

SF

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0178—2024  
代替 SF/Z JD0107018—2018

血液中溴敌隆等 13 种抗凝血类杀鼠药的液  
相色谱-质谱定性定量检验方法

Qualitative and quantitative determination of 13 anticoagulant rodenticides including  
bromadiolone in blood by liquid chromatography-mass spectrometry

2024 - 12 - 30 发布

2025 - 06 - 01 实施



# 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、仪器和设备 .....	1
6 定性分析 .....	2
7 定量分析 .....	4
8 分析结果评价 .....	5
附录 A（资料性） 目标物的相关信息及方法线性范围、检出限与定量限 .....	7

## 前 言

本文件按照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。

本文件代替SF/Z JD0107018—2018《血液中溴敌隆等13种抗凝血类杀鼠药的液相色谱-串联质谱检验方法》，与SF/Z JD0107018—2018相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了目标物的“英文名称”（见附录A）；
- b) 增加了目标物的“CAS号”（见附录A）。

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。

本文件由司法鉴定科学研究院提出。

本文件由司法部信息中心归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院、四川大学、华中科技大学。

本文件主要起草人：严慧、乔正、刘伟、廖林川、黄垂秀、叶懿、林瑶、向平、沈保华、王鑫、卓先义、沈敏、吴何坚。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2018年首次发布为SF/Z JD0107018—2018；
- 本次为第一次修订。

# 血液中溴敌隆等 13 种抗凝血类杀鼠药的液相色谱-质谱 定性定量检验方法

## 1 范围

本文件描述了血液中溴敌隆、溴鼠灵、克灭鼠、异杀鼠酮、杀鼠酮、华法林、杀鼠醚、氯杀鼠灵、敌鼠、敌害鼠、氯鼠酮、鼠得克和氟鼠灵13种抗凝血类杀鼠药的液相色谱-串联质谱检验方法，包括原理，试剂、仪器和设备，定性分析，定量分析以及分析结果评价。

本文件适用于血液中溴敌隆、溴鼠灵、克灭鼠、异杀鼠酮、杀鼠酮、华法林、杀鼠醚、氯杀鼠灵、敌鼠、敌害鼠、氯鼠酮、鼠得克和氟鼠灵13种抗凝血类杀鼠药的定性分析和定量分析。

## 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/T122 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

血液样品经乙酸乙酯液液提取后，采用液相色谱-串联质谱仪进行检测，经与平行操作的空白样品和添加样品作对照，以保留时间、质谱特征离子对峰和离子对丰度比进行定性分析；以定量离子对峰面积或峰面积比值为依据，采用外标法或内标法进行定量分析。

## 5 试剂、仪器和设备

### 5.1 试剂

试验用水应为符合GB/T 6682规定的一级水。所用试剂及要求如下。

- a) 甲醇：色谱纯。
- b) 乙酸铵：色谱纯。
- c) 乙酸乙酯：分析纯。
- d) 丙酮：色谱纯。
- e) 含 5%甲醇的 10 mmol/L 乙酸铵溶液：分别取乙酸铵 0.77 g 和甲醇 50 mL，置于 1000 mL 容量瓶中，加水定容至刻度，摇匀备用。
- f) 标准物质溶液：
  - 1) 标准物质储备溶液：分别精密称取溴敌隆、溴鼠灵、克灭鼠、华法林、杀鼠醚、氯杀鼠灵、敌害鼠、鼠得克和氟鼠灵标准物质适量，用甲醇配制成 1.0 mg/mL 的标准物质储备溶液。分别精密称取异杀鼠酮、杀鼠酮、敌鼠和氯鼠酮标准物质适量，用丙酮配制成 1.0 mg/mL 的标准物质储备溶液。密封，置于冰箱中冷冻保存，有效期 12 个月，或采用市售标准溶液；
  - 2) 标准物质工作溶液：试验中所用其他浓度的标准物质工作溶液均由符合 5.1 f) 1) 的标准物质储备溶液用甲醇稀释得到。密封，置于冰箱中冷藏保存，有效期 3 个月。
- g) 内标溶液：

