

超高效液相色谱串联质谱法测定蔬菜中 31种抗生素

龚蕾^{1,2}, 韩智^{1,2}, 曹琦^{1,2}, 黄宗骞^{1,2}, 彭青枝^{1,2*}

(1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉 430075;

2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 武汉 430075)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定蔬菜中31种抗生素药物的分析方法。**方法** 样品经Na₂EDTA-Mellvaine缓冲盐和1%甲酸-乙腈(V/V)提取, 无水硫酸钠及氯化钠脱水盐析, C₁₈粉末净化, 以乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相进行梯度洗脱, 采用正离子扫描, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式, 使31种目标化合物在C₁₈色谱柱上分离, 外标法定量。**结果** 31种目标化合物在2.0~200 ng/mL范围内线性关系良好, 相关系数均大于0.99, 方法检出限为0.5~2.0 μg/kg, 定量限为1.5~6.0 μg/kg。各种目标化合物在3个添加水平(8、20和50 μg/kg)下的回收率为76.6%~116.3%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) ($n = 6$)为2.2%~6.4%。**结论** 该方法操作简单、净化效果好, 适用于蔬菜中抗生素的快速检测。

关键词: 超高效液相色谱串联质谱法; 蔬菜; 抗生素

Simultaneous determination of 31 kinds of antibiotics in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

GONG Lei^{1,2}, HAN Zhi^{1,2}, CAO Qi^{1,2}, HUANG Zong-Qian^{1,2}, PENG Qing-Zhi^{1,2*}

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China; 2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 31 antibiotics in vegetables by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** Samples were extracted with Na₂EDTA-Mellvaine buffer salt and 1% formic acid acetonitrile (V/V), salted out with anhydrous sodium sulfate and sodium chloride, and then purified by C₁₈ powder. The 31 compounds were separated on a C₁₈ column by the gradient elution using acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate as mobile phase, detected by positive mode in multiple reaction monitoring (MRM) mode, and finally quantified by external standard method. **Results** The correlation coefficients r^2 of the 31 compounds were all above 0.99 in the mass concentration range from 2.0–200 ng/mL. The limits of detection and the limits of quantification of the method were 0.5–2.0 μg/kg and 1.5–6.0 μg/kg, respectively. The recoveries spiked at 3 levels (8, 20 and 50 μg/kg) in matrix ranged from 76.6% to

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602302)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Plan (2018YFC1602302)

*通信作者: 彭青枝, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 1415720863@qq.com

*Corresponding author: PENG Qing-Zhi, Senior Engineer, Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China. E-mail: 1415720863@qq.com

115.4%, with the relative standard deviations (RSDs) 2.2%-6.4% ($n=6$). **Conclusion** This method is easy to operate and with good purification effect, which is suitable for the rapid determination of the antibiotics in vegetables

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; vegetables; antibiotics

0 引言

抗生素作为新型环境污染物引发的环境问题逐渐引发人们的重视,但是对植物性食品中抗生素残留的认识明显不足^[1]。研究证明累积在土壤中的兽用抗生素可向植物体内富集,易吸收抗生素的植源性食物有玉米、大麦、豌豆、小麦、胡萝卜、马铃薯、黄瓜、莴苣等^[2-5]。研究蔬菜中抗生素残留的风险问题已成为一个重要课题。

在珠三角地区采集的“无公害蔬菜”样品中,共检测四环素类、喹诺酮类和磺胺类 16 种抗生素,其中大部分抗生素都有不同程度检出,各样品均至少检出 1 种抗生素,大白菜抗生素总含量最高,达到 48.99 $\mu\text{g}/\text{kg}$,油麦菜中抗生素总含量最低,但仍有 1.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[6];在广州采集的 8 种蔬菜中,除苦瓜外,其它蔬菜均检出磺胺类抗生素,总含量为 0.380~2.236 mg/kg ^[7];吴小莲等^[8]在对 9 种蔬菜中 4 种喹诺酮类抗生素残留量进行检测,发现在马铃薯、胡萝卜、苦瓜、上海青、生菜、油菜、苋菜、油麦菜和葱中均有喹诺酮被检出,喹诺酮总含量为 1.11~190 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中苦瓜中环丙沙星和恩诺沙星的总含量为 190 $\mu\text{g}/\text{kg}$,超过了我国动物性食品中最高残留限量(100 $\mu\text{g}/\text{kg}$);姚圆等^[9]在对块根类、叶菜类和瓜果类蔬菜中四环素类抗生素的检测时发现,检测的 9 种蔬菜中,除冬瓜未检出四环素外,其余蔬菜中均检出土霉素和四环素^[9];HU 等^[10]采集有机蔬菜基地的 4 种蔬菜,并检测了叶、茎和根中磺胺类、四环素类、喹诺酮类、林可霉素和氯霉素共 11 种抗生素的含量,除了环丙沙星没有在蔬菜中检测到,其余蔬菜中抗生素的含量在 0.1~532 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内,另外,蔬菜中抗生素含量与其污染程度有关,有机菜地的蔬菜中抗生素含量是常规菜地的 4 倍,冬季蔬菜中抗生素的含量明显高于夏季。

