



禽蛋及相关产品中50种农药及代谢物残留检测操作细则

1、范围

本细则规定了禽蛋及相关产品中50种农药及代谢物残留的液相色谱-质谱检测方法。

本细则适用于鸡蛋、鸭蛋等禽蛋及禽类动物相关产品(肌肉、肝脏、心脏、血液、羽毛、粪便、土壤、水、兽药、饲料)中50种农药及代谢物的测定。

本细则方法对50种农药及代谢物的定量限范围为1-5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2、规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 603 化学试剂试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3、方法原理

用1%乙酸乙腈溶液提取, QuEChERS多功能针式过滤器快速净化, 液相色谱-串联质谱正离子和负离子扫描模式测定, 采用基质匹配标样以外标法定量。

4、试剂与材料

除另有说明, 试验中所用制剂按GB/T 603的规定制备。水为符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 乙腈:99.9%, 色谱纯。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙酸:>99.5%, 分析纯。

4.4 甲酸铵:色谱纯。

4.5 氯化钠: $\geq 99.5\%$, 分析纯。

4.6 提取盐包:内含6g无水硫酸镁, 1.5g乙酸钠

(参考:天津阿尔塔科技P-QuEChERS-AOAC 1202、安捷伦QuEChERS-Extract Pouch-AOAC 5982-7755、Waters DisQuE分散固相萃取试剂盒-176002922等相当产品)。

5、仪器和设备

液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)(参考AB SCIEX 3500)。

5.1 天平:感量0.01 g。

5.2 分析天平:感量0.00001 g。

5.3 涡旋仪。

5.4 离心机:转速4500r/min。

天津阿尔塔科技有限公司

地址:天津经济技术开发区第四大街80号, 天大科技园C6楼3层 邮编:300457

电话:(0086) 22-65378550 185-2256-9193 185-2256-9194

全国免费客服电话:400-6688-671

传真:(0086) 22-2532-9655

邮箱:sales@altascientific.com

网址:www.altascientific.com

QQ:3002339242, 3002305887



操作细节

5.5 多功能针式过滤器:内填有150mg MgSO₄、50mg PSA、50mg C18的净化吸附剂,滤膜孔径0.22 μm。
(参考:天津阿尔塔科技QUICLEAR F-QuEChERS-AOAC 3202,或者含有相当吸附剂的QuEChERS净化管)。

5.6 一次性注射器:2mL。

5.7 有机微孔滤膜:0.22μm。

6、采样和试样制备

将禽蛋样品去壳均质,其他样品参照相关标准方法制备。

7、分析步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 禽蛋及禽类动物肌肉、肝脏、心脏、血液、粪便和土壤

准确称取5g(精确至0.01g)均质样品于50mL离心管中,加入5mL水,10mL 1%乙酸乙腈(4.7),涡旋混匀1min,超声提取10min。加3g氯化钠(4.5)后涡旋混合1min,4500rpm离心10min。用一次性注射器(5.6)取1mL上清液(再吸入1mL空气),匀速通过多功能针式过滤器(5.5)至进样小瓶中(使液体逐滴流出),上机测定。

7.1.5 饲料

准确称取5g(精确至0.01g)均质饲料样品于50mL离心管中,加入10mL水后涡旋30s混匀,加入15mL 1%乙酸乙腈(4.7),涡旋混匀1min,超声提取10min。加提取盐包P-QuEChERS-AOAC 1202(4.6)后涡旋混合1min,4500rpm离心10min。用一次性注射器(5.6)取1mL上清液(再吸入1mL空气),匀速通过多功能针式过滤器(5.5)至进样小瓶中(使液体逐滴流出),上机测定。

备注:

(1)如使用相当吸附剂的净化管净化,先取上述样品离心后的上清液1mL转移至净化管中,涡旋30s,4500rpm离心3min,再取上清液过0.22μm微孔滤膜(5.7)于进样小瓶中,上机测定。

(2)兽药因为种类较多本方法以定性确认为主,定量为辅。可以直接采用溶剂标准曲线定量,对净化液进行成倍稀释,使稀释液响应值在标准曲线线性范围内,所获定量结果作为参考。

7.2 标准曲线绘制

取空白试样按7.1处理方法制备空白基质溶液,然后准确量取适量50种农药及代谢物混合标准工作溶液(4.11),用空白基质溶液稀释配制成浓度为0.5μg/L、1μg/L、5μg/L、10μg/L、25μg/L、50μg/L、100μg/L的系列基质匹配标准工作溶液,供液相色谱-串联质谱测定。分别以50种农药及代谢物的定量离子质量色谱峰面积为纵坐标,对应的基质匹配标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,求回归方程和相关系数。

7.3 测定

7.3.1液相色谱参考条件

Waters UPLC+AB SCIEX 3500

a) 色谱柱:XDB C18 2.1×150mm, 3.5μm, 或性能相当者;

b) 流速:0.4 mL/min;

c) 流动相:A为5mM甲酸铵水溶液, B为5mM甲酸铵甲醇溶液

d) 进样量:10μL;

