

QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法快速测定 鸡肉中36种兽药残留

邵丽^{1*}, 董耀¹, 王晓¹, 徐淑飞²

(1. 枣庄海关, 枣庄 277100; 2. 蓬莱海关, 蓬莱 265600)

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定鸡肉中 36 种兽药残留的检测方法。**方法** 鸡肉样品采用酸化乙腈提取后, 加入 1 g NaCl、4 g NaSO₄, 盐析后取上清液, 用 PSA 50 mg、C₁₈ 150 mg、NaSO₄ 900 mg 净化后, 采用 Waters C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 在三重四极杆正离子反应监测模式下(multiple reaction monitoring, MRM)测定, 基质标准曲线结合内标法定量。**结果** 磺胺类和喹诺酮类药物在 0.1~50.0 μg/L 质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r^2 均大于 0.995。在添加量为 1.0、2.0、10.0 μg/kg 时, 回收率分别为 86.3%~110.6%、89.7%~106.9%, 相对标准偏差分别为 2.1%~6.6%、2.7%~6.5%。**结论** 建立的方法精密度高、准确度较高、选择性好、操作简便, 适用于鸡肉中 36 种兽药残留的日常监测。**关键词:** QuEChERS; 高效液相色谱-串联质谱法; 磺胺类; 喹诺酮类; 鸡肉

Rapid detection of 36 kinds of veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHAO Li^{1*}, DONG Yao¹, WANG Xiao¹, XU Shu-Fei²

(1. Zaozhuang Customs, Zaozhuang 277100, China; 2. Penglai Customs, Penglai 265600, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination for 36 kinds of veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** Chicken samples were extracted with acid acetonitrile, salting out, and then the organic phase were cleaned by PSA 50 mg、C₁₈ 150 mg、NaSO₄ 900 mg. A Waters C₁₈ Column (100 mm×2.1 mm, 1.7μm) was used for separation, ESI positive ion scan was used with multiple reaction monitoring (MRM) mode and quantified by matrix-matched internal standard method. **Results** The linear relationship between the concentration of sulfonamide and quinolones in the concentration range of 0.1–50.0 μg/L was good, and the correlation coefficient r^2 was higher than 0.995. The recoveries were 86.3%–110.6%, 89.7%–106.9% when the dosage was 1.0, 2.0, 10.0 μg/kg, the relative standard deviations (RSD) were 2.1%–6.6%, 2.7%–6.5%. **Conclusion** The method has the advantages of high precision, high accuracy, good selectivity, simple operation, and can be used for the daily monitoring of the 36 kinds of veterinary drug residues in chicken.

KEY WORDS: QuEChERS; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; sulfonamides; quinolones; chicken

*通信作者: 邵丽, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 254726727@qq.com

*Corresponding author: SHAO Li, Master, Engineer, Zaozhuang Customs, No.77, Jialingjiang Road, Xuecheng District, Zaozhuang 277100, China. E-mail: 254726727@qq.com

0 引言

20世纪以来,我国养殖业蓬勃发展,禽产品在国民饮食中占据重要地位,在世界产业结构中具有不可替代的地位。据国家统计局数据,2017—2019年中国禽肉人均需求量逐年增加,2018年中国禽肉人均需求量为14.3 kg,同比增长4.95%;2019年中国禽肉人均需求量为16.2 kg,同比增长13.41%。禽产品生产规模总量不断上升的同时,质量安全问题越来越受到政府和消费者的重视^[1]。

