

# 基于纤维素基固相萃取材料分析 尿液中的苯丙胺毒品

罗 竞<sup>1,2</sup>, 王璐颖<sup>1</sup>, 刘以凡<sup>1</sup>, 林春香<sup>1\*</sup>

(1. 福州大学 环境与安全工程学院, 福建 福州 350108; 2. 福建省华夏能源设计研究院有限公司, 福建 福州 350003)

**摘要:** 对纤维素进行酸酐改性, 制备了纤维素基萃取材料 (Cell-COOH), 用于尿液中苯丙胺的富集, 并建立了基于该材料的固相萃取-高效液相色谱联用技术, 用于尿液中苯丙胺的测定。采用 FTIR、XRD、SEM、XPS 对 Cell-COOH 结构进行了表征; 优化了固相萃取条件, 并对其特异性、抗干扰能力、可重复利用性及方法的可行性进行了测试和验证。结果表明, Cell-COOH 表面含有羧基官能团, 对苯丙胺具有较好的吸附能力; 在其他滥用药物和共存离子的干扰下, 该法表现出良好的特异性和抗干扰能力, 在第 7 次使用时萃取回收率仍保持在 92% 以上。在 pH 为 8, 萃取剂 Cell-COOH 用量为 0.50 g/L, 萃取时间为 30 min, 洗脱剂为体积分数 0.8% 的盐酸、洗脱剂用量为 0.08 L/g (萃取剂)、洗脱时间为 20 min 的最佳条件下, 该法的线性范围为 0.01~2.00 mg/L ( $R^2=0.9973$ ), 检出限为 2.5  $\mu\text{g/L}$ , 定量限为 8.0  $\mu\text{g/L}$ 。使用 Cell-COOH 对实际尿液中的苯丙胺进行了萃取, 其萃取回收率为 74.41%~82.14%, 相对标准偏差 ( $n=3$ ) 为 2.32%~6.85%。

**关键词:** 纤维素; 苯丙胺; 固相萃取; 高效液相色谱法; 功能材料

**中图分类号:** O658.2; R446.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2023) 11-2366-10

## Analysis of amphetamine in urine by cellulose-based solid phase extraction material

LUO Jing<sup>1,2</sup>, WANG Luying<sup>1</sup>, LIU Yifan<sup>1</sup>, LIN Chunxiang<sup>1\*</sup>

(1. College of Environmental & Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, Fujian, China; 2. Fujian Huaxia Energy Design and Research Institute Co., Ltd., Fuzhou 350003, Fujian, China)

**Abstract:** Cellulose-based extraction material (Cell-COOH) was prepared from cellulose modification with acid anhydride for amphetamine enrichment in urine, and characterized by FTIR, XRD, SEM and XPS. A solid-phase extraction technique coupled with high performance liquid chromatography based on Cell-COOH was established for the determination of amphetamine in urine. The solid-phase extraction conditions were then optimized, while the interference resistance and reusability of Cell-COOH were evaluated and the feasibility of this technique was verified. The results showed that the surface of Cell-COOH contained carboxyl functional group with good adsorption to amphetamine. The method showed good specificity and anti-interference ability under the interference of other abused drugs and urine co-existing ions, and the extraction efficiency could remain above 92% when used for the seventh time. Under the optimal extraction conditions of pH=8, extractant dosage 0.50 g/L, extraction time 30 min, eluent of 0.8% (volume fraction) hydrochloric acid, eluent dosage 0.08 L/g, elution time 20 min, the linear range of the method was among 0.01~2.00 mg/L ( $R^2=0.9973$ ), and the limit of detection was 2.5  $\mu\text{g/L}$  with the quantification limit of 8.0  $\mu\text{g/L}$ . The extraction recovery of amphetamine could reach 74.41%~82.14% when using Cell-COOH as solid phase extractant in actual urine, with the relative deviation ( $n=3$ ) of 2.32%~6.85%.

收稿日期: 2023-03-13; 定用日期: 2023-06-21; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230201

基金项目: 国家自然科学基金项目 (22208057); 福建省自然科学基金项目 (2020J01506)

作者简介: 罗 竞 (1990—), 男, 硕士, 高级工程师, E-mail: 351823675@qq.com。联系人: 林春香 (1982—), 女, 博士, 教授, E-mail: lcx2010@fzu.edu.cn。

**Key words:** cellulose; amphetamine; solid phase extraction; high performance liquid chromatography; functional materials

苯丙胺 (AMP) 是一类人工合成的有机胺类化合物, 是一种强大的中枢神经系统兴奋剂<sup>[1]</sup>。近年来, 苯丙胺的滥用在世界范围内呈上升趋势, 已成为一个全球性的问题<sup>[2]</sup>。这类药物对人体精神和身体方面都有严重的损害, 在国内已被列为违禁药物。因此, 快速定性定量检测生物样品中的苯丙胺类药物, 对药物滥用案件的鉴定及中毒病人抢救都具有重要的意义。

在各种生物样品中, 尿液因易于大批量采集, 且为非侵入性检测, 常被用作毒品检测的生物样品。目前, 对尿液样品中苯丙胺类药物的检测主要有免疫分析法<sup>[3]</sup>、高效液相色谱法 (HPLC)<sup>[4]</sup>、气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)<sup>[5]</sup>以及液相色谱-质谱联用法 (LC-MS/MS)<sup>[6]</sup>等。然而, 尿液样品中毒品含量极低且基质复杂, 干扰较大, 传统色谱技术如 HPLC 很难满足分析要求, 通常需要对样品进行前处理以保证分析结果的准确性。固相萃取是预浓缩/分离痕量目标分析物的最常用前处理技术之一<sup>[7-8]</sup>, 其通过使用固相萃取材料对分析物的吸附作用, 使其与样品的基体和干扰物分离并脱附, 从而达到分离、富集分析物的目的, 因其简单易操作、回收率高、快速等优点, 显示出良好的应用前景<sup>[9]</sup>。许多吸附材料如活性炭<sup>[10]</sup>、碳纳米管<sup>[11]</sup>等都可用于固相萃取材料用于痕量物质的前处理中<sup>[12-15]</sup>。功能化纤维素作为一种绿色的生物吸附剂, 因其环保、经济、可降解等优势, 在固相萃取中得到了极大的关注和发展<sup>[16-21]</sup>。与其他常用萃取材料相比, 纤维素具有价廉易得、安全环保且可再生等优势, 且含有羧基基团的各种材料已被证明对苯丙胺具有良好的吸附富集效果<sup>[22-23]</sup>。因此, 若能将羧基化改性后的纤维素用于尿液中苯丙胺毒品的萃取, 可为毒品分析提供一种简单、快速、高效、绿色环保的样品前处理技术, 促进分析技术的发展。

鉴于此, 本文拟以纤维素为原料, 采用均苯四甲酸酐 (PMDA) 对其进行改性, 制备一种含多羧基的纤维素基萃取材料 (Cell-COOH), 将其作为萃取材料用于苯丙胺类毒品的富集, 并建立以 Cell-COOH 为萃取材料的固相萃取-高效液相色谱联用检测苯丙胺的方法。采用 FTIR、XRD、SEM、XPS 等对萃取材料进行表征, 探索最优萃取条件, 并将此法应用于实际尿液样品中。以期得到一种快速、简便的样品前处理方法, 可为临床和刑事实验室对尿液样品中苯丙胺的测定提供一种新的分析方法。

