

动物源性食品中 65 种兽药残留的快速检测方法

王超众¹, 刘信奎¹, 张连成¹, 王萌萌², 董巍^{*3}

(1. 齐齐哈尔市食品药品检验检测中心, 黑龙江 齐齐哈尔 161005; 2. 齐齐哈尔市第一医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005; 3. 齐齐哈尔医学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要: 建立了动物源性食品中 65 种兽药残留的快速提取、净化及超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-MS/MS)检测方法。采用乙腈-甲酸溶液为提取溶剂。通过固相萃取柱(ProElut PLS-A)对提取液进行净化,采用多反应监测模式检测。65 种目标化合物呈现良好的线性关系,定量限为 0.1~1.6 $\mu\text{g/kg}$,大部分兽药残留的回收率在 67.1%~100.2%之间,相对标准偏差小于 7.8%($n=3$)。建立的方法适用于动物源性食品中 65 种兽药残留快速检测分析。

关键词: 动物源性食品;兽药残留;快速检测

中图分类号:R 917 文章编号:1673-1689(2020)04-0102-10 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.04.014

Rapid Detection of 65 Veterinary Drug Residues in Animal Origin Foods

WANG Chaozhong¹, LIU Xinkui¹, ZHANG Liancheng¹, WANG Mengmeng², DONG Wei^{*3}

(1. Qiqihaer Institute for Food and Drug Control, Qiqihaer 161005, China; 2. The First Hospital of Qiqihar, Qiqihaer 161005, China; 3. Qiqihar Medical University, Qiqihaer 161005, China)

Abstract: An analytical method was established for rapid detection of 65 veterinary drug residues in animal origin foods by UHPLC-MS/MS. The samples were extracted with a mixture of acetonitrile and formic acid. The resulting solution was purified by the solid phase extraction column with ProElut PLS-A. The analytes were detected in the multiple reaction monitoring mode. The 65 target compounds showed good linearity ($r > 0.99$). The limits of quantification ranged from 0.1 to 1.6 $\mu\text{g/kg}$. The average recoveries of most veterinary drug residues were in the range of 67.1%~100.2% and the RSD were less than 7.8% ($n=3$). The established method is suitable for rapid detection and analysis of 65 veterinary drug residues in animal origin foods.

Keywords: animal origin food, veterinary drug residues, rapid detection

收稿日期: 2018-08-24

基金项目: 齐齐哈尔市科技计划项目(SFZD-2017169)。

作者简介: 王超众(1983—),男,硕士,副主任药师,主要从事药物残留检测研究。E-mail: wangchaozhongken@163.com

* 通信作者: 董巍(1983—),女,博士,讲师,主要从事药理学研究。E-mail: pingguoweiweiwei@126.com

动物源性食品的质量安全问题一直困扰着人们,这其中兽药残留现象比较普遍,后果也较为严重^[1,2]。因此,如何提高检验效率、降低检测成本,控制和消除药残,保证食品安全,是重大民生课题^[3-4]。

兽药残留检测存在诸多困难,如残留量甚微、兽药品种繁多、动物源性食品基质复杂等,提取净化方法复杂,检验成本高,耗时耗力等。而且传统的检测方法只针对某一类兽药进行检测,存在筛查范围小、检测效率低等缺点,无法满足大批量检测样品的目的。因此,建立简便、快速、高通量、高灵敏度的方法已成为未来兽药残留检测的趋势。目前同时检测动物源性食品中多种类兽残的国家标准还比较少,主要采用的方法是液相色谱-串联质谱法^[5-6]。检索文献有用免疫分析法^[7-9]、液相色谱法^[10-11]、气相色谱-质谱联用法^[12-13]、超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法^[14-17]、超高效液相色谱-串联质谱法^[18-24]等。免疫分析法一般只作为初筛或辅助检测手段,出现阳性结果还要进一步质谱确认;液相色谱法应用广泛,但专属性及检测限不高,限制了该方法在兽药残留检测中的应用;气质法灵敏度就高专属性强,但是检测兽药品种范围有限,不适合作为多类兽药残留的检测;液相色谱-串联质谱法灵敏度高,且在定性方面具有较强优势,是如今使用最广泛的兽药残留检测方法。作者应用 ProElut PLS-A 技术对样品基质进行净化处理,并且建立超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-MS/MS)法对 65 种兽药残留进行快速检测分析。这些兽药涵盖了磺胺类抗生素、 β -受体兴奋剂类、喹诺酮类抗生素、四环素类抗生素、糖皮质激素类、雄性激素类、 β -内酰胺类抗生素、大环内酯类抗生素、氨基糖苷类抗生素、抗病毒类、镇静剂类、驱虫剂类、硝基咪唑类、三苯甲烷类、二羟基苯甲酸内酯类、雌激素类、氯霉素类、氯代烃类等 18 类 65 种兽药化合物,为动物源性食品中兽药残留筛查提供了一个简单且快速的检测方法,提高了检测效率。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1290 infinity II 型超高效液相色谱仪:美国 Agilent 公司产品;TSQ.QuantumAccess 型三重四级