吕冰峰等^[2]汇总2018年畜禽肉国家食品安全监督抽检结果,对不同种类畜禽肉及其不合格项目等信息进行分析,结果表明氯霉素、磺胺类总量、土霉素、多西环素(强力霉素)、氧氟沙星、恩诺沙星等兽药违规使用问题比较突出。我国2019年发布的GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》明确规定在动物性食品中磺胺总量和喹诺酮类兽药最高残留限量(maximum residue limit, MRL)为0.1 mg/kg。目前测定动物源性食品中兽药残留检测方法有液相色谱法^[3-6]、液相色谱质谱联用法等方法^[7-10],检测标准有GB/T 20366—2006《动物源产品中喹诺酮类残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》、农业部1025号公告-23-2008《动物源食品中磺胺类药物残留检测》,这些方法及标准中样品前处理方法耗时长,提取效率低、有机溶剂损耗大、成本高,不能满足兽药残留快速检测需求。QuEChERS方法作为快速、简便、有效、安全的方法^[11-15],具有省时省力、分离高效、准确可靠的优点,在兽药残留检测中有着广泛的应用^[16-19]。

本研究采用QuEChERS方法对鸡肉样品进行前处理,处理后采用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法分别对鸡肉中的15种磺胺类和11种喹诺酮类兽药残留进行检测,以期对鸡肉中36种兽药残留的日常监测提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC-MS8040 三重四极杆液相色谱质谱联用仪(日本岛津公司); PT-MR1600E 均质仪(美国 Polytron Devices 公司); Lab Dancer 涡旋振荡仪(德国 IKA 公司); 5804R 高速冷冻离心机(德国艾本德公司); Milli-Q Reference 高纯水发生器(美国 Millipore 公司)。

甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司); 无水 MgSO₄、NaCl(分析纯,中国医药集团); N-丙基乙二胺吸附剂(primary secondary amine, PSA)、十八烷基键合硅胶吸附剂(C₁₈) (美国 Supelco 公司); 36种标准物质(质量浓度为100 μg/mL,北京坛墨质检科技有限公司); 磺胺间二甲氧嘧啶-D₆、磺胺邻二甲氧嘧啶-D₃(质量浓度为100 mg/L)、诺氟沙星-D₅、环丙沙星-D₈、恩诺沙星-D₅溶液(质量浓度

为50 mg/L)(农业部农产品质量标准研究中心); 实验用水为 Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理

称取2.00 g(精确至0.01 g)的均匀试样,置于50 mL 塑料离心管中,准确加入混合内标工作液20 μL。加入4 mL 蒸馏水,浸润30 min后,加入10 mL 1%乙酸乙腈溶液,振荡提取15 min,加入1 g NaCl、4 g NaSO₄,振荡5 min,10000 r/min 离心10 min。盐析后取上清液6 mL,加入PSA 50 mg、C₁₈ 150 mg、NaSO₄ 900 mg 振荡5 min,10000 r/min 离心5 min。净化后取上清液5 mL,氮吹至近干,加入流动相定容至1 mL,过0.22 μm 滤膜后,上机测定。

1.2.2 标准溶液配制

内标溶液用甲醇分别配制成质量浓度为10.0 μg/mL 的标准储备液(-18 °C避光存放),将内标储备液用甲醇稀释,配成磺胺类、喹诺酮类质量浓度为1.0 μg/mL 的混合标准中间液(-18 °C避光存放)。

磺胺类和沙星类兽药分别用甲醇配成1.0 μg/mL 的混合标准溶液(-18 °C避光存放),采用空白样品基质液稀释混合标准工作液和内标中间液,用甲醇配制成0.1、1.0、5.0、10.0、50.0 μg/L(混合同位素内标为10 μg/L)的标准曲线系列溶液。

1.2.3 定量测定

按优化后的仪器色谱、质谱条件,将混合标准工作溶液和样液等体积进样测定,氧氟沙星、诺氟沙星、培氟沙星、依诺沙星以诺氟沙星-D₅为内标;环丙沙星、诺美沙星、达氟沙星、双氟沙星以环丙沙星-D₈为内标;恩诺沙星、沙拉沙星、司帕沙星以恩诺沙星-D₅为内标;磺胺噻唑啉和磺胺间二甲氧嘧啶以磺胺间二甲氧嘧啶-D₆为内标;磺胺醋酰、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺恶唑、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺甲噻唑、磺胺苯吡啶以磺胺邻二甲氧嘧啶-D₃为内标,内标法定量,定量离子采用丰度最大的二级特征离子碎片。