目前,美国、欧盟等国家和地区已在动物源食品中制定了最大残留限量及检测方法^[11-12]。在我国,动物源食品中最大残留限量和检测方法也早已制定^[13]。但是对于植物源食品中的抗生素没有制定最大残留限量和配套的检测方法。本研究参照农业部 1077 号公告—1—2008^[14]、GB/T 21317—2007《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》^[15],根据磺胺类、喹诺酮类以及四环素族抗生素的结构特点,参考各类药物已有的提取及净化方法,采用超高效液相色谱串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS),通过日常实验,优化检测方法,开发出一种能同时检测蔬菜中 3 大类抗生素的快

速检测方法,以期实现对植源性食品中多组分的低含量抗生素进行同时测定。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器与试剂

Triple Quad 4500 液相色谱-串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); N-EVAP TM 氮吹仪(美国 Organomation 公司); Allegra X-15R 离心机(美国贝克曼公司); ME204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); 2600T 超声清洗机(上海安谱科学仪器有限公司); 230VOLT 涡旋混合器(美国 TALBOYS 公司)。

标准品: 甲氧苄啶、磺胺嘧啶、磺胺甲噁啶、磺胺二甲噁啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹恶啉、磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺噻唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺苯吡啶、磺胺二甲异恶唑、磺胺甲二唑、磺胺甲氧嗪、氧氟沙星、培氟沙星、诺氟沙星、洛美沙星、环丙沙星、恩诺沙星、达氟沙星、沙拉沙星、氟甲喹、土霉素、金霉素、四环素、多西环素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司)。

乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 无水硫酸钠、氯化钠、十二水合磷酸二氢钠、乙二酸四乙酸钠、氢氧化钠、盐酸(分析纯, 国药集团); 0.22 μm 水系滤膜(天津津滕公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

1.1.2 样品来源

豆芽、黄瓜、番茄、茄子、毛白菜、豇豆、芹菜等 48 份样品购自武汉市红金堂批发市场。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

标准品混合液(2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确移取质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准品各 500 μL 于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈定容到 25.00 mL, 于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

标准曲线工作液: 用 0.1%甲酸-乙腈溶液稀释混合中间液, 配制系列标准曲线为 2.0、5、20、50、100、150、200 ng/mL 。

Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲盐(0.1 mol/L): 称取 10.92 g 十二水合磷酸二氢钠, 12.93 g 柠檬酸, 37.23 g 乙二胺四乙酸二钠, 溶解于 1 L 水中, 摇匀后用 0.1 mol/L 盐酸溶液或氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0 \pm 0.05。

1.2.2 样品前处理

准确称取 10.00 g(准确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管

中, 加入 $\text{Na}_2\text{EDTA-Mcllvaine}$ 缓冲盐 5 mL, 涡旋振荡 30 s, 超声提取 10 min, 4500 r/min 离心 5 min, 上清液转移到另外一个离心管中, 残渣中加 20.0 mL 1%甲酸-乙腈, 涡旋振荡混匀 2 min, 离心, 合并 2 次滤液。向滤液中加入 10 g 无水硫酸钠和 2 g 氯化钠, 涡旋振荡混匀, 4500 r/min 离心 5 min。取 10 mL 上清液于 15 mL 离心管中, 加入 C_{18} 粉末 100 mg, 涡旋 1 min, 4500 r/min 离心 3 min, 将液体全部转移到另外一个 15 mL 离心管中, 40 °C 氮吹至近干, 用初始流动相定容至 2.0 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜, 供 UPLC-MS/MS 待测。

