

超高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉中多兽药残留

杨兆甜¹, 吴亚婕¹, 王莹¹, 王雅静¹, 吕青骏^{1,2}, 王伟^{*1,2}

(1. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 南京农业大学 农业农村部肉及肉制品质量监督检验测试中心(南京), 江苏 南京 210095)

摘要: 建立一种超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)法同时检测猪肉中 β -受体激动剂类、磺胺类、砜类抑制剂类、喹诺酮类、糖皮质激素类以及大环内酯类等 20 种兽药残留。待测药物使用 80%体积分数的乙腈水溶液提取,经固相萃取小柱净化和氮气吹干后使用体积分数 10%甲醇水进行复溶,复溶液经微孔滤膜过滤后进行 UPLC-MS/MS 测定。使用 BEH C₁₈ 色谱柱梯度洗脱分离,选用电喷雾电离源,正离子扫描及多反应监测模式测定。20 种药物检出限(limit of detection, LOD)在 0.5~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,定量限(limit of quantitation, LOQ)在 1.7~16.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,当加标水平为 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,平均回收率在 62.1%~118.3%范围内,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 0.4%~16.7%范围内。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱;固相萃取;兽药;残留;猪肉

中图分类号:O 657.63 文章编号:1673-1689(2020)07-0044-07 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.07.007

Determination of Veterinary Drugs in Porcine Muscle by UPLC-MS/MS Method

YANG Zhaotian¹, WU Yajie¹, WANG Ying¹, WANG Yajing¹, LYU Qingjin^{1,2}, WANG Wei^{*1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Supervision, Inspection and Testing Center for Quality of Meat-Products (Nanjing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: An ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was established for the simultaneous determination of 20 kinds of veterinary drug residues of β -receptor activators, sulfonamides, sulfone inhibitors, quinolones, glucocorticoids and macrolides in porcine muscle. The drugs were extracted with 80% acetonitrile, purified by the solid-phase extraction cartridge, dissolved with 10% methanol after nitrogen blowing, and detected by UPLC-MS/MS after filtering by microfiltration membrane. The BEH C₁₈ column was used for the separation by gradient elution. The identification was achieved by electrospray ionization in positive mode and multiple reaction monitoring. The limit of detection (LOD) was from 0.5 to 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and

收稿日期: 2019-08-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602804)。

* 通信作者: 王伟(1982—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品安全控制研究。E-mail:wangwei821220@njau.edu.cn

the limit of quantitation (LOQ) was from 1.7 to 16.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recovery rate range was between 62.1%~118.3% and the relative standard deviation(RSD) was 0.4%~16.7% when the added standard substance concentration was 1, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Keywords: UPLC-MS/MS, solid-phase extraction, veterinary drugs, residues, porcine muscle

目前,我国在畜牧养殖方面使用较多的兽药有 β -受体激动剂类、磺胺类、砜类抑制剂类以及喹诺酮类等^[1-2]。兽药的滥用易使畜牧产品遭受严重污染^[3],药品经代谢进入动物源性食品中,之后可通过食物链在人体蓄积,不仅能使人体产生抗药性、引起过敏反应、影响肠道内菌群^[4],还能导致中毒等不良反应^[5-6]。因而,动物源性食品的兽药残留问题引起了广泛关注^[7-9]。

目前,动物源性食品兽药残留的检测方法主要有毛细管电泳法(Capillary Electrophoresis, CE)^[10]、高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)^[11-12]、免疫法(Immunoassay, IA)^[13-14]和超高效液相色谱-串联质谱法(Ultra Performance Liquid Chromatography/tandem Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS)^[15-16]等。其中,CE法可高效分离化合物,但重现效果不理想^[17];HPLC法检测快速、价格较低,但灵敏度较差^[18-19];IA法检测快速、灵敏,但假阳性率偏高^[20]。而且以上方法大多按照兽药种类分成若干种^[21-22],检测效率较低,且兽药高通量同时检测分析受制于缺乏统一的前处理方法难以实现^[23-24]。作者在采用Oasis PRiME HLB固相萃取小柱净化和提取药物的基础上,通过优化前处理方法,建立了一种高通量快速测定猪肉中20种兽药残留的UPLC-MS/MS方法。该方法可以弥补常规检测方法的缺陷,旨在为我国动物源性食品安全监测体系建设、国际贸易中药物残留检测提供技术保障,同时有助于提高我国动物源食品的安全性,维护我国消费者的权益。