2 结果与分析

2.1 样品前处理方法的优化

丙酮、乙腈、甲醇通常用作 QuEChERS 方法样品前处理提取溶剂^[20],乙腈的通用性较强,在提取兽药极性范围和选择性上明显优于其他2种溶剂,并能消除脂质效应或使其最小化。在乙腈中添加甲酸和乙酸能使提取环境呈酸性,从而提高提取效率。根据化合物性质,分别以乙腈、1%乙酸乙腈、2%乙酸乙腈、5%乙酸乙腈溶液作为提取溶剂,通过添加回收率实验发现,鸡肉样品经1%乙酸乙腈溶液提取,回收率最好。

常用的盐析剂包括 MgSO₄、MgCl₂、NaCl、NaSO₄。本研究分别对此进行了分析比较。结果表明, MgSO₄ 和

NaCl 共同使用时, 提取效率最高。另外, QuEChERS 方法在净化过程中, 常用 PSA、GCB、 C_{18} , C_{18} 能有效去除鸡肉样品基质中的脂肪和部分蛋白的干扰, PSA 能有效去除鸡肉样品中的脂肪酸和有机物的干扰。通过对 PSA、 C_{18} 的用量进行对比, 结果表明加入无水 $MgSO_4$ 300 mg、PSA 150 mg、 C_{18} 50 mg 时, 15 种磺胺类兽药和 11 种喹诺酮类兽药的平均回收率分别为 86.3%~110.6%、89.7%~106.9%。

2.2 液相色谱条件的选择

2.2.1 进样量的选择

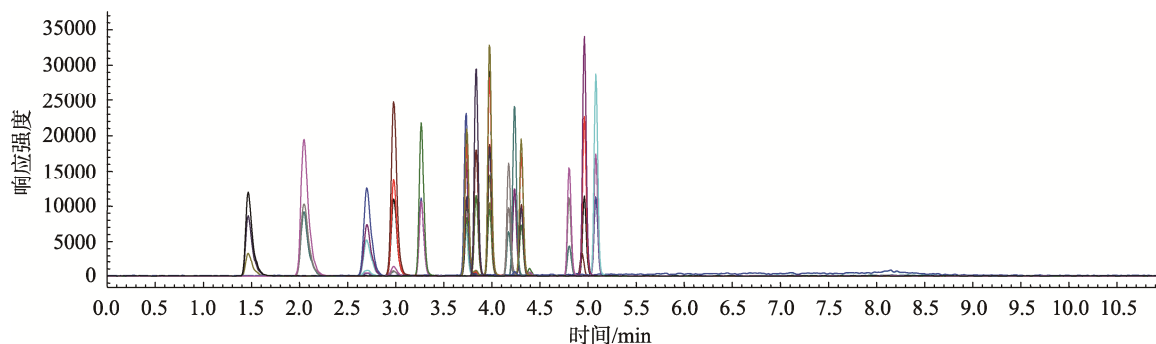
实验分别选择进样 1、5、10 μL , 发现进样量 10 μL 时, 15 种磺胺类、11 种喹诺酮类标准物质色谱峰型较好, 且灵敏度较高。当进样量为 10 μL 时 36 种兽药平均峰面积分别为进样量 1、5 μL 时峰面积的 3.5、13.4 倍, 因此, 进样

量选择 10 μL 。2 类兽药混合标准溶液在 MRM 模式下的总离子流图见图 1、图 2。

2.2.2 流动相的选择

在流动相中加入甲酸可以在电喷雾正离子模式时提供 H^+ , 提高电离效果, 所以选择在流动相中加入 0.1% 的甲酸。在流动相的有机相选择时考察了甲醇、乙腈两种情况, 发现 15 种磺胺类兽药采用甲醇, 11 种喹诺酮类兽药采用乙腈时色谱峰分离度 R 均大于 2, 满足其定量分析的需求。综合考率, 最终确定的液相色谱条件如下:

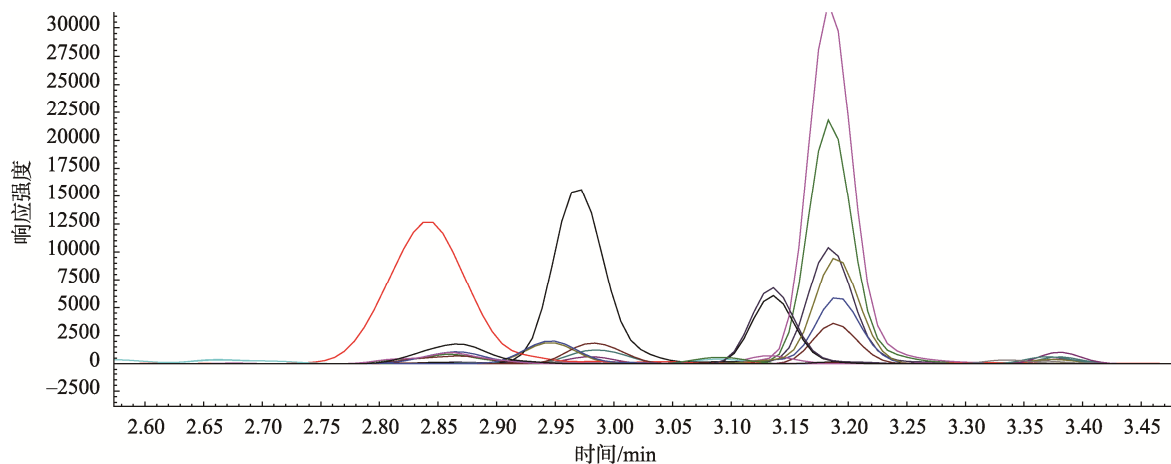
色谱柱: Waters C_{18} (100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)。15 种磺胺类兽药检测流动相: B: 甲醇、A: 0.1% 甲酸溶液; 11 种喹诺酮类兽药检测流动相: B: 乙腈、A: 5 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸溶液, 梯度洗脱, 详见表 1。柱温: 40 $^{\circ}C$; 进样量: 10.0 μL ; 流速: 0.4 mL/min。



注: 峰 1: 磺胺醋酰(1.482 min); 峰 2: 磺胺嘧啶(2.057 min); 峰 3: 磺胺噻唑(2.701 min); 峰 4: 磺胺吡啶(2.984 min); 峰 5: 磺胺甲基嘧啶(3.276 min); 峰 6: 磺胺恶唑(3.734 min); 峰 7: 磺胺二甲嘧啶(3.842 min); 峰 8: 磺胺间甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪(4.041 min); 峰 9: 磺胺氯哒嗪(4.183 min); 峰 10: 磺胺甲噻唑(4.232 min); 峰 11: 磺胺邻二甲氧嘧啶- D_3 (4.397 min); 峰 12: 磺胺苯吡唑(4.807 min); 峰 13: 磺胺间二甲氧嘧啶- D_6 (4.943 min); 峰 14: 磺胺间二甲氧嘧啶(4.996 min); 峰 15: 磺胺喹噁啉(5.090 min)。

图 1 质量浓度为 1 $\mu g/L$ 的 15 种磺胺类兽药混合标准溶液在 MRM 模式下的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram for a mixed standard solution of the 15 kinds of sulfonamides veterinary drug (1 $\mu g/L$) in MRM mode