1.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

沃特世 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm), 流动相: 5 mmol/L 乙酸铵水溶液(A)-乙腈(B), 流速: 0.3 mL/min, 进样体积: 2 μL , 柱温: 35 °C。液相色谱梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 5% B; 0.5~4.0 min, 5%~10% B; 4.0~6.0 min, 10% B; 6.0~12.0 min, 10%~90% B; 12.0~13.0 min, 90% B; 13.0~13.1 min, 90%~5% B; 13.1~15 min, 5% B。

(2) 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI); 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 电喷雾电压 5500 V; 离子源温

度: 500 °C; 气帘气压力: 35 psi; 碰撞气: 9 psi; 雾化器压力: 50 psi; 辅助气压力: 50 psi; 入口电压: 10.0 V; 碰撞室出口电压: 6 V。

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

为获得 31 种化合物最佳灵敏度和分离效果, 对质量浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 31 种化合物单标溶液依次采取蠕动泵注射的方式进行一级质谱扫描。实验结果显示在正离子模式下, 31 种化合物均形成稳定的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 峰。为了得到响应值高, 稳定性好的子离子, 优化了质谱参数, 表 1 为优化后的主要质谱参数。31 种化合物中有 3 对同分异构体, 分别是母离子为 281 的磺胺间甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶; 母离子为 311 的磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶; 母离子为 445 的四环素和强力霉素, 这 3 对同分异构体中存在母离子、子离子均相同的化合物, 因此需优化色谱条件将其完全分离。图 1 为优化后 31 种抗生素的多反应监测离子色谱图, 其中磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶的保留时间分别为 4.94、5.50、6.87 min; 磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶的保留时间分别为 7.84、8.84 min; 四环素和强力霉素的保留时间分别为 6.47、8.56 min。

表 1 31 种化合物的定性离子、定量离子、去簇电压和碰撞能量

Table 1 Qualitative ion, quantitative ion, cone voltage and collision energy of 31 compounds

化合物名称	扫描模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
甲氧苄啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	291	230 ^a ; 261 ^b	80	33/35
磺胺嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	251	156 ^a ; 108 ^b	80	24/35
磺胺甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	265	156 ^a ; 172 ^b	80	25/24
磺胺二甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279	156 ^a ; 186 ^b	80	26/25
磺胺间甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	281	156 ^a ; 108 ^b	80	25/37
磺胺氯哒嗪	$[\text{M}+\text{H}]^+$	285	156 ^a ; 108 ^b	80	22/35
磺胺邻二甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	311	156 ^a ; 108 ^b	80	25/40
磺胺甲恶唑	$[\text{M}+\text{H}]^+$	254	156 ^a ; 108 ^b	80	23/35
磺胺间二甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	311	156 ^a ; 108 ^b	80	25/40
磺胺噻恶啉	$[\text{M}+\text{H}]^+$	301	156 ^a ; 108 ^b	80	25/36
磺胺醋酰	$[\text{M}+\text{H}]^+$	215	156 ^a ; 108 ^b	80	24/30
磺胺吡啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	250	156 ^a ; 184 ^b	80	24/24
磺胺噻唑	$[\text{M}+\text{H}]^+$	256	156 ^a ; 108 ^b	80	24/35
磺胺对甲氧嘧啶	$[\text{M}+\text{H}]^+$	281	156 ^a ; 108 ^b	80	25/37
磺胺苯吡唑	$[\text{M}+\text{H}]^+$	315	156 ^a ; 222 ^b	80	30/30
磺胺二甲异恶唑	$[\text{M}+\text{H}]^+$	268	108 ^a ; 156 ^b	80	22/13

表 1(续)

