

SF

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0113—2021
代替 SF/Z JD0107002—2010

血液中氰化物的气相色谱-质谱和气相色谱 检验方法

Determination of cyanide in blood by gas chromatography-mass spectrometry and
gas chromatography

2021 - 11 - 17 发布

2021 - 11 - 17 实施

中华人民共和国司法部 发布

目 次

| | |
|---------------------------------|----|
| 前言 | II |
| 1 范围 | 1 |
| 2 规范性引用文件 | 1 |
| 3 术语和定义 | 1 |
| 4 原理 | 1 |
| 5 试剂、仪器和材料 | 1 |
| 6 定性分析 | 2 |
| 7 定量分析 | 3 |
| 8 分析结果评价 | 5 |
| 附录 A（资料性） 血液中氰根离子的检出限和定量限 | 7 |

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替SF/Z JD0107002—2010《血液中氰化物的测定 气相色谱法》，与SF/Z JD0107002—2010相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了血液中氰化物的气相色谱-质谱方法(见第6章、7.1.1和7.2.1.1)；
- b) 增加了定量分析中进样和记录等内容(见7.2.2和7.3.1)；
- c) 增加了内标-工作曲线法、内标-单点校正法和外标-单点校正法(见7.3.2、7.3.3和7.3.5)；
- d) 增加了分析结果评价(见第8章)。

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专利的责任。

本文件由司法鉴定科学研究院提出。

本文件由司法部信息中心归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院。

本文件主要起草人：刘伟、向平、乔正、严慧、沈保华、卓先义。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2010年首次发布为SF/Z JD0107002—2010；

——本次为第一次修订。

血液中氰化物的气相色谱-质谱和气相色谱检验方法

1 范围

本文件描述了血液中氰化物的气相色谱-质谱和气相色谱检验方法,包括原理、试剂、仪器和材料、定性分析、定量分析以及分析结果评价。

本文件适用于血液中氰化物的气相色谱-质谱的定性、定量分析及气相色谱定量分析,其它检材中氰化物的定性定量分析参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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

氰化物在酸性条件下形成氢氰酸,氢氰酸易挥发为氰化氢气体,用气相色谱-质谱法(GC-MS)进行检测,以保留时间、特征碎片离子和离子丰度比进行定性分析;以定量离子峰面积为依据,用气相色谱-质谱法(GC-MS)以内标法进行定量分析,或以氰根离子衍生化物峰面积为依据,用气相色谱-电子捕获检测器法(GC-ECD)以外标法进行定量分析。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

试验用水应符合 GB/T 6682 中规定的三级水。除另有说明外,在分析中所用的试剂均为分析纯,试剂包括:

- a) 氰化钠或氰化钾,纯度 $\geq 95\%$;
- b) 磷酸;
- c) 二氯甲烷;
- d) 4%氢氧化钠溶液;
- e) 0.5%氯胺 T 溶液;
- f) 氰根离子(CN⁻)对照品储备液:精密称取氰化钠或氰化钾[5.1 a)]适量,用 4%氢氧化钠溶液[5.1 d)]配成 1.0mg/mL 的氰根离子(CN⁻)储备液,密封,置冰箱中冷藏保存,有效期为 12 个月;
- g) 氰根离子(CN⁻)对照品工作液:试验中所用其它浓度氰根离子(CN⁻)对照品工作液均由氰根离子(CN⁻)对照品储备液[5.1 f)],用 4%氢氧化钠溶液[5.1 d)]稀释而得,密封,置冰箱中冷藏保存,有效期为 3 个月;
- h) 内标二氯甲烷储备液:精密称取适量二氯甲烷[5.1 c)],用甲醇配成 1.0mg/mL 二氯甲烷储备液,密封,置冰箱中冷冻保存,有效期为 12 个月;

- i) 内标二氯甲烷工作液：将内标二氯甲烷储备液[5.1 h)]用水稀释，得 10ng/mL 内标二氯甲烷工作液。临用前配制。

5.2 仪器和材料

仪器和材料包括：

- a) 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源（EI）；
- b) 气相色谱仪：配有电子捕获检测器（ECD）；
- c) 顶空自动进样器；
- d) 精密移液器；
- e) 电子天平：分度值 $\leq 0.1\text{mg}$ ；
- f) 顶空进样瓶：10mL；
- g) 硅橡胶垫；
- h) 铝帽；
- i) 密封钳；
- j) 恒温水浴锅；
- k) 进样针：0.5mL。

6 定性分析

6.1 样品前处理

6.1.1 案件样品

取血液样品 0.5mL 置于 10mL 顶空进样瓶中，加入 10ng/mL 内标二氯甲烷工作液[5.1 i)]0.5mL，再加入 100 μL 磷酸[5.1 b)]，立即加盖密封，混匀，待加热后进样。

