

司 法 鉴 定 技 术 规 范

SF/Z JD0107020—2018

血液中磷化氢及其代谢物的顶空气相色谱 -质谱检验方法

Determination of phosphine and its metabolites in blood by headspace gas
chromatography-mass spectrometry

2018-11-08 发布

2019-01-01 实施

中华人民共和国司法部公共法律服务管理局 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 操作方法	2
7 分析结果评价	4
附录 A (资料性附录) 血液中磷化氢的 GC-MS 色谱图	5
附录 B (资料性附录) 方法学有效性验证数据	6
表 1 相对离子丰度比的最大允许相对误差	3

前 言

本技术规范按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本技术规范由司法鉴定科学研究院提出。

本技术规范由司法部公共法律服务管理局归口。

本技术规范起草单位：司法鉴定科学研究院。

本技术规范主要起草人：严慧、向平、卓先义、刘伟、沈保华、陈航、乔正、沈敏、吴何坚。

本技术规范的附录 A、B 为资料性附录。

本技术规范为首次发布。

血液中磷化氢及其代谢物的顶空气相色谱-质谱检验方法

1 范围

本技术规范规定了血液中磷化氢及其代谢物的顶空气相色谱-质谱（HS-GC-MS）检验方法。

本技术规范适用于血液中磷化氢及其代谢物的定性与定量分析，其它生物检材和非生物检材中磷化氢及其代谢物的定性及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。

GA/T 122 毒物分析名词术语

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

GA/T 122 中界定的术语和定义适用于本技术规范。

4 原理

血液中磷化氢代谢物亚磷酸和次磷酸，与锌粉和硫酸反应还原为磷化氢，用顶空气相色谱-质谱法进行检测，经与平行操作的空白样品及添加样品对照，以保留时间、特征碎片离子峰和相对丰度比进行定性分析；以峰面积为依据，采用外标法进行定量分析。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

本技术规范所用试剂除另有说明外均为分析纯，试验用水为二级水（见 GB/T 6682 规定），所用试剂：

- a) 锌粉；
- b) 次磷酸钠一水化合物；
- c) 20%硫酸；
- d) 次磷酸钠一水化合物对照品溶液：称取次磷酸钠一水化合物 31mg，精密称定，置 10mL 容量瓶中，加入适量水溶解并定容至刻度，配制成相当于磷化氢 1.0mg/mL 的对照品储备溶液，密封，置于冰箱中冷藏、避光保存，保存时间 12 个月。试验中所用其它浓度的标准溶液均从上述储备溶液用水稀释而得，密封，置于冰箱中冷藏保存，保存时间 3 个月。

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) 精密移液器;
- c) 电子分析天平: 感量 0.1mg;
- d) 硅橡胶垫;
- e) 铝帽;
- f) 密封钳;
- g) 恒温水浴锅;
- h) 顶空进样瓶: 10mL。

6 操作方法

6.1 定性分析

6.1.1 样品前处理

6.1.1.1 案件样品

将40mg锌粉均匀铺放在10mL顶空进样瓶底部,依次加入血液1mL、水2mL、20%硫酸0.5mL,然后立即密封。室温下放置30min后,40℃水浴中加热60min,然后吸取0.5mL液上气体,进行GC-MS分析。

6.1.1.2 控制样品

取空白血液1mL两份,一份作为空白样品,一份添加对照品配制成含磷化氢0.5μg/mL的添加样品,余下同6.1.1.1,与案件样品平行操作。

6.1.2 仪器检测

6.1.2.1 气相色谱-质谱仪条件

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) 色谱柱: GS-GASPRO(30m×0.32mm)石英毛细管柱或相当者;

注: GS-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技术规范的使用者,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: 初温 30℃(2min),以 20℃/min 程序升温至 110℃,保持 0.5min;
- c) 载气: 氦气,纯度≥99.999%,流速 3.5mL/min;
- d) 离子源温度: 230℃;
- e) 四极杆温度: 150℃;
- f) 进样口温度: 180℃;
- g) 传输线温度: 230℃;
- h) 检测方式: 选择离子监测扫描(SIM),定性离子: m/z 31、33、34,定量离子: m/z 34。血液中磷化氢的 GC-MS 色谱图参见附录 A,磷化氢的保留时间为 2.1min。

6.1.2.2 进样

分别吸取案件样品、空白样品和添加样品液上气体,按6.1.2.1条件进样分析。

6.1.2.3 记录

记录各样品中磷化氢可疑色谱峰的保留时间、离子丰度比。

6.1.2.4 定性判断依据

以保留时间、质谱特征碎片离子峰和相对丰度比作为定性判断依据。

在相同的试验条件下，如果案件样品中出现的色谱峰保留时间与添加样品的色谱峰保留时间相比较，相对误差在±2%内，且特征碎片离子均出现，所选择的离子丰度比与浓度相近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检出磷化氢。

表1 相对离子丰度比的最大允许相对误差(%)

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

6.2 定量分析

本技术规范采用外标法定量测定。

6.2.1 样品前处理

移取案件血液1mL两份，分别置于底部预先铺上40mg锌粉的10mL顶空进样瓶内，依次加入水2mL、20%硫酸0.5 mL，余下同6.1.1.1。

另取空白血液若干份，添加适量磷化氢，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。方法学有效性验证数据参见附录B。

案件样品中磷化氢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，案件样品中磷化氢浓度需在该浓度的±50%内。

