

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 586—2023

毛发中依托咪酯、依托咪酯酸的测定 液相色谱-串联质谱法

Detection of Etomidate and Etomidate acid in hair by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry

2023-10-14 发布

2023-10-20 实施

广西标准化协会 发 布

前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由广西壮族自治区禁毒委员会办公室提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西警察学院、中国药科大学、广西金桂司法鉴定中心、广东金域司法鉴定所、南宁市公安局禁毒支队毒品检验技术鉴定科、梧州市公安局物证鉴定所、贺州市公安局物证鉴定所、广西公安厅禁毒情报技术中心、广州市公安局禁毒支队五大队、南宁市公安局物证鉴定所、柳州市公安局物证鉴定所、珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司、未名环境分子诊断（广东）有限公司、广西匡品电子科技有限公司。

本文件主要起草人：莫旖、陆莉冬、刘遥、李骏波、李可、张礎静、陈梦伊、何国标、李秋兰、刘娟、钟伟健、詹益鑫、吴君金、李秋芳、杨艳芳、李海燕、覃圣予、吴柳姣、李承虎、廖雪晴、蒙卫宁、伍文坚、赵晓健、廖红祝、林振雄、黄婵媛、彭江鸣、何伟仪、莫岳、覃华开、何晓东、谢晓英、诸葛桂英、韦崇林、何秋义、李想、蔡成元、张巍、黄鸿杰、万勇、刘天佑、林晓、陈朝升、李可欣、陈乐、郭一禛、朱一丹。

毛发中依托咪酯、依托咪酯酸的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了使用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)测定毛发中依托咪酯、依托咪酯酸的方法。
本文件适用于毛发中依托咪酯、依托咪酯酸的定性分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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

毛发检材经清洗、研磨后,用甲醇超声提取,用液相色谱-串联质谱进行检测,以保留时间、质谱特征离子对和离子对相对丰度比进行定性分析,以平行操作的空白样品、空白添加样品作为对照进行结果评价。

5 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

5.1 试剂

- 5.1.1 甲醇:色谱纯。
- 5.1.2 甲酸溶液:色谱纯。
- 5.1.3 乙酸铵:色谱纯。
- 5.1.4 丙酮。

5.2 对照品

- 5.2.1 依托咪酯标准品,含量 $\geq 98\%$,见附录 A。
- 5.2.2 依托咪酯酸标准品,含量 $\geq 98\%$,见附录 A。
- 5.2.3 甲氧那明(内标物),含量 $\geq 98\%$,见附录 A。

5.3 溶液配制

5.3.1 流动相配制如下:

- 含 0.1%甲酸的 5mmol/L 乙酸铵水溶液(以配制 500mL 为例):称取 0.1925 g 乙酸铵(5.1.3),加水溶解后,再加入 0.5 mL 甲酸(5.1.2),用水稀释至 500 mL,混匀,为流动相 A;
- 甲醇为流动相 B。

5.3.2 100 $\mu\text{g/mL}$ 依托咪酯、依托咪酯酸标准液：准确称取依托咪酯（5.2.1）、依托咪酯酸（5.2.2）有证标准物质 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 依托咪酯、依托咪酯酸标准液；再使用甲醇稀释制得。密封，置于冰箱中冷冻保存，保存时间 12 个月。

5.3.3 100 ng/mL 依托咪酯、依托咪酯酸混合标准工作溶液：移取 100 $\mu\text{g/mL}$ 依托咪酯、依托咪酯酸标准液（5.3.2）各 100 μL 置于 10mL 容量瓶中，加入适量甲醇溶解并定容至刻度，配制成 1 $\mu\text{g/mL}$ 依托咪酯、依托咪酯酸混合标准物质中间液；移取 1 $\mu\text{g/mL}$ 依托咪酯、依托咪酯酸中间液 1mL 置于 10mL 容量瓶中，加入适量甲醇溶解并定容至刻度，配制成 100ng/mL 依托咪酯、依托咪酯酸混合标准物质工作溶液。

