

司法鉴定技术规范

SF/Z JD0107007-2010

尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定

2010-04-07 发布

2010-04-07 生效

中华人民共和国司法部
司法鉴定管理局 发布

前 言

本标准的附录A为资料性附录。

本标准由中华人民共和国司法部司法鉴定科学技术研究所提出。

本标准由中华人民共和国司法部归口。

本标准起草单位：中华人民共和国司法部司法鉴定科学技术研究所。

本标准主要起草人：向平、卓先义、沈保华、刘伟、卜俊、马栋、严慧。

尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定

1 范围

本标准规定了尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定方法。

本标准适用于尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定。

本标准的方法检出限为50ng/mL。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682-2008，ISO 3696: 1987，MOD）

GA/T 122 毒物分析名词术语

第一篇 免疫筛选法

3 原理

该法采用高度特异性的抗原-抗体反应的免疫胶体金层析技术，通过单克隆抗体竞争结合 Δ^9 -四氢大麻酸偶联物和尿液中可能含有的 Δ^9 -四氢大麻酸的原理，试剂盒含有被事先固定于膜上测试区（T）的 Δ^9 -四氢大麻酸偶联物和被胶体金标记的抗 Δ^9 -四氢大麻酸单克隆抗体。

4 试剂

Δ^9 -四氢大麻酸尿液胶体金法试剂盒（THC-COOH）。

5 操作方法

用吸管吸取尿液尿液，滴入试剂盒的样品孔中 5 滴（约 150~200 μ L），3 ~ 5 min 后观察结果。

6 结果判定

6.1 阳性

仅质控区 C 出现紫红色带，而测试区 T 无紫红色带，表明尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸浓度在 50ng/mL 以上。

6.2 阴性

质控区 C 及测试区 T 均出现紫红色带，表明尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸浓度在 50ng/mL 以下。

6.3 无效

质控区 C 未出现紫红色带，结果无效，应重新检验。

第二篇 液相色谱-串联质谱法

7 原理

本法利用 Δ^9 -四氢大麻酸在体内形成葡萄糖醛酸结合物的特点，在碱性条件下尿液水解，然后在酸性条件下用有机溶剂提出，采用液相色谱-串联质谱仪(LC-MS/MS)的多反应监测模式进行定性分析。

8 试剂和材料

除方法另有规定外，试剂均为分析纯，试验室用水符合 GB/T6682 规定的一级水。

8.1 Δ^9 -四氢大麻酸对照液

Δ^9 -四氢大麻酸对照溶液浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 。试验中所用其它浓度的对照溶液均从上述对照溶液稀释而得，储存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中，保存期为 6 个月。

8.2 40% 氢氧化钠溶液。

8.3 1mol/L 盐酸溶液。

8.4 冰醋酸。

8.5 正己烷。

8.6 乙酸乙酯。

8.7 甲酸

优级纯。

8.8 乙腈

色谱纯。

8.9 乙酸胺

色谱纯。

8.10 流动相缓冲液

20mmol/L 乙酸铵和 0.1% 甲酸缓冲液：分别称取 1.54g 乙酸铵和 1.84g 甲酸置于 1000mL 容量瓶中，加水定容至刻度，pH 值约为 4。

9 仪器

9.1 液相色谱-串联质谱仪

配有电喷雾离子源 (ESI)。

9.2 旋涡混合器。

9.3 离心机。

9.4 恒温水浴锅。

9.5 移液器。

9.6 具塞离心试管。

10 测定步骤

10.1 样品预处理

尿液 2mL 加入 40% 氢氧化钠溶液调 pH>13, 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中水解 30min, 冷却后加入 1mol/L 盐酸溶液至 pH4-5, 再加入 0.5mL 冰醋酸和 3mL 正己烷:乙酸乙酯(9:1), 混旋, 离心, 取上

清液, 60°C 水浴中挥干, 加入 100 μ L 乙腈:流动相缓冲液(90:10)溶解, 取 5 μ L 进样 LC-MS/MS。

10.2 测定

10.2.1 液相色谱串联质谱条件

- 液相柱: Ultra IBD 柱(50mm \times 2.1mm \times 5 μ m)或相当者, 前接 C₁₈ 保护柱;
- 柱温: 室温;
- 流动相: V(乙腈): V(20mmol 乙酸胺和 0.1% 甲酸缓冲液)=90: 10;
- 流速: 200 μ L/min;
- 进样量: 5 μ L;
- 离子源: 电喷雾电离-负离子模式(ESI-);
- 检测方式: 多反应监测;
- 定性离子对、定量离子对、去簇电压(DP)、碰撞能量(CE)和保留时间 (t_R) 见表 1。

表 1 Δ^9 -四氢大麻酸的定性离子对、定量离子对、去簇电压、碰撞能量和保留时间

名称	定性离子对	DP(V)	CE(eV)	t_R (min)
Δ^9 -四氢大麻酸	343.1/299.2	-80	-28	2.44
	343.1/245.1			

注: 第一对为定量离子对

10.2.2 定性测定

进行样品测定时, 如果检出的色谱峰保留时间与空白检材添加对照品的色谱峰保留时间比较, 相对误差小于 2%, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 均出现所选择的离子对, 而且所选择的离子对相对丰度比与添加对照品的离子对相对丰度比之相对误差不超过表 2 规定的范围, 则可判断样品中存在这种化合物。

表 2 定性确认时相对离子对丰度的最大允许相对误差(%)

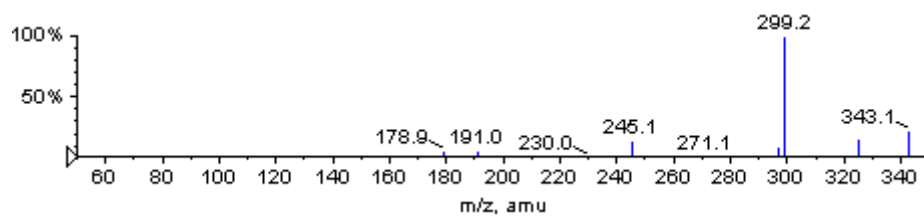
相对离子对丰度	>50	>20~50	>10~20	\leq 10
允许的相对误差	\pm 20	\pm 25	\pm 30	\pm 50

10.3 空白试验

除以相同基质空白替代检材外, 均按上述步骤进行。

附录 A

(资料性附录)

 Δ^9 -四氢大麻酸的二级质谱图图 A Δ^9 -四氢大麻酸的二级质谱图