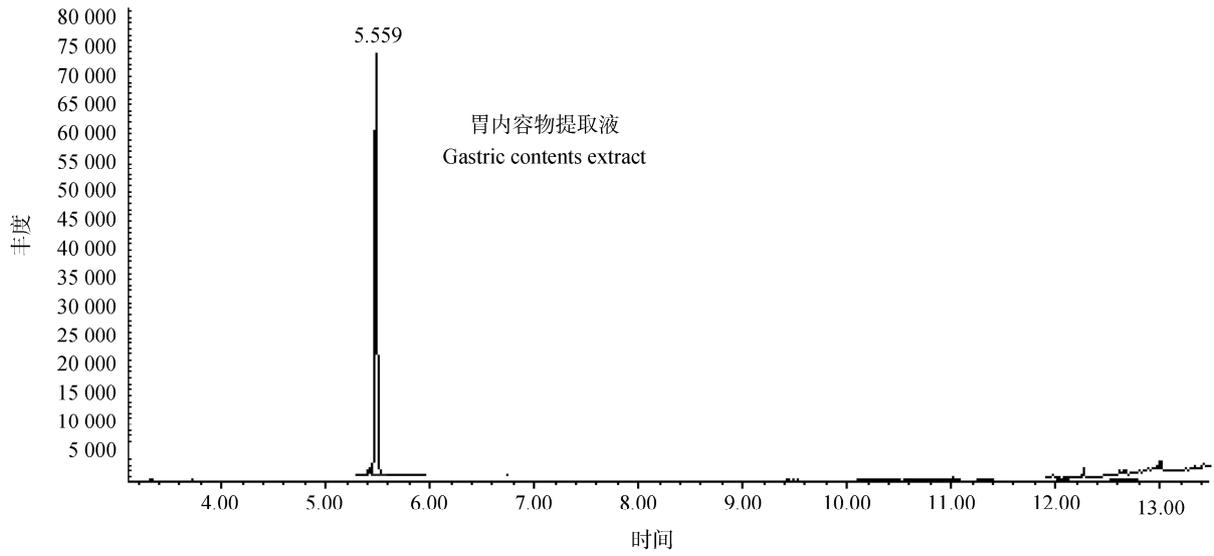


图 2 固相萃取法结合小口径色谱柱的离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of solid phase extraction combined with small diameter chromatographic column



续图 2

研究表明,固相萃取法两者优化结合,以达到:①提高了检验灵敏度,从相同浓度的毒鼠强标准溶液看出,峰高约高出1.3倍,从而能有效提高检出率;②缩短检验周期,保留时间约缩短了2倍,从而为病人抢救节省时间;③减少污染物的影响,从图3与图6对比,优化后的SPE提取方法干扰峰明显减少,并减少了基质对目标物的影响,降低了基质效应,能保护仪器。

4 结论

本研究建立了运用固相萃取C18小柱对毒鼠强中毒患者的体液(胃内容物、血液和尿液)进行净化前处理,结合大体积进样、PTV进样、小口径毛细管柱,通过SIM模式进行毒鼠强检测确证。从样品前处理到确证完成全过程耗时约20 min。该方法具操作简易快速、定性准确、灵敏度高等特点,能应用于应急检验,为患者抢救工作节省了宝贵的时间,而且替代了液液萃取中大量使用有机溶剂,减少了高纯氦气的使用,既降低了成本,又减少了废液排放,具有重要的环保意义。

