

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 2967—2019

人体尿液中可卡因的测定 液相色谱-高分 辨质谱法

Determination of cocaine content in human urine — LC-HRMS method

地方标准信息服务平台

2019 - 05 - 27 发布

2019 - 06 - 17 实施

吉林省市场监督管理厅

发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 和 GB/T 20001.4-2015 给出的规则起草。

本标准由通化海关（原通化出入境检验检疫局）提出。

本标准由长春海关（原吉林出入境检验检疫局）归口。

本标准起草单位：通化海关（原通化出入境检验检疫局）。

本标准主要起草人：李忠起、赵巍巍、李洪丽、史晓丽、曹云波。

地方标准信息服务平台

人体尿液中可卡因的测定 液相色谱-高分辨质谱法

1 范围

本标准规定了人体尿液中可卡因的测定 液相色谱-高分辨质谱法的原理、试剂和材料、仪器与设备、样品、试验步骤、试验数据处理、精密度、质量保证和控制及试验报告。

本标准适用于人体尿液中可卡因的定性分析和定量测定。

本方法可卡因的测定低限为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 。

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，仅所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

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 原理

人体尿液中的可卡因经HLB固相萃取柱净化，用液相色谱-高分辨质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水，用玻璃容器盛装。

4.1 甲酸铵 (HCOONH_4)：CAS 号 540-69-2。

4.2 碳酸氢钠 (Na_2CO_3)：CAS 号 144-55-8。

4.3 硼酸 (H_3BO_3)：CAS 号 10043-35-3。

4.4 氢氧化钠 (NaOH)：CAS 号 1310-73-2。

4.5 乙腈 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$)：色谱纯，CAS 号 75-05-8。

4.6 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯，CAS 号 67-56-1。

4.7 甲酸 (CH_2O_2)：色谱纯，CAS 号 64-18-6。

4.8 乙腈-甲醇溶液：乙腈 (4.5) 和甲醇 (4.6) (9+1, v+v)，混匀。

4.9 碳酸氢钠溶液：称取 8.4 g 碳酸氢钠 (4.2)，以水溶解，定容至 1.0 L，配制成 0.1 mol/L 碳酸氢钠溶液，用塑料容器盛装。

4.10 硼酸溶液：称取 6.2 g 硼酸 (4.3)，以水溶解，定容至 1.0 L，配制成 0.1 mol/L 硼酸溶液。

4.11 氢氧化钠溶液：称取 4.0 g 氢氧化钠 (4.4)，以水溶解，定容至 1.0 L，配制成 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液，用塑料容器盛装。

4.12 碳酸氢钠-硼酸缓冲溶液：碳酸氢钠溶液 (4.9) 和硼酸溶液 (4.10) 等体积混匀，由氢氧化钠溶液 (4.11) 调节该混合溶液的 pH 值为 9.5，用 pH 计 (5.2) 测定 pH 值，用塑料容器盛装。

- 4.13 甲酸-甲酸铵溶液：量取 1.0 mL 甲酸（4.7），用少量水溶解，作为溶液 A；称取 0.63 g 甲酸铵（4.1），用少量水溶解，作为溶液 B。将溶液 A 和溶液 B 混匀，定容至 1.0 L，配制成含有 0.1 %甲酸和 10 mmol/L 甲酸铵的水溶液。
- 4.14 定容液：乙腈（4.5）和甲酸-甲酸铵溶液（4.13）（5+95，v+v），混匀。
- 4.15 可卡因标准物质：可卡因标准溶液 1.0 mg/mL，CAS 号 53-21-4。
- 4.16 可卡因标准储备液：准确吸取 1.0 mL 可卡因标准溶液（4.15）置于 10 mL 棕色容量瓶中，以乙腈（4.5）溶解，并定容至刻度，配制成可卡因浓度为 100.0 $\mu\text{g/L}$ 的标准储备溶液，0~4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，备用，有效期为 6 个月。
- 4.17 可卡因标准工作液：准确移取适量的可卡因标准储备液（4.16），用定容液（4.14）稀释成合适浓度的可卡因标准工作液，现用现配。
- 4.18 亲水-亲酯固相萃取柱（HLB 固相萃取柱）：6 mL，500 mg 或相当者，使用前依次用 1 mL 甲醇（4.6）、1 mL 水、1 mL 碳酸氢钠-硼酸缓冲溶液（4.12）活化。
- 4.19 有机相微孔滤膜：0.22 μm 。

5 仪器与设备

- 5.1 液相色谱-高分辨质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 pH 计。
- 5.3 旋转蒸发仪。
- 5.4 氮吹仪。
- 5.5 电子天平：感量 0.01 g 和 0.001 g。
- 5.6 涡旋混合器。

6 样品

6.1 样品储存

采集人体尿液为样品，应立即测试；若不能及时测试，装于玻璃容器中，在-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷冻保存，需测试时待样品缓至室温再进行操作。

