

T/

团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

食品中毒鼠强与氟乙酰胺的测定 气相色谱 -质谱法

Detection of tetramine and fluoroacetamide in food by gas chromatography-mass
spectrometry

(征求意见稿)



XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华预防医学会 发布

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。

本文件由中华预防医学会提出。

本文件由中华预防医学会归口。

本文件起草单位：江苏省疾病预防控制中心、南京大学环境学院、南京市疾病预防控制中心、云南省疾病预防控制中心、马鞍山市疾病预防控制中心、南京市职业病防治院。

本文件主要起草人：刘华良、李泽冉、荣维广、陈蓓、朱峰、吉文亮、王联红、刘祥萍、宋卿、李勇、于曼婷。



食品中毒鼠强与氟乙酰胺的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了食品中毒鼠强和氟乙酰胺的气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于测定粮食与谷物、水果与蔬菜、肉与肉制品、调味品中毒鼠强和氟乙酰胺的测定。

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 27404 实验室质量控制规范 食品理化检测 附录E：食品样品的抽取、制备和保存方式

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样用乙酸乙酯或乙腈提取、净化，采用选择离子监测模式（SIM），气相色谱-质谱法检测，用保留时间和质谱碎片的丰度比定性，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：分析纯。

5.1.2 乙酸乙酯（ $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ ）：色谱纯。

5.1.3 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：550℃烘烤4 h。

5.1.4 水：GB/T 6682 规定的一级水。

5.2 标准品

5.2.1 毒鼠强标准品（ $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$ ）：纯度 $\geq 95.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.2.2 氟乙酰胺标准品（ $\text{C}_2\text{H}_4\text{FNO}$ ）：纯度 $\geq 95.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取 10 mg 毒鼠强标准品（精确到 0.1 mg）于 10 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。准确称取 10 mg 氟乙酰胺标准品（精确到 0.1 mg）于 10 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。置于-20℃冰箱中保存，保存期半年。

5.3.2 混合标准工作液（10 mg/L）：分别准确移取 100 μL 毒鼠强和氟乙酰胺标准储备溶液（1000 mg/L）于同一 10 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。置于 0℃~5℃冰箱中保存，保存期 1 个月。

5.4 材料

5.4.1 活性炭：40 μm ~120 μm 。

5.4.2 增强型基质去除净化管 EMR-Lipid：300 mg/3 mL。

6 仪器

- 6.1 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源（EI）。
- 6.2 分析天平：感量为 1 mg 和 0.1 mg。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 超声波清洗机。
- 6.5 离心机：转速 ≥ 4000 r/min。
- 6.6 组织匀浆机。
- 6.7 氮吹仪。

7 试样制备

各类样品的制样方法、存放容器和保存方式应按照GB/T 27404附录E的要求。

8 分析步骤

8.1 前处理

8.1.1 粮食与谷物

称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

8.1.2 水果与蔬菜

称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙酸乙酯（对于颜色较深的试样，再添加20 mg活性炭）。涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

8.1.3 肉与肉制品

称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙腈，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙腈，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液。将上清液加入EMR-Lipid小柱中，过滤，收集滤液。取1 mL滤液，40℃氮吹浓缩至近干，用1 mL乙酸乙酯复溶，待上机。

8.1.4 调味品

称取1 g（精确至0.001 g）试样于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

8.2 测定

8.2.1 仪器参考条件

- a) 色谱柱：VF-624ms 毛细管色谱柱（柱长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 1.4 μ m，固定液为 6% 氰丙基/苯基和 94% 聚二甲基硅氧烷），或相当者；
- b) 程序升温：起始温度 60℃，10℃/min 升温至 130℃，再以 20℃/min 升温至 250℃，保持 10 min；
- c) 载气：氦气，纯度 $\geq 99.999\%$ ；
- d) 流速 1.0 mL/min；
- e) 进样口温度：260℃；
- f) 进样量：1 μ L；

- g) 进样方式：分流进样，分流比 10:1；
- h) 电子轰击源：70 eV；
- i) 离子源温度：200℃；
- j) 接口温度：260℃；
- k) 溶剂延迟：4.8 min。

8.2.2 标准曲线

准确吸取一定量的混合标准工作液（10 mg/L），用乙酸乙酯逐级稀释成质量浓度为0 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L和2.00 mg/L的标准系列溶液，供气相色谱-质谱仪测定。以各标准系列溶液的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。目标化合物的标准色谱图和质谱图见附录A。

8.2.3 定性及定量

8.2.3.1 定性

以化合物的保留时间及特征离子进行定性分析，被测试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在±1.0%之内。同时被测试样中目标化合物的相应监测离子丰度比与标准溶液中目标化合物的离子丰度比一致，允许的偏差见表1。

表1 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%~50%（含）	10%~20%（含）	≤10%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

8.2.3.2 定量分析

外标法定量。

8.3 试样溶液的测定

待测样液中目标化合物的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应对净化液稀释后再进样分析。

8.4 平行试验

按8.1~8.3的规定对同一试样进行平行试验测定。

8.5 空白试验

除不加试样外，与样品处理过程相同。

9 结果计算

试样中毒鼠强和氟乙酰胺含量按式（1）计算。

$$X = \frac{\rho \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X ——试样中毒鼠强和氟乙酰胺的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- ρ ——由标准曲线查得测定样液中中毒鼠强和氟乙酰胺的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；
- V ——被测定样液的定容体积，单位为毫升（mL）；
- 1000——单位换算因子；
- m ——试样的称样质量，单位为克（g）。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

