

液质联用在食品中兽药残留分析中的应用

应用指南

概述

安捷伦科技已经开发出用于食品中兽药残留检测的许多方法。

本应用指南涵盖了液质技术用于食品中兽药残留检测的应用，液质包括单四极杆液质，串联四极杆液质，飞行时间质谱液质和四极杆-飞行时间串联质谱。本指南可以作为兽药残留检测方法建立的起始工具。应用举例包括详细的色谱和质谱条件，质谱的性能数据以及代表性的总离子流色谱图。附录包括通用的样品前处理步骤。



Agilent Technologies

内容列表

前言

兽药的主要类别	4
兽药残留分析中的挑战	5
液质联用技术概述 – 如何选择合适的液质技术	6

应用

1. 安捷伦 6410 串联四极杆液质用于奶制品中的痕量 β -内酰胺的确认和定量分析	7
2. 液相色谱/飞行时间质谱用于阿莫西林降解物的结构鉴定分析	10
3. 安捷伦 6410 串联四极杆液质用于蜂蜜, 虾仁和鸡肉中的氯霉素检测	12
4. 高效液相色谱/串联四极杆质谱联用法(HPLC/MS/MS)用于测定肉中的盘尼西林	15
5. 液相色谱/大气压光电离源/质谱用于鱼中的氯霉素检测	17
6. 安捷伦 6410A 串联四极杆液质用于鸡肉中的硝基呋喃代谢物的检测	19
7. 安捷伦 6410 串联四极杆液质用于罗非鱼中的硝基呋喃代谢物的检测	22
8. 液相色谱/大气压化学电离源/质谱用于猪肉中的磺胺类抗生素的检测	24
9. 安捷伦 6410A 串联四极杆液质用于肉类产品中磺胺药物的筛查和定量分析	26
10. 安捷伦 6410 串联四极杆液质用于牛肉中的氟喹诺酮类药物的快速筛查和定量分析	29
11. 安捷伦 6410 串联四极杆液质用于食品中的孔雀石绿和隐性孔雀石绿分析	32
12. 安捷伦 6410A 串联四极杆液质用于动物性食品中的 β_2 -激动剂类多残留药物快速的检测	35
13. 安捷伦 6410A 串联四极杆液质用于牛奶中四环素类多残留药物的检测	38

附录

通用的样品前处理步骤	42
------------	----

前言

兽药的主要类别

兽药广泛地用于畜牧业中，达到治疗或防止疾病的目的。它们还可以促进动物生长，提高饲料效果，以及使动物在动物运输过程中保持安静。然而，所有用于食用类动物的兽药都可能导致肉、奶或蛋中含有药物残留。这些药物残留给人的健康带来潜在的危害，包括过敏反应，直接中毒效应，以及对抗生素产生的抗药性。

在过去的几十年中，许多兽药在世界范围内被广泛使用，某些药物仍然在食品链中被发现。下面列出的是主要的兽药。

1. 抗菌类药物
 - 氨基糖苷类和氨基环醇类
 - 酰胺醇类
 - β -内酰胺（青霉素和头孢菌素类）
 - 氟喹诺酮类
 - 大环内酯和林可酰胺类药物
 - 硝基呋喃及其代谢物
 - 磺胺类抗生素
 - 四环素类
2. 抗寄生虫药
 - 苯并咪唑类
 - 咪唑并噻唑类
 - 有机磷类药物
 - 四氢嘧啶
 - 水杨酰苯胺衍生物
 - 取代苯酚类药物
 - 大环内酯
 - 哌嗪衍生物
3. 抗原虫药（抗球虫药）
 - 苯酰胺类
 - 二苯脲类
 - 硝基咪唑类
 - 聚醚类离子载体
 - 噻诺酮衍生物
 - 三嗪类
4. 抗菌生长促进剂
 - 有机砷
 - 肽类抗生素
 - 喹啉-1, 4-二氧化物
5. 激素类生长促进剂
 - 内源性性激素
 - 合成甾体药物
 - 合成非甾体药物
 - 多肽激素
6. 其它药物
 - 抗真菌药
 - β -肾上腺素能激动剂
 - 皮质类固醇
 - 利尿剂
 - 染料
 - 非甾体类消炎药
 - 镇静药和 β -受体阻断剂
 - 甲状腺抑制药物

许多国家，如美国，欧盟都已经设定了不同食品中各种兽药残留的最大残留限量值(MRLs)。日本也对日本肯定列表检测的兽药残留也设定了最大残留限量值。最近，中国也建立了很多新的国家标准以监测食品中的抗生素残留。

兽药残留分析中的挑战

食品中兽药残留分析主要两个方面的挑战

1. 分析组分的多元性

因为需要检测的化合物的种类很多，而且它们的物理化学性质差异很大，这些都会影响分离和检测的结果

- 物理化学性质（例如，极性和 pKa 值）
- 稳定性




2 基质的复杂性

使用单残留方法测定兽药残留要比测定农药残留难得多。兽药中的组织是比水果和蔬菜更复杂的基质。这些基质可能是肌肉、肾、肝、牛奶、鸡蛋、尿、血液等等。

- 基质组成（例如，类酯，蛋白质，碳水化合物，水和盐）
- 组分-基质反应的相互作用
- 基质共提取物

食品实验室中兽药残留检测数量的大量增加促进了用户进行高通量分析的需求，即在最短的时间内分析更多数量的样品。本应用指南包括了已经开发的液质联用技术用于不同食品中的各种兽药残留的分析，如蛋，虾仁和肉类等。因为在兽药分析中，样品的处理和净化是影响分析速度的关键因素，固相萃取-液质联用是现代食品分析中被广泛使用的手段。

液质联用技术概述 – 如何选择合适的技术

样品制备	仪器选择	筛查	确认	定量
固相萃取或者 QuEChERS 法	液相色谱/三重串联四极杆液质联用系统 “脏”或复杂基质样品中 目标化合物的痕量分析 	<ul style="list-style-type: none"> 一次进样进行多组分的高选择性，高灵敏度检测 复杂样品分析时检测限低 先进的安捷伦喷射流离子聚焦技术，大大提高了灵敏度 	<ul style="list-style-type: none"> MRM 可以提供阳性确认，检测限低，可符合法规要求 一次分析进行扫描和确认 	<ul style="list-style-type: none"> 常规的高精度的 MS/MS 定量分析 全景式的快速浏览定量分析结果
<ul style="list-style-type: none"> 提取 净化 	液相色谱/飞行时间质谱或液相色谱/四极杆-飞行时间串联质谱仪 非目标，未知化合物分析 	<ul style="list-style-type: none"> 高分辨率可以减少噪音和基质的干扰 精确质量数可以进一步化合物的选择性，利用精确质量数据库进行无限制的筛选 先进的安捷伦喷射流离子聚焦技术提高分析的灵敏度 	<ul style="list-style-type: none"> 利用公开和内置的精确质量数据库进行自动检索 分子式生成器减少数据处理时间 	<ul style="list-style-type: none"> 离子提取可使用窄质量窗口 色谱图提供精确的一级质谱和二级质谱的定性分析 宽动态范围使得定量线性范围更宽
	液相色谱/单四极杆液质 干净基质样品的扫描和定量分析 	<ul style="list-style-type: none"> 一次进样进行多组份化合物的选择性检测 简单样品分析时可获得更低的检测限 与二极管阵列和荧光检测联用进行结构的鉴定 		<ul style="list-style-type: none"> 宽动态范围使得定量线性范围更宽

1 安捷伦 6410 串联四极杆液质联用仪用于牛奶中的痕量 β -内酰胺的确认和定量分析

摘要

β -内酰胺抗生素是被广泛使用的兽药，主要用于疾病的预防和治疗。因此这些药物可能会在奶制品和肉类食品中产生药物残留，这些药物在发酵过程中导致问题以及对那些 β -内酰胺过敏的人带来健康问题。

样品前处理步骤

1. 取 2 ml 牛奶，加 4 ml 乙腈
2. 涡旋震荡以去除蛋白质
3. 在 500 转的条件下，离心 10 min，然后用 0.45 μ m 膜过滤
4. 进样量，20 μ L

仪器参数

液相色谱的条件

色谱柱	Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 \times 150 mm, 3.5 μ m
流动相	A: 水/0.3% 醋酸 B: 乙腈/0.3% 醋酸
流速	0.3 mL/min
梯度	0–2 min/A 90% 2.01–8 min/A 35% 8.01–9/A 5%
柱温	30 $^{\circ}$ C
停止时间	9 min
后运行时间	6 min
进样量	10 μ L

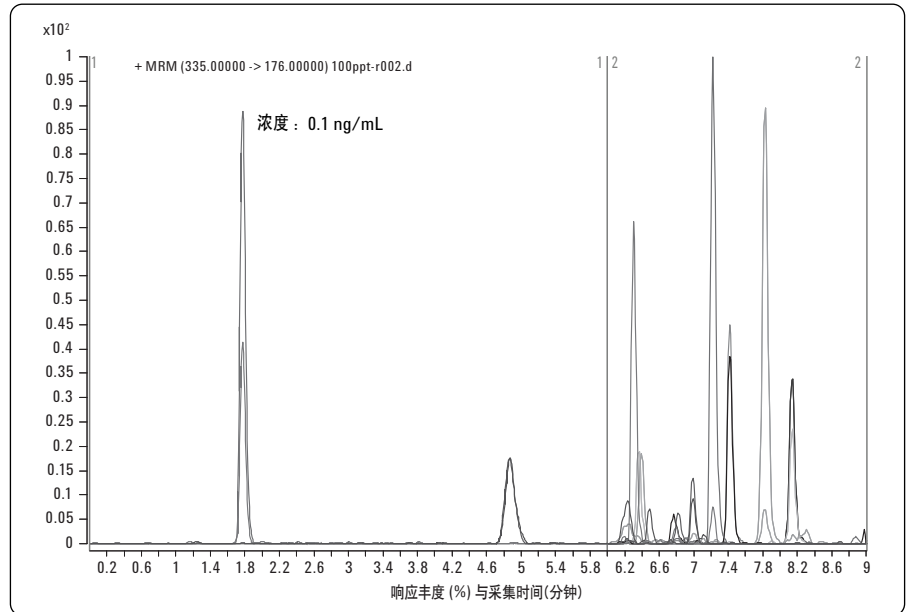
质谱参数

仪器	Agilent 6410 三重串联四极杆液质联用系统
离子源	ESI +

MRM 设定

TS	化合物	母离子	子离子	驻留时间(ms)	碎裂电压(V)	碰撞能量(V)
0	阿莫西林	366	114	100	110	15
			208	100	110	5
	氨苄青霉素	350	160	100	100	5
			192	100	110	10
6	双氯青霉素	470	311	70	110	10
			160	70	110	10
	乙氧萘青霉素	415	256	70	110	15
				70	110	10
	恶唑酸素	402	243	70	110	10
			160	70	110	10
	苯氧甲基青霉素	351	192	70	100	5
			160	70	100	10
	青霉素 G	335	176	70	100	10
			160	70	100	5

分析结果



LC/MS/MS 分析方法性能

化合物	S/N*	R ²
阿莫西林 366-114	224	0.992
氨苄青霉素 350-160	61.6	0.984
双氯青霉素 470-160	48.5	0.981
乙氧萘青霉素 415-199	52.6	0.998
苯唑青霉素 402-160	70.9	0.993
苯氧甲基青霉素 351-160	225.9	0.998
青霉素 G335-160	33.2	0.981

* 样品是牛奶基质中添加的每个化合物为 0.1 ppb.