1 材料与方法

1.1 试验仪器与材料

advance EDI 纯水仪: 购于德国 Sartorius 公司; I-class & Xevo TQ-S Micro 型超高效液相色谱质谱仪: 购于美国 Waters 公司; N-EvAP 型 24 管氮吹仪: 购于美国 Organomation 公司; D-16C 高速冷冻离心机: 购于德国 Sartorius 公司; Oasis PRiME HLB

小柱: 购于美国 Waters 公司。

1.2 试验试剂

试验材料为市售生鲜猪肉, 购于江苏省南京市超市及农贸市场。

标准品: 沙丁胺醇、莱克多巴胺、特布他林、克伦特罗、妥布特罗、氯丙那林、磺胺甲恶唑、磺胺甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺喹噁啉、氨苯砜、达氟沙星、沙拉沙星、恩诺沙星、环丙沙星、洛美沙星、培氟沙星、地塞米松、替米考星、红霉素、沙丁胺醇-D₃、莱克多巴胺-D₃、特布他林-D₉、克伦特罗-D₉、妥布特罗-D₉、氯丙那林-D₇、恩诺沙星-D₅; 购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司; 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、甲酸(色谱纯): 购于美国 Fisher 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的前处理 准确称取生鲜猪肉样品取得的肉糜 2.50 g, 将其放置于 50 mL 离心管中, 依次加入 20 μL 内标混合工作液和 10 mL 体积分数 80% 的乙腈水溶液, 涡旋振荡 1 min, 超声提取 3 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 获取上清液。在固相萃取装置上放置 Oasis PRiME HLB 小柱, 取 5 mL 上清液加载到固相萃取柱, 收集过滤液。并取 4 mL 滤液在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴的条件下用氮气吹干, 经 1 mL 体积分数为 10% 的甲醇水溶液复溶后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 复溶液进行 UPLC-MS/MS 分析。采用阴性样品参照上述步骤进行空白试验; 在阴性样品中加入混合标准溶液, 并参照上述步骤进行加标试验。

1.3.2 标准溶液的配制 单标储备液配制: 准确称取 20 种待测药物的标准品, 以甲醇溶液作为溶剂, 配制为一定质量浓度(20~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的单标储备液。

6 类药物混合标准溶液配制: 分别取同类别中一定量的单标储备液并用甲醇定容, 使 6 类药物混合标准溶液的质量浓度均为 10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

混合标准溶液的配制: 分别移取 6 类药物混合标准溶液 1.00 mL, 并用甲醇溶液定容至 10.00 mL, 得到 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液。

内标溶液的配制: 各种内标以甲醇溶液为溶剂

配制得质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液; 分别移取各种内标储备液 1.00 mL, 用甲醇溶液定容至 10.00 mL, 得到 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 的内标混合溶液。

1.3.3 UPLC-MS/MS 法的建立 色谱条件: BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μm); 以体积分数 0.1% 的甲酸水溶液和体积分数 0.1% 的甲酸乙腈溶液作为流动相; 流速保持在 0.3 mL/min; 柱温保持在 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 10 μL ; 色谱柱的洗脱方式采用梯度洗脱, 其梯度洗脱条件如表 1 所示。

质谱条件: 电喷雾正离子模式 (electrospray ionization in positive mode, ESI+); 扫描模式为多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM); 脱溶剂气流量为 1 000 L/h; 锥孔气流量为 20 L/h; 离子源温度保持在 500 $^{\circ}\text{C}$ 。监测参数见表 2。

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Conditions of gradient elution

步骤	时间/ min	流量/ (mL/min)	体积分数 0.1% 甲酸水溶液/%	体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液/ %
1	0.00	0.3	98	2
2	0.25	0.3	98	2
3	12.25	0.3	1	99
4	13.01	0.3	98	2
5	17.00	0.3	98	2

1.3.4 检出限、定量限以及线性范围的确定 参照 1.3.3 的色谱条件和质谱条件进行测定, 以 3 倍信噪比 ($S/N=3$) 计算检出限 (limit of detection, LOD), 10 倍信噪比 ($S/N=10$) 计算定量限 (limit of quantitation, LOQ)。在猪肉空白样品中添加混合标准溶液, 从而建立基质匹配标准曲线, 线性范围为 0.5~20 $\mu\text{g/kg}$, 共设定 6 个点, 以丰度较强的子离子进行定量分析, 丰度次之的子离子进行定性分析, 以质谱图峰面积与药物质量分数关系作图, 横坐标 (X) 为药物质量分数 ($\mu\text{g/kg}$), 纵坐标 (Y) 为峰面积, 绘出标准曲线。其中, β -受体激动剂类和喹诺酮类兽药采用内标法确定质量分数, 其他种类兽药的质量分数采用外标法进行确定。

