

# 使用 Bond Elut EMR-Lipid 前处理方法 结合 HPLC-MS/MS 分析动物性食品中 残留的氟虫腈及其代谢产物

## 作者

张聪聪、吴翠玲、李建中  
安捷伦科技（中国）有限公司

## 摘要

本文开发了一种快速分析鸡蛋和鸡肉样品中氟虫腈的分析检测方法，使用安捷伦专利的增强型脂质去除产品 Agilent Bond Elut EMR-Lipid 结合高灵敏度的 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统在负离子模式下检测氟虫腈及其代谢产物。本方法在浓度范围 0.1-100  $\mu\text{g/L}$  内，线性相关性良好；在 1、5、20  $\mu\text{g/kg}$  三种不同的加标浓度下均可获得很好的回收率和稳定性结果，平均回收率为 86.4%-101.6%， $\text{RSD} \leq 6.3\%$ ；检测限和定量限均可满足测定要求。

## 前言

2017 年 8 月，欧洲市场销售的部分鸡蛋被一种叫“氟虫腈”的杀虫剂所污染，而且这些被污染的“毒鸡蛋”可能已经在市场上销售了一年多，人们同样担心鸡肉和蛋黄酱等相关食品是否也受到了污染。香港食品安全中心为此从香港市场上抽检了荷兰进口的鸡蛋样本，结果显示氟虫腈同样超标。鸡蛋是物美价廉的大众食品，其安全问题引起了广泛关注。

氟虫腈，商品名为锐劲特 (Regent)，是一种苯基吡唑类广谱高效杀虫剂，广泛应用于农业、兽医和卫生领域，对水稻螟虫、十字花科蔬菜小菜蛾、蚜虫及玉米蛴螬等害虫有很高的杀灭活性，还能用来杀灭猫和狗身上的跳蚤、虱等寄生虫，以及蟑螂、蚂蚁等有害生物。

氟虫腈对环境的污染比较严重，尤其对某些生物（如甲壳类和蜜蜂）具有高风险。欧盟自 2014 年起开始限制氟虫腈的使用，仅允许其被用于温室作物种子处理，以及开花期前收获的作物种子处理。我国在 2009 年发布了《氟虫腈限量管理规定》：除卫生用、玉米等部分旱田种子包衣剂外，我国境内停止销售和使用用于其它方面的含氟虫腈成分的农药制剂。

本文使用安捷伦专利的增强型脂质去除产品 Bond Elut EMR-Lipid 结合 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统，成功建立了快速分析鸡蛋和鸡肉样品中氟虫腈的分析检测方法。

## 实验部分

### 试剂和样品

甲醇、乙腈均为色谱纯级，购于迪马公司；实验用水为娃哈哈纯净水；氟虫腈砷、氟虫腈、氟虫腈亚砷、氟甲腈标准品由安捷伦的客户提供。

### 仪器和设备

Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统，配备如下安捷伦组件：

- Agilent 1290 Infinity II 二元泵（部件号 G7120A）
- Agilent 1290 Infinity II 自动液体进样器（部件号 G7167B）
- Agilent 1290 Infinity II 柱温箱（部件号 G7116B）
- Agilent 1290 Infinity II 二极管阵列检测器（部件号 G7117B）

Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统

### 标准品制备

取适量氟虫腈砷、氟虫腈、氟虫腈亚砷、氟甲腈标准品，用丙酮配制成 50 µg/mL 的标准品储备液。取适量标准品储备液，用乙腈配制成浓度分别为 0.1、0.5、1、5、10、50、100 ng/mL 的标准工作液。

