

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0065—2020

毛发中二甲基色胺等 16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的液相色谱-串联质谱检验方法

Determination of 16 tryptamine hallucinogens and their metabolites in hair samples
by liquid chromatography- tandem mass spectrometry

2020 - 05 - 29 发布

2020 - 05 - 29 实施

中华人民共和国司法部

发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂、仪器和材料	1
6 操作方法	2
7 分析结果评价	6
附录 A（资料性附录） 16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的提取离子流图	8
附录 B（资料性附录） 方法学有效性验证数据	13

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。

本标准由司法鉴定科学研究院提出。

本标准由司法部信息中心归口。

本标准起草单位：司法鉴定科学研究院。

本标准主要起草人：施妍、向平、刘伟、沈保华、严慧、卓先义、沈敏、吴何坚。

毛发中二甲基色胺等 16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的液相色谱-串联质谱检验方法

1 范围

本标准规定了毛发中二甲基色胺等16种色胺类新精神活性物质及其代谢物的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检验的试剂、仪器和材料、操作方法以及分析结果评价等要求。

本标准适用于毛发中二甲基色胺等16种色胺类新精神活性物质及其代谢物的定性与定量分析,其它检材中二甲基色胺等16种色胺类新精神活性物质及其代谢物的定性及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中确立的术语和定义适用于本文件。

4 原理

毛发样品经有机溶剂提取后,采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)进行检测,经与平行操作的空白样品和添加样品作对照,以两对母离子/子离子对的保留时间、相对丰度比进行定性分析;以定量离子对峰面积为依据,采用内标法进行定量分析。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

试验用水应为符合GB/T 6682规定的一级水,所用试剂和要求如下:

- a) 甲醇: HPLC 级;
- b) 乙腈: HPLC 级;
- c) 98%甲酸: 优级纯;
- d) 乙酸铵: 色谱纯;
- e) 丙酮: 分析纯;
- f) 标准物质溶液:

- 1) 标准物质储备液：市售 5-甲氧-N,N-二异丙基色胺 (5-MeO-DiPT)，5-甲氧基-N-甲基-N-异丙基色胺 (5-MeO-MiPT)，5-甲氧-N,N-二烯丙基色胺 (5-MeO-DALT)，5-甲氧基-N,N-二甲基色胺 (5-MeO-DMT)，5-羟基-N,N-二异丙基色胺 (5-OH-DiPT)，4-羟基-N,N-二异丙基色胺 (4-OH-DiPT)，N,N-二甲基色胺 (DMT)，N,N-二丙基色胺 (DPT)，5-甲氧基-N-异丙基色胺 (5-MeO-NiPT)，4-羟基-N-甲基-N-乙基色胺 (4-OH-MET)，赛洛新 (Psilocin)，赛洛西宾 (Psilocybin)，4-羟基-N-甲基-N-异丙基色胺 (4-OH-MiPT)，4-乙酰氧基-N,N-二异丙基色胺 (4-Acetoxy-DiPT)，5-甲氧基-2-甲基色胺 (5-MeO-AMT) N-异丙基色胺 (NiPT) 标准品溶液，质量浓度均为 100 μ g/mL；置于冰箱中冷冻保存，保存时间为 12 个月；
 - 2) 标准物质工作溶液：试验中所用其它浓度的标准工作溶液均从 5.1 f) 1) 所述标准物质工作溶液用甲醇稀释而得。密封，置于冰箱中冷藏保存，保存时间 3 个月。
- g) 内标溶液：
- 1) 内标储备液：市售 100 μ g/mL 赛洛西宾-d₄ (Psilocybin-d₄) 和赛洛新-d₁₀ (Psilocin-d₁₀) 标准品溶液 (或其他性质相近物)，置于冰箱中冷冻保存，保存时间 12 个月；
 - 2) 内标工作溶液：试验中所用其它浓度的内标工作溶液均从上述内标储备液用甲醇稀释而得。密封，置于冰箱中冷藏保存，保存时间 3 个月。
- h) 提取溶液：取 1mL 甲酸，加入 1L 去离子水，配置成 0.1%的甲酸水溶液。用 0.1%的甲酸水溶液稀释内标工作溶液，配制成含有 1ng/mL 内标的提取溶液。

5.2 仪器和材料

仪器和材料及要求如下：

- a) 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源 (ESI)；
- b) 电子分析天平：分度值 0.1mg；
- c) 离心机：转速 14000 \times g；
- d) 超声波清洗仪；
- e) 研磨管；
- f) 滤膜：0.22 μ m；
- g) 冷冻研磨仪；
- h) 微量移液器。

6 操作方法

6.1 定性分析

6.1.1 样品前处理

6.1.1.1 案件样品

依次用适量的水和丙酮振荡将毛发样品洗涤两次，晾干后剪成约1mm段，称取毛发样品20mg于2mL研磨管中，加研磨珠适量，再加含1ng/mL内标的提取溶液1mL，液氮冷冻研磨，14000 \times g离心5min，取上清液，过0.22 μ m滤膜，滤液直接供仪器分析。

