

毒鼠强检测方法研究进展*

耿果霞, 余永涛, 李 蓉, 王岚峰, 刘志滨, 赵兴华, 王建华

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 毒鼠强是剧毒鼠药,其毒性大约是氟乙酰胺的3~30倍,氰化钾的100倍。毒鼠强的滥用严重威胁着人们的生命和健康,其检测对确定人或动物的中毒原因及中毒抢救等具有十分重要的意义。文章对疑为毒鼠强中毒时样品的采集和处理以及毒鼠强的检测方法进行了阐述。

[关键词] 毒鼠强; 检测方法; 样品的采集与处理; 定性检测; 定量检测

[中图分类号] S482.5⁺5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)07-0041-04

毒鼠强(Tetramine, Tetramethylene Disulfotetramine)是由硫酸酰胺和甲醛反应合成的一种有机化合物,其化学名称是2,6-二硫-1,3,5,7-四氮三环(3,3,1,1,3,7)癸烷-2,2,6,6-四氧化物,又名没鼠命、四二四、三步倒、闻到死等,简称四次甲基二砷四胺,代号424,分子式为 $C_4H_8O_4N_4S_2$ 。毒鼠强纯品为白色粉末,熔点250~254,在255~260时分解,微溶于水和丙酮,不溶于甲醇和乙醇,易溶于乙酸乙酯、苯、二甲基亚砷等有机溶剂,在稀酸或稀碱溶液中较稳定,在沸水溶液中易分解。毒鼠强的毒性大约是氟乙酰胺的3~30倍,氰化钾的100倍,几乎对所有的温血动物都有剧毒,哺乳动物口服的半数致死量(LD₅₀)为0.1mg/kg。毒鼠强对中枢神经系统,尤其对脑干有兴奋作用,阻断γ-氨基丁酸受体,人或动物中毒后表现为兴奋跳动、惊叫、痉挛、四肢僵直,目前尚无特效解毒药^[1]。

近年来,毒鼠强引起的人畜中毒的事件时有发生,严重地危害着人们的生命健康。毒鼠强检测方法的研究和改进逐渐受到卫生、司法等部门的重视。目前报道的毒鼠强检测方法很多,主要有快速化学反应法、薄层层析法、紫外分光分析法、漫反射红外光谱分析法、气相色谱分析法(GC法)、气相色谱-质谱联用分析法(GC-MS法)等,尤其是气相色谱分析法和气相色谱-质谱联用分析法已被广泛应用于食品卫生、公安刑侦等领域。本文着重就毒鼠强的检测方法进行综述,以期为人或动物的毒鼠强中毒诊断和检测提供参考依据。

1 样品的采集与处理

1.1 样品的采集

疑为毒鼠强中毒时可采取的样品主要有可疑的剩余食物,中毒者的呕吐物、胃肠内容物、血液、尿液,以及肝、肾、心等内脏器官组织。

1.2 样品中毒鼠强的提取

由于毒鼠强微溶于水和丙酮,易溶于苯、乙酸乙酯等极性较小的有机溶剂,因此,样品中毒鼠强的提取通常采用苯、乙酸乙酯或二氯甲烷作为溶剂。

1.2.1 固体样品 该样品包括粮食、面粉、毒饵等。称取固体样品适量,与无水硫酸钠研磨,加入苯或乙酸乙酯反复萃取数次,合并有机相,过滤,滤液备用。如果样品是内脏组织必须将其绞碎后,再提取。

1.2.2 半固体样品 呕吐物、胃内容物、剩余饭菜等均属于半固体样品,根据样品含水量多少,加入适量无水硫酸钠对样品脱水,再用苯或乙酸乙酯提取,过滤,合并滤液以备用。

1.2.3 液体样品 血液、尿液、饮料、饮水等均为液体样品。量取液体样品适量用苯或乙酸乙酯直接提取,分离提取液,用无水硫酸钠脱水,过滤,滤液备用。或将血液、尿液等液体样品加入离心管,加入适量苯或乙酸乙酯,振荡后离心,取上层有机溶剂备用。