注: 峰 1: 依诺沙星(2.630 min); 峰 2: 诺氟沙星- D_5 (2.834 min); 峰 3: 诺氟沙星(2.857 min); 峰 4: 氧氟沙星(2.863 min); 峰 5: 培氟沙星(2.935 min); 峰 6: 环丙沙星- D_8 (2.957 min); 峰 7: 环丙沙星(2.975 min); 峰 8: 洛美沙星(3.076 min); 峰 9: 达氟沙星(3.124 min); 峰 10: 恩诺沙星(3.185 min); 峰 11: 沙拉沙星(3.327 min); 峰 12: 双氟沙星(3.358 min); 峰 13: 司帕沙星(3.374 min)。

图 2 质量浓度为 1 $\mu g/L$ 的 11 种喹诺酮类兽药混合标准溶液在 MRM 模式下的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram for a mixed standard solution of the 11 kinds of quinolones veterinary drug (1 $\mu g/L$) in MRM mode

表1 流动相洗脱程序
Table 1 Mobile phase elution procedure

时间/min	模块	命令	比例/%
1.00	Pumps	Pumps B Conc.	10
6.00	Pumps	Pumps B Conc.	95
7.00	Pumps	Pumps B Conc.	95
7.10	Pumps	Pumps B Conc.	10
11.00	controller		

2.2.3 质谱条件的选择

经过优化确定每种兽药定量离子、定性离子、CE电压、碰撞能量等参数,最终确定的质谱条件如下:离子源:ESI;离子源接口电压:ESI⁺, +4.5 kV;ESI⁻, -3.5 kV;雾化器:氮气 3.0 L/min;干燥器:氮气 20 L/min;碰撞气:氩气;脱溶剂管温度:250 °C;加热模块温度:400 °C。

2.3 方法学验证

2.3.1 线性范围、定量限、回收率和精密度

用空白鸡肉样品基质液作为溶剂制备标准工作曲线溶液,上机进行测定,以目标物的质量浓度 X ($\mu\text{g/L}$)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标绘制工作曲线。结果显示 2 类兽药在 0.1~50.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.995。该方法的 15 种磺胺类兽药的定量限(limits of quantification, LOQ)为 0.1~0.5 $\mu\text{g/kg}$, 11 种喹诺酮类兽药的 LOQ 为 0.1~0.2 $\mu\text{g/kg}$ 。对待测化合物进行 1.0、2.0、10.0 $\mu\text{g/kg}$ 加标水平的回收实验,平行测定 6 次,15 种磺胺类兽药的回收率为 86.3%~110.6%,相对标准偏差为 2.1%~6.6%;11 种喹诺酮类兽药的回收率为 89.7%~106.9%,相对标准偏差为 2.7%~6.5%。精密度和准确度符合相关要求。表 2、3 列出了定量下限及鸡肉基质的回收率和相对标准偏差。

表2 15种磺胺类兽药的质谱参数、定量下限和鸡肉中的平均回收率、精密度($n=6$)
Table 2 MS parameters, lower limit of quantifications, average recoveries and relative standard deviations of 15 the kinds of sulfonamides veterinary drug in chicken ($n=6$)