6.1.1.2 质控样品

称取空白毛发样品20mg两份，一份作为空白样品，一份添加10 μ L 100ng/mL的16种色胺类新精神活性物质的混标工作液，制得0.05ng/mg添加样品，然后按照6.1.1.1方法，与案件样品平行操作。

6.1.2 仪器检测

6.1.2.1 仪器条件

6.1.2.1.1 液相色谱条件

液相色谱条件包括：

- a) 色谱柱：Acquity™ UPLC HSS T₃ (100mm×2.1mm, 1.8 μ m) (或其他等效柱)；
注：Acquity™ UPLC HSS T₃柱为美国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。
- b) 流动相：流动相 A 为 20mmol/L 乙酸铵缓冲溶液 (含 0.1%甲酸和 5%乙腈)，流动相 B 为乙腈；采用梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 1；
- c) 流速：300 μ L/min (或适宜流速)；
- d) 柱温：室温；
- e) 进样量：5 μ L。

注：可根据不同仪器的实际情况进行液相色谱条件调整。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	90	10
2	90	10
4	75	25
6	75	25
8	10	90
9	10	90
9.01	90	10
11	90	10

6.1.2.1.2 质谱条件

质谱条件包括：

- a) 离子源：电喷雾电离-正离子模式 (ESI+)；
- b) 检测方式：多反应监测 (MRM)；
- c) 离子源电压 (IS)：5500V；
- d) 碰撞气 (CAD)、气帘气 (CUR)、雾化气 (GS1)、辅助气 (GS2) 均为高纯氮气，使用前调节各气流流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
- e) 去簇电压 (DP)、碰撞能量 (CE) 应优化至最佳灵敏度。

注：可根据不同仪器的实际情况进行质谱条件调整。

在 6.1.2.1.1 和 6.1.2.1.2 的色谱和质谱条件下，16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物和内标的定性离子对、定量离子对和保留时间见表 2。16 种目标物的 MRM 色谱图参见附录 A。

表2 16种色胺类新精神活性物质及其代谢物、内标的质谱参数和保留时间

目标物化学名	目标物	Q1 m/z	Q3 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 ev	保留时间 min
5-甲氧-N,N-二异丙基色胺	5-MeO-DiPT CAS: 4021-34-5	275.5	114.1 ^a	45	20	5.89
			174.0	45	30	
5-甲氧基-N-甲基-N-异丙基色胺	5-MeO-MiPT CAS: 96096-55-8	247.2	86.2 ^a	40	19	4.95
			174.2	40	25	
5-甲氧-N,N-二烯丙基色胺	5-MeO-DALT CAS: 928822-98-4	271.4	110.4 ^a	45	20	6.08
			174.2	45	25	
5-甲氧基-N,N-二甲基色胺	5-MeO-DMT CAS: 1019-45-0	219.3	58.0 ^a	45	30	4.08
			174.2	45	23	
5-甲氧基-2-甲基色胺	5-MeO-AMT CAS: 1137-04-8	205.3	173.2 ^a	45	31	4.19
			147.1	45	30	
5-羟基-N,N-二异丙基色胺	5-OH-DiPT CAS: 36288-76-3	261.3	114.0 ^a	58	20	3.78
			160.3	58	29	
5-甲氧基-N-异丙基色胺	5-MeO-NiPT CAS: 109921-55-3	233.1	174.2 ^a	52	20	4.77
			162.1	52	18	
N,N-二丙基色胺	DPT CAS: 61-52-9	245.2	144.0 ^a	54	29	7.31
			114.1	54	19	
N-异丙基色胺	NiPT CAS: 7558-73-8	203.2	144.1 ^a	45	46	4.83
			132.1	45	16	
N,N-二甲基色胺	DMT CAS: 61-50-7	189.2	58.0 ^a	45	14	3.98
			144.0	45	24	
赛洛新	Psilocin CAS: 520-53-6	205.3	160.2 ^a	45	25	2.16
			58.0	45	35	
赛洛西宾	Psilocybin CAS: 520-52-5	285.2	205.2 ^a	45	24	1.12
			160.2	45	42	
4-羟基-N-甲基-N-异丙基色胺	4-OH-MiPT CAS: 77872-43-6	233.0	160.0 ^a	55	25	3.70
			86.1	55	18	
4-羟基-N,N-二异丙基色胺	4-OH-DiPT CAS: 132328-45-1	261.2	160.0 ^a	67	27	4.83
			115.0	67	63	
4-乙酰氧基-N,N-二异丙基色胺	4-Acetoxy-DiPT CAS: 936015-60-0	303.0	160.0 ^a	45	46	5.98
			202.0	45	23	
4-羟基-N-甲基-N-乙基色胺	4-OH-MET CAS: 77872-41-4	219.2	160.0 ^a	65	27	2.76
			132.0	65	37	
赛洛新-d ₁₀	Psilocin-d ₁₀	215.3	164.1	45	25	2.14
赛洛西宾-d ₄	Psilocybin-d ₄	289.2	209.4	65	37	1.12