- 1) 内标储备溶液：市售 100  $\mu\text{g/mL}$  华法林- $\text{d}_5$ （或其他合适内标物）内标储备溶液，置于冰箱冷冻保存，有效期 12 个月；
- 2) 内标工作溶液：100  $\text{ng/mL}$  的华法林- $\text{d}_5$  内标工作溶液由符合 5.1 g) 1) 的内标储备溶液用甲醇稀释得到。密封，置于冰箱中冷藏保存，有效期 3 个月。

## 5.2 仪器和设备

仪器和设备及要求如下。

- a) 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- b) 电子天平：分度值 $\leq 0.1$  mg。
- c) 旋涡混合器。
- d) 离心机。
- e) 恒温水浴锅。
- f) 移液器。

## 6 定性分析

### 6.1 样品前处理

#### 6.1.1 检材样品

取血液 1 mL，加入内标工作溶液 10  $\mu\text{L}$ ，加入乙酸乙酯 3 mL，涡旋混匀，2500 r/min 离心 3 min，转移乙酸乙酯层。检材样品中再加入乙酸乙酯 3 mL，涡旋混匀，2500 r/min 离心 3 min，转移乙酸乙酯层，合并两次的乙酸乙酯提取液，于 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴中吹干，残留物用甲醇 100  $\mu\text{L}$  复溶，供液相色谱-串联质谱仪分析。

#### 6.1.2 空白样品

取空白血液 1 mL 作为空白样品，按照 6.1.1 的方法，与检材样品平行操作。

#### 6.1.3 添加样品

取空白血液 1 mL，添加标准物质工作溶液，配制成 2  $\text{ng/mL}$  的添加样品，然后按 6.1.1 的方法，与检材样品平行操作。

### 6.2 仪器检测

#### 6.2.1 仪器条件

##### 6.2.1.1 液相色谱条件

以下为参考条件，可根据不同品牌仪器等实际情况进行调整。

- a) 色谱柱：C18 柱（100 mm $\times$ 2.1 mm，3.5  $\mu\text{m}$ ）或其他等效柱。
- b) 流动相：流动相 A 为含 5% 甲醇的 10 mmol/L 乙酸铵溶液，流动相 B 为甲醇；采用梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 1。
- c) 流速：0.2 mL/min。
- d) 柱温：室温。
- e) 进样量：5  $\mu\text{L}$ 。

表1 流动相梯度洗脱程序

时间 min	流动相A	流动相B
0	80%	20%
1.5	80%	20%
3.0	40%	60%
5.0	40%	60%

表1 流动相梯度洗脱程序 (续)

时间 min	流动相A	流动相B
5.5	15%	85%
7.5	15%	85%
10.0	80%	20%

### 6.2.1.2 质谱条件

6.2.1.2.1 以下为参考条件, 可根据不同品牌仪器等实际情况进行调整。

- 离子源: 电喷雾电离-负离子模式 (ESI<sup>-</sup>)。
- 检测方式: 多反应监测 (MRM)。
- 离子源电压: -4500 V。
- 碰撞气、气帘气、雾化气和辅助气均为高纯氮气, 使用前调节各气流流量以使质谱灵敏度达到检测要求。
- 去簇电压和碰撞能量优化至最佳灵敏度。

