ICS 13.310
A 92

GA

中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T ××××—××××

法庭科学 生物检材中地芬尼多检验 气相色谱和气相色谱-质谱法

Forensic sciences—Examination methods for diphenidol in biological samples—GC and 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：中国人民公安大学、公安部物证鉴定中心、山西医科大学。

本标准主要起草人：何洪源、于忠山、廉洁、贠克明、尉志文。

法庭科学 生物检材中地芬尼多检验 气相色谱和气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了法庭科学生物检材（血、尿、肝、肾、胃及胃内容等）中地芬尼多的气相色谱（GC）检验方法和气相色谱-质谱（GC-MS）检验方法。

本标准适用于法庭科学生物检材中地芬尼多的定性分析和定量分析。其他可疑样品中地芬尼多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，对生物检材进行提取、净化及浓缩后，采用气相色谱法定量、气相色谱-质谱法定性定量，以保留时间、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) 无水乙醇；
b) 甲醇；
c) 二氯甲烷；
d) 乙酸乙酯；
e) 磷酸二氢钠；
f) 磷酸氢二钠；
g) 硼砂；
h) 氢氧化钠；
i) 磷酸盐缓冲液（pH 值 6）：取磷酸氢二钠（$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$）试剂 8.812g，磷酸二氢钠（$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$）试剂 27.37g，加入 200mL 水溶解，稀释至 1000mL；

j) 硼砂-氢氧化钠缓冲液（pH 值 10）：取硼砂（$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$）试剂 2.38g, 氢氧化钠试剂 0.86g, 加入 100mL 水溶解，并用水稀释至 500mL；

k) 标准溶液：

1) 1.0mg/mL 标准物质溶液：根据地芬尼多标准物质的纯度，称取适量，用甲醇配制 1.0mg/mL 地芬尼多标准物质溶液，置于冰箱中冷藏保存。有效期 6 个月。或采用市售标准溶液；

2) 0.1mg/mL 标准工作溶液：移取 1.0mg/mL 的地芬尼多标准物质溶液 1.0mL，用甲醇定容至 10mL，混匀，密封，置于冰箱中冷藏保存。有效期 3 个月。实验中所用其他浓度的标准工作溶液均由 1.0mg/mL 标准物质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) 具盖离心管；

b) 具塞玻璃试管；

c) 固相萃取柱：Oasis® HLB 固相萃取柱或其他等效固相萃取柱，使用前依次用甲醇、水活化。

注：Oasis® HLB 柱是 Waters 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。

6 仪器和设备

仪器和设备包括：

a) 气相色谱仪：配有氮磷检测器（NPD）；

b) 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源（EI）；

c) 移液器；

d) 电子天平；

e) 超声振荡器；

f) 振荡器；

g) 离心机；

h) 浓缩器。

7 操作方法

7.1 定性分析

7.1.1 样品提取

7.1.1.1 液液萃取

移取血液等液体检材样品1.0mL～2.0mL，或称取铰碎的肝脏等固体检材样品1.0g～2.0g于具盖离心管中，加入乙酸乙酯或二氯甲烷5.0mL～10.0mL，振荡5min，8000r/min离心10min，分离有机相，重复提取一次，合并两次提取的有机相，置于浓缩器上50℃浓缩至干，残留物用无水乙醇50μL～100μL溶解，作为检材样品提取液供仪器分析。

7.1.1.2 固相萃取

移取血液等液体检材样品 1.0mL～2.0mL，或称取绞碎的肝脏等固体检材样品 1.0g～2.0g 于具盖离心管中，加入 pH 值 6 的磷酸缓冲液 5mL～10mL，混匀，超声 15min，8000r/min 离心 20min，取上清

液转移至活化好的固相萃取柱中，控制上清液过柱流速为0.5mL/min，再以3mL 5% 甲醇/水(体积比5:95)淋洗；用4mL 二氯甲烷洗脱，收集洗脱液置于50℃浓缩仪上吹干，残留物用50μL～100μL 无水乙醇溶解，供仪器分析。

7.1.1.3 质控样品制备

取等量相似基质的空白样品（若无相似基质空白样品可用血液替代）两份于具盖离心管中，一份作为空白样品，一份添加地芬尼多标准物质，作为添加样品，添加样品的浓度为1.0μg/mL(g)，与检材样品平行操作，得到空白样品提取液和添加样品提取液供仪器分析。

7.1.2 仪器检测

7.1.2.1 仪器条件（气相色谱-质谱）

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：DB-5MS 柱（30m×0.32mm×0.25μm）或等效色谱柱；

注：DB-5MS 柱是 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。

b) 色谱柱温程：100℃保持 2min，以 15℃/min 速率升温至 280℃，保持 17min；
c) 进样口温度：280℃；
d) 传输线温度：230℃；
e) 离子源温度：200℃；
f) 载气：高纯氦气；
g) 柱流量：1mL/min～2mL/min；
h) 分流比：5:1～50:1；
i) 质量扫描范围：40amu～450amu；
j) 扫描方式：全扫描（Scan）。

7.1.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品提取液及标准工作溶液，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

移取血液等液体检材样品1.0mL～5.0mL，或称取铰碎的肝脏等固体检材样品1.0g～5.0g两份，按7.1.1进行操作。

另取等量相似基质的空白样品三份，其中两份分别添加地芬尼多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±50)% ），另一份作为空白样品，与检材样品平行操作，得到空白样品提取液和添加样品提取液供仪器检测。

