

中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T ××××—××××

法庭科学 毛发、血液中四氢大麻酚和四氢
大麻酸检验 气相色谱-质谱法

Forensic sciences—Examination methods for tetrahydrocannabinol and
tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair and blood samples
— GC-MS

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国公安部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由全国刑事技术标准化技术委员会毒物分析分技术委员会（SAC/TC 179/SC 1）提出并归口。

本标准起草单位：公安部物证鉴定中心、中国药品生物制品检定所。

本标准主要起草人：张云峰、常靖、崔巍、刘耀、南楠、朱军、于忠山、陈华、左宁。

法庭科学 毛发、血液中四氢大麻酚和四氢大麻酸检验

气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了法庭科学毛发、血液中四氢大麻酚 (Δ^9 -THC) 和四氢大麻酸 (Δ^9 -THC-COOH) 的气相色谱-质谱 (GC-MS) 定性定量检验方法。

本标准适用于法庭科学毛发、血液中四氢大麻酚和四氢大麻酸的定性分析和定量分析。其他可疑样品中四氢大麻酚和四氢大麻酸的定性分析和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。

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

以空白样品和添加样品作对照, 按平行操作的要求, 对毛发、血液进行提取、净化、浓缩及衍生化, 采用气相色谱-质谱法定性定量, 以目标物各组分衍生化产物的保留时间、质谱特征离子碎片峰和相对丰度比作为定性判断依据; 以峰面积为依据, 采用外标法或内标法进行定量分析。

5 试剂和材料

5.1 试剂

实验用水应符合GB/T 6682中规定的三级水。除非另有说明, 在分析中使用的试剂均为分析纯, 试剂包括:

- a) 甲醇;
- b) 乙酸乙酯;
- c) 正己烷;
- d) 乙酸;
- e) 生理盐水;
- f) 乙腈;
- g) 0.1% 十二烷基硫酸钠水溶液;
- h) 1mol/L 氢氧化钠溶液: 称取 4.0g 氢氧化钠, 用水溶解并稀释至 100mL;

- i) 正己烷/乙酸乙酯(体积比 9:1)混合溶剂;
 - j) 衍生化试剂: 五氟丙醇 (PFPOH) 或五氟丙酸酐 (PFPA) 或其他合适的酰化衍生化试剂;
 - k) 标准溶液:
 - 1) 1.0mg/mL 标准物质溶液: 采用市售标准溶液;
 - 2) 10.0 μ g/mL 标准物质工作溶液: 移取 1.0mg/mL 的四氢大麻酚和四氢大麻酸标准物质溶液各 0.1mL, 用甲醇稀释至 10mL, 混匀, 配制成浓度为 10.0 μ g/mL 的单一标准工作溶液, 密封, 置于冰箱中冷藏保存。有效期 1 月。实验中所用其他浓度单一标准工作溶液均由 10.0 μ g/mL 标准物质溶液用甲醇稀释得到;
 - 3) 1.0mg/mL 内标溶液: 根据甲芬那酸内标物 (或其他等效内标物) 的纯度, 称取适量, 用甲醇配制 1.0mg/mL 甲芬那酸内标溶液, 置于冰箱中冷藏保存。有效期 2 个月。或采用市售标准溶液;
 - 4) 10.0 μ g/mL 内标工作溶液: 移取 1.0mg/mL 的甲芬那酸内标物质溶液 0.1mL, 用甲醇稀释至 10mL, 混匀, 配制成浓度为 10.0 μ g/mL 的内标工作溶液, 密封, 置于冰箱中冷藏保存。有效期 1 月。实验中所用其他浓度内标工作溶液均由 10.0 μ g/mL 内标溶液用甲醇稀释得到。
- 注: 特殊情况下可使用对照溶液代替标准溶液。

5.2 材料

材料包括:

- a) 具塞玻璃试管;
- b) 具盖离心管;
- c) 一次性注射器。

6 仪器和设备

仪器和设备包括:

- a) 气相色谱-质谱仪: 配有电子轰击离子源 (EI) 及负化学离子源 (NCI);
- b) 电子天平;
- c) 振荡器;
- d) 离心机;
- e) 超声波清洗器;
- f) 移液器;
- g) 浓缩器;
- h) 烘箱。

7 操作方法

7.1 定性分析

7.1.1 样品提取

7.1.1.1 毛发样品

7.1.1.1.1 毛发清洗

称取毛发检材样品约 200mg，将毛发剪成长约 2cm 碎段，置于小烧杯中，依次用甲醇 10mL、水 10mL、甲醇 10mL 各振荡清洗 2min，清洗 3 次以上，自然晾干，于干净铝箔纸中密封后保存。同时，收集最后一次清洗毛发的甲醇溶液，置于浓缩器上 45℃ 浓缩至干，残留物按 7.1.1.1.3 进行衍生，供 GC 或 GC-MS 分析，结果呈阴性证明毛发外部无污染，否则重新清洗毛发，直至最后清洗溶液呈阴性。

7.1.1.1.2 液液提取

将晾干后的毛发检材样品较碎至 1mm~2mm 左右（或用研磨仪研碎），称取 50mg 置于玻璃试管中（若采用内标法，则再加入内标 1.0μg/mL 甲芬那酸 30μL，混匀），加入 1mol/L 氢氧化钠溶液 1mL，置于烘箱中 95℃ 加热，至毛发样品全部溶解。冷却，将样品转移至具盖离心管中，加入乙酸 1.0mL，混匀，调 pH 值至 3.5，8000r/min 离心 10min，取上清液，加入正己烷/乙酸乙酯(体积比 9:1)混合溶剂 5mL，超声 5min，8000r/min 离心 10min，提取有机相；重复提取一次，合并两次提取的有机相。置于浓缩器上 35℃ 浓缩至干，残留物按 7.1.1.1.3 进行衍生。

7.1.1.1.3 衍生化

取 7.1.1.1.3 中待衍生残留物，加入 PFPA 100μL 或 PFPOH 75μL，置于烘箱中 70℃ 衍生化 30min。冷却，在浓缩器上 35℃ 浓缩至干，用乙酸乙酯 50μL 溶解，作为检材样品衍生液供 GC-MS 分析。

7.1.1.1.4 毛发质控样品制备

称取清洗晾干后的等量空白毛发样品两份，一份作为空白样品，一份添加四氢大麻酚和四氢大麻酸标准物质各 100ng 作为添加样品，与检材平行操作，得到空白样品衍生液和添加样品衍生液供仪器分析。

若采用内标法，可不加添加样品，空白样品（不加内标）与检材平行操作，同时做内标物质和标准物质的衍生化，供仪器分析。

7.1.1.2 血液样品

7.1.1.2.1 血液提取

移取血液检材样品 1.0mL 于具盖离心管中，（若采用内标法，则加入内标 1.0μg/mL 甲芬那酸(MFA) 50μL，混匀），加乙腈 1mL，振荡 15min，8000r/min 离心 10min，取上清液，加 10% 乙酸 0.4mL、生理盐水 2mL，混匀后调 pH 值至 3.5，8000r/min 离心 10min，取上清液，加入有机相正己烷/乙酸乙酯混合溶剂（体积比为 9:1）5mL，振荡 5min，8000r/min 离心 10min，取有机相 4.5mL 并转移至玻璃试管中，在浓缩器上 35℃ 下浓缩至约 1mL，定量转移至玻璃试管中，35℃ 下快速浓缩至干。残留物需按 7.1.1.2.2 进行衍生。

7.1.1.2.2 衍生化

在 7.1.1.2.1 的残留物中，加入 PFPA 20μL 和 PFPOH 5μL，置于烘箱中 70℃ 衍生化 30min，冷却，在浓缩器上 35℃ 浓缩至干，用乙酸乙酯 50μL 溶解，作为检材样品衍生液供 GC-MS 分析。

7.1.1.2.3 血液质控样品制备

取等量空白血液两份于具盖离心管中，一份作为空白样品，一份添加四氢大麻酚和四氢大麻酸标准物质作为添加样品（添加样品的浓度为 50ng/mL），与检材平行操作，得到空白样品衍生液和添加样品衍生液供仪器分析。