6.2.1.2.2 在符合 6.2.1.1 和 6.2.1.2 的液相色谱条件和质谱条件下, 目标物和内标物的质谱参数和保留时间参见表 2。

表2 目标物和内标物的质谱参数和保留时间

目标物	定性离子对 <i>m/z</i>	去簇电压 V	碰撞能量 eV	保留时间 min
克灭鼠	297.1>161.1*	-65	-25	4.8
	297.1>210.7		-42	
异杀鼠酮	229.0>144.7*	-80	-32	5.3
	229.0>116.0		-49	
杀鼠酮	229.1>116.0*	-80	-46	5.3
	229.1>172.0		-28	
华法林	307.2>160.8*	-70	-29	5.4
	307.2>250.0		-31	
杀鼠醚	291.1>140.9*	-86	-37	5.7
	291.1>247.0		-30	
氯杀鼠灵	341.0>161.0*	-75	-30	6.2
	341.0>283.8		-34	
敌鼠	339.1>167.1*	-100	-34	6.7
	339.1>145.2		-32	
敌害鼠	335.1>160.8*	-40	-18	6.8
	335.1>335.1		-10	
氯鼠酮	373.0>200.9*	-60	-31	7.4
	373.0>145.2		-33	
溴敌隆	525.1>250.1*	-90	-52	7.8
	525.1>272.9		-50	
鼠得克	443.3>135.0*	-100	-46	8.0
	443.3>293.2		-44	
氟鼠灵	541.3>382.3*	-100	-36	8.2
	541.3>161.1		-48	
溴鼠灵	521.1>134.9*	-95	-54	8.7
	521.1>187.0		-52	
华法林-d <sub>5</sub> (内标物)	312.2>161.0*	-75	-28	5.4
	312.2>255.0		-33	

注: 带\*的离子对为定量离子对。

### 6.2.2 进样

分别吸取空白样品提取液、检材样品提取液和添加样品提取液, 按6.2.1的条件进样分析。

### 6.3 记录

记录空白样品、检材样品和添加样品中目标物可疑色谱峰的保留时间、质谱特征离子对和离子对丰度比。

#### 6.4 定性判断依据

以保留时间、质谱特征离子对峰和离子对丰度比作为定性判断依据。

若检材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目标物的色谱峰保留时间比较，相对误差在 $\pm 2.5\%$ 内，且定性离子对丰度比与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，则可判断检材样品中检出该种目标物。

表3 离子对丰度比的最大允许相对误差

离子对丰度比	>50%	>20%~50%	>10%~20%	$\leq 10\%$
允许的相对误差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

### 7 定量分析

#### 7.1 样品前处理

取检材样品血液1 mL两份，按6.1.1的方法操作。

另取空白血液样品若干份，添加标准物质工作溶液适量，制得系列质量浓度或单点质量浓度的添加样品，与检材样品平行操作。目标物的相关信息及方法线性范围、检出限与定量限见附录A。

检材样品中目标物的质量浓度需在工作曲线的线性范围内。配制单点质量浓度的添加样品时，检材样品中目标物质量浓度应在添加样品目标物质量浓度的 $(100 \pm 50)\%$ 范围内。

#### 7.2 仪器检测

##### 7.2.1 仪器条件

仪器条件应符合6.2.1的要求。

##### 7.2.2 进样

分别将检材样品、系列质量浓度的添加样品或单点质量浓度添加样品，按6.2.1的条件进样分析。

#### 7.3 记录与计算

##### 7.3.1 基本要求

记录检材样品、系列质量浓度的添加样品或单点质量浓度添加样品中目标物及内标物（内标法）的峰面积值，然后计算检材样品中目标物的质量浓度。

##### 7.3.2 外标法

###### 7.3.2.1 外标-工作曲线法

在系列浓度的添加样品中，以目标物定量离子对的峰面积值（ $Y$ ）为纵坐标、目标物质量浓度（ $C$ ）为横坐标进行线性回归，得线性方程。

根据检材样品中目标物的峰面积值，按式（1）计算检材样品中目标物的质量浓度。

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

式中：

$C$ ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$Y$ ——检材样品中目标物的峰面积值；

$a$ ——线性方程的截距；

$b$ ——线性方程的斜率。

###### 7.3.2.2 外标-单点校正法

根据检材样品和添加样品中目标物的峰面积值，按式（2）计算检材样品中目标物的质量浓度。

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

式中：

- $C$  ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；  
 $A$  ——检材样品中目标物的峰面积值；  
 $A'$  ——添加样品中目标物的峰面积值；  
 $c$  ——添加样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

