



中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T 933—2011

生物样品中氟乙酸根离子的气相色谱和 气相色谱-质谱联用检验方法

GC and GC-MS examination methods for monofluoroacetate
anion in biological samples

2011-04-06 发布

2011-05-01 实施



中华人民共和国公安部 发布

中华人民共和国公共安全
行 业 标 准
生物样品中氟乙酸根离子的气相色谱和
气相色谱-质谱联用检验方法
GA/T 933—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 17 千字
2011年5月第一版 2011年5月第一次印刷

*

书号: 155066·2-21976 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

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。

本标准由公安部物证鉴定中心提出。

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

本标准起草单位:公安部物证鉴定中心。

本标准主要起草人:于忠山、王芳琳、何毅、郑琿、张蕾萍。

生物样品中氟乙酸根离子的气相色谱和 气相色谱-质谱联用检验方法

1 范围

本标准规定了生物检材中氟乙酸的气相色谱(GC)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)检验方法。

本标准适用于生物检材(包括呕吐物、血液、尿液、胃内容及肺、肝、肾等组织脏器)中氟乙酸的定性分析和定量分析,也适用于疑有氟乙酸钠鼠药的现场物证如剩余食物、鼠药等。

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。

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

4.1 气相色谱/电子捕获检测器(GC/ECD)原理

氟乙酰胺类鼠药含有氟乙酰胺、氟乙酸钠(又名氟醋酸钠 1080)、氟乙酸等一种或多种成分。氟乙酸钠可在酸性条件下转化为氟乙酸,氟乙酰胺、氟乙酸钠亦可以生物体内代谢产生氟乙酸,因此在检验此类鼠药时,主要检验氟乙酸成分。氟乙酸在强酸性的条件下,用乙酸乙酯提取,浓缩后用五氟苄基溴(PFBBBr)衍生化,用 GC/ECD 进行检测;根据保留时间进行定性;与平行操作的添加样品(已知浓度的氟乙酸根离子)进行比较,根据峰高比或峰面积值比,用外标法计算检材中氟乙酸根离子的含量。衍生化反应原理参见图 A. 1,按照本法获得的气相色谱图参见图 A. 2。

4.2 气相色谱-质谱联用法(GC-MS)原理

本法根据氟乙酸衍生物的特征离子进行定性;对氟乙酸衍生物特征离子与平行操作的添加样品(已知浓度的氟乙酸根离子)进行比较,根据峰高比或峰面积值比,用外标法计算检材中氟乙酸根离子的含量。按照本法获得的质谱图参见图 A. 3 和图 A. 4。

5 试剂、材料和仪器

5.1 试剂

本法试验用水为蒸馏水,所用试剂均为分析纯:

a) 丙酮;

- b) 苯;
- c) 己烷;
- d) 乙酸乙酯;
- e) 无水碳酸钾;
- f) 无水硫酸钠;
- g) 6 mol/L 盐酸;
- h) 10%三乙醇胺丙酮液:取 1 mL 三乙醇胺溶于 9 mL 丙酮液中,混旋 30 s 备用;
- i) 10%PFBBBr/丙酮液:取 1 mL PFBBBr 溶于 9 mL 丙酮液中,混旋 30 s 备用;
- j) 氟乙酸钠标准溶液:
 - 1) 氟乙酸钠储备溶液:准确称取氟乙酸钠 100.0 mg,用 5 mL 蒸馏水溶解后,转移到 10 mL 容量瓶中,添加丙酮到刻度,混匀,得 10.0 mg/mL 的储备液,置于冰箱中冷冻保存,保存 12 个月;
 - 2) 氟乙酸钠标准使用液:将氟乙酸钠储备液用丙酮稀释 10 倍,得 1.0 mg/mL 的氟乙酸钠标准使用液,置于冰箱中冷藏保存,保存 3 个月。