^a为定量离子对。

6.1.2.2 进样

分别吸取案件样品、空白样品和添加样品提取液，按6.1.2.1条件进样分析。

6.1.2.3 记录

记录各样品中目标物可疑色谱峰的保留时间、离子对丰度比。

6.1.2.4 定性判断依据

以保留时间、质谱特征碎片离子峰和相对丰度比作为定性判断依据。

如果案件样品中出现目标物的两对定性离子对的色谱峰，保留时间与添加样品中相应标准物质的色谱峰保留时间比较，相对误差在±2.5%内，且定性离子对丰度比与浓度相近添加样品的离子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 相对离子对丰度比的最大允许相对误差(%)

单位为百分数(%)

相对离子对丰度比	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对误差	±20	±25	±30	±50

6.2 定量分析

6.2.1 分析方法

采用内标-工作曲线法或内标-单点校正法进行定量分析。

6.2.2 样品前处理

称取案件样品毛发20mg两份，余下样品前处理同6.1.1.1。

另取相同基质空白毛发若干份，添加适量目标物，制得系列质量分数或单点质量分数的添加样品，与案件样品平行操作。方法学有效性验证数据参见附录B。

案件样品中目标物的质量分数应在工作曲线的线性范围内。配制单点质量分数的添加样品时，案件样品中目标物质量分数应在该质量分数的±50%内。

6.2.3 仪器检测

6.2.3.1 仪器条件

仪器条件应符合6.1.2.1中的要求。

6.2.3.2 进样

应分别将案件样品、系列质量分数的添加样品或单点质量分数添加样品，按照6.1.2.1条件进样分析。

6.2.4 记录与计算

6.2.4.1 基本要求

应记录案件样品、系列质量分数的添加样品或单点质量分数添加样品中目标物及内标的峰面积值，然后计算含量。

6.2.4.2 内标-工作曲线法

在系列质量分数的添加样品中，应以目标物与内标定量离子对的峰面积比(Y)为纵坐标、目标物质量分数(C)为横坐标进行线性回归，得线性方程。

根据各样品中目标物及内标定量离子对的峰面积值，按式(1)计算出案件样品中目标物的质量分数。

$$C = \frac{Y - a}{b} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——案件样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

Y ——案件样品中目标物与内标定量离子对的峰面积比；

a ——线性方程的截距；

b ——线性方程的斜率。

6.2.4.3 内标-单点校正法

应根据案件样品和添加样品中目标物与内标定量离子对的峰面积值，按式(2)计算出案件样品中目标物的质量分数。

$$C = \frac{A \times c}{A'} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

C ——案件样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

A ——案件样品中目标物与内标的峰面积比值；

A' ——添加样品中目标物与内标的峰面积比值；

c ——添加样品中目标物的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)。

6.2.5 计算相对相差

案件样品同时平行测定两份，双样相对相差按公式(3)计算：

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

式中：

RD ——相对相差(%)；

C_1 、 C_2 ——两份案件样品平行定量测定的质量分数，单位为纳克每毫克(ng/mg)；

\bar{C} ——两份案件样品中平行定量测定质量分数的平均值 $(C_1+C_2)/2$ ，单位为纳克每毫克(ng/mg)。

7 分析结果评价

7.1 定性分析结果评价

7.1.1 阴性结果评价

阴性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中仅检出内标赛洛西宾- d_4 和赛洛新- d_{10} ，未检出 16 种目标物成分，添加样品中检出 16 种色胺类新精神活性物质成分，则阴性结果可靠；
- b) 如果案件样品中未检出内标赛洛西宾- d_4 和赛洛新- d_{10} ，或添加样品中未检出 16 种色胺类新精神活性物质成分，则阴性结果不可靠，应按 6.1 重新检验。

7.1.2 阳性结果评价

阳性结果评价包括：

- a) 如果案件样品中检出 16 种色胺类新精神活性物质中的一种或多种成分且空白样品无干扰，则判断为阳性结果可靠；
- b) 如果空白样品亦呈阳性，则阳性结果不可靠，应按 6.1 重新检验。

