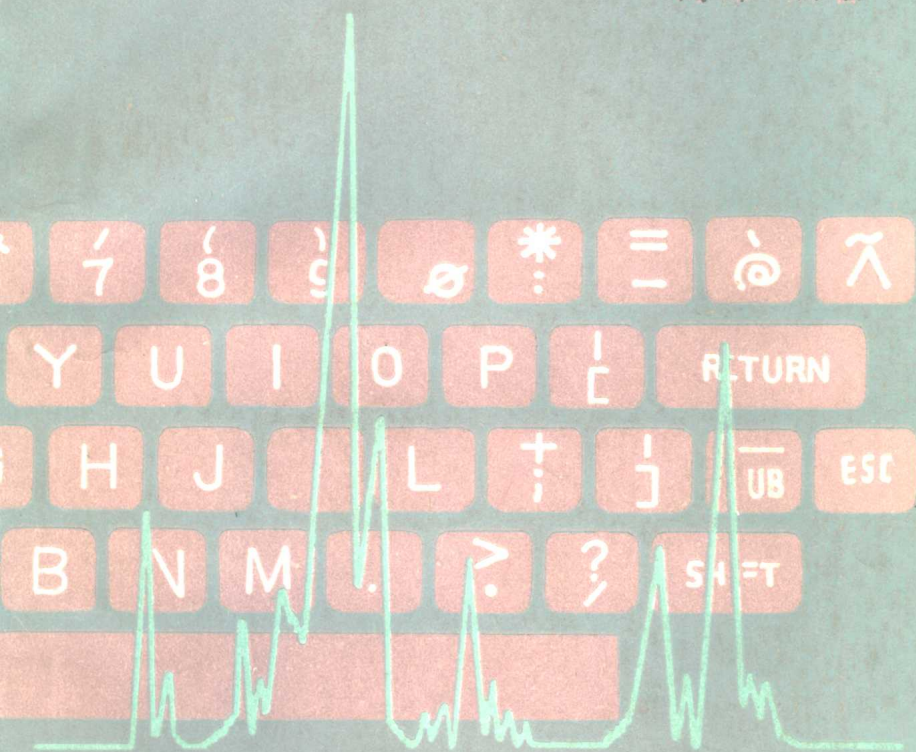


# 现代毒物分析新技术

刘耀 编著



R991  
LY

群众出版社

111084

# 现代毒物分析新技术

刘 耀 编著

群 众 出 版 社

一九八七年·北京

# 现代毒物分析新技术

刘 耀 编著

---

群众出版社出版 新华书店北京发行所发行  
北京四季青印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 6.5印张 132千字  
1988年4月第1版 1988年4月第1次印刷

---

统一书号: 13067·105 定价: 1.75元

ISBN7-5014-0291-4/O·4

印数: 00001—5000册

## 前 言

随着近代分析技术的飞速发展，毒物分析已进入了一个崭新的阶段。生物样品的分离、提纯和鉴定等新方法和新技术已在一些法医毒物分析实验室广泛应用。

笔者根据在美国南加州大学医学院法医中心、洛杉矶警察局和刑事犯罪调查实验室毒物分析室进修期间所了解到的毒物分析新方法和新技术，编写了这本《现代毒物分析新技术》。主要介绍当前国外现行的法医毒物分析新技术，包括从体液和组织中提取微量药物的新技术，现代仪器在法医毒物分析中的应用，衍生物的气相色谱分析，代谢物的分析，以及一些分析监控参数，如内标在毒物分析中的应用等。

