



中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T 1639—2019

法庭科学 唾液中苯丙胺等四种 苯丙胺类毒品和氯胺酮检验 液相色谱-质谱法

Forensic sciences—Examination methods for ketamine and four
amphetamines including amphetamine in saliva samples—LC-MS

2019-10-14 发布

2019-12-01 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。

本标准负责起草单位:公安部物证鉴定中心、上海市公安局交通警察总队。

本标准参加起草单位:山东省分析测试中心、司法鉴定科学研究院、山西医科大学、国家道路交通安全产品质量监督检验中心、深圳威尔电器有限公司、广州万孚生物技术股份有限公司、浙江省台州市公安局交通警察局。

本标准主要起草人:张云峰、侯心一、陈跃、卓先义、施妍、崔冠峰、任昕昕、负克明、尉志文、王芳琳、于忠山、向平、陆宇、李毅、陈勇、刘晓云。

法庭科学 唾液中苯丙胺等四种 苯丙胺类毒品和氯胺酮检验 液相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了法庭科学唾液中甲基苯丙胺(MA)、苯丙胺(AM)、3,4-亚甲二氧基甲基苯丙胺(MDMA)、3,4-亚甲二氧基苯丙胺(MDA)和氯胺酮的液相色谱-质谱(LC-MS)定性定量检验方法。

本标准适用于法庭科学唾液中 MA、AM、MDMA、MDA 和氯胺酮的定性分析和定量分析。其他可疑样品中 MA、AM、MDMA、MDA 和氯胺酮的定性分析和定量分析可参照使用。

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 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,对唾液样品进行提取、净化及浓缩,采用液相色谱-质谱法定性定量分析,以保留时间、质谱特征离子和离子丰度比作为定性判断依据;以峰面积为依据,采用外标法或内标法进行定量分析。

5 试剂和材料

5.1 试剂

实验用水应符合 GB/T 6682 中规定的一级水。除非另有说明,在分析中使用的试剂均为分析纯,试剂包括:

- a) 乙腈(色谱纯);
- b) 甲醇(色谱纯);
- c) 甲酸(色谱纯);
- d) 乙醚(色谱纯);
- e) 乙酸胺(色谱纯);

- f) 0.1%甲酸水溶液;
- g) 1%氢氧化钠溶液;
- h) 硼砂缓冲液(pH 为 9.2);
- i) 20 mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸缓冲液:称取 1.54 g 乙酸铵置于 1 000 mL 容量瓶中,加入 1.0 mL 甲酸溶液,加水定容溶解并稀释至 1 000 mL;
- j) 标准溶液:
 - 1) 1.0 mg/mL 标准物质溶液:根据标准物质纯度和盐型换算后,各称取适量,分别用甲醇配制 1.0 mg/mL MA、AM、MDMA、MDA 和氯胺酮标准物质溶液,置于冰箱中冷藏保存,有效期 12 个月,或采用市售标准溶液。
 - 2) 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作溶液:移取 1.0 mg/mL 的 MA、AM、MDMA、MDA 和氯胺酮标准物质溶液各 0.1 mL,用甲醇定容至 10 mL,混匀,密封,置于冰箱中冷藏保存,有效期 3 个月,实验中所用其他浓度的混合标准工作溶液均由 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准物质溶液用甲醇稀释得到。
 - 3) 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 单一标准工作溶液:分别移取 1.0 mg/mL 的甲基苯丙胺、苯丙胺、MDMA、MDA 和氯胺酮标准物质溶液各 0.1 mL,分别用甲醇定容至 10 mL,混匀,密封,置于冰箱中冷藏保存,有效期 3 个月,实验中所用其他浓度的单一标准工作溶液均由 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准物质溶液用甲醇稀释得到。
 - 4) 1.0 mg/mL 内标溶液:根据内标物甲基苯丙胺- D_5 (或甲氧那明)的纯度和盐型换算后,用甲醇配制 1.0 mg/mL 内标溶液,混匀,密封,置于冰箱中冷藏保存,有效期 12 个月,或采用市售内标溶液。
 - 5) 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 内标工作溶液:移取 1.0 mg/mL 的内标溶液 0.1 mL,用甲醇定容至 10 mL,混匀,密封,置于冰箱中冷藏保存,有效期 3 个月,实验中所用其他浓度的内标工作溶液均由 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液用甲醇稀释得到。