订货号

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410A 或者 G6460AA
Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 × 150 mm, 3.5 μm	830990-902
13 mm, 45 μm PTFE 注射器滤头	5185-5836

参考文献

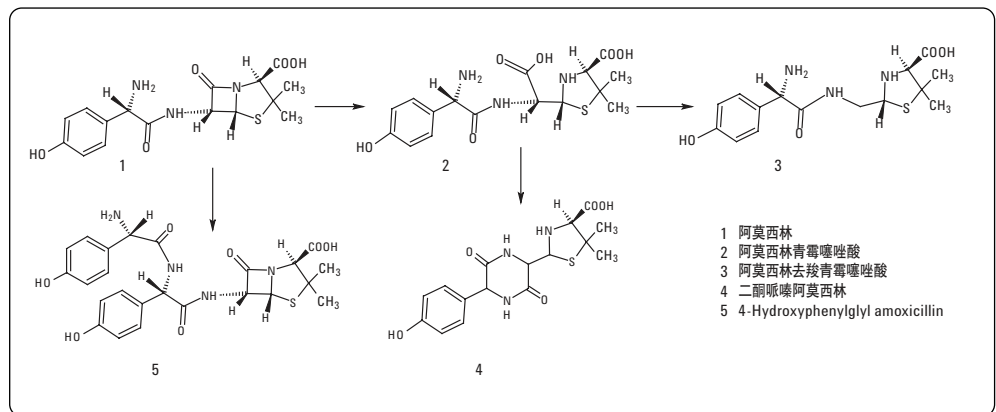
安捷伦应用文献 5990-3722EN, “6410 串联四极杆液质联用用于奶制品中痕量的 β-内酰胺抗生素残留”

安捷伦应用文献 5990-3364EN, “液相色谱 / 紫外和液相色谱 / 串联四极杆液质联用仪用于青霉素的检测”

2 液相色谱/飞行时间质谱用于阿莫西林降解物的结构分析

摘要

利用精确质量数和分子式生成确认功能用于阿莫西林降解物的结构鉴定，除了分子离子峰测定之外，还利用液相色谱/电喷雾电离飞行时间的源内碰撞解离功能产生碎片进一步对结构进行确认。



样品前处理步骤

阿莫西林在酸性条件下进行应激处理

1. 取1mL 阿莫西林溶液(25 mg/mL in DMSO)加入1mL的0.1M 盐酸中
2. 室温下搅拌1小时(25 °C)
3. 用20mL DMSO 稀释10倍

仪器设定

液相条件

Agilent 1100 系列毛细管液相色谱仪

溶剂 A

水, 10 mM 乙酸铵, pH 4.1

溶剂 B

乙腈

流速

8 μ L/min

初始流速

500 – 800 μ L/min

梯度

0 min 0% B

1 min 0% B

13 min 25% B

23 min 25% B

停止时间

23 min

后运行时间

15 min

质谱条件

离子源

ESI(+)

干燥气

7.0 L/min @ 300 °C

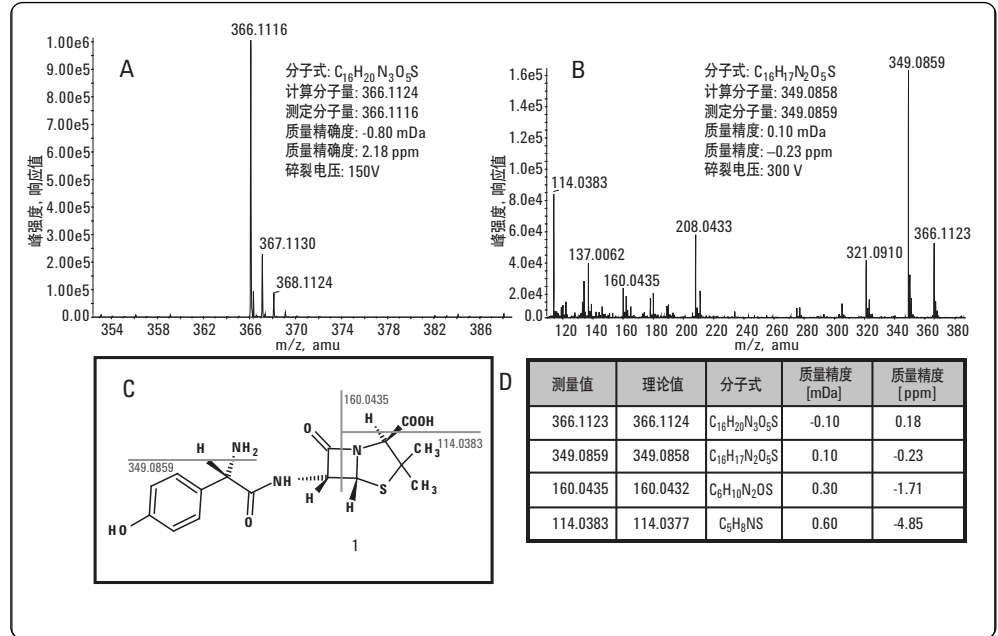
雾化气压力

15 psi

碎裂电压

150 V 或 300 V 用于源内碰撞解离

结果



注释: 阿莫西林青霉噻唑酸(2) ($C_{16}H_{21}N_3O_6S$), $[M+H]^+ = 384.1229 m/z$

- A) 阿莫西林青霉噻唑酸的分子离子峰的精确质量数
 B) 阿莫西林青霉噻唑酸的源内碰撞解离碎片的精确质量数
 C) 阿莫西林青霉噻唑酸的碰撞解离裂解图
 D) 阿莫西林青霉噻唑酸碰撞解离碎片的质量精度

订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS TOF	G6224AA 或 A6230AA

参考文献

安捷伦应用文献 5989-2348EN, “阿莫西林降解物的结构鉴定, 第二部分: 电喷雾-飞行时间质谱及源内碰撞诱导解离进行阿莫西林降解物的结构鉴定”。

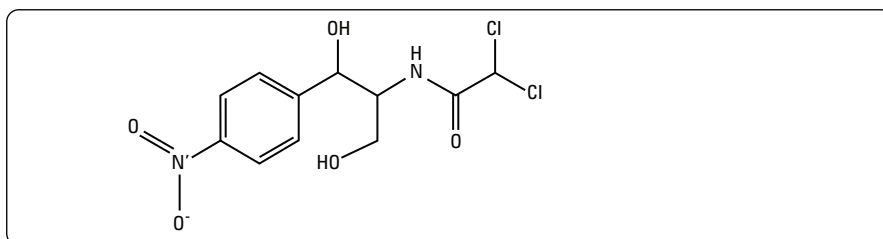
安捷伦应用文献 5989-3561EN, “利用阿莫西林降解物的分析, 评价质量精度”

3

安捷伦 6410 串联四极杆液质联用仪用于分析蜂蜜，虾仁和鸡肉中的氯霉素

摘要

使用 6410 串联四极杆液质联用仪建立了蜂蜜，虾仁和鸡肉中的氯霉素的分析方法。灵敏度远远高于欧盟对食品中氯霉素检出限的规定要求。使用同位素内标和简单的固相萃取法基质样品中氯霉素的检测限可达 10ppt。



样品前处理步骤

1. 内标

标准品配制: 1 ppb, 0.2 ppb, 0.1 ppb, 0.02 ppb, 和 0.01 ppb 的标准溶液, 内标浓度为 0.25 ppb 蜂蜜

1. 1 g 样品用 5 mL 水稀释并加入 25 μ L 10 ppb 内标液
2. 转移此溶液至 SPE 小柱顶部静置 5 min
3. 10 mL 乙酸乙酯洗脱
4. 收集洗脱液, 40 $^{\circ}$ C 氮吹挥干溶剂
5. 残渣用 1 mL 甲醇超声 1 min 溶解
6. 用针头式过滤器过滤, 进样分析

仪器设定

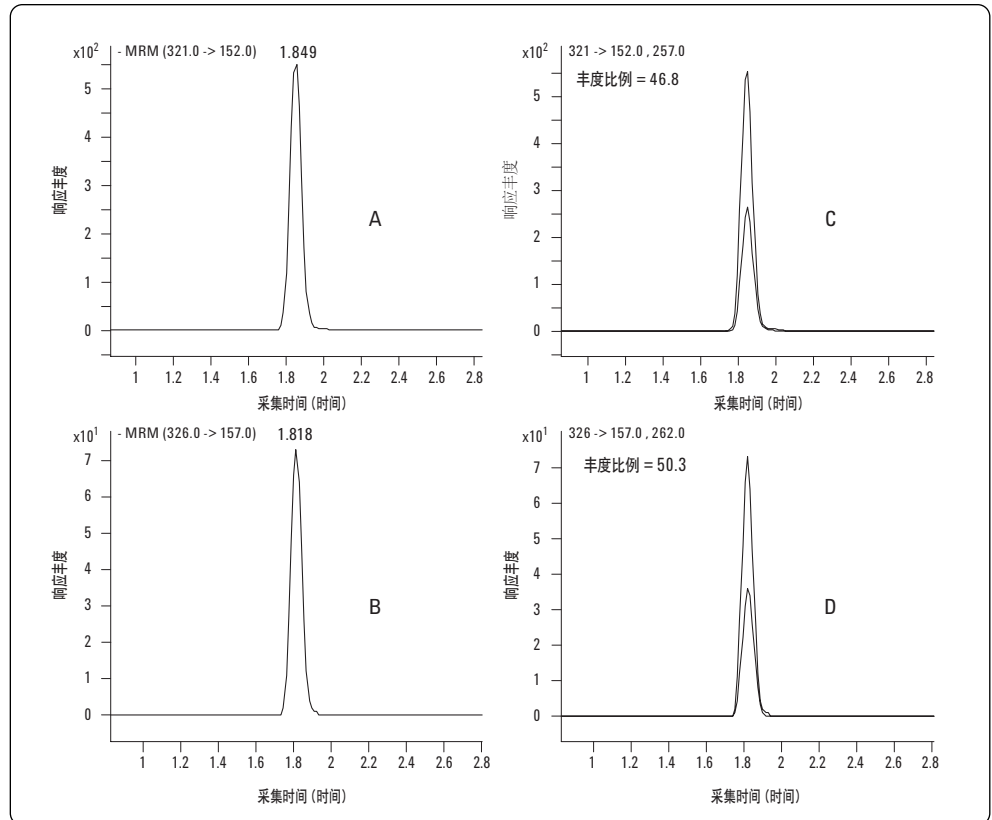
液相条件

色谱柱	ZORBAX SB-C18, 2.1 \times 50 mm, 1.8 μ m(p/n 827700-902)
流量	0.4 mL/min
流动相	A: 水 B: 甲醇
梯度	0-5 min, 30~70% B 5-6 min, 70~100% B 8 min, 100% B
后运行时间	4 min
柱温	45 $^{\circ}$ C
进样量	5 μ L