1.3 样品的净化

将用上述方法提取的有机溶液,通过中性氧化铝、活性炭柱净化,浓缩,定容后备检。

* [收稿日期] 2005-09-21

[作者简介] 耿果霞(1961-),女,陕西杨凌人,高级实验师,主要从事动物中毒性与营养代谢性疾病研究。

2 毒鼠强的检测方法

2.1 快速化学反应法

2.1.1 变色酸法^[2] 毒鼠强是由硫酸酰胺和甲醛反应合成的,用硫酸可以将其分解,产物中的甲醛能与变色酸反应生成紫红色物质。具体操作步骤为: 挥干提取液中的溶剂后向其加入体积分数 30% 硫酸 0.5 mL, 置 80℃ 水浴 10 min 后冷却, 沿试管壁小心加入蒸馏水至 1.0 mL, 加入体积分数 2% 变色酸溶液 0.1 mL, 颠倒摇匀, 然后加入 1.0 mL 浓硫酸溶液摇匀, 置沸水浴 15 min, 观察试液颜色变化, 同时作空白和阳性对照。结果判定标准为溶液呈淡紫红色至深紫红色者为阳性。变色酸法准确、灵敏、快速, 试验条件和设备要求简单, 适用于基层卫生部门检测毒鼠强, 是目前使用较为广泛的一种快速定性检测毒鼠强的方法。

2.1.2 盐酸苯胍法^[2] 在试管内加入体积分数 60% 硫酸 0.5 mL, 润湿全部样品, 置 80℃ 水浴 15 min 后冷却, 然后加入体积分数 2% 盐酸苯胍溶液 0.5 mL, 摇匀后静置 10 min, 再加入铁氰化钾溶液 3~4 滴, 充分摇匀, 观察试液颜色变化, 同时作空白和阳性对照。结果判定标准为溶液呈淡红色至鲜红色者为阳性, 呈淡黄色者为阴性。

2.1.3 奈氏试验法^[3] 奈氏试验法检测毒鼠强的原理为在强碱性条件下, 毒鼠强可水解生成氨, 氨与奈氏试剂反应生成橘红色沉淀。取样品提取液 3~5 mL 加入试管中, 在提取液中直接滴加奈氏试液 3~5 滴, 若提取液中含有毒鼠强, 则溶液颜色由淡黄色变为黄色、深黄色, 直至产生橘红色沉淀。奈氏试验法不是专门用来检测毒鼠强的方法, 其他某些化学物质也可以通过该方法来检测。因此, 要进行阴性反应以排除其他化学物质的干扰。奈氏试验法简便、快速、灵敏, 可与变色酸法结合使用。

2.1.4 浓硝酸氧化反应^[4] 用毛细玻璃管吸取待检液滴于滤纸上, 然后在滴有待检液部位滴加浓硝酸或 0.05 g/L 高锰酸钾溶液, 如果待检液中含有毒鼠强, 滤纸即显黄色。

2.2 薄层层析法

薄层层析法是利用毒鼠强在硫酸作用下能与变色酸反应生成紫红色物质, 以及毒鼠强在薄层层析上有特定的 R_f 值的原理, 对其进行定性检测的一种方法。具体操作步骤如下: 量取浓缩待检液 10~50 μL 点于薄层板上, 同时同一薄层板上点毒鼠强标准品 10 μL , 将薄层板置于层析缸内用展开剂

($V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) : V(\text{甲酸}) = 70 : 60 : 2$) 展开。当展开剂至薄层板前沿 8~10 mm 时, 将薄层板取出, 待展开剂挥发干后, 喷变色酸显色剂, 将薄层板放入 110~120℃ 烘箱烘 10~20 min, 根据样品的蓝紫色斑点与毒鼠强标准品斑点的 R_f 值, 对待检液进行定性检测^[5]。与快速化学反应法相比, 薄层层析法更为专一和准确, 方法也较为简便、快速, 是毒鼠强快速定性检测常用的方法之一。