杆质谱仪:美国 Thermo Fisher 公司产品;XS205DU 型电子天平:美国梅特勒公司产品;BSA2202S-CW 型电子天平:德国赛多利斯公司产品;Tube Mill 型研磨机(配 MT40 型一次性 40mL 研磨杯)、MS 3 型涡漩混合器:德国 IKA 公司产品;KQ-1000 型超声仪:昆山超声仪器厂产品;Rotina 380R 型控温离心机:美国 Hettich 公司产品;N-EVAP 112 型氮吹仪:美国 Organomation 公司产品;ProElut PLS-A 型固相萃取小柱:天津迪马公司产品;Endeavorsil C₁₈, 100 mm $\times$ 2.1mm, 1.8 μ m 超高效色谱柱:天津 DIKMA 公司产品。

65 种兽药标准品(纯度均大于 93.0%):德国 Dr. Ehrenstorfer 公司产品;乙腈、甲醇(色谱纯),德国 Merck 公司产品;甲酸(优级纯):天津市光复精细化工研究所产品;水为超纯水;其它试剂为分析纯。

1.2 样品前处理

取畜、禽或水产品的可食部分置研磨机上研磨搅碎,精密称取搅碎的样品 2 g,置 50 mL 离心管中,加入 10 mL 体积分数 0.1% 甲酸乙腈,置漩涡混合器上震荡 5 min,超声 5 min,6 000 r/min 离心 5 min,取上清液待净化。小柱不需活化,直接置固相萃取装置上,精密量取离心上清液 5 mL 加入小柱中,接收流出液,将接收的流出液在 40℃ 条件下氮吹至近干,精密加入 1 mL 体积分数 90% 乙腈溶液(含有体积分数 0.1% 甲酸)1 mL 复溶,微孔滤膜过滤,供仪器分析。

1.3 样品检测

1.3.1 色谱条件 进样量 5 μ L,柱温 30 ℃,流量 0.2 mL/min。正离子模式采用流动相(单位均为体积分数)A:0.1% 甲酸乙腈溶液,流动相 B:体积分数 0.1% 甲酸水溶液,梯度洗脱:0~2 min, 10% A; 2~8 min, 10% A $\rightarrow$ 60% A; 8~10 min, 60% A $\rightarrow$ 90% A; 10~13 min, 90% A; 13~14 min, 90% A $\rightarrow$ 10% A; 14~20 min, 10% A。负离子模式采用流动相 A:乙腈,流动相 B:10 mmol/L 乙酸铵溶液,梯度洗脱:0~2 min, 40% A; 2~8 min, 40% A $\rightarrow$ 70% A; 8~10 min, 70% A $\rightarrow$ 90% A; 10~13 min, 90% A; 13~14 min, 90% A $\rightarrow$ 40% A; 14~20 min, 40% A。

1.3.2 质谱条件 电离模式为 ESI, 正负离子分别扫描,多反应监测模式,电喷雾电压为 $\pm$ 4 000 V,离子源温度 370 ℃。目标化合物具体的母离子、定量离子、定性离子、碰撞电压等参数详见表 1。