11 其他

11.1 方法验证时，回收率范围应满足 60%~120%，精密度应 $\leq 10\%$ ，定量限应满足附录 B 要求。

11.2 样品检测时，空白样品和加标样品（定量限浓度）应同批检测，空白样品不应检出毒鼠强和氟乙酰胺，加标样品应有检出。

11.3 本方法主要用于中毒检测。如果用于食品污染排查，需要更高的灵敏度，可在 8.1 前处理中取全量萃取液氮吹浓缩，1 mL 乙酸乙酯复溶后上机检测。

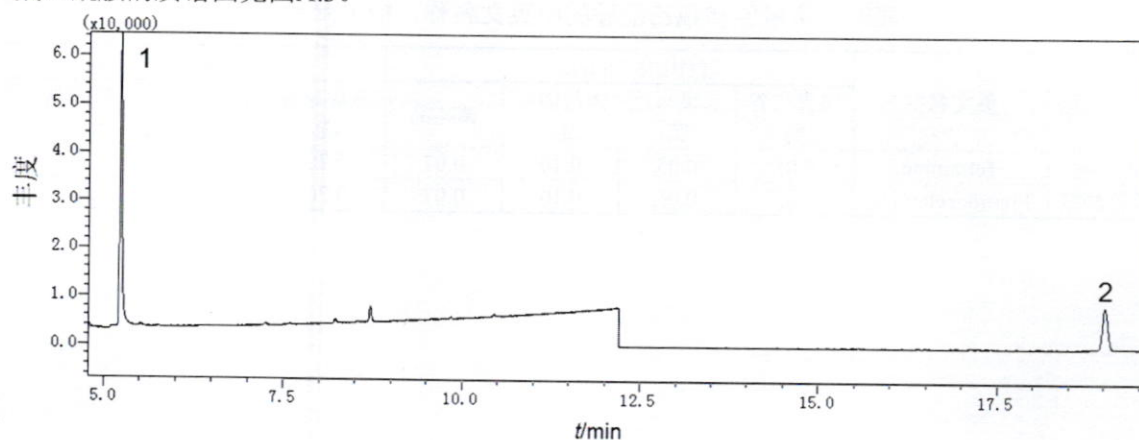
11.4 方法检出限和定量限参见附录 B，毒鼠强和氟乙酰胺的理化参数、保留时间和特征离子参见附录 C。

附录 A

(资料性)

毒鼠强和氟乙酰胺的色谱图和质谱图

分段采集模式下1.5 mg/L毒鼠强和氟乙酰胺标准溶液的总离子流图见图A.1，毒鼠强的质谱图见图A.2，氟乙酰胺的质谱图见图A.3。

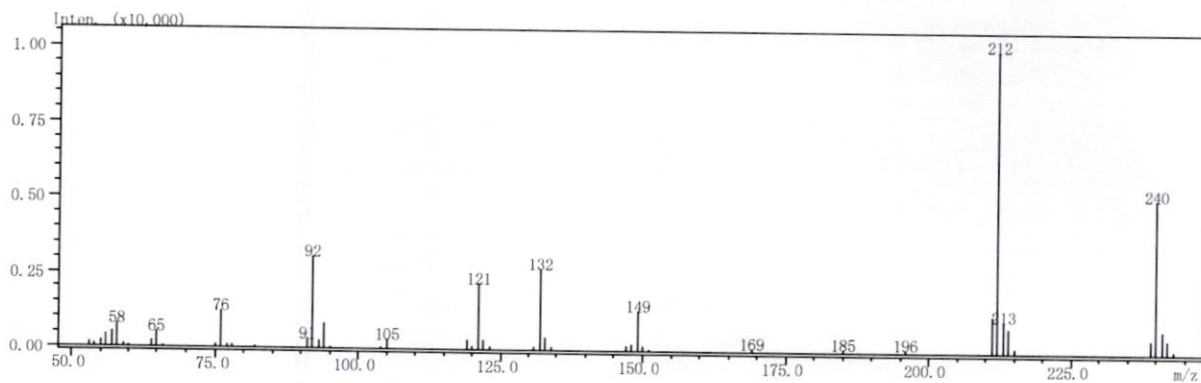


说明:

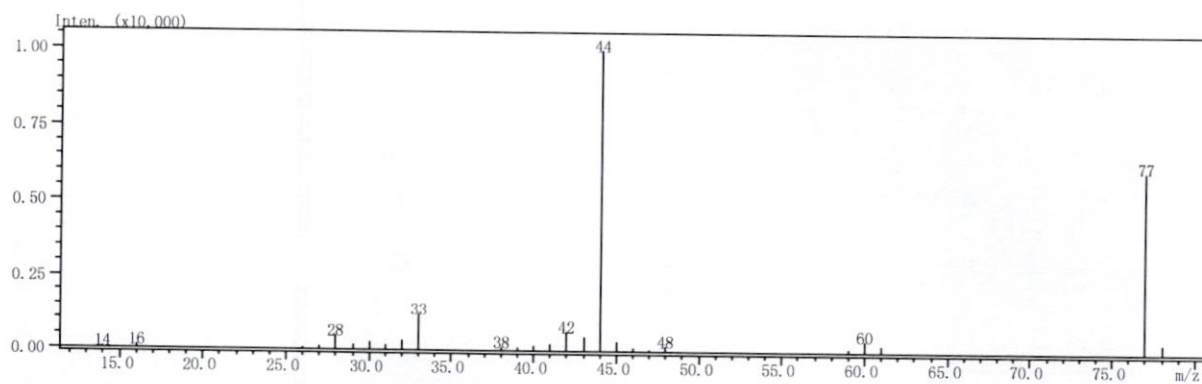
1——氟乙酰胺;