6.2.2 仪器检测

6.2.2.1 仪器参考条件

同6.1.2.1。

6.2.2.2 进样

分别取案件样品、系列浓度的添加样品或单点浓度添加样品，按6.1.2.1条件进样分析。

6.2.3 记录与计算

记录案件样品、系列浓度的添加样品或单点浓度添加样品中磷化氢定量离子的峰面积值，然后计算案件样品中磷化氢含量。

6.2.3.1 外标-工作曲线法

在系列浓度的添加样品中，以磷化氢定量离子的峰面积(Y)为纵坐标、磷化氢质量浓度(C)为横坐标进行线性回归，得线性方程。

根据案件样品中磷化氢的峰面积值，按公式(1)计算含量。

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

式中：

- C ——案件样品中磷化氢的含量，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
 Y ——案件样品中磷化氢的峰面积值；
 a ——线性方程的截距；
 b ——线性方程的斜率。

6.2.3.2 外标-单点校正法

根据案件样品和添加样品中磷化氢的峰面积值，按公式（2）计算出案件样品中磷化氢的含量。

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

式中：

- C ——案件样品中磷化氢的含量，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
 A ——案件样品中磷化氢的峰面积值；
 A' ——添加样品中磷化氢的峰面积值；
 c ——添加样品中磷化氢的含量，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

6.2.4 计算相对相差

案件样品按以上步骤平行测定两份，双样相对相差按公式(3)计算：

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3)$$

式中：

- RD ——相对相差(%)；
 C_1 、 C_2 ——两份案件样品平行定量测定的结果，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结果的平均值 $(C_1 + C_2) / 2$ ，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

7 分析结果评价

7.1 定性分析结果评价

7.1.1 阴性结果评价

如果案件样品中未检出磷化氢，而添加样品中检出磷化氢，则阴性结果可靠；如果添加样品中未检出磷化氢，则阴性结果不可靠，应按6.1重新检验。

7.1.2 阳性结果评价

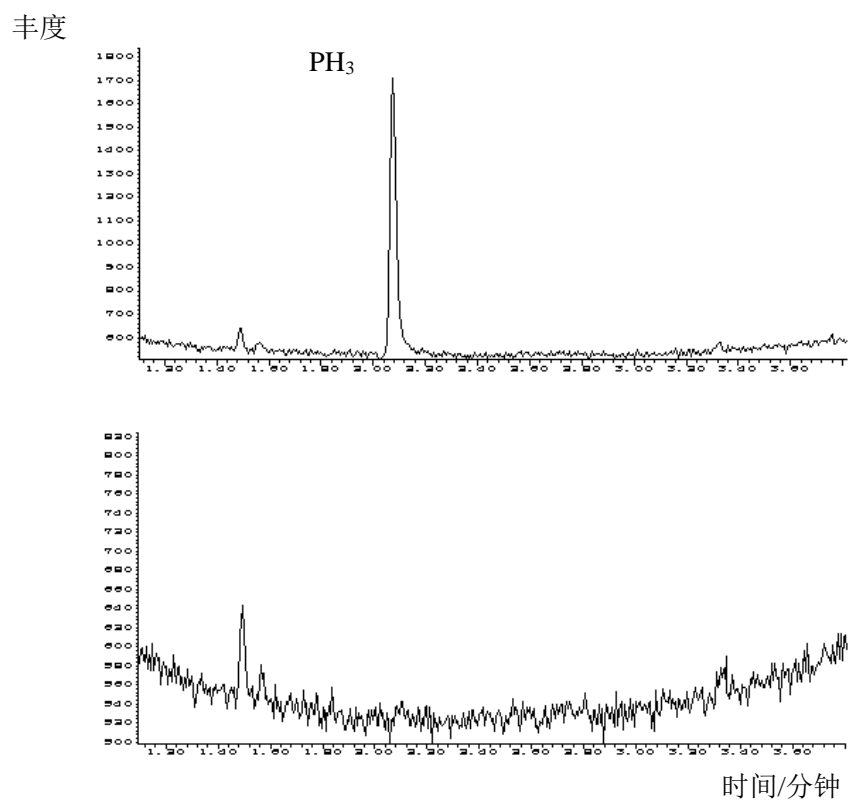
如果案件样品中检出磷化氢，且空白样品无干扰，则阳性结果可靠；如果案件样品中检出磷化氢，且空白样品中亦检出磷化氢，则阳性结果不可靠，应按6.1重新检验。

7.2 定量分析结果评价

两份案件样品的双样相对相差不超过20%（腐败检材不超过30%）时，结果按两份案件样品含量的平均值计算，否则需要重新测定。

附录 A
(资料性附录)
血液中磷化氢的 GC-MS 色谱图

空白血液和添加血液的 GC-MS 色谱图，见图 A.1。



图A.1 添加血液 (1 μg/mL 磷化氢) (上) 和空白血液 (下) 的 GC-MS 色谱图

附 录 B
(资料性附录)
方法学有效性验证数据

B.1 线性范围

血液中磷化氢在0.2~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内呈线性关系，相关系数 (r) 大于0.995。

B.2 准确度和精密度

表B.1 方法的准确度和精密度

血液中添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	准确度 (%)	精密度(RSD, %)	
		日内	日间
0.4	100.0	22.3	23.0
1	96.0	15.2	16.7
6	96.7	14.6	15.8

B.3 方法检出限和定量下限

本技术规范血液中磷化氢的检出限和定量下限均为0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。