注:特殊情况下可使用对照溶液代替标准溶液。

5.2 材料

材料包括:

- a) 唾液采集管;
- b) 具盖离心管;
- c) 有机系微孔滤膜:0.22 μm 。

6 仪器与设备

仪器和设备包括:

- a) 液相色谱-质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)和三重四极杆质量分析器;
- b) 振荡器;
- c) 电子天平;
- d) 离心机;
- e) 恒温水浴锅;
- f) 移液器。

7 操作方法

7.1 定性分析

7.1.1 样品提取

7.1.1.1 蛋白沉淀

移取唾液检材样品, 8 000 r/min 离心 30 min, 取上清液 100 μ L 于具盖离心管中(若采用内标法, 则加入 1 μ g/mL 甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明内标工作溶液 10 μ L, 使内标浓度为 0.1 μ g/mL, 混匀), 加入乙腈 400 μ L, 振荡 15 min, 3 000 r/min 离心 15 min, 用 0.22 μ m 的有机系微孔滤膜过滤, 作为检材样品提取液供仪器分析。

7.1.1.2 液液萃取

移取唾液检材样品, 8 000 r/min 离心 30 min, 取上清液 200 μ L 于具盖离心管中(若采用内标法, 则加入 1 μ g/mL 甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明内标工作溶液 10 μ L, 使内标浓度为 0.1 μ g/mL, 混匀), 加入 50 μ L 0.1% 氢氧化钠溶液及 1 mL 硼砂缓冲液, 混匀后再加入 3 mL 乙醚, 涡旋 1 min, 2 500 r/min 离心 3 min, 移取有机相置于 60 $^{\circ}$ C 水浴下挥干。残留物用乙腈/含 20 mmol/L 乙酸胺和 0.1% 甲酸的缓冲液(体积比 70 : 30)混合溶液 200 μ L 复溶, 作为检材样品提取液供仪器分析。

7.1.1.3 质控样品制备

取等量离心后的空白唾液样品两份于具盖离心管中, 一份作为空白样品, 另一份添加苯丙胺类和氯胺酮标准物质, 作为添加样品(添加样品的浓度为 2 ng/mL), 与检材样品平行操作, 得到空白样品提取液和添加样品提取液供 LC-MS 分析。

若采用内标法, 不做添加样品, 空白样品(不加内标)与检材平行操作, 得到空白样品提取液, 供 LC-MS 分析。

7.1.2 仪器检测

7.1.2.1 液相色谱-质谱条件

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) 色谱参考条件一:

- 1) 色谱柱: ACQUITY UPLC HSST₃ C₁₈ 柱, (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μ m) 或其他等效色谱柱;

注: ACQUITY UPLC HSS T₃C₁₈ 柱是 Waters 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。

- 2) 流动相: A: 乙腈, B: 0.1% 甲酸水溶液;
- 3) 柱温: 35 $^{\circ}$ C;
- 4) 流速: 0.5 mL/min;
- 5) 洗脱方式: 梯度洗脱, 梯度洗脱条件见表 1;

表1 梯度洗脱条件

时间/min	A	B
—	10%	90%
0.3	10%	90%
1.5	30%	70%
2.0	50%	50%
2.5	90%	10%
3.0	90%	10%
3.1	10%	90%
4.0	10%	90%