表 1 65 种兽药残留多反应监测质谱参数

Table 1 MRM parameters for the detection of 65 veterinary drugs

序号	药物名称	检测模式	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞电压/V	去簇电压/V
1	磺胺甲恶唑	正模式	254.0/155.8	254.0/155.8	19	58
			254.0/107.9		21	
2	甲氧苄啶	正模式	291.1/230.2	291.1/230.2	25	61
			291.1/261.1		30	
3	磺胺嘧啶	正模式	251.1/156.0	251.1/156.0	21	60
			251.1/184.9		28	
4	磺胺氯哒嗪	正模式	285.1/156.0	285.1/156.0	20	48
			285.1/108.1		34	
5	磺胺间甲氧嘧啶	正模式	281.0/155.7	281.0/155.7	18	70
			281.0/125.8		20	
6	磺胺甲基嘧啶	正模式	265.1/156.0	265.1/156.0	22	82
			265.1/172.1		22	
7	磺胺邻二甲氧嘧啶	正模式	311.2/156.0	311.2/156.0	23	80
			311.2/108.1		35	
8	磺胺间二甲氧嘧啶	正模式	311.2/156.1	311.2/156.1	28	75
			311.2/108.2		40	
9	磺胺喹恶啉	正模式	301.0/155.9	301.0/155.9	15	62
			301.0/108.0		27	
10	磺胺二甲嘧啶	正模式	279.1/186.0	279.1/186.0	23	70
			279.1/155.9		25	
11	沙丁胺醇	正模式	240.3/148.0	240.3/148.0	24	60
			240.3/222.1		14	
12	克伦特罗	正模式	277.2/202.9	277.2/202.9	22	70
			277.2/259.2		14	
13	西马特罗	正模式	220.0/160.1	220.0/160.1	18	71
			220.0/202.1		26	
14	特布他林	正模式	226.1/152.2	226.1/152.2	31	55
			226.1/125.2		35	
15	莱克多巴胺	正模式	302.5/164.1	302.5/164.1	21	80
			302.5/284.1		16	
16	环丙沙星	正模式	332.2/288.2	332.2/288.2	23	80
			332.2/245.2		30	
17	恩诺沙星	正模式	360.3/316.1	360.3/316.1	26	80
			360.3/245.2		34	
18	沙拉沙星	正模式	386.2/342.2	386.2/342.2	24	92
			386.2/299.2		35	
19	达氟沙星	正模式	358.3/340.1	358.3/340.1	24	97
			358.3/254.4		30	
20	双氟沙星	正模式	400.2/356.2	400.2/356.2	27	100
			400.2/299.3		37	

续表 1

序号	药物名称	检测模式	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞电压/V	去簇电压/V
21	洛美沙星	正模式	352.3/316.1	352.3/316.1	27	72
			352.3/245.2		30	
22	培氟沙星	正模式	334.3/290.3	334.3/290.3	35	78
			334.3/233.2		25	
23	氧氟沙星	正模式	362.3/318.3	362.3/318.3	25	90
			362.3/261.2		35	
24	诺氟沙星	正模式	320.0/276.2	320.0/276.2	26	45
			320.0/233.1		36	
25	四环素	正模式	445.2/410.2	445.2/410.2	25	83
			445.2/427.3		17	
26	金霉素	正模式	479.2/444.2	479.2/444.2	27	84
			479.2/462.2		27	
27	土霉素	正模式	461.3/426.1	461.3/426.1	25	78
			461.3/443.3		17	
28	强力霉素(多西环素)	正模式	445.2/428.2	445.2/428.2	23	79
			445.2/410.2		33	
29	地塞米松	正模式	393.2/355.2	393.2/355.2	18	63
			393.2/237.2		28	
30	倍他米松	正模式	393.5/355.5	393.5/355.5	17	60
			393.5/147.2		37	
31	甲睾酮	正模式	303.5/97.0	303.5/97.0	37	148
			303.5/109.1		35	
32	群勃龙	正模式	271.4/253.4	271.4/253.4	28	100
			271.4/199.1		32	
33	阿莫西林	正模式	366.3/113.7	366.3/113.7	20	70
			366.3/208.0		12	
34	氨苄西林	正模式	350.1/106.1	350.1/106.1	25	100
			350.1/192.1		22	
35	氯唑西林	正模式	436.0/160.0	436.0/160.0	21	91
			436.0/277.0		22	
36	苯唑西林	正模式	402.1/160.1	402.1/160.1	20	70
			402.1/242.9		18	
37	头孢氨苄	正模式	348.3/157.8	348.3/157.8	14	40
			348.3/174.0		22	
38	头孢唑林	正模式	455.2/155.7	455.2/323.1	15	65
			455.2/323.1		10	
39	头孢拉定	正模式	350.3/157.8	350.3/157.8	8	58
			350.3/175.9		12	
40	头孢哌酮	正模式	646.6/142.9	646.6/142.9	32	63
			646.6/530.3		10	