### 样品前处理

准确称取 5 g 匀浆样品，加入 3 mL 水和陶瓷均质子，涡旋 1 min。再加入 10 mL 乙腈，涡旋混合 1 min，加入 Agilent QuEChERS 萃取盐包（部件号 5982-5650），涡旋 1 min，于 4 °C、9000 r/min 的条件下离心 5 min。取 5 mL 乙腈层加入到经过 3 mL 水活化的 Agilent Bond Elut EMR-Lipid 除脂分散固相萃取净化包（部件号 5982-1010）中，涡旋 1 min。在 50 mL 离心管中加入陶瓷均质子，将上述上清液倒入离心管中，加入 Agilent QuEChERS 无水硫酸镁除水盐包（部件号 5982-0102），涡旋震荡 1 min，以 9000 r/min 的低温离心 5 min。取 1 mL 上清液，过 Agilent 0.2 µm Captiva 尼龙针头式过滤器，以备后续液质分析。

### 液相色谱条件

色谱柱：	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18， 3.0 × 75 mm，2.7 µm 液相色谱柱， 部件号 697975-302	
流动相：	A) 水 B) 甲醇	
进样量：	5 µL	
流速：	0.4 mL/min	
柱温：	40 °C	
梯度程序：	时间 (min)	B (%)
	0.0	60
	3.0	80
	5.0	98
	7.0	98
后运行：	3 min	

### 质谱条件

离子模式：	ESI 负离子模式
干燥气温度：	250 °C
干燥气流速：	7 L/min
雾化气压力：	35 psi
鞘气温度：	325 °C
鞘气流速：	11 L/min
毛细管电压：	正 0 V，负 3500 V
喷嘴电压：	正 0 V，负 500 V
MRM 参数：	如表 1 所示

表 1. 多反应监测模式监测的离子对

目标物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
氟虫腈砷	450.9	415	135	15
		282	135	10
氟虫腈	434.9	330	120	15
		250	120	30
氟虫腈亚砷	418.9	383	110	10
		262	110	30
氟甲腈	386.9	351	100	10
		282	100	35

## 结果与讨论

本文所述方法适用于鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢物的检测。该方法在浓度范围 0.1-100  $\mu\text{g/L}$  内，氟虫腈及其代谢物的线性相关性良好，相关系数均大于 0.995，如表 2 所示。在 1、5、20  $\mu\text{g/kg}$  加标浓度下氟虫腈及其代谢物的回收率为 86.4%-101.6%， $\text{RSD} \leq 6.3\%$ ，如表 3 所示。氟虫腈砒在鸡肉和鸡蛋基质中的方法定量限为 1  $\mu\text{g/Kg}$ ，检测限为 0.3  $\mu\text{g/Kg}$ ；氟虫腈、氟虫腈亚砒、氟甲腈在鸡肉和鸡蛋基质中的方法定量限为 0.5  $\mu\text{g/Kg}$ ，检测限为 0.15  $\mu\text{g/Kg}$ 。如图 1 和图 2 所示，氟虫腈及其代谢物在鸡肉和鸡蛋中检测时无干扰，基本无基质效应，且由图 2 可知，实验选取的鸡蛋样品中氟虫腈砒为阳性，经定量计算其浓度小于 1  $\text{ng/g}$ 。

表 2. 氟虫腈及其代谢物的线性方程

化合物	回归方程	R <sup>2</sup>
氟虫腈砒	$Y = 16826.18 * x - 9140.45$	0.999
氟虫腈	$Y = 11319.9 * x - 5263.8$	0.999
氟虫腈亚砒	$Y = 11112.7 * x + 4439.1$	0.995
氟甲腈	$Y = 18065.5 * x + 6167.6$	0.995

表 3. 氟虫腈及其代谢物的回收率和重现性

化合物	加标浓度 ( $\mu\text{g/kg}$ )	鸡肉		鸡蛋	
		回收率 (%)	RSD (n = 3)	回收率 (%)	RSD (n = 3)
氟甲腈	1	97.0	5.4	96.0	6.3
	5	101.5	4.0	91.1	1.2
	20	91.3	4.7	97.1	4.5
氟虫腈砒	1	94.4	3.2	99.7	3.7
	5	101.6	3.5	98.7	5.4
	20	98.2	5.3	91.2	4.5
氟虫腈亚砒	1	97.9	3.9	94.6	5.3
	5	101.2	2.1	99.9	6.1
	20	92.4	3.7	101.5	5.5
氟虫腈	1	94.2	4.5	86.4	4.1
	5	99.8	4.2	97.8	5.1
	20	96.0	5.5	93.8	3.3