若采用内标法，可不加添加样品，空白样品（不加内标）与检材平行操作，同时做内标物质和标准物质的衍生化，供仪器分析。

7.1.2 仪器检测

7.1.2.1 气相色谱-质谱条件

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) 离子源：电子轰击离子源（EI）或负化学离子源（NCI）；
- b) 色谱柱：DB-5MS 毛细色谱柱（30m×0.25mm×0.25 μ m）或等效色谱柱；
注：DB-5MS 为 Agilent 公司产品的商品名称，给出这一信息是为了方便本标准的使用者，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。
- c) 色谱柱温程：80℃保持 2min，以 30℃/min 速率升温至 280℃，保持 16.5min；
- d) 进样口温度：280℃；
- e) 传输线温度：250℃；
- f) 离子源温度：230℃；
- g) 载气：高纯氮；
- h) 柱流量：1mL/min；
- i) 进样方式：分流进样，分流比为 5：1；
- j) 扫描方式：全扫描（SCAN），质谱扫描范围 40amu~700amu；或选择离子监测(SIM)；
- k) 四氢大麻酚和四氢大麻酸五氟丙酸酐衍生物的质谱特征离子碎片峰：见表 1 及表 2。

表 1 电子轰击离子源（EI）检测特征峰值表

目标物	特征峰 1	特征峰 2	特征峰 3
四氢大麻酚五氟丙酸酐衍生物	m/z 73	m/z 377*	m/z 460
四氢大麻酸五氟丙酸酐衍生物	m/z 129	m/z 459*	m/z 622
甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物	m/z 194	m/z 398*	m/z 519
注：*为定量离子。			

表 2 负化学离子源（NCI）检测特征峰值表（未标定量离子）

目标物	特征峰	特征峰
四氢大麻酸五氟丙酸酐衍生物	m/z 602	m/z 622
甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物	m/z 479	m/z 519

7.1.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品衍生液及标准工作溶液衍生液，按 7.1.2.1 的分析条件进样分析。

7.2 定量分析

7.2.1 样品提取

7.2.1.1 毛发样品

毛发检材样品按 7.1.1.1.1 进行清洗晾干后，称取 50mg 两份（若采用内标法，则加入内标甲芬那酸

30ng, 混匀), 按 7.1.1.1.2~7.1.1.1.4 操作。

同时称取清洗晾干后的等量空白毛发样品三份, 其中两份分别添加四氢大麻酚和四氢大麻酸标准物质作为添加样品(添加样品中目标物含量应为检材样品中目标物含量的(100±30)%, 若采用内标法, 则添加样品中还需加入内标甲芬那酸 30ng), 另一份作为空白样品, 与检材样品平行操作, 得到空白样品衍生液和添加样品衍生液供仪器分析。

7.2.1.2 血液样品制备

移取血液检材样品 1.0mL 两份(若采用内标法, 则加入内标甲芬那酸 100ng, 混匀), 按 7.1.1.2 操作。

同时移取等量空白血液三份, 其中两份分别添加四氢大麻酚和四氢大麻酸标准物质作为添加样品(添加样品中目标物含量应为检材样品中目标物含量的(100±30)%, 若采用内标法, 则添加样品中还需加入内标甲芬那酸 100ng), 另一份作为空白样品, 与检材样品平行操作, 得到空白样品衍生液和添加样品衍生液供仪器分析。

7.2.2 仪器检测

7.2.2.1 仪器条件

按 7.1.2.1 规定的条件分析。

7.2.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品衍生液及标准工作溶液衍生液, 按 7.1.2.1 分析条件每个样品进样分析 2~3 次。若要报告测量不确定度, 每个样品分析次数应不少于 6 次。

7.2.3 计算

7.2.3.1 计算含量

7.2.3.1.1 外标-单点法

记录各样品衍生液平行进样 2~3 次的目标物保留时间和峰面积值, 按公式(1)计算含量:

$$W = \frac{A_{\text{样}} \times M_{\text{添}} \times V_{\text{添}}}{A_{\text{添}} \times M_{\text{样}} \times V_{\text{样}}} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