5.2 材料

5.2.1 空白检材为健康人全血或正常猪肝。

5.2.2 离心试管。

5.2.3 具塞刻度试管。

5.2.4 10 μ L、100 μ L 微量注射器。

5.2.5 蒸发皿。

5.3 仪器

5.3.1 GC:配电子捕获检测器(ECD)和色谱数据处理系统。

5.3.2 GC-MS:配有电离源(EI)或负化学源(NCI)。

5.3.3 高速离心机。

5.3.4 恒温水浴锅。

5.3.5 电动振荡器。

5.3.6 微波炉。

6 操作方法

6.1 定性分析

6.1.1 提取

取血液等液体检材 5.0 mL 或固体检材绞碎 5.0 g 装入 50 mL 离心试管中,分别用 20 mL 的丙酮水(4:1)超声振荡 1 h 或浸泡过夜。高速离心 5 min,分出上清液于 65 $^{\circ}$ C 水浴锅上浓缩至 2 mL~3 mL。用 3 mL 的苯或己烷洗涤杂质,分离去掉有机相。在水液中加入 6 mol 盐酸调 pH \leq 2,用 5 mL 乙酸乙酯振荡 5 min 提取两次,高速离心分离合并有机相,加入 10%三乙醇胺丙酮溶液 0.1 mL,混匀后在 70 $^{\circ}$ C 下用氮气或空气吹干。残渣加入 3 mL 丙酮振荡溶解。

取相应空白检材 5.0 g 两份,一份添加 5.0 μ g 的氟乙酸钠作阳性对照,一份做阴性对照,按上述操作进行空白对照和已知对照分析。

6.1.2 衍生化

在丙酮液中加入 0.1 g~0.2 g 无水碳酸钾、0.5 g~1.0 g 无水硫酸钠、10% PFBBr 衍生化试剂 0.1 mL,在微波炉中微波最低档衍生化 2 min,冷却后振荡混匀,待检。

6.1.3 纯品衍生物的制备

在 5 mL 丙酮液中加入 10.0 μg 氟乙酸钠,按 6.1.2 方法直接进行衍生化。

6.1.4 检测

6.1.4.1 GC/ECD 条件

不同仪器和不同检材可根据实际情况进行调整,以下条件作为参考:

- a) 色谱柱:DB-1、DB-5 等弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),或相当者;
- b) 柱温:90 ℃保持 1 min,以 5 ℃/min 速率升至 140 ℃,以 40 ℃/min 速率 280 ℃保持 5 min;
- c) 进样口温度:280 ℃;
- d) 检测器温度:300 ℃;
- e) 载气:高纯氮气。

6.1.4.2 GC-MS 条件

不同仪器和不同检材可根据实际情况进行调整,以下条件作为参考:

- a) 色谱柱:DB-5MS 弹性石英毛细柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),或相当者;
- b) 离子源:EI 或 NCI;
- c) 升温程序:起始温度 80 ℃保持 2 min,以 30 ℃/min 升至 280 ℃保持 10 min;
- d) 传输线温度:250 ℃;
- e) 进样口温度:280 ℃;
- f) 载气:高纯氮气;
- g) NCI 反应气:甲烷;
- h) 扫描方式:SCAN。

6.1.4.3 进样

分别吸取检材提取衍生物、空白对照衍生物和已知对照衍生物液体各 1.0 μL,按上述色谱条件进行分析,每个试样进样 1 次。

6.1.4.4 记录和计算

记录各样品中氟乙酸标准品衍生物和可疑氟乙酸衍生物的保留时间及峰面积值,按照公式(1)计算氟乙酸的回收率。

$$R = \frac{A_B}{A_S} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

R ——添加毒物回收率;

A_B ——空白检材中添加氟乙酸的衍生物峰面积均值;

A_S ——氟乙酸标准品相同添加量的衍生物峰面积均值。

6.2 定量分析

6.2.1 取样

准确称取或量取检材 5.0 g(5.0 mL)各两份,另取相应的空白检材两份,按粗测值加入氟乙酸钠标准使用液,混匀。

6.2.2 提取

按 6.1.1 的方法进行操作。

6.2.3 衍生化

按 6.1.2 的方法进行操作。

6.2.4 测定

6.2.4.1 色谱分析条件

同 6.1.4.1、6.1.4.2。

6.2.4.2 进样

分别吸取检材、空白添加样品各 1.0 μL ,按上述色谱条件进行分析,每个样品各进样 2~3 次。

6.2.4.3 记录与计算

记录检材及空白添加标准品中氟乙酸衍生物的峰面积值,计算检材及空白添加中氟乙酸衍生物的峰面积平均值。按照公式(2)计算检材中氟乙酸含量。

$$W = \frac{M_{\text{标}} \times A_{\text{检}}}{M \times A_{\text{标}}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