MS 参数

离子源	ESI
极性	负极性
干燥气温度	350 °C
干燥	气流速 10 L/min
雾化气压力	45 psi
毛细管电压	3500 V
碎裂电压	100 V
碰撞能	m/z 257(定性离子) 10 V m/z 152(定量离子) 15 V

结果



灵敏度

标准品溶液（溶剂为水），浓度为 10 ppt，进样量/10 μ L

订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410B 或 G6460AA
Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 \times 50 mm, 1.8 μ m	827700-902
Agilent AccuBond SPE ENV PS DVB Cartridges	188-3060

参考文献

安捷伦应用文献 5989-5975EN, “安捷伦 6410 串联四极杆液质联用仪用于蜂蜜, 虾仁和鸡肉中氯霉素的确认和定量分析”

4 高效液相色谱/串联四极杆质谱联用法(HPLC/MS/MS)用于测定肉中的盘尼西林

摘要

本文介绍了一种用固相萃取高效液相色谱-二级质谱法同时测定动物组织（猪肉）中六种抗菌素残留（阿络西林、盘尼西林 G、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林、双氯西林）的方法。此方法将反向柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (3.5 μ m, 100 mm \times 2.1 mm)和安捷伦混合模式固相萃取柱 (Agilent SampliQ OPT) 组合全面分析了残留的盘尼西林。高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC/MS/MS) 定量地对固相萃取对痕量抗菌素残留进行了性能评价。

样品制备

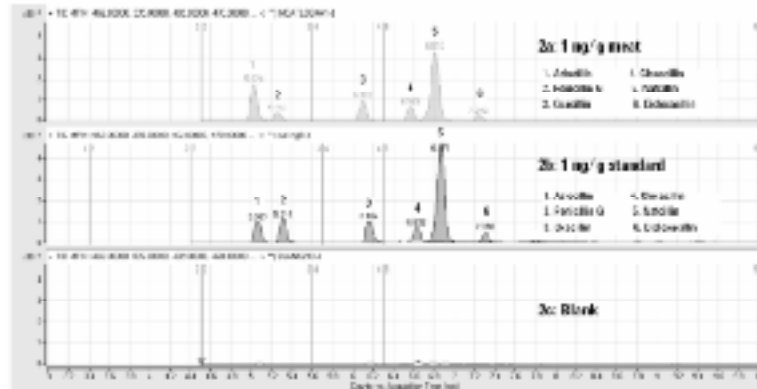
1. 提取
2. 用 SPE 固相萃取小柱纯化

仪器设置

LC 参数

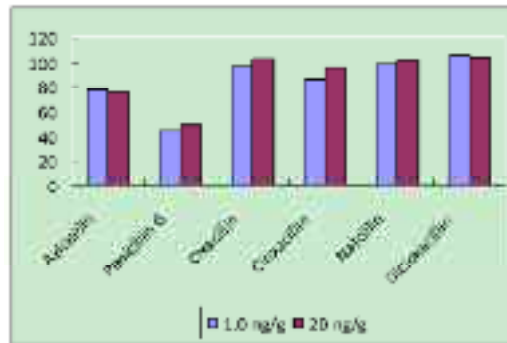
色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus, 2.1 mm \times 100 mm, 3.5 μ m (p/n 959793-902)	
流速	0.6 mL/min	
流动相	A: 水和 10 mM 的乙酸铵 B: 乙腈	
运行时间	12 min	
后运行时间	3 min	
温度	30 $^{\circ}$ C	
进样量	10 μ L	
洗脱梯度	Time	%B
	0	2
	1.2	2
	2.0	10
	6.0	30
	8.0	40
	8.5	80
	11.9	80
	12.0	2

结果



注释: 2a: 含 1 ng/g 药物的加标肉经过提取和固相萃取净化, 2b: 肉经过提取和净化然后加标 1 ng/g 药物, 2c: 未加标的肉经过提取和净化。

回收率



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410AA 或 G6410B
Agilent ZORBAX Eclipse Plus, 2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm	p/n 959793-902
注射器滤头	p/n 5185-5831
Agilent SampliQ OPT 6 mL/150 mg SPE 小柱	p/n 5982-3067
PTFE 注射器滤头	p/n 5185-5836
2 mL 自动进样器样品瓶	p/n 5182-0864

参考文献

安捷伦应用文献 5990-3364EN, “高效液相色谱/串联四极杆质谱联用法(HPLC/MS/MS)用于测定肉中的盘尼西林”

5

液相色谱/大气压光电离/质谱法用于鱼中的氯霉素的分析

摘要

利用液相色谱/大气压光电离/质谱法建立了鱼中的氯霉素的检测方法。

样品前处理

1. 称 5 g 鱼肉样品加 5 g 无水硫酸钠
2. 加 10 mL 乙酸乙酯
3. 均质匀浆 20 s
4. 6000 rpm, 离心 5 min
5. 取上清液, 重复步骤 2-4
6. 在 40 °C 下旋转蒸发至干
7. 用 1 mL 乙腈回溶, 加 1 mL 正己烷振摇, 弃去正己烷层
8. 再加入 1 mL 正己烷, 振摇, 弃去正己烷层
9. 将乙腈层吹干, 残渣用 ACN: 10 mM 乙酸铵水溶液 (1:9, V/V) 回溶含 10% 乙腈的 10 mM 醋酸胺的溶液脱水
10. 过滤, 进样

仪器参数

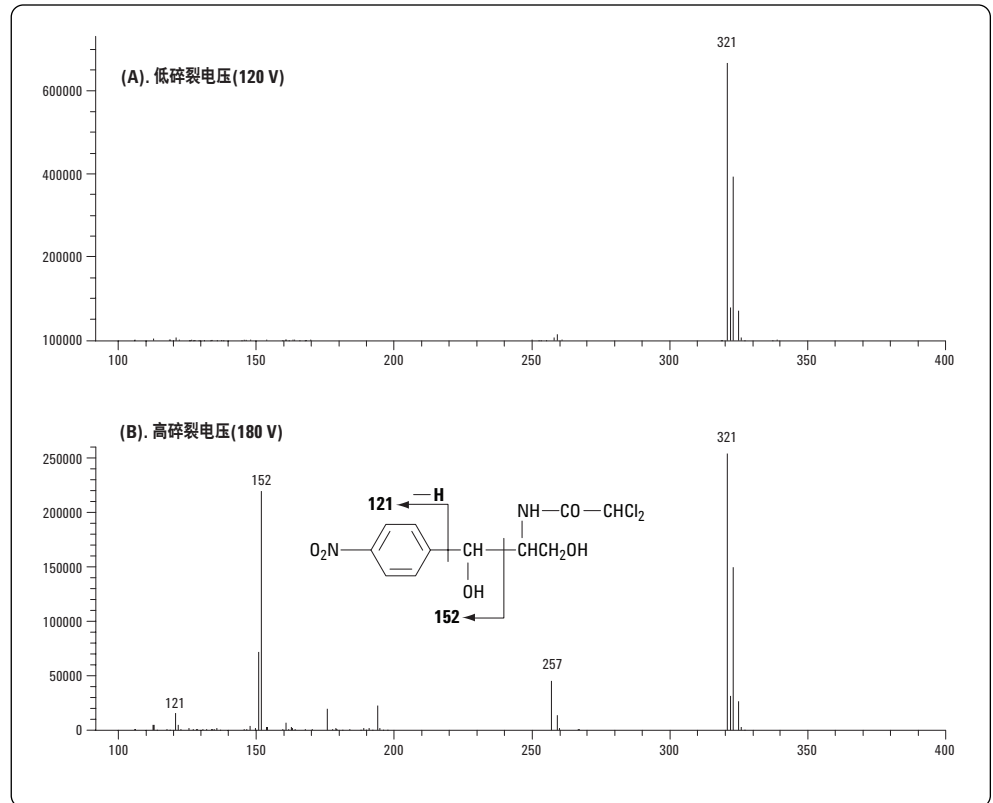
液相色谱参数

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C18, 3 × 150 mm, 5 μm
溶剂 A:	含 10 mM 乙酸铵的水
溶剂 B:	甲醇
添加剂:	丙酮, 0.05 mL/min
梯度:	90/10 A/B 15 min 至 70/30 A/B
柱温:	40 °C
进样量:	20 μL
流速:	0.5 mL/min

质谱参数

离子源:	APPI (负离子)
扫描范围:	100–400 <i>m/z</i>
选择离子:	321 <i>m/z</i> ; (M-H) ⁻
干燥气:	氮气, 7 L/min @ 350 °C
雾化气压力:	氮气, 50 psi
碰撞电压:	120 V
毛细管电压:	3500 V
APCI 源温度:	350 °C

结果



鱼肉中氯霉素的回收率

添加水平 (ng/g)	回收率 [±RSD (%)]	
	小黄鲷鱼	比目鱼
0.1	89.3 ± 5.1	87.4 ± 6.1
0.5	102.5 ± 4.9	94.8 ± 6.7
2.0	96.1 ± 4.3	91.8 ± 4.9

订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MSD	G6120AA, G6130AA 或 G6140AA
APPI source	G1971B
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3 × 150 mm, 5 μm	993967-302

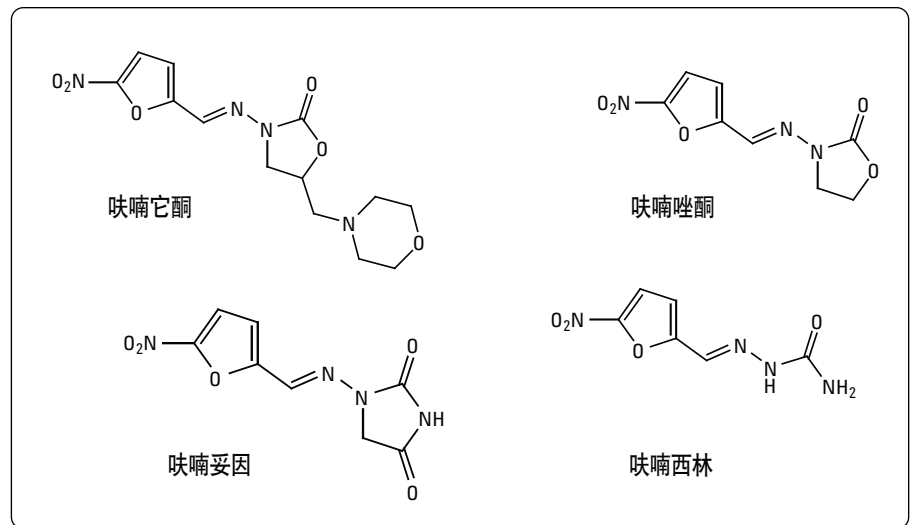
参考文献

安捷伦应用文献 5988-8999EN“利用液相色谱/大气压光电离源/质谱检测鱼中的氯霉素”