序号	化合物	分子式	保留时间/min	m/z	离子模型	碎片离子(m/z)		定量限/ $(\mu\text{g/kg})$	加标量/ $(\mu\text{g/kg})$	回收率/%	相对标准偏差/%
						1	2				
1	磺胺醋酰	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SO}_3$	1.482	214.95	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	91.95	0.5	1.0	91.5	3.2
									2.0	93.6	4.3
									10.0	101.2	5.6
2	磺胺嘧啶	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$	2.057	251.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	92.05	0.2	1.0	92.3	4.1
									2.0	92.7	5.7
									10.0	98.2	5.4
3	磺胺噻唑	$\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$	2.701	256.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	91.95	0.2	1.0	91.5	5.1
									2.0	94.1	5.3
									10.0	97.9	6.2
4	磺胺吡啶	$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	2.984	250.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	92.05	0.5	1.0	86.3	3.7
									2.0	90.1	4.2
									10.0	95.4	3.8
5	磺胺甲基嘧啶	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$	3.276	265.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	92.10	0.2	1.0	87.6	6.2
									2.0	91.5	5.4
									10.0	99.2	2.8
6	磺胺二甲嘧啶	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$	3.842	279.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	186.00	92.05	0.2	1.0	93.7	4.3
									2.0	96.4	4.6
									10.0	103.8	3.7
7	磺胺甲氧哒嗪	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	3.978	281.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	92.05	0.2	1.0	95.1	2.9
									2.0	96.5	2.5
									10.0	101.2	4.2
8	磺胺氯哒嗪	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$	4.183	284.8	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	91.95	0.2	1.0	91.6	3.4
									2.0	94.1	3.8
									10.0	99.6	4.7
9	磺胺甲噁唑	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	4.232	254.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	92.00	0.2	1.0	96.6	5.2
									2.0	99.7	6.1
									10.0	105.7	6.6
10	磺胺间二甲氧嘧啶	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	4.973	311.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	156.05	92.05	0.1	1.0	94.3	3.7
									2.0	96.4	4.9
									10.0	103.2	4.3
11	磺胺喹噁啉	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$	5.090	301.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.95	91.95	0.1	1.0	103.4	4.0
									2.0	105.4	5.2
									10.0	110.6	5.8
12	磺胺间甲氧嘧啶	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	3.978	281.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	108.00	0.1	1.0	93.2	2.8
									2.0	96.6	4.5
									10.0	99.8	3.1

表 2(续)

序号	化合物	分子式	保留时间 /min	m/z	离子 模型	碎片离子(m/z)		定量限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标量 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
						1	2				
13	磺胺对甲氧嘧啶	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	3.978	281.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	108.00	0.1	1.0	95.4	3.9
									2.0	97.4	4.4
									10.0	98.5	2.8
14	磺胺苯吡唑	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_4\text{S}$	4.807	315.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	158.00	156.00	0.2	1.0	98.7	2.7
									2.0	99.2	3.3
									10.0	102.3	2.1
15	磺胺恶唑	$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	3.734	268.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	155.90	113.00	0.1	1.0	98.7	4.9
									2.0	99.0	5.5
									10.0	102.7	4.2
16	磺胺间二甲氧嘧啶 -D ₆ (内标)	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{D}_6\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	4.943	317.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	162.05	98.05	/	/	/	/
17	磺胺邻二甲氧嘧啶 -D ₃ (内标)	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{D}_6\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	4.397	314.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	159.05	95.05	/	/	/	/

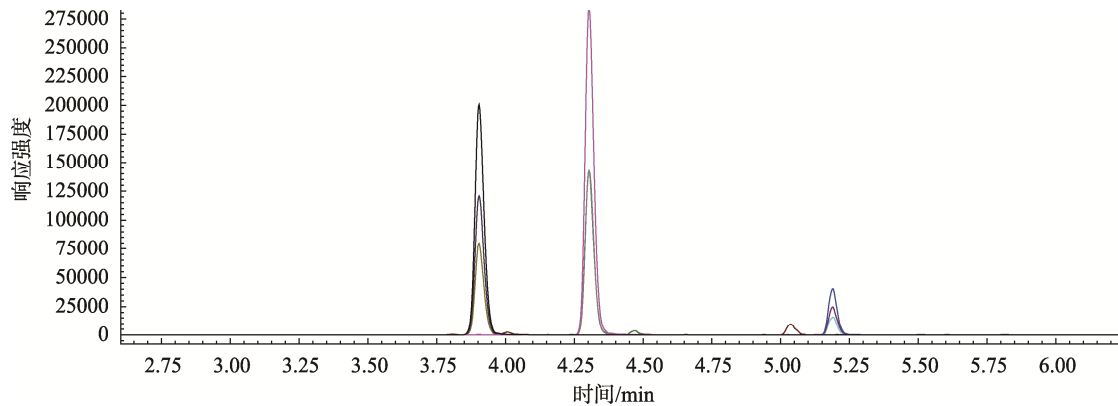
表 3 11 种喹诺酮类兽药的质谱参数、定量下限和鸡肉中的平均回收率、精密度($n=6$)Table 3 MS parameters, lower limit of quantifications, average recoveries and relative standard deviations of the 11 kinds of quinolones veterinary drug in chicken ($n=6$)

