



中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T 1330—2016

法庭科学吸毒人员尿液中四氢大麻酚和 四氢大麻酸气相色谱-质谱检验方法

GC-MS examination methods for tetrahydrocannabinol and tetrahydrocannabinolic acid in urine of drug users in forensic science

2016-09-14 发布

2016-09-14 实施

中华人民共和国公安部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由全国刑事技术标准化技术委员会毒物分析分技术委员会(SAC/TC 179/SC 1)提出并归口。

本标准起草单位:公安部物证鉴定中心,上海市公安局物证鉴定中心。

本标准主要起草人:朱军、赵敬真、于忠山、崔巍、刘耀、张玉荣、梁晨。

法庭科学吸毒人员尿液中四氢大麻酚和 四氢大麻酸气相色谱-质谱检验方法

1 范围

本标准规定了法庭科学尿液中四氢大麻酚和四氢大麻酸的气相色谱-质谱(GC-MS)检验方法。

本标准适用于法庭科学涉嫌吸毒人员大麻初筛检测呈阳性的尿液中四氢大麻酚和四氢大麻酸的定性定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

GA/T 122 毒物分析名词术语

3 术语和定义

GA/T 122 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

以空白样品和添加样品作对照,按平行操作的要求,对尿液进行提取、净化、浓缩及衍生化后,采用气相色谱-质谱法检测,以保留时间(t_R)、质谱特征离子碎片峰和相对丰度作为定性判断依据;与平行操作的添加标准物质响应值比较,根据峰面积之比,用外标法或内标法进行定量分析。

5 试剂和材料

5.1 试剂

除另有说明外,本标准所用试剂均为分析纯,试验用水为三级水(见 GB/T 6682—2008 规定):

- a) 正庚烷;
- b) 甲醇;
- c) 乙醇;
- d) 丙酮;
- e) 氢氧化钾;
- f) 氢氧化钠;
- g) 浓盐酸;
- h) 乙酸。

5.2 衍生化试剂

所用衍生化试剂包括：

- a) N-甲基三甲基硅烷基三氟乙酰胺(MSTFA)硅烷化试剂；
- b) N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)硅烷化试剂；
- c) 其他合适的衍生化试剂。

5.3 溶液

溶液包括：

- a) 2.0 mol/L KOH 溶液：称取氢氧化钾 56.1 g，加入一定量的水溶解并定容至 500 mL，混匀；
- b) 2.0 mol/L NaOH 溶液：称取氢氧化钠 40.0 g，加入一定量的水溶解并定容至 500 mL，混匀；
- c) 0.5 mol/L NaOH 溶液：称取氢氧化钠 10.0 g，加入一定量的水溶解并定容至 500 mL，混匀；
- d) 2.0 mol/L HCl 溶液：移取浓盐酸 8.3 mL，加水稀释并定容至 50 mL，混匀；
- e) 0.5 mol/L HCl 溶液：移取浓盐酸 2.1 mL，加水稀释并定容至 50 mL，混匀；
- f) 0.02 mg/mL 标准物质溶液：分别配制 0.02 mg/mL 的 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THC-COOH 和 Δ^9 -THC-COOH- D_3 (内标) (或其他合适内标物) 标准物质溶液于硅烷化的棕色容量瓶中。密封，置于冰箱中冷冻保存。保存时间 6 个月。

5.4 材料

材料包括：

- a) 健康人的空白尿液；
- b) 具盖离心管；
- c) 具塞玻璃试管；
- d) 微量注射器。

6 仪器和设备

仪器和设备包括：

- a) 气相色谱-质谱联用仪；
- b) 涡旋振荡器；
- c) 离心机；
- d) 超声波清洗器；
- e) 电子天平：分度值为 0.1 mg；
- f) 移液器；
- g) 浓缩器；
- h) 电子恒温水浴锅。

7 操作方法

7.1 定性分析

7.1.1 样品萃取

移取尿样检材 2.0 mL 于具盖离心管中，加入内标 Δ^9 -THC-COOH- D_3 标准物质 100 ng，加入

2.0 mol/L KOH 溶液 1.0 mL,混匀,于沸水浴中碱水解 20 min,取出冷却至室温,加入 2.0 mol/L HCl 溶液 0.5 mL,乙酸 0.2 mL,混匀,调节至 pH=3.5,加入正庚烷 3.0 mL,振荡 10 min,8 000 r/min 离心 5 min,提取有机相;重复提取一次,合并两次提取的有机相,在浓缩器上 55 ℃下浓缩至干。当尿液中毒品含量较低时,可适当加大检材用量。