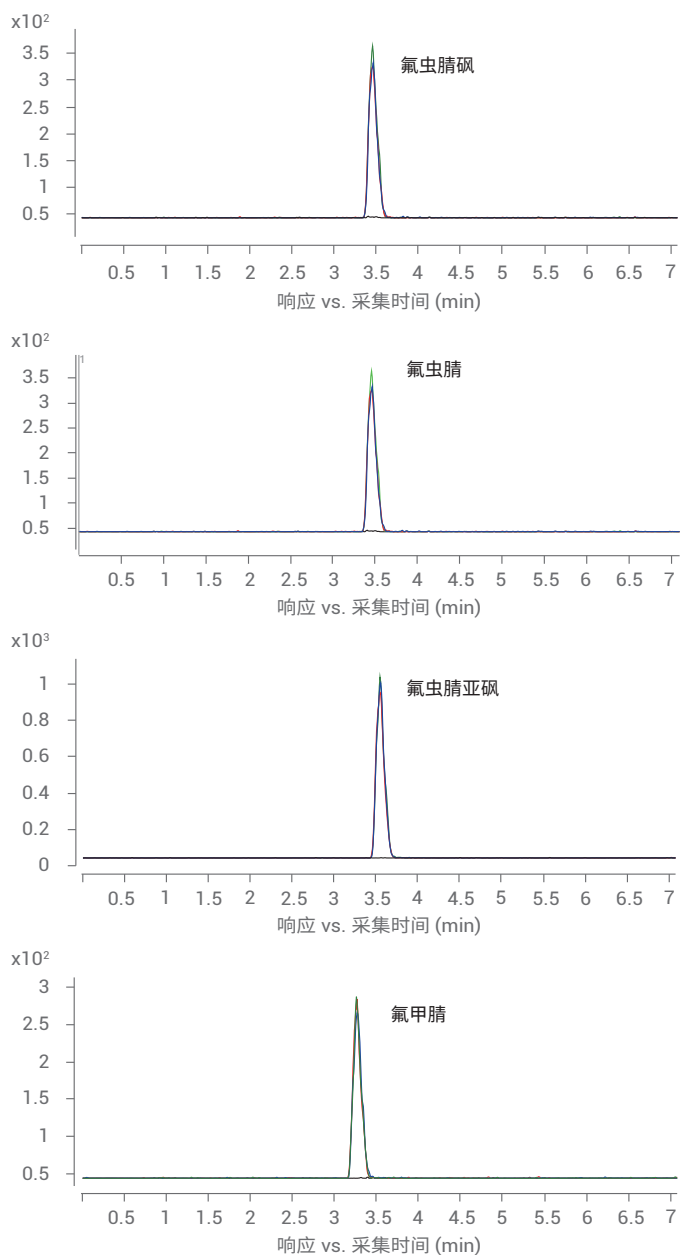


图 1. 0.5  $\mu\text{g/L}$  氟虫腈砒、氟虫腈、氟虫腈亚砒、氟甲腈标准品 (蓝色) 及 0.5  $\mu\text{g/L}$  鸡肉基质标准品 (绿色)、1  $\text{ng/g}$  鸡肉加标样品 (红色)、空白鸡肉样品 (黑色) 的 MRM 色谱图

