

中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T ××××—××××

法庭科学 生物检材中氯氮平检验  
气相色谱和气相色谱-质谱法

Forensic sciences—Examination methods for clozapine in biological  
samples—GC and GC-MS

行业标准信息服务平台

××××-××-××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：公安部物证鉴定中心、山西医科大学。

本标准起草人：张蕾萍、王爱华、任昕昕、董林沛、宋歌、王芳琳、于忠山、何毅、负克明、王玉瑾、栾玉静。

行业标准信息服务平台

# 法庭科学 生物检材中氯氮平检验 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）中氯氮平的气相色谱（GC）定量检验方法和气相色谱-质谱（GC-MS）定性定量检验方法。

本标准适用于法庭科学生物检材中氯氮平的定性分析和定量分析。其他可疑样品中氯氮平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-质谱法定性定量，气相色谱法定量，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 试剂及材料

### 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) 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) 1%氢氧化钠溶液：称取 1.0g 氢氧化钠用水溶解并稀释至 100mL；

- j) 磷酸盐缓冲液(pH 值 6): 称取磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 8.812g, 磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 27.37g, 加水溶解并稀释至 1000mL;
- k) 硼砂-氢氧化钠缓冲液 (pH 值 10): 称取硼砂 ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) 2.38g, 氢氧化钠 0.86g, 加水溶解并稀释至 500mL;
- l) 标准溶液:
- 1) 1.0mg/mL 标准物质溶液: 根据氯氮平标准物质的纯度, 称取适量, 用甲醇配制 1.0mg/mL 氯氮平标准物质溶液, 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 的氯氮平标准物质溶液 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) pH 试纸: 范围 1~14;
- d) 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) 超声清洗器;
- 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 液液提取

移取血液等液体检材样品1.0mL~5.0mL, 或称取较碎的肝脏等固体检材样品1.0g~5.0g于具盖离心管中, 加入一定量的硼砂-氢氧化钠缓冲液或1%氢氧化钠溶液调pH值至9~10, 再加入二氯甲烷或乙酸乙酯5mL~10mL, 振荡10min, 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, 在浓缩器上50℃浓缩至干。残留物用甲醇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(适用于新鲜的血液样品)

移取血液检材样品1.0mL~5.0mL于具盖离心管中,加入磷酸缓冲液(pH值6)5mL~10mL,混匀,超声15min,8000r/min离心20min,取上清液转移至已活化好的固相萃取柱中,控制流速为0.5mL/min~1.0mL/min,依次用3mL甲醇/水溶液(体积比5:95)淋洗;用4mL二氯甲烷洗脱,收集洗脱液在浓缩器上50℃下浓缩至干,残留物用甲醇100μL溶解,作为检材样品提取液供仪器分析。

### 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,一份添加氯氮平标准物质,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 毛细色谱柱(30m×0.25mm×0.25μm)或等效色谱柱;

注: DB-5MS 为 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,或称取较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,其中两份添加氯氮平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分析。

## 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 毛细色谱柱（30m×0.32mm×0.25μm）或等效色谱柱；

注：DB-1 为 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：

$$W = \frac{A_{\#} \times M_{\text{添}} \times V_{\#}}{A_{\text{添}} \times M_{\#} \times V_{\text{添}}} \dots\dots\dots (1)$$

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<sub>#</sub>—检材样品提取液中目标物峰面积平均值；

M<sub>添</sub>—添加样品中标准物添加量，单位为微克（μg）；

V<sub>#</sub>—检材样品的定容体积，单位为毫升（mL）；

A<sub>添</sub>—添加样品提取液中目标物峰面积平均值；

M<sub>#</sub>—检材样品的取样量，单位为克（g）或毫升（mL）；

V<sub>添</sub>—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：

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

RD—相对相差，用百分比（%）表示；

X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>—两个检材样品平行定量测定的含量数值；

$\bar{X}$ —两个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 $\pm 1\%$ 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（不少于3个）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。GC-MS分析检出限参见附录A中A.1，相关质谱图参见附录A中图A.1~图A.3。氯氮平中毒资料参见附录B。

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%	$\leq 10\%$
最大允许相对偏差	$\pm 10\%$	$\pm 15\%$	$\pm 20\%$	$\pm 50\%$

### 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。

## 8.2 定量结果评价

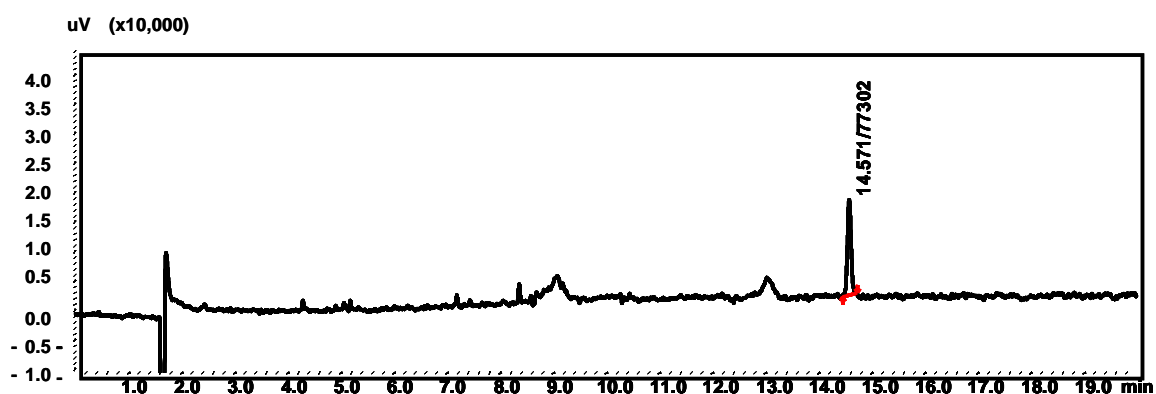
如果目标物含量的 $RD \leq 20\%$ ，定量数据可靠，其含量按两份检材的平均值计算。如果检材样品中目标物含量的 $RD > 20\%$ ，定量数据不可靠。应按7.2重新提取检验。