化合物名称	扫描模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
磺胺甲二唑	[M+H] ⁺	271	156 ^a ; 108 ^b	80	22/35
磺胺甲氧嘧	[M+H] ⁺	281	156 ^a ; 108 ^b	80	25/37
氧氟沙星	[M+H] ⁺	362	318 ^a ; 261 ^b	70	36/38
培氟沙星	[M+H] ⁺	334	316 ^a ; 290 ^b	70	27/25
诺氟沙星	[M+H] ⁺	320	276 ^a ; 233 ^b	70	26/44
洛美沙星	[M+H] ⁺	352	365 ^a ; 308 ^b	70	33/28
环丙沙星	[M+H] ⁺	332	288 ^a ; 245 ^b	70	25/33
恩诺沙星	[M+H] ⁺	360	316 ^a ; 245 ^b	70	25/35
沙拉沙星	[M+H] ⁺	386	342 ^a ; 299 ^b	70	25/38
达氟沙星	[M+H] ⁺	358	340 ^a ; 283 ^b	70	24/22
氟甲喹	[M+H] ⁺	262	244 ^a ; 202 ^b	70	32/38
土霉素	[M+H] ⁺	461	426 ^a ; 443 ^b	80	27/18
四环素	[M+H] ⁺	445	410 ^a ; 427 ^b	80	27/18
金霉素	[M+H] ⁺	479	444 ^a ; 462 ^b	80	30/24
强力霉素	[M+H] ⁺	445	428 ^a ; 154 ^b	80	25/39

注: a: 定量离子; b: 定性离子。

2.2 前处理条件优化

2.2.1 提取条件优化

提取溶剂的选择是本研究的难点, 四环素类兽药很难与磺胺类、喹诺酮类兽药同时检测。本研究参照农业部 1077 号公告—1—2008^[14]中提取喹诺酮及磺胺类的提取方法、GB/T 21317—2007^[15]中提取四环素类的提取方法, 对比了不同提取方法对化合物的提取效果。考察了 1% 酸化乙腈、0.1 mol/L 麦氏缓冲盐、0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲盐-1% 酸化乙腈混合提取的效果。结果表明使用 1% 酸化乙腈提取时, 四环素回收率低于 10%, 用 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲盐可以很好提取四环素类, 但是磺胺类回收率低于 40%, 使用 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲盐-1% 酸化乙腈提取, 回收率能够满足要求。当提取溶剂中存在 Mg²⁺ 时四环素类药物回收率很低, 可能是因为无水硫酸镁对四环素类化合物有吸附, 因此无论是提取还是净化、除水, 均需避免引入 Mg²⁺, Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲盐中含有 Na₂EDTA, Na₂EDTA 是化学中一种良好的配合剂, 能与 Mg²⁺ 进行螯合, 提高四环素类药物的回收率^[16]。

经反复实验摸索, 本研究最终确定称样 10.00 g 时, 加 5 mL 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲盐提取第一次, 主要目的提取四环素类药物, 再用 20 mL 1% 甲酸-乙腈提取喹诺酮类和磺胺类药物。合并 2 次提取液后, 采用无水硫酸钠进行除水, 氯化钠进行盐析, 再经离心, 转移上清

液待净化。本研究还分析了下层水相 31 种抗生素的含量, 均未检出 31 种抗生素, 四环素类、喹诺酮类及磺胺类药物均分布在上层有机相中。

2.2.2 净化条件优化

蔬菜中的农药兽药残留检测常用到的净化剂包括 C₁₈、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)和石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)等, C₁₈ 和 PSA 用来消除蔬菜中的有机酸、色素及一些糖和脂肪酸, GCB 用来去除甾体、叶绿素等色素, 但对含苯官能团的化合物有较强吸附作用。本研究以芹菜为基质, 比较了不同质量的 PSA、C₁₈ 单独及组合使用对 31 种化合物的吸附情况。结果表明, PSA 对磺胺有明显的吸附作用, C₁₈ 对磺胺类和四环素类化合物吸附不明显, 对喹诺酮类药物吸附较少。综合净化与吸附作用, 考察了不同质量 C₁₈(0、20、40、50、80、100、200、500 mg)的净化效果, 结果表明 C₁₈ 的用量为 100 mg 时, 回收率能满足检测要求。

分别用乙腈和空白基质溶液配制相同质量浓度的标准溶液, 在相同色谱条件下测定, 按照基质效应(matrix effect, ME)=B/A×100%计算样品基质效应, 其中 B 为目标化合物在空白基质溶液中的响应值, A 为目标化合物在乙腈中的响应值, 并通过基质效应强弱来评价方法的净化效果。结果表明, C₁₈ 的加入能有效达到净化效果, 并发现在取上清液 10 mL 的条件下, 使用 100 mg C₁₈ 即能有效降低基质增强效应, 加大 C₁₈ 量对净化效果无显著性影响。