本书在编写过程中得到了徐婉、陈源世和雷观光等同志的大力协助，在此表示感谢。

刘 耀

一九八六年

# 目 录

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| 第一章 挥发性毒物的分析 .....          | ( 1 )  |
| 第一节 一氧化碳的检验 .....           | ( 1 )  |
| 一、测定原理 .....                | ( 1 )  |
| 二、一氧化碳血红蛋白计算因子的获得 .....     | ( 2 )  |
| 三、血液中一氧化碳的测定程序 .....        | ( 3 )  |
| 第二节 血液中氰化物的检验 .....         | ( 4 )  |
| 一、定性检验 .....                | ( 4 )  |
| 二、定量检验 .....                | ( 4 )  |
| 第三节 乙醇的检验 .....             | ( 7 )  |
| 一、定性检验 .....                | ( 8 )  |
| 二、定量检验 .....                | ( 10 ) |
| 第二章 弱酸性和酸性药物的分析 .....       | ( 14 ) |
| 第一节 巴比妥酸类药物的提取原理和方法 .....   | ( 14 ) |
| 一、巴比妥酸类药物的结构和理化性质 .....     | ( 14 ) |
| 二、巴比妥酸类药物在体内的吸收、分布和排泄 ..... | ( 16 ) |
| 三、从生物样品中提取巴比妥酸类药物的原则 .....  | ( 17 ) |
| 四、从生物样品中提取巴比妥酸类药物的方法 .....  | ( 19 ) |
| 第二节 巴比妥酸类药物的气相色谱分析 .....    | ( 20 ) |
| 一、气相色谱的基本原理 .....           | ( 20 ) |
| 二、气相色谱分析 .....              | ( 21 ) |
| 第三节 毒物分析实验室中的定量控制 .....     | ( 22 ) |
| 一、报告水平和最低检测水平 .....         | ( 23 ) |
| 二、阈值(切割值) .....             | ( 23 ) |

|                                                 |        |
|-------------------------------------------------|--------|
| 三、多次试验 .....                                    | ( 24 ) |
| 四、内标 .....                                      | ( 25 ) |
| 五、定量控制 .....                                    | ( 25 ) |
| 六、内标未知定量控制 .....                                | ( 25 ) |
| 七、外标控制 .....                                    | ( 25 ) |
| <b>第四节 巴比妥酸类药物衍生物的气相色谱分析</b> ..                 | ( 26 ) |
| 一、衍生作用 .....                                    | ( 26 ) |
| 二、巴比妥酸类药物的衍生作用 .....                            | ( 26 ) |
| 三、内标定量和含量计算 .....                               | ( 27 ) |
| <b>第五节 巴比妥酸类药物的放射免疫分析</b> .....                 | ( 30 ) |
| 一、测定原理 .....                                    | ( 31 ) |
| 二、试剂 .....                                      | ( 31 ) |
| 三、仪器设备 .....                                    | ( 32 ) |
| 四、试验程序 .....                                    | ( 32 ) |
| 五、定量试验 .....                                    | ( 34 ) |
| <b>第三章 碱性药物的分析</b> .....                        | ( 39 ) |
| <b>第一节 有机碱性药物的分析</b> .....                      | ( 39 ) |
| 一、仪器设备 .....                                    | ( 39 ) |
| 二、试剂。均要求分析纯。 .....                              | ( 40 ) |
| 三、分离提取程序 .....                                  | ( 41 ) |
| 四、从血液中提取碱性药物 .....                              | ( 43 ) |
| 五、从肝中提取碱性药物 .....                               | ( 44 ) |
| 六、紫外分光光度分析和气相色谱分析的计算 .....                      | ( 47 ) |
| <b>第二节 色一质联用法鉴定体液和组织中的</b><br><b>利多卡因</b> ..... | ( 48 ) |
| 一、实验程序 .....                                    | ( 49 ) |
| 二、结果和讨论 .....                                   | ( 51 ) |
| <b>第三节 血液和肝中吩噻嗪类药物的分析</b> .....                 | ( 57 ) |

|                                      |       |
|--------------------------------------|-------|
| 第四节 苯环己哌啶 (PCP) 的放射免疫分析.....         | (58)  |
| 一、PCP的放射免疫试验.....                    | (58)  |
| 二、血液中PCP的气相色谱分析.....                 | (60)  |
| 第四章 中性药物的分析.....                     | (62)  |
| 第一节 血液中中性药物的分析.....                  | (62)  |
| 一、仪器设备.....                          | (62)  |
| 二、试剂.....                            | (63)  |
| 三、分析程序.....                          | (64)  |
| 第二节 尸体组织中中性药物的分离和检测.....             | (67)  |
| 一、提取方法.....                          | (67)  |
| 二、气相色谱分析.....                        | (68)  |
| 三、结果与讨论.....                         | (68)  |
| 第三节 中性药物的薄层层析.....                   | (72)  |
| 一、试剂和仪器设备.....                       | (72)  |
| 二、操作程序.....                          | (73)  |
| 三、讨论.....                            | (74)  |
| 第五章 麻醉药品的检验.....                     | (76)  |
| 第一节 吗啡和可待因的气相色谱检验.....               | (76)  |
| 一、血样中吗啡和可待因的气相色谱分析.....              | (76)  |
| 二、胆汁和尿中吗啡、可待因及可卡因的气相色谱分析.....        | (79)  |
| 三、肝和肾中吗啡、可待因及可卡因的衍生物的气相<br>色谱分析..... | (80)  |
| 第二节 可卡因的色一质联用分析.....                 | (81)  |
| 一、色一质联用的原理和设备.....                   | (81)  |
| 二、用色一质联用仪分析可卡因的程序.....               | (90)  |
| 第三节 放射免疫法测定麻醉药物.....                 | (98)  |
| 一、放射免疫分析的原理.....                     | (98)  |
| 二、放射免疫试验测定吗啡及其同系物.....               | (101) |