W ——检材中氟乙酸的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)或微克每克($\mu\text{g}/\text{g}$);

M ——检材用量,单位为克(g)或毫升(mL);

$M_{\text{标}}$ ——空白添加样品中氟乙酸标准品添加量,单位为微克(μg);

$A_{\text{检}}$ ——检材提取液中氟乙酸衍生物峰面积;

$A_{\text{标}}$ ——空白添加样品中氟乙酸的衍生物峰面积平均值。

6.3 计算相对相差

记录两份平行操作的检材含量,按照公式(3)计算相对相差。

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

RD ——相对相差;

X_1 、 X_2 ——两个样品平行定量测定的含量数值;

\bar{X} ——两个样品平行定量测定含量的平均值。

7 结果评价

7.1 定性结果评价

7.1.1 1 g(1 mL)空白样品中添加 2 μ g 氟乙酸根离子,回收率在 60%以上,空白无干扰,阴性结果可靠。如果氟乙酸衍生物的相对回收率在 60%以下,检材出现阴性,则结果不可靠,应重新检验。

7.1.2 只有 GC 检测而无 GC-MS 检测时,需选择两种以上不同极性色谱柱进行确证,如均出现氟乙酸衍生物相应色谱峰且空白无干扰时,方可认定。GC/ECD 在生物检材中的检出限为 0.2 μ g/g(mL)。

7.1.3 GC-MS 检验,根据氟乙酸衍生化的特征离子碎片确证生物样品中是否含有氟乙酸衍生物。GC-MS/EI 源特征离子碎片为 m/z 258、 m/z 181、 m/z 161,在生物检材中的检出限为 2.0 μ g/g(mL); GC-MS/NCI 源特征离子碎片为 m/z 77,在生物检材中的检出限为 0.6 μ g/g(mL)。

7.2 定量结果评价

两份检材的相对相差若不超过 20%,结果按两份检材含量的平均值计算。相对相差若超过 20%,需要重新进行测定。

7.3 中毒诊断参考资料

附录 B 中提供的氟乙酰胺类鼠药中毒诊断参考资料有助于缩小检验方向,印证定性定量检验结果。

附录 A

(资料性附录)

