



# 采用 Agilent BondElut QuEChERS 和 LC/MS/MS 分析鸡肉中的农药残留

## 应用简报

食品检测和农业

### 作者

Chen-Hao (Andy) Zhai  
安捷伦科技（上海）有限公司

### 摘要

本应用简报描述了使用快速、简便、经济、高效、耐用和安全 (QuEChERS) 的 AOAC 样品制备方法萃取和净化鸡肉中多种农药类型典型代表的 12 种农药残留。早期的 AOAC 方法采用了在水/乙腈缓冲系统中进行的初萃取、加入盐分后的萃取/分离步骤，以及使用分散固相萃取 (dispersive SPE) 的净化步骤。然后通过液相色谱与在阳离子多反应监测 (MRM) 模式下操作的电喷雾离子化串联质谱仪 (LC/ESI/MS/MS) 进行联用，来确定鸡肉提取物中是否存在目标农药。回收率实验的加标水平为 10 和 50 ng/g。平均回收率在 76% 至 107% 范围内，相对标准偏差 RSD 低于 10%。



**Agilent Technologies**

## 前言

AOAC QuEChERS 方法广泛应用于食品中的农药分析 [1,2]。本方法采用乙腈提取，然后利用无水硫酸镁 ( $MgSO_4$ ) 将样品中的水进行盐析分离，以醋酸盐缓冲液诱导分离。而净化方面，本应用选择了其他食品方法中所用的 Agilent 分散 SPE 试剂盒。这类试剂盒的样品容量为 8 mL，含 900 mg  $MgSO_4$ ，在每毫升乙腈提取物中加入 150 mg C18。在本研究中，分析 12 种农药以便于对适用于其他食品方法的 Agilent Bond Elut AOAC 缓冲提取试剂盒和 Bond Elut QuEChERS 分散 SPE 试剂盒的性能进行评估。该方法已通过分析物回收率和重现性验证。表 1 所示为鸡肉中农药的化学和法规信息。

## 实验部分

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。甲醇 (MeOH) 和乙腈 (ACN) 购自 Honeywell (美国密歇根州马斯基根)。甲酸 (FA) 购自 Fluka (德国施泰因海姆)。农药标准品购自西格玛奥德里奇公司 (美国密苏里州圣路易斯)。内标物 (磷酸三苯酯, TPP) 来自安捷伦科技公司 (美国特拉华州威尔明顿)。

标准品和内标 (IS) 储备液 (除多菌灵为 0.5 mg/mL 之外, 其它均为 2.0 mg/mL) 分别用含甲醇和 0.1% FA 的乙腈或二甲基亚砜制备, 并在  $-20^{\circ}C$  下保存。两份浓度为 0.5 和 2.5  $\mu g/mL$  的 QC 加标溶液用含 0.1% FA 的 1:1 乙腈:水每日现场制备。将等量的 2.5  $\mu g/mL$  TPP 加入到含 0.1% FA 的 1:1 乙腈:水中作为 IS 加标溶液。

## 仪器和材料

- Agilent 1200 Infinity 系列
- 电喷雾离子化 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统
- Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 缓冲提取试剂盒 (部件号 5982-5755CH)
- 适用于其他食品方法的 Agilent Bond Elut QuEChERS 分散 SPE 试剂盒 (部件号 5982-4956CH)
- Eppendorf 微量离心管 (Brinkmann 仪器, 美国纽约州韦斯特伯里)
- 飞鸽离心机 (安亭科学仪器, 中国上海)

## HPLC 条件

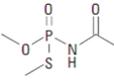
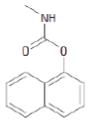
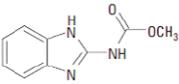
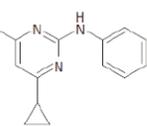
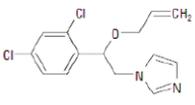
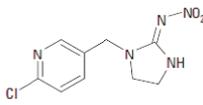
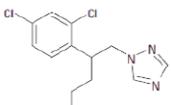
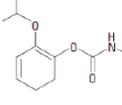
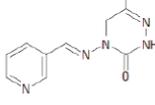
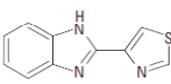
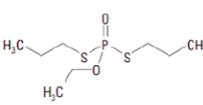
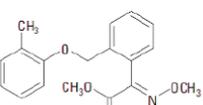
色谱柱:	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 $\mu m$ (部件号 695775-902)																
流动相:	A: 0.1% 甲酸 (FA) 的水溶液 B: 0.1% FA 的乙腈溶液																
进样量:	5 $\mu L$																
流速:	0.4 mL/min																
梯度:	<table><thead><tr><th>时间 (min)</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>0</td><td>5</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td></tr><tr><td>3</td><td>50</td></tr><tr><td>7</td><td>90</td></tr><tr><td>8</td><td>90</td></tr><tr><td>8.2</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>5</td></tr></tbody></table>	时间 (min)	%B	0	5	1	5	3	50	7	90	8	90	8.2	5	9	5
时间 (min)	%B																
0	5																
1	5																
3	50																
7	90																
8	90																
8.2	5																
9	5																
温度:	30 $^{\circ}C$																
后运行:	2 min																
总运行时间:	11 min																