## 1 实验部分

### 1.1 原料、试剂与仪器

纤维素粉 (粒径 90  $\mu\text{m}$ )、均苯四甲酸酐 (PMDA) (质量分数 99%)、磷酸二氢钾 (色谱级)、(R)-(+)-1-苯丙胺 (质量分数  $\geq 99\%$ )、KCl (质量分数  $\geq 99\%$ )、NaCl (质量分数 30%)、 $\text{NaNO}_3$  (AR)、 $\text{MgCl}_2$  粉末 (<200  $\mu\text{m}$ )、 $\text{CaCl}_2$  (质量分数 96%)、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (AR)、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (质量分数  $\geq 99.5\%$ )、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (AR)、 $\text{Fe}_2\text{S}_3\text{O}_{12} \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (质量分数  $\geq 99\%$ )、葡萄糖 (质量分数  $\geq 96\%$ )、尿素 (AR)、抗坏血酸 ( $\text{V}_C$ , 质量分数  $\geq 99\%$ )、上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 浓盐酸 (质量分数 36%~38%)、NaOH、*N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), AR, 国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、丙酮、乙腈, 色谱纯, 美国默克集团; 超纯水, 自制。

AVATAR 360 型傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Nicolet 公司; Miniflex 600 型 X 射线粉末衍射仪, 日本理学株式会社; ESCALAB 250 型 X 射线光电子能谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 230 型扫描电子显微镜, 美国 FEI 公司; STA6000 型自动进样同步热分析仪, 美国 PerkinElmer 公司; LC-20AT 型高效液相色谱仪, 日本 SHIMADZU 公司; HB digital 油浴锅, 艾卡仪器设备有限公司; DW-HL100A1 型超低温冷冻储存箱, 中科美菱低温科技股份有限公司; Lab-1A-50 型冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司。

### 1.2 纤维素萃取材料 (Cell-COOH) 的制备

参考文献[24]方法制备并稍作改进, 具体步骤为: 将 3 g PMDA 加入 40 mL DMF 中, 超声 30 min 使其充分溶解, 溶解后转移至三口烧瓶中并加入 1 g 纤维素粉, 置于 115  $^\circ\text{C}$  的油浴锅中, 在转速 300 r/min 的条件下反应 1.5 h。反应结束后, 待其冷却至室温并抽滤, 滤饼分别用超纯水、甲醇各洗涤 3 次后, 完全浸泡于浓度为 1 mol/L 的 HCl 溶液中 24 h, 然后用超纯水反复漂洗至中性, 最后置于  $-80$   $^\circ\text{C}$  冰箱中预冷冻 2 h, 在  $-40$   $^\circ\text{C}$  的冷冻干燥机中干燥 12 h 得到白色粉末状物质 Cell-COOH。

### 1.3 表征及性能测试

采用傅里叶变换红外光谱仪对产物结构进行表征, 波数范围为 600~4000  $\text{cm}^{-1}$ ; 采用 XRD 对样品的晶型进行测试, 工作电压为 40 kV, 工作电流为 40 mA, 扫描范围  $5^\circ$ ~ $60^\circ$ , 步长为  $0.02^\circ$ , 扫描速率为 1 ( $^\circ$ )/min; 采用 X 射线光电子能谱仪对材料进行表征; 用扫描电子显微镜对材料进行微观形貌表

征；用高效液相色谱仪测定溶液中苯丙胺含量，测试条件：C18 色谱柱（ZORBAX Eclipse Plus C18，美国安捷伦科技公司），流动相为 10 mmol/L 的磷酸盐缓冲液（pH=4）-乙腈（体积比 70 : 30），等度洗脱，流速为 1.0 mL/min，进样量为 20 μL；检测波长为 265 nm。

称取 6 份 50 mg Cell-COOH 分别在未处理、超纯水、浓度为 0.1 mol/L NaOH 溶液（pH=13）、浓度为 0.01 mol/L HCl 溶液（pH=2）、丙酮及甲醇中浸泡 24 h，取出后于 -40 °C 的冷冻干燥机干燥后用傅里叶变换红外光谱仪进行结构表征以评估材料的化学稳定性；采用自动进样同步热分析仪测试不同溶剂中浸泡的 Cell-COOH 的热稳定性（工作条件为：氮气气氛、温度范围为 25~600 °C、升温速率为 10 °C/min）。

1.4 固相萃取实验

准确称取苯丙胺 10 mg，用甲醇溶解并定容至 50 mL 棕色容量瓶中，配成质量浓度为 200 mg/L 苯丙胺标准储备溶液，使用超纯水将其稀释至质量浓度 0.1 mg/L，于 4 °C 保存，备用。

固相萃取过程示意图如图 1 所示。

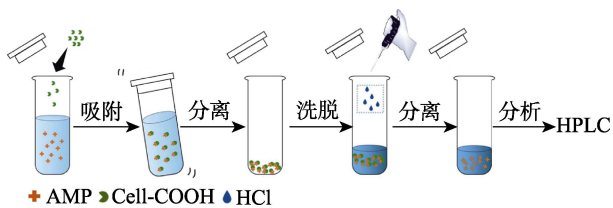


图 1 固相萃取过程示意图  
Fig. 1 Schematic diagram of extraction process

具体步骤为：将 10 mg Cell-COOH 加入含有 20 mL 质量浓度为 0.1 mg/L 苯丙胺溶液（pH=8）的离心管中，在 25 °C 的恒温摇床中振荡萃取 30 min，使用超高速离心机（1000 r/min）离心 5 min 后，倒去上清液，分离后固体用 1 mL 体积分数为 0.8% 的 HCl 水溶液洗脱 20 min。样品经过 0.22 μm 滤膜过滤后用于 HPLC 检测，并根据公式（1）计算萃取回收率（R）。

$$R / \% = \frac{\rho \times V}{\rho_0 \times V_0} \times 100 \quad (1)$$

式中： $\rho$  为洗脱液中苯丙胺质量浓度，mg/L； $V$  为洗脱液体积，mL； $\rho_0$  为萃取前苯丙胺的初始质量浓度，mg/L； $V_0$  为初始溶液体积，mL。

1.5 特异性与抗干扰性测试

分别配制 20 mL 含有 5 mg/L 和 50 mg/L 的 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、葡萄糖、尿素、抗坏血酸的苯丙胺溶液（0.1 mg/L），以及 20 mL 含有 0.1 mg/L 苯丙胺和其他滥用药物（对乙酰氨基酚、阿司咪唑、氟西汀、丁卡因、可替宁）的混合溶液，用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 水溶液将上述溶液的 pH 调至 8，并加入 10 mg Cell-COOH，在 25 °C 的恒温摇床中振荡萃取 30 min。固液分离后使用 1 mL 质量分数为 0.8% 的 HCl 水溶液对 Cell-COOH 洗脱 20 min。收集洗脱液，经 0.22 μm 滤膜过滤后，用于 HPLC 检测。

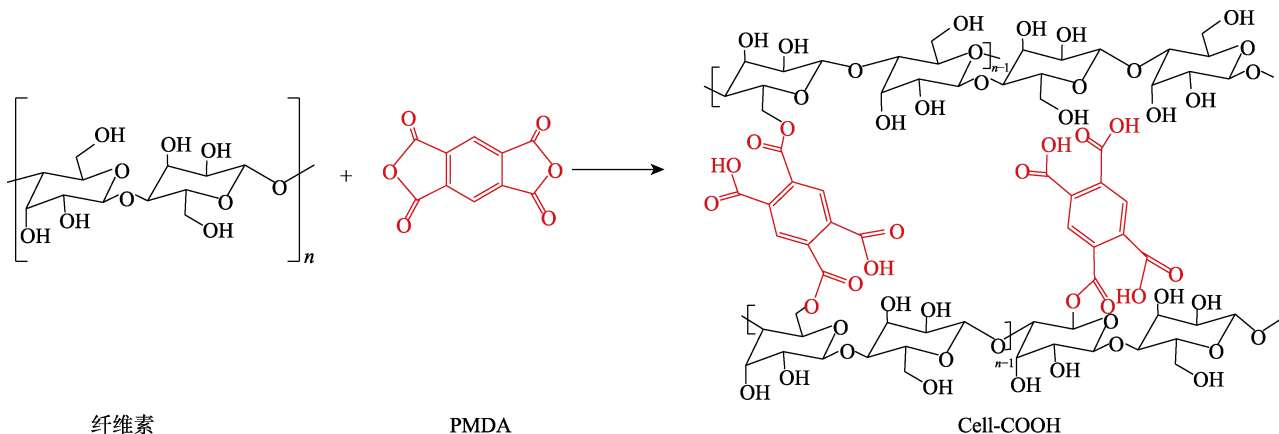
1.6 样品处理方法

健康尿液由 2 名志愿者提供。将尿液样本用超纯水稀释 10 倍，并用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 水溶液将 pH 调至 8，离心（1000 r/min）10 min 以分离样品中固体杂质，取上清液于干净离心管中，置于 -10 °C 冰箱保存。