1.3.5 准确度和精密度试验 在阴性生鲜猪肉制成的肉糜中分别添加 1、5 $\mu\text{g/kg}$ 和 10 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平的混合标准溶液, 每个质量分数设 6 个平行。以平均回收率 (recovery) 计算结果评价方法的准确度, 根据平行样品的相对标准偏差 (Relative Standard

表 2 20 种兽药质谱条件

Table 2 MS parameters of 20 kinds of veterinary drugs

名称	离子化 方式	监测离子 (m/z)	锥孔 电压/V	碰撞能 量/eV
沙丁胺醇	ESI+	240.10>148.00	20	18
	ESI+	240.10>222.00*	20	10
莱克多巴胺	ESI+	302.20>121.00	20	22
	ESI+	164.00>302.20*	20	14
特布他林	ESI+	226.00>124.98	20	24
	ESI+	226.00>152.05*	30	14
克伦特罗	ESI+	277.00>168.00	20	30
	ESI+	277.00>203.00*	20	16
妥布特罗	ESI+	227.97>154.01	28	16
	ESI+	227.97>172.03*	28	10
氯丙那林	ESI+	214.00>153.98	22	30
	ESI+	214.00>196.00*	30	20
磺胺甲恶唑	ESI+	254.10>92.000	30	25
	ESI+	254.10>156.00*	30	15
磺胺甲氧嘧啶	ESI+	281.00>92.00	35	35
	ESI+	281.00>156.00*	35	22
磺胺二甲嘧啶	ESI+	279.10>124.10	35	25
	ESI+	279.10>186.00*	35	15
磺胺喹噁啉	ESI+	301.10>92.200	32	30
	ESI+	301.10>156.10*	32	16
氨苯砜	ESI+	249.00>107.85	20	21
	ESI+	249.00>155.90*	20	14
达氟沙星	ESI+	358.10>314.10	40	15
	ESI+	358.10>340.10*	35	20
沙拉沙星	ESI+	386.00>299.00	35	25
	ESI+	386.00>342.30*	35	15
恩诺沙星	ESI+	360.00>245.10	25	25
	ESI+	360.00>316.10*	20	15
环丙沙星	ESI+	332.10>245.10	35	20
	ESI+	332.10>288.10*	35	15
洛美沙星	ESI+	352.00>265.00	45	25
	ESI+	352.00>308.10*	35	15
培氟沙星	ESI+	334.10>290.20	30	15
	ESI+	334.10>316.10*	10	20
地塞米松	ESI+	393.30>355.20	20	10
	ESI+	393.30>373.20*	20	10
替米考星	ESI+	869.50>174.20	25	45
	ESI+	869.50>696.50*	25	40
红霉素	ESI+	734.50>158.10	30	30
	ESI+	734.50>576.50*	30	20

注: “*”表示定量离子。

Deviation, RSD) 评价该方法的精密度。

1.3.6 方法的实际应用 选用市售生鲜猪肉样品 10 份, 其中 5 份采购自超市, 5 份采购自农贸市场,

参照 1.3.1 和 1.3.3 进行样品前处理和上机测定,以验证该方法的实际应用效果。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的确定

参考相关文献,提取多兽药残留时普遍使用乙腈、甲醇等溶液或者乙腈、甲醇和一定比例其他溶液混合作为提取液。作者比较了体积分数 1%乙酸乙腈、体积分数 0.2%甲酸-80%乙腈水和体积分数 80%乙腈水溶液作为提取溶剂时的回收率(加标质量分数为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。表 3 表明:选用体积分数 80%乙腈水溶液作为提取溶剂时,20 种药物的回收率均在 60%~120%;以体积分数 1%乙酸乙腈溶液作为提取溶剂时,仅有 7 种药物的回收率在 60%~120%;而体积分数 0.2%甲酸-80%乙腈水作为提取溶剂时,仅有 8 种药物的回收率在 60%~120%,测定准确性较低。因此,选用体积分数 80%的乙腈水作为提取溶剂。