## MS 条件

气体温度:	350 $^{\circ}C$
气体流速:	10 L/min
雾化器压力:	40 psi
毛细管电压:	3500 V

农药在正离子模式下进行监测。分析物的其他条件见表 2。

表 1. 农药的化学和法规信息 [3-5]

名称	类别	Log P	pKa	结构	MRL (ng/g)
高灭磷	有机磷	-0.89	8.35		20
甲奈威	氨基甲酸酯	2.36	10.4		50
多菌灵	苯并咪唑	1.48	4.2		100
噁菌环胺	苯胺嘧啶	4	4.44		500
抑霉唑	咪唑	3.82	6.53		20
吡虫啉	新烟碱	0.57	NA		1000
戊菌唑	三唑	3.72	1.51		50
残杀威	氨基甲酸酯	0.14	NA		2000
吡蚜酮	吡啶	-0.19	4.06		600
涕必灵	苯并咪唑	2.39	4.73 12.00		50
灭线磷	有机磷	2.99	NA		5
醚菌酯	甲氧基丙烯酸酯类	3.4	NA		50

## 样品前处理

鸡肉购自当地市场。将肉切成小块，置于洁净的塑料袋中，并在-20 °C 下冷冻过夜。第二天只取需用量的冷冻鸡肉，并充分混匀。将样品彻底粉碎，制得均质样品。确保所得的最终样品中无明显可见的鸡肉块。

## 萃取/分离

取 5 g ( $\pm 0.1$  g) 均质样品放入 50 mL 离心管中。采用 100  $\mu$ L QC 加标溶液制备 QC 样品。在对照空白样品外的其余所有样品中均加入内标加标溶液 (100  $\mu$ L)，制备内标浓度为 50 ng/g 的样品溶液。盖上离心管，涡旋振荡 1 min。利用分液器向每个离心管中加入等量的水 10 mL。盖上离心管，涡旋振荡 1 min。利用分液器向每个离心管中加入等量的 15 mL 乙腈 (含 0.1% 乙酸)。盖上离心管，手动振摇 1 min。向每个离心管中直接加入 Bond Elut QuEChERS AOAC 萃取盐包 (含无水硫酸镁 6 g 和醋酸钠 1.5 g)。盖紧离心管，手动剧烈振摇 20 s，确保溶剂与所有样品充分混合，结晶聚集物完全打碎。最后将样品离心管以 4000 rpm 的转速离心 5 min。

表 2. 用于 12 种农药 LC/MS/MS 分析的仪器采集数据

分析物	MRM 通道 ( $m/z$ )	裂解电压 (V)	CE (V)
吡蚜酮	1) 218.1 > 105	130	20
	2) 218.1 > 78.1		50
高灭磷	1) 184.0 > 143	65	3
	2) 184.0 > 95		20
多菌灵	1) 192.1 > 160.1	110	15
	2) 192.1 > 132.1		30
涕必灵	1) 202.0 > 175.1	160	25
	2) 202.0 > 131.1		35
吡虫啉	1) 256.1 > 209	140	10
	2) 256.1 > 175		15
抑霉唑	1) 297.1 > 158.9	150	20
	2) 297.1 > 200.9		15
残杀威	1) 210.2 > 111	70	10
	2) 210.2 > 93		25
甲萘威	1) 202.0 > 145	70	15
	2) 202.0 > 127		40
噻菌环胺	1) 226.1 > 93	150	37
	2) 226.1 > 77		52
灭线磷	1) 243.1 > 130.9	115	15
	2) 243.1 > 96.9		35
戊菌唑	1) 284.0 > 70	125	10
	2) 284.0 > 158.9		30
醚菌酯	1) 314.1 > 222	70	3
	2) 314.1 > 116		5
TPP (IS)	1) 327.1 > 77	170	40
	2) 327.1 > 152		45

1) 定量离子对通道

2) 定性离子对通道

## 分散固相萃取的净化

从离心管中吸取 8 mL 乙腈上清液，移至 15 mL Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE 管。分散 SPE 管中含有 900 mg 无水硫酸镁和 150 mg C18。将离心管盖紧，涡旋振荡 1 min。然后用标准离心机以 4000 rpm 的转速离心 5 min。取萃取液 2 mL 转移至试管中，并在低于 40 °C 的温度下于氮气环境中干燥。最终残留物用乙腈:水 (1:9) 溶解并定容至 1 mL。然后将残留物通过 0.2 μm 安捷伦优级针头过滤器进行过滤（部件号 5190-5106）并用 LC/MS/MS 分析。