2 结果与讨论

2.1 纤维素基萃取材料的结构表征

纤维素大分子骨架上含有大量的羟基，可与 PMDA 通过酯化反应引入羧基官能团，以增强纤维素材料对苯丙胺的吸附能力<sup>[23]</sup>。在酸酐改性过程中，PMDA 中的与纤维素上一-OH 发生酯化反应生成 Cell-COOH，-OCOCO- 为材料引入羧基。随后，体系中的部分酸酐继续与纤维素上一-OH 进行酯化反应，而成功接枝于 Cell-COOH 上的一COOH 与纤维素上的一OH 继续反应，形成了一个网状结构<sup>[25]</sup>，其反应式如下所示。



采用 FTIR、XRD 及 XPS 对所制备的纤维素萃取材料 Cell-COOH 的结构和组分进行表征, 结果见图 2。

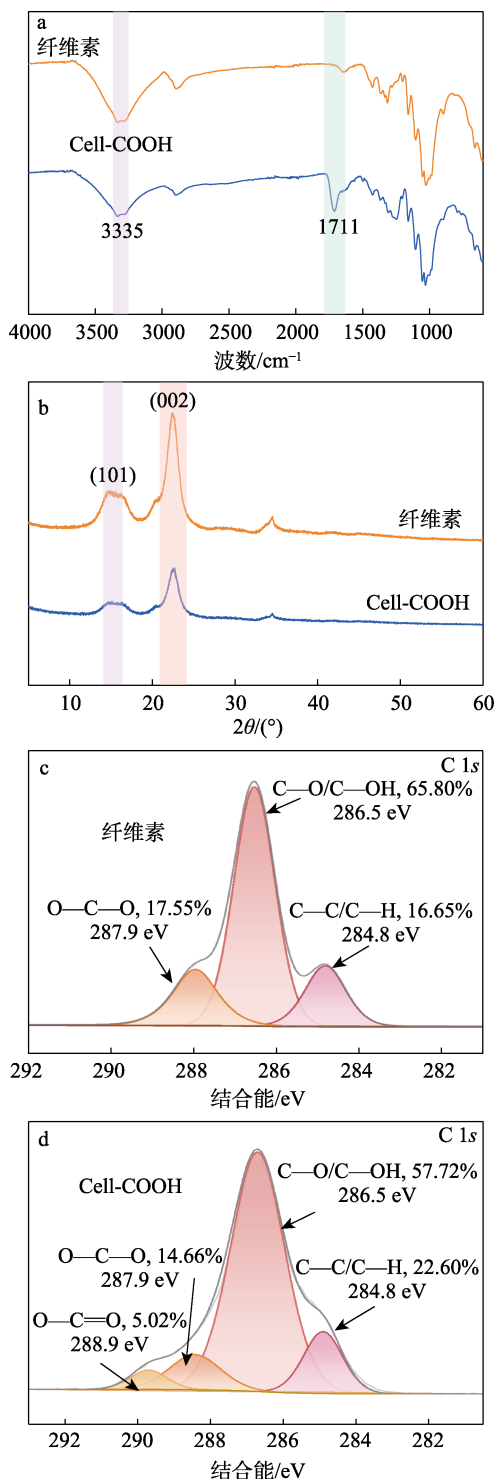


图 2 纤维素与 Cell-COOH 的 FTIR 谱图 (a)、XRD 谱图 (b) 及 C 1s 高分辨 XPS 谱图 (c、d)

Fig. 2 FTIR spectra (a), XRD patterns (b) and C 1s high-resolution XPS spectra (c, d) of cellulose and Cell-COOH

图 2a 为纤维素原料及萃取材料的红外谱图。可以看出, 纤维素与 PMDA 经过酯化反应后, 在  $3335\text{ cm}^{-1}$

处出现的对应于  $\text{-OH}$  的特征峰强度有所减弱, 且在  $1711\text{ cm}^{-1}$  处出现  $\text{C=O}$  键的特征峰, 表明纤维素上的羟基参与反应, 且改性后材料表面出现羧基基团。图 2b 为纤维素原料与 Cell-COOH 的 XRD 谱图。可以看出, 纤维素在  $2\theta=15.1^\circ$  与  $22.3^\circ$  处存在纤维素 I 型典型的 (101) 与 (002) 晶面衍射峰<sup>[26]</sup>, 而 Cell-COOH 在这两处衍射峰的强度明显减弱, 表明在改性过程中纤维素的晶型保持不变, 但结晶度略有降低。同时, 通过 XPS 分析了改性前后材料表面官能团的差异 (图 2c 和 d), 改性前纤维素的 C 1s 谱图主要由  $\text{C-C/C-H}$  ( $284.8\text{ eV}$ )、 $\text{C-O/C-OH}$  ( $286.5\text{ eV}$ ) 和  $\text{C-O-C}$  ( $287.9\text{ eV}$ ) 组成<sup>[27]</sup>, 而酯化反应后纤维素的  $\text{C-O/C-OH}$  峰强度略有下降, 且在  $288.9\text{ eV}$  处出现了新的峰, 归属为  $\text{O-C=O}$ <sup>[28]</sup>, 表明反应后纤维素羟基数量下降, 且材料表面出现羧基基团。

纤维素反应前后的 SEM 如图 3 所示。可以看出, 反应前纤维素原料呈纤维长条状, 经酸酐改性后的材料表面褶皱增多, 且出现碎屑状物质, 这使材料与吸附质间的接触面积增大, 有利于吸附反应的进行。

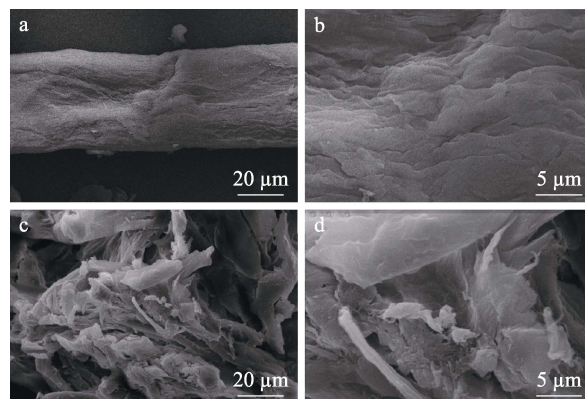


图 3 纤维素 (a、b) 及 Cell-COOH (c、d) 的 SEM 图  
Fig. 3 SEM images of cellulose (a, b) and Cell-COOH (c, d)