续表 1

序号	药物名称	检测模式	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	碰撞电压/V	去簇电压/V
41	林可霉素	正模式	407.2/126.1	407.2/126.1	37	50
			407.2/359.2		24	
42	替米考星	正模式	869.0/174.1	869.0/174.1	62	90
			869.0/132.0		70	
43	罗红霉素	正模式	837.6/158.1	837.6/158.1	35	78
			837.6/679.5		5	
44	克拉霉素	正模式	748.8/158.0	748.8/158.0	31	36
			748.8/590.8		20	
45	庆大霉素	正模式	478.4/157.3	478.4/157.3	36	75
			478.4/160.2		35	
46	金刚烷胺	正模式	152.1/135.2	152.1/135.2	23	85
			152.1/92.9		35	
47	阿昔洛韦	正模式	226.1/152.0	226.1/152.0	18	90
			226.1/135.0		40	
48	地西泮	正模式	285.1/193.1	285.1/193.1	43	95
			285.1/222.2		37	
49	氯丙嗪	正模式	319.3/58.2	319.3/58.2	66	60
			319.3/86.2		30	
50	左旋咪唑	正模式	204.8/178.0	204.8/178.0	28	90
			204.8/90.9		53	
51	阿苯达唑	正模式	266.3/234.2	266.3/234.2	26	59
			266.3/191.1		35	
52	甲硝唑	正模式	172.0/127.8	172.0/127.8	28	55
			172.0/84.8		18	
53	地美硝唑	正模式	142.0/95.9	142.0/95.9	24	69
			142.0/80.7		36	
54	洛硝哒唑	正模式	201.1/54.8	201.1/54.8	17	59
			201.1/139.7		34	
55	羟基甲硝唑	正模式	187.7/123.3	187.7/123.3	18	55
			187.7/126.2		25	
56	羟甲基甲硝咪唑	正模式	158.0/140.2	158.0/140.2	17	50
			158.0/55.0		27	
57	孔雀石绿	正模式	329.2/313.0	329.2/313.0	25	51
			329.2/208.0		27	
58	隐色孔雀石绿	正模式	331.3/316.0	331.3/316.0	36	52
			331.3/239.2		24	
59	α -玉米赤霉醇	正模式	321.0/227.2	319.2/275.3	-30	-58
			321.0/303.4		-31	
60	β -玉米赤霉醇	正模式	321.0/227.2	319.2/275.3	-30	-58
			321.0/303.4		-31	

续表 1

序号	药物名称	检测模式	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞电压/V	去簇电压/V
61	己烯雌酚	正模式	266.8/237.0	266.8/237.0	-35	-100
			266.8/250.9		-33	
62	氯霉素	正模式	321.0/151.8	321.0/151.8	-24	-80
			321.0/256.9		-15	
63	甲砒霉素	正模式	354.0/289.8	354.0/289.8	-26	-87
			354.0/184.8		-16	
64	氟苯尼考	正模式	356.0/336.0	356.0/336.0	-14	-55
			356.0/185.0		-27	
65	五氯酚酸钠	正模式	262.7/262.7	262.7/262.7	0	-75
			264.7/264.7		0	

2 结果与分析

2.1 65 种兽药残留的选择

中国目前动物源性食品中兽药残留最大限量的标准法规主要有农业部第 193 号、第 235 号、第 560 号和第 2292 号公告,以及全国食品安全整顿工作办公室函(整顿办函[2010]50 号)等,标准中明确规定了允许使用兽药品种的最高限量以及禁止使用的兽药品种。并且每年国家食品药品监督管理总局都会出台《食品安全监督抽检和风险监测实施细则》(以下简称《细则》),在该《细则》2015 年版之前还未对兽药残留进行控制,之后的 2016 年版、2017 年版和 2018 年版均已将动物源性食品中的兽药残留的检验列为了重点监控对象,且将风险等级定为了“高”,可见近几年国家对兽药残留的问题已经越来越重视。

作者选择的 65 种兽药品种都是农业部第 193 号、第 235 号、第 560 号和第 2292 号公告以及整顿办函[2010]50 号等标准中收录的品种,且以上标准对这 65 种兽药残留限量有着明确规定。本试验所选择的这 65 种兽药同时也涵盖了《细则》2016 年版、2017 年版和 2018 中规定的除 4 种硝基咪唑代谢物之外的所有兽药,并且将原本检验需要的 51 个质量标准综合成为 1 个标准,大大节省了人力和物力和时间,为食药检系统更好的做好动物源性食品兽药残留的检验提供了有力的技术支持。