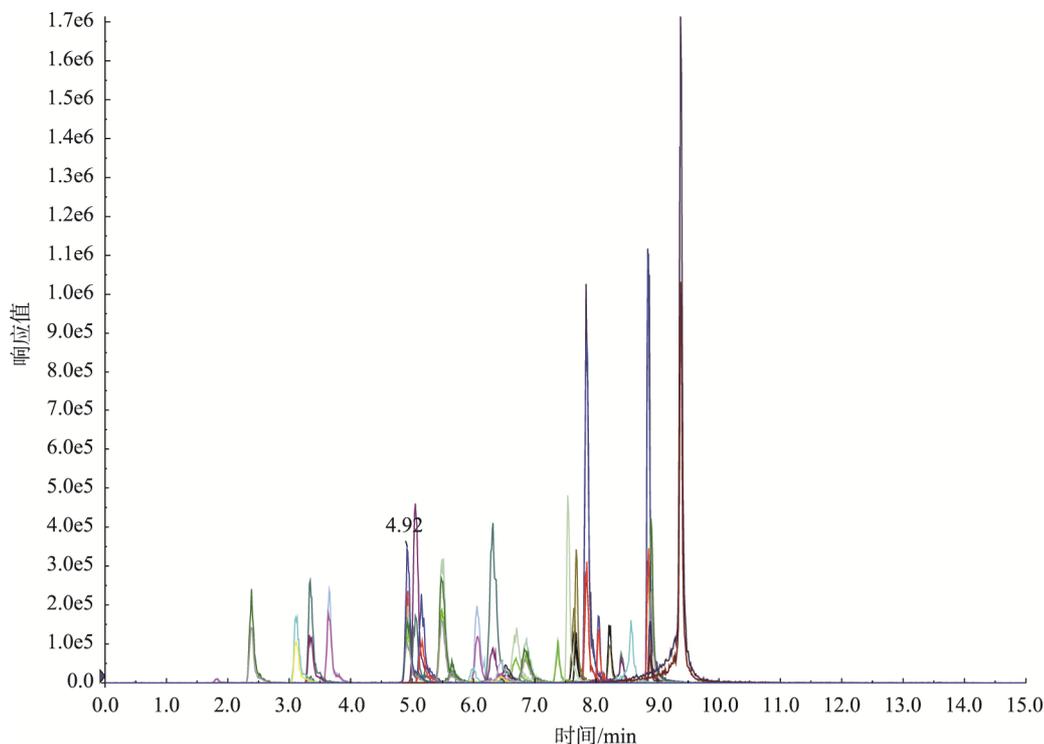


图 1 31 种化合物提取离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of 31 compounds

2.3 方法的线性范围、检出限、回收率及精密度实验

在空白样品中添加一系列质量浓度的目标化合物, 在 1.2 的条件下进行检测, 以目标物质量浓度为横坐标, 质谱定量峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得出 31 种农药在 2.0~200 ng/mL 范围内呈现出良好的线性关系, 相关系数 r^2 均大于 0.99, 以信噪比 $S/N=3$ 估算检出限, 以 $S/N=10$ 确定定量限, 31 种化合物检出限 (limit of detection, LOD) 为 0.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限 (limit of

quantitation, LOQ) 为 1.5~6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 方法灵敏度高。

以芹菜为基质分别添加标准溶液, 按照 1.2 实验方法进行样品前处理, 按高中低 3 水平对空白样品提取液进行添加, 每个添加水平平行测定 6 次, 计算平均回收率和相对标准偏差。各种目标化合物在 4 种基质中 3 个添加水平 (8.20 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 下的回收率为 76.6%~116.3%, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) ($n=6$) 为 2.2%~6.4%, 方法精密度较高。检出限、定量限及加标等信息具体结果见表 2。

表 2 31 种化合物的检出限、定量限及加标回收率
Table 2 LODs, LOQs and recoveries of 31 compounds

化合物名称	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	加标水平 (8.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		加标水平 (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		加标水 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	
			回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
甲氧苄啶	0.5	1.5	83.6	4.3	85.6	2.5	96.3	2.2
磺胺嘧啶	0.5	1.5	77.8	5.2	96.2	4.8	102.5	3.3
磺胺甲噁啶	0.5	1.5	83.2	4.5	84.4	4.3	89.3	3.5
磺胺二甲噁啶	0.5	1.5	76.6	2.6	79.3	2.8	86.3	2.3
磺胺间甲氧嘧啶	0.5	1.5	84.5	5.6	88.3	5.1	90.5	3.6
磺胺氯哒嗪	0.5	1.5	86.3	2.4	79.0	2.9	86.5	2.5
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.5	1.5	83.5	2.5	81.2	3.3	86.3	2.7
磺胺甲恶唑	0.5	1.5	102.5	4.2	89.9	2.8	95.1	3.3