2——毒鼠强。

图A.1 分段采集模式下 1.5 mg/L 毒鼠强和氟乙酰胺标准溶液的总离子流图



图A.2 毒鼠强的质谱图



图A.3 氟乙酰胺的质谱图

附录 B

(资料性)

毒鼠强和氟乙酰胺的中英文名称、检出限和定量限

毒鼠强和氟乙酰胺的中英文名称、检出限和定量限见表B.1。

表B.1 毒鼠强和氟乙酰胺的中英文名称、检出限和定量限

中文名称	英文名称	检出限 (mg/kg)				定量限 (mg/kg)			
		粮食与谷物	水果与蔬菜	肉与肉制品	调味品	粮食与谷物	水果与蔬菜	肉与肉制品	调味品
毒鼠强	Tetramine	0.05	0.05	0.10	0.07	0.20	0.20	0.30	0.20
氟乙酰胺	Fluoroacetamide	0.05	0.05	0.10	0.07	0.20	0.20	0.30	0.20

附录 C
(资料性)

毒鼠强和氟乙酰胺的理化参数、保留时间和特征离子

毒鼠强和氟乙酰胺的理化参数、保留时间和特征离子见表C.1。

表C.1 毒鼠强和氟乙酰胺的化学式、CAS号、相对分子量、保留时间和特征离子

组分名称	化学式	CAS号	相对分子量	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
毒鼠强	$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$	80-12-6	240.26	19.13	212	132, 240
氟乙酰胺	$\text{C}_2\text{H}_4\text{FNO}$	640-19-7	77.06	5.29	77	44, 60

《食品中毒鼠强与氟乙酰胺的测定-气相色谱质谱法》编制说明



一、工作简况

1 任务来源

2019年,江苏省疾病预防控制中心根据中华预防医学会2019年度第二批团体标准立项项目的通知申请《食品中毒鼠强与氟乙酰胺的测定-气相色谱质谱法》立项,开展研制工作。

2002年9月14日,南京市江宁区汤山镇发生严重食物中毒事件。某中学附近部分学生和民工因食用了油条、烧饼、麻团等食物后陆续发生呕吐、吐血等中毒症状,一共造成42人死亡,300多人中毒。经查明陈正平在南京市江宁区汤山镇经营“菊红”面食店期间,为琐事与汤山镇“正武”面食店业主陈宗武发生矛盾。陈正平见陈宗武面食店生意兴隆,遂怀恨在心,意图报复,所以用毒鼠强害死客人。南京市中级人民法院一审判决陈正平死刑,于2002年10月14日执行枪决。这起事件处置过程中,我单位检测人员在烧饼中检测出毒鼠强,为事件调查定性起了一锤定音的作用,事后省领导到我单位给予高度肯定。毒鼠强对所有温血动物都有剧毒,其毒性相当于砒霜的300倍,大约5毫克就可以致人死亡。毒鼠强毒死的老鼠,猫吃了都会中毒;毒死的老鼠和猫埋在地里,还会造成土壤污染。

毒鼠强在国外早已限制其使用。我国也于1991年由化工部、农业部农药检定所发文禁止使用。2003年国家公安部发言人说,我国毒鼠强生产技术源头目前已查清:3名科技工作者丧失职业道德,从国外文献上翻译出毒鼠强的制作工艺和配方,将其非法转让给一些不法生产者。2003年已查到至少16家非法生产毒鼠强的厂家。据不完全统计,1992年以来,这些厂家已生产了35吨毒鼠强原粉,这些原粉在添加了一些添加物以后,通过邮局销往全国31个省、自治区、直辖市,共有80多吨。

尽管禁用多年,由于有存货,毒鼠强与氟乙酰胺导致的急性食物中毒事件仍然时有发生(两种药往往复配使用),如2017年10月21日在贵港市某村曾发生一起毒鼠强中毒事件,6人中毒。2018~2019年沈阳第九人民医院收治了14例氟乙酰胺中毒患者。

因此，制定食品中毒鼠强和氟乙酰胺的检测标准，是必要的，具有重要的现实意义。

2 起草组成员

江苏省疾病预防控制中心，刘华良，承担项目申报、方案制定、组织验证、征求专家意见；

江苏省疾病预防控制中心，李泽冉，负责方法研制、试验、文本撰写；

江苏省疾病预防控制中心，荣维广，参与方法研制、试验；

江苏省疾病预防控制中心，陈蓓，参与方法研制、试验；

江苏省疾病预防控制中心，朱峰，参与方法研制、评价；

江苏省疾病预防控制中心，吉文亮，参与方法研制、评价；

南京大学环境学院，王联红，参与方法研制、试验；

南京市疾病预防控制中心，刘祥萍，参与方法研制、试验。

本方法验证单位及验证人：

云南省疾病预防控制中心，宋卿，承担验证试验及验证报告撰写；

马鞍山市疾病预防控制中心，李勇，承担验证试验及验证报告撰写；

南京市职业病防治院，于曼婷，承担验证试验及验证报告撰写。

3 主要工作过程

2012年在江苏省卫生厅十二五“科教兴卫”计划支持下，研制了食品中毒鼠强与氟乙酰胺的气相色谱质谱测定方法，覆盖了面粉等谷物、酱油等调味料、菜汤等常见投毒对象，累计有3篇相关论文在《中国食品卫生杂志》、《分析实验室》、《色谱》发表。