流动相梯度洗脱程序见表1:

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	体积分数(V/V)%	
	A	B
initial	95	5
1	60	40
3	20	80
5	5	95
7	5	95
7.01	95	5
9	95	5

7.3.2 质谱参考条件

Waters UPLC+AB SCIEX 3500

a) 离子源:电喷雾离子源(ESI);

b) 扫描方式:正、负离子扫描;

c) 质谱扫描方式:多反应离子监测(MRM)

d) 离子源温度:500 °C;

e) 离子源喷雾电压:±4500 V;

f) 气帘气:30 psi;

g) 碰撞气:8 psi;

参考监测离子参数情况见表2。

操作细节

混标标准品如下：

产品编号	中文名称	英文名称
1ST28585-100	50 种农药混标溶液, 100µg/mL	50 Pesticide Mix Solution, 100µg/mL

表2 50种农药及代谢物MRM特征离子参考质谱条件 (Waters UPLC+AB SCIEX 3500)

序号	中文名称	英文名称	RT/min	母离子	子离子	DP/V	CE/eV	母离子	子离子	DP/V	CE/eV	LOQ µg/kg
1	啉虫脒	Acetamiprid	2.64	223	126	70	27	223	99	70	47	1
2	阿维菌素	Avermectin B1a	6.2	895.4	751.3	120	60	895.4	449.2	120	60	2.5
3	氯虫苯甲酰胺	Chlorantraniliprole	3.84	484	286	60	35	484	453	60	35	1
4	毒死蜱	Chlorpyrifos	5.62	350	198	82	29	350	97	82	49	1
5	苯醚甲环唑	Difenoconazole	4.92	406.1	251	120	37	406.1	337	120	23	1
6	烯酰吗啉	Dimethomorph	4.05	388.1	301	115	29	388.1	165	115	43	1
7	甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	Emamectin Benzoate	5.49	886.5	158.1	120	37	886.5	302.1	120	39	1
8	甲氰菊酯	Fenpropathrin	5.68	350.2	125.1	75	30	350.2	97.1	82	40	1
9	氟虫腓	Fipronil	4.36	434.8	329.9	-22	-80	434.8	249.8	-40	-65	1
10	氟甲腓	Fipronil-desulfinyl	4.27	387.1	351.1	-18	-65	387.1	281.9	-48	-70	1
11	氟虫腓硫醚 (亚砷)	Fipronil-sulfide	4.5	419.1	383	-18	-75	419.1	261.7	-45	-65	1
12	氟虫腓砷	Fipronil-Sulfone	4.4	451	281.9	-36	-75	451	415.1	-25	-65	1
13	吡虫啉	Imidacloprid	2.42	256.1	209	60	23	256.1	175	60	26	1
14	辛硫磷	Phoxim	4.74	299.1	77	67	46	299.1	129	67	16	1
15	吡蚜灵	Pyridaben	6.06	365	309	110	17	365	147	110	31	2.5
16	噁霉胺	Pyrimethanil	4.17	200	107	91	34	200	82	91	37	2.5
17	胺菊酯	Tetramethrin	5.26	332.2	135	80	40	332.2	288	80	40	1
18	三环唑	Tricyclazole	2.9	189.7	135.7	70	35	189.7	162.7	80	35	1
19	抑霉唑	Imazalil	4.59	297.1	155	80	25	297.1	159	60	35	1
20	三唑酮	Triadimefon	4.21	294	197	81	21	294	225	81	17	1
21	戊唑醇	Tebuconazol	4.7	307.7	70	40	45	307.7	125	45	45	1
22	敌百虫	Chlorophos	2.69	274	108.9	25	27	274	79	30	45	1
23	克百威	Carbofuran	3.4	222.1	165	70	17	222.1	123.1	70	29	1
24	3- 羟基克百威	3-hydroxy-carbofuran	2.59	238	181	65	14	238	163	65	20	1
25	乙酰甲胺磷	Acephate	1.77	184	143	50	10	184	125	50	26	5
26	联苯菊酯	Bifenthrin	6.57	440.3	181.1	69	15	440.3	166.2	40	50	1
27	多菌灵	Carbendazim	2.95	192	160	80	25	192	132	80	41	1
28	灭幼脲	Chlorbenzuron	4.62	309	156	75	20	309	139	75	44	1
29	氟啶脲	Chlorfluazuron	5.73	540	383	80	27	540	158	80	24	1
30	二嗪磷	Diazinon	4.77	305	169	80	27	305	153	80	28	1
31	敌敌畏	Dichlorvos	3.31	221	109	70	23	221	127	70	25	1
32	乙霉威	Diethofencarb	3.96	268.1	152.1	70	45	268.1	226.2	70	45	2.5
33	除虫脲	Diflubenzuron	4.47	311	141.2	72	47	311	158	72	21	1
34	乐果	Dimethoate	2.68	230	125	56	29	230	199	56	13	1
35	异菌脲	Iprodione	4.49	330.1	245	55	20	330.1	288	47	20	2.5
36	水胺硫磷	Isocarbophos	3.8	273.1	231	67	15	273.1	121	67	32	1
37	马拉硫磷	Malathion	4.17	331	127	64	17	331	285	64	13	1
38	甲胺磷	Methamidophos	1.58	142	94	54	19	142	125	54	18	2.5
39	灭多威	Methomyl	2.13	163	106	38	13	163	88	38	13	1
40	氧乐果	Omethoate	1.84	214	182.9	56	16	214	109	56	36	1
41	咪鲜胺	Prochloraz	4.81	376.2	308	65	17	376.2	70.1	65	43	1
42	丙溴磷	Profenofos	5.25	373	302.9	80	25	373	345.2	80	18	1
43	氟胺氰菊酯	Tau-fluvalinate	5.97	503	181	82	25	503	208	75	15	1
44	噻虫嗪	Thiamethoxam	2.16	292	211	60	18	292	181	60	32	1
45	三唑磷	Triazophos	4.23	314	162	70	25	314	119.1	70	47	1
46	灭蝇胺	Cyromazine	2.7	167.1	125.1	60	24	167.1	108.1	60	45	2.5
47	对硫磷	Parathion	4.57	292	236	80	20	292	264	80	15	2.5
48	甲基对硫磷	Parathion-methyl	4	264	231.9	65	23	264	124.9	65	23	5
49	噻嗪酮	Buprofezin	5.5	305.7	106.3	50	45	305.7	86.1	50	45	2.5
50	甲萘威	Carbaryl	3.55	202.1	145	54	15	202.1	127	54	40	1