7.2.2 仪器检测

7.2.2.1 仪器条件

7.2.2.1.1 气相色谱条件

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) 色谱柱： DB-1 柱（30m×0.32mm×0.25μm）或等效色谱柱；

注：DB-1 柱是 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。

b) 色谱柱温程：200℃保持 1min，以 10℃/min 速率升温至 280℃，保持 10min；
c) 进样口温度：280℃；
d) 检测器温度：300℃；
e) 载气：氮气；
f) 分流比：5:1～50:1；
g) 柱流量：1.0mL/min～2.0mL/min。

7.2.2.1.2 气相色谱-质谱条件

按 7.1.2.1 规定的条件分析。

7.2.2.2 进样

分别吸取检材、空白和添加样品提取液及标准工作溶液，按 7.2.2.1 的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

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

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

式中：
W—检材样品中目标物的含量，单位为微克每克（μg/g）或微克每毫升（μg/mL）；
$A_{样}$—检材样品提取液中目标物峰面积平均值；
$M_{添}$—添加样品中目标物添加量，单位为微克（μg）；
$V_{样}$—检材样品的定容体积，单位为毫升（mL）；
$A_{添}$—添加样品提取液中目标物峰面积平均值；
$M_{样}$—检材样品的取样量，单位为克（g）或毫升（mL）；
$V_{添}$—添加样品的定容体积，单位为毫升（mL）。

7.2.3.2 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（2）计算相对相差：

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\overline{X}} \times 100\% \quad \text{.....(2)}$$

式中：
RD ——相对相差，用百分比（%）表示；
X_1、X_2——两份检材样品平行定量测定的含量数值；
$\overline{X}$ ——两份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 1 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 1 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。方法检出限参见附录 A。

8.2 定量结果评价

如果目标物含量的*RD*≤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。

地芬尼多相关材料及谱图参见附录A。

附　录　A
（资料性附录）
地芬尼多相关资料及谱图

A.1　地芬尼多的相关资料

（Diphenidol）化学名：1,1-二苯基-4-(1-哌啶基)-1-丁醇盐酸盐,分子式：C21H27NO,分子量：309.45，化学结构式见图 A.1。地芬尼多具有镇吐和抗眩晕作用，多用于治疗椎基底动脉供血不足、美尼尔综合症、颈性眩晕等，每片 25mg。该药从胃肠道吸收，1.5-3h 可达血浆浓度高峰。单剂顿服 100mg 后 2h 达峰浓度为 0.35μg/mL；而顿服 1200mg（48 片）后的峰浓度可达 3.97μg/mL。

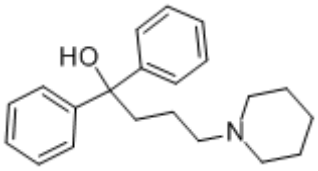
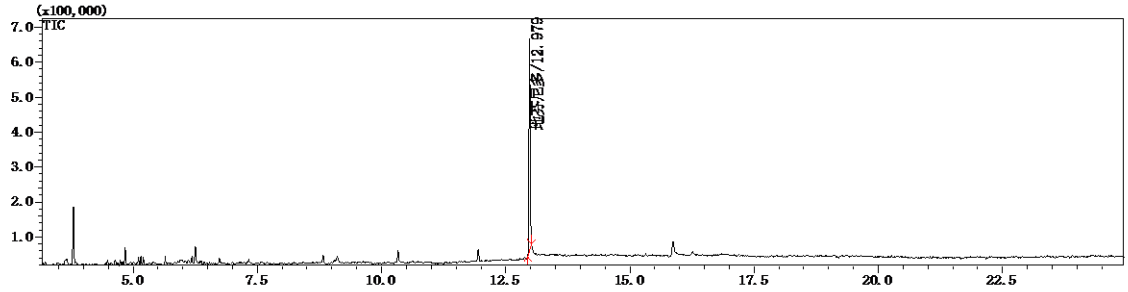


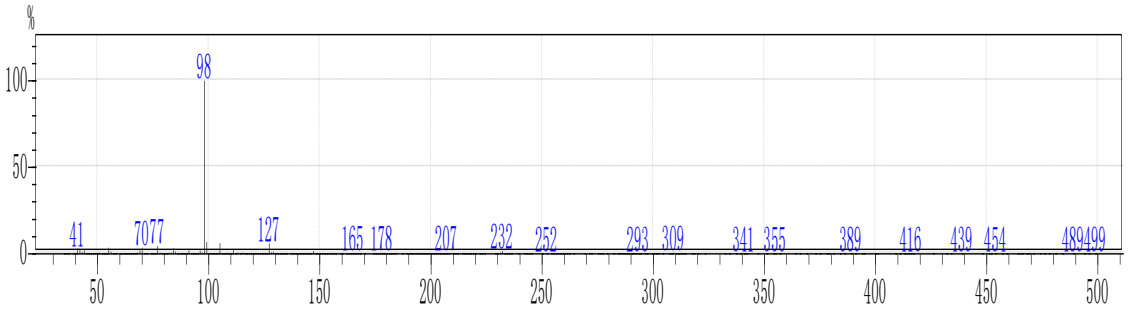
图 A.1　地芬尼多化学结构式

A.2　地芬尼多的相关谱图

地芬尼多的相关谱图见 A.2 和 A.3。



图A.2　地芬尼多的总离子流图



图A.3　地芬尼多的质谱图

A.3　检出限

GC-MS分析，血液中地芬尼多的检出限200ng/mL。