

一阶导数光谱法测定唾液、 饵料及血液中杀鼠迷的含量

赵尔刚¹ 张桂华² 王洪林³

杀鼠迷 (Coumatetralyl) 又称杀鼠荼、立克命, 是目前国内较为普遍使用的一种香豆素类新型灭鼠药, 每年春秋两季投放鼠药都有误服中毒案件发生。已有文献报道用反相 HPLC 法^[1~3]、UV 法^[4] 测定生物组织中杀鼠迷含量。HPLC 法受仪器条件限制, 难于在基层推广使用, UV 法检材处理比较复杂, 背景干扰测定结果。用导数光谱法测定唾液、饵料及血液中杀鼠迷, 方法简便、快速, 消除检材背景干扰, 经用于杀鼠药物监测和误服中毒患者的杀鼠迷测定取得良好效果。

1 材料和方法

1.1 仪器与主要试剂

UVIKON—810 型双光束紫外/可见分光光度计 (北京第二光学仪器厂)

DM—100 型打印机

KONTRON 型绘图仪 (德国康强公司)

长城 0520 型微机 (北京长城电子公司)

杀鼠迷纯品 (经 TLC 法为单一斑点, $m.p. 173\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 175\text{ }^{\circ}\text{C}$), 硅镁吸附剂 (60~100 目), 甲醇、氯仿、丙酮、无水硫酸钠, 试剂均为 AR 级。市售灭鼠药 (通化市灭鼠站提供)。

1.2 导数光谱测定条件

用 1cm 石英比色皿, 以甲醇为参比液, 扫描区间 260~360nm, 扫描速度 200nm/min, 峰值检测 0.3% (普通光谱 3%), 光谱带宽 2nm, 响应时间 0.2s, 横轴放大 20nm/cm, 微分波长差 $\Delta\lambda=2\text{nm}$, 标尺范围 0~3ABS。分别测定杀鼠迷样品、检材、空白的一阶导数光谱。结果表明杀鼠迷一阶导数光谱在 334(-)、300(+)nm 处有峰谷极值, 空白检材无吸收, 为一条直线 (见图 1)。

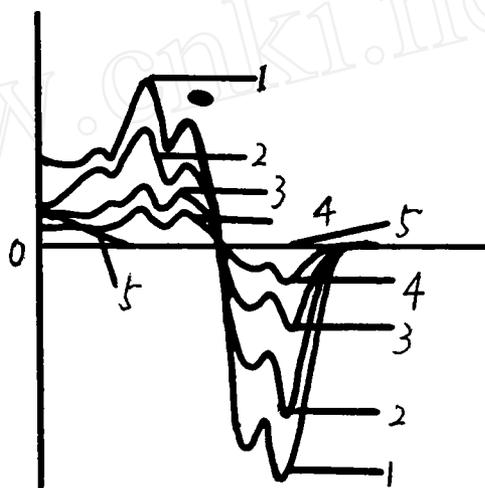


图 1 杀鼠迷导数光谱

1 杀鼠迷 2 饵料中杀鼠迷 3 中毒血液中杀鼠迷
4 中毒唾液中杀鼠迷 5 空白血液、唾液混合物

(1) 辽宁省人民警察学校 (114044)

(2) 吉林省通化市卫生学校 (134001)

(3) 中国刑警学院 (110035)

1.3 溶剂选择

考虑到溶剂的紫端极限, 分别用乙醇、甲醇、庚烷、0.5mol/L 氢氧化钠作为溶剂, 峰型以甲醇溶剂为好。本文选择甲醇为溶剂。

1.4 稳定性试验

实验表明杀鼠迷甲醇溶液经一阶导数光谱测定, 极值在 48h 内保持不变。

1.5 标准曲线绘制

精取杀鼠迷纯品 0.100g, 用甲醇配制成 0.100mg/mL 的杀鼠迷储备液。用微量注射器取上述储备液置 10mL 比色管中, 用甲醇配制成 0 ~ 21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 不同浓度的杀鼠迷标准溶液, 以甲醇为空白, 按上述测定条件, 在 334(-)、300(+)nm 处, 以峰—谷法计值。得直线回归方程 $C = 0.678 + 1.382D$, 相关系数 (r) 0.9993, 摩尔导数吸光系数 $\epsilon = 1.2 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 线性范围在 0 ~ 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间符合比尔定律, 最低检出量 1 μg 。

1.6 样品处理和测定

分取唾液、饵料及血液 5 ~ 10mL (g), 用 10mL 氯仿: 丙酮 (1:1) 提取三次, 合并提取液水浴浓缩至 2mL, 经硅镁吸附柱, 然后用甲醇: 氯仿 (2:3) 淋洗, 水浴挥干后洗脱液残渣用甲醇定容、备测。