5.3.4 1.0mg/mL 甲氧那明标准储备溶液：称取甲氧那明（5.2.3）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。

5.3.5 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 甲氧那明标准工作溶液：移取 1.0 mg/mL 甲氧那明标准储备溶液（5.3.4）100 μL 置于 10 mL 容量瓶中，加入适量甲醇溶解并定容至刻度，配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 甲氧那明标准工作溶液；移取 10 $\mu\text{g/mL}$ 甲氧那明标准工作溶液 1 mL 置于 10 mL 容量瓶中，加入适量甲醇溶解并定容至刻度，配制成 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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。

5.3.6 2.0 ng/mL 甲氧那明标准工作溶液：移取 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 甲氧那明标准工作溶液（5.3.5）200 μL 置于 10 mL 容量瓶中，加入甲醇定容至刻度，配制成 20 ng/mL 甲氧那明标准工作溶液；移取 20 ng/mL 甲氧那明标准工作溶液 1 mL 置于 10 mL 容量瓶中，加入适量甲醇溶解并定容至刻度，配制成 2.0 ng/mL 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。

5.4 材料

5.4.1 具盖离心管。

5.4.2 具盖研磨管。

5.4.3 氮气：纯度 $\geq 99.99\%$ 。

5.4.4 有机系微孔滤膜，孔径为 0.22 μm 。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪（LC-MS/MS）：配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量 0.1 mg。

6.3 高速离心机：转速 $\geq 10\,000\text{ r/min}$ 。

6.4 超声波清洗仪。

6.5 冷冻研磨仪。

6.6 恒温水浴锅。

6.7 微量移液器：200 μL 。

6.8 移液管或移液器：1.0 mL。

6.9 容量瓶：10 mL。

7 分析步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 毛发清洗

毛发样品依次用适量的水和丙酮（以没过样品为宜）各振荡洗涤两次，晾干后剪成约 1mm 段，置于冷冻研磨仪中粉碎 4 min，呈粉末状。

7.1.2 案件检材

称取毛发粉末20mg2份，分别置于2个离心管中，向离心管中各加入1.0mL内标甲氧那明标准工作液（5.3.6），超声30 min；再于10 000 r/min条件下离心5 min，移取上清液经有机系微孔滤膜过滤后进样。

7.1.3 空白样品

空白毛发样品按7.1.1的要求处理后，取20 mg按7.1.2的要求与案件检材同步操作。

7.1.4 空白添加样品

空白毛发样品按7.1.1的要求处理后，取20 mg添加50 μ L依托咪酯、依托咪酯酸混合标准工作溶液（5.3.3），按7.1.2的要求与案件检材同步操作。

7.2 仪器检测

7.2.1 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：

- 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μ m) 或其他等效柱；
- 流动相：A为5 mmol/L 乙酸铵和0.1%甲酸缓冲液，B为甲醇，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 (%)
0.00	95	5
0.50	70	30
3.50	70	30
5.00	30	70
6.00	30	70
6.50	5	95
8.00	5	95
8.10	95	5
10.00	95	5

- 流速：0.3 mL/min；
- 柱温：35 $^{\circ}$ C；
- 进样量：1.0 μ L。

7.2.2 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、优化（参考值见表2）：

- 离子源：电喷雾电离-正离子模式（ESI+）；
- 检测方式：多反应监测（MRM）；
- 离子源电压（IS）：4 800V；
- 碰撞气（CAD）、气帘气（CUR）、雾化气（GS1）、辅助气（GS2）均为氮气，使用前调节各气流流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
- 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。

7.2.3 定性离子对和保留时间

在以上色谱、质谱条件下，依托咪酯、依托咪酯酸和内标物甲氧那明的定性离子对、优化条件和保留时间见表2。依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明的MRM色谱图见附录B图B.1～图B.3。