6.1.2 控制样品

取空白血液样品 0.5mL 两份，一份作为空白样品，一份添加氰根离子(CN⁻)对照品工作液[5.1 g)]，制得 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 添加样品，加入 10ng/mL 内标二氯甲烷工作液[5.1 i)]0.5mL，然后按照 6.1.1 方法操作。

6.2 仪器分析

6.2.1 仪器条件

仪器参考条件如下，应用时可根据不同品牌仪器的实际情况进行调整。

- a) 色谱柱：GC-GASPRO (30m \times 0.32mm) 毛细管柱或其它等效柱；

注：GC-GASPRO柱为Agilent公司产品的商品名称，给出这一信息是为了方便本文件的使用者，并不是表示对该产品的认可。如果其它等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效产品。

- b) 柱温：初温 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1min，以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 150 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 5min；
- c) 载气：氦气，纯度 $\geq 99.999\%$ ，流速 3.5mL/min；
- d) 进样口温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ；
- e) 离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ ；
- f) 四极杆温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ；
- g) 传输线温度：230 $^{\circ}\text{C}$ ；
- h) 检测方式：选择离子监测扫描(SIM)，氰化氢的特征碎片离子为 m/z 26、m/z 27、m/z 28，二氯甲烷的特征碎片离子为 m/z 84、m/z 86、m/z 49。其中 m/z 27、m/z 86 为定量离子。氰化氢和二氯甲烷的保留时间分别为 4.56min 和 4.83 min。

6.2.2 进样

6.2.2.1 顶空自动进样器进样

将顶空进样瓶置于顶空自动进样器样品架上，顶空自动进样器自动加热、进样。顶空自动进样器参考条件如下：

- a) 加热箱温度：45℃；
- b) 定量环温度：105℃；
- c) 传输线温度：110℃；
- d) 气相循环时间：16min；
- e) 样品瓶加热平衡时间：30min；
- f) 样品瓶加压时间：0.10min；
- g) 定量环充满时间：0.10min；
- h) 定量环平衡时间：0.05min；
- i) 进样时间：0.01min。

6.2.2.2 顶空手动进样

将顶空进样瓶置于 45℃ 恒温水浴锅内，加热 30min 后，用 0.5mL 进样针吸取加热后瓶内液面上气体 0.5mL，按照 6.2.1 规定的条件进样分析。

6.3 记录

记录案件样品、空白样品和添加样品中可疑色谱峰的保留时间、特征碎片离子和离子丰度比。血液中氰根离子的检出限和定量限见附录 A。

6.4 定性判断依据

以保留时间、特征碎片离子和离子丰度比作为定性判断依据。

如果案件样品中出现氰化物的定性离子的特征色谱峰，保留时间与添加样品中氰化物的色谱峰保留时间比较，相对误差在±2%内，在样品质谱图中，所选择的离子均出现，且定性离子丰度比与添加样品的离子丰度比之相对误差不超过表 1 规定的范围，则可判断案件样品中存在氰化物。

表1 离子丰度比的最大允许相对误差

单位为百分数（%）

| 离子丰度比 | >50 | >20~50 | >10~20 | ≤10 |
|---------|-----|--------|--------|-----|
| 允许的相对误差 | ±10 | ±15 | ±20 | ±50 |

7 定量分析

7.1 样品前处理

7.1.1 适用于 GC-MS 的样品前处理

取案件血液样品 0.5mL 两份，分别置于 10mL 顶空进样瓶中，加入 10ng/mL 内标二氯甲烷工作液 [5.1 i)] 0.5mL，然后按照 6.1.1 的方法操作。

另取空白血液样品若干份，添加系列浓度的氰根离子或单点浓度的氰根离子，制得系列浓度或单点浓度的添加样品，与案件样品平行操作。

案件样品中氰根离子的浓度应在工作曲线的线性范围内。配制单点浓度的添加样品时，案件样品中氰根离子浓度应在该浓度的±50%内。

7.1.2 适用于 GC-ECD 的样品前处理

取案件血液样品 0.2mL 两份，分别置于已装有 4mL 水的 10mL 顶空进样瓶中，混匀，瓶中放入加有 0.5% 氯胺 T 溶液 [5.1 e)] 1mL 的内管，再加 100μL 磷酸 [5.1 b)] 于待检血液中，立即加盖密封。待顶空进样瓶在 65℃ 水浴中加热 30min 后，取 0.4mL 液上气体注入气相色谱仪中分析。