2 结果与讨论

2.1 干扰试验

空白饵料、血液提取液的紫外光谱在此波长区间均有弱吸收, 干扰测定。经一阶导数光谱测定, 背景消除, 排除了干扰。唾液量比较少时可用甲醇稀释直接测定杀鼠迷, 唾液不干扰测定。

2.2 回收率测定

用回归方程计算唾液、饵料、血液中添

加杀鼠迷含量, 回收率在 95.0% ~ 98.1% 之间。同时取空白样品平行操作, 测定无干扰。

2.3 精密度

对同一唾液、饵料和血液样品按本法测定 5 次, 导数光谱振幅值基本保持不变, 变异系数 0.55% ~ 1.26%, 标准偏差 0.54% ~ 1.20%。有较高的精密度和准确性, 说明该法可应用于样品测定。

2.4 灵敏度

本法用 1cm 比色皿, 按上述条件, 测定血样、唾液和饵料的灵敏度均在 1 μg 。如果导数光谱量程扩展增加 1 倍, 其灵敏度还可以提高, 而变异系数不会有所改变。

2.5 本法与 HPLC 法比较

取唾液、饵料及血样依检材处理方法操作, 同时一阶导数光谱法和 HPLC 法测定。唾液、饵料、血液及三种样品的混合物 5 次测定经 t 检验, $P > 0.05$, 两种方法差别无显著意义。见表 1。

表 1 杀鼠迷回收率测定及方法比较结果 (1)

样品	取量 mL (g)	添加量 μg	一阶导数光谱法			HPLC 法		
			\bar{x}	SD	CY%	\bar{x}	SD	CY%
唾液	5	15.00	98.1	0.54	0.55	97.2	0.66	0.68
血液	10	15.00	96.2	0.84	0.87	96.3	0.71	0.74
饵料	10	15.00	95.0	1.15	1.21	95.4	1.27	1.33
混合物	15	15.00	95.4	1.20	1.26	95.7	1.29	1.35
总计			96.4	0.93	0.97	96.2	0.98	1.03

(1) 每种样品测定 5 次

3 应用案例

1991 年 5 月 14 日、17 日通化市东昌区有两名女孩 (均 6 岁) 相继误服集中统一投放的灭鼠药物, 均有昏迷不醒, 四肢无力等症状, 怀疑中毒, 送市医院抢救, 因弄不清所服药物, 无法用药抢救, 患者家属送来服剩下的玉米渣子, 另一患者家

属送来患者口中唾液约 3mL, 并抽取患者血液 5mL。将检材玉米渣子、唾液、血液及灭鼠饵料等按上述方法处理, 测定一阶导数光谱 (见图 1), 经与已知杀鼠迷导数光谱吸收极值比较, 1h 内确定为杀鼠迷中毒, 及时报告结果。杀鼠迷含量为: 玉米渣子 0.415%、唾液 0.032%、血液 0.082%。市医院接此报告后, 按杀鼠迷中毒抢救两名女孩, 注射维生素 K₁后, 患者很快脱险, 不久痊愈。

4 参考文献

- 1 Hunter K. Determination of Coumarin Anticagulant Rodenticide Residues in Animal Tissue by High-performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 1983: 270, 277
- 2 丁国发, 等. 生物检品中杀鼠迷液相色谱检测的实验研究. *中国法医学杂志*, 1988, 3(2): 8
- 3 颜健, 等. 内标监控反相高效液相色谱法测定生物材料中的立克命. *中国法医学杂志*, 1990, 5(1): 1
- 4 张桂华. TLC—紫外分光光度法测定生物组织中微量杀鼠迷含量. 全国首届青年分析测试学术报告会论文集. 中国化学会等. 南京. 1989: 89

CHINESE JOURNAL OF FOOD HYGIENE

Volume 7 August 1995 Number 3

MAIN CONTENTS

1. State and management of adulterated foods.....Zhu Jianru et al. (1)
2. Collection and analysis of the diagnostic evidences of the mass food poisoning..... Jiang Jiakun (5)
3. Study on method of treating contaminated frozen meat due to the fire of thermal insulation material of frige.....Li Shengrong et al. (11)
4. The evaluation of food consumption structure and nutrition status in rural inhabitants in Suixi county..... Liu Daoyun (14)
5. Analysis of contaminated rice with combined GC-MS.....Zhang Ying et al. (18)
6. A study on antioxidation effect and antimutagenicity of spice oleoresins.....Hong Dongxu et al. (21)