行业标准信息服务平台

附录 A  
(资料性附录)  
氯氮平的相关谱图及数据

A.1 气相色谱图

氯氮平的气相色谱图见图A.1。



图A.1 氯氮平的色谱图 ( $t_R=14.5$ )

A.2 气相色谱-质谱图

氯氮平的气相色谱-质谱图见图A.2、图A.3。

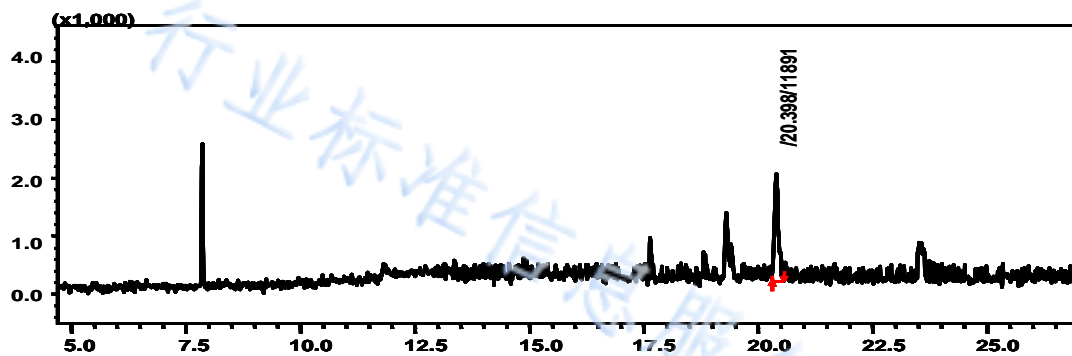
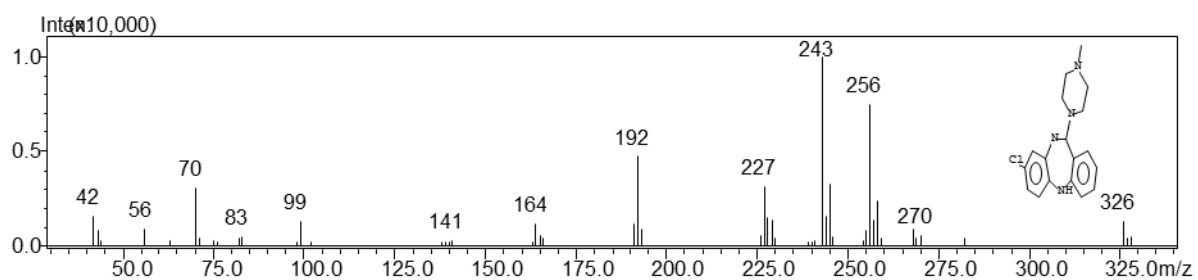


图 A.2 氯氮平总离子流图 ( $t_R=20.3$ )



图 A.3 氯氮平质谱图 ( $m/z$  70, 243, 42)

### A.3 检出限

生物检材中氯氮平检出限见表A.1。

表A.1 生物检材中氯氮平的检出限

样品	检出限	
	气相色谱法	气相色谱-质谱法
血液 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.02	0.05
组织 $\mu\text{g}/\text{g}$	0.1	0.1

行业标准信息服务平台

附 录 B  
(资料性附录)  
氯氮平中毒资料

### B.1 中毒症状

最常见的症状包括谵妄、昏迷、心动过速、低血压、呼吸抑制或衰竭、唾液分泌过多等，过量服用可致嗜睡、眩晕、运动失调，超大剂量后可至昏迷。氯氮平的过量中毒，临床主要表现为：

- a) 警觉性下降，可致昏迷；
- b) 心动过速、心律失常、低血压；
- c) 中枢和周缘抗胆碱能症状，瞳孔缩小；
- d) 口服一次剂量超过2g者，死亡率高达12%，死亡原因为心肺衰竭。

### B.2 氯氮平中毒及死亡机理

口服或注入过量的氯氮平可引起中毒或死亡，其毒性主要表现在对神经系统、造血系统、消化系统和泌尿系统的控制，最后导致中毒者死亡。

### B.3 氯氮平中毒死亡尸体解剖情况

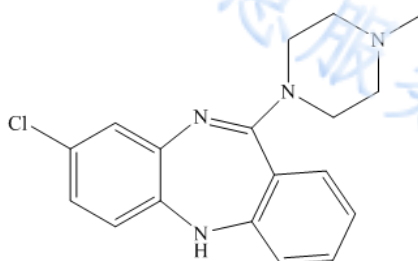
氯氮平药物急性中毒死亡的尸体主要表现为全身散在性紫癜。尸体解剖所见，胃粘膜充血或出血。

### B.4 氯氮平治疗及中毒致死量

药物治疗量：首剂25mg，治疗剂量（200~400）mg/日，最高达600mg/日。氯氮平大剂量服用可致人死亡，人血中治疗浓度为160μg/L~500μg/L，血中毒浓度为3200μg/L~4500μg/L。

### B.5 氯氮平结构

氯氮平的化学名称为8-氯-11-(4-甲基-1-哌嗪基)-5H-二苯并二氮杂卓，分子量326，分子式 $C_{18}H_{19}ClN_4$ ，化学结构见图B.1。



图B.1 氯氮平结构