6 安捷伦 6100 系列单四极杆液质联用仪用于检测鸡肉中的四种硝基呋喃代谢物

摘要

本方法介绍了液相色谱/单四极杆液质联用仪检测鸡肉中的四种硝基呋喃代谢物。下图结构所示为硝基呋喃原药。



样品前处理步骤

1. 制备四种硝基呋喃代谢物的水溶液 (12.5, 25.0, 37.5, and 50 μL at 100 ng/mL).
2. 将鸡肉样品放入到 40 mL 的带盖的玻璃样品瓶中
3. 加入 10 mL 的 25 mM 盐酸溶液, 200 μL 浓度为 50 mM 的 2-硝基苯乙醛二甲亚砜溶液
4. 37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴中, 反应 16 小时
5. 将溶液冷却至室温
6. 用 0.8 M 的氢氧化钠和 0.1 M 的磷酸二氢钾溶液, 将 pH 值调至 7.4
7. 乙酸乙酯提取样品, 液氮气吹干乙酸乙酯提取液
8. 用 1.0 mL 的起始流动相回溶残渣

仪器参数

液相色谱条件

液相色谱 色谱柱	Agilent 1100 系列液相色谱仪 Inertsil ODS3, 2.1 × 150 mm, 5 μm (GL Science, Tokyo, Japan)
流动相 A	乙腈
流动相 B	0.5% 的甲酸溶液
梯度	20/80A/B 至 70/30 A/B, 20 min
柱温	20 °C
进样量	30 μL
流速	200 μL/min

质谱参数

质谱	Agilent 1100 MSD, SL
离子源	ESI (正离子模式)
扫描范围	100–500 <i>m/z</i>
选择离子	基峰用于定量
干燥气	氮气 10 L/min @ 350 °C
雾化气压力	氮气 50 psi
碎裂电压	120 或 140 V
毛细管电压	2000 V

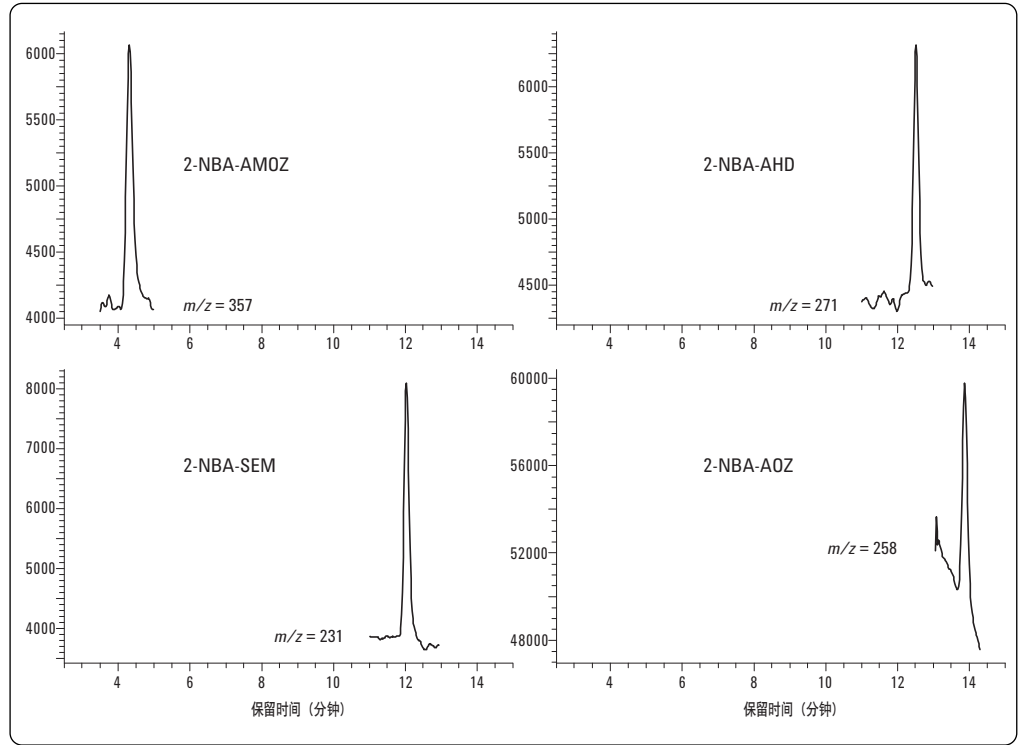
分析结果

线性, 检测限(LOD), 和仪器精密度 (代谢物水溶液)

代谢物	R ²	LOD (ng/mL)	RSD	
			1 天	3 天
AMOZ	0.9999	0.04	5.0	7.3
SEM	0.9998	0.02	4.7	8.1
AHD	0.9989	0.06	4.9	7.9
AOZ	0.9997	0.06	3.1	8.2

结果

浓度为 0.25 ng/mL 的四个硝基呋喃代谢物的 2-硝基苯乙醛的衍生物的选择离子流图。



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MSD	G6110AA, G6120AA, G6130AA 或 G6140AA

参考文献

安捷伦应用文献 5988-8903EN “安捷伦电喷雾-单四极杆液质联用仪用于检测鸡肉中的四种硝基呋喃代谢物”

7

Agilent 6410 三重串联四极杆质谱分析罗非鱼中的硝基呋喃代谢物

摘要

本文使用 Agilent 6410 型三重串联四极杆质谱对肉类和肉制品中的禁用物质硝基呋喃类抗生素进行分析，所建立的方法对四个代谢物具有很高的灵敏度，最低检测限（LOD）可达 0.01 ppb(10 ppt)。研究按照欧盟的分析方法指标认证标准，建立了 0.1 ppb~10 ppb 浓度范围的标准定量曲线。以罗非鱼提取物为研究对象，考察 LC/MS/MS 技术用于水产品分析的性能。

仪器参数

LC 条件

色谱柱	Agilent ZORBAX C18, 2.1 × 150 mm, 3 μm
柱温	40 °C
流动相	A = 0.1% 甲酸水溶液 B = 乙腈
洗脱梯度	起始 22% B, 6 min 99% B, 9 min 99% B
流速	0.3 mL/min
进样量	50 μL

MS 条件

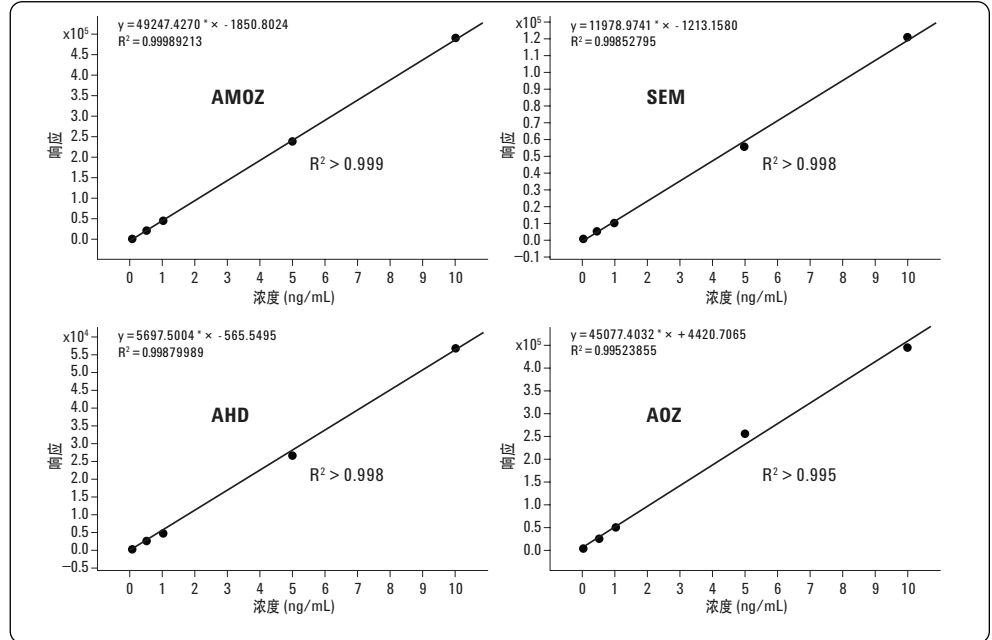
离子化方式	ESI 正离子模式
干燥气流速	10 L/min; 雾化器压力: 35 psig
干燥气温度	35 psig
毛细管电压	5000 V

多反应监测模式参数

化合物	二级质谱	离子驻留时间 (ms)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
AMOZ	335.1→291.4	60	100	5
	335.1→262.4	60	100	
SC	209.1→192.3	60	100	5
	209.1→166.3	60	100	
AH	249.1→134.2	60	100	5
	249.1→104.2	60	100	
AOZ	236.0→134.1	60	100	5
	236.0→104.1	60	100	

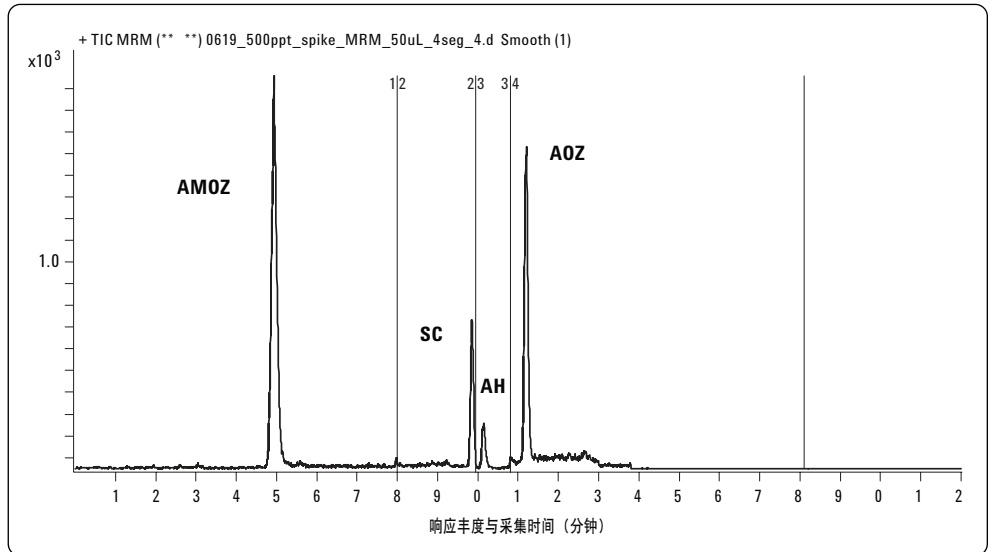
结果

硝基呋喃类代谢物的定量标准曲线，线性范围 10 ppt-10 ppb



灵敏度

罗非鱼提取物样品中每个代谢物添加 500 ppt



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA

参考文献

安捷伦应用文献 5989-5808EN, “利用 Agilent 6410 三重串联四极杆质谱分析罗非鱼中的硝基呋喃代谢物”