2.3 紫外分光分析法

紫外分光分析法是一种利用物质特有吸收光谱来测定其含量的方法。由于毒鼠强本身没有颜色, 所以通过灵敏的显色反应, 可以方便的对毒鼠强进行定量测定。在紫外分光分析法中常用的显色剂是变色酸。具体操作步骤如下: 待检样品经处理后, 挥干溶剂, 取剩余残渣, 加入体积分数 30% 硫酸 1.0 mL, 加塞, 于 80℃ 水浴 10 min 后冷却, 沿管壁加蒸馏水稀释至 2.3 mL, 然后加入变色酸显色剂 0.1 mL, 轻轻颠倒混匀, 再加入浓硫酸 2.7 mL, 加塞, 100℃ 水浴 20 min, 以流水冷却至室温。用 1 cm 比色皿在 573 nm 处以蒸馏水作参比进行比色。并取适量毒鼠强标准品制作标准曲线, 根据取样量 M (g) 及样品相当标准量 C (μg) 按下式计算检样中毒鼠强的含量: 检样含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = C/M$ ^[2]。龙铁军^[2]等的研究表明, 当毒鼠强的浓度为 0~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 浓度和吸光度呈良好的线形关系, 相关系数 $r = 0.999$, 毒鼠强的最低检出限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其平均回收率为 95.06%^[2]。紫外分光分析法简便、快速、灵敏、准确, 但当待检样品中含有甲醛和酚时, 会干扰试验结果的准确性。

2.4 漫反射红外光谱分析法

漫反射红外光谱分析法^[6-8]利用傅里叶红外光谱仪与漫反射技术, 将净化的样品烘干后, 与少许 KBr (光谱纯) 粉末共同研磨, 然后置于装有 KBr 粉末的样品池上进行红外扫描, 测其漫反射傅里叶变换红外光谱, 并与毒鼠强标准品的红外光谱图对照, 通过比较它们的红外线特征吸收峰是否一致来对样品进行检验。这种方法具有快速、准确、灵敏度高、重复性好等特点, 在临床上常用来对毒鼠强进行定性测定。但样品中的杂质会严重影响漫反射红外光谱分析法的准确性, 所以该方法在使用时对样品的净化处理过程必须严格把关, 以减少杂质干扰。为了充分净化样品, 解决杂质干扰的问题, 常将固相萃取技术与漫反射红外光谱分析结合起来, 用于毒鼠强的检验^[9], 以得到较为准确的光谱图。

2.5 气相色谱分析法

气相色谱分析法是利用色谱峰的保留时间对待测样品作定性检测,用色谱峰面积或峰高对样品作定量检验的一种方法。该方法灵敏、准确,对样品定性、定量检验可一次完成,且可同时对多种毒物进行联合检验,是定量检测毒鼠强最常采用的方法之一。气相色谱分析法测定毒鼠强一般选用填充柱或毛细管柱进行样品分离,分离时可采用恒温或程序升温,检测时可配用不同的检测器,如氢焰离子化检测器(FID)、火焰光度检测器(FPD)、氮磷检测器(NPD)等,对分离后的样品进行定性、定量检测。

GC-FID法检测毒鼠强具有灵敏度高、死体积小、响应快、线性范围宽($0.005 \sim 5.0 \text{ mg/L}$)、稳定性好、定量准确等特点。据报道^[10-12]用GC-FID法定量检测毒鼠强含量,最低检测浓度为 $8.5 \mu\text{g/mL}$ 。

GC-FPD法定量选择性好,在检测时采用仅对硫元素响应的FPD-S型检测器。与GC-FID法GC-NPD法相比,GC-FPD法既消除了生物样品中大量含氮杂质的干扰,又显著提高了检测灵敏度。GC-FPD法测定的线性范围一般为 $10 \sim 200 \mu\text{g/mL}$,最低检测限可达 0.1 ng ,最低检测浓度可达 $0.1 \mu\text{g/mL}$ ^[13-16]。

GC-NPD法检测毒鼠强的灵敏度较GC-FID法和GC-FPD法高,最低检测浓度可达 $0.01 \mu\text{g/mL}$,适用于检测血液、肝脏、心脏等毒鼠强含量较低的生物待检测样品^[17-21]。

2.6 气相色谱-质谱联用分析法

毒鼠强毒性较强,但其一般在待检样品中含量极低,有时用GC法也难以检出,这给毒鼠强的检测工作带来很大困难,利用气相色谱-质谱联用分析法检验毒鼠强可进一步提高定性检测的准确性,降低最低检测浓度^[22-25]。采用GC-MS法检测毒鼠强,首先要选择合适的色谱条件,用毒鼠强标准样品进行GC-MS分析,得到其全扫描图谱,然后取待检样品提取液进样,在一定的条件下,选择质荷比(m/z)为92, 121, 132, 212, 240等特征离子碎片峰进行检测,当待检样品在某处显示出所选择的特征离子峰,且丰度与毒鼠强标准样品的全扫描图接近时,即可确定待检样品中含有毒鼠强,该法还可同时对毒鼠强进行定量检测。