为了考察 Cell-COOH 在不同溶剂及温度下的稳定性, 测定了在不同溶剂中浸泡过的萃取材料的红外光谱及热失重曲线, 结果如图 4 所示。从图 4a 可以看出, 萃取材料在超纯水、酸、丙酮及甲醇中浸泡后, 其红外谱图没有发生明显变化; 但在碱溶液中浸泡后, 材料在  $1711\text{ cm}^{-1}$  处的  $\text{C=O}$  峰强有微弱的下降, 说明碱溶液在一定程度上会破坏材料的羧基结构, 后续萃取过程中应避免碱性溶剂的使用。由图 4b 可见, 浸泡过的萃取材料的热失重曲线与未处理过材料相似; 第 1 次质量损失发生在  $25\sim 240\text{ }^\circ\text{C}$ , 主要是水和溶剂的蒸发所致; 当温度升高至  $240\text{ }^\circ\text{C}$  以上时, 材料出现大幅度的失重, 可能是由于材料自身热降解导致<sup>[29]</sup>, 可见材料及溶剂浸泡后材料在  $240\text{ }^\circ\text{C}$  内均表现出较好的热稳定性。综上所述, 该

材料具有良好的化学稳定性和热稳定性, 能够满足实验过程中温度与试剂的要求。

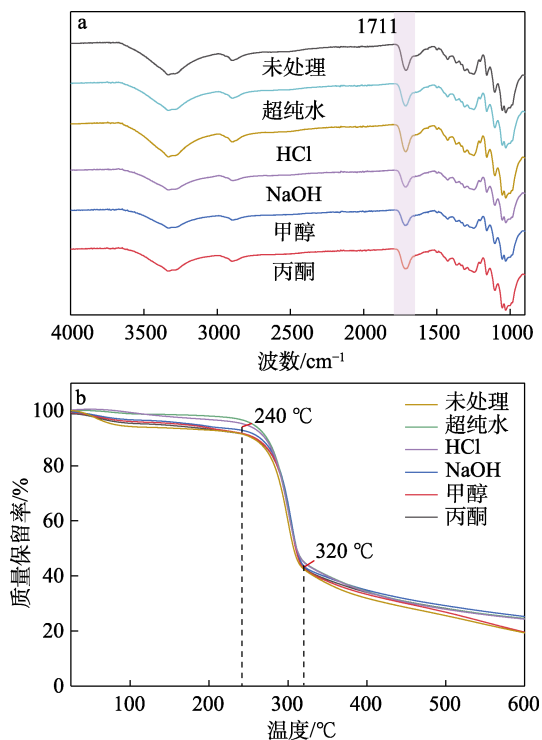


图 4 Cell-COOH 的化学稳定性 (a) 和热稳定性 (b)  
Fig. 4 Chemical stability (a) and thermal stability (b) of Cell-COOH

## 2.2 固相萃取条件的优化

为了研究纤维素萃取材料对苯丙胺的最佳萃取效果, 对萃取条件 (溶液 pH、萃取剂用量、萃取时间) 和洗脱条件 (洗脱剂种类、洗脱剂用量、洗脱时间) 等参数进行优化。

苯丙胺属于弱的有机碱, 羧酸基团属于弱酸, 因此, 溶液 pH 不仅能影响苯丙胺在水溶液中的解离, 还能影响纤维素萃取材料羧酸基团的游离, 从而影响萃取效果。将质量浓度为 0.1 mg/L 的苯丙胺加标水样体积固定为 20 mL, 在萃取材料用量为 0.5 g/L、萃取时间为 60 min、洗脱剂为体积分数为 0.8% 的 HCl 水溶液、洗脱剂用量为 0.1 L/g (萃取剂, 下同)、洗脱时间为 30 min 的条件下, 研究不同 pH 对萃取材料萃取苯丙胺效果的影响, 结果见图 5a。可以看出, 当溶液 pH < 6 或 > 8 时, 纤维素对苯丙胺的萃取回收率明显较低, 均 < 50%; 而当 pH 为 8 时, 萃取效果最佳。这主要是因为, 在 pH 较低时, 苯丙胺在水中主要以  $C_9H_{14}N^+$  阳离子形式存在, 另一方面 Cell-COOH 因表面羧基电离受溶液中  $H^+$  浓度的影响, 使得苯丙胺与 Cell-COOH 之间不能依靠静电引力相互作用, 导致萃取效果较差; 随着溶液 pH 的增大, Cell-COOH 表面的羧基逐步解离为  $COO^-$ , 材料表面负电荷增多, 与水中阳离子态苯丙

胺的静电相互作用增强, 使得萃取效果得到提升<sup>[30]</sup>; 而当 pH > 8 后, 苯丙胺在水中的形态逐渐转变为分子态, 在水中的溶解度也随之降低, 不利于萃取的进行<sup>[31]</sup>。因此, 最佳溶液 pH 为 8。

萃取剂用量是影响萃取效果的重要参数, 理论上萃取剂用量越多, 能提供的作用位点也越多, 萃取效果也能得到提高, 然而, 过量的萃取剂会造成使用成本提高。为了探讨最合适的萃取材料用量, 在 pH 为 8、萃取时间为 60 min、洗脱剂为体积分数 0.8% 的 HCl 水溶液、洗脱剂用量为 0.1 L/g、洗脱时间为 30 min 的条件下, 考察 Cell-COOH 用量 (控制在 0.05~2.00 g/L) 对苯丙胺萃取回收率的影响, 结果如图 5b 所示。可以看出, 苯丙胺的萃取回收率随着 Cell-COOH 用量的增加而增加, 而当吸附剂用量 > 0.5 g/L 后, 萃取效果趋于平缓。因此, 萃取材料最佳用量为 0.5 g/L。

在 pH 为 8、萃取剂用量为 0.5 g/L、洗脱剂为体积分数 0.8% 的 HCl 水溶液、洗脱剂用量为 0.1 L/g、洗脱时间为 30 min 的条件下, 考察了萃取时间对萃取效果的影响, 结果见图 5c。可以看出, 当萃取时间为 10 min 时, 萃取材料对苯丙胺的萃取回收率可达 84.4%, 萃取时间为 30 min 时对苯丙胺的萃取回收率达到最高值 97.8%。

萃取材料的洗脱过程对目标物的分离富集具有重要影响, 洗脱剂种类、洗脱剂用量以及洗脱时间是保证目标物从萃取材料上充分洗脱的关键参数。在洗脱剂用量为 0.1 L/g、洗脱时间为 30 min 的条件下, 考察了甲醇、甲酸 (FA)-甲醇 (FA 体积分数 5%)、体积分数为 0.8% 的 HCl 水溶液、体积分数为 0.8% 的 HCl-甲醇溶液 4 种溶液对苯丙胺洗脱效果的影响, 结果见图 5d。可以看出, 与其他溶液相比, 以体积分数为 0.8% 的 HCl 水溶液为洗脱剂时, 萃取回收率可达 97.8%, 远高于其他溶剂。

洗脱剂用量越大, 洗脱效果越好, 但用量越大会导致洗脱下来的苯丙胺浓度越低, 因此, 选择合适的洗脱剂用量, 既能保证洗脱效果又能减少洗脱剂用量, 提高萃取回收率。图 5e 为 pH 为 8、萃取剂用量为 0.5 g/L、萃取时间为 30 min、洗脱剂为体积分数 0.8% 的 HCl 水溶液、洗脱时间为 30 min 的条件下, 洗脱剂用量对苯丙胺萃取效果的影响, 可以看出, 随着洗脱剂用量的增加, 萃取回收率也随之增加, 当用量 > 0.08 L/g 时回收率趋于平缓。因此, 最适洗脱剂用量为 0.08 L/g。

最后, 在 pH 为 8、萃取剂用量为 0.5 g/L、萃取时间为 30 min、洗脱剂为体积分数 0.8% 的 HCl 水溶液、洗脱剂用量为 0.08 L/g 的条件下, 考察了洗脱时间对苯丙胺萃取效果的影响, 结果如图 5f 所示。可以看出, 随着洗脱时间的延长, 萃取回收率不断升高, 并在 20 min 后趋于平衡。