7.1.2 衍生化

7.1.2.1 MSTFA 硅烷化

于浓缩至干的样品中,加入 MSTFA 硅烷化试剂 80 μ L,密封,振荡 1 min,70 ℃下加热 30 min~40 min,取出振荡 1 min,取上清液,供仪器分析。

7.1.2.2 BSTFA 硅烷化

具体操作同 7.1.2.1。

7.1.3 控制样品

移取空白尿液 2.0 mL 2 份,一份作为空白样品;一份添加内标 Δ^9 -THC-COOH-D₃ 标准物质 100 ng 和 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THC-COOH 标准物质各 40 ng 作为检测限添加样品,混匀,按 7.1.1 和 7.1.2 平行操作。

7.1.4 仪器检测

以下为参考条件,可根据不同品牌仪器和不同样品等实际情况进行调整:

a) 色谱柱:HP-5MS 毛细色谱柱(或其他 5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷等效柱),30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m;

注:HP-5MS 毛细色谱柱是 Agilent 公司产品的商品名称,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不是表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

b) 柱温:80 ℃保持 2 min,以 30 ℃/min 速率升温至 280 ℃,保持 16 min;

c) 溶剂延迟时间:3 min;

d) 进样口温度:280 ℃;

e) 传输线:250 ℃;

f) 离子源温度:230 ℃;

g) 载气:氦气,纯度大于 99.999%;

h) 柱流量:1 mL/min;

i) 分流比:20:1;

j) EI 源电子能量:70 eV;

k) 质谱扫描范围:40 amu~450 amu;

l) 检测目标物质谱特征峰:参见附录 A。

7.1.5 检测

7.1.5.1 进样

分别吸取各检材提取(浓缩)衍生液、空白和添加样品提取(浓缩)衍生液、标准物质衍生液各 1.0 μ L,按 7.1.4 分析条件进样分析。

7.1.5.2 记录和计算

记录各样品及标准物质平行进样 2 次~3 次中目标物的 t_R 及峰面积值,按式(1)计算回收率:

$$R = \frac{A_{\text{添}} \times W_{\text{纯}} \times V_{\text{添}}}{A_{\text{纯}} \times M_{\text{添}}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

R ——回收率;

$A_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质或内标物峰面积平均值;

$W_{\text{纯}}$ ——标准物质或内标物浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

$V_{\text{添}}$ ——添加样品的定容体积,单位为毫升(mL);

$A_{\text{纯}}$ ——标准物质或内标物纯品的峰面积平均值;

$M_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质或内标物添加量,单位为微克(μg)。

7.2 定量分析

7.2.1 样品萃取

移取尿样检材 2.0 mL 2 份;另取空白尿液 2.0 mL 2 份,添加内标 $\Delta^9\text{-THC-COOH-D}_3$ 标准物质 100 ng 和 $\Delta^9\text{-THC}$ 、 $\Delta^9\text{-THC-COOH}$ 标准物质各 200 ng(每毫升尿液添加 100 ng),混匀,作为定量添加样品。按 7.1.1 和 7.1.2 平行操作。

7.2.2 仪器检测

按 7.1.4 进行检测。

7.2.3 进样

分别吸取各检材提取(浓缩)衍生液、定量添加样品提取(浓缩)衍生液、标准物质衍生液各一定量,按 7.1.4 分析条件每个样品进样分析 2 次~3 次。若要报告测量不确定度,每个样品分析次数应多于 6 次。

7.2.4 记录与计算

7.2.4.1 外标法计算公式

待测样品、添加样品均取 2 份~3 份。

记录各样品平行进样 2 次~3 次中目标物质的峰面积值,按式(2)计算含量:

$$W = \frac{A_{\text{样}} \times M_{\text{添}} \times V_{\text{样}}}{A_{\text{添}} \times M_{\text{样}} \times V_{\text{添}}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

W ——单位质量样品中目标物质含量,单位为微克每克或微克每毫升($\mu\text{g/g}$ 或 $\mu\text{g/mL}$);

$A_{\text{样}}$ ——样品中目标物质平均峰面积;

$A_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质平均峰面积;

$M_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质添加量,单位为微克(μg);

$M_{\text{样}}$ ——样品量,单位为克(g)或毫升(mL);

$V_{\text{添}}$ ——添加样品的定容体积,单位为毫升(mL);