表 3 不同提取溶剂加标回收率的比较

Table 3 Comparison of spiked recovery with different extracting solutions

序号	提取溶剂	回收率/%		
		<60	60~120	>120
1	体积分数1%乙酸乙腈溶液	4	7	9
2	体积分数0.2%甲酸-80%乙腈溶液	4	8	8
3	体积分数80%乙腈溶液	0	20	0

2.2 复溶溶剂的确定

在氮吹完成后进行复溶操作时,复溶溶剂的选择会影响测定的准确度与精密度。作者在以体积分数 80%乙腈水作为提取溶剂的基础上,比较体积分数 10%甲醇水、体积分数 15%乙腈水和体积分数 0.1%甲酸-50%乙腈水溶液分别用作复溶溶剂时的回收率(加标质量分数为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。表 4 表明:当体积分数 10%甲醇溶液作为复溶溶剂时,所有药物的回收率均在 60%~120%之间;在体积分数 15%乙腈溶液用作复溶溶剂时,有 10 种药物的回收率位于该范围内;而使用体积分数 0.1%甲酸-50%乙腈溶液复溶时,仅有 9 种药物的回收率位于该范围内。因此,选择体积分数 10%的甲醇溶液作为复溶溶剂。

表 4 不同复溶溶剂加标回收率的比较

Table 4 Comparison of spiked recovery with different dissolving solutions

序号	提取溶剂	回收率/%		
		<60	60~120	>120
1	体积分数 10% 甲醇溶液	0	20	0
2	体积分数 15% 乙腈溶液	1	10	9
3	体积分数 0.1%甲酸-50%乙腈溶液	2	9	9

2.3 标准曲线、相关系数、检出限及定量限

本试验中喹诺酮类和 β -受体激动剂类兽药的标准曲线采用内标法绘制,其他种类兽药标准曲线均采用外标法进行绘制,20 种药物的线性方程、相关系数、检出限以及定量限见表 5。20 种药物在 0.5~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内呈现出良好的线性关系,其 r 值均大于 0.995。检测的 20 种药物中,18 种药物的检出限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 1.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$;其余 2 种药物(地塞米松和替米考星)的检出限分别为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限分别是 3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 16.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.4 方法精密度与准确度

分别在阴性猪肉糜中添加 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个质量分数的混合标准溶液,采用 UPLC-MS/MS 检测以确定样品中兽药残留的回收率及 RSD,且每个质量分数设 6 个平行。表 6 表明:20 种兽药 3 个不同质量分数的平均回收率在 62.1%~118.3%,RSD 位于 0.4%~16.7%之间。

2.5 方法实际应用结果

选用 10 份市售生鲜猪肉作为供试材料,并设置阳性对照和阴性对照控制样品的质量。表 7 表明:有一份超市销售的猪肉样品中检测出磺胺二甲嘧啶,质量分数为 9.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 结语

超高效液相色谱-串联质谱法灵敏度好、准确度高,同时能够突破现行有效检测方法分类检测的局限,实现多种类兽药残留的高通量同时检测。作者应用 UPLC-MS/MS 法检测猪肉中 6 类共 20 种兽药残留,所有检测目标物分离良好,重现性好,并且采用 Oasis PRiME HLB 小柱净化样品,使得前处理

表 5 20 种药物线性方程、相关系数、检出限以及定量限

Table 5 Linear equations, correlation coefficients, LOD and LOQ of 20 drugs

类别	名称	线性方程	相关系数(<i>r</i>)	质量分数检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	质量分数定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
β -受体激动剂类	沙丁胺醇	$Y=0.754x-0.162$	0.997	0.5	1.7
	莱克多巴胺	$Y=0.929x-0.293$	0.995	0.5	1.7
	特布他林	$Y=0.865x+0.083$	0.995	0.5	1.7
	克伦特罗	$Y=0.810x-0.127$	0.996	0.5	1.7
	妥布特罗	$Y=1.259x-0.486$	0.999	0.5	1.7
	氯丙那林	$Y=0.023x+0.008$	0.996	0.5	1.7
磺胺类	磺胺甲恶唑	$Y=782.564x-260.105$	0.995	0.5	1.7
	磺胺甲氧嘧啶	$Y=171.582x+125.476$	0.995	0.5	1.7
	磺胺二甲嘧啶	$Y=1351.82x-30.4591$	0.997	0.5	1.7
	磺胺喹噁啉	$Y=200.962x-56.811$	0.995	0.5	1.7
磺类抑制剂	氨苯砜	$Y=453.048x+65.297$	0.996	0.5	1.7
喹诺酮类	达氟沙星	$Y=0.047x-0.002$	0.996	0.5	1.7
	沙拉沙星	$Y=0.099x-0.022$	0.996	0.5	1.7
	恩诺沙星	$Y=0.093x+0.009$	0.996	0.5	1.7
	环丙沙星	$Y=0.114x-0.020$	0.996	0.5	1.7
	洛美沙星	$Y=0.138x-0.023$	0.997	0.5	1.7
	培氟沙星	$Y=0.217x+0.063$	0.995	0.5	1.7
糖皮质激素类	地塞米松	$Y=38.268x-31.856$	0.997	1.0	3.3
大环内酯类	替米考星	$Y=23.667x+38.496$	0.997	5.0	16.7
	红霉素	$Y=214.282x+36.491$	0.996	0.5	1.7