表2 依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明的定性离子对、优化条件和保留时间

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	保留时间 (min)
依托咪酯 (Etomidate)	244. 90	141. 10	5	15	5. 70
		95. 00	6	34	
依托咪酯酸 (Etomidate acid)	217. 10	113. 20	5	14	1. 57
		95. 00	5	39	
甲氧那明 (Orthoxine)	180. 20	121. 08	10	24	1. 95
		148. 80	10	16	

7.2.4 进样

分别吸取案件检材、空白样品和空白添加样品提取液，按7.2.1、7.2.2的条件进样分析。

7.2.5 记录

记录案件检材、空白样品和空白添加样品中依托咪酯和依托咪酯酸可疑色谱峰的保留时间、特征离子和离子对相对丰度比。

7.2.6 定性判断依据

7.2.6.1 以保留时间、质谱特征离子对和离子对相对丰度比作为定性判断依据。

7.2.6.2 如果案件样品中出现依托咪酯和依托咪酯酸的两对定性离子对的特征色谱峰，其保留时间与空白添加样品中相应标准物质的色谱峰保留时间一致（相对误差在±2.5%内），且定性离子对相对丰度比与浓度相近空白添加样品的离子对相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 离子对相对丰度比的最大允许相对误差范围

离子对相对丰度比	>50%	20%<X≤50%	10%<X≤20%	≤10%
最大允许的相对误差	±20%	±25%	±30%	±50%

8 结果评价

8.1 阴性结果评价

如果案件检材中仅检出甲氧那明、未检出依托咪酯和依托咪酯酸，且空白对照样品中检出甲氧那明、未检出依托咪酯和依托咪酯酸，则阴性结果可靠。

8.2 阳性结果评价

如果案件检材中检出依托咪酯或依托咪酯酸并检出甲氧那明，且空白对照样品仅检出甲氧那明、未检出依托咪酯和依托咪酯酸，及空白添加样品同时检出依托咪酯、依托咪酯酸、甲氧那明，则阳性结果可靠。

8.3 结果表述

8.3.1 阴性结果表述为：从案件检材中未检出依托咪酯和（或）依托咪酯酸成分。

8.3.2 阳性结果表述为：从案件检材中检出依托咪酯和（或）依托咪酯酸成分。

9 检出限

依托咪酯的方法检出限为0.05 ng/mg，依托咪酯酸的方法检出限为0.05 ng/mg。



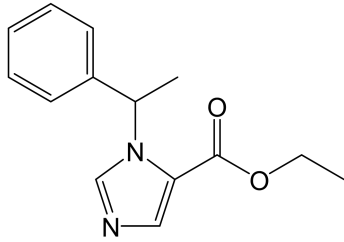
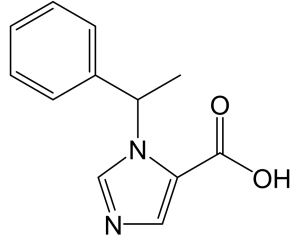
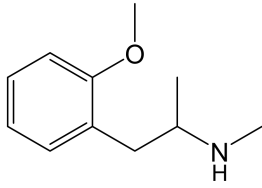
附 录 A

(资料性)

依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明基本信息

依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明基本信息见表A. 1。

表 A. 1 依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明基本信息表

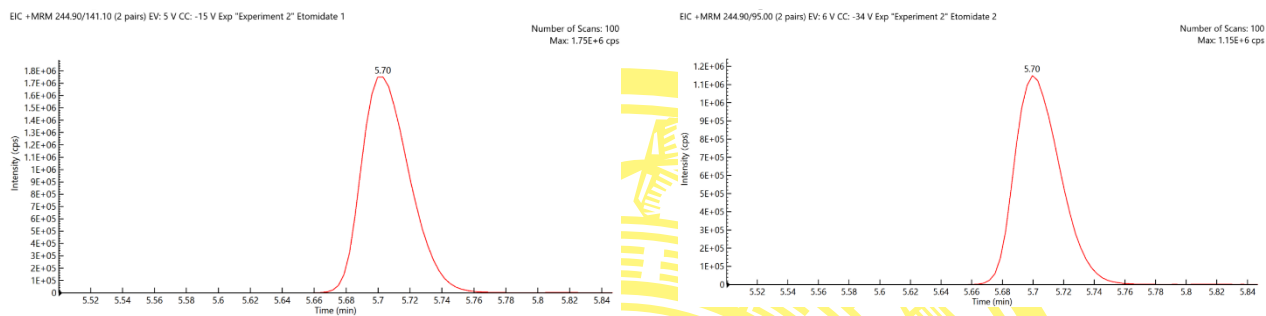
化合物	化学式	结构式	CAS 编号
依托咪酯 (Etomidate)	$C_{14}H_{16}N_2O_2$		33125-97-2
依托咪酯酸 (Etomidate acid)	$C_{12}H_{12}N_2O_2$		56649-48-0
甲氧那明 (methoxyphenamine)	$C_{11}H_{17}NO$		93-30-1