### 7.3.3 内标法

#### 7.3.3.1 内标-工作曲线法

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

根据检材样品中目标物及内标物定量离子对的峰面积比值，按式（3）计算检材样品中目标物的质量浓度。

$$C = \frac{Y - a}{b} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

- $C$  ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；  
 $Y$  ——检材样品中目标物与内标物定量离子对的峰面积比值；  
 $a$  ——线性方程的截距；  
 $b$  ——线性方程的斜率。

#### 7.3.3.2 内标-单点校正法

根据检材样品和添加样品中目标物与内标物定量离子对的峰面积比值，按式（4）计算检材样品中目标物的质量浓度。

$$C = \frac{A \times c}{A'} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

- $C$  ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；  
 $A$  ——检材样品中目标物与内标物的峰面积比值；  
 $A'$  ——添加样品中目标物与内标物的峰面积比值；  
 $c$  ——添加样品中目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

### 7.3.4 计算相对相差

检材样品平行测定两份，相对相差按式（5）计算。

$$RD = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中：

- $RD$  ——相对相差；  
 $C_1$ 、 $C_2$  ——两份检材样品目标物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；  
 $\bar{C}$  ——两份检材样品中目标物质量浓度的平均值（ $C_1 + C_2$ ）/2，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

## 8 分析结果评价

### 8.1 定性分析结果评价

#### 8.1.1 阴性结果评价

阴性结果评价包括：

- a) 若检材样品中仅检出内标物，未检出目标物，且添加样品中检出目标物，则阴性结果可靠；

- b) 若检材样品中未检出内标物，或添加样品中未检出目标物，则阴性结果不可靠，应按第 6 章的规定重新检验。

#### 8.1.2 阳性结果评价

阳性结果评价包括：

- a) 若检材样品中检出目标物，且空白样品无干扰，则阳性结果可靠；
- b) 若检材样品中检出目标物，空白样品亦呈阳性，则阳性结果不可靠，应按第 6 章的规定重新检验。

#### 8.2 定量分析结果评价

两份检材样品中目标物质量浓度的相对相差不超过20%（腐败检材不超过30%）时，结果按两份检材样品的平均值计算，否则应重新测定。

## 附录 A

(资料性)

## 目标物的相关信息及方法线性范围、检出限与定量限

目标物的相关信息及方法线性范围、检出限与定量限见表A.1。

表A.1 目标物的相关信息及方法线性范围、检出限与定量限

中文名称	英文名称	CAS 号	线性范围 ng/mL	检出限 ng/mL	定量限 ng/mL
克灭鼠	Coumafuryl	117-52-2	0.5~50	0.2	0.5
异杀鼠酮	Valone	83-28-3	0.5~50	0.2	0.5
杀鼠酮	Pindone	83-26-1	0.5~50	0.2	0.5
华法林	Warfarin	81-81-2	0.5~50	0.2	0.5
杀鼠醚	Coumatetralyl	5836-29-3	0.5~50	0.2	0.5
氯杀鼠灵	Coumachlor	81-82-3	0.5~50	0.2	0.5
敌鼠	Diphacinone	82-66-6	0.5~50	0.2	0.5
敌害鼠	Dicumarol	66-76-2	0.5~50	0.2	0.5
氯鼠酮	Chlorophacinone	3691-35-8	0.5~50	0.2	0.5
溴敌隆	Bromadiolone	28772-56-7	0.5~50	0.2	0.5
鼠得克	Difenacoum	56073-07-5	0.5~50	0.2	0.5
氟鼠灵	Flocoumafen	90035-08-8	0.5~50	0.2	0.5
溴鼠灵	Brodifacoum	56073-10-0	0.5~50	0.2	0.5