表 2(续)

化合物名称	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标水平 (8.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		加标水平 (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		加标水 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	
			回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
磺胺间二甲氧嘧啶	0.5	1.5	83.6	6.2	77.5	4.5	93.3	3.5
磺胺喹恶啉	0.5	1.5	89.6	4.2	83.5	5.3	84.4	3.7
磺胺醋酰	1.0	3.0	116.3	4.5	111.1	5.4	89.3	3.6
磺胺吡啶	0.5	1.5	103.2	2.3	110.2	6.1	96.5	2.6
磺胺噻唑	0.5	1.5	89.7	2.2	79.6	3.1	89.1	2.2
磺胺对甲氧嘧啶	0.5	1.5	92.1	2.8	88.4	2.5	102.5	3.5
磺胺苯吡唑	1.0	3.0	96.2	3.6	92.1	2.6	93.2	2.8
磺胺二甲异恶唑	1.0	3.0	103.2	3.7	109.2	2.8	93.5	3.7
磺胺甲二唑	1.0	3.0	88.6	6.1	83.7	3.1	88.5	3.5
磺胺甲氧嗪	0.5	1.5	79.6	5.1	82.3	4.8	84.5	2.5
氧氟沙星	0.5	1.5	78.9	6.1	83.2	4.3	84.5	3.4
培氟沙星	0.5	1.5	96.5	5.5	92.3	3.5	92.5	2.8
诺氟沙星	0.5	1.5	105.6	4.8	115.4	3.3	106.3	3.9
洛美沙星	0.5	1.5	96.7	3.6	96.2	3.1	89.1	4.0
环丙沙星	1.0	3.0	86.7	3.6	91.2	3.0	92.5	1.8
恩诺沙星	0.5	1.5	112.3	4.5	108.9	4.0	103.6	4.8
沙拉沙星	1.0	3.0	102.5	2.5	102.8	2.8	93.5	2.6
达氟沙星	0.5	1.5	112.1	6.4	113.1	6.0	101.5	4.2
氟甲喹	0.5	1.5	96.5	5.3	86.9	3.0	88.9	3.5
土霉素	2.0	6.0	96.3	2.2	94.5	2.9	97.3	2.9
四环素	2.0	6.0	89.3	2.9	92.6	3.1	96.5	2.8
金霉素	2.0	6.0	112.4	6.2	108.9	3.8	96.4	3.3
强力霉素	2.0	6.0	105.8	6.1	106.9	5.5	104.4	4.8

2.4 实际样品测定

采用本方法对市售豆芽、黄瓜、番茄、茄子、毛白菜、豇豆、芹菜等 48 份样品进行测试,结果用平行测定的算术平均值表示。结果显示检出恩诺沙星 2 批次,均为豆芽,含量分别为 4.58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 227 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其他蔬菜中未检出 31 种抗生素。

3 结论

本研究建立了同时测定蔬菜中 31 种抗生素残留的 UPLC-MS/MS 检测方法。该方法灵敏度高、重现性好,经过系列方法学验证,结果表明 31 种目标化合物在 2.0 ~ 200 ng/mL 范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.99,方

法检出限为 0.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 1.5~6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。各种目标化合物在低、中、高 3 个添加水平(8、20 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)下的回收率为 76.6%~116.3%,RSDs 为 2.2%~6.4%。实际样品的检测结果表明豆芽中存在恩诺沙星残留的现象,应给予高度关注。该方法操作简单、净化效果好,适用于蔬菜中四环素类、磺胺类、喹诺酮类抗生素的快速检测,为蔬菜中多种抗生素残留情况提供食品安全风险评估数据支撑,对政府监管部门具有重要的实际意义和社会效益。

参考文献

- [1] 齐鹤鸣, 严华, 张雷, 等. 农作物中抗生素检测技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 5098-5103.
 QI HM, YAN H, ZHANG L, *et al.* Research progress in determination