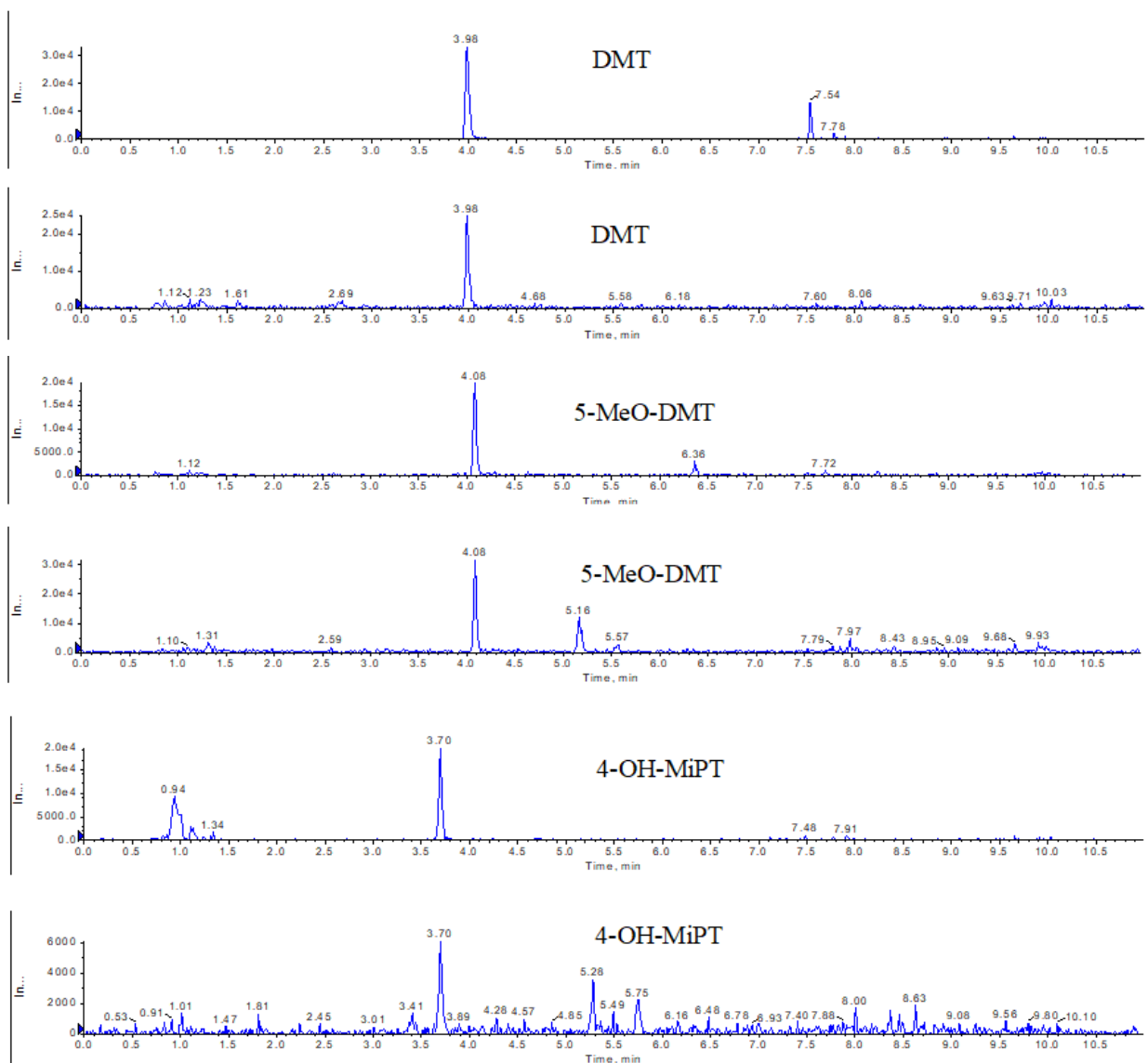
7.2 定量分析结果评价