## 结果与讨论

本研究根据建议将同样适用于其他食品方法的 AOAC 分散 SPE 试剂盒应用于鸡肉分析。由于 LC/MS/MS 具有强大的选择性，空白基质的 MRM 色谱图中未显示目标分析物的干扰峰。图 1 和图 2 中所示为空白基质（内标加标）和分散 SPE 方法处理后的 10 ng/g 鸡肉提取物的 LC/MS/MS 色谱图。

## 回收率和重现性

在粉碎的样品中加入农药标准品来评估回收率和重现性，农药标准品浓度水平为 10 和 50 ng/g。各浓度水平重复分析 6 次。回收率和重现性（以 RSD 表示）数据见表 4。由数据可知，所得的 12 种农药的回收率和精密度良好。

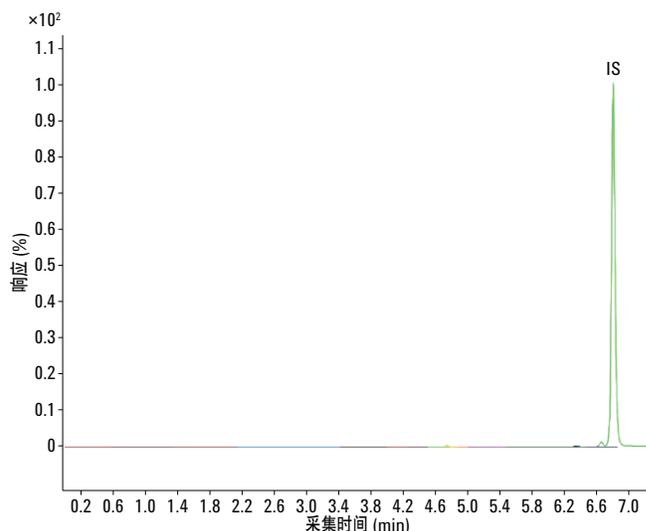


图 1. 鸡肉空白基质的 MRM 色谱图

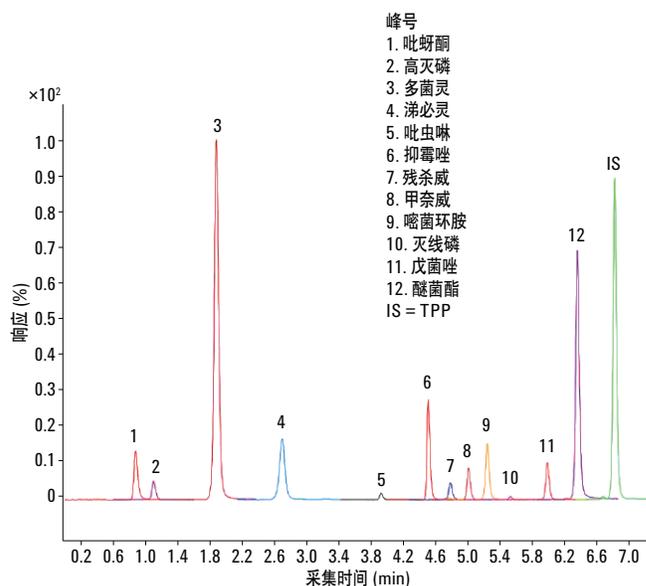


图 2. 经 QuEChERS 处理的 10 ng/g 加标样品的 MRM 色谱图

## 结论

适用于其他食品方法的 Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 缓冲提取试剂盒和分散 SPE 试剂盒为鸡肉中代表性农药的纯化提供了简单、快速和高效的方法。根据加标基质的标准样品来看，鸡肉中多种类、多残留农药测定的回收率和重现性是可以接受的。同时，鸡肉中的杂质和基质效应对目标化合物的定量无干扰。由于研究中所选择的农药代表了各种不同类别和性质的农药，因此，Bond Elut QuEChERS AOAC 萃取和分散 SPE 试剂盒是用于类似食品基质中其他农药分析的极佳选择。

## 参考文献

1. M. Anastassiades, S.J. Lehotay *J. AOAC Int.* 86, 412 (2003).
2. S. J. Lehotay, K. Mastovská, A. R. Lightfield *J. AOAC Int.* 88, 615 (2005).
3. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>
4. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>
5. <http://www.mrlatabase.com/?selectvetdrug=0>

## 更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)。

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013  
中国印制  
2013 年 9 月 10 日  
5991-3191CHCN



**Agilent Technologies**