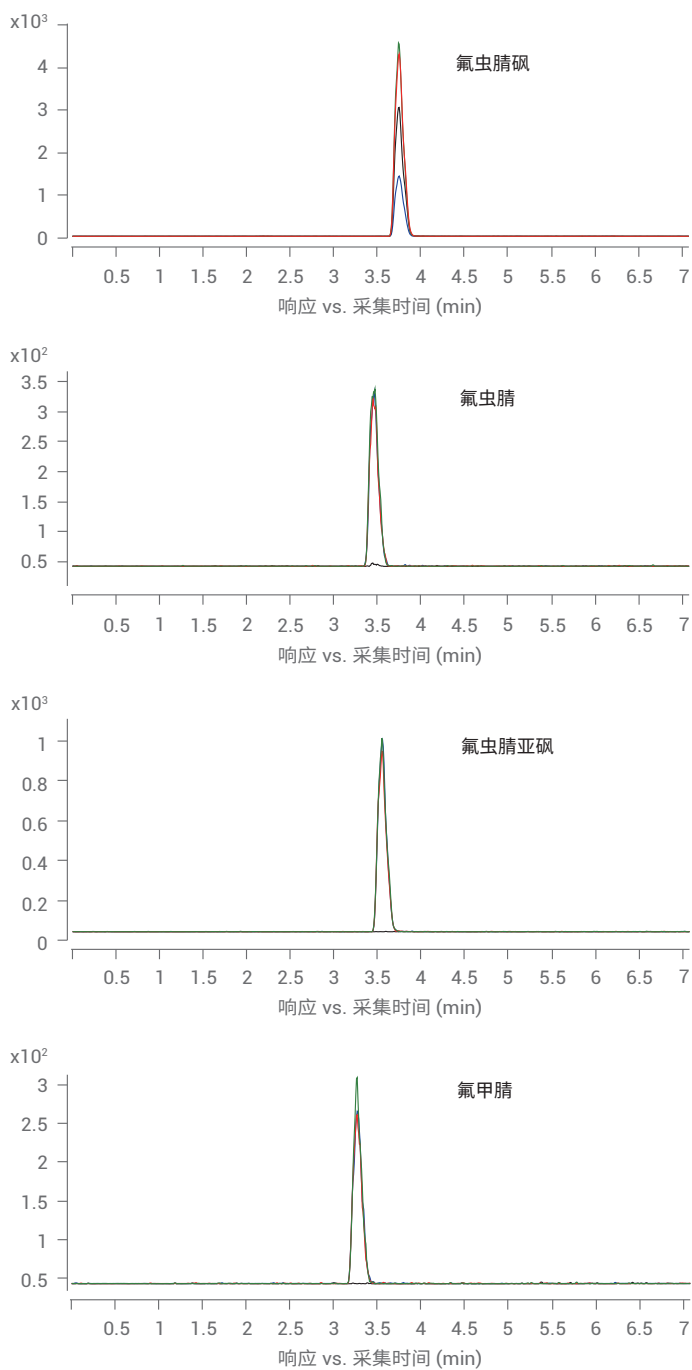


图2. 0.5  $\mu\text{g/L}$  氟虫腈砷、氟虫腈、氟虫腈亚砷、氟甲腈标准品 (蓝色) 及 0.5  $\mu\text{g/L}$  鸡蛋基质标准品 (绿色)、1 ng/g 鸡蛋加标样品 (红色)、空白鸡蛋样品 (黑色) 的MRM 色谱图

本方法同时对比了本文所述 Bond Elut EMR-Lipid 法与传统 QuEChERS 法中的净化步骤对动物性食品分析结果的影响。两种净化方式均可满足分析方法对方法稳定性和准确度的要求 (参见图 5、图 6、表 3 和表 4)。但如图 3 所示, EMR-Lipids dSPE 方法与传统 QuEChERS 具有类似的操作流程, 却可实现更洁净的萃取, 因为它可以有效去除样品基质中会对仪器和色谱柱造成严重污染的磷脂和脂肪类化合物。这些强保留化合物很容易在色谱柱中积累, 使色谱柱的柱压不断升高, 柱效严重下降。并且, 它们不容易被冲洗出来, 从而导致色谱柱使用寿命的大大缩短。使用母离子扫描方式对采用两种方法净化的样品进行  $184^+$  离子监测, 如图 4 所示鸡肉和鸡蛋两种基质中的磷脂残留监测结果对比, 可以看出 Bond Elut EMR-Lipid 可去除样品基质中绝大多数的磷脂干扰物, 从而获得更干净更彻底的净化效果。