$V_{\text{样}}$ ——样品的定容体积,单位为毫升(mL)。

7.2.4.2 内标法计算公式

记录各样品目标物及内标物峰面积平均值,按式(3)和式(4)计算校正因子和含量:

$$f = \frac{M_{\text{标}} \times A_{\text{内}}}{M_{\text{内}} \times A_{\text{标}}} \dots\dots\dots (3)$$

式中:
 f ——校正因子;
 $M_{\text{标}}$ ——目标物添加量,单位为微克(μg);
 $A_{\text{内}}$ ——内标物添加峰面积;
 $M_{\text{内}}$ ——内标物添加量,单位为微克(μg);
 $A_{\text{标}}$ ——目标物添加峰面积。

$$W = \frac{f \times A_{\text{样}} \times M_{\text{添}} \times V_{\text{添}}}{A_{\text{添}} \times M_{\text{样}} \times V_{\text{样}}} \dots\dots\dots (4)$$

式中:
 W ——单位质量样品中目标物质含量,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)或微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 f ——校正因子;
 $A_{\text{样}}$ ——样品中目标物质平均峰面积;
 $A_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质平均峰面积;
 $M_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物质添加量,单位为微克(μg);
 $M_{\text{样}}$ ——样品量,单位为克(g)或毫升(mL);
 $V_{\text{添}}$ ——添加样品的定容体积,单位为毫升(mL);
 $V_{\text{样}}$ ——样品的定容体积,单位为毫升(mL)。

7.2.4.3 相对相差计算公式

记录 2 份平行操作的样品含量,按式(5)计算相对相差:

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\overline{X}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中:
 RD ——相对相差(%);
 $X_1、X_2$ ——两个样品平行定量测定的含量数值;
 $\overline{X}$ ——两个样品平行定量测定含量的平均值。

8 分析结果评价

8.1 定性结果评价

8.1.1 阴性结果评价

如果案件样品中未出现与 $\Delta^9\text{-THC}$ 或 $\Delta^9\text{-THC-COOH}$ 衍生物标准物质 t_R 相同的色谱峰,且 $\Delta^9\text{-THC}$ 、 $\Delta^9\text{-THC-COOH}$ 添加样品的回收率大于或等于 60% 以上,则阴性结果可靠。
如果 $\Delta^9\text{-THC}$ 、 $\Delta^9\text{-THC-COOH}$ 添加样品中未出现与 $\Delta^9\text{-THC}$ 、 $\Delta^9\text{-THC-COOH}$ 衍生物标准物质 t_R 相同的色谱峰或回收率小于 60%,则阴性结果不可靠。应按 7.1 重新提取检验。

8.1.2 阳性结果评价

如果案件样品中出现与 Δ^9 -THC 或 Δ^9 -THC-COOH 衍生物标准物质 t_R 相同的色谱峰,且质谱特征离子碎片及相对丰度一致,空白样品无干扰,则阳性结果可靠。

如果空白样品中出现与 Δ^9 -THC 或 Δ^9 -THC-COOH 衍生物标准物质 t_R 值相同的色谱峰,且质谱特征离子碎片及相对丰度一致,则阳性结果不可靠。应按 7.1 重新提取检验。

8.2 定量结果评价

如果案件样品中目标物含量的 RD 小于或等于 20%,定量数据可靠,其含量按 2 份案件样品的平均值计算。如果样品中目标物含量的 RD 大于 20%,定量数据不可靠。应按 7.2 重新提取检验。

附 录 A
(资料性附录)

尿液中四氢大麻酚和四氢大麻酸的气相色谱-质谱检验参考数据

A.1 吸毒人员体内大麻的代谢

大麻为精神兴奋剂,其主要精神活性成分有 Δ^9 -四氢大麻酚(Tetrahydrocannabinol, Δ^9 -THC)、大麻酚(Cannabinol, CBN)和大麻二酚(Cannabidiol, CBD)。尿样是甄别吸食大麻的最佳检材之一。大麻的主要毒品成分 Δ^9 -THC 进入体内后,主要代谢为 Δ^9 -四氢大麻酸(Δ^9 -THC-COOH),尿中 Δ^9 -THC 的原体很少,所以对吸食大麻毒品的嫌疑人员,主要检测其尿样中是否含有 Δ^9 -THC-COOH 成分。

A.2 吸毒人员尿液中大麻初筛检测产品标称的阈值

Δ^9 -THC-COOH:50 ng/mL(尿)。

A.3 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THC-COOH 及内标物硅烷化衍生物的 GC-MS 分析数据