6.2 样液

移取人体尿液与水各 10.0 mL，混匀。

7 试验步骤

7.1 可卡因的提取、净化、洗脱和浓缩

将 2.00 mL 样液（6.2）加入到 HLB 固相萃取柱（4.18）中，流出液弃去。依次加入 5 mL 碳酸氢钠-硼酸缓冲溶液（4.12）、5 mL 水淋洗，流出液弃去。待空气进入 HLB 固相萃取柱 3 min，加入 10 mL 乙腈-甲醇溶液（4.8）洗脱，流出速度为 1 mL/min，用鸡心瓶收集全部流出液。鸡心瓶在旋转蒸发仪（5.3）45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中旋至近干，在氮吹仪（5.4）上使用氮气吹干。用 1.0 mL 定容液（4.14）溶解残渣，过膜得到试样溶液，供液相色谱-高分辨质谱仪（5.1）测定。

7.2 空白试验

不添加试样，按上述步骤7.1操作。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

参考条件如下：

- 色谱柱：Accucore aQ 柱，150 mm × 2.1 mm，2.6 μm 或性能相当者；
- 流动相：A：甲酸-甲酸铵溶液（4.13），B：乙腈（4.5），梯度洗脱条件参见表1；
- 流速：0.3 mL/min；
- 进样量：5 μL。

表1 液相色谱梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0.0	95	5
2.0	95	5
5.0	50	50
6.0	50	50
6.1	95	5
10.0	95	5

7.3.2 高分辨质谱参考条件

参考条件如下：

- 电离模式：正离子模式；
- 喷雾电压：3.0 kV；
- 加热器温度：50 °C；
- 鞘气：40 arb；
- 辅助气：5 arb；
- 扫描模式：一级全扫描/数据依赖二级子离子扫描（Full MS/dd-MS2）；
- 采集范围：m/z 100~m/z 500；
- 一级全扫描（Full MS）：分辨率：70 000 FWHM；
- 数据依赖二级子离子扫描（dd-MS2）：分辨率：17 500 FWHM。

7.3.3 定性分析

7.3.3.1 按照 7.3.1 和 7.3.2 的仪器条件测定试样溶液和标准工作液，如果试样溶液与标准工作液中目标物的保留时间一致，保留时间偏差在 ± 2.5% 以内，母离子的测量质核比和表 2 中母离子的精确质核比数值相差值与精确质量数的比值小于 5×10^{-6} ，并同时测得表 2 所示的特征离子，可判断样品中存在可卡因。质谱分析参数见表 2。

表2 可卡因的质谱分析参数

母离子/特征离子	元素组成	精确质量数	精确质核比[M+H] ⁺
母离子	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.1471	304.1549
特征离子 1	C ₁₀ H ₁₅ NO ₂	181.1103	182.1181
特征离子 2	C ₇ H ₄ O	104.0262	105.0340

7.3.3.2 在 7.3.1 和 7.3.2 的仪器条件下，可卡因的参考保留时间为 5.75 min。标准溶液的液相色谱-高分辨质谱法的色谱图和质谱图参见附录 A。

7.3.4 定量测定

7.3.4.1 标准曲线的绘制

将标准系列工作液分别注入仪器（5.1）中，测定相应的响应值，以标准工作液的浓度为横坐标，以可卡因的母离子响应值为纵坐标，绘制标准曲线。

7.3.4.2 试样溶液的测定

将试样溶液注入仪器（5.1）中，测定相应的响应值，根据标准曲线得到试样溶液中可卡因的浓度，试样溶液中可卡因的母离子响应值应在仪器的检测线性范围内。对于高浓度试样溶液须适当进行稀释，外标法定量。

8 试验数据处理

按公式（1）计算试样中可卡因的含量：

$$X = \frac{(C - C_0) \times V_i \times 1000}{V \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式（1）中：

X ——试样中可卡因含量，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C ——从标准曲线计算得到的试样的可卡因浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C_0 ——从标准曲线计算得到的空白试样的可卡因浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

V_i ——试样溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

V ——最终试样溶液代表的样品体积，单位为毫升（mL）；

注：平行测定结果用算术平均值表示，数值修约按照GB/T 8170-2008规定执行，保留两位有效数字。

9 精密度

9.1 重复性

在同一实验室，由同一操作者使用相同设备，按相同的测试方法，并在短时间内对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定结果的算术平均值的 15%，以大于这两个测定结果的算术平均值的 95%的情况不超过 5%为前提。

9.2 再现性

在不同实验室，由不同操作者使用不同设备，按相同的测试方法，对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定结果的算术平均值的 20%，以大于这两个测定结果的算术平均值的 95%的情况不超过 5%为前提。

10 质量保证和控制

10.1 每批试剂应做一次空白试验，试剂空白值应低于方法检出限。

10.2 每 30 个样品或者每批样品（少于 30 个样品）应至少做一次空白试验，空白值应低于方法检出限。

10.3 校准曲线的相关系数应不低于 0.99。

10.4 每 30 个样品或者每批样品（少于 30 个样品）应测定一个校准曲线中间点浓度的标准溶液，其测定结果与校准曲线该点浓度的相对偏差应小于 20%，否则应重新绘制校准曲线。