目前检测毒鼠强的GC-MS法主要有GC-MS-SCAN法和GC-MS-SM法2种。GC-MS-SCAN法是在分析者定义的质量范围内,将质谱分析得到的尽可能多的待测物碎片离子信息,与标准样品的碎

片离子信息相比较而得到定性结果,其定性准确度较高。但是GC-MS-SCAN法的灵敏度较GC-MS-SM法低得多,在检测呕吐物等毒鼠强含量低的样品时有困难,有时甚至漏掉阳性样品。GC-MS-SM法是将分析人员设定的有限相关待测物碎片离子信息,与标准样品的碎片离子信息相比较而得到定性结果,其定性准确度低于GC-MS-SCAN法,但是GC-MS-SM法灵敏度高于GC-MS-SCAN法,能够检测毒鼠强含量极低的样品。张春水等^[26]用GC-MS-SM法检测毒鼠强,检出极限可达 4.1 pg 。周海梅等^[27]对采用GC-MS-SM法和GC-MS-SCAN法检测毒鼠强进行比较发现,GC-MS-SM法的毒鼠强检出限为 0.01 ng ,线性范围为 $0.05 \sim 50 \text{ ng}/\mu\text{L}$;GC-MS-SCAN法的毒鼠强检出限为 1 ng 。由此可见,GC-MS-SM法测定毒鼠强的灵敏度约为GC-MS-SCAN法的100倍。当毒鼠强浓度很低时,用GC-MS-SCAN法往往难以检出,此时必须选择GC-MS-SM法,以提高毒鼠强的检测灵敏度。

3 小结

在毒鼠强的检测方法中,快速化学反应法可对毒鼠强进行定性测定,具有快速、灵敏、简便等优点,但专一性差,仅适用于基层卫生检验部门快速定性检测毒鼠强。薄层层析法一般用来定性检测毒鼠强,与快速化学反应法相比,这种方法更为准确、专一。紫外分光分析法可以对毒鼠强进行定量检测,最低检出限与GC-FPD法相当。与GC法和GC-MS法相比,紫外分光分析法更为简便,所使用的仪器比较便宜,适用于一般基层部门检测毒鼠强,但是这种方法的线性范围较窄,且易受到甲醛、酚等物质的干扰。漫反射红外光谱分析法可用来定性检测毒鼠强,灵敏度高,重复性好,但这种方法对样品的处理要求较高,试验结果易受杂质干扰。GC法是目前应用最为广泛且能定量测定毒鼠强的方法之一,其中GC-FID法线性范围宽,适合对毒鼠强含量较高的样品进行检测,一般可以得到满意的检验结果。GC-FPD法和GC-NPD法均可弥补GC-FID法的缺陷,能对毒鼠强含量较低的生物样品进行精确的定量检测。GC-MS法广泛应用于毒鼠强的检测,其中GC-MS-SCAN法是定性检测毒鼠强的最为理想的方法。而GC-MS-SM法定量检测毒鼠强灵敏度高,逐渐成为定量检测毒鼠强的重要方法之一,最低检出量与GC-NPD法相当。但由于GC-MS-SM法所需设备昂贵,一般的检测部门无法承受,所以难以普及和应

用。但灵敏度低,专一性差。近些年出现的免疫检测方法因其具有特异、灵敏、简便、快速等优点,已被广泛用于毒物检测中,越来越受到人们的重视,但目前还未见其用于毒鼠强的检测,这还需科技工作人员进一步研究。

综上所述,随着经济发展和科技进步,GC 法、GC-MS 法已成为检测毒鼠强的主要方法,但需要昂贵的设备,专门的技术人员操作。与 GC 法和 GC-MS 法相比,快速化学反应法操作简便,更易普及,

[参考文献]