序号	化合物	分子式	保留时间 /min	m/z	离子 模式	碎片离子(m/z)		定量下限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标量 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
						1	2				
1	氧氟沙星	$\text{C}_{18}\text{H}_20\text{FN}_3\text{O}_4$	2.863	362.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	318.05	261.00	0.1	1.0	99.3	3.6
									2.0	99.8	5.2
									10.0	97.5	4.8
2	诺氟沙星	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	2.857	320.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	302.10	231.05	0.1	1.0	94.2	4.1
									2.0	96.3	5.2
									10.0	99.7	6.5
3	培氟沙星	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_3$	2.935	334.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	316.05	290.10	0.1	1.0	91.7	3.8
									2.0	95.2	5.0
									10.0	98.7	3.9
4	环丙沙星	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	2.975	332.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	314.10	231.00	0.1	1.0	96.2	2.7
									2.0	97.6	3.4
									10.0	99.1	4.1
5	洛美沙星	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2$	3.076	351.90	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	265.00	308.15	0.1	1.0	94.6	4.9
									2.0	95.8	4.3
									10.0	106.9	3.8
6	达氟沙星	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_3$	3.124	357.90	$[\text{M}+\text{H}]^+$	340.10	255.00	0.2	1.0	89.7	5.2
									2.0	93.2	5.0
									10.0	97.6	3.7
7	恩诺沙星	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_3$	3.185	359.95	$[\text{M}+\text{H}]^+$	342.05	316.05	0.1	1.0	90.9	3.9
									2.0	93.2	4.2
									10.0	96.5	5.7
8	沙拉沙星	$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$	3.327	386.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	368.00	299.00	0.2	1.0	95.4	3.4
									2.0	97.8	5.6
									10.0	99.6	4.8
9	双氟沙星	$\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{F}_2$	3.358	399.90	$[\text{M}+\text{H}]^+$	356.10	299.00	0.1	1.0	92.3	5.1
									2.0	95.0	4.7
									10.0	100.7	3.1
10	司帕沙星	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_3$	3.374	392.90	$[\text{M}+\text{H}]^+$	349.10	292.00	0.1	1.0	94.2	4.7
									2.0	98.9	4.3
									10.0	102.4	3.0
11	依诺沙星	$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{FN}_4\text{O}_3$	2.630	321.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.00	203.95	0.1	1.0	96.4	5.5
									2.0	98.8	2.9
									10.0	104.7	2.7
12	诺氟沙星 -D ₅ (内标)	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{D}_5\text{FN}_3\text{O}_3$	2.834	325.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	307.10	236.05	/	/	/	/
13	环丙沙星 -D ₈ (内标)	$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{CID}_8\text{FN}_3\text{O}_3$	2.957	340.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	322.10	239.10	/	/	/	/
14	恩诺沙星 -D ₅ (内标)	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{CID}_5\text{FN}_3\text{O}_3$	3.169	364.95	$[\text{M}+\text{H}]^+$	347.05	321.05	/	/	/	/

2.3.2 实际样品检测

为验证该方法的可靠性,用所建立的方法测定了鸡肉、鸡肝样品 50 批次,样品中 15 种磺胺类和 11 种喹诺酮类兽药残留均小于定量限,质控样品中的回收率等指标均达到分析要求。参加鸡肉中磺胺、沙星残留检测能力验证,磺胺类兽