- 6) 离子源:电喷雾电离源(ESI);
- 7) 检测方式:正离子;
- 8) 扫描方式:多反应离子监测(MRM);
- 9) 毛细管电压:3.00 kV;
- 10) 离子源温度:150 ℃;
- 11) 脱溶剂气温度:350 ℃;
- 12) 脱溶剂气流量:700 L/h;
- 13) 锥孔气流量:50 L/h;
- 14) MS 参考条件(定性、定量离子和锥孔电压、碰撞能量等)见表2。

表2 MS 参考条件

目标检测物名称	定量离子对/m/z	定性离子对/m/z	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
甲基苯丙胺	150.2>91.9	150.2>91.9	22	16
		150.2>119.2		10
苯丙胺	135.9>90.9	135.9>90.9	15	15
		135.9>118.9		10
MDA	180.1>105.0	180.1>105.0	14	22
		180.1>135.4		18
MDMA	194.1>163.1	194.1>105.0	24	22
		194.1>163.1		12
氯胺酮	238.1>125.1	238.1>125.1	24	28
		238.1>207.1		14

b) 色谱参考条件二:

- 1) 色谱柱:五氟苯基色谱柱(2.1 mm×100 mm,5 μm)或等效色谱柱;
- 2) 流动相:A:乙腈,B:含 20 mmol/L 乙酸胺和 0.1%甲酸的水溶液;
- 3) 柱温:室温;
- 4) 流速:0.2 mL/min;

5) 洗脱方式:梯度洗脱,梯度洗脱条件见表 3;

表 3 梯度洗脱条件

时间/min	A	B
—	10%	90%
1.00	10%	90%
1.50	50%	50%
4.00	50%	50%
5.00	90%	10%
6.00	10%	90%
9.00	10%	90%

6) 离子源:电喷雾电离源(ESI);

7) 检测方式:正离子;

8) 扫描方式:多反应离子监测(MRM);

9) 离子源温度:550 ℃;

10) 碰撞气(CAD)、气帘气(CUR)、雾化气(GS1)、辅助气(GS2):高纯氮气;

11) MS 参考条件(定性、定量离子和去簇电压、碰撞能量条件)见表 4。

表 4 MS 参考条件

目标检测物名称	定量离子对/m/z	定性离子对/m/z	去簇电压/V	碰撞能量/eV
甲基苯丙胺	150.1>119.1	150.1>119.1	30	16
		150.1>91.1	30	26
苯丙胺	136.1>119.1	136.1>119.1	20	33
		136.1>91.2	20	26
MDMA	194.2>163.4	194.2>163.4	35	18
		194.2>135.3	35	29
MDA	180.1>163.1	180.1>163.1	40	15
		180.1>135.1	40	28
氯胺酮	238.1>125.1	238.1>125.1	40	40
		238.1>220.1	40	25
甲基苯丙胺-D ₅	155.2>91.0	155.2>91.0	40	23
甲氧那明	180.2>148.8	180.2>148.8	40	16

7.1.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品提取液及标准工作溶液,按 7.1.2.1 的分析条件进样分析。

若采用内标法,则吸取检材、空白和内标工作溶液及标准工作溶液,按 7.1.2.1 的分析条件进样分析。

7.2 定量分析

7.2.1 样品提取

移取离心后唾液检材样品 100 μL 两份(若采用内标法,则加入甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明内标工作溶液,使其浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,混匀),按 7.1.1 进行操作。

取与检材样品等量离心后的空白唾液样品,与检材样品平行操作,得到空白样品提取液供仪器检测。

用单点校正法定量时,取与检材样品等量离心后的空白唾液样品两份,添加苯丙胺类和氯胺酮标准物质作为添加样品[添加样品中目标物含量应为检材样品中目标物含量的 $(100 \pm 50)\%$,若采用内标法,则添加样品中还需加入甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明内标工作溶液,使其浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,混匀],与检材样品平行操作,得到添加样品提取液供仪器检测。