另取空白血液样品若干份，添加系列浓度的氰根离子或单点浓度的氰根离子，制得系列浓度或单点浓度的添加样品，与案件样品平行操作。

案件样品中氰根离子的浓度应在工作曲线的线性范围内。配制单点浓度的添加样品时，案件样品中氰根离子浓度应在该浓度的±50%内。

7.2 仪器分析

7.2.1 仪器条件

7.2.1.1 GC-MS 参考条件

GC-MS 参考条件应符合 6.2.1 的规定。

7.2.1.2 GC-ECD 参考条件

GC-ECD 参考条件如下，应用时可根据不同品牌仪器的实际情况进行调整。

- a) 色谱柱：SE-30 熔融石英毛细管柱 (30m×0.22mm×0.25μm) 或其它等效柱；
- b) 柱温：40℃；
- c) 载气：氮气，纯度≥99.999%；
- d) 进样口温度：120℃；
- e) 检测器温度：300℃。

7.2.2 进样

分别取案件样品、系列浓度的氰化物添加样品或单点浓度的氰化物添加样品，按照 7.2.1 规定的条件进样分析。

7.3 记录与计算

7.3.1 记录

记录各样品中氰根离子和内标的定量离子峰面积（适用于 GC-MS），或各样品中氰根离子衍生化物的峰面积（适用于 GC-ECD），然后计算案件样品中氰化物的含量。

7.3.2 内标-工作曲线法（适用于 GC-MS）

在系列质量浓度的添加样品中，以氰根离子与内标的峰面积比 (Y) 为纵坐标、氰根离子的质量浓度 (C) 为横坐标进行线性回归，得线性方程。根据案件样品中氰根离子与内标的峰面积比，按公式 (1) 计算出案件样品中氰根离子的质量浓度。

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

式中：

- C ——案件样品中氰根离子的质量浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；
 Y ——案件样品中氰根离子与内标的峰面积比；
 a ——线性方程的截距；
 b ——线性方程的斜率。

7.3.3 内标-单点校正法（适用于 GC-MS）

根据案件样品及添加样品中氰根离子与内标的峰面积比，按公式 (2) 计算出案件样品中氰根离子的质量浓度。

$$C = \frac{A \times A'_i \times c}{A' \times A_i} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

C ——案件样品中氰根离子质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

A ——案件样品中氰根离子的峰面积值;

A' ——添加样品中氰根离子的峰面积值;

A_i ——案件样品中内标的峰面积值;

A'_i ——添加样品中内标的峰面积值;

c ——添加样品中氰根离子的质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

7.3.4 外标-工作曲线法 (适用于 GC-ECD)

在系列浓度的添加样品中, 以氰根离子衍生化物的峰面积值 (Y) 为纵坐标、氰根离子的质量浓度 (C) 为横坐标进行线性回归, 得线性方程。

根据案件样品中氰根离子衍生化物的峰面积值, 按公式 (3) 计算出案件样品中氰根离子的质量浓度。

$$C = \frac{Y - a}{b} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

C ——案件样品中氰根离子的质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

Y ——案件样品中氰根离子衍生化物的峰面积值;

a ——线性方程的截距;

b ——线性方程的斜率。

7.3.5 外标-单点校正法 (适用于 GC-ECD)

根据案件样品和添加样品中氰根离子衍生化物的峰面积值, 按公式 (4) 计算出案件样品中氰根离子的质量浓度。

$$C = \frac{A \times c}{A'} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

C ——案件样品中氰根离子的质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

A ——案件样品中氰根离子衍生化物的峰面积值;

A' ——添加样品中氰根离子衍生化物的峰面积值;

c ——添加样品中氰根离子的质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

7.3.6 计算相对相差

案件样品同时平行测定两份, 双样相对相差按公式 (5) 计算:

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中:

RD ——相对相差;

C_1 、 C_2 ——两份案件样品平行定量测定的质量浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

\bar{C} ——两份案件样品平行定量测定质量浓度的平均值, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

8 分析结果评价

8.1 定性分析结果评价

8.1.1 阴性结果评价

阴性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中仅检出内标，未检出氰化物，添加样品中检出氰化物，则阴性结果可靠；
- b) 如果案件样品中未检出内标或添加样品中未检出氰化物，则阴性结果不可靠，应按照第 6 章的规定重新提取检验。

8.1.2 阳性结果评价

阳性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中检出氰化物且空白样品无干扰，则阳性结果可靠；
- b) 如果空白样品亦呈阳性，则阳性结果不可靠，应按照第 6 章的规定重新提取检验。

8.2 定量分析结果评价

两份案件样品的相对相差不超过 20%（腐败检材不超过 30%）时，结果按两份案件样品的平均值计算，否则应重新测定。

附录 A
(资料性)

血液中氰根离子的检出限和定量限

血液中氰根离子的检出限为 $0.05\mu\text{g/mL}$ ；定量限为 $0.1\mu\text{g/mL}$ 。