W —检材样品中目标物的含量, 单位为纳克每毫克 (ng/mg) 或纳克每毫升 (ng/mL);

$A_{\text{样}}$ —检材样品衍生液中目标物峰面积平均值;

$M_{\text{添}}$ —添加样品中标准物添加量, 单位为纳克 (ng);

$V_{\text{样}}$ —检材样品的定容体积, 单位为毫升 (mL);

$A_{\text{添}}$ —添加样品衍生液中目标物峰面积平均值;

$M_{\text{样}}$ —检材样品的取样量, 单位为毫克 (mg) 或毫升 (mL);

$V_{\text{添}}$ —添加样品的定容体积, 单位为毫升 (mL)。

7.2.3.1.2 内标-单点法

记录各样品衍生液平行进样 2~3 次的目标物保留时间和峰面积值, 按公式(2)计算校正因子, 按

公式（3）计算含量：

$$f = \frac{M_{\text{标}} \times A_{\text{内}}}{M_{\text{内}} \times A_{\text{标}}} \dots\dots\dots(2)$$

式中：

f —校正因子；

$M_{\text{标}}$ —添加样品中目标物添加量，单位为纳克(ng)；

$A_{\text{内}}$ —添加样品中内标物添加峰面积平均值；

$M_{\text{内}}$ —添加样品中内标物添加量，单位为纳克(ng)；

$A_{\text{标}}$ —添加样品中目标物添加峰面积平均值。

$$W = \frac{f \times A_{\text{样}} \times M_{\text{添}} \times V_{\text{添}}}{A_{\text{添}} \times M_{\text{样}} \times V_{\text{样}}} \dots\dots\dots(3)$$

式中：

W —检材样品中目标物的含量，单位为纳克每毫克（ng/mg）或纳克每毫升（ng/mL）；

f —校正因子；

$A_{\text{样}}$ —检材样品衍生液中目标物平均峰面积；

$A_{\text{添}}$ —添加样品衍生液中目标物平均峰面积；

$M_{\text{添}}$ —添加样品中目标物添加量，单位为纳克(ng)；

$M_{\text{样}}$ —检材样品的取样量，单位为纳克每毫克（ng/mg）或纳克每毫升（ng/mL）；

$V_{\text{添}}$ —添加样品的定容体积，单位为毫升(mL)；

$V_{\text{样}}$ —检材样品的定容体积，单位为毫升(mL)。

7.2.2.3.2 计算相对相差

记录两份平行操作的检材样品中目标物的含量，按公式（4）计算相对相差：

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

式中：

RD —相对相差，用百分比（%）表示；

X_1 、 X_2 —两个检材样品平行定量测定的含量数值；

\bar{X} —两个检材样品平行定量测定含量的平均值。

8 结果评价

8.1 定性结果评价

8.1.1 阳性结果评价

在相同条件下进行样品测定时，检材样品中目标物的色谱峰保留时间与标准溶液一致（相对误差在±1%之内），且在扣除背景后的检材样品质谱图中，目标物的质谱特征离子与标准溶液一致，特征离子丰度比与浓度接近的标准溶液相比，相对偏差不超过表3规定的范围，空白样品无干扰，则可判断检材

样品中检出目标物。

表 3 特征离子丰度比的最大允许相对偏差范围

特征离子丰度比	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
最大允许相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

8.1.2 阴性结果评价

检材样品未出现与目标物标准溶液一致的色谱峰,且添加样品中出现与目标物标准溶液一致的色谱峰,空白样品无干扰,则可判断检材样品中未检出目标物。

8.2 定量结果评价

如果目标物含量的 $RD \leq 20\%$,定量数据可靠,其含量按两份检材的平均值计算。如果检材样品中目标物含量的 $RD > 20\%$,定量数据不可靠,应按7.2重新提取检验。

本方法的相关实验数据及谱图参加附录A和附录B。

附 录 A
(资料性附录)
相关实验数据

A.1 毛发样品相关线性范围:

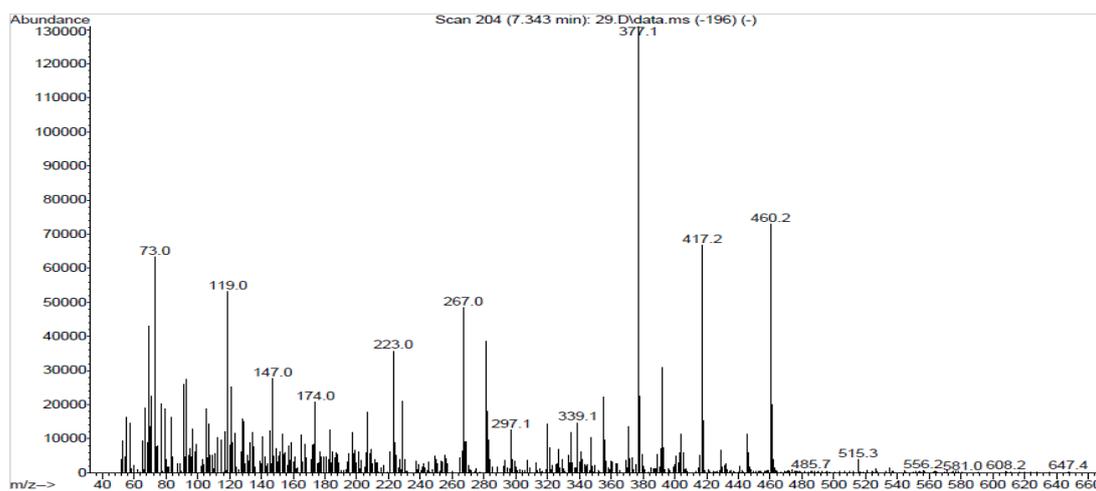
- a) 采用 EI 作为离子源检测四氢大麻酚的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 1ng/mg~100ng/mg;
- b) 采用 EI 作为离子源检测四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 1ng/mg~100ng/mg;
- c) 采用 NCI 作为离子源检测四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 0.5ng/mg~50ng/mg。
不同提取方法和仪器检测线性范围可能有所差异, 均属正常。

A.2 血液样品相关线性范围及检出限:

- a) 采用 EI 作为离子源检测四氢大麻酚的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 1ng/mL~1000ng/mL;
- b) 采用 EI 作为离子源检测四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 1ng/mL~1000ng/mL;
- c) 采用 NCI 作为离子源检测四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的线性范围在 0.5ng/mL~500ng/mL;
- d) 本方法四氢大麻酚五氟丙酸酐衍生物的检出限为 1ng/mg 或 1ng/mL (EI); 四氢大麻酸五氟丙酸酐衍生物的检出限为 1ng/mg 或 1ng/mL (EI)、1ng/mg 或 1ng/mL (NCI)。
不同提取方法和仪器检测线性范围可能有所差异, 均属正常。