2019年11月：前期工作被中疾控肯定，立项起草团体标准。

2020年12月：试剂耗材购买。

2021年1-8月：实验研究。

2021年8-9月：3家单位方法验证，10位以上专家意见征集。

2021年10月：撰写文件并提交征求意见稿、编制说明等文件。

2021年12月：组织专家进行预评审会。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

1 方法原理

试样用乙酸乙酯或乙腈提取、净化，采用选择离子监测模式（SIM），气相色谱-质谱法检测，用保留时间和质谱碎片的丰度比定性，外标法定量。

2 使用范围

本标准规定了食品中毒鼠强和氟乙酰胺的气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于测定粮食与谷物、水果与蔬菜、肉与肉制品、调味品中毒鼠强和氟乙酰胺的测定。

3 仪器设备

气相色谱-质谱联用仪（配有EI源），离心机，涡旋混合器，超声清洗机，组织匀浆机，氮吹仪，分析天平。对于气相色谱质谱检测方法，该设备2000年左右在省级检测机构开始配置，2009年食品安全法颁布后，在市级检测机构也均已配置。

4 分析步骤

4.1 前处理

粮食与谷物：称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

水果与蔬菜：称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙酸乙酯（对于颜色较深的试样，再添加20 mg活性炭）。涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

肉与肉制品：称取1 g试样（精确至0.001 g）于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙腈，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清液后，再加入2 mL乙腈，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液。将上清液加入EMR-Lipid小柱中，过滤，收集滤液。取1 mL滤液，40℃氮吹浓缩至近干，用1 mL乙酸乙酯复溶，待上机。

调味品：称取1 g（精确至0.001 g）试样于15 mL离心管中，加入2 g无水硫酸钠和2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，超声15 min，4000 r/min离心5 min。取出上清

液后，再加入2 mL乙酸乙酯，涡旋1 min，4000 r/min离心5 min，合并上清液，待上机。

4.2 测定

4.2.1 仪器参考条件

- a) 色谱柱：VF-624ms毛细管色谱柱（柱长30 m，内径0.25 mm，膜厚1.4 μ m，固定液为6%氰丙基/苯基和94%聚二甲基硅氧烷），或相当者；
- b) 程序升温：起始温度60℃，10℃/min升温至130℃，再以20℃/min升温至250℃，保持10 min；
- c) 载气：氦气，纯度 $\geq 99.999\%$ ；
- d) 流速1.0 mL/min；
- e) 进样口温度：260℃；
- f) 进样量：1 μ L；
- g) 进样方式：分流进样，分流比10:1；
- h) 电子轰击源：70 eV；
- i) 离子源温度：200℃；
- j) 接口温度：260℃；
- k) 溶剂延迟：4.8 min。

4.3 标准溶液配置

4.3.1 标准储备溶液(1000 mg/L)：准确称取10 mg毒鼠强标准品（精确到0.1 mg）于10 mL容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。准确称取10 mg氟乙酰胺标准品（精确到0.1 mg）于10 mL容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。置于-20℃冰箱中保存，保存期半年。

4.3.2 混合标准工作液（10 mg/L）：分别准确移取100 μ L毒鼠强和氟乙酰胺标准储备溶液(1000 mg/L)于同一10 mL容量瓶中，用乙酸乙酯稀释至刻度，混匀。置于0℃~5℃冰箱中保存，保存期1个月。

4.3.3 标准曲线：准确吸取一定量的混合标准工作液，用乙酸乙酯逐级稀释成质量浓度为0 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L和2.00 mg/L的标准系列溶液，现配现用。

5 确定标准主要内容的论据

下面把方法学研究的相关技术参数进行说明,依据GB/T 27404-2008 《实验室质量控制规范 食品理化检测》,包括线性范围、检出限及定量限、回收率、精密度、质量控制。

5.1 方法的线性范围及检出限

3家验证实验室及研制单位实验室结果见表1,线性相关系数在0.998-0.999之间,见表2。

表1 标准系列与响应值

实验室	浓度(mg/L)		0.05	0.10	0.50	1.0	2.0
云南省疾控	响应值	毒鼠强	4563	8517	41362	81029	169522
		氟乙酰胺	3775	7777	40851	84068	180350
南京市职防院	响应值	毒鼠强	1138	2061	10241	22580	46618
		氟乙酰胺	1434	2453	12618	27901	59369
马鞍山市疾控	响应值	毒鼠强	1065	1839	9855	19003	37286
		氟乙酰胺	731	1273	7102	13245	23684
江苏省疾控	响应值	毒鼠强	930	1412	6738	12660	25529
		氟乙酰胺	804	1807	10784	20093	40909

表2 方法的线性范围、线性方程

实验室	鼠药	线性范围	线性方程参数		
			a	b	r
云南省疾控	毒鼠强	0.05~2.0 mg/L	84368	590	0.999
	氟乙酰胺	0.05~2.0 mg/L	90408	2633	0.999
南京市职防院	毒鼠强	0.05~2.0 mg/L	23431	-577	0.999
	氟乙酰胺	0.05~2.0 mg/L	29834	-1024	0.999
马鞍山市疾控	毒鼠强	0.05~2.0 mg/L	18605	228	0.999
	氟乙酰胺	0.05~2.0 mg/L	11825	574	0.997
江苏省疾控	毒鼠强	0.05~2.0 mg/L	12613	246	0.999
	氟乙酰胺	0.05~2.0 mg/L	20483	-73	0.999

依据GB/T 27404-2008对测定低限的计算公式 $C_L = \frac{3S_b}{b}$,对7份空白样品平行测定, S_b 为空白值标准偏差, b 为方法标准曲线的斜率,计算得到待测样品的检出限和定量限如表3。综合考虑验证实验室的最大值,最终确定粮食与谷物、水