2.2 样品提取条件的选择

试验采用不同提取溶剂对目标化合物进行提取,包括体积分数 0.1%甲酸乙腈、0.1%甲酸甲醇、1%甲酸乙腈 3 种提取溶剂。结果表明,体积分数

0.1%甲酸乙腈与 0.1%甲酸甲醇相比,蛋白质沉淀效果更好,提取溶液更澄清,更有利于下一步的净化操作;选择体积分数 1%甲酸乙腈作为提取溶解时,会使得部分碱性目标化合物提取效率不好,回收率不高;而选择体积分数 0.1%甲酸乙腈作为提取溶剂时,可以满足大多数目标化合物的提取效率,回收率较好,且提取溶剂中乙腈及甲酸挥发性均较强,可减少下一步氮气吹干步骤的时间。试验还曾采用 β -葡糖醛酸苷肽酶对样品进行酶解后提取,此步骤可切断药物与基质中氨基的键合,更好的将目标化合物与基质蛋白进行分离,但是酶解过程一般需要超过 12 h 才能完成,使得分析时间大大延长。试验中加入的微量乙酸亦有使药物与基质蛋白分离的作用,为了满足对大批量样品高通量的分析,故选择了体积分数 0.1%甲酸乙腈作为提取溶剂。

2.3 样品净化条件的选择

净化处理是兽药残留检测前处理中至关重要的步骤,因为动物源性食品基质复杂,若净化不全会造成仪器基线噪音高、干扰目标化合物检测等后果,而且也会加速液质联用仪离子源的污染,进一步影响到仪器灵敏度。本试验应用到的 ProElut PLS-A 型固相萃取小柱,使用前无需活化,采用固相萃取模式中的保留干扰物模式,采用新型吸附材料 PLS-A,基体为高交联的均匀球形聚苯乙烯-二乙烯苯,表面含有极性基团及非极性基团,具有通用性,对非极性、弱极性、强极性化合物具有均衡的保留能力,克服了传统 C18、C8 等反相吸附材料对极性化合物保留差的缺点。同时材料具有保水性,由于极性基团的存在,即使柱床干涸,材料的保留性质也不会发生变化。另外,由于材料基体为聚合

物的特点,可在 pH 0~14 范围内均表现稳定,而传统的硅胶键合吸附剂 pH 范围为 2~8。此材料还有吸附容量大的特点,传统的硅胶键合材料其基体为多孔硅胶,比表面积为 180~450 m²/g 范围,新材料的聚合物基体比表面积可达到 1 000 m²/g,这样可提供更多的吸附位点,提高净化效率,适合短时间内完成大批量的分析测试。

2.4 流动相的选择

试验比较了乙腈-水,体积分数 0.1%甲酸乙腈溶液-0.1%甲酸水溶液,乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液,甲醇-10 mmol/L 乙酸铵溶液等流动相系统,事实证明流动相对目标化合物的色谱分离及质谱灵敏度均有很大的影响。在正离子模式下,在流动相中加入体积分数 0.1%的甲酸,可以促进正离子的离子化,提高灵敏度;在负离子模式下,采用乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液系统,可以促进目标化合物分子失去质子带一分子负电荷,灵敏度更高,同时,溶液中有缓冲盐存在时,可以改善化合物的保留时间及色谱峰型,因此最终确立了正离子体积分数 0.1%甲酸乙腈溶液-0.1%甲酸水溶液以及负离子甲

醇-10 mmol/L 乙酸铵溶液的流动相系统。

2.5 方法学验证

2.5.1 线性关系、检出限和定量限 取不含目标化合物的动物源性食品样品,按照“1.2”项下方法制备空白基质溶液,用空白基质溶液将标准品溶液稀释成质量浓度为 2.0、10.0、20.0、100.0、250.0、500.0 ng/mL 的标准曲线工作液,按照“1.3”项下的方法检测。以质量浓度(X , ng/mL)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,结果 65 种兽药的线性关系良好,线性相关系数均大于 0.99。并将标准曲线工作进一步稀释,以(S/N)=3 为检出限, (S/N)=10 为定量限,方法检出限为 0.1~1.6 μ g/kg,定量限为 0.3~5.3 μ g/kg,具体数据见表 3。

