



中华人民共和国国家标准

GB/T 37272—2018

尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 11-nor-9-carboxy-delta-9-tetrahydrocannabinol in urine—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2018-12-28 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国司法部提出并归口。

本标准起草单位：司法鉴定科学研究院。

本标准主要起草人：卓先义、向平、刘伟、严慧、沈保华、马栋、施妍、沈敏。

尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的液相色谱-串联质谱(LC-MS-MS)检测方法。
本标准适用于尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的定性分析和定量分析。

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。

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

尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸在碱性条件下水解,然后在酸性条件下用有机溶剂萃取,采用液相色谱-串联质谱法进行检测。

5 试剂或材料

所用的试剂,除特别注明者外均为分析纯试剂;水为符合 GB/T 6682 规定的一级水;试剂和材料包括:

- a) 正己烷。
- b) 乙酸乙酯。
- c) 乙腈:HPLC 级。
- d) 甲酸:优级纯。
- e) 乙酸铵:色谱纯。
- f) 冰乙酸:优级纯。
- g) 20 mmol/L 乙酸铵溶液:取乙酸铵 1.54 g,置 1 000 mL 量瓶中,加水适量,加入甲酸 2.0 mL,加水至刻度,摇匀。
- h) 1 mol/L 氢氧化钠溶液:取氢氧化钠 4.0 g,加水 100 mL 溶解。
- i) 1 mol/L 盐酸溶液:取浓盐酸 20.8 mL,加水稀释至 250 mL。
- j) Δ^9 -四氢大麻酸对照品溶液:市售 100 $\mu\text{g/mL}$ 甲醇溶液,置冰箱中冷冻保存。保存时间为 12 个月。

- k) Δ^9 -四氢大麻酸对照品工作溶液:试验中所用其他浓度的对照品溶液均从上述对照品溶液用甲醇稀释得到。密封,置于冰箱中冷藏保存。保存时间为3个月。
- l) 内标物 Δ^9 -四氢大麻酸- d_9 对照品溶液:市售 100 $\mu\text{g/mL}$ 甲醇溶液,置冰箱中冷冻保存。保存时间为12个月。
- m) 内标物 Δ^9 -四氢大麻酸- d_9 对照品工作溶液:将内标对照品溶液用甲醇稀释,配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的工作溶液,密封,置于冰箱中冷藏保存。保存时间为3个月。
- n) 具塞玻璃试管。
- o) 精密 pH 试纸。

6 仪器设备

仪器设备包括:

- a) 液相色谱-串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)。
- b) 涡旋振荡器。
- c) 离心机。
- d) 恒温水浴锅。
- e) 精密移液器:10 μL ~100 μL 、100 μL ~1 000 μL 。
- f) 电子天平。

7 检测步骤

7.1 定性分析

7.1.1 样品提取

精密量取待测样品尿液 1 mL,加入 1 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH 13,80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中水解 30 min,冷却后加入 1 mL 的 1 mol/L 盐酸溶液调至 pH 7~8,再加入 100 μL 冰乙酸,调至 pH 4~5,加入 3 mL 正己烷:乙酸乙酯(9:1),混旋,离心,吸取上清液,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴空气流下吹干,残留物中加入 200 μL 乙腈:20 mmol/L 乙酸铵溶液(9:1)定容,取 5 μL 供 LC-MS/MS 检测。

7.1.2 添加样品及空白样品

取空白尿液样品 1 mL 两份,一份添加 Δ^9 -四氢大麻酸工作溶液制得 15 ng/mL 添加样品,一份做阴性对照,按上述操作与待测样品平行提取和分析。

7.1.3 仪器检测

7.1.3.1 液相色谱-串联质谱仪参考条件

以下为参考条件,按照本法所获得的液相色谱-串联质谱图参见附录 A 中的图 A.1,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:MG II C18,3 μm ,50 mm $\times$ 3 mm(内径)或相当者;
- b) 柱温:室温;
- c) 流动相:乙腈:20 mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸缓冲液(9:1);
- d) 流速:200 $\mu\text{L/min}$;
- e) 进样量:5 μL ;

- f) 离子源:ESI,负离子模式;
- g) 离子喷雾电压:4 000 V;
- h) 离子源温度:450 ℃;
- i) 检测方式:多反应监测(MRM);
- j) 碰撞气、气帘气等气流值应优化至最优灵敏度;
- k) Δ^9 -四氢大麻酸和内标物的定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能量见表 1。

表 1 Δ^9 -四氢大麻酸和内标物的定性离子对、定量离子对、去簇电压(DP)、碰撞能量(CE)

名称	定性离子对	定量离子对	DP/V	CE/eV
Δ^9 -四氢大麻酸	343/299	343/299	-80	-28
	343/245			-28
Δ^9 -四氢大麻酸-d ₉	352/308	352/308	-80	-30

7.1.3.2 进样

分别吸取待测样品、空白和添加样品提取液,按 7.1.3.1 条件进样分析。

7.1.3.3 记录和计算

记录各待测样品及添加样品平行进样后 Δ^9 -四氢大麻酸的保留时间及峰面积值。

在相同的试验条件下,待测样品中出现两对定性离子对色谱峰,其保留时间与添加样品中 Δ^9 -四氢大麻酸保留时间比较,相对误差在±2.5%内,且相对离子对丰度比与质量浓度相近添加样品中的相对离子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 Δ^9 -四氢大麻酸。

表 2 定性确证时相对离子丰度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

7.2 定量分析

7.2.1 样品提取

取待测样品 1 mL 两份,加入 10 μL 内标工作溶液,余下同 7.1.1。

另取空白样品两份,根据待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸的质量浓度情况添加系列质量浓度的 Δ^9 -四氢大麻酸,作为添加样品,与待测样品平行操作。