8 大气压化学电离-单四极杆液质联用仪分析猪肉中的磺胺类抗生素

摘要

本应用介绍了利用安捷伦的大气压化学电离-单四极杆液质联用仪快速、简便分析猪肉中的磺胺类抗生素的方法。具有简单灵敏的优点。

1. 称取 3 g 猪肉样品，置于 50 mL 的聚丙烯离心管中
2. 加入 10 mL 甲醇，均质 3 min
3. 离心 10 min
4. 提取 10 mL 酸化甲醇溶液，过滤，进样

仪器参数

样品前处理

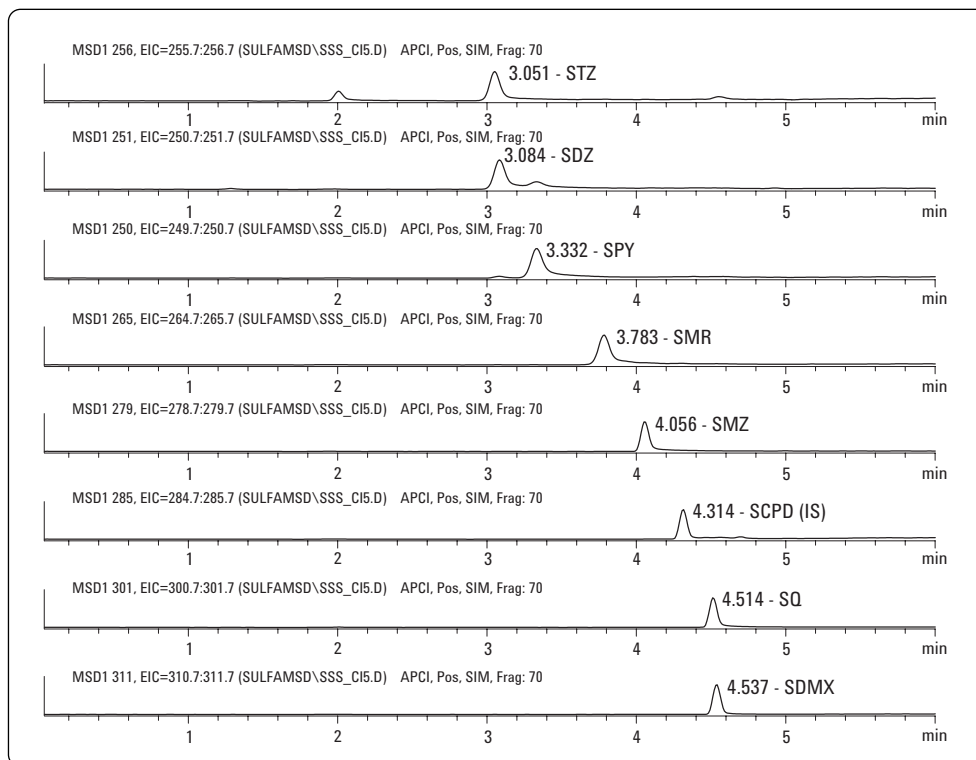
液相色谱条件

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8, 4.6 × 150 mm, 5 μm (p/n 993967-906)
流动相 A	0.1% 甲酸的水溶液
流动相 B	0.1% 甲酸的乙腈溶液
梯度	0 min 20% B 1 min 20% B 3 min 90% B 6.5 min 90% B Post time = 1.5 min
流速	1.0 mL/min
进样量	50 μL
柱温	30 °C

质谱参数

离子源	APCI (正离子模式)
离子驻留时间	8 个离子，每个离子的驻留时间是 63 ms
碎裂电压	70 V
干燥气	6.0 L/min @ 350 °C
雾化气压力	60 psi
APCI 源温度	400 °C
毛细管电压	3000 V
电晕电流	4 μA

结果



描述	回收量 (ng)							
	STZ	SDZ	SPY	SMR	SMZ	SCPD(IS)	SQ	SDMX
猪肉添加样品 1	161	157	132	273	149	2,000	139	126
猪肉添加样品 2	154	156	132	293	157	2,000	153	131
猪肉添加样品 3	149	158	124	267	155	2,000	132	113
猪肉添加样品 4	145	152	122	279	144	2,000	119	111
猪肉添加样品 5	151	162	127	294	149	2,000	127	121
猪肉添加样品 6	136	147	127	274	136	2,000	116	108
猪肉添加样品 7	148	161	128	275	155	2,000	124	116
添加量 (ng)	150	150	150	300	150	2,000	150	150
平均值	149	156	127	279	149	2,000	130	118
SD (Precision)	8	5	4	10	7	—	13	8
MDL (SD × t-stat) ng	24	17	11	33	23	—	40	26
LOQ (SD × 10) ng	76	53	36	104	73	—	128	82
RSD (SD × 100/Mean)	5	3	3	4	5	—	10	7
准确度 (%)	99	104	85	93	100	100	87	79
线性 (R ²)	0.9994	0.9994	0.9997	0.9979	0.9998	1.0000	0.9989	0.9989
t-stat (N = 7)	3.14	3.14	3.14	3.14	3.14	3.14	3.14	3.14

订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MSD	G6110AA, G6120AA, G6130AA 或 G6140AA
Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8, 4.6 × 150 mm, 5 μm	993967-906

参考文献

安捷伦应用文献 5989-0182EN, “大气压化学电离-液质联用进行猪肉中磺胺类抗生素药物的确认方法”

9

安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于肉类食品中磺胺类抗生素药物的筛选，确认和定量分析

摘要

安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于猪肉中磺胺类抗生素药物残留的检测、监测和定量分析，方法具有快速，准确及高灵敏度的特点。

样品前处理

1. 称 3 g 猪肉样品，置于 50 mL 的聚丙烯离心管中
2. 加入 10 mL 酸化甲醇，均质 3 min
3. 离心 10 min
4. 提取 10 mL 酸化甲醇溶液，过滤，进样

仪器参数

液相色谱条件

液相色谱
色谱柱
梯度

Agilent 1200 系列液相色谱
Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm
A: 0.1% 三氟乙酸, B: 乙腈
0 min – 5% B;
6 min – 23% B;
9 min – 23% B;

停止时间
柱温
进样量
流速

9.01 min – 90% B
10 min
30 °C
1 μL
0.3 mL/min

质谱参数

离子化模式
干燥气
雾化气压力

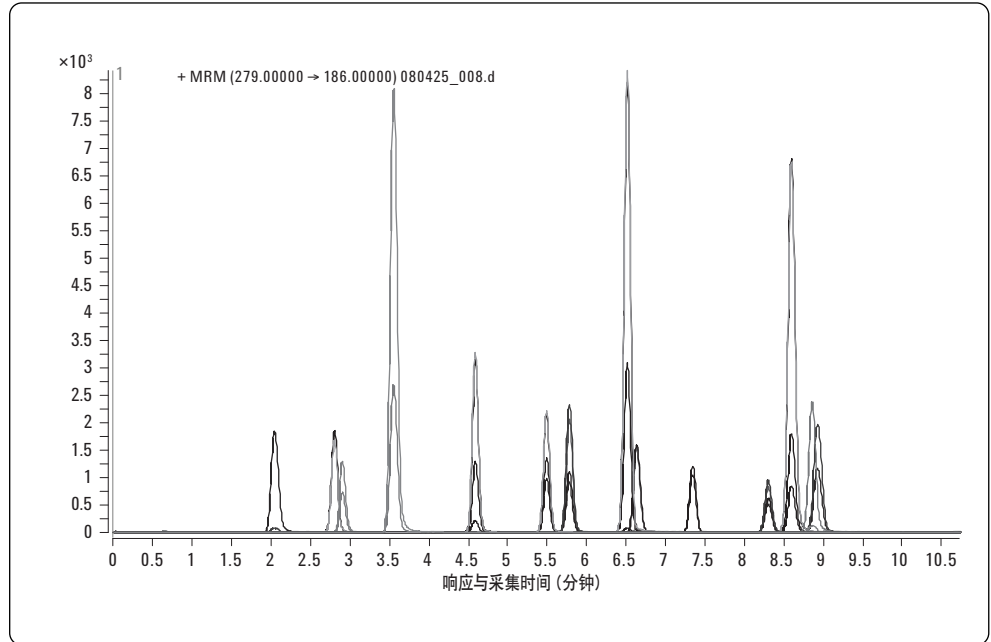
ESI (Positive)
7 L/min @ 350 °C
30 psi

多反应监测 (MRM) 设定

化合物	多反应监测 (MRM)	碰撞电压	碰撞能量 (V)
磺胺氯哒嗪(SCP)	285-156	100	15
	285-108		20
磺胺嘧啶(SD)	251-156	120	10
	251-185		10
磺胺二甲嘧啶(SDM)	311-156	140	15
	311-218		15
磺胺甲氧嘧(SMP)	281-156	120	10
	281-215		15
磺胺甲基嘧啶(SM1)	265-156	120	15
	265-172		15
磺胺二甲嘧啶 SM2)	279-156	140	15
	279-204		15
磺胺异恶唑(MSZ)	254-156	120	15
	254-147		20
磺胺间甲氧嘧啶(SMM)	281-156	120	10
	281-126		20
磺胺噻唑(ST)	256-156	120	15
	256-107		15
磺胺喹噁啉(SQX)	301-156	140	15
	301-208		15
磺胺多辛(SDM)	311-156	140	15
	311-108		20
磺胺苯吡唑(SPP)	315-156	140	20
	315-160		20
磺胺氯哒嗪;3-氯-6-磺胺哒嗪	285-156	100	15
	285-131		20
磺胺二甲异恶唑(SIZ)	268-156	120	5
	268-113		10

结果

色谱图显示优异的分离度和灵敏度



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA

参考文献

安捷伦应用文献 5990-3761EN“安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于肉类食品中磺胺类抗生素药物的检测、监测和定量分析”