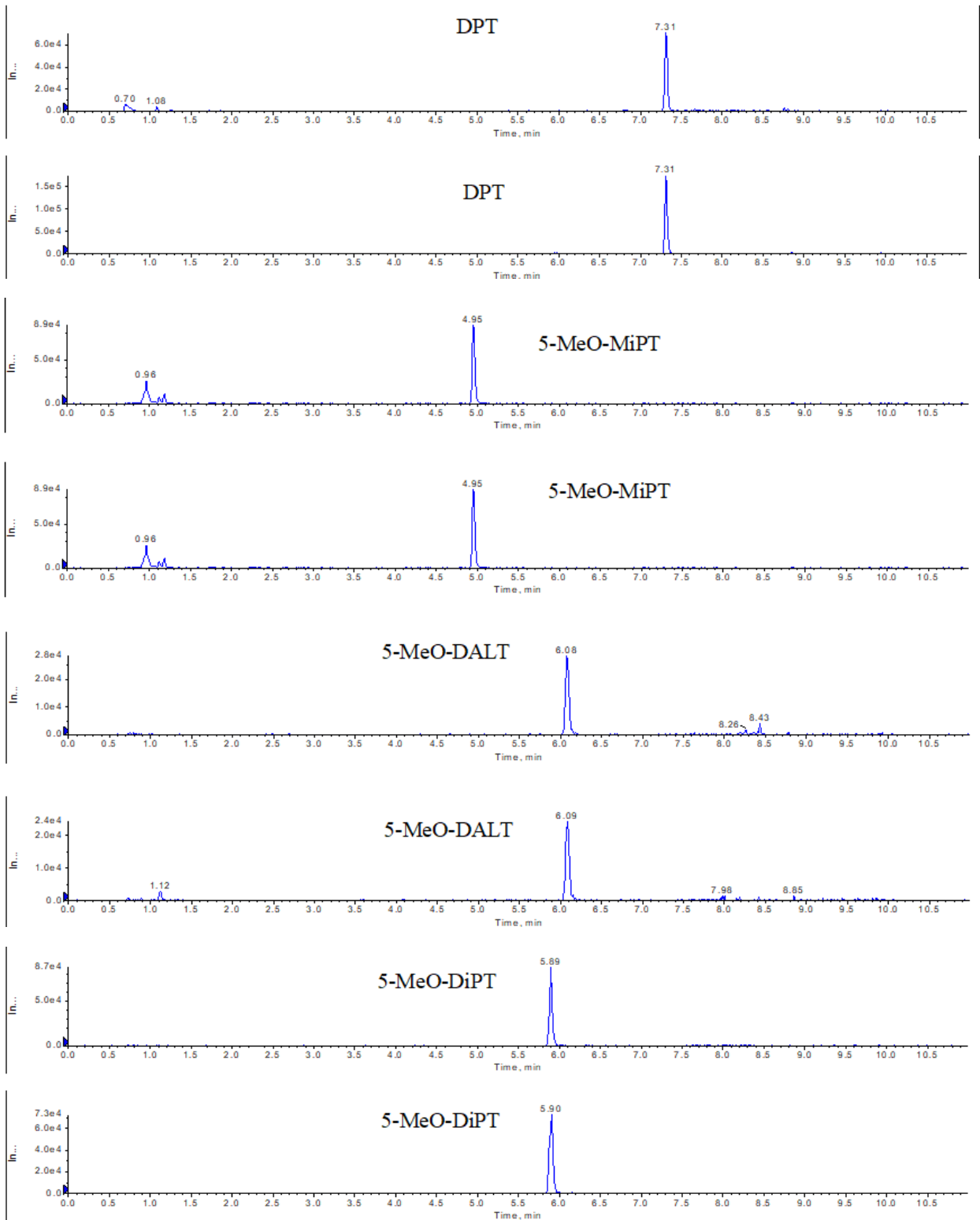
两份案件样品的相对相差不超过20%时，结果按两份案件样品含量的平均值计算，否则应重新测定。