|                                          |              |
|------------------------------------------|--------------|
| <b>第六章 有机磷和有机氯农药的分析 .....</b>            | <b>(110)</b> |
| <b>第一节 有机磷农药的分析 .....</b>                | <b>(110)</b> |
| 一、水中有机磷农药的分析 .....                       | (110)        |
| 二、土壤中有机磷农药的分析 .....                      | (111)        |
| 三、植物组织中有有机磷农药的分析 .....                   | (112)        |
| 四、动物组织中有有机磷农药的分析 .....                   | (112)        |
| <b>第二节 有机氯农药的分析 .....</b>                | <b>(113)</b> |
| 一、水中氯苯除莠剂的分析 .....                       | (113)        |
| 二、水中氯烃农药的分析 .....                        | (114)        |
| 三、土壤中氯代烃农药的分析 .....                      | (115)        |
| 四、土壤中氯苯氧基除莠剂的分析 .....                    | (115)        |
| 五、土壤中均三氮苯类除莠剂的分析 .....                   | (117)        |
| 六、植物中氯苯除莠剂的分析 .....                      | (118)        |
| 七、尿中氯苯除莠剂农药的分析 .....                     | (120)        |
| 八、尿中均三氮苯类除莠剂的分析 .....                    | (120)        |
| 九、组织中氯代烃和二氯联苯的分析 .....                   | (121)        |
| 十、植物和动物组织中氯化烃农药的分析 .....                 | (122)        |
| 十一、植物和动物组织中均三氮苯类除草剂的分析 .....             | (123)        |
| <b>第三节 人体组织和排泄物中有有机磷农药及其代谢物的分析 .....</b> | <b>(124)</b> |
| 一、一般介绍 .....                             | (124)        |
| 二、人尿中有机磷农药水解产物的鉴定方法 .....                | (125)        |
| <b>第七章 高压液相色谱在毒物分析中的应用 .....</b>         | <b>(138)</b> |
| <b>第一节 高压液相色谱的基本操作 .....</b>             | <b>(138)</b> |
| 一、高压液相色谱的基本原理 .....                      | (138)        |
| 二、高压液相色谱分离的类型 .....                      | (142)        |
| 三、流动相的选择 .....                           | (144)        |
| 四、高压液相色谱的仪器设备 .....                      | (145)        |

## 第二节 毒物分析中高压液相色谱的应用..... ( 148 )

- 一、一般药物的分析 ..... ( 148 )
- 二、抗惊厥药物的分析 ..... ( 151 )
- 三、三环抗抑郁药物的分析 ..... ( 152 )
- 四、巴比妥类药物的分析 ..... ( 152 )
- 五、吩噻嗪类药物的分析 ..... ( 153 )
- 六、可卡因和有关化合物的分析 ..... ( 153 )
- 七、鸦片生物碱的分析 ..... ( 155 )
- 八、大麻属药物的分析 ..... ( 156 )
- 九、苯并二氮杂革类药物的分析 ..... ( 158 )
- 十、肌酸酐药物的分析 ..... ( 159 )
- 十一、麦角酰二乙胺和麦角生物碱的分析 ..... ( 159 )
- 十二、苯乙双胍和甲磺丁脲的分析 ..... ( 160 )
- 十三、利他林酸的分析 ..... ( 160 )
- 十四、毛地黄糖苷的分析 ..... ( 161 )
- 十五、农药的分析 ..... ( 162 )
- 十六、蛋白质的分析 ..... ( 163 )
- 十七、离子化合物的分析 ..... ( 163 )
- 十八、其它物质的分析 ..... ( 163 )