10.5 每 30 个样品或者每批样品（少于 30 个样品）应至少进行一次样品加标回收试验，符合 GB/T 27404-2008 中附录 F 的规定，回收率应在 60%~120%。

11 试验报告

试验报告至少应给出以下几个方面内容：

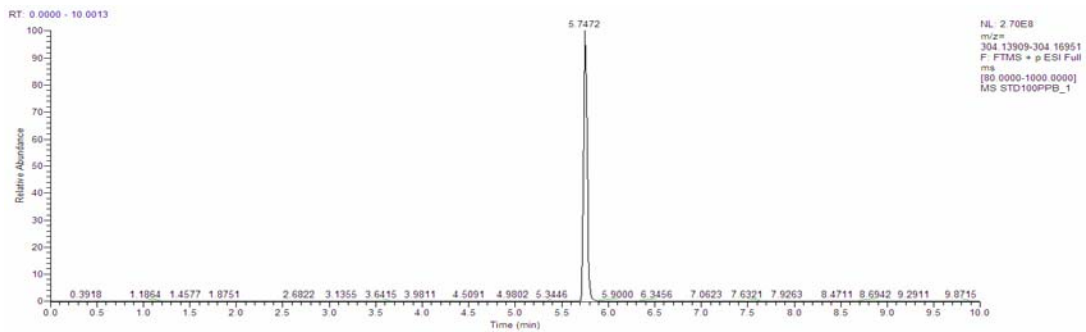
- a) 试验对象；
- b) 所使用的标准（包括发布或出版年号）；
- c) 所使用的方法（如果标准中包括几个方法）；
- d) 结果；
- e) 观察到的异常现象；
- f) 试验日期。

地方标准信息服务平台

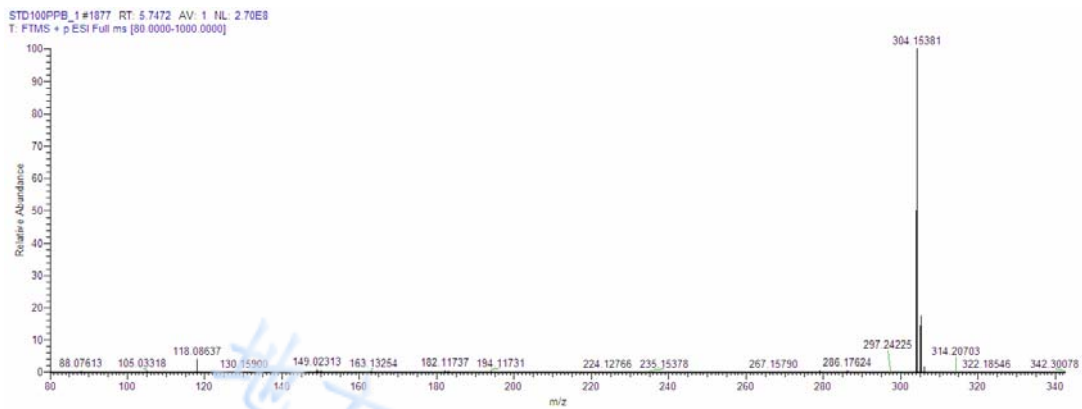
附录 A
(资料性附录)

可卡因的液相色谱-高分辨质谱的色谱图和质谱图

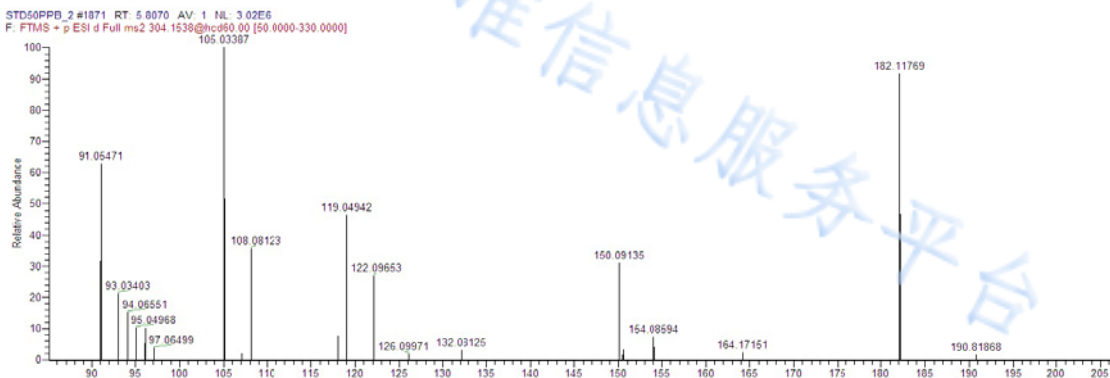
可卡因的液相色谱-高分辨质谱的色谱图和质谱图见图A.1~图A.3。



图A.1 可卡因标准溶液色谱图



图A.2 可卡因标准溶液的一级全扫描 (Full MS) 质谱图



图A.3 可卡因标准溶液的数据依赖二级子离子扫描 (dd-MS2) 质谱图