待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸的质量浓度应在工作曲线的线性范围内。

7.2.2 仪器检测

仪器参考条件同 7.1.3.1。

7.2.3 进样

分别取待测样品、系列质量浓度的添加样品,按 7.1.3.1 条件进样分析。

7.2.4 记录与计算

在系列浓度的 Δ^9 -四氢大麻酸添加样品中,以 Δ^9 -四氢大麻酸与内标物定量离子对的峰面积比(Y)

为纵坐标、 Δ^9 -四氢大麻酸质量浓度(C)为横坐标进行线性回归,得线性方程。

根据待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸及内标物定量离子对的峰面积值,按式(1)计算出待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸的质量浓度。 Δ^9 -四氢大麻酸的线性、准确度和精密度的试验数据参见附录 B 中的表 B.1 和表 B.2。

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

式中:

C ——待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

Y ——待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸与内标物定量离子对的峰面积比;

a ——线性方程的截距;

b ——线性方程的斜率。

7.2.5 平行试验

待测样品同时平行测定两份,双样相对相差按式(2)计算:

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

RD ——相对相差;

C_1 、 C_2 ——两份待测样品平行定量测定的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

$\bar{C}$ ——两份待测样品平行定量测定质量浓度的平均值,单位为纳克每毫升(ng/mL)。

8 分析结果评价

8.1 定性结果评价

8.1.1 阴性结果评价

若添加样品中检出 Δ^9 -四氢大麻酸成分,待测样品中未检出 Δ^9 -四氢大麻酸成分,则阴性结果可靠;若添加样品中未检出 Δ^9 -四氢大麻酸成分,则阴性结果不可靠。

8.1.2 阳性结果评价

若待测样品中检出 Δ^9 -四氢大麻酸成分,且空白样品无干扰,则阳性结果可靠;若待测样品中检出 Δ^9 -四氢大麻酸成分,且空白样品亦呈阳性,则阳性结果不可靠。

8.2 定量结果评价

若待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸质量浓度的双样相对相差小于或等于 20%,定量数据可靠,其质量浓度按两份样品的平均值计算。若待测样品中 Δ^9 -四氢大麻酸质量浓度的双样相对相差大于 20%,定量数据不可靠,应按 7.2 重新提取检验。

8.3 检出限和定量下限

本标准尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的检出限为 4 ng/mL,定量下限为 10 ng/mL。

附录 A
(资料性附录)

Δ^9 -四氢大麻酸的多反应监测(MRM)色谱图

Δ^9 -四氢大麻酸的多反应监测(MRM)色谱图,见图 A.1。

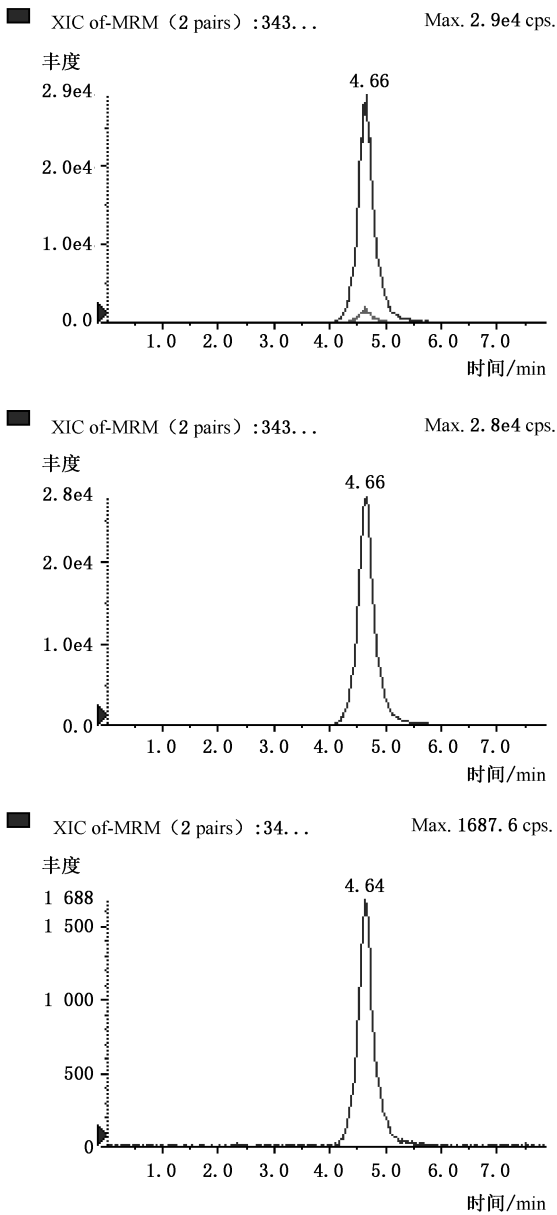


图 A.1 尿液中 Δ^9 -四氢大麻酸的多反应监测(MRM)色谱图

附 录 B
(资料性附录)
线性、精密度和准确度

B.1 Δ^9 -四氢大麻酸的线性方程和线性范围见表 B.1。

表 B.1 线性方程和线性范围

目标物	线性范围/(ng/mL)	线性方程	r
Δ^9 -四氢大麻酸	10~2 000	$y = 0.014x + 0.004$	0.996

B.2 Δ^9 -四氢大麻酸的添加浓度及其精密度和准确度的试验数据,见表 B.2。

表 B.2 Δ^9 -四氢大麻酸的添加浓度及其精密度和准确度的试验数据

目标物	浓度/(ng/mL)	精密度(RSD)/%	准确度/%
Δ^9 -四氢大麻酸	40	10.7	97.4
	100	3.0	105.0
	1 000	2.6	101.7