附录 B

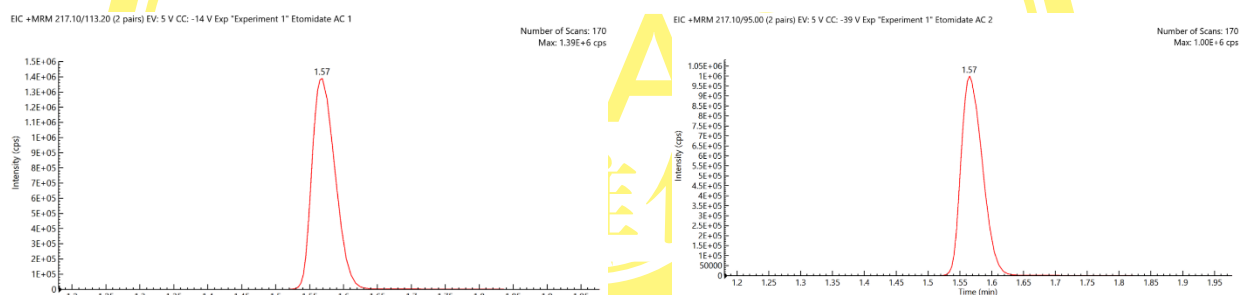
(资料性)

依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明的 MRM 色谱图

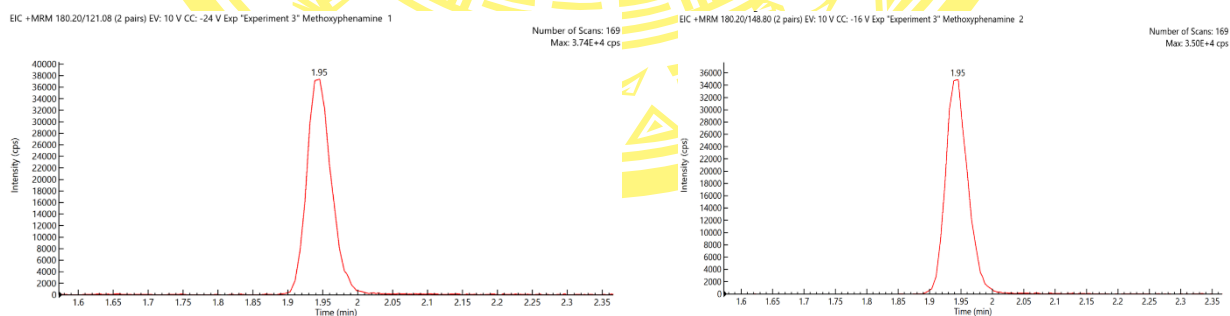
依托咪酯、依托咪酯酸和甲氧那明的 MRM 色谱图见图 B. 1～图 B. 3。



图B. 1 依托咪酯的 MRM 色谱图



图B. 2 依托咪酯酸的 MRM 色谱图



图B. 3 甲氧那明的 MRM 色谱图

中华人民共和国团体标准

毛发中依托咪酯、依托咪酯酸的测定 液相色谱-串联质谱法

T/GXAS 586—2023

广西标准化协会统一印制

版权专有 侵权必究