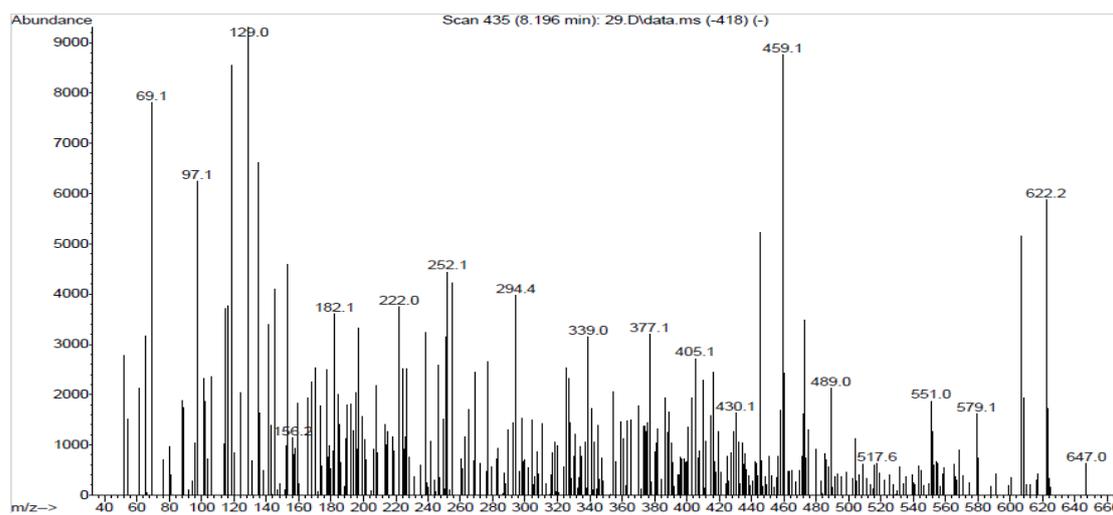
附录 B
(资料性附录)
相关谱图

B.1 四氢大麻酚的五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图见图 B.1。



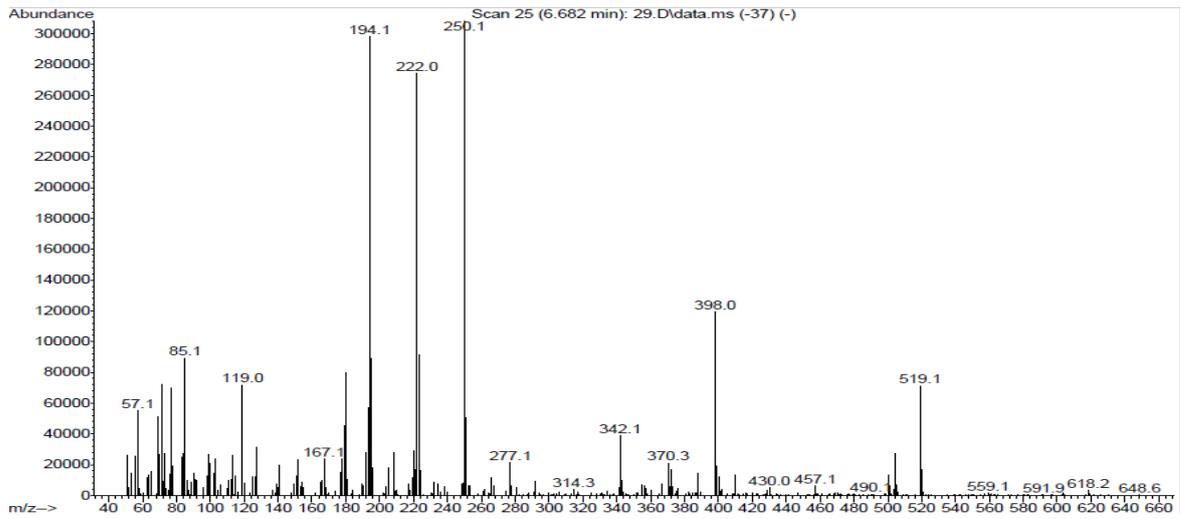
图B.1 四氢大麻酚的五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图

B.2 四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图见图 B.2。



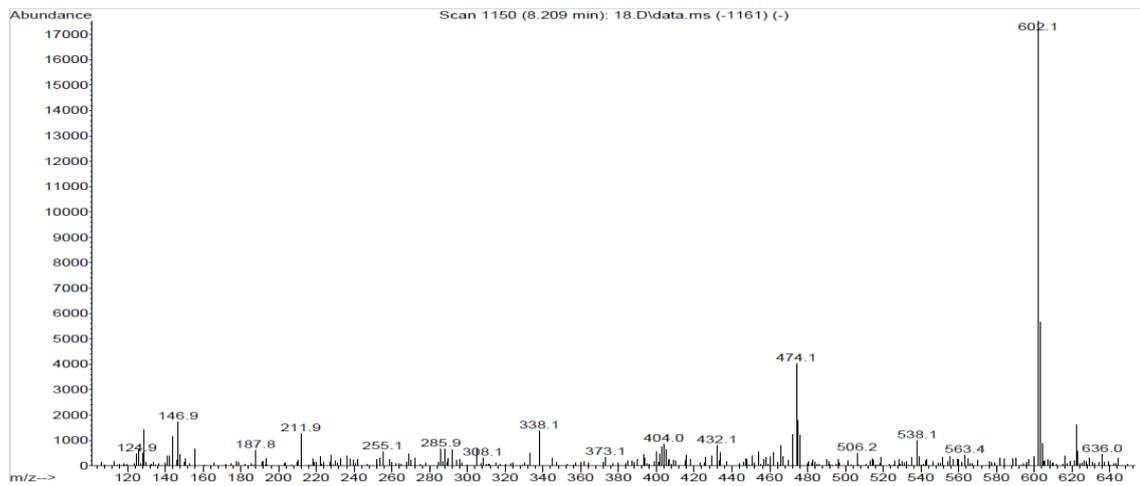
图B.2 四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图