果与蔬菜、肉与肉制品、调味品中毒鼠强的检出限分别为0.05 mg/kg、0.05 mg/kg、0.10 mg/kg、0.07 mg/kg，定量限分别为0.20 mg/kg、0.20 mg/kg、0.30 mg/kg、0.20 mg/kg；氟乙酰胺的检出限分别为0.05 mg/kg、0.05 mg/kg、0.10 mg/kg、0.07 mg/kg，定量限分别为0.20 mg/kg、0.20 mg/kg、0.30 mg/kg、0.20 mg/kg。

毒鼠强和氟乙酰胺目前没有限值要求，理论上灵敏度越高越好。本方法主要用于中毒检测。如果用于食品污染排查，需要更高的灵敏度时，可在前处理过程中取全量萃取液或净化液氮吹浓缩，1 mL乙酸乙酯复溶后上机检测。

表3 方法检出限和定量限（mg/kg）

实验室	鼠药	检出限（mg/kg）				定量限（mg/kg）			
		粮食与谷物	水果与蔬菜	肉与肉制品	调味品	粮食与谷物	水果与蔬菜	肉与肉制品	调味品
云南省疾控	毒鼠强	0.056	0.04	0.032	0.056	0.2	0.14	0.076	0.19
	氟乙酰胺	0.019	0.021	0.072	0.030	0.064	0.068	0.24	0.10
南京市职防院	毒鼠强	0.015	0.021	0.018	0.029	0.048	0.068	0.06	0.096
	氟乙酰胺	0.039	0.030	0.064	0.072	0.13	0.10	0.22	0.24
马鞍山市疾控	毒鼠强	0.04	0.04	0.068	0.044	0.14	0.12	0.23	0.15
	氟乙酰胺	0.052	0.044	0.080	0.052	0.17	0.15	0.29	0.17
江苏省疾控	毒鼠强	0.048	0.052	0.096	0.06	0.16	0.18	0.33	0.20
	氟乙酰胺	0.040	0.040	0.088	0.052	0.14	0.14	0.30	0.18

5.2 回收率与精密度

选用4种实验材料进行加标实验，回收率和精密度见表4，设低、中、高3个加标水平，每个浓度水平样品平行测定6次。低浓度加标选择定量限值，以粮食与谷物为例，综合考虑研制单位和三家验证单位毒鼠强和氟乙酰胺的定量限值，加标浓度选择略高于定量限的值，统一设为0.05 mg/L，即0.2 mg/kg（标准溶液中毒鼠强和氟乙酰胺浓度一致）。中浓度统一选择0.5 mg/L，即2 mg/kg，高浓度统一选择1.5 mg/L，即6 mg/kg。精密度符合GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》规定。

表4 加标回收率和精密度测定结果（n=6）

实验室	基质	鼠药	低浓度		中浓度		高浓度	
			平均值 (%)	RSD (%)	平均值 (%)	RSD (%)	平均值 (%)	RSD (%)
云南省疾 控	粮食与 谷物	毒鼠强	93.3	10	96.3	8.2	90.1	4.8
		氟乙酰胺	92.4	4.3	90.3	4.8	85.4	3.9
	水果与 蔬菜	毒鼠强	84.2	3.6	93.7	7.7	93.1	8.7
		氟乙酰胺	75.5	3.7	82.3	5	85.3	2.8
	肉与肉 制品	毒鼠强	82.1	4.2	86.2	2.8	83.3	5.6
		氟乙酰胺	74.3	7.4	80.1	8.5	83.6	3.9
	调味品	毒鼠强	81.7	5.3	103	2.9	89	3.8
		氟乙酰胺	87.0	6.5	84.7	7.9	83.2	7.1
南京市职 防院	粮食与 谷物	毒鼠强	97.2	4.3	96.2	4.2	103	4.3
		氟乙酰胺	83.7	3.5	90.4	4.4	91.5	4.5
	水果与 蔬菜	毒鼠强	94.2	4.4	91.8	6.1	90.1	7.5
		氟乙酰胺	88.7	8.4	89.5	7.2	86.5	7.5
	肉与肉 制品	毒鼠强	87.1	5.6	95.5	4.5	94.6	5.9
		氟乙酰胺	67.9	6.2	71.0	6.6	77.4	5.5
	调味品	毒鼠强	88.5	5	87.5	5.1	89.8	5.9
		氟乙酰胺	79.6	2.9	85.8	5.1	88.1	6.6
马鞍山市 疾控	粮食与 谷物	毒鼠强	90.9	10	103	6.6	101	3.3
		氟乙酰胺	93.8	2.7	105	8.6	102	7.4
	水果与 蔬菜	毒鼠强	114	2.7	108	5.3	107	4.7
		氟乙酰胺	98.1	7.7	108	4.5	108	4.2
	肉与肉 制品	毒鼠强	93.1	1.5	95.7	3.8	98.2	5.2
		氟乙酰胺	93.9	3.4	94.6	4	93.2	6.9
	调味品	毒鼠强	109	6.2	103	9.3	101	1.6
		氟乙酰胺	94.9	8.7	104	6.4	100	3.9
江苏省疾 控	粮食与 谷物	毒鼠强	93.8	3.7	95.3	7.4	100	6.2
		氟乙酰胺	95.6	8.9	95.3	5.8	90.8	7.3

	水果与蔬菜	毒鼠强	97.4	7.7	96.2	5.6	97	5.7
		氟乙酰胺	88.4	4.3	93.2	7.4	93.7	5.1
	肉与肉制品	毒鼠强	94.8	5.9	104	2.7	103	3.6
		氟乙酰胺	67.8	8.7	71.2	3.9	75.4	6.9
	调味品	毒鼠强	101	5.2	102	6.3	100	2.6
		氟乙酰胺	83.2	4.1	85.3	5.1	89.7	3.9