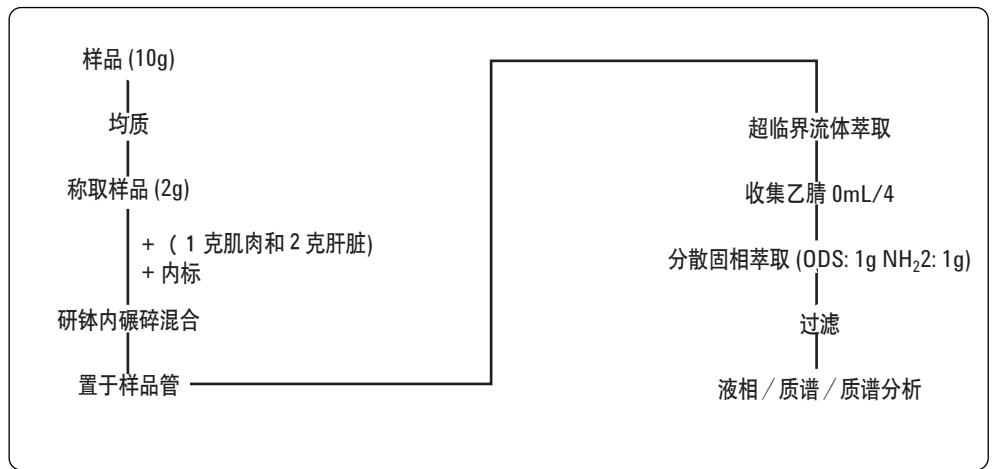
10

安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪进行牛肉中的氟喹诺酮类多残留农药的快速筛查

摘要

本示例着重阐释使用超临界流体萃取联用串联四极杆液质联用仪，快速筛查肉类中多残留兽药，侧重于液相色谱 / 串联四极杆质谱联用技术进行肉类食品中兽药多残留筛查检测。

样品前处理



仪器参数

液相色谱条件

色谱柱

Agilent ZORBAX Extend-C18, 2.1 mm × 100 mm,
1.8 μm

柱温

40 °C

流动相

A: 乙腈, B: 0.1% 甲酸/10 mM 甲酸铵

流速

HCOONH₄
10% A – (30 min) – 100% A

进样量

0.2 mL/min

流速

0.2 mL/min

进样量

1 μL

质谱参数

离子化模式

ESI (+)(-)

雾化气压力

345 kPa

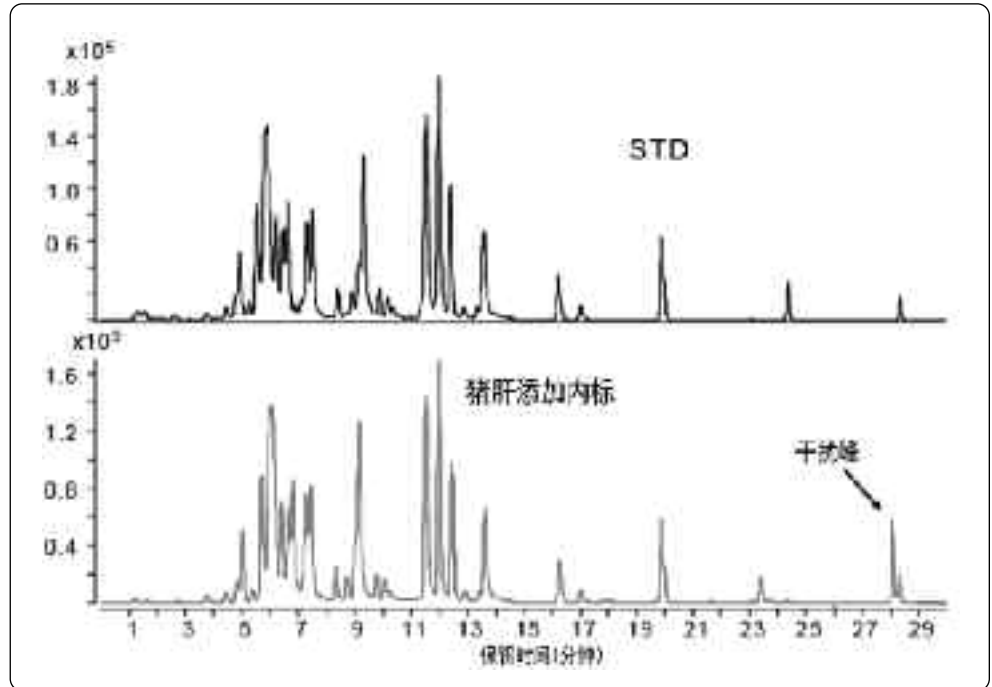
干燥气

10L/min @ 350 °C

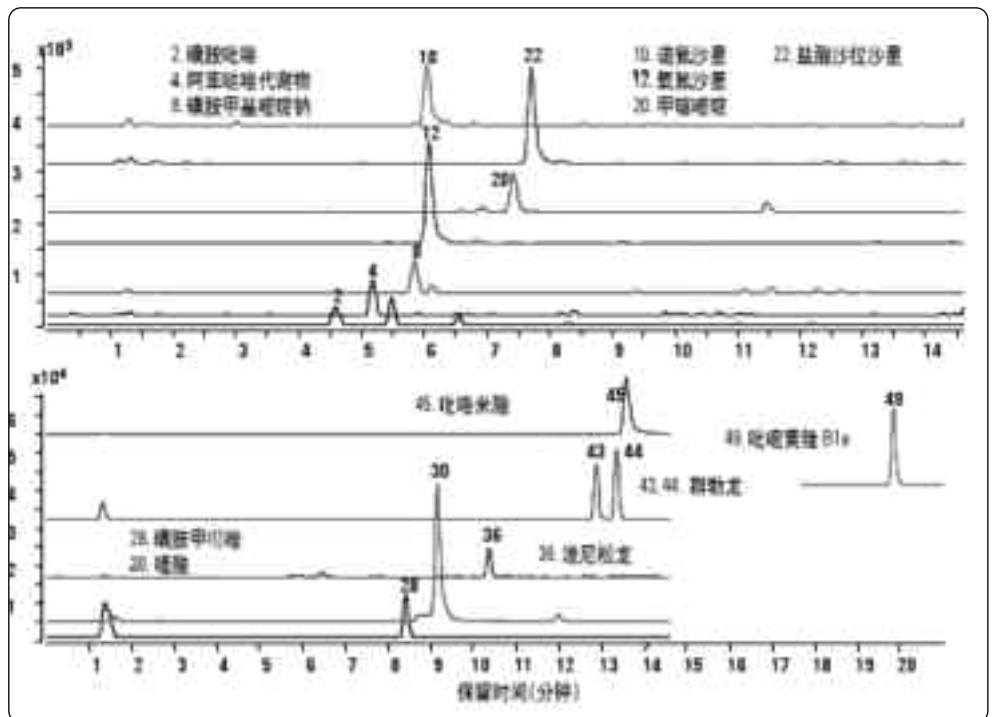
碰撞电压

100 V

结果



添加 100 ppb 猪肝样品内兽药的多反应监测离子流图



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA
Agilent ZORBAX Extend C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm	

参考文献

安捷伦应用简报 ASMS07-25“超临界提取 - 液相色谱 / 串联四极杆液质联用仪快速筛查肉类中多残留兽药

11

Agilent 6410 三重串联四极杆质谱仪检测食品中的孔雀石绿和隐性孔雀石绿**摘要**

本实例使用安捷伦新型 6410 高效液相色谱三重四极杆质谱 (LC/MS/MS) 方法快速、准确地测定孔雀石绿 (MG) 和隐性孔雀石绿 (LMG) 的残留量。串联质谱在使用正离子电喷雾模式 (ESI+), 多反应监测 (MRM) 模式下, 进行质谱定性和定量分析, 无需采用传统的 PbO_2 氧化柱, 比液相检测方法灵敏、快速。该方法的定量限 (LOQ) 为 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 达到出口欧盟和日本残留限量的要求。

样品前处理

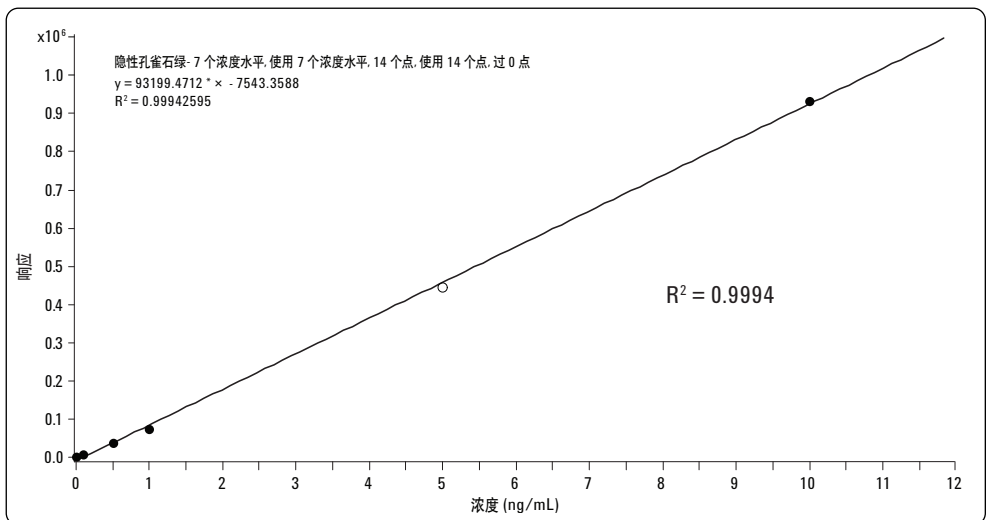
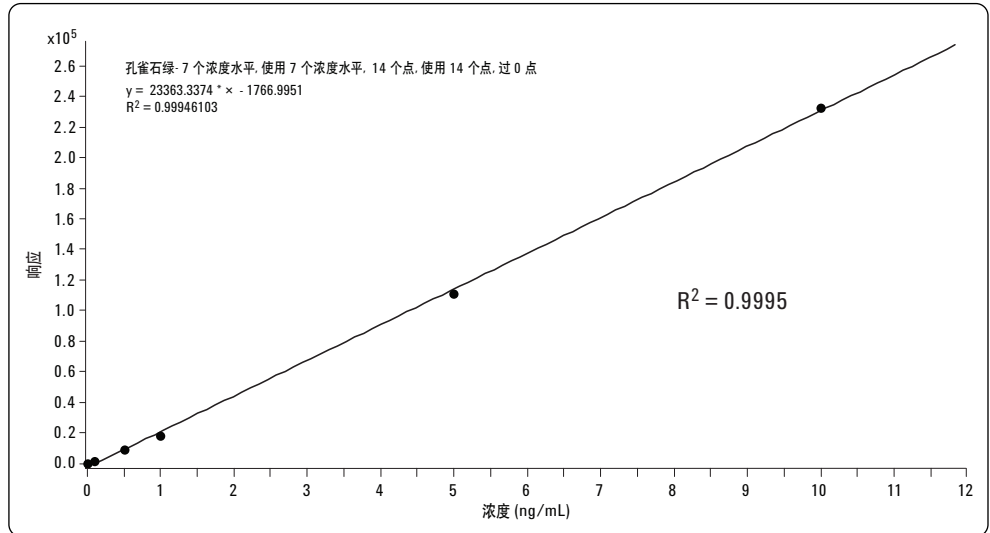
1. 称取 5 g 罗非鱼, 加入 1 mL (0.25 mg/mL) 的羟胺, 2 mL 的萘磺酸, 2 mL pH 4.5 的醋酸铵和 40 mL 的乙腈
2. 用乙腈和二氯乙烷提取