B.3 甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图见图 B.3。



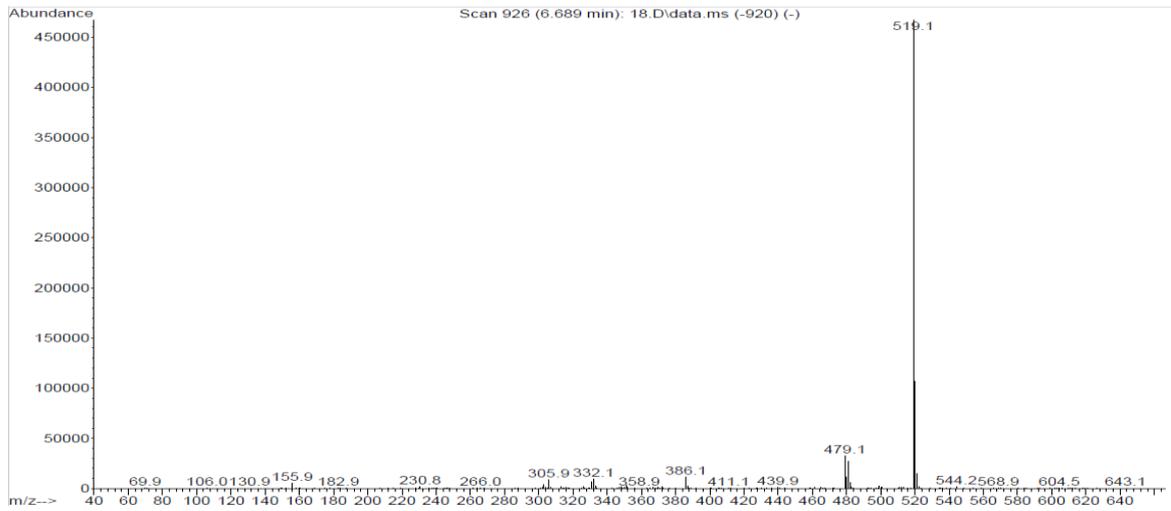
图B.3 甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-EI 分析谱图