5.3 图谱

2 mg/L混合标准溶液TIC图如图1。图为分段采集模式，1号峰为氟乙酰胺，2号峰为毒鼠强。氟乙酰胺质谱图如图2，毒鼠强质谱图如图3。

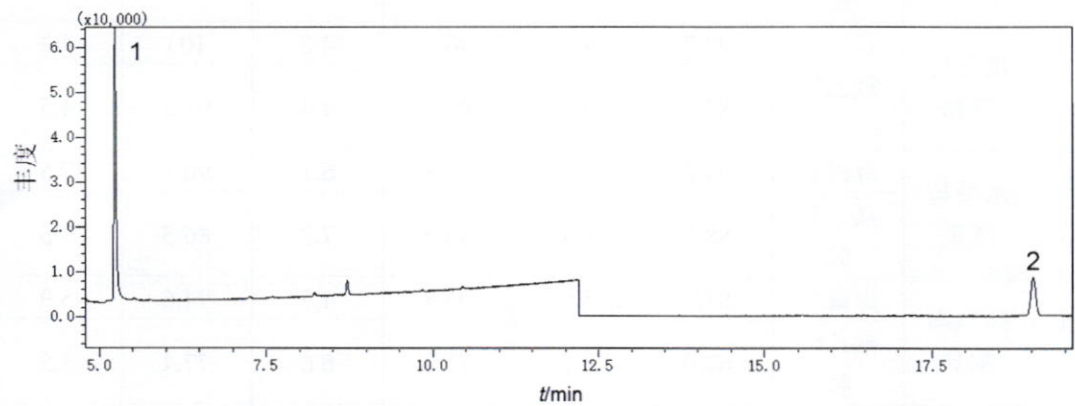


图1 标准溶液中氟乙酰胺（1）和毒鼠强（2）的总离子流图

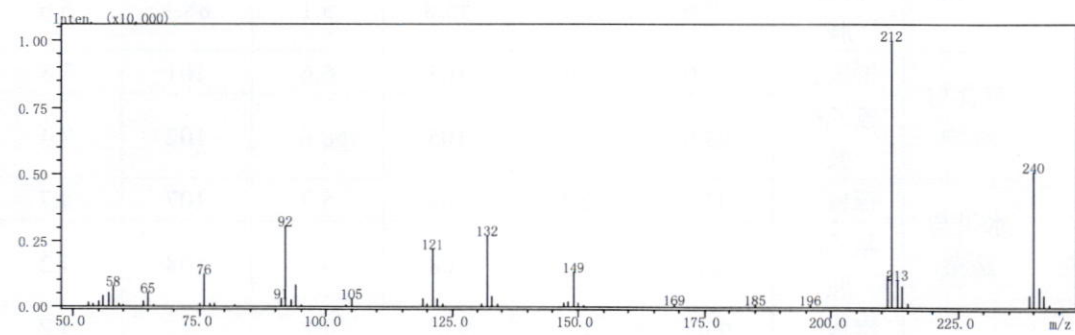


图2 毒鼠强质谱图

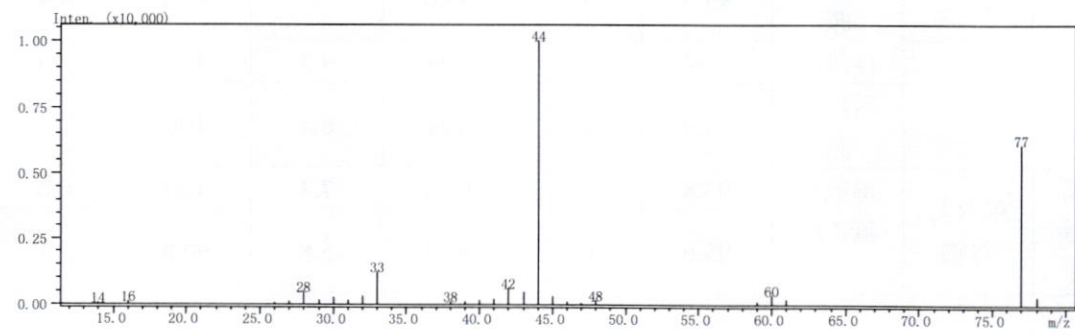


图3 氟乙酰胺质谱图

5.4 质量控制

5.4.1 空白试验

随同样品测试做空白试验，毒鼠强和氟乙酰胺在空白试验中应未检出。若空白值有检出，则表明测试过程中有沾污，样品测定结果不可靠。

5.4.2 阴性质控

采用不加标的实际样品对照，毒鼠强和氟乙酰胺属于违禁毒物，在试验中应未检出。

5.4.3 阳性质控

在实际样品中加入已知量的标准物质，成为加标样品，加标量为定量限浓度，加标样品应有检出。

三、主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益；

1 主要试验分析

1.1 色谱柱的优化

由于氟乙酰胺是极性化合物，因此在极性柱上有较适宜的保留时间和峰形；毒鼠强则在非极性柱（如DB-5ms）有良好的响应，如图4。但氟乙酰胺保留时间短促，如图5，保留时间在2.5 min附近。在实际样品测定中，容易被基质杂质峰干扰误判。为了能使二者同时测定，因此选用624中等极性柱，这样既可使两种物质分离结果良好又能克服氟乙酰胺的出峰过快且分离度差的弊病，如图1。