## 第三节 法医毒物分析中高压液相色谱发

展的趋势..... ( 167 )

参考文献..... ( 169 )

附录 常见药物的治疗量、中毒量和致死量..... ( 173 )

# 第一章 挥发性毒物的分析

## 第一节 一氧化碳的检验

我国不少地区，冬天生煤炉取暖，一氧化碳中毒时有发生。近年来，利用管道煤气进行谋杀的案件也有增加的趋势。另外，火灾事故中也有因一氧化碳中毒而死亡的。因此，对血液中一氧化碳的分析很重要。

一氧化碳引起人的中毒死亡，主要是由于血红蛋白对一氧化碳的亲合力比对氧的亲合力大二百零四倍，当空气中含有—氧化碳时，血液中的血红蛋白与吸入的一氧化碳结合，生成一氧化碳血红蛋白化合物。一氧化碳血红蛋白不能传送氧，所以引起缺氧而窒息死亡。

### 一、测定原理

血红蛋白有多种存在形式。除了一氧化碳血红蛋白外，还有氧合血红蛋白、高铁血红蛋白和硫血红蛋白等。将氨水 ( $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 和固体连二硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) 加到血样中，还原一氧化碳血红蛋白。被还原的一氧化碳血红蛋白在可见光波长555nm处出现吸收峰，在570nm和540nm处出现最大吸收峰。通常用540nm处的峰值来计算一氧化碳的含量。还原含有一氧化碳血红蛋白和正常的血红蛋白的血液样品，用分光光度计将两峰记录下来，可以精确地计算出血液中被还原的血红蛋白和被还原的一氧化碳血红蛋白的量。均以百分含量表示。

## 二、一氧化碳血红蛋白计算因子的获得

制备一氧化碳血。取大约25ml正常人的血液，通一氧化碳15分钟，使血液被一氧化碳饱和，然后用正常人血液和一氧化碳饱和的血液按一定比例混合，用本文所介绍的方法测定。

| 正常人的血液<br>(ml) | 一氧化碳饱和<br>和的血液<br>(ml) | 一氧化碳饱和<br>血液的百分数<br>(%) |
|----------------|------------------------|-------------------------|
| 0              | 20                     | 100                     |
| 5              | 15                     | 75                      |
| 10             | 10                     | 50                      |
| 15             | 5                      | 25                      |
| 20             | 0                      | 0                       |

测定每一个样品，610—500nm处的谱图如下。

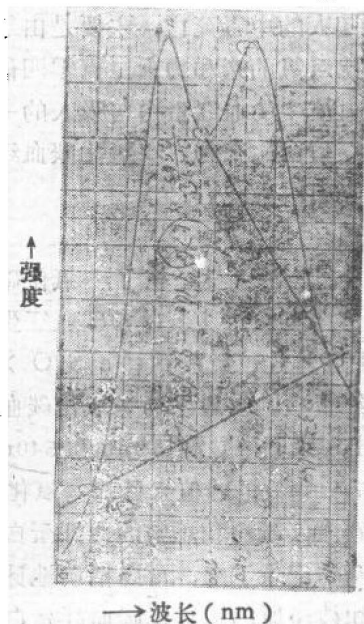


图 1-1-2A 被还原的一氧化碳血红蛋白吸收图

一氧化碳百分含量的计算:

$$\text{CO}\% = \frac{B}{A} \times F \times 100\%$$

$$F = \text{CO}\% \times \frac{A}{B} \div 100\%$$

等式的右边CO%为配制溶液的已知浓度, A、B的长度可以从图上读出。计算出若干个F后, 取其平均值:  $\bar{F} = 1.5$ , 再用此值 $\bar{F}$  (计算因子) 计算试验样品, 计算结果如下:

| 准 备 的 样 品 |    |    |    |    |
|-----------|----|----|----|----|
| CO%       | 1  | 2  | 3  | 4  |
| 100       | 94 | 94 | 97 | 92 |
| 75        | 74 | 75 | 75 | 71 |
| 50        | 46 | 52 | 53 | 49 |
| 25        | 22 | 25 | 25 | 22 |
| 0         | 0  | 0  | 0  | 0  |