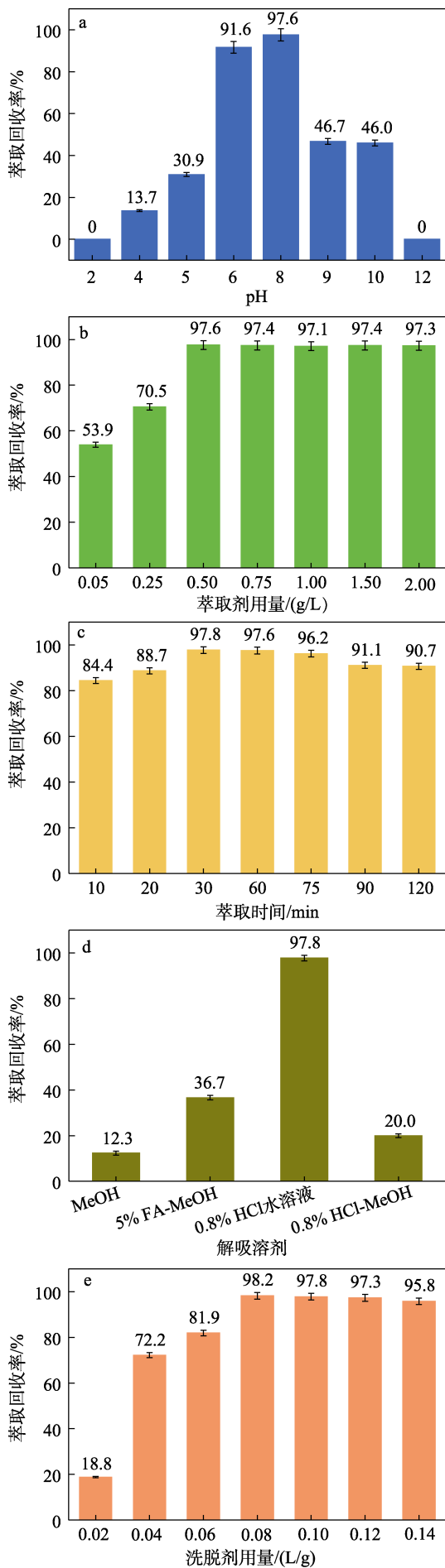


图 5 固相萃取条件对苯丙胺回收率的影响: 溶液 pH (a)、萃取剂用量 (b)、萃取时间 (c)、洗脱剂种类 (d)、洗脱剂用量 (e)、洗脱时间 (f)

Fig. 5 Effect of extraction conditions on recovery of amphetamine: Solution pH (a), extractant dosage (b), extraction time (c), eluent types (d), eluent dosage (e) and elution time (f)

综上所述,纤维素萃取材料对质量浓度为 0.1 mg/L 苯丙胺的萃取条件为: 富集条件为 pH=8.0、萃取剂用量为 0.5 g/L、萃取时间为 30 min; 洗脱条件为体积分数 0.8% HCl 水溶液作洗脱剂、洗脱剂用量为 0.08 L/g (萃取剂)、洗脱时间为 20 min, 在此条件下苯丙胺的萃取回收率可达 98.3%。

### 2.3 线性范围与检出限

#### 2.3.1 方法的检出限、定量限和精确度

以 Cell-COOH 为萃取剂, 在 pH=8.0、萃取剂用量为 0.5 g/L、萃取时间为 30 min; 洗脱条件为体积分数 0.8% 的 HCl 水溶液作洗脱剂、洗脱剂用量为 0.08 L/g、洗脱时间为 20 min 条件下对苯丙胺进行固相萃取, 从线性范围、检出限 (LOD)、定量限 (LOQ)、精确度对该法进行验证, 结果见表 1。如表 1 所示, 在 0.01~2.00 mg/L 范围内, 萃取后苯丙胺质量浓度与初始质量浓度成正比, 其工作曲线的相关系数 ( $R^2$ ) 为 0.9973, 分别以 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 和 10 倍信噪比 ( $S/N=10$ ) 确定方法的检出限和定量限分别为 2.5 和 8.0  $\mu\text{g/L}$ 。此外, 通过对超纯水的加标实验, 考察了苯丙胺在 3 种质量浓度水平 (0.1、0.2、0.5 mg/L) 下, 方法的日内和日间精确度 (RSD), 结果见表 2。结果表明, 3 个水平的加标萃取回收率为 83.7%~101.6%, 日内和日间的相对标准偏差分别在 2.10%~4.71% 和 2.45%~3.48% 范围内。由此可见, 本研究所建立苯丙胺的检测方法具备较好的精确度、灵敏度和重现性。

表 1 所建立方法的工作曲线及相关参数、LOQ 和 LOD  
Table 1 Working curves of established methods and related parameters, LOQ and LOD

分析物	线性范围/ (mg/L)	线性方程 ( $x$ , mg/L)	$R^2$	LOQ/ ( $\mu\text{g/L}$ )	LOD/ ( $\mu\text{g/L}$ )
苯丙胺	0.01~2.00	$y=42.75x+1.71$	0.9973	8.0	2.5

表 2 所建立方法的日内、日间精确度

Table 2 Intraday and interday accuracy of established methods

分析物质量 浓度/(mg/L)	萃取回收率/%	RSD/(n=3)	
		日内	日间
0.1	94.1~101.6	2.66	3.48
0.2	90.7~97.0	2.10	2.45
0.5	83.7~99.2	4.71	2.84

2.4 特异性与抗干扰性能

由于正常尿液中胺类物质存在的可能性不大，本文目前旨在检测被试者尿液中是否含有苯丙胺类毒品，从而推测其是否吸毒，因此，测试了尿液中可能存在的其他滥用药物（对乙酰氨基酚、阿司咪唑、氟西汀、丁卡因、可替宁）以及潜在干扰物（常见阴阳离子、葡萄糖、尿素、抗坏血酸）对苯丙胺萃取回收率的影响，结果见图 6。

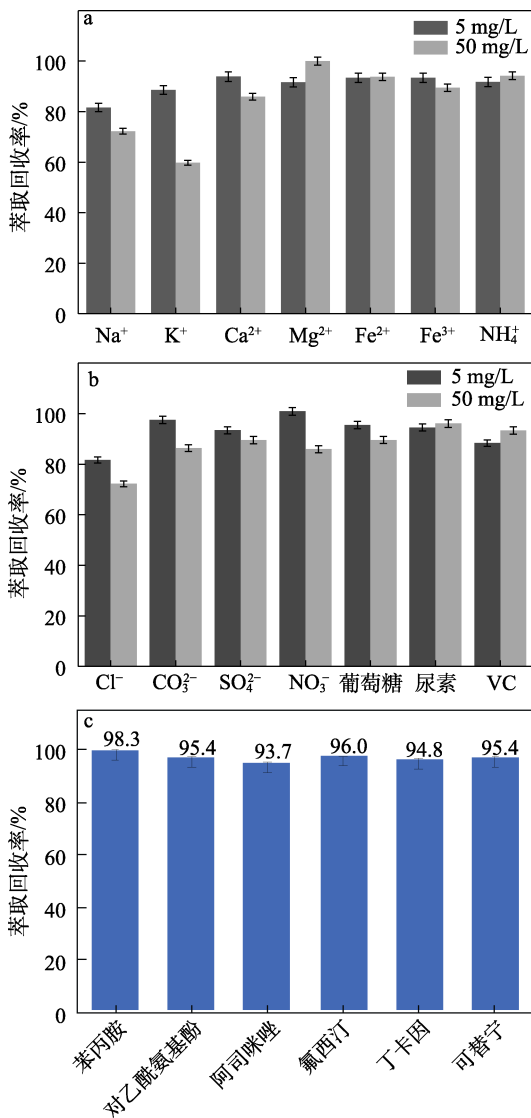


图 6 尿液中干扰物质 (a、b) 和其他滥用药物 (c) 对萃取回收率的影响

Fig. 6 Effect of interfering substances in urine (a, b) and other drugs of abuse (c) on enrichment efficiency