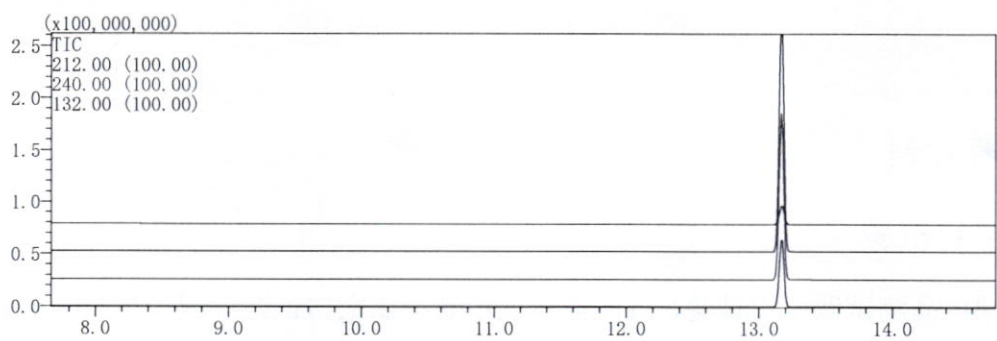


图4 SCAN模式下毒鼠强的提取离子色谱图

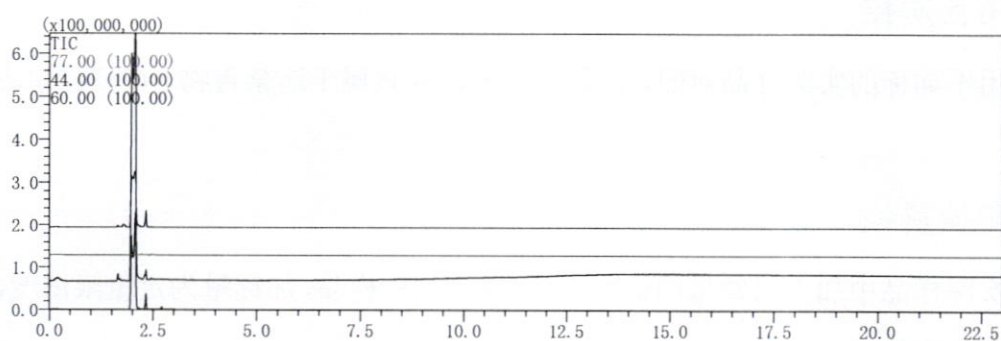


图5 SCAN模式下氟乙酰胺的提取离子色谱图

1.2 定量离子的选择

定性方法以保留时间和特征离子为定性依据，选择离子模式 (SIM) 检测， m/z 44、60、77为氟乙酰胺的特征离子； m/z 132、212、240为毒鼠强的特征离子。定量离子 m/z 77、212。通过绘制标准曲线，考察其相关系数，相关系数表明方法线性良好，如表2。

1.3 提取方法的优化

1.3.1 无水硫酸钠的作用

水果与蔬菜、调味品等样品中含水量较高，而氟乙酰胺易溶于水，如果直接用乙酸乙酯提取，使得氟乙酰胺回收率偏低。以火龙果样品为例，比较了加入无水硫酸钠除水后溶剂提取和不加无水硫酸钠直接提取的效果。回收率实验结果如表5，在乙酸乙酯提取前加入无水硫酸钠除水的步骤，提取效果更好。

表 5 无水硫酸钠对回收率的影响 (n=6)

鼠药	加入无水硫酸钠		直接提取	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
氟乙酰胺	93.6	5.1	71.5	6.0
毒鼠强	100	8.5	98.5	6.7

1.3.2 净化方法的选择

对于肉与肉制品类样品, 含有大量脂类基质干扰测定, 比较了EMR-Lipid净化法和正己烷除油净化法对两种目标化合物回收率的影响, 如表6。EMR-Lipid是一种增强型基质去除净化管, 能够高选择性、高效地去除脂质类基质, 最大程度上减少目标物的损失, 而正己烷在萃取油脂的同时也吸附了部分氟乙酰胺, 使得氟乙酰胺回收率降低。

表 6 两种净化方法对回收率的影响 (n=6)

鼠药	EMR-Lipid 净化法		正己烷除油净化法	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
氟乙酰胺	71.2	3.9	53.8	5.6
毒鼠强	104	2.7	98.4	4.0

1.3.3 活性炭用量的确定

本方法通过向颜色较深的试样中添加活性炭, 以去除色素影响, 而活性炭对氟乙酰胺和毒鼠强也具有一定的吸附作用, 以西红柿为例, 表7考察了不同活性炭用量对于提取效果的影响。当用量为每克样品20 mg活性炭时, 氟乙酰胺和毒鼠强的回收率最高, 且此时西红柿样品离心后上层溶液无色澄清, 活性炭的用量足以达到去除色素的目的。

表 7 活性炭用量对回收率的影响 (n=6)

鼠药	20 mg		50 mg		100 mg	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
氟乙酰胺	91.8	10.7	87.6	8.2	82.3	6.8
毒鼠强	96.2	5.6	89.6	4.5	85.6	5.3

1.3.4 样品提取溶剂与上机溶剂的选择

提取溶剂的选择上比较了乙腈和乙酸乙酯，二者提取效率相似，但以乙腈做最终上机的溶剂，结果出现了检测信号逐渐降低的现象。从图6可以看到用乙腈做上机溶剂，检测一段时间后，0.5 mg/L的混合标准溶液总离子流色谱图中氟乙酰胺（峰1）和毒鼠强（峰2）信号明显低于初始时的信号。乙腈可能对色谱柱产生了损伤，以乙酸乙酯作溶剂则没有出现这种现象。