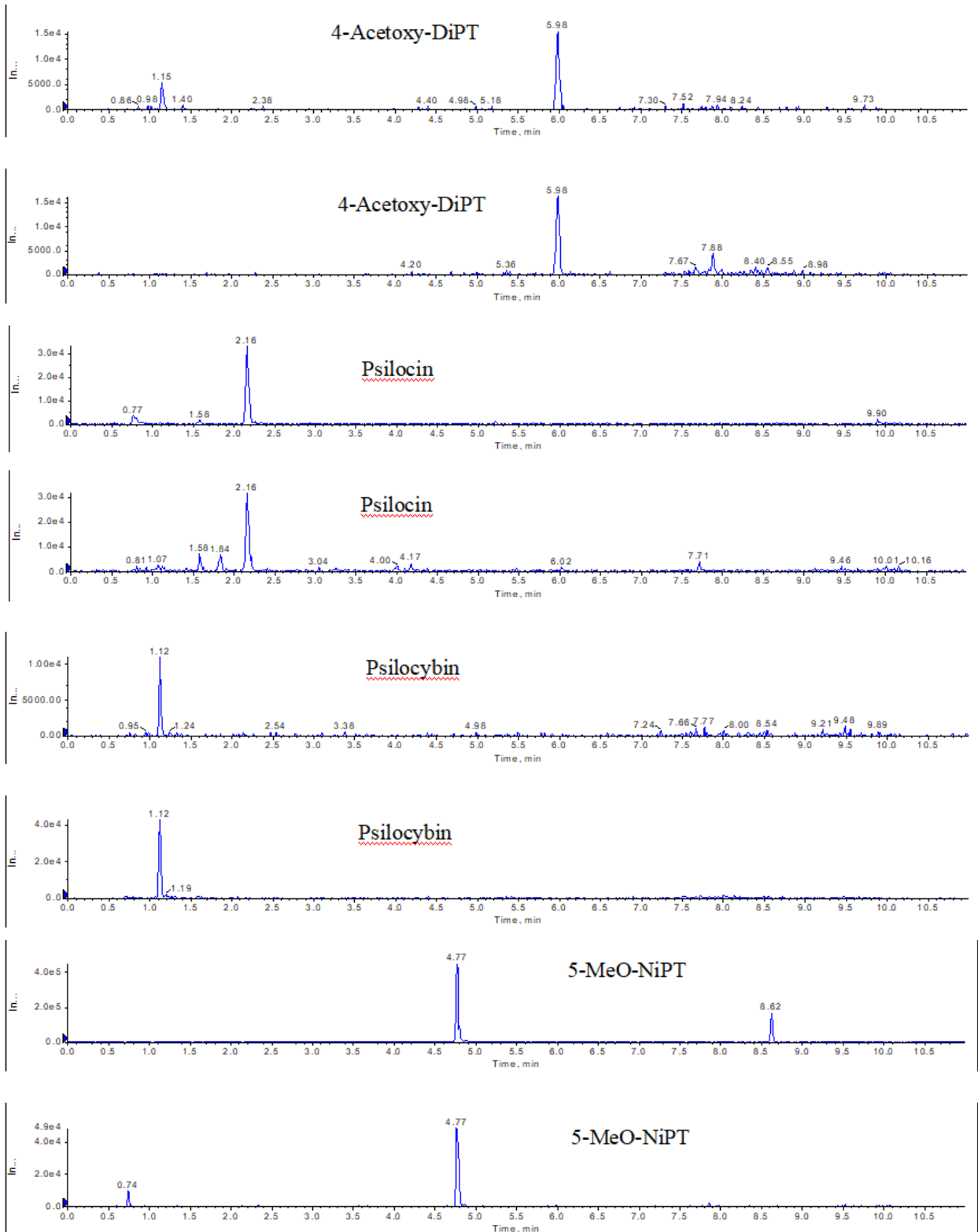
附录 A
(资料性附录)