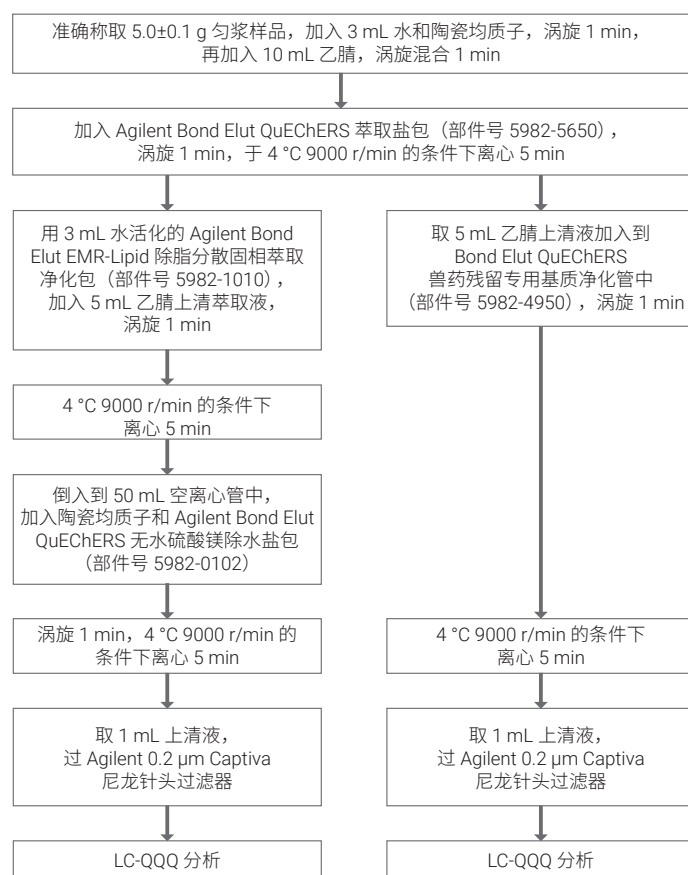


图3. Bond Elut EMR-Lipid 方法和传统 QuEChERS 方法两种前处理方法对比

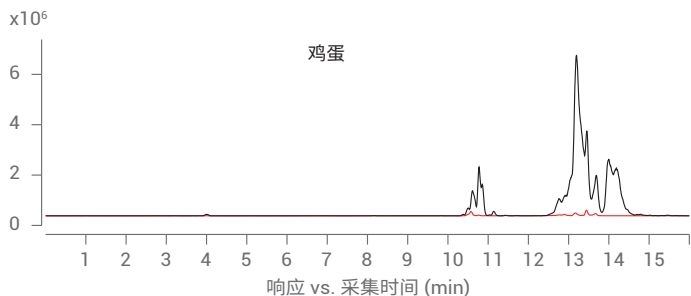
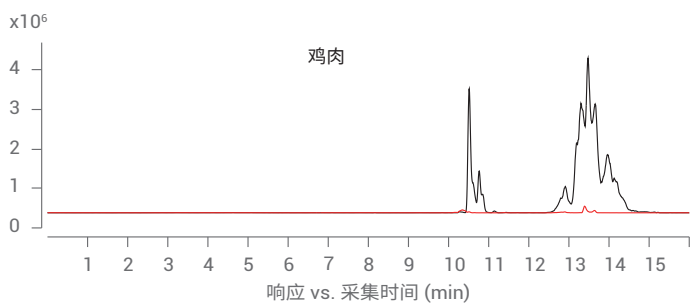