### 三、血液中一氧化碳的测定程序

取0.2ml的检血, 用20ml蒸馏水稀释, 或用适量的蒸馏水稀释。然后转移稀释后的血样到一只石英杯中, 加一滴氨水和一撮 (约50—100mg) 固体连二硫酸钠, 倒置混合均匀。在分光光度计610—500nm处测定其吸收值。

计算和结果:

$$B = 0.295, \quad A = 0.565, \quad \bar{F} = 1.5$$

$$\text{CO}\% = \frac{0.295}{0.565} \times 1.5 \times 100\% = 78.3\%$$

## 第二节 血液中氰化物的检验

### 一、定性检验

#### 1. 试剂

(1) 20%三氯乙酸( $\text{Cl}_3\text{COOH}$ )。

(2) 溴氧试剂。称取50mg二甲基苯胺和50mg乙酰乙酸乙酯( $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ )溶于20ml氯仿即得。将此试剂保存在冰箱中。

#### 2. 操作程序

取2ml血液放于一支试管中,加入2ml20%三氯乙酸,用一片臭氧试纸(用四甲基对苯二胺浸润过的滤纸)覆盖在试管口上,然后将试管放于热水中(不是沸水)2分钟。如果血液里含有氰化物,滤纸上便出现蓝色斑点。这里要特别注意,加热时间不能超过2分钟,否则,正常的血液也会出现轻微的蓝色。

化学反应。在醋酸盐溶液中, $\text{Cu}(\text{OAC})_2$ 和HAC相互作用生成新生氧,新生氧氧化联苯胺生成蓝色物质,在其它氧化剂或还原剂不存在的情况下,该反应指示HCN的存在。

将试验样品放入试管中,再用 $\text{Cu}(\text{OAC})_2$ 溶液浸润过的滤纸覆盖管口,如有氰化物存在,试纸即变蓝。

### 二、定量检验

#### 1. 仪器

(1) 带有玻璃盖的瓷制微量扩散池,直径68mm。如图1-2-2A所示。

(2) 分光光度计或光电比色计。

2. 试剂。全部用分析纯的。

(1) 硅润滑油。

(2) 0.1N的氢氧化钠溶



液。溶解4g氢氧化钠固体，

然后用蒸馏水稀释至1000ml，

图 1-2-2A 扩散池示意图

保存在塑料瓶中，每2周配制一次。

(3) 100mg/100ml  $\text{KCN}^-$  储备液。溶解0.25g  $\text{KCN}$  于大约50ml蒸馏水中，加2.0ml 0.5N的 $\text{NaOH}$ 溶液，用蒸馏水稀释至100ml，保存在有螺旋盖的塑料瓶中，每三个月配制一次。

(4) 氰化物标准定量溶液。

高浓度 ( $10\mu\text{g}/\text{ml}$ )  $\text{CN}^-$  水溶液的配制。取1.0ml储备液，用蒸馏水稀释至100ml。使用前准备。

低浓度 ( $2\mu\text{g}/\text{ml}$ )  $\text{CN}^-$  水溶液的配制。取2.0ml储备液，用蒸馏水稀释至1000ml。使用前准备。

(5) 3.6N的硫酸。取10ml浓硫酸，用蒸馏水稀释至100ml。

(6) 1M ( $13.8\text{g}/100\text{ml}$ ) 的磷酸二氢钠溶液。

(7) 0.25g/100ml氯化铵—T。溶解0.25g氯化铵—T于少量水中，再加水至100ml。保存在4℃的条件下。

(8) 显色剂。取3.0g巴比妥酸、15ml吡啶和3.0ml 12N的盐酸，混合溶解后，放于一个25ml的容量瓶中，用水稀释至刻度，并过滤。必须当天配制新鲜溶液。

3. 分析程序

同时分析全部样品（血、尿、空白和标准液）。

(1) 取5个扩散池, 在每个池的边沿轻轻地涂上硅润滑油。加0.5ml 1.0N的氢氧化钠溶液(吸收溶液)于池的内室。

(2) 于每一个扩散池的外室中加入0.5ml 3N的硫酸。

(3) 用玻璃盖将每一个扩散池盖上。但应给外室留一个开口, 以便加入试验样品和内标样品。

(4) 向外室中加入0.5ml样品。注意不要摇动。

(5) 滑动玻璃盖, 盖严全部外室和内室, 轻轻转动扩散池, 但须小心, 防止内、外室溶液混合。

(6) 在室温下扩散2小时。如温度升高, 则扩散时间相应减少。

(7) 2小时后, 转移0.1ml内室溶液到5ml有标记的试管内。

(8) 向每一个试管内加入1ml 1M的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 和0.5ml的氯化铵—T溶液。