用标准曲线法定量时,取与检材样品等量离心后的空白唾液样品六份,添加苯丙胺类和氯胺酮标准物质,使其浓度分别为 10 ng/mL 、25 ng/mL 、50 ng/mL 、75 ng/mL 、100 ng/mL 、200 ng/mL ,作为添加样品(若采用内标法,则添加样品中还需加入甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明内标工作溶液,使其浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,混匀),与检材样品平行操作,得到添加样品提取液供仪器检测。检材样品中目标物的含量应在标准曲线的线性范围内。

7.2.2 仪器检测

7.2.2.1 仪器条件

按 7.1.2.1 规定的条件分析。

7.2.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品提取液及标准工作溶液(若采用内标法,还有内标工作溶液),按 7.1.2.1 的分析条件每个样品进样分析 2~3 次。若要报告测量不确定度,每个样品分析次数应不少于 6 次。

7.2.3 计算

7.2.3.1 计算含量

7.2.3.1.1 内标-标准曲线法

记录检材样品提取液和添加样品提取液中目标物和内标的保留时间和峰面积值,以添加样品提取液中目标物与内标的峰面积比的平均值为纵坐标、添加样品提取液中目标物的含量为横坐标进行线性回归,得到线性方程。根据检材样品提取液中目标物及内标的峰面积值,按式(1)计算出检材样品中目标物的含量。

$$W = \frac{Y - a}{b} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

W ——检材样品中目标物的含量,以质量浓度计,单位为微克每克($\mu\text{g}/\text{g}$)或微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

Y ——检材样品提取液中苯丙胺类和氯胺酮与内标物甲基苯丙胺- D_5 或甲氧那明的峰面积比的平均值;

a ——线性方程的截距;

b ——线性方程的斜率。

7.2.3.1.2 内标-单点校正法

记录检材样品提取液和添加样品提取液中目标物和内标的保留时间和峰面积值,按式(2)计算校正因子,按式(3)计算含量:

$$f = \frac{M_{\text{标}} \times A_{\text{内}}}{M_{\text{内}} \times A_{\text{标}}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

f ——校正因子;
 $M_{\text{标}}$ ——添加样品中目标物添加量,单位为微克(μg);
 $A_{\text{内}}$ ——添加样品中内标物峰面积平均值;
 $M_{\text{内}}$ ——添加样品中内标物添加量,单位为微克(μg);
 $A_{\text{标}}$ ——添加样品中目标物峰面积平均值。

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

式中:

W ——检材样品中目标物的含量,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;
 $A_{\text{样}}$ ——检材样品提取液中目标物峰面积平均值;
 $M_{\text{内}}$ ——检材样品中内标物添加量,单位为微克(μg);
 $A_{\text{内}}$ ——检材样品提取液中内标物峰面积平均值;
 $M_{\text{样}}$ ——检材样品的取样量,单位为毫升(mL)。

7.2.3.1.3 外标-标准曲线法

记录检材样品提取液和添加样品提取液中目标物的保留时间和峰面积值,以添加样品提取液中目标物的峰面积比的平均值为纵坐标、添加样品提取液中目标物的含量为横坐标进行线性回归,得到线性方程。根据检材样品提取液中目标物的峰面积值,按式(4)计算出检材样品中目标物的含量。

$$W = \frac{Y - a}{b} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

W ——检材样品中目标物的含量,以质量浓度计,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)或微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 Y ——检材样品提取液中目标物峰面积平均值;
 a ——线性方程的截距;
 b ——线性方程的斜率。

7.2.3.1.4 外标-单点校正法

记录检材样品提取液和添加样品提取液中目标物的保留时间和峰面积值,按式(5)计算检材样品中目标物的含量。

$$W = \frac{A_{\text{样}} \times M_{\text{添}} \times V_{\text{样}}}{A_{\text{添}} \times M_{\text{样}} \times V_{\text{添}}} \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

W ——检材样品中目标物的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 $A_{\text{样}}$ ——检材样品提取液中目标物峰面积平均值;
 $M_{\text{添}}$ ——添加样品中标准物添加量,单位为微克(μg);