B.4 四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的GC-MS-NCI分析谱图见图B.4。



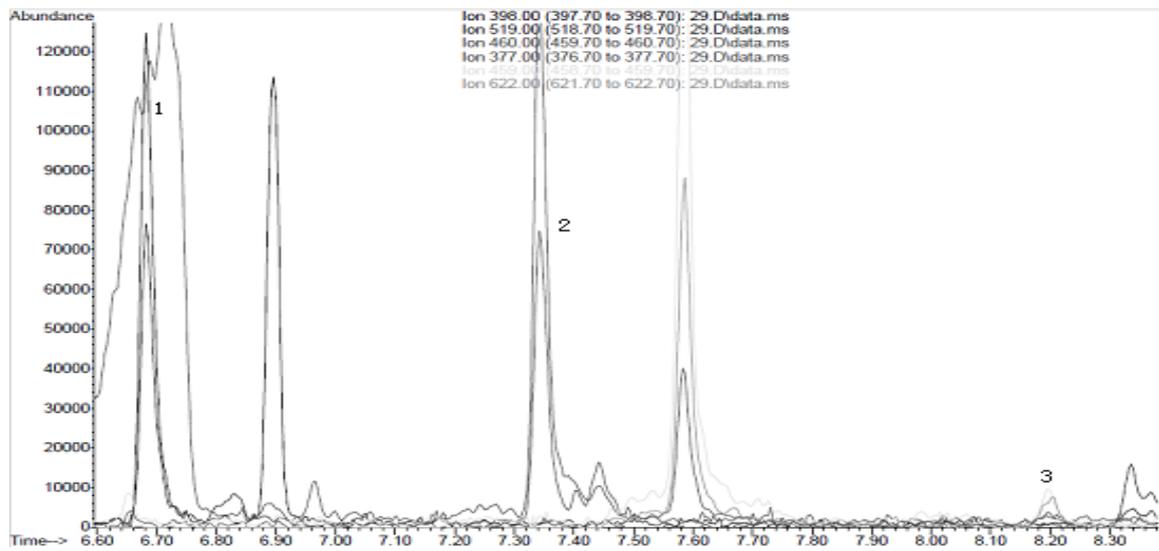
图B.4 四氢大麻酸的五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-NCI 分析谱图

B.5 甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-NCI 分析谱图见图 B.5。



图B.5 甲芬那酸五氟丙酸酐衍生物的 GC-MS-NCI 分析谱图

B.6 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THCA、MFA 的衍生物 EI 检测总离子流色谱图见图 B.6。

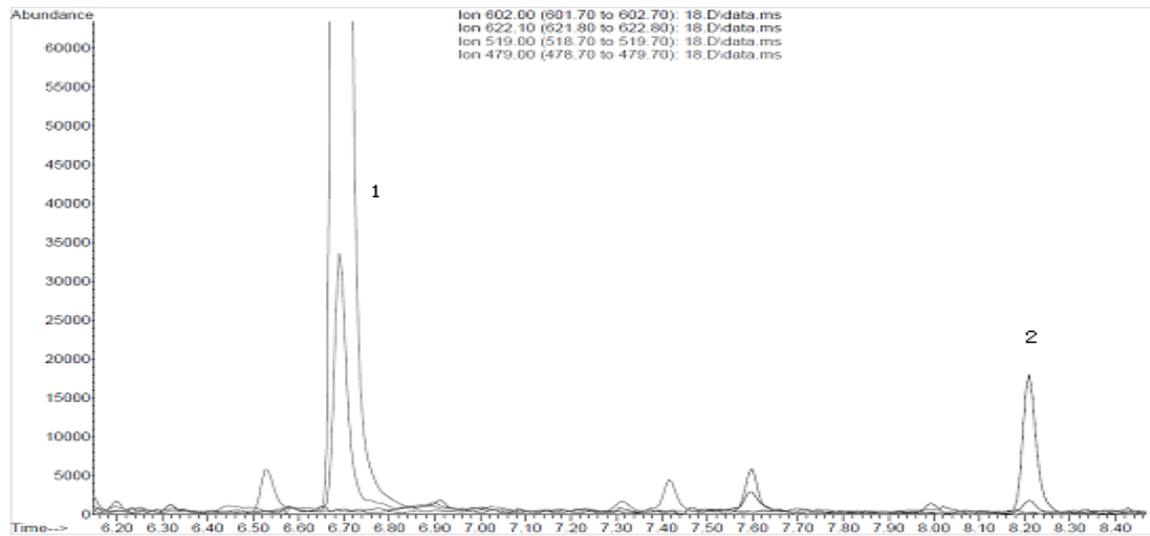


说明:

- 1-MFA 衍生物;
- 2- Δ^9 -THC 衍生物;
- 3- Δ^9 -THCA 衍生物。

图B.6 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THCA、MFA 的衍生物 EI 检测总离子流色谱图

B.7 Δ^9 -THCA、MFA 的衍生物 NCI 提取离子色谱图见图 B.7。



说明:

1-MFA 的衍生物;

2- Δ^9 -THCA 的衍生物。

图B.7 Δ^9 -THCA、MFA 的衍生物 NCI 提取离子色谱图