氟乙酸衍生化反应原理及相关图谱

A.1 氟乙酸钠与五氟苄基溴(PFBBr)衍生化原理见图 A.1。

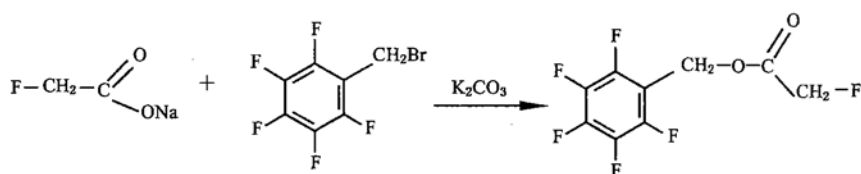


图 A.1 氟乙酸钠与五氟苄基溴(PFBBr)衍生化反应式

A.2 氟乙酸衍生物的气相色谱图及质谱图见图 A.2~图 A.4。

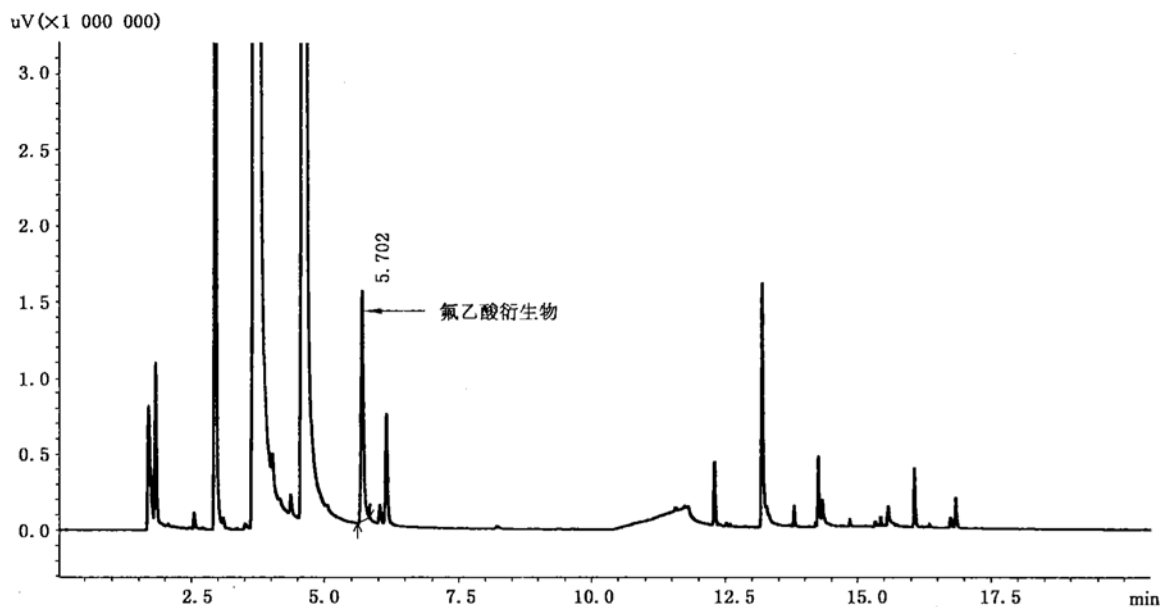


图 A.2 氟乙酸衍生物的气相色谱图

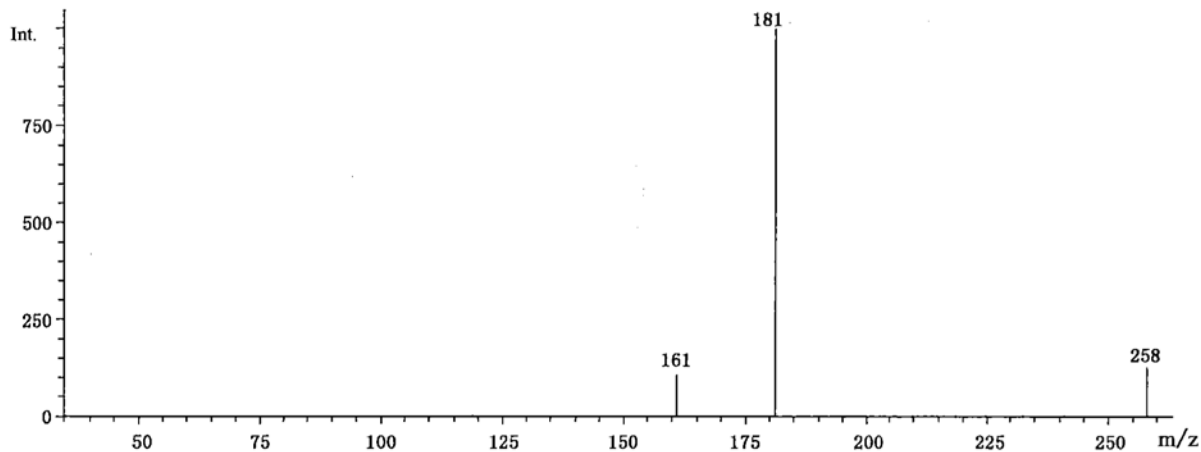


图 A.3 氟乙酸衍生物的质谱图(EI 源)