仪器参数**液相色谱条件**

色谱柱	Agilent ZORBAX C18, 2.1 × 150 mm, 5 μm
柱温	40 °C
流动相	A: 10 mmol/L 乙酸铵 (用乙酸调至 pH4.5) B: 乙腈
流速	0.3 mL/min
梯度 %B	0 min, 30 1 min, 50 2 min 95 8 min 95 8.01 min, 30
进样量	10 μL
质谱条件	
离子化模式	ESI (+)
毛细管电压	4000 V
雾化气压力	35 psi
干燥气	11 L/min @ 350 °C

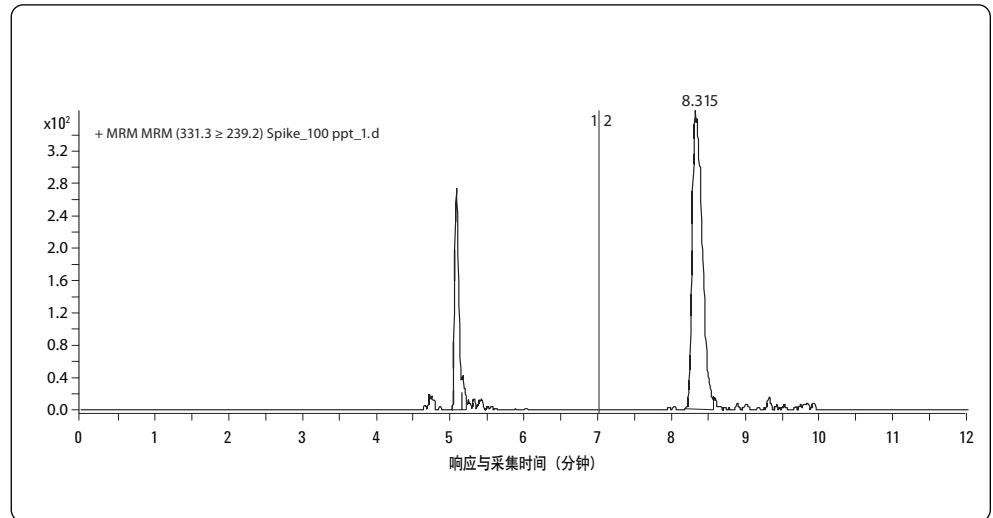
结果

线性范围: 10 ppt – 10 ppb



灵敏度

100 ppt 的浓度水平



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA

参考文献

安捷伦应用文献 5989-5807EN, "Agilent 6410 三重串联四极杆质谱仪检测食品中的孔雀石绿和隐性孔雀石绿"

12

安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于动物源食品中的 β_2 -受体激动剂的快速定性和定量分析

摘要

β_2 -受体激动剂是生长因子，同时也可以影响脂肪分解及脂肪转化至肌肉的过程。在本应用中，对肝脏和尿液样品进行分析。使用分子印记膜对 β_2 -受体激动剂进行提取。安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪对 11 个 β_2 -受体激动剂进行了确认和定量分析。本方法的目的是建立一个快速筛选和确认 β_2 -受体激动剂分析方法，其最小检出限 (MRPL) 符合欧盟法规要求。

样品前处理

1. 取 5 mL 尿样或者 5 g 经过粉碎的动物肝脏样品，然后放入离心管
2. 加入 10 mL 0.1 M 盐酸溶液
3. 强烈震荡 5 min，搅拌 3 min，超声 10 min，在 12000 rpm 离心 5 min
4. 收集上清液，上述步骤重复两次，将所有上清液合并
5. 用 6 mL 甲醇和 6 mL 去离子水淋洗 C18 固相萃取柱
6. 将提取液加至固相萃取柱顶端，然后用 5 mL 去离子水淋洗
7. 分别用 0.8 mL 的甲醇和 0.8 mL 的去离子水洗脱并收集洗脱液
8. 氮气下吹干，最后用初始流动相定容
9. 用 0.45 μm 的膜过滤，然后转移至自动进样器瓶

仪器参数

液相色谱条件

色谱柱	Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm
柱温	40 °C
流动相	A: 10 mM 的甲酸铵/0.1% 甲酸; B: 乙腈
流速	0.3 mL/min
梯度	0–5 min, B% 1%–90% 5–8 min, B% 90% 8.1–14 min B% 1%, 0.5 mL/min
进样量	5 μL

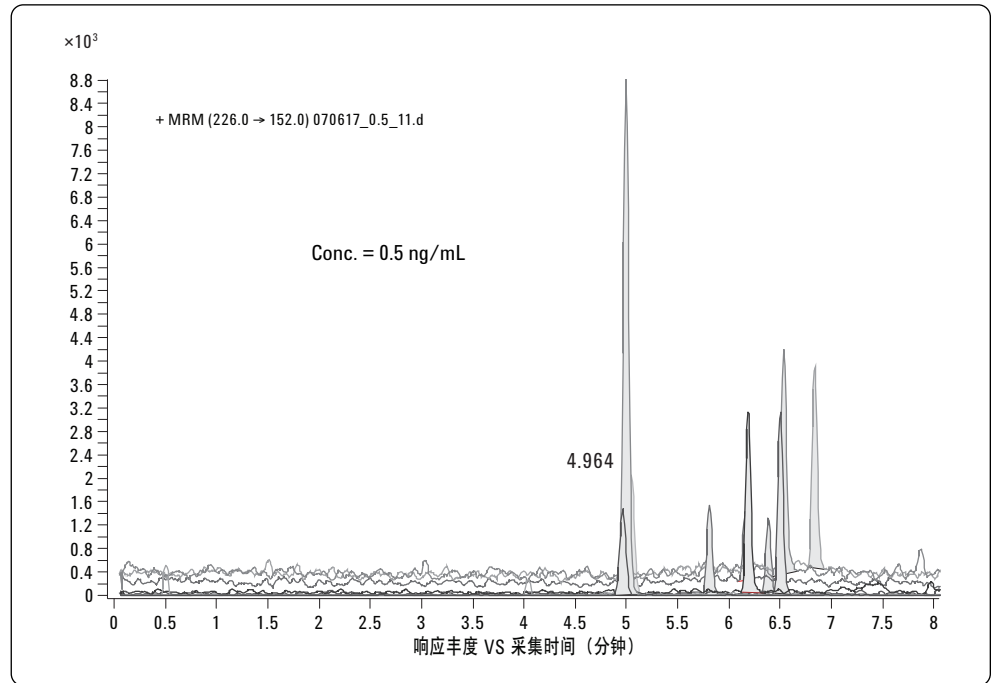
质谱条件

离子化模式	ESI (+)
毛细管电压	4000 V
雾化气压力	35 psi
干燥气流速和温度	11 L/min @ 350 °C

MRM 参数设定

保留时间	化合物	母离子	子离子	驻留时间 (ms)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
4.95	特布它林	226	152	10	100	15
			170	10	100	30
4.98	齐帕特罗	262	244	10	100	10
			185	10	100	25
4.98	沙丁胺醇	240	222	10	100	5
			148	10	100	15
5.04	西马特罗	220	202	10	80	5
			160	10	80	15
5.80	莱克多巴胺	302	284	10	100	10
6.15	妥布特罗 (舒喘)	228	119	10	100	30
			172	10	100	10
6.18	克伦特罗 (瘦肉精)	277	203	10	100	10
			259	10	100	5
6.37	溴布特罗	367	349	10	100	10
			293	10	100	15
6.49	克仑潘特	291	203	10	100	15
			273	10	100	5
6.52	马布特罗	311	237	10	100	15
			293	10	100	10
6.83	马喷特罗	325	237	10	100	15
			217	10	100	25

结果



化合物	信噪比 S/N (p-p)
特布它林	374.6
齐帕特罗	39.0
沙丁胺醇	1759.8
西马特罗	48.8
莱克多巴胺	1539.0
妥布特罗 (舒喘)	7.1
克伦特罗 (瘦肉精)	30.2
溴布特罗	53.8
克仑潘特	43.0
马布特罗	15.8
马喷特罗	58.5

订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA
C18 ODS – 6 mL tubes, 500 mg SampliQ	5982-1165

参考文献

检验检疫科学, Vol. 18 No. 5, pp 39–41

13

安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于牛奶中的四环素及其代谢物多残留的检测

摘要

四环素类抗生素常常被用于畜牧行业中。本文介绍了液相色谱/串联四极杆质谱技术同时检测牛奶和动物组织中的 10 种四环素类抗生素残留，包括二甲胺四环素，土霉素及其差向异构体，四环素及其差向异构体，金霉素及其差向异构体，去甲基金霉素，甲烯土霉素，多西环素。

样品前处理

提取步骤

1. 称 5 g 牛奶样品（准确至 0.01 g），然后放入 50 mL 比色管
2. 加入 0.1 M Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液，定容至 50 mL
3. 涡旋震荡 1min
4. 在冰水混合液中超声 10 min，然后转移至 50 mL 聚丙烯离心管中。
5. 冷却至 0~4 °C.
6. 在 15 °C 下，5000 r/min 离心 10 min，然后滤纸过滤

净化

1. 取 10 mL 提取液（相当于 1 g 样品），转移至安捷伦 SampliQ 固相萃取柱顶端，速度为每秒一滴。
2. 然后分别用 5 mL 水、和 5 mL 甲醇和水淋洗固相萃取柱
3. 弃去淋洗液
4. 在 2.0 kPa 的负压下干固相萃取柱 5 min
5. 用 10 mL 的 10 mmol 乙酸甲醇溶液洗脱
6. 收集洗脱液，在 40 °C 下氮气吹干
7. 用 1 mL 的初始流动相回溶，0.45 μm 过滤，准备进样

仪器参数

液相色谱条件

色谱柱	Agilent ZORBAX RX-C8, 2.1 × 150 mm, 5 μm (p/n 883700-906)
流速	0.3 mL/min
流动相	A: 水/0.1% 甲酸 B: 甲醇
梯度	0–10 min, B 从 5% 到 30% 10–12 min, B 从 30% 到 40% 12.5–18 min, B 65% 18.5–25 min, B 95% 25.5 min, B 5.0%
分析时间	28 min
后运行	5 min
柱温	30 °C
进样量	5 μL