2.5.2 回收率和精密度 向不含待测物的空白猪肉、牛肉、鸡肉、水产品、奶、蛋样品中进行添加回收率实验,添加质量分数为 2、5、10 μ g/kg 的 3 个水平标准溶液。65 种兽药残留物回收率范围为 67.1%~100.2%,相对标准偏差范围为 0.1%~7.8%,具体数据见表 2。由数据可知,采用本方法检测动物源性食品中的 65 种兽药残留,具有较好的准确度与精密度。

表 2 65 种药物检测限、定量限、相关系数、回收率和精密度试验结果

Table 2 LOD, LOQ, correlation coefficients, recoveries and precisions of 65 veterinary drugs

药物名称	检测限/(μ g/kg)	定量限/(μ g/kg)	R^2	平均加标回收率/%	回收率相对标准偏差/%
磺胺甲恶唑	0.5	1.7	0.999 0	91.9	6.1
甲氧苄啶	0.3	1.0	0.999 3	90.2	4.2
磺胺嘧啶	0.5	1.7	0.999 0	89.3	4.7
磺胺氯哒嗪	0.4	1.3	0.999 4	88.3	2.6
磺胺间甲氧嘧啶	0.6	2.0	0.998 7	85.2	6.6
磺胺甲基嘧啶	0.4	1.3	0.999 0	67.1	1.9
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.3	1.0	0.999 3	85.6	5.4
磺胺间二甲氧嘧啶	0.5	1.7	0.999 0	86.4	2.4
磺胺喹恶啉	0.5	1.7	0.998 8	92.3	6.0
磺胺二甲嘧啶	0.4	1.3	0.998 8	90.8	4.3
沙丁胺醇	0.6	2.0	0.998 9	100.2	0.9
克伦特罗	0.7	2.3	0.998 8	99.5	0.1
西马特罗	0.5	1.7	0.999 2	98.6	0.9
特布他林	0.6	2.0	0.999 4	95.0	2.1
莱克多巴胺	0.6	2.0	0.999 0	92.6	7.8
环丙沙星	1.0	3.3	0.999 0	92.6	1.1
恩诺沙星	1.0	3.3	0.998 8	93.0	5.4
沙拉沙星	0.8	2.7	0.999 5	76.9	1.8
达氟沙星	0.7	2.3	0.998 8	85.6	4.9

续表 2

药物名称	检测限/($\mu\text{g/kg}$)	定量限/($\mu\text{g/kg}$)	R^2	平均加标回收率/%	回收率相对标准偏差/%
双氟沙星	0.8	2.7	0.999 0	85.2	3.1
洛美沙星	0.9	3.0	0.999 4	93.3	2.3
培氟沙星	0.6	2.0	0.999 4	92.7	0.8
氧氟沙星	0.7	2.3	0.998 8	82.1	3.4
诺氟沙星	0.8	2.7	0.999 5	92.6	7.3
四环素	0.9	3.0	0.999 3	72.3	7.2
金霉素	1.1	3.7	0.998 9	70.5	2.1
土霉素	1.2	4.0	0.999 3	71.0	3.0
强力霉素(多西环素)	1.2	4.0	0.999 1	73.2	5.8
地塞米松	0.2	0.7	0.999 1	86.6	0.7
倍他米松	0.1	0.3	0.999 3	95.4	3.1
甲睾酮	0.3	1.0	0.999 1	93.8	1.3
群勃龙	0.5	1.7	0.999 1	92.6	7.7
阿莫西林	0.7	2.3	0.999 1	76.9	4.1
氨苄西林	0.9	3.0	0.999 2	73.5	5.4
氯唑西林	1.2	4.0	0.999 2	82.0	3.4
苯唑西林	0.8	2.7	0.999 1	85.6	0.9
头孢氨苄	1.0	3.3	0.999 7	80.3	2.3
头孢唑林	0.9	3.0	0.999 7	84.1	6.9
头孢拉定	0.9	3.0	0.999 5	92.9	3.6
头孢哌酮	1.1	3.7	0.999 3	96.7	0.7
林可霉素	1.0	3.3	0.999 2	83.4	2.4
替米考星	1.3	4.3	0.999 3	93.0	3.9
罗红霉素	1.2	4.0	0.998 9	86.2	2.7
克拉霉素	1.2	4.0	0.998 9	88.9	7.4
庆大霉素	1.0	3.3	0.999 6	90.8	0.9
金刚烷胺	0.2	0.7	0.999 0	96.9	0.0
阿昔洛韦	0.2	0.7	0.999 3	99.2	2.7
地西泮	0.5	1.7	0.998 8	99.7	0.6
氯丙嗪	0.4	1.3	0.999 2	96.7	2.0
左旋咪唑	1.5	5.0	0.999 0	73.3	6.4
阿苯达唑	1.2	4.0	0.999 2	92.6	3.6
甲硝唑	1.1	3.7	0.998 9	93.6	7.0
地美硝唑	1.1	3.7	0.999 5	96.2	0.0
洛硝哒唑	1.2	4.0	0.999 5	97.2	7.5
羟基甲硝唑	1.0	3.3	0.999 2	93.6	5.4
羟甲基甲硝咪唑	1.0	3.3	0.999 5	95.0	7.3
孔雀石绿	0.5	1.7	0.999 5	86.0	2.2
隐色孔雀石绿	0.6	2.0	0.999 2	89.6	2.4
α -玉米赤霉醇	1.2	4.0	0.999 7	68.6	3.7
β -玉米赤霉醇	1.6	5.3	0.999 3	70.6	7.4