由图 6a 和 b 可知，Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、葡萄糖、尿素以及抗坏血酸 (V<sub>C</sub>) 的存在对苯丙胺的萃取效果没有明显影响。然而，当有 NaCl 或 KCl 存在时，萃取回收率受到影响，并且含量越高干扰效果越明显。这可能是因为，NaCl 和 KCl 的存在提高了溶液的离子强度，而在高离子强度下，电荷平衡离子会包围带相反电荷的吸附位点，部分离子会中和吸附位点的电荷，进而影响萃取材料与苯丙胺之间的静电作用<sup>[32]</sup>。图 6c 为几种滥用药物对纤维素萃取材料用于苯丙胺检测的影响。可以看出，几种滥用药物的加入均不影响苯丙胺的检测效果，说明该法对苯丙胺的富集浓缩具有一定的特异性和抗干扰能力，具有较大的应用于实际尿液检测的可行性。

2.5 重复利用性

萃取材料的可重复利用性对于构建绿色环保的样品前处理方法具有重要意义。本研究将萃取使用后的 Cell-COOH 用浓度为 1 mol/L 的 HCl 水溶液清洗 2 次，然后用超纯水洗涤至中性后，于 -40 °C 的冷冻干燥机干燥 24 h 后，再将其重新用于苯丙胺的固相萃取，考察该材料的重复利用性能，结果如图 7 所示。可以看出，随着循环次数的增加，苯丙胺的萃取回收率略有下降，第 7 次使用时，萃取回收率仍能保持在 92% 以上。由此可看出，Cell-COOH 作为固相萃取材料在对苯丙胺富集浓缩中具有较好的重复利用性能。

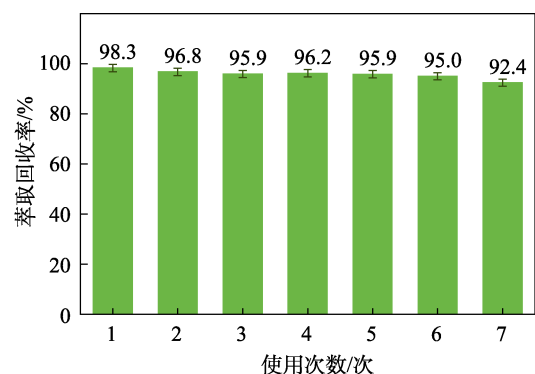


图 7 Cell-COOH 的可重复利用性

Fig. 7 Reusability of Cell-COOH

为了分析循环利用对材料表面的结构影响，采用 FTIR、XPS、SEM 对萃取前后材料进行表征，循环使用 7 次后 Cell-COOH 的 FTIR、XPS 和 SEM 图，分别见图 8 和图 9。由图 8 可看出，Cell-COOH 材料的表面官能团没有出现变化。由图 9 可看出，经过 7 次使用的材料表面结构未受到破坏。以上结果均表明，Cell-COOH 在固相萃取过程中具有显著的机械稳定性。材料羧基结构与萃取回收率的同步保持意味着羧基在 Cell-COOH 富集苯丙胺中起到重要

作用, 材料对样品中苯丙胺的高效富集主要通过羧基与苯丙胺上氨基间产生的静电作用与氢键作用协同实现。

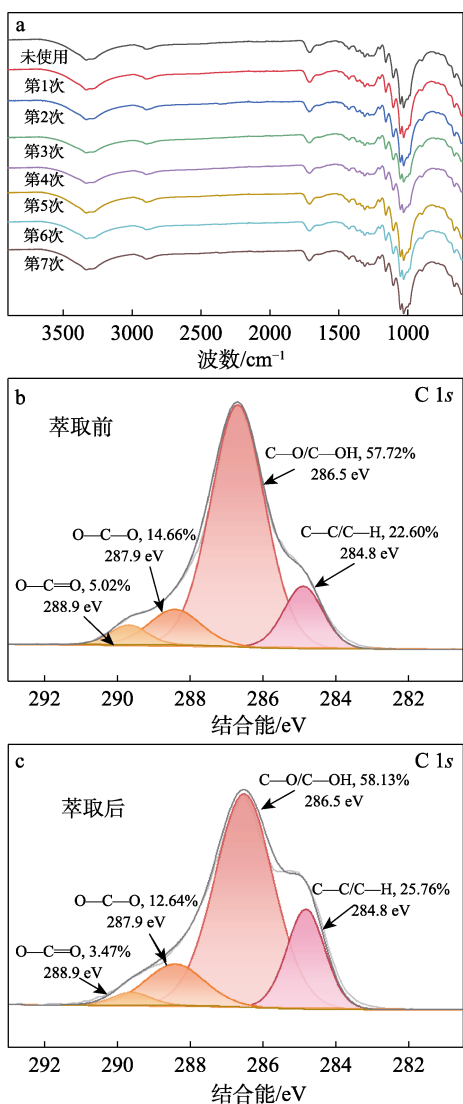


图 8 萃取前后 Cell-COOH 的 FTIR 谱图 (a) 及 XPS 谱图 (b, c)

Fig. 8 FTIR spectra (a) and XPS spectra (b, c) of Cell-COOH before and after extraction

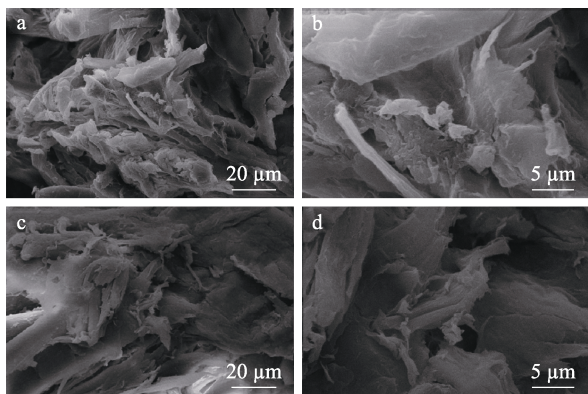


图 9 萃取前 (a, b) 后 (c, d) Cell-COOH 的 SEM 图  
Fig. 9 SEM images of Cell-COOH before (a, b) and after (c, d) extraction

## 2.6 实际样品分析

为了验证上述建立方法的实用性, 以两名志愿者的健康尿液 (尿样 1 和 2) 作为实际样, 根据吸毒人员尿液中实际苯丙胺浓度水平<sup>[33-36]</sup>, 在样品中加标 (加标质量浓度分别为 0.1 和 0.5 mg/L), 按照上述固相萃取-高效液相色谱法对样品进行测试, 验证方法的实际可行性。图 10 是苯丙胺标准溶液、空白尿液 (尿样 1) 和加标尿液 (加标质量浓度为 0.1 mg/L) 萃取后的 HPLC 谱图。

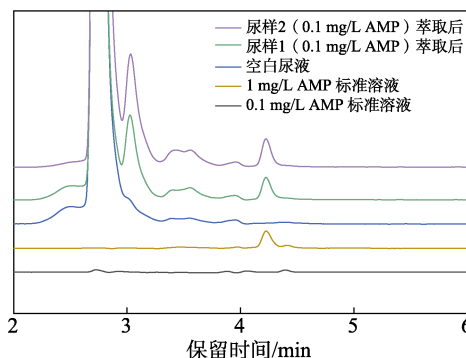


图 10 苯丙胺标准溶液、空白和加标尿液萃取后 HPLC 谱图

Fig. 10 HPLC chromatogram of standard solution, blank and labeled urine extraction of amphetamine