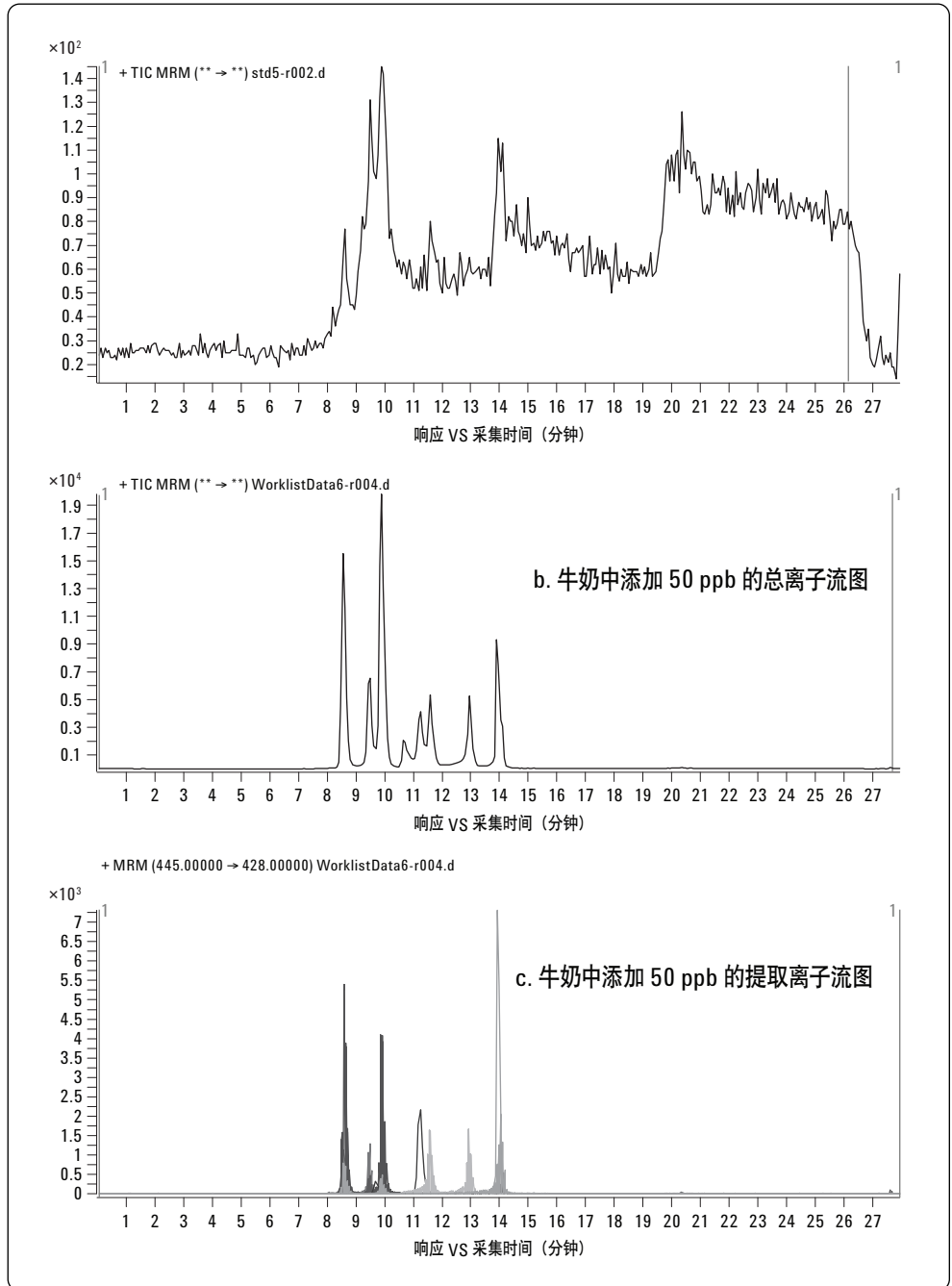
质谱参数

离子源	电喷雾
离子化模式	正离子模式
干燥气流速和温度	10 L/min @ 350 °C
雾化气压力	45 psi
毛细管电压	4000 V

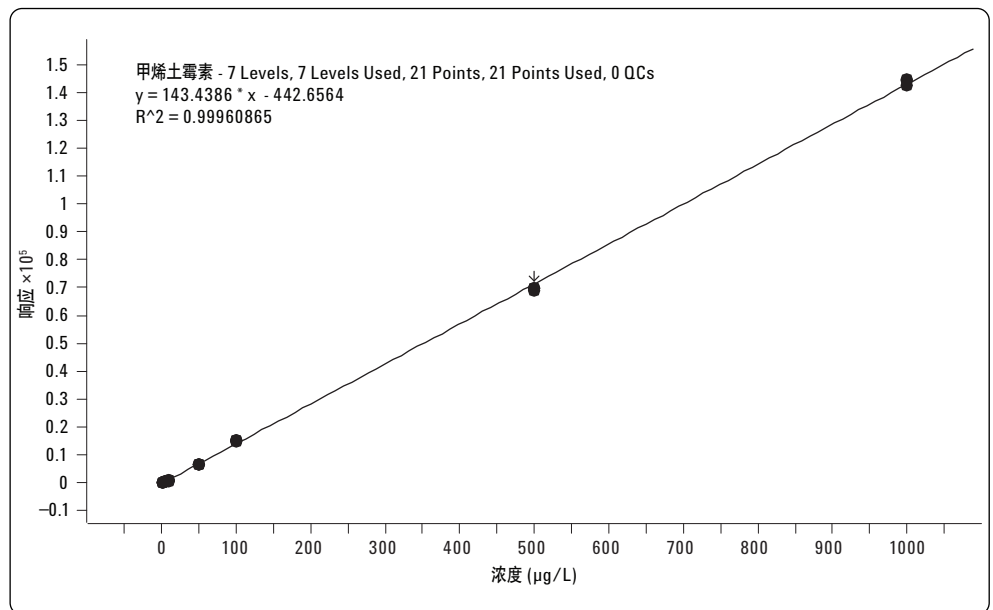
MRM 参数设定

化合物	碎裂电压	母离子	子离子	CE	保留时间 (min)
二甲胺四环素	120	458	352 441	35 20	8.58
差向土霉素	120	445	410 427	20 10	8.60
差向四环素	120	461	426 444	20 15	9.47
四环素	120	445	410 427	20 15	9.90
土霉素	120	461	426 443	20 10	9.95
去甲基金霉素	120	465	430 448	25 15	11.25
差向金霉素	120	479	444 462	22 15	11.59
金霉素	120	479	444 462	22 15	12.95
甲烯土霉素	120	443	381 426	25 15	13.98
多西环素	120	445	154 428	30 15	14.08

结果



化合物名称	R ²	标准溶液*		牛奶基质中标样*	
		LOQ (S/N = 20) 柱上进样量, pg	LOD (S/N = 3) 柱上进样量, pg	R ²	LOD (S/N = 3) 柱上进样量, pg
二甲胺四环素	0.999	41.5	6.2	0.990	16.3
差向土霉素	0.991	10.8	1.6	0.994	8.7
差向四环素	0.996	14.7	2.2	0.996	12.8
四环素	0.998	9.4	1.4	0.994	10.2
土霉素	0.996	10.7	1.6	0.991	8.6
去甲基金霉素	0.999	22.8	3.4	0.993	8.1
差向金霉素	0.986	38.2	5.7	0.987	11.9
金霉素	0.986	8.1	1.2	0.994	7.6
甲烯土霉素	0.999	20.8	3.1	0.994	12.3
多西环素	0.999	32.2	4.8	0.995	11.2



订货信息

描述	部件号
Agilent LC/MS/MS	G6410BA 或 G6460AA
Agilent ZORBAX RX-C8, 2.1 × 150 mm, 5 µm	883700-906
SampliQ OPT SPE Cartridge 3mL 60 mg	5982-3036

参考文献

安捷伦应用文摘 5990-3816EN, “安捷伦 6410A 串联四极杆液质联用仪用于牛奶中的四环素及其代谢物多残留的检测”

附录

样品前处理方法参考

- 硝基呋喃及其代谢物

1. 称 2 g 肉样品，加入 5 mL 0.2N 的盐酸溶液，500 μ L 浓度为 50 mM 的 2-硝基苯甲醛二甲亚砷溶液
2. 涡旋震荡 1 min
3. 37 °C 下水浴中，反应 16 小时，注意避光
4. 将溶液冷却至室温，加入 0.3 M Na_3PO_4 并搅拌
5. 用 1 M 的氢氧化钠将 pH 值调至 7.4
6. 用 5 mL 乙酸乙酯提取样品
7. 涡旋震荡 10 min，4000 转下离心 3 min
8. 第 6 和 7 步重复两次
9. 并将乙酸乙酯溶液合并，然后 40 °C 氮气吹干，1.0 mL 的起始流动相回溶
10. 过滤，准备进样

- 氯霉素

1. 称 10 g 样品加 50 mL 乙酸乙酯萃取两次
2. 收集上清液，40 °C 下氮气吹至近干
3. 加 2 mL 甲醇和 50 mL 4% 的氯化钠水溶液
4. 用 20 mL 正己烷萃取两次，弃去正己烷层
5. 用 20 mL 乙酸乙酯萃取两次
6. 合并乙酸乙酯萃取液，在 40 °C 下旋转蒸发至干
7. 用 5 mL 水溶解
8. 依次用 5 mL 甲醇，5 mL 氯仿，5 mL 甲醇，以及 10 mL 水对 ZORBAX C18 SPE 固相萃取柱进行活化
9. 取 5 mL 样品转移至固相萃取柱顶端
10. 用 5 mL 乙腈/水(5:95, V/V) 和 3 mL 乙腈依次洗脱固相萃取柱
11. 收集洗脱液，40 °C 下氮气吹干
12. 1 mL 初始流动相回溶，过滤后进样分析

- 糖皮质激素

1. 称 3 g 样品
2. 加入 15 mL 乙酸乙酯
3. 涡旋震荡 15 min，16,000 rpm 下离心 5 min
4. 上述步骤重复两次，合并乙酸乙酯馏提取液
5. 40 °C 下氮气吹至近干
6. 6 mL 正己烷活化硅胶固相萃取柱
7. 上样
8. 6 mL 正己烷淋洗
9. 6 mL 正己烷/丙酮 (6:4) 洗脱
10. 40 °C 下氮气吹干，1 mL 初始流动相回溶，准备进样

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对由于设备，性能或使用这种材料而造成的偶然或必然的损害或者错误不承担任何责任。

本文中的信息，描述和性能指标如有更改，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司, 2009
中国印刷
2009 年 4 月 9 日
5990-3677CHCN



Agilent Technologies