

司 法 鉴 定 技 术 规 范

SF/Z JD0107025—2018

毛发中 15 种毒品及代谢物的液相色谱-串 联质谱检验方法

Detection of 15 illicit drugs and metabolites in hair by liquid
chromatography-tandem 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	5
附录 A (资料性附录) 15 种毒品及代谢物的 MRM 色谱图	6
附录 B (资料性附录) 方法检出限	7
表 1 流动相梯度洗脱程序	3
表 2 15 种毒品及代谢物和内标物的定性离子对和保留时间	3
表 3 相对离子对丰度比的最大允许相对误差	5

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：向平、沈敏、刘伟、严慧、沈保华、卓先义、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。

毛发中 15 种毒品及代谢物的液相色谱-串联质谱检验方法

1 范围

本技术规范规定了毛发中 O^6 -单乙酰吗啡、吗啡、可待因、甲基苯丙胺(MAMP)、苯丙胺(AMP)、3,4-亚甲双氧甲基苯丙胺(MDMA)、3,4-亚甲双氧苯丙胺(MDA)、3,4-亚甲双氧乙基苯丙胺(MDEA)、可卡因、苯甲酰爱康宁、氯胺酮、去甲氯胺酮、 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚等15种毒品及代谢物的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检验方法。

本技术规范适用于毛发中 O^6 -单乙酰吗啡、吗啡、可待因、MAMP、AMP、MDMA、MDA、MDEA、可卡因、苯甲酰爱康宁、氯胺酮、去甲氯胺酮、 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚等15种毒品及代谢物的定性分析。

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。

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

毛发样品经清洗、冷冻研磨后,以甲醇超声法提取,用液相色谱-串联质谱的多反应监测(MRM)模式检测。经与平行操作的空白样品和添加样品对照,以保留时间、质谱特征碎片离子峰和离子对相对丰度比进行定性分析。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

本技术规范试验用水为一级水(见GB/T 6682规定),所用试剂:

- a) 甲醇: HPLC 级;
- b) 乙腈: HPLC 级;
- c) 50%甲酸溶液: HPLC 级;
- d) 乙酸铵: HPLC 级;
- e) 丙酮: 分析纯;

- f) 20mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸缓冲液: 分别称取 1.54g 乙酸铵和 2mL 甲酸溶液置于 1000mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, pH 值约为 4;
- g) 内标为甲氧那明或其它合适内标物;
- h) 标准物质溶液:
- 1) 0⁶-单乙酰吗啡、吗啡、可待因、MAMP、AMP、MDMA、MDA、MDEA、可卡因、苯甲酰爱康宁、氯胺酮、去甲氯胺酮标准物质储备溶液: 分别取 0⁶-单乙酰吗啡、吗啡、可待因、MAMP、AMP、MDMA、MDA、MDEA、可卡因、苯甲酰爱康宁、氯胺酮、去甲氯胺酮标准物质适量, 精密称定, 用甲醇配制成 1.0mg/mL 的标准储备溶液。密封, 置于冰箱中冷冻保存, 保存时间 12 个月。
 - 2) 100 μ g/mL Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚、大麻酚标准溶液: 市售 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚、大麻酚标准物质溶液。密封, 置于冰箱中冷冻保存, 保存时间 12 个月。
 - 3) 0⁶-单乙酰吗啡、吗啡、可待因、MAMP、AMP、MDMA、MDA、MDEA、可卡因、苯甲酰爱康宁、氯胺酮、去甲氯胺酮、 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚等 15 种毒品及代谢物标准物质工作溶液: 试验中所用其他浓度的标准工作溶液均由上述标准物质溶液用甲醇稀释而得。密封, 置于冰箱中冷藏保存, 保存时间 3 个月。
- i) 内标甲氧那明标准溶液:
- 1) 1.0mg/mL 甲氧那明标准储备溶液: 精密称取甲氧那明 10mg 于 10mL 容量瓶中, 加入适量甲醇溶解并定容至刻度, 配制成 1.0mg/mL 甲氧那明标准储备溶液。密封, 置于冰箱中冷冻保存, 保存时间 12 个月;
 - 2) 1ng/mL 甲氧那明标准工作溶液: 移取 1.0mg/mL 甲氧那明标准储备溶液适量至容量瓶中, 加入甲醇稀释, 混匀, 配制成 1ng/mL 的甲氧那明标准工作溶液。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) 液相色谱-串联质谱仪(LC-MS/MS): 配有电喷雾离子源(ESI);
- b) 电子分析天平: 感量 0.1 mg;
- c) 离心机;
- d) 超声波清洗仪;
- e) 恒温水浴锅;
- f) 冷冻研磨仪;
- g) 移液器。

6 操作方法

6.1 样品前处理

6.1.1 案件样品

毛发样品依次用适量的水和丙酮振荡洗涤两次, 晾干后剪成约 1mm 段, 置冷冻研磨仪中粉碎, 呈粉末状。

称取毛发粉末 20mg, 加入 1.0 mL 内标甲氧那明标准工作液 (甲氧那明 1ng/mL), 冰浴超声 30min, 离心, 移取上清液, 于 60 $^{\circ}$ C 水浴空气流下吹干。残留物用 100 μ L 甲醇复溶, 供仪器分析。