续表 2

药物名称	检测限/($\mu\text{g/kg}$)	定量限/($\mu\text{g/kg}$)	R^2	平均加标回收率/%	回收率相对标准偏差/%
己烯雌酚	0.6	2.0	0.999 5	98.3	1.4
氯霉素	0.1	0.3	0.999 4	97.9	6.2
甲砒霉素	0.1	0.3	0.999 6	86.5	4.2
氟苯尼考(氟甲砒霉素)	0.1	0.3	0.999 2	88.3	2.3
五氯酚酸钠	1.5	5.0	0.999 1	93.3	5.4

2.5.3 实际样品检测 按照上述方法检测辖区内抽取的牛肉 50 份,猪肉 50 份,鸡肉 30 份,水产品 100 份,牛奶 30 份,鸡蛋 30 份,结果有 2 批牛肉检出氯霉素阳性 $10.2 \mu\text{g/kg}$,1 批猪肉检出氯丙嗪阳性 $5.3 \mu\text{g/kg}$,1 批鲫鱼检出恩诺沙星阳性 $252.3 \mu\text{g/kg}$,1 批多宝鱼检出地西泮阳性 $20.0 \mu\text{g/kg}$,均超过标准规定最大限度值。

3 结 语

应用 ProElut PLS-A 技术对样品基质进行净化处理,并且建立超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-MS/MS)法对 65 种兽药残留进行快速检测分析。多兽药残留品种一步同时提取,提取液直

接通过固相萃取柱的净化方式,减少传统方法中对提取液浓缩复溶等复杂的操作,避免样品不必要的损失。同时,前处理操作简单,一步净化的方法克服了传统方法中 SPE 需要进行活化平衡等繁琐的步骤,节约时间、节省溶剂,减少人员操作成本,且无需特殊实验装置,检测兽药种类较多。

作者建立了 UHPLC-MS/MS 分析方法,该方法灵敏度高、专属性强、结果准确,在样品基质复杂,目标化合物理化性质差异较大的条件下实现了同时测定,为大批量动物源性食品中兽药多残留检测提供简便可靠的方法。

参考文献:

- [1] CHEN Yizi, HU Bin. Reasons & harm of animal medicine remainderr to animal material food [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(2): 162-166. (in Chinese)
- [2] 王静静. 复杂基质食品样品中多种农药残留和兽药残留检测方法的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2017.
- [3] PAN Canping. Research trends on pesticide and veterinary drug residues[J]. **Journal of Food Safety and Quality**, 2018, 9(6): 1217-1218. (in Chinese)
- [4] LIANG Sudan, CHEN Jiangang, ZHANG Yan. Simultaneous determination of veterinary drug residues of quinolones and tetracyclines in animal tissue by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with automatic solid phase extraction[J]. **Chinese Journal of Food Hygiene**, 2018, 30(2): 151-157. (in Chinese)
- [5] 国家认证认可监督管理委员会. 出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法液相色谱-质谱质谱法: SNT 3235-2012 [S]. 北京: 国家质量监督检验检疫总局, 2012.
- [6] 国家认证认可监督管理委员会. 动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法液相色谱-质谱/质谱法: SN/T 2624-2010[S]. 北京: 国家质量监督检验检疫总局, 2010.
- [7] YANG Daifeng, LIU Tengfei, DENG Jinhua, et al. Development and application of labeled immunoassay in pesticide and veterinary drug residues analysis[J]. **Chinese Agricultural Science Bulletin**, 2012, 28(30): 218-225. (in Chinese)
- [8] LV Zhenzhen, JIANG Xiaoling, LIU Jinchuan, et al. Application of enzyme-linked immunosorbent assay in detection of veterinary drug residues in product of animal[J]. **Quality And Safety Of Agro-Products**, 2012, Supplement, 76-79. (in Chinese)
- [9] XU Wei, CHNG Fengke, MENG Yin, et al. Application of enzyme-linked immuno sorbent assay in detection of veterinary drug residues[J]. **China Poultry**, 2013, 35(12): 49-51. (in Chinese)

- [10] LIU Haiqin. Determination of 5 sulfonamides residues in animal tissues by high performance liquid chromatography [J]. **China Food Safety**, 2014(13):43-44.(in Chinese)
- [11] LI Dongfang. Analysis and application of HPLC in veterinary drug residues [J]. **Guangzhou Chemical Industry**, 2014,42(03):16-17.(in Chinese)
- [12] XUE Liangchen,CAI Qinren,ZHENG Xuan,et al. Determination of 9 hydroxy veterinary drug residues in fish by QuEChERS-GPC-GC/MS[J]. **Journal of Chinese Mass Spectrometry Society**, 2017,38(6):655-663.(in Chinese)
- [13] 陈溪.GC-MS 法同时检测动物组织中多种性激素类兽药残留的研究[D].大连:大连工业大学,2008.
- [14] ZHU W, ZHANG X, YANG J,et al. Simultaneous determination of multi-classes of veterinary drug residues in pork by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2015,33(9):1002-1008.(in Chinese)
- [15] ZHU Wanyan,XU Wenyuan,ZHANG Wei. Determination of 37 kinds of veterinary drugs residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. **Journal of Food Safety & Quality**, 2017,8(2):614-619.(in Chinese)
- [16] YU Chenghua,LIN Lin,YANG Jinqing,et al. Rapid screening of 28 banned veterinary drugs in milk by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2017,36(10):1064-1070.(in Chinese)
- [17] ZHU Wanyan,ZHANG Xin,Yang Juan,et al. Simultaneous determination of multi-classes of veterinary drug residues in pork by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2015,33(9):1002-1008.(in Chinese)
- [18] MASIA A, SUAREZ-VARELA M M, LLOPIS-GONZALEZ A,et al. Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review[J]. **Analytica Chimica Acta**,2016,936:40-61.
- [19] TURNIPSEED S B, STOREY J M, LOHNE J J,et al. Wide-scope screening method for multiclass veterinary drug residues in fish, shrimp, and eel using liquid chromatography-quadrupole high-resolution mass spectrometry[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2017,65(34):7252-7267.
- [20] ZANG Guodong,HUANG Zijong,CHEN Mengjun,et al. Simultaneous determination of 49 kinds of pesticide and veterinary drug residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS [J]. **Journal of Food Safety & Quality**, 2018,9(9):2147-2153.(in Chinese)
- [21] WANG Jiaqi,MA Lili,CAO Yinghua,et al. UPLC-MS/MS high-throughput detection of 56 veterinary drug residues in food products of animal origin[J]. **Chinese Journal of Analysis Laboratory**, 2018,37(3):306-310.(in Chinese)
- [22] LIU Jiayang,HUANG Xu,JIA Hongxin. Simultaneous determination of 16 sedative residues in livestock products by solid phase extraction/ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. **Journal of Instrumental Analysis**, 2017,36(3):305-311.(in Chinese)
- [23] KIM J, SUH J H, CHO H D,et al. Analytical method for fast screening and confirmation of multi-class veterinary drug residues in fish and shrimp by LC-MS/MS[J]. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**. 2016,33(3):420-432.
- [24] TIAN Yun,ZHANG Suzhen,WANG Yijun,et al. Fast pretreatment method for determination of 8 quinolone residues in meat and eggs by super high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. **China Poultry**,2018,40(10):35-39.(in Chinese)