$V_{\text{样}}$ ——检材样品的定容体积,单位为毫升(mL);
 $A_{\text{添}}$ ——添加样品提取液中目标物峰面积平均值;
 $M_{\text{样}}$ ——检材样品的取样量,单位为毫升(mL);
 $V_{\text{添}}$ ——添加样品的定容体积,单位为毫升(mL)。

7.2.3.2 计算相对相差

记录 2 份平行操作的检材样品中目标物的含量,按式(6)计算相对相差:

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(6)$$

式中:
 RD ——相对相差,用百分比(%)表示;
 $X_1、X_2$ ——两个检材样品平行定量测定的含量数值,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 $\bar{X}$ ——两个检材样品平行定量测定含量的平均值,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

8 结果评价

8.1 定性结果评价

8.1.1 阳性结果评价

在相同条件下进行样品测定时,检材样品中目标物的色谱峰保留时间与标准溶液一致(相对误差在 $\pm 2.5\%$ 之内)、目标物的定性离子(至少两对定性离子)与标准溶液一致,且离子丰度比与浓度接近的标准溶液相比,相对偏差不得超过表 5 规定的范围,空白样品无干扰,则可判断检材样品中检出目标物。

表 5 离子丰度比的最大允许相对偏差范围

离子丰度比	>50%	>20%~50%	>10%~20%	$\leq 10\%$
最大允许相对偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

8.1.2 阴性结果评价

检材样品未出现与目标物标准溶液一致的色谱峰,且添加样品中出现与目标物标准溶液一致的色谱峰,空白样品无干扰,则可判断检材样品中未检出目标物。本方法检出限参见附录 A。

8.2 定量结果评价

如果目标物含量的 $RD \leq 20\%$,定量数据可靠,其含量按 2 份检材的平均值计算。如果检材样品中目标物含量的 $RD > 20\%$,定量数据不可靠。应按 7.2 重新提取检验。

苯丙胺类和氯胺酮的相关谱图参见附录 A。

附录 A (资料性附录)

苯丙胺类和氯胺酮的相关谱图和检出限

A.1 苯丙胺类和氯胺酮的相关谱图见图 A.1~图 A.5,其中图 A.1~图 A.3 为采用 7.1.2.1a) 色谱参考条件所得谱图,图 A.4~图 A.5 为采用 7.1.2.1b) 色谱参考条件所得谱图。