表 6 20 种药物的加标回收率以及相对标准偏差 ($n=6$)Table 6 Spiked recovery and relative standard deviation ($n=6$) of 20 drugs

类别	名称	加标质量分数 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标质量分数 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标质量分数 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD /%	回收率/%	RSD/%
β -受体激动剂类	沙丁胺醇	103.0	8.1	73.1	3.2	64.1	2.8
	莱克多巴胺	106.7	4.9	98.7	1.6	97.7	1.5
	特布他林	98.5	0.6	96.0	3.9	94.8	4.7
	克伦特罗	103.7	1.3	93.8	5.5	96.0	1.6
	妥布特罗	100.7	3.6	77.2	5.5	96.1	2.7
	氯丙那林	99.3	4.4	91.4	3.1	99.9	0.8
磺胺类	磺胺甲恶唑	103.7	5.1	82.9	4.0	69.9	2.8
	磺胺甲氧嘧啶	84.0	4.9	98.0	2.3	89.9	1.6
	磺胺二甲嘧啶	102.7	6.5	97.4	1.7	96.8	2.3
	磺胺喹噁啉	98.5	4.1	71.5	4.8	64.6	4.4
磺类抑制剂	氨苯砜	92.5	0.6	68.8	2.5	80.5	1.0
喹诺酮类	达氟沙星	96.3	5.1	97.5	3.6	99.5	1.1
	沙拉沙星	99.7	4.2	95.9	5.2	79.7	3.9
	恩诺沙星	100.0	3.9	98.7	0.6	94.6	2.3
	环丙沙星	73.3	1.4	76.5	2.3	89.8	2.0
	洛美沙星	88.5	3.3	88.2	1.4	91.4	8.9
	培氟沙星	86.7	4.7	93.8	0.4	95.1	1.8

续表 6

类别	名称	加标质量分数 1 μg/kg		加标质量分数 5 μg/kg		加标质量分数 10 μg/kg	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
糖皮质激素类	地塞米松	100.0	4.6	91.9	12.9	62.1	16.7
大环内酯类	替米考星	-	-	98.4	9.4	98.2	6.6
	红霉素	118.3	5.9	104.9	3.4	110.4	1.8

注:“-”为未检出。

表 7 生鲜猪肉 20 种兽药残留检测结果

Table 7 Detection results of 20 drugs in meat

类别	名称	阴性对照	阳性添加	超市					农贸市场				
				1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
β-受体激动剂类	沙丁胺醇	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	莱克多巴胺	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	特布他林	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	克伦特罗	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	妥布特罗	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	氯丙那林	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
磺胺类	磺胺甲恶唑	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	磺胺甲氧嘧啶	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	磺胺二甲嘧啶	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	磺胺喹噁啉	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
砒类抑制剂	氨基砒	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
喹诺酮类	达氟沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	沙拉沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	恩诺沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	环丙沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	洛美沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	培氟沙星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
糖皮质激素类	地塞米松	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
大环内酯类	替米考星	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	红霉素	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注:“-”为未检出,“+”为检出。

方法简便快捷,检测效率提高。

作者试验 20 种兽药残留的检出限可达到 0.5~5.0 μg/kg, 其中喹诺酮类和大环内酯类兽药残留的检出限分别低于国家现行有效标准 GB/T 21312-2007 和出入境检疫行业标准 SN/T 1777.2-2007 中规定的 1~3 μg/kg^[25]和 20 μg/kg^[26];磺胺类兽药残留的检出限能达到现行有效检测方法农业部 1025 号