6.1.2 空白样品

取空白毛发样品20mg，加入1.0mL内标甲氧那明标准工作液（甲氧那明1ng/mL），余下同6.1.1，与案件样品平行提取操作。

6.1.3 添加样品

取空白毛发样品20mg，添加案件样品中出现的可疑目标物对照品，加入1.0mL内标甲氧那明标准工作液（甲氧那明1ng/mL），余下同6.1.1，与案件样品平行提取操作。

6.2 仪器检测

6.2.1 仪器条件

6.2.1.1 液相色谱条件

以下为参考条件，可根据不同仪器实际进行调整：

- a) 色谱柱：Restek Allure® PFP Propyl 液相色谱柱（或其它等效柱），100mm×2.1mm，5μm
注：Restek Allure® PFP Propyl柱为Restek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) 流动相：A 为乙腈，B 为 20mmol/L 乙酸铵和 0.1 % 甲酸缓冲液，流动相洗脱梯度见表 1；

表1 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	80	20
1	80	20
4	95	5
8	95	5
8.1	80	20
14	80	20

- c) 流速：350μL/min；
d) 柱温：室温；
e) 进样量：5μL。

6.2.1.2 质谱条件

以下条件作为参考，可根据不同仪器实际情况进行调整：

- a) 离子源：电喷雾电离-正离子模式(ESI+)；
b) 检测方式：多反应监测(MRM)；
c) 离子源电压(IS)：5500V；
d) 碰撞气(CAD)、气帘气(CUR)、雾化气(GS1)、辅助气(GS2)均为高纯氮气，使用前调节各气流流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
e) 喷雾电压(IS)、去簇电压(DP)、碰撞能量(CE) 等电压值应优化至最佳灵敏度。

在以上色谱、质谱条件下，15 种毒品及代谢物和内标物的定性离子对和保留时间见表 2。15 种毒品及代谢物的 MRM 色谱图参见附录 A。

表2 15种毒品及代谢物和内标物的定性离子对和保留时间

化合物	定性离子对/(m/z)	保留时间/(min)
O ⁶ -单乙酰吗啡	328.1/211.3	2.7
	328.1/165.3	
吗啡	286.1/201.2	2.1
	286.1/165.3	
可待因	300.2/199.2	2.7
	300.2/165.3	
MAMP	150.1/119.1	3.9
	150.1/91.1	
AMP	136.1/119.1	3.3
	136.1/91.1	
MDMA	194.2/163.4	3.8
	194.2/105.0	
MDA	180.1/163.1	3.2
	180.1/135.1	
MDEA	208.2/163.3	4.4
	208.2/163.1	
氯胺酮	238.1/179.1	3.4
	238.1/125.1	
去甲氯胺酮	224.1/207.1	2.1
	224.1/125.1	
可卡因	304.1/182.2	8.1
	304.1/150.2	
苯甲酰爱康宁	290.2/168.3	1.3
	290.2/105.2	
Δ ⁹ -四氢大麻酚	315.2/193.2	2.4
	315.2/259.1	
大麻二酚	315.2/193.2	3.5
	315.2/259.1	
大麻酚	311.1/223.2	3.6
	311.1/293.3	
甲氧那明(内标)	180.2/148.8	4.5
	180.2/120.8	

6.2.2 进样

分别吸取案件样品、空白样品和添加样品提取液，按6.2.1条件进样分析。

6.2.3 记录

记录各样品中毒品及代谢物可疑色谱峰的保留时间和离子对丰度比。方法检出限参见附录B。

6.2.4 定性判断依据

以保留时间、质谱特征碎片离子峰和离子对相对丰度比作为定性判断依据。

如果案件样品中出现 15 种毒品及代谢物的两对定性离子对的特征色谱峰，保留时间与添加样品中相应标准物质的色谱峰保留时间比较，相对误差在 $\pm 2.5\%$ 内，且定性离子对丰度比与浓度相近添加样品的离子对丰度比之相对误差不超过表 3 规定的范围，则可判断案件样品中存在该种目标物。

表3 相对离子对丰度比的最大允许相对误差(%)