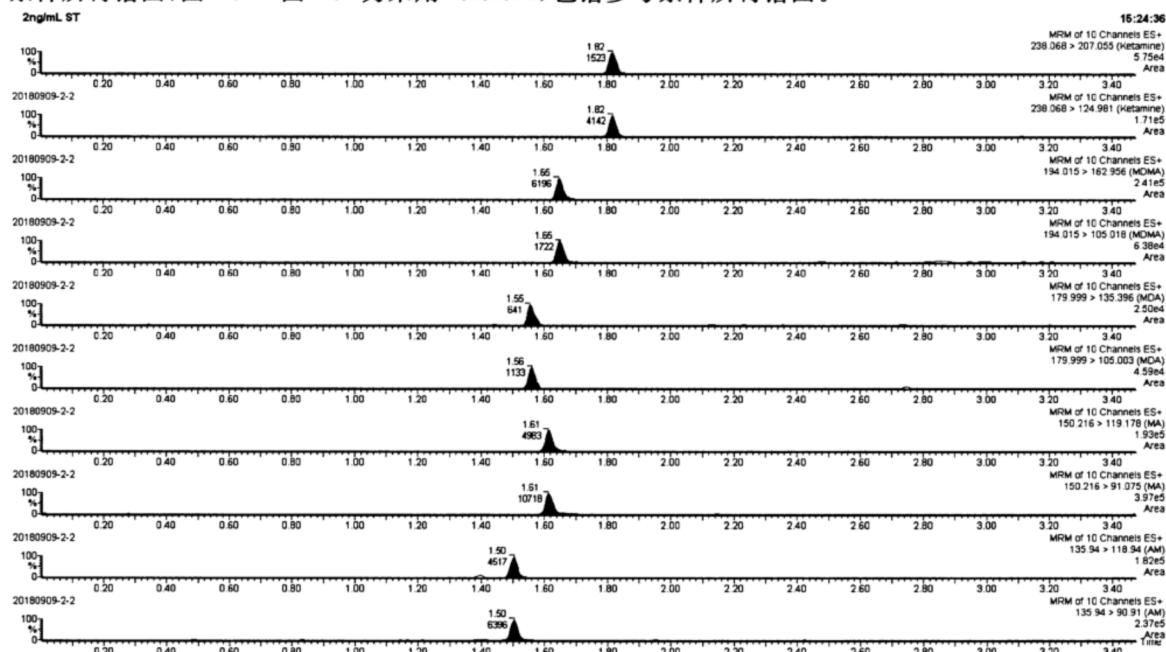


图 A.1 2 ng/mL 5 种毒品的 MRM 色谱图

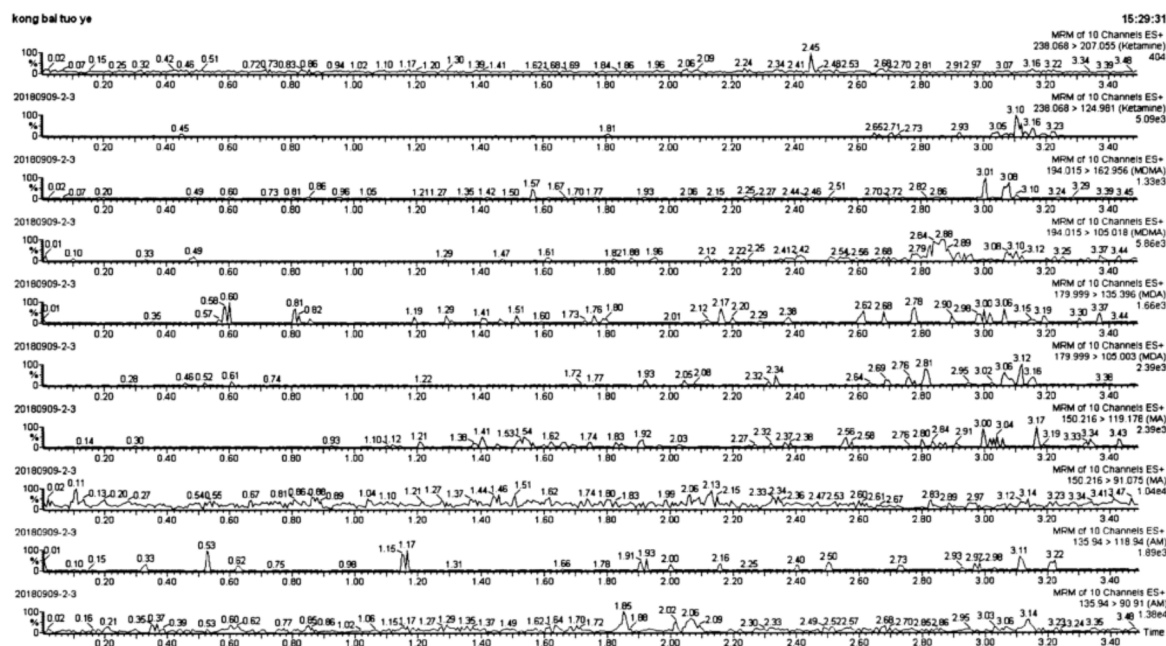


图 A.2 空白唾液 5 种毒品的 MRM 色谱图

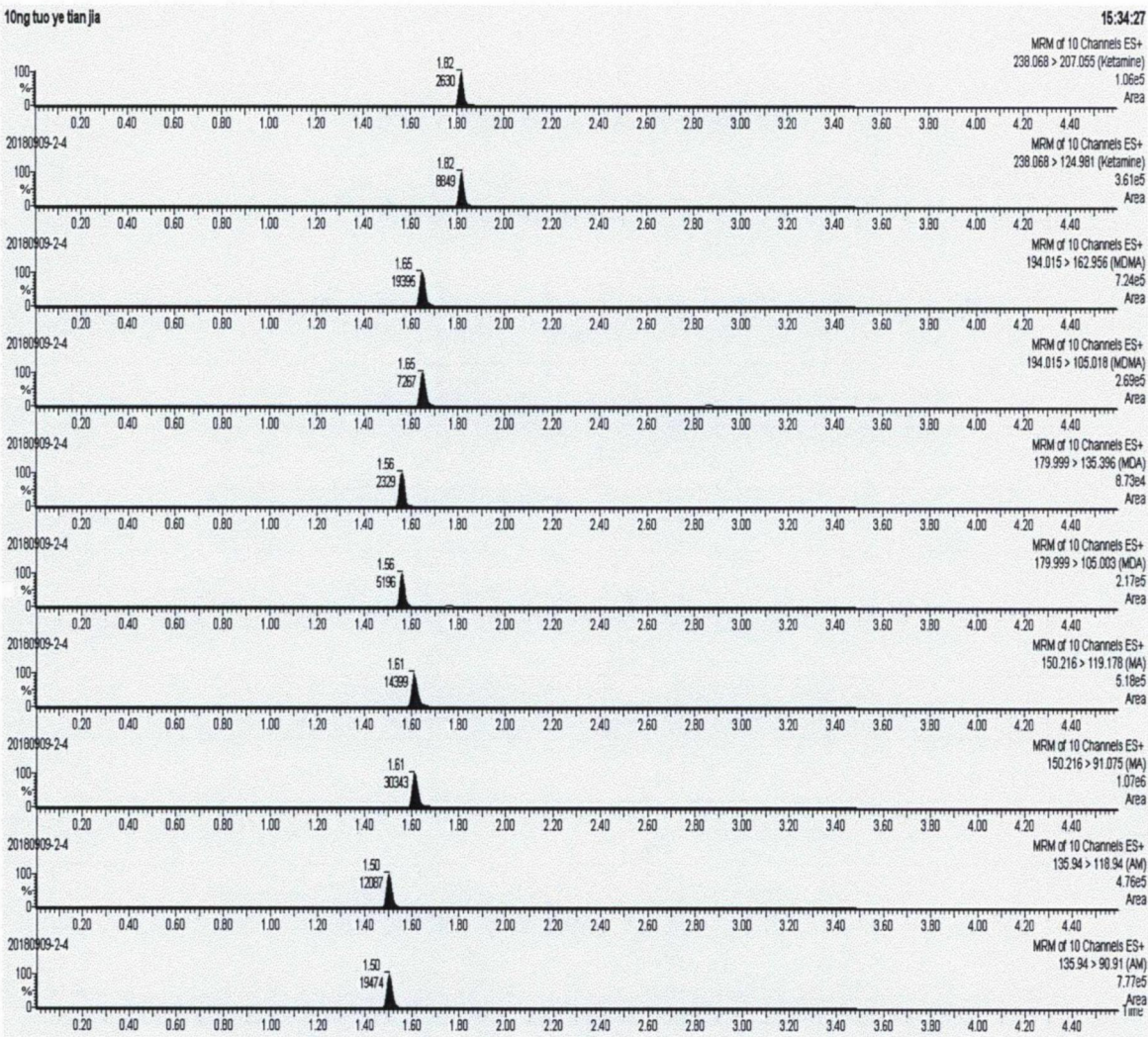


图 A.3 空白唾液中添加 10 ng/mL 5 种毒品的 MRM 色谱图