- [1] 商 辉,张宇宏 毒鼠强的性质及其测定方法综述[J]. 卫生职业教育, 2003, 21(7): 157-158
- [2] 龙铁军,方 求,肖求文,等 毒鼠强快速化学检测方法研究[J]. 实用预防医学, 2000, 7(5): 328-329
- [3] 卢永欣,崔周平,张剑敏,等 毒鼠强的快速鉴定[J]. 预防医学文献信息, 2003, 9(4): 427.
- [4] 崔军峰 用薄层色谱分析毒鼠强[J]. 刑事技术, 2002(6): 38-39.
- [5] 金良正 毒鼠强与氟乙酰胺的快速薄层鉴别[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(3): 364
- [6] 郝憻媛,高 宏,陈鲁军,等 漫反射 FTIR 光谱技术快速检验毒鼠强[J]. 中国法医学杂志, 2000, 15(2): 99-101.
- [7] 可秋萍,汤俊明,张耀东 毒鼠强中毒的检测及治疗方法探讨[J]. 实用儿科临床杂志, 2004, 19(4): 276-277.
- [8] 蔡锡兰,吴国萍,张大明,等 傅里叶变换红外光谱和气相色谱-质谱法快速检测鼠药[J]. 分析化学, 2003, 31(7): 836-839
- [9] 柳 洁,何碧英,孙俊红 血中多种有机磷农药和鼠药的固相萃取-分析方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(9): 1025-1029
- [10] 商 辉 毒鼠强及其中毒检测[J]. 甘肃科技, 2003, 19(12): 129.
- [11] 曹 英,罗亦芳 气相色谱法同时测定尿中毒鼠强和氟乙酰胺[J]. 中国职业医学, 2002, 29(5): 47-48
- [12] 封 雷,陈 卉,蒲朝文,等 GC- 石英毛细管法测定食品及生物材料中氟乙酰胺、毒鼠强[J]. 预防医学情报杂志, 2004, 20(3): 341-342
- [13] 崔 泓,方 斌 毒鼠强中毒的气相色谱测定[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(1): 121.
- [14] 贺东霞,曹俊峰,吴丽娟,等 GC-FPD 法测定含硫鼠药毒鼠强的探讨[J]. 河南预防医学杂志, 2001, 12(3): 145-146
- [15] 董仕林,白怡平,胡家英,等 毒鼠强测定方法研究-毛细管柱气相色谱法[J]. 安徽预防医学杂志, 2002, 8(5): 284-286
- [16] 闵国平,杨 刚 毒鼠强气相色谱检测方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(11): 1390-1391.
- [17] 马虹英,李新中,徐平声,等 GC-NPD 测定血浆中的毒鼠强及其临床应用[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(10): 766-768
- [18] 陈忠辉,葛晓伟,郭 君,等 气相色谱法测定血浆中毒鼠强[J]. 卫生研究, 2003, 32(5): 493-494
- [19] 向 平,沈 敏,卜 俊 毒鼠强中毒的研究[J]. 法医学杂志, 2000, 16(2): 88-90
- [20] 苏小川,覃志英,冯向阳 中毒患者血清和尿液中毒鼠强残留物的GC-MS 分析方法[J]. 分析测试学报, 2004, 23(S): 58-61.
- [21] 邹启荣 一起食物中毒毒鼠强的检测结果分析[J]. 职业与健康, 2005, 21(8): 1164-1165
- [22] 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
- [23] 符展明,金永高,杨 勇,等 水中微量毒鼠强的测定法[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 302-303
- [24] 徐少华,黄凤珍 生物材料中毒鼠强的色谱快速检测法[J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(2): 241-243
- [25] 曹艳平,卫煜英 血液中毒鼠强的气相色谱-质谱分析测定[J]. 卫生研究, 2005, 34(2): 223
- [26] 张春水,郑 琿,刘克林,等 水解法测定血液中的毒鼠强[J]. 分析实验室, 2004, 23(7): 37-40
- [27] 周海梅,马锦琦,李 朴 气相色谱-质谱法测定生物检材中毒鼠强的含量[J]. 化学分析计量, 2002, 11(6): 31-32

Progress in research of detecting tetramine

GENG Guo-xia, YU Yong-tao, LI Rong, WANG Lan-feng,

LIU Zhi-bin, ZHAO Xing-hua, WANG Jian-hua

(College of Animal Science Technology and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Tetramine is an acute poison to mice. Its toxicity is 3-30 times stronger than fluoroacetamide, 100 times than potassium cyanide. The abuse of the tetramine is a serious menace to people's life. So it is important to make a definite poison diagnosis to provide a cure for human and animals. The article mainly discussed the methods of the possible toxic sample collection, treatment and checking for tetramine.

Key words: tetramine; detection; collection and disposal; qualitative detection; quantitative detection