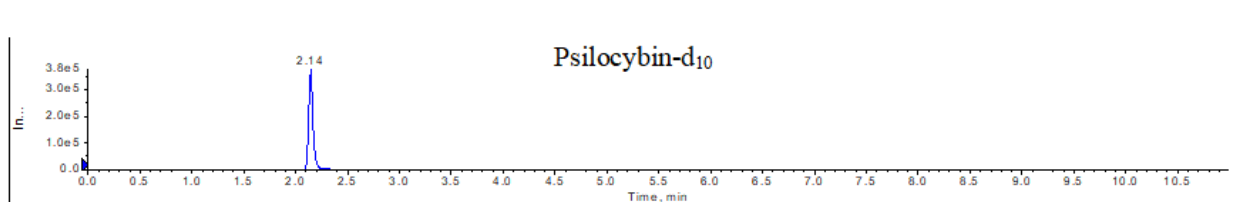
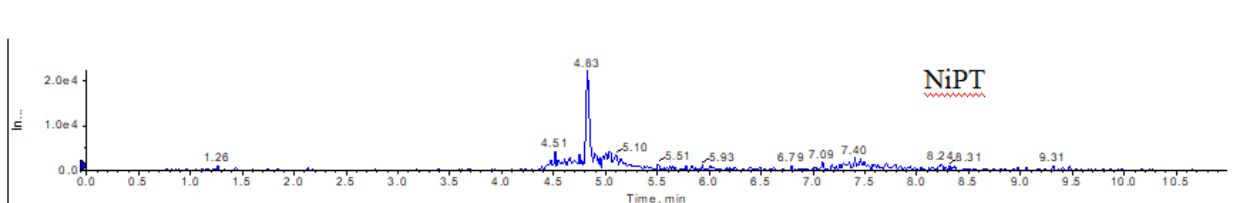
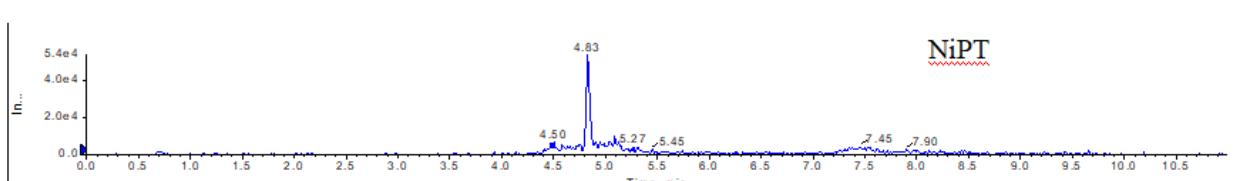
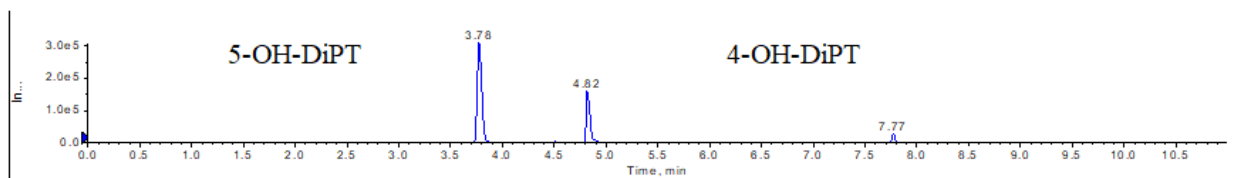
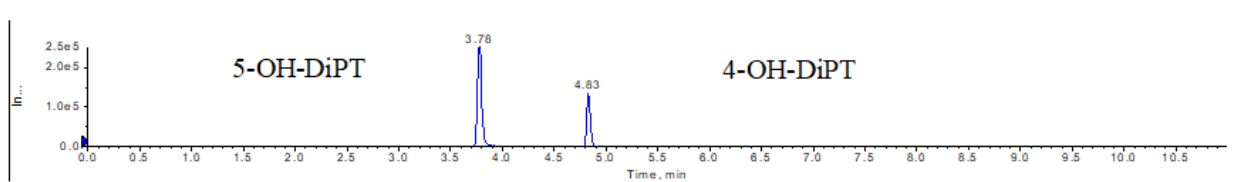
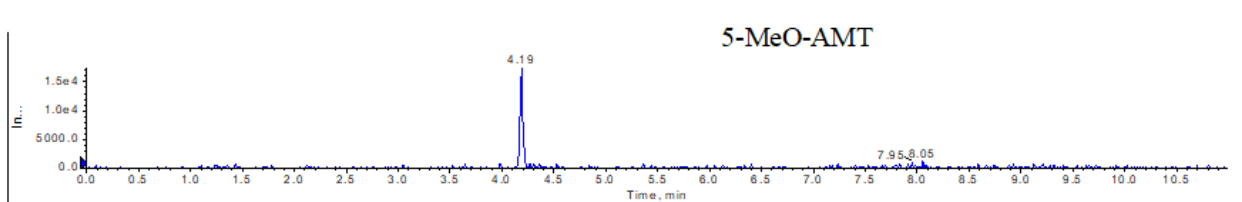
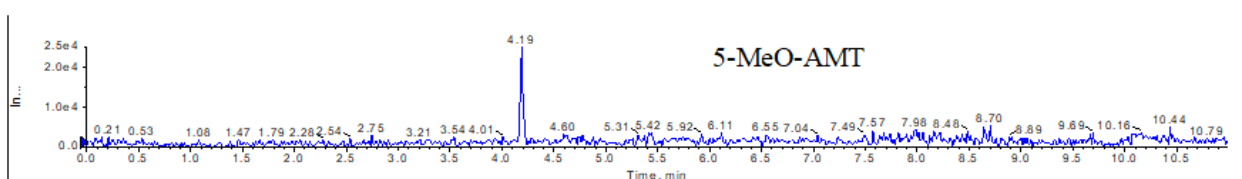
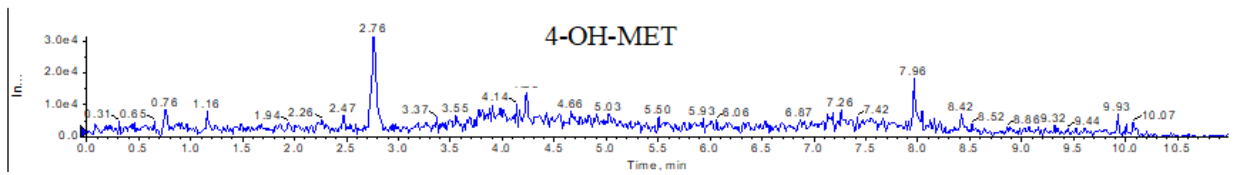
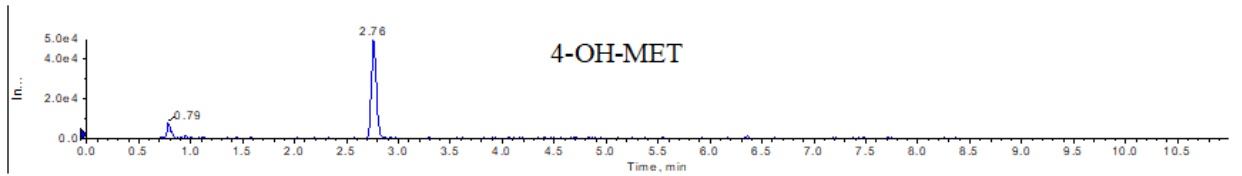
16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的提取离子流图