- methods of antibiotics residues in plants [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(15): 5098–5103.
- [2] 章明奎, 徐秋桐. 农田系统中兽用抗生素的污染及其行为研究进展[J]. *浙江农业学报*, 2013, 25(2): 416–424.
ZHANG MK, XU QT. Review on pollution and behavior of veterinary antibiotics in agricultural system [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2013, 25(2): 416–424.
- [3] 王冲, 罗义, 毛大庆. 土壤环境中抗生素的来源、转归、生态风险以及消减对策[J]. *环境化学*, 2014, 33(1): 19–29.
WANG C, LUO Y, MAO DQ. Sources, fate, ecological risks and mitigation strategies of antibiotics in the soil environment [J]. *Environ Chem*, 2014, 33(1): 19–29.
- [4] TASHO RP, CHO JY. Veterinary antibiotics in animal waste, its distribution in soil and uptake by plants: A review [J]. *Sci Total Environ*, 2016, (563): 366–376.
- [5] BOXALL ABA, JOHNSON P, SMITH EJ, *et al.* Uptake of veterinary medicines from soils into plants [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(6): 2288–2297.
- [6] 吴小莲, 向垒, 莫测辉, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱测定蔬菜中喹诺酮类抗生素[J]. *分析化学*, 2013, 41(6): 876–881.
WU XL, XIANG L, MO CH, *et al.* Determination of quinolones in vegetables using ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(6): 876–881.
- [7] 包艳萍, 李彦文, 莫测辉, 等. 固相萃取-高效液相色谱法分析蔬菜中 6 种磺胺类抗生素[J]. *环境化学*, 2010, 29(3): 513–518.
BAO YP, LI YW, MO CH, *et al.* Determination of six sulfonamide antibiotics in vegetables by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Environ Chem*, 2010, 29(3): 513–518.
- [8] 吴小莲, 包艳萍, 向垒, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中 8 种磺胺类抗生素[J]. *环境化学*, 2013, 32(6): 1038–1044.
WU XL, BAO YP, XIANG L, *et al.* Simultaneous determination of eight sulfonamide antibiotics in vegetables using solid phase extraction and high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *Environ Chem*, 2013, 32(6): 1038–1044.
- [9] 姚圆, 莫测辉, 李彦文, 等. 固相萃取-高效液相色谱法分析蔬菜中四环素类抗生素[J]. *环境化学*, 2010, 29(3): 536–541.
YAO Y, MO CH, LI YW, *et al.* Determination of tetracyclines in vegetables using solid phase extraction and HPLC with fluorescence detection [J]. *Environ Chem*, 2010, 29(3): 536–541.
- [10] HU XG, ZHOU QX, LUO Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China [J]. *Environ Pollut*, 2010, 158(9): 2992–2998.
- [11] European Commission. No 37/2010 pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin [EB/OL]. [2020-09-07]. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1588040271924&uri=CELEX:32010R0037>.
- [12] WHO/FAO. CX/MRL 2-2018 maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods [EB/OL]. [2020-09-07]. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/zh>.
- [13] 中华人民共和国农村部. 中华人民共和国公告第 235 号[EB/OL]. [2020-09-07]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304_1028649.htm.
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Notice No.235 of the People's Republic of China [EB/OL]. [2020-09-07]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304_1028649.htm.
- [14] 中华人民共和国农村部. 中华人民共和国公告第 1077 号[EB/OL]. [2008-09-20]. http://www.moa.gov.cn/nybgb/2008/djiuq/201806/t20180611_6151661.htm.
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Notice No.1077 of the People's Republic of China [EB/OL]. [2008-09-20]. http://www.moa.gov.cn/nybgb/2008/djiuq/201806/t20180611_6151661.htm.
- [15] GB/T 21317—2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法[S].
GB/T 21317—2007 Determination of tetracyclines residues in animal derived foods-Liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry and high performance liquid chromatography [S].
- [16] 郭海霞, 肖桂英, 张禧庆, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 121 种兽药[J]. *色谱*, 2015, 33(12): 1242–1250.
GUO HX, XIAO GY, ZHANG XQ, *et al.* Simultaneous determination of 121 veterinary drugs in pork by QuEChERS and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(12): 1242–1250.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



龚 蕾, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: gonglei406@163.com

彭青枝, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1415720863@qq.com