三种组分硅烷化衍生物 GC-MS 的保留时间及定性质谱特征碎片离子如表 A.1 所示。

表 A.1 三种药物硅烷化衍生物 GC-MS 的保留时间及质谱特征峰

药物名称	保留时间 min	特征碎片离子 <i>m/z</i>
Δ^9 -THC 衍生物	8.808	386(基峰)、371、315
Δ^9 -THC-COOH 衍生物	11.217	371(基峰)、398、297
Δ^9 -THC-COOH-D ₃ 衍生物	11.192	374(基峰)、476、358

A.4 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THC-COOH 及内标物硅烷化衍生物的 GC-MS 分析图谱

如图 A.1 所示。

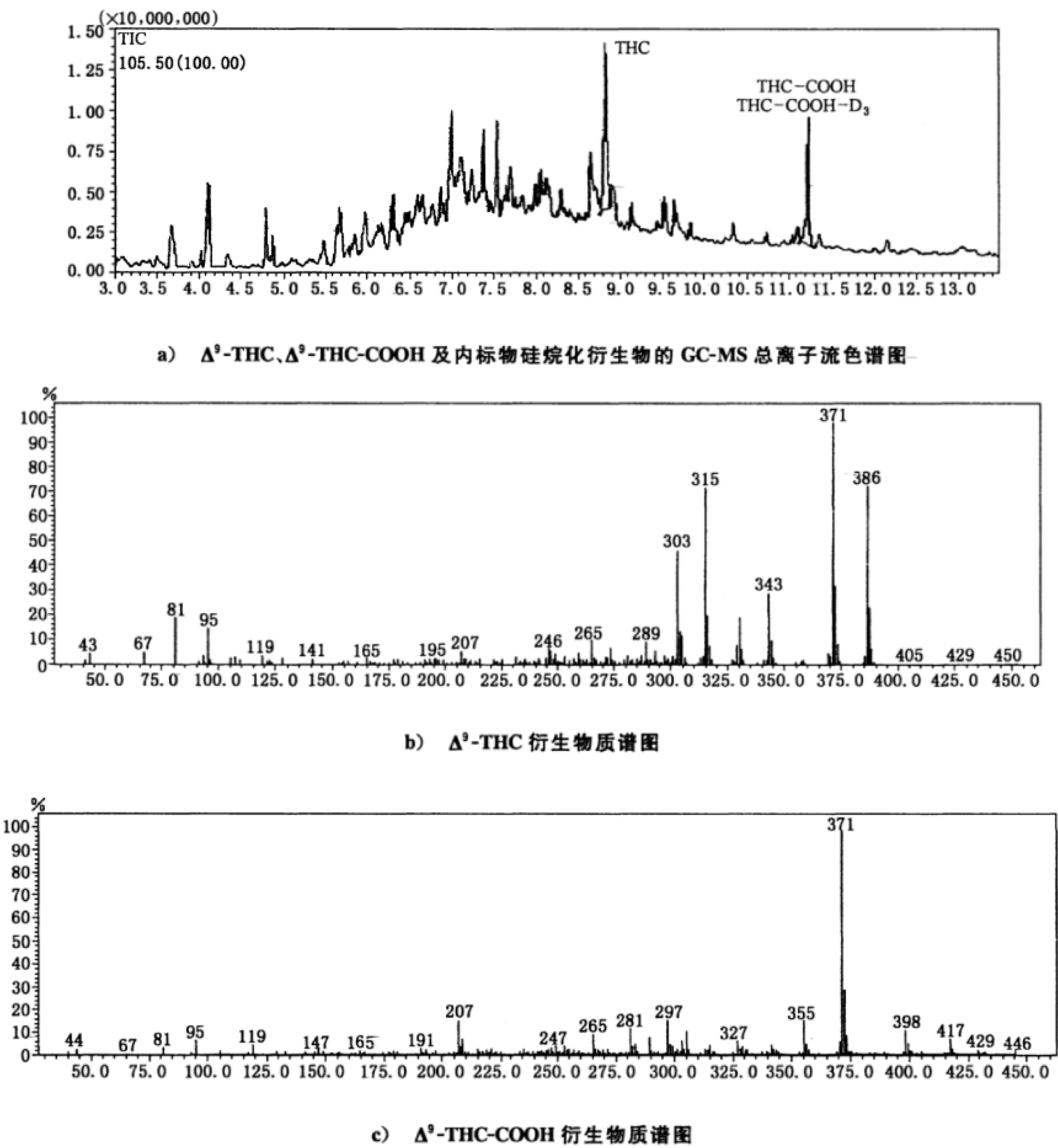
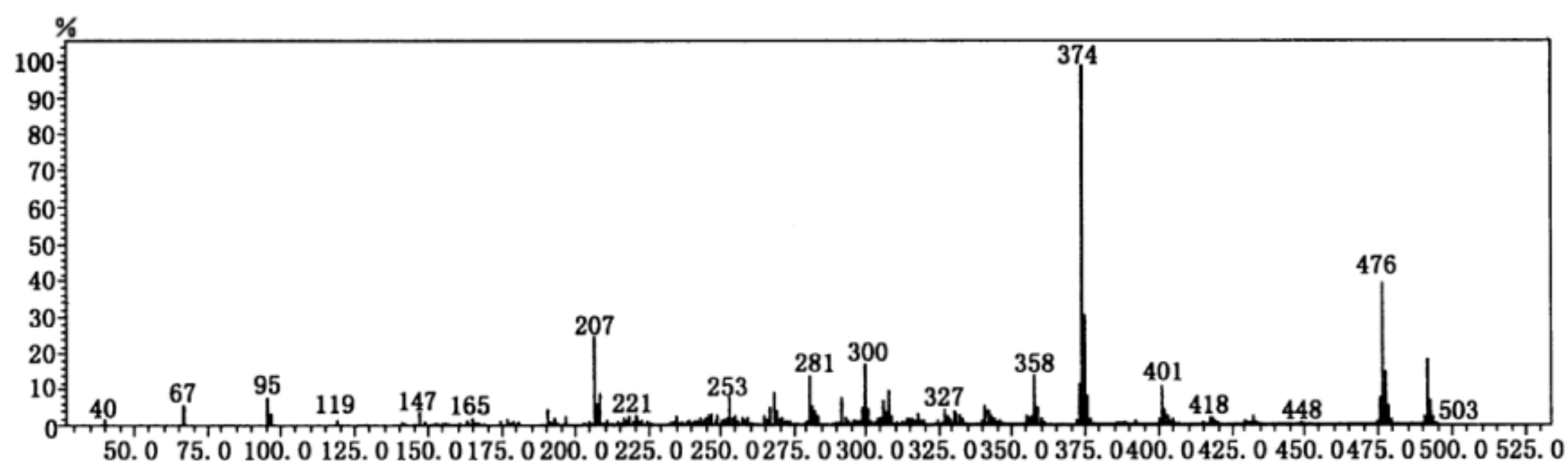