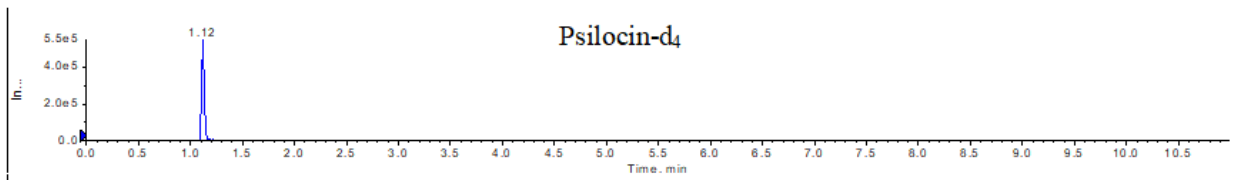
16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的提取离子流图见图 A. 1。











注：定量限浓度：毛发0.05ng/mg

图A.1 16种色胺类新精神活性物质及其代谢物的提取离子流图

附 录 B
(资料性附录)
方法学有效性验证数据

B.1 毛发中 16 种色胺类新精神活性物质及其代谢物的检测方法工作曲线

线性方程和线性范围见表B.1。

表B.1 线性方程和线性范围

目标物化学名	目标物	线性范围 ng/mg	回归方程	相关系数 R^2
5-甲氧-N,N-二异丙基色胺	5-MeO-DiPT	0.003-1	$y=23.31135x-0.05404$	0.992
5-甲氧基-N-甲基-N-异丙基色胺	5-MeO-MiPT	0.003-1	$y=16.69741x-0.00439$	0.995
5-甲氧-N,N-二烯丙基色胺	5-MeO-DALT	0.003-1	$y=9.55911x-0.02399$	0.991
5-甲氧基-N,N-二甲基色胺	5-MeO-DMT	0.003-1	$y=4.06577x-0.00549$	0.995
5-甲氧基-2-甲基色胺	5-MeO-AMT	0.05-1	$y=0.24068x+7.70240$	0.992
5-羟基-N,N-二异丙基色胺	5-OH-DiPT	0.003-1	$y=7.82639x-0.00828$	0.992
5-甲氧基-N-异丙基色胺	5-MeO-NiPT	0.01-1	$y=7.47573x-0.01941$	0.993
N,N-二丙基色胺	DPT	0.003-1	$y=27.29272x-0.02350$	0.995
N-异丙基色胺	NiPT	0.05-1	$y=0.15992x+0.00120$	0.992
N,N-二甲基色胺	DMT	0.003-1	$y=8.17506x-0.01056$	0.995
赛洛新	Psilocin	0.01-1	$y=0.36517x-3.16101e^{-4}$	0.994
赛洛西宾	Psilocybin	0.01-1	$y=1.99377x-0.00371$	0.992
4-羟基-N-甲基-N-异丙基色胺	4-OH-MiPT	0.01-1	$y=1.50947x-0.00131$	0.993
4-羟基-N,N-二异丙基色胺	4-OH-DiPT	0.003-1	$y=1.77558x+0.00457$	0.993
4-乙酰氧基-N,N-二异丙基色胺	4-Acetoxy-DiPT	0.01-1	$y=3.42391x-0.00697$	0.998
4-羟基-N-甲基-N-乙基色胺	4-OH-MET	0.01-1	$y=0.63714x-0.00112$	0.992

B.2 方法的准确度、精密度、回收率和基质效应

方法的精密度、准确度、回收率和基质效应见表B.2。

表B.2 方法的精密度、准确度、回收率和基质效应

单位为百分数 (%)

目标物	添加质量分数 ng/mg	精密度		准确度	回收率	基质效应
		日内 <i>n</i> =6	日间 <i>n</i> =24			
5-MeO-DiPT	0.01	12.5	10.2	94.8	101.8	104.4
	0.1	8.6	7.2	93.9	83.9	96
	0.8	8.7	3.5	100.5	92.7	101.8
5-MeO-MiPT	0.01	9.4	4.9	92.8	94	100.7
	0.1	8.6	4.8	99.4	93.9	96.7
	0.8	8.7	3.4	104.4	93.8	97.2
5-MeO-DALT	0.01	8	2.9	95.0	99	102.8
	0.1	11.2	5.5	96.8	83.5	108.1
	0.8	11.3	7.7	102.3	97.9	99.6
5-MeO-DMT	0.01	11.3	7.2	96.8	93.2	100.3
	0.1	11.8	7.4	98.9	104.5	102.2
	0.8	10	5.6	101.3	94.4	95.1
5-MeO-AMT	0.05	10.5	10.1	107.4	102.6	103.1
	0.1	8.9	7.3	97.2	101.4	98.5
	0.8	9.4	6.5	101.5	93.4	99.8
5-OH-DiPT	0.01	13.9	13.5	91.3	99	105.2
	0.1	8.17	3.5	96.1	83.5	99
	0.8	12.4	6.6	98.3	97.9	100.1
5-MeO-NiPT	0.01	7	8.9	107.5	95.5	100.5
	0.1	9.1	12.4	93.9	99.7	103.4
	0.8	10.1	5.1	107.7	90.1	99.2
DPT	0.01	12.9	9.9	95.2	93.5	87.3
	0.1	11.2	8.5	103.3	92.3	90.6
	0.8	9.3	2.7	105.6	95	102.3
NiPT	0.05	7.1	3.1	113.5	98.7	101.4
	0.1	9.8	8.3	101.9	101.6	101.9
	0.8	8.6	8.7	106.9	96.4	101.5
DMT	0.01	10.6	8.2	91.5	96.6	95
	0.1	9	6	97.8	90.2	93
	0.8	10.6	8.7	101.5	109.7	95.1
Psilocin	0.01	6.1	2.2	108.4	87.1	93.1
	0.1	9.09	3.9	97.5	86	90.8
	0.8	9.2	5.5	105.5	101.7	102.7

表 B.2 (续)

Psilocybin	0.01	9.5	2.8	111.8	88.2	90.4
	0.1	9.3	4	94.6	92	106.5
	0.8	9.8	4	110.1	100.8	104.2
4-OH-MiPT	0.01	7.9	2.1	109.5	86.8	100.3
	0.1	8.7	3.6	95.2	93.6	102.8
	0.8	11	9	100.9	92.8	92.3
4-OH-DiPT	0.01	10.3	9.5	102.6	80.7	101.1
	0.1	9.5	4.1	97.3	107.7	99.3
	0.8	9.6	7.8	101.7	84	108.2
4-Acetoxy-DiPT	0.01	8.1	3.5	108.6	83.2	99.3
	0.1	9.9	8.6	94.5	87	95
	0.8	9.3	3.8	107.8	88	98.1
4-OH-MET	0.01	9	6.6	105.5	94.7	102.2
	0.1	8.4	3.8	93.7	93.8	89.1
	0.8	11.4	7.7	107.2	86.9	98.6

B.3 检出限和定量下限

毛发样品中16种色胺类新精神活性物质及其代谢物的检出限均为0.01ng/mg，定量下限均为0.05ng/mg。