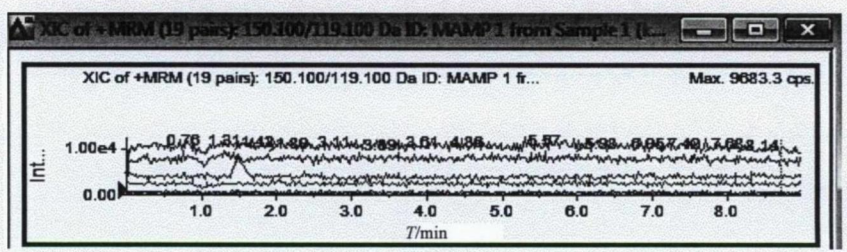


图 A.4 空白唾液的色谱图

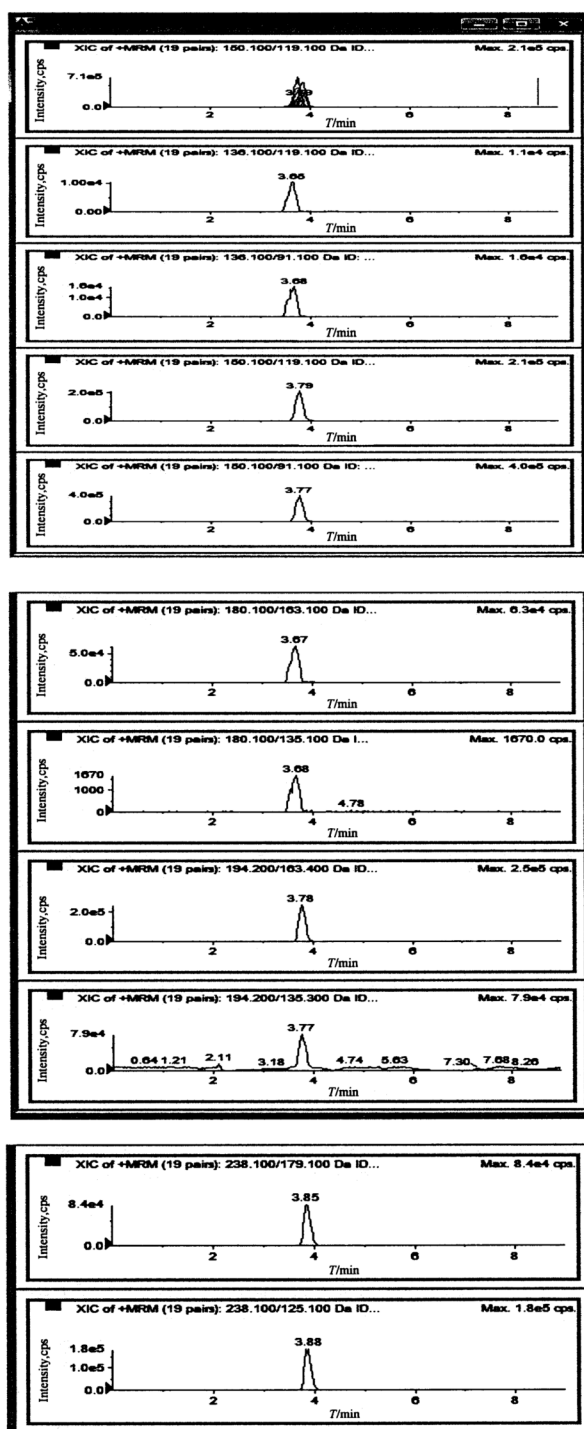


图 A.5 空白唾液中添加 10 ng/mL 苯丙胺类和氯胺酮 MRM 色谱图

A.2 本方法检测 MA、AM、MDA、MDMA 和氯胺酮的检出限均为 2 ng/mL。

中华人民共和国公共安全
行 业 标 准
法庭科学 唾液中苯丙胺等四种
苯丙胺类毒品和氯胺酮检验
液相色谱-质谱法
GA/T 1639—2019

*

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 23 千字
2020年5月第一版 2020年5月第一次印刷

*

书号: 155066·2-35131 定价 18.00 元



GA/T 1639-2019

打印日期: 2020年5月29日



如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107