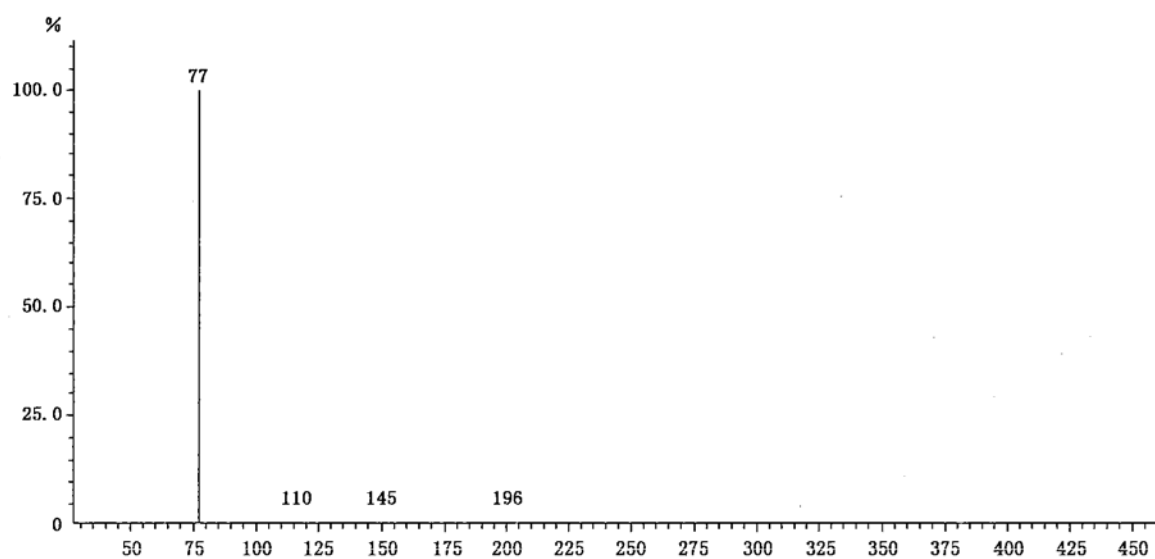


图 A.4 氟乙酸衍生物的质谱图(NCI 源)

附录 B

(资料性附录)

氟乙酰胺类鼠药中毒诊断参考资料

B.1 中毒症状

口服氟乙酰胺急性中毒时潜伏期多为 2 h 左右,剂量很大时可缩短至 0.5 h~1 h,也有 15 h 以后发生中毒症状的。急性中毒死亡大多发生在口服后 3 h 内。

氟乙酰胺中毒在神经、循环、呼吸和消化系统均有症状表现,轻度中毒表现为恶心、呕吐、头痛、头晕、口渴、视力模糊、复视、上腹部有烧灼感。重症患者疼痛加剧、烦躁不安、视力丧失、阵发性抽搐、颈强直,有的可出现四肢软瘫。以后有呼吸抑制、表紫、血压下降、昏迷、大小便失禁。有氟乙酰胺中毒未死者出现视神经萎缩或失明的报道。约有 25% 病例出现肾损害,甚至急性肾功能衰竭,可出现少尿、浮肿、无尿、血尿、蛋白尿、管型尿、血肌酐胶血尿素氮升高。部分病例脑电图可见广泛轻度异常、痫性放电。

以神经系统症状突出者称神经型,抽搐是此型的典型症状,重症中毒者表现为强直性痉挛。抽搐反复发作,进行性加重,致呼吸衰竭或窒息而死。以心血管系统症状突出者称心脏型,该型病例易被误诊。心脏型中毒病例可出现心慌、胸闷、心律紊乱及心肌酶谱的改变,如 AST、LDH 及 CK 等升高,心电图检查可发现窦性心动过速、房室传导阻滞、ST 段下降、T 波低平、QT 间期延长,最后因心室纤颤而死亡。

B.2 中毒致死量

氟乙酰胺属剧毒,有报道成人口服 0.07 g~0.1 g 可致死,也有报道最小的口服致死量为 20 μ g/kg。大鼠一次经口急性中毒 LD_{50} 为 5 mg/kg~10 mg/kg;小鼠经皮肤急性中毒 LD_{50} 为 60 mg/kg~70 mg/kg。

B.3 尸体检查所见

尸僵出现早,腐败慢,紫绀显著。胃肠道有出血性炎症表现,以胃与十二指肠最明显,黏膜有广泛出血。小肠浆膜充血,肠黏膜有斑纹状出血。各内脏器官淤血、水肿,浆膜面有点状出血。迁延性中毒死亡者可见脑神经细胞、神经胶质细胞及神经轴突肿胀变性两侧大脑壳核部有对称性软化灶形成,软化灶内脑组织结构疏松可见较多吞噬脂质的泡沫细胞。肝细胞脂肪变性及小叶中央区轻度坏死。肾小管上皮水变性并有轻度坏死。轻度间质性心肌炎。昏迷者可并发支气管肺炎。小量多次摄入氟乙酰胺中毒案例的病理学检查和初步动物实验可脑膜充血、水肿、神经细胞肿胀,有噬神经细胞现象和卫星现象,神经胶质细胞增生,并形成胶质小结。亚急性中毒还可引起淋巴小结的生发中心坏死。



GA/T 933—2011

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-21976

定价: 16.00 元