参考文献

- [1] 倪士峰,刘惠,吴智宇,等.毒鼠强毒理学及其中毒解救方法研究进展[J].西北药学杂志,2009,4(24):159-160.
Ni SF, Liu H, Wu ZS, *et al.* Progress of tetramine toxicology and poisoning rescue method [J]. Northwest Pharm J, 2009, 4(24): 159-160.
- [2] 郭瑞芳.毒鼠强中毒如何解救[J].中国保健营养,2002,12:41.
Guo RF. How to save tetramine poisoning [J]. China Health Care Nutr, 2002, 12: 41
- [3] 闫冬良,马纪伟,高华,等.毒鼠强的研究现状[J].实用预防医学,2004,11(5):1067-1069.
Yan DL, Ma JW, Gao H, *et al.* The current research status of tetramine [J]. Practic Prev Med, 2004, 11(5): 1067-1069.
- [4] 李永香,明佳佳,李玉秦,等.GC/MS大口径柱快速测定毒鼠强质谱指纹图谱研究[J].河南医学研究,2005,14(2):131-134.
Li YX, Ming JJ, Li YQ, *et al.* Development of a GC/MS finger spectrum method for detection of tetramine [J]. Henan Med Res, 2005, 14(2): 131-134.
- [5] 廖华勇,吴雪梅,曾红惠,等.大体积进样气质联用法同时检测毒鼠强和氟乙酰胺[J].色谱,2003,7(4):414-417.
Liao HY, Wu XM, Zeng HH, *et al.* Simultaneous determination of tetramine and fluoroacetamide by gas chromatography-mass spectrometry with large volume injection [J]. Chin J Chromatogr, 2003, 7(4): 414-417.
- [6] 李永香,李发生,明佳佳,等.气质联机快速检测确证毒鼠强食物中毒[J].河南预防医学杂志,2005,16(2):19-21.
Li YX, Li FS, Ming JJ, *et al.* Rapid detection of tetramine online corroborate tetramine food poisoning [J]. Henan J Prev Med, 2005, 16(2): 19-21.
- [7] 李青,刘思洁,张晓会,等.毒鼠强的3种检测方法对比分析[J].中国卫生工程学,2006,5(3):169-170.
Li Q, Liu SJ, Zhang XH, *et al.* Tetramine three detection methods of comparative analysis [J]. Chin J Public Health Eng, 2006, 5(3): 169-170.
- [8] 龙铁军,周永求,肖求文,等.毒鼠强快速化学检测方法研究[J].分析测试学报,1999,18(5):70-71.
Long TJ, Zhou YQ, Xiao QW, *et al.* The study of tetramine rapid chemical detection method [J]. Anal Test J, 1999, 18(5): 70-71.
- [9] 曹元龙,张容杰,刘丽红,等.毒鼠强中毒检测的研究[J].郑州粮食学院学报,2000,21(2):50-52.
Cao YL, Zhang RJ, Liu LH, *et al.* Advancement in reaches of methods for detection of tetramine [J]. J Zhengzhou Inst Technol, 2000, 21(2): 50-52.
- [10] 王江,刘华,王鸿,等.气相色谱法测定中毒食品中的424[J].中国卫生检验杂志,2000,10(6):680.
Wang J, Liu H, Wang H, *et al.* Gas chromatography determination of food poisoning in 424 [J]. Chin J Health Technol, 2000, 10(6): 680.
- [11] 张恩平.剧毒急性杀鼠剂毒鼠强的气相色谱快速定性分析[J].山西医科大学学报,2001,32(1):83-84.
Zhang EP. Highly toxic acute rodenticide tetramine rapid gas chromatographic qualitative analysis [J]. J Shanxi Med Univ, 2001, 32(1): 83-84.
- [12] 马卫东.气相色谱法测定毒鼠强[J].中国卫生检验杂志,2000,10(12):694-695.
Ma WD. Gas chromatography determination of tetramine [J]. Chin J Health Technol, 2000, 10(12): 694-695.
- [13] 刘俊亭.四次甲基二砷四胺——曾被滥用的剧毒物[J].中国媒介生物学及控制杂志,1997,8(1):1-3.
Liu JT. Tetramine—used to be abused [J]. Chin J Vector Biol Control, 1997, 8(1): 1-3.
- [14] 秦益明,张继宗,李玉兰,等.“424”特效灭鼠灵中毒的检验[J].刑事技术,1990,3:19-20.
Qin YM, Zhang JZ, Li YL, *et al.* “424” special inspection of rodenticides poisoning [J]. Forensic Sci Technol, 1990, 3: 19-20.

- [15] 关福玉, 刘荫棠, 罗毅, 等. 中毒样品中灭鼠药的分析鉴定与人工炭肾治疗效果拣评[J]. 分析化学, 1993, 21(4): 452-454.
Guan FY, Liu YT, Luo Y, *et al.* Raticide poisoning samples analysis appraisal and artificial carbon renal pick evaluation of therapeutic effect [J]. Chin J Anal Chem, 1993, 21(4): 452-454.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



罗达龙, 主管药师, 主要研究方向为
药品、食品检验。
E-mail: 364634386@qq.com