由图 10 可知, 质量浓度为 0.1 mg/L 的苯丙胺标准溶液由于质量浓度过低, 在 HPLC 谱图中无法检测到其特异性峰; 空白尿样中未检出苯丙胺; 当对尿液进行加标 (质量浓度为 0.1 mg/L) 回收检测时, HPLC 谱图在保留时间为 4.2 min 处出现苯丙胺的特征峰, 证明该法能用于尿液中苯丙胺的分离富集。

实际尿液中加标检测结果如表 3 所示。从表中数据可以看出, 苯丙胺样品的萃取回收率为 74.41%~82.14%, 相对标准偏差为 2.32%~6.85%。在实际吸毒检测中, 常通过定性检测待测人员尿液样品中是否存在苯丙胺来推断其是否吸毒。从图 10 也可以看出, 实际尿液加标萃取后苯丙胺的峰值明显, 能够明确地识别到尿液中苯丙胺的存在。以上结果表明, 该法具有较好的萃取回收率与重现性, 并具有较强的实用性。考虑到尿液介质的复杂性, 该法能满足苯丙胺类毒品日常分离检测要求。

表 3 尿液中苯丙胺的测定结果

样品	加标水平/(mg/L)	萃取回收率/%	RSD/%
尿样 1	0	—	—
	0.1	80.94	2.32
	0.5	82.14	6.85
尿样 2	0	—	—
	0.1	74.41	5.14
	0.5	77.88	3.50

注: “—”表示未检出。



### 2.7 Cell-COOH 对苯丙胺的吸附机理分析

不同 pH 下苯丙胺的存在形式及 Cell-COOH 的 Zeta 电位如图 11a 所示。

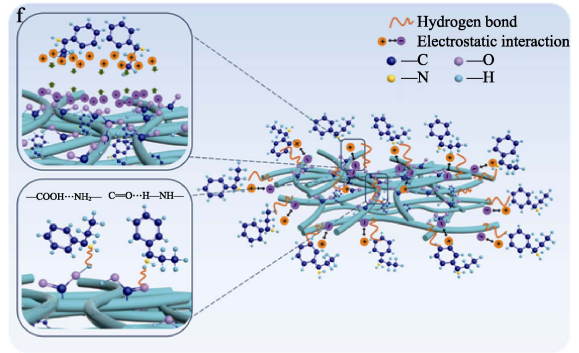
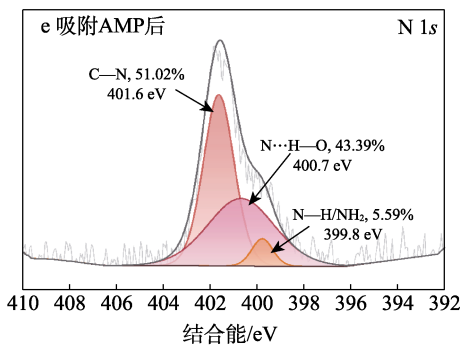
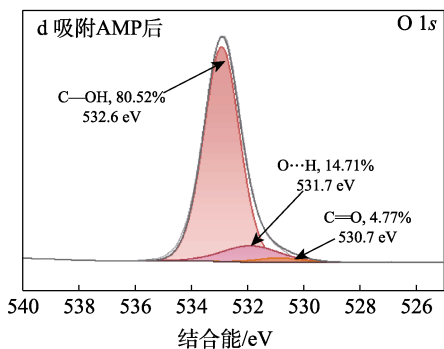
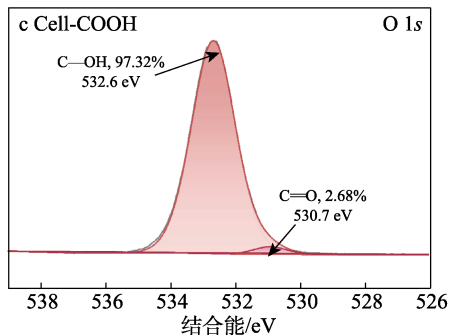
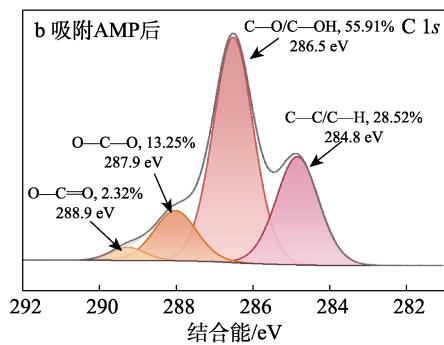
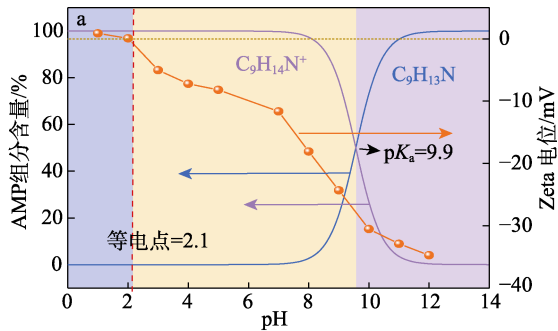


图 11 不同 pH 下苯丙胺的分子形态及 Cell-COOH 的 Zeta 电位 (a)、吸附苯丙胺后 Cell-COOH 的 C 1s 高分辨率谱图 (b)、吸附前后 Cell-COOH 的 O 1s 高分辨率谱图 (c、d)、吸附后 Cell-COOH 的 N 1s 高分辨率谱图 (e) 及吸附机理示意图 (f)

Fig. 11 Molecular formula of AMP and zeta potentials of Cell-COOH at various acidities (a), high-resolution XPS spectra of C 1s (b) and O 1s (c, d) and N 1s (e) after AMP adsorption, as well as adsorption mechanism (f)

由图 11a 可以看出，Cell-COOH 的等电点约为 2.1，且不同 pH 下苯丙胺存在两种不同的形式 [低 pH 时的离子态 AMP (+) 和高 pH 下的 AMP 分子态]。结合不同 pH 下吸附容量的变化 (图 5a)，可推断出 Cell-COOH 与苯丙胺之间存在静电引力作用<sup>[37]</sup>。

采用 XPS 对吸附苯丙胺后的 Cell-COOH (吸附条件为苯丙胺质量浓度 0.1 mg/L, pH=8.0、萃取剂用量 0.5 g/L、吸附时间 30 min) 进行表征，结果见图 11b~d。结果显示，与吸附前 (图 8b) 相比，吸附后 (图 11b) Cell-COOH 上 C—C/C—H 键占比从 22.60% 升至 28.52%，主要是由于 Cell-COOH 表面吸附的苯丙胺中含有 C—C/C—H 键，导致其占比升高；而 O—C=O 键占比从 5.02% 降至 2.32%，推测 Cell-COOH 上的 O—C=O 键可能参与了氢键的形成，导致占比下降。比较吸附前后 Cell-COOH 的 O 1s 图 (图 11c 和 d)，可以看出，吸附苯丙胺后 O 1s 谱图在结合能 531.7 eV 处新出现 O...H 的特征峰，表明在吸附过程中，Cell-COOH 上的羧基—C=O 与苯丙胺氨基上的氢原子形成了一 C=O...H—NH—氢键<sup>[38-39]</sup>。此外，吸附苯丙胺后 Cell-COOH 表面出现了 N 元素，其 N 1s 谱图 (图 11e) 上的 3 个特征峰分别归属于 C—N (401.6 eV)、N...H—O (400.7 eV) 和 N—H/NH<sub>2</sub> (399.8 eV)，其中 C—N 键和 N—H/NH<sub>2</sub> 归属于材料表面上吸附的苯丙胺，而 N...H—O 则为 Cell-COOH 羧基上的氢原子与苯丙胺上的氮原子形成的一 COOH...NH<sub>2</sub>—氢键<sup>[40]</sup>。以上结果表明，在 Cell-COOH 与苯丙胺作用过程中会形成两种氢键，一是 Cell-COOH 羧基上的氢原子与苯丙胺上的氮原子形成的一 COOH...NH<sub>2</sub>—氢键，二是苯