图 4. Bond Elut EMR-Lipid 方法 (红色) 与传统 QuEChERS (C18 + PSA) 方法 (黑色) 的净化效果

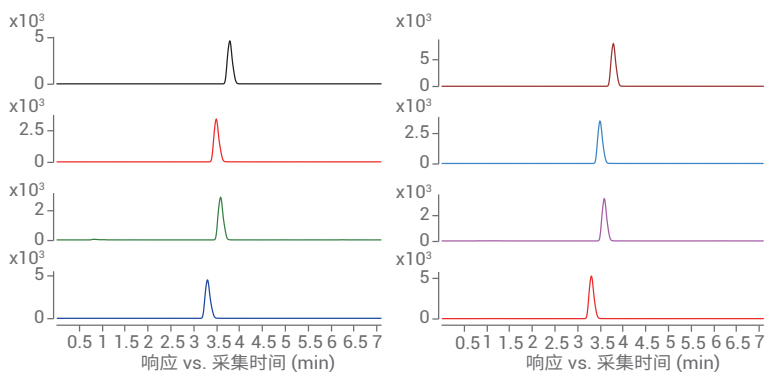


图 5. 使用传统 QuEChERS 方法净化 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标鸡肉 (左) 和鸡蛋 (右) 样品后得到的 MRM 谱图 (从上往下依次是氟虫腈砒、氟虫腈、氟虫腈亚砒、氟甲腈)

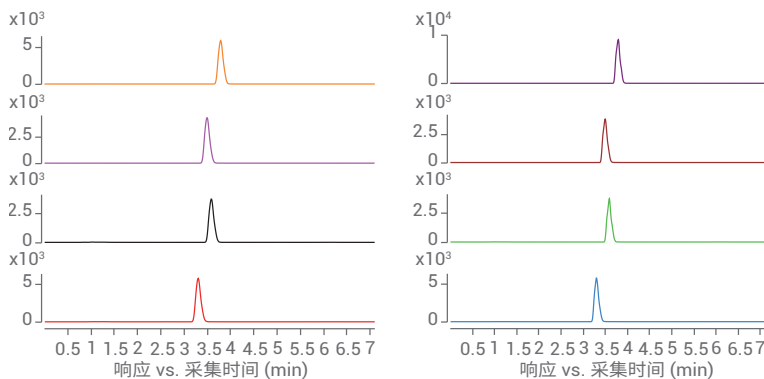


图 6. 使用 Bond Elut EMR-Lipid 方法净化 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标鸡肉 (左) 和鸡蛋 (右) 后得到的 MRM 谱图 (从上往下依次是氟虫腈砒、氟虫腈、氟虫腈亚砒、氟甲腈)

表 4. 使用 Bond Elut QuEChERS 兽药分散固相萃取试剂盒对 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标鸡肉、鸡蛋中氟甲腈、氟虫腈、氟虫腈亚砒 (氟虫腈硫醚) 和氟虫腈砒的回收率

化合物名称	鸡蛋 (加标浓度 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		鸡肉 (加标浓度 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
氟甲腈	110.2	5.4	103.4	3.8
氟虫腈	109.8	2.6	97.3	3.7
氟虫腈亚砒 (氟虫腈硫醚)	104.1	6.1	96.7	1.9
氟虫腈砒	112.2	4.5	99.1	2.2

## 结论

本文建立了使用 Bond Elut EMR 前处理方法结合 HPLC-MS/MS 分析动物性食品中残留的氟虫腈及其代谢物的方法。该方法具有快速、灵敏度高、操作简单的特点, 完全可以满足动物性食品中残留的氟虫腈及其代谢物的定性和定量要求。通过对比分析实验可以看出, 采用 EMR-lipid dSPE 增强型脂质去除净化管可更有效去除动物性食品中的脂质。

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

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，2017  
2017年12月15日，中国印刷  
5991-8604CHCN