相对离子对丰度比	>50	>20~50	>10~20	≤ 10
允许的相对误差	± 20	± 25	± 30	± 50

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

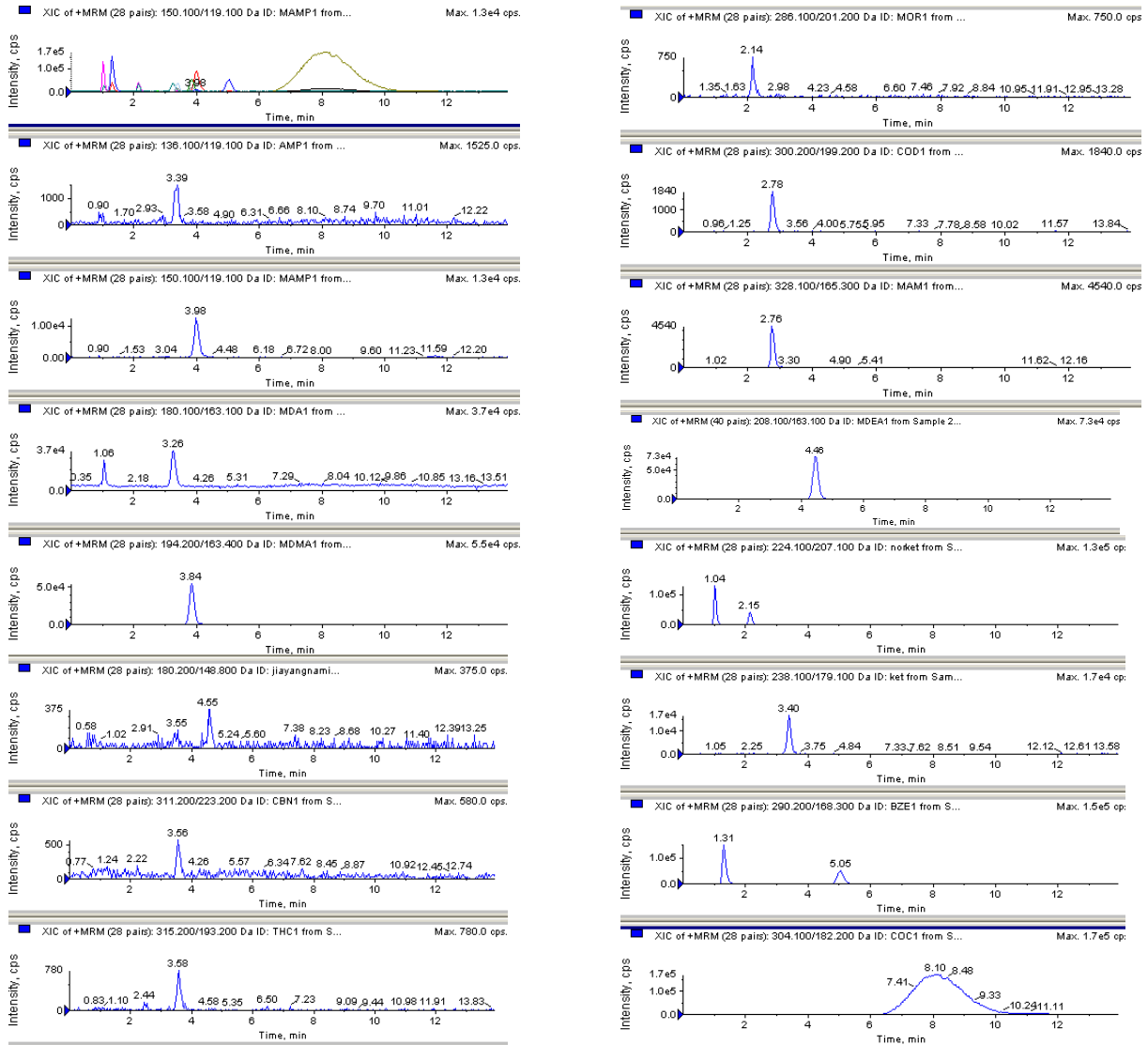
如果案件样品中仅检出内标甲氧那明，未检出15种毒品及代谢物成分，则阴性结果可靠；如果案件样品中未检出内标，则阴性结果不可靠，应按6重新提取检验。

7.1.2 阳性结果评价

如果案件样品中检出目标物且空白样品无干扰，则阳性结果可靠；如果空白样品亦呈阳性，则阳性结果不可靠，应按6重新提取检验。

附录 A
 (资料性附录)
 15 种毒品及代谢物的 MRM 色谱图

A.1 毛发添加样品的 MRM 色谱图



图A.1 毛发添加样品中 15 种毒品及内标的 MRM 色谱图

附 录 B
(资料性附录)
方法检出限

A.2 毛发中 15 种毒品及代谢物的检出限(LOD)

表B.1 15 种毒品及代谢物的检出限

中文名	英文名	LOD/ (ng/mg)
O ⁶ -单乙酰吗啡	O ⁶ -Acetylmorphine	0.2
吗啡	Morphine	0.2
可待因	Codeine	0.2
甲基苯丙胺	Methamphetamine	0.2
苯丙胺	Amphetamine	0.2
3,4-亚甲双氧甲基苯丙胺	MDMA	0.2
3,4-亚甲双氧苯丙胺	MDA	0.2
3,4-亚甲双氧乙基苯丙胺	MDEA	0.2
氯胺酮	Ketamine	0.2
去甲氯胺酮	Norketamine	0.2
可卡因	Cocaine	0.5
苯甲酰爱康宁	Benzoylcegonine	0.05
Δ^9 -四氢大麻酚	Δ^9 -Tetrahydrocannabinol	0.05
大麻二酚	Cannabidiol	0.05
大麻酚	Cannabinol	0.05