公告中规定的 0.5 μg/kg^[27]。低、中、高 3 个浓度水平的加标回收率在 62.1%~118.3%, 均在国家现行有效标准 GB/T 27404-2008 中规定的 60%~120% 内^[28],RSD 为 0.4%~16.7%,表明该方法具有良好的准确度和精密性。该方法在实际应用中,检测效果良好,可用于猪肉样品中多种兽药残留的高通量快速检测。

参考文献:

- [1] 陈敏艳,王香敏,朱弘,等. 畜禽产品兽药残留危害现状与分析[J]. 动物医学进展,2012,33(9):109-112.
- [2] 郭欣妍,王娜,许静,等. 兽药抗生素的环境暴露水平及其环境归趋研究进展[J]. 环境科学与技术,2014,37(9):76-86.
- [3] 左晓磊,韩爱云,李云,等. 畜产品安全与毒害物质残留研究进展[J]. 中国兽药杂志,2006,40(7):46-50.

- [4] 高静荐. 兽药残留对动物性食品安全影响分析[J]. 中国畜禽种业, 2018, 14(10): 50.
- [5] 钱鸣蓉, 章虎, 吴俐勤, 等. 固相萃取样品 - 高效液相色谱 - 串联质谱法快速测定蜂蜜中 26 种抗生素[J]. 理化检验(化学分册), 2010, 46(9): 1093-1095.
- [6] 杨友林, 陈明生. 兽药残留对人类的危害[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2016, 32(1): 238.
- [7] 余欢. 动物可食性组织中兽药多残留检测关键技术研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [8] 蒋文晓. 动物性食品中喹啉咪类药物代谢物和磺胺类-喹诺酮类药物多残留免疫分析方法研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [9] 农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [10] ADRIANA F, MARCUS V N. Simultaneous separation of five fluoroquinolone antibiotics by capillary zone electrophoresis[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 579(2): 185-192.
- [11] 罗昭军, 严寒, 刁培渊, 等. 高效液相色谱法检测牛肉中 3 类 12 种兽药残留的研究[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2018, 34(6): 111-113.
- [12] VICTORIA F, ELENI A. Direct determination of five fluoroquinolones in chicken whole blood and in veterinary drugs by HPLC [J]. *Journal of Separation Science*, 2005, 28(4): 325-331.
- [13] XU F, REN K, YANG Y Z, et al. Immunoassay of chemical contaminants in milk [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14(11): 2282-2295.
- [14] WANG G, ZHANG H C, LIU J, et al. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk[J]. *Analytical Biochemistry*, 2019, 564(1): 40-46.
- [15] LI Y S, LIU K L, BEIER R C, et al. Simultaneous determination of mequinox, quinocetone, and their major metabolites in chicken and pork by UPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2014, 160(6): 171-179.
- [16] 熊春兰, 郭平, 占春瑞, 等. 高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定水产品中 8 类 38 种兽药残留[J]. 分析测试学报, 2013, 32(2): 193-198.
- [17] 胡佳丽, 刘小雷, 于东升. 动物源食品中 β -内酰胺类抗生素残留的检测现状[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(1): 226-231.
- [18] 唐炜, 李龙飞. 固相萃取 - HPLC 法检测食品中四种磺胺类兽药残留[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(18): 62-65.
- [19] 滕爽, 吕青晏, 沈娟, 等. 超高效液相色谱法检测猪肉及其制品中的磺胺类及氟喹诺酮类兽药残留 [J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(7): 263-268.
- [20] SHAO B, JIA X F, ZHANG J, et al. Multi-residual analysis of 16 β -agonists in pig liver, kidney and muscle by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2008, 114(3): 1115-1121.
- [21] 宋跃进. 动物源性食品中兽药残留检测的绿色高效样品前处理技术研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2017.
- [22] 付体鹏. 猪样品中 20 种禁用兽药质谱检测方法的优化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [23] YAMADA R, KOZONO M, OHMORI T, et al. Simultaneous determination of residual veterinary drugs in bovine, porcine, and chicken muscle using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2006, 70(1): 54-65.
- [24] 姚文生, 万建青, 王利永, 等. 关于我国动物源性食品安全监管问题的思考[J]. 中国动物检疫, 2009, 26(5): 25-26.
- [25] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1777.2-2007 动物源性食品中大环内酯类抗生素残留测定方法-第 2 部分: 高效液相色谱串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [27] 农业部. 动物源食品中磺胺类药物残留检测 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [28] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.