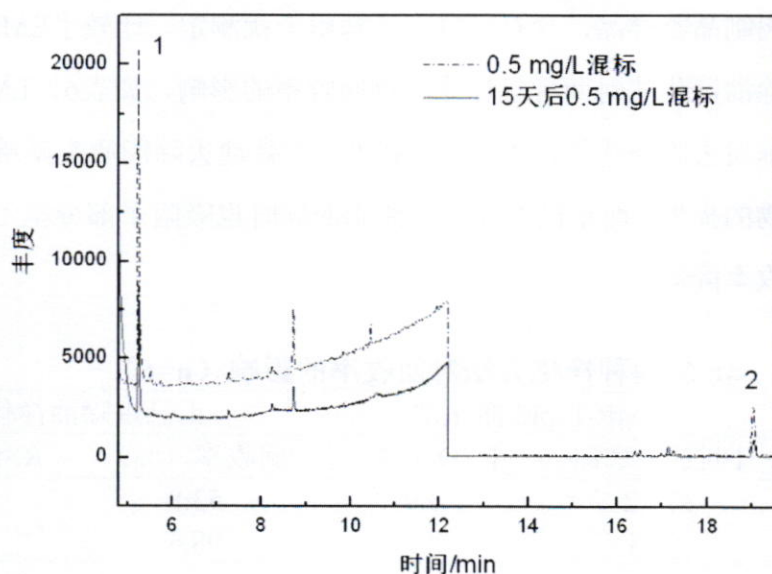


图6 0.5 mg/L混标总离子流图间隔15天对比

而对于肉与肉制品类样品，由于EMR-Lipid净化依赖于体积排阻和吸附剂与脂质的长脂肪链官能团之间的疏水相互作用，与水互溶的溶剂乙腈提取效果明显优于乙酸乙酯，因此为了保证数据结果的稳定可靠，在乙腈提取的最后一步增加了氮吹操作，将溶剂乙腈替换为乙酸乙酯后上机检测。

1.4 线性范围、检出限、回收率、精密度

见二.5确定标准主要内容的论据。

2 预期效果

本方法适用于常见食品中毒鼠强与氟乙酰胺的可靠定性与准确定量，为突发食物中毒、违法投毒事件的处置起到一锤定音的作用。常见食品包括粮食与谷物、水果与蔬菜、肉与肉制品、调味品四类。本方法预期可以解决县级以上疾病预防控制机构及其他食品检测机构处置疑似毒鼠强和氟乙酰胺导致突发公共安全时间时无技术标准依据的局面。

从国内外技术状况看,样品中毒鼠强化学方法难以检出,主要依靠仪器分析法。仪器分析法包括薄层层析法、气相色谱氮磷检测器及气相色谱-质谱联用法。由于GC-MS法定性能力强、检测灵敏度高,是目前主流的检测技术,也是未来的发展趋势。

四、标准涉及的相关知识产权说明

不涉及。

五、采用国际标准的程度与水平的简要说明

1 被测指标的基本情况

毒鼠强, CAS号80-12-6, 分子式 $C_4H_8N_4O_2S_2$, 无味的白色晶体或粉末, 难溶于甲醇、乙醇和水, 微溶于氯仿和丙酮, 可溶于乙酸乙酯和苯, 易溶于二甲基亚砩。化学性质非常稳定, 在稀酸或稀碱中不分解, $255^{\circ}C$ 分解, 大鼠 LD_{50} 经口0.25 mg/kg, 人最低致死剂量5~10 mg。

氟乙酰胺, CAS号640-19-7, 分子式 C_2H_4OFN , 白色针状结晶, 无臭无味, 易溶于水、乙醇、丙酮, 易潮解, 熔点 $107\sim 108^{\circ}C$, 沸点 $259^{\circ}C$, 常温下化学性质较为稳定。大鼠 LD_{50} 经口15 mg/kg, 人最低致死剂量5 mg/kg。

2 与相关规范性文件和其他标准的关系

相关标准: 目前尚无食品中毒鼠强的标准检测方法。关于毒鼠强的检测方法标准中, 有公安部标准1项: GA / T 205-1999中毒案件检材中毒鼠强的气相色谱定性及定量分析方法; 环保部标准1项: HJ614-2011土壤毒鼠强的测定 气相色谱法;

相关技术规范: 卫办应急发(2011) 94号“关于印发突发中毒事件卫生应急处置15个技术方案的通知”有关毒鼠强与氟乙酰胺的检测技术方案为气相色谱法, 该方法定性能力弱, 用于突发中毒事件处置中毒物定性时, 存在假阳性的风险。

相关法律法规: 《最高人民法院、最高人民检察院关于办理非法制造、买卖、运输、储存毒鼠强等禁用剧毒化学品刑事案件具体应用法律若干问题的解释》在2003.09.04由最高人民法院, 最高人民检察院颁布。自2003年10月1日起施行。

本项目与现有标准方法、技术规范相比, 有3个创新点:

a) 已有标准的样本分别是生物检材和土壤，本项目检测对象为食品，且覆盖常见食品种类；

b) 已有标准及规范适用于毒鼠强，本项目优化了色谱柱，可以同时测定毒鼠强与氟乙酰胺（杀鼠药生产时，两者往往复配使用）；

c) 已有标准使用的是气相色谱法，本项目使用定性能力更可靠的气相色谱质谱法，满足突发中毒事件准确性的需求。

3 国外相关规定和标准情况

目前国外没有针对氟乙酰胺和毒鼠强的检测方法与评价要求的标准。其中毒鼠强自1982年在国内被禁止使用，在日本或美国从未注册过。国外文献报道的检测方法大多操作复杂、耗时长。

六、重大意见分歧的处理经过和依据

无

七、其他应予说明的事项

标准溶液保存期限参考 GB/T 27404。

定性要求中被测试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在 $\pm 1.0\%$ 之内，参考 JJG 700-2016。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%，此数据根据研制单位和三家验证单位加标 RSD 最大值的两倍确定。