操作细节

7.3.3 定性测定

在相同试验条件下,待测物在样品中的保留时间与标准工作溶液中的保留时间偏差在±2.5%之内,并且色谱图中各组分定性离子对的相对丰度,与浓度接近标准工作液中相应定性离子对的相对丰度进行比较,若偏差不超过表3规定的范围,则可判断为样品中存在对应的待测物。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度	>50%	>20% ~50%	>10%~20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.3.4 定量测定

取试样溶液和基质匹配标准溶液上机测定,以色谱峰保留时间和离子对(MRM)定性,分别以50种农药及代谢物色谱峰面积比作单点或基质匹配标准曲线校准,用外标法定量。试样溶液中目标物与外标的峰面积比均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下,50种农药及代谢物标准溶液特征离子的质量色谱图参见附录。按以上步骤对同一试样进行平行测定。

8、结果计算

$$\text{单点校准: } C_i = \frac{C_s \times A_i}{A_s} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{或标准曲线校准: } A_s = a \times C_s + b \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{求得a和b,则 } C_i = \frac{A_i - b}{a} \dots\dots\dots(3)$$

试样中50种农药及代谢物的含量X,以质量分数表示,单位为微克每千克(μg/kg),按下式计算:

$$\dots\dots\dots X = \frac{C_i V}{m} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

C_i ——试样溶液中相应农药浓度,单位为微克每升(μg/L);

C_s ——标准溶液中相应农药浓度,单位为微克每升(μg/L);

A_i ——试样溶液中相应农药峰面积;

A_s ——标准溶液中相应农药峰面积;

V ——提取溶剂的体积,单位为毫升(mL);

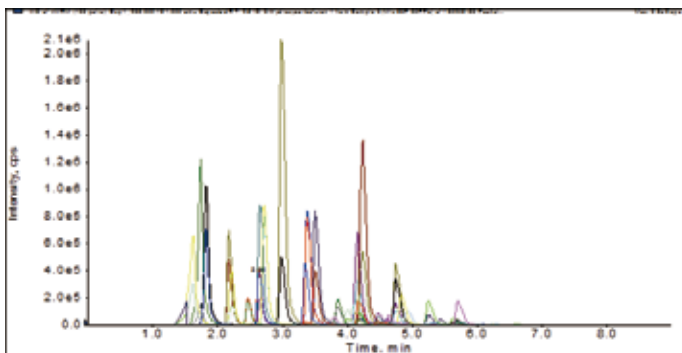
m ——供试试样的质量,单位为克(g);

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

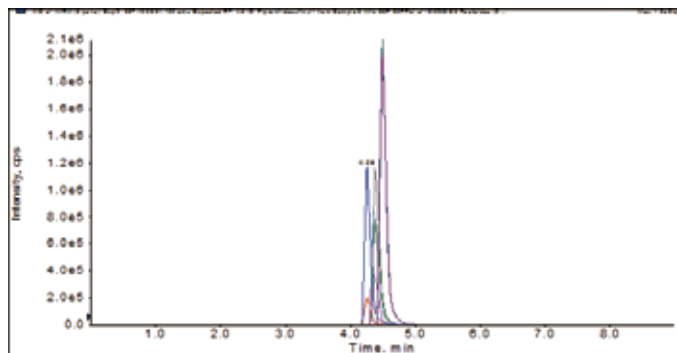
9、重复性

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%。

附图:50种农药及代谢物特征离子的色谱图(Waters UPLC+AB SCIEX 3500)



(农药及代谢物的正离子扫描)



(氟虫腈及其代谢物的负离子扫描)