图 A.1 大麻组分及内标物硅烷化衍生物的质谱图



d) 内标 Δ^9 -THC-COOH- D_3 衍生物质谱图

图 A.1 (续)

采用上述提取和 GC-MS 分析方法, Δ^9 -THC 和 Δ^9 -THC-COOH 最低添加检出限为 10 ng/mL (尿), 在 50 ng/mL~1 000 ng/mL(尿) 范围内添加标准物质定量分析, 线性关系良好, 回收率均大于 90%。采用不同提取、衍生化方法和分析仪器, 其具体的最小检出限和定量线性范围存在一定差异, 以上数据仅供参考。

中华人民共和国公共安全
行 业 标 准
法庭科学吸毒人员尿液中四氢大麻酚和
四氢大麻酸气相色谱-质谱检验方法
GA/T 1330—2016

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

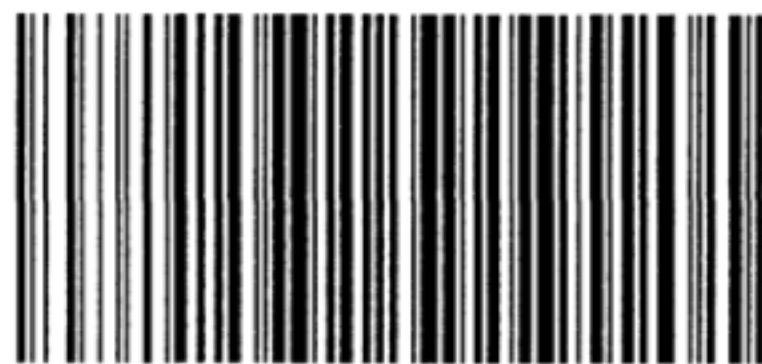
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 20 千字
2017年5月第一版 2017年5月第一次印刷

*

书号: 155066 • 2-31275 定价 18.00 元



GA/T 1330-2016