(9) 混合并放置2—3分钟。

(10) 加入1.5ml显色剂, 混合并放置10分钟, 如有红色出现, 则表示有氰离子存在。

(11) 在580nm处测定每一个溶液的吸收值, 以经过同样处理的水溶液作参比。

#### 4. 氰化物浓度的计算

$$C_x = A_x \times \frac{10}{A_H}$$

式中:  $C_x$ : 试样中氰化物的浓度。

$A_x$ : 试样的吸收值。

$A_H$ : 高浓度内标在580nm处的吸收。应用低浓度内标时, 则用2代替10。

## 5. 讨论

本方法的检出限量小于 $10\mu\text{g}/100\text{mlCN}^-$ 。

本方法的平均回收率：参比水溶液、尿、玻璃体、皮下脂肪均浆为21%；胆汁、颅骨脑肌、食管、肠、动脉腔为19%；血液、脑均浆、胃壁、脾、肺、胰腺、肾上腺、睾丸、主动脉为17%；肝均浆、肾和心为14%。

新鲜血液，采取以上方法检验。正常人体血液中氰化物的含量不到 $10\mu\text{g}/100\text{mlCN}^-$ ；服入可离解的氰化物，如血液中的氰化物的浓度超过 $50\mu\text{g}/100\text{mlCN}^-$ ，则出现急性中毒症状。组织中的氰化物含量，除脾外，常常稍低于血液中的浓度，而在尿中常常是每升中低于几个微克。吸入氰氢酸（HCN）出现急性中毒症状，血液中氰化物的浓度超过 $20\mu\text{g}/100\text{mlCN}^-$ 。死亡案例血液中的浓度可能低于 $100\mu\text{g}/100\text{mlCN}^-$ 。由于可离解的氰化物引起中毒，在临床上也有急性中毒获救者。这是由于减毒作用使血液中氰化物浓度迅速下降。氰化物以脂肪腈葡萄糖醛酸甙或大剂量的硫氰化物等形式被吸收之后，长时间升高血液中氰化物的浓度，也出现中度症状，但程度有别。

## 第三节 乙醇的检验

酒精的应用非常普遍，既用于社交，也用于医疗。饮料和啤酒中含有3—6%的酒精，有的饮用酒中，酒精含量高达55—65%。由于生活的改善，我国饮酒的人越来越多，酒后开车肇事也不断发生。随之而来的问题就是对人体内的酒精进行定性定量检验越来越多，越来越复杂。

在正常人体内，代谢也能产生乙醇，其含量一般为0.00015g/dl（即0.015%）。一次饮酒精0.5ml/kg（即体重70kg的人一次饮酒35ml），2小时后血液中酒精的浓度为0.04g/dl（4%）

急性酒精中毒死亡案例中，酒精在组织中的分布，每100ml血液为7.4（4.2—17.7）g，每100g脑为4.4（3.1—9.1）g，每100g脑脊髓液为5.8（4.0—8.2）g，每100g肝为4.5（2.5—11.6）g，每100g肾为4.8（2.9—10.4）g，每100ml尿为6.2（4.9—9.4）g。

酒精在尿中的浓度，常用来估计其在血液中的浓度。在消失阶段，尿和血液中的乙醇浓度比为1.3。据美国毒物分析学家R·Budd1962年统计，酒精在组织和血液中的浓度比如下：尿/血液为1.5（109例），胆汁/血液为1.1（100例）。也有人报道下列组织/血液酒精比例：

| 脑         | 血块   | 脂肪   | 肝    | 唾液   |
|-----------|------|------|------|------|
| 0.65—0.94 | 0.77 | 0.02 | 0.91 | 1.12 |

## 一、定性检验

### 1. 试剂

（1） $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}=1:2$ 。即1份浓硫酸与2份水混合（A液）。

（2）0.02N的 $\text{KMnO}_4$ 溶液。即320mg的结晶 $\text{KMnO}_4$ 溶解于500ml的水中（B液）。

（3）在试验前用A液稀释5ml的B液至100ml。

### 2. 仪器

250ml三角磨口瓶，如图1-3-1A所示。

### 3. 试验程序