丙胺氨基上的氢原子与 Cell-COOH 羧基中的 C=O 形成—C=O⋯H—NH—氢键。

基于以上研究, Cell-COOH 对苯丙胺的吸附作用主要归因于 Cell-COOH 与苯丙胺之间的静电引力和氢键协同作用(图 11f)。当  $2.1 \leq \text{pH} \leq 9.9$  时, Cell-COOH (-) 与 AMP (+) 之间存在的静电引力大大降低了空间位阻, 使得材料与苯丙胺更易形成氢键, 而氢键的作用会减弱羧基负电荷的稳定性, 促进羧酸中氢的解离<sup>[41]</sup>, 两种作用力相互促进提高了 Cell-COOH 对苯丙胺的吸附能力。

### 3 结论

以纤维素为原料, 对其进行改性制备纤维素基萃取材料 (Cell-COOH), 将其作为固相萃取材料用于苯丙胺的富集浓缩, 并建立固相萃取-高效液相色谱法用于尿液中苯丙胺毒品的分析检测。改性后纤维素表面变得粗糙并在其表面出现羧基官能团; Cell-COOH 在苯丙胺的分离富集中表现出良好的富集能力、特异性、抗干扰能力与重复使用性, 在最佳条件下, 即 pH 为 8, 萃取剂用量为 0.5 g/L, 萃取时间为 30 min, 洗脱剂为 0.8% (体积分数) 的 HCl 水溶液, 洗脱剂用量为 0.08 L/g, 洗脱时间为 20 min, Cell-COOH 对苯丙胺的萃取回收率可达 98.3%, 使用第 7 次时, 萃取回收率仍能保持在 92% 以上。Cell-COOH 材料主要通过静电引力和氢键与苯丙胺相互作用, 达到富集回收的目的。在实际尿液样品分析中, 该法表现出较高的灵敏度 (LOQ=8.0 μg/L; LOD=2.5 μg/L) 及较好的重现性 (RSD≤4.71%), 具有快速、灵敏、重现性高等优点, 在检测尿液样品中苯丙胺类毒品的预处理方面具有良好的应用潜力。

#### 参考文献:

[1] O'MALLEY K Y, HART C L, CASEY S, *et al.* Methamphetamine, amphetamine, and aggression in humans: A systematic review of drug administration studies[J]. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2022, 141: 104805.

[2] ZHANG C M (张存敏), LUO J (罗健), DUAN L (段灵), *et al.* Qualitative research on drug use and service requirements among adolescent amphetamine type stimulants users in a city in southwest China[J]. *Chinese Journal of Drug Dependence (中国药物依赖性杂志)*, 2018, 27(6): 450-454.

[3] WANG Q (王卿), JIANG H (姜红), ZHENG H (郑琿). Research progress on detection techniques of common drugs in different matrices[J]. *Chemical Research and Application (化学研究与应用)*, 2021, 33(3): 393-399.

[4] SHAN X, ZHANG L, YANG B. Review of LC techniques for determination of methadone and its metabolite in the biological samples[J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 2021, 51(10): 953-960.

[5] BRETTELL T A, LUM B J. Analysis of drugs of abuse by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2018, 1810: 29-42.

[6] ASIMAKOPOULOS A G, KANNAN P, HIGGINS S, *et al.* Determination of 89 drugs and other micropollutants in unfiltered wastewater and freshwater by LC-MS/MS: An alternative sample

preparation approach[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(26): 6205-6225.

[7] ZHANG J Y (张金颐), CUI Y (崔阳), HE L (何柳), *et al.* Modification of P(NVP-DVB) and its application in the detection of BPA in aqueous solution[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(1): 75-86.

[8] GUIMARAES L B, TEIXEIRA L, AMORIM F, *et al.* Solid phase extraction combined with energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry for multielement determination[J/OL]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2022. DOI:10.1080/05704928.2022.2066687.

[9] ZHANG C, XING H, YANG L, *et al.* Development trend and prospect of solid phase extraction technology[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2022, 42: 245-255.

[10] ASTUTI M P, JASEMIZAD T, PADHYE L P. Surface modification of coconut shell activated carbon for efficient solid-phase extraction of *N*-nitrosodimethylamine from water[J]. *Journal of Separation Science*, 2021, 44(2): 618-627.

[11] AL-SAIDI H M, ABDEL-FADEEL M A, EL-SONBATI A Z, *et al.* Multi-walled carbon nanotubes as an adsorbent material for the solid phase extraction of bismuth from aqueous media: Kinetic and thermodynamic studies and analytical applications[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2016, 216: 693-698.

[12] OYE A R, ARRACHART G, TAVERNIER R, *et al.* Terephthalaldehyde-phenolic resins as a solid-phase extraction system for the recovery of rare-earth elements[J]. *Polymers (Basel)*, 2022, 14(2): 311.

[13] CHEN J L, TAN L J, CUI Z G, *et al.* Graphene oxide molecularly imprinted polymers as novel adsorbents for solid-phase microextraction for selective determination of norfloxacin in the marine environment[J]. *Polymers (Basel)*, 2022, 14(9): 1839.

[14] WANG F (王芳), LIU M (刘敏), LI X Y (李小燕), *et al.* Preparation and properties of clobetasol propionate molecular capture based on graphene oxide[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(8): 1525-1531.

[15] KODALI J, PAVULURI S, ARUNRAJ B, *et al.* Tapping the potential of a glucosamine polysaccharide-diatomaceous earth hybrid adsorbent in the solid phase extraction of a persistent organic pollutant and toxic pesticide 4,4'-DDT from water[J]. *RSC Advances*, 2022, 12(9): 5489-5500.

[16] ZHANG Z Q (张志强), XU S Y (徐淑艳), WANG Q L (王全亮). Progress in preparation and application of functional cellulose microspheres[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(10): 1953-1963.

[17] AHMAD H, ALHARBI W, BINSHARFAN I I, *et al.* Aminophosphonic acid functionalized cellulose nanofibers for efficient extraction of trace metal ions[J]. *Polymers*, 2020, 12(10): 2370.

[18] ABUJABER F, JIMENEZ-MORENO M, GUZMAN B F J, *et al.* Simultaneous extraction and preconcentration of monomethylmercury and inorganic mercury using magnetic cellulose nanoparticles[J]. *Mikrochimica Acta*, 2019, 186(7): 400.

[19] MHD H M A C, CHING Y C, ILLIAS H A, *et al.* Cellulose supported promising magnetic sorbents for magnetic solid-phase extraction: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 253: 117245.

[20] HE J J (贺娇娇), YANG X L (杨兴林), LIU M (刘萌), *et al.* Preparation of cellulose membrane with high adsorption capacity and its adsorption performance for Pb<sup>2+</sup>[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(2): 370-377.

[21] SHU H, GE Y H, XU X Y, *et al.* Hybrid-type carbon microcoil-chitosan composite for selective extraction of aristolochic acid I from *Aristolochiaceae* medicinal plants[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1561: 13-19.

[22] TAGHVIMI A, HAMISHEHKAR H, EBRAHIMI M. Development and validation of a magnetic solid-phase extraction with high-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of amphetamine and methadone in urine[J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(12): 2307-2312.

[23] TAGHVIMI A, TABRIZI A B, DASTMALCHI S, *et al.* Metal organic framework based carbon porous as an efficient dispersive solid phase extraction adsorbent for analysis of methamphetamine from urine matrix[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2019, 1109: 149-154.