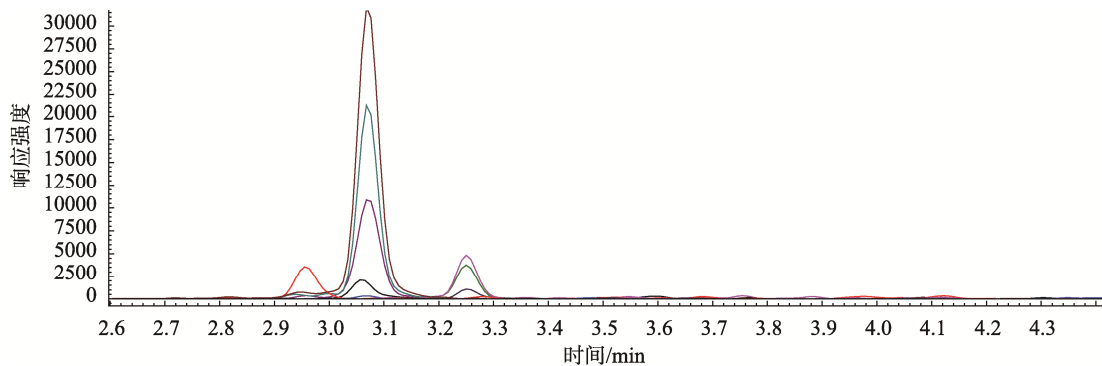
药残留、沙星类兽药残留总离子流图分别见图 3、4。其中磺胺二甲嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺喹噁啉测定值为 772、444、71.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率分别为 98.7%、93.2%、101.2%;氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星测定值为 580.1、565.3、820.5、316.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率分别为 102.7%、99.6%、99.8%、107.9%。



注:峰 1:磺胺二甲嘧啶(3.851 min);峰 2:磺胺甲恶唑(4.249 min);峰 3:磺胺喹噁啉(5.105 min)。

图 3 鸡肉中磺胺类兽药残留总离子流图

Fig.3 Total ion chromatogram for sulfonamides veterinary drug residues in chicken



注:峰 1:氧氟沙星(2.878 min);峰 2:诺氟沙星(2.881 min);峰 3:环丙沙星(2.979 min);峰 4 恩诺沙星(3.177 min)。

图 4 鸡肉中氟喹诺酮类兽药残留总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram for quinolones veterinary drug residues in chicken

3 结论与讨论

本研究采用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法,结合 QuEChERS 前处理方法,建立了鸡肉中 15 种磺胺类和 11 种喹诺酮类兽药残留的快速分析方法。与传统的三重四极杆串联质谱法相比,本方法仅需 1 次前处理,两次进样即可快速测定鸡肉中 15 种磺胺类和 11 种喹诺酮类兽药,整个前处理过程仅需 30 min,能大大缩短检测时间,提高了检测效率,极大地提高了方法定性的准确性和定量水平。综上所述,本研究建立的方法快速、准确、灵敏度高,适用于鸡肉中 15 种磺胺类和 11 种喹诺酮类兽药残留的快速测定,为鸡肉进行风险监控提供了一种有力的技术手段,为食品安全监管提供了有效保障。

参考文献

- [1] 高玉时, 陆俊贤, 唐修君, 等. 家禽质量安全现状/危害分析及控制对策[J]. 中国家禽, 2020, 42(5): 6-11.
GAO YS, LU JX, TANG XJ, *et al.* Status, hazard analysis and control of quality and safety of poultry [J]. Chin Poul, 2020, 42(5): 6-11.
- [2] 吕冰峰, 刘敏, 裴新荣. 2018 年中国畜禽肉安全问题调查[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5668-5673.
LV BF, LIU M, PEI XR. Investigation and analysis on the food safety of raw livestock meat and poultry in China in 2018 [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(17): 5668-5673.
- [3] 李雷霆, 刘均华, 刘宝涛, 等. 高效液相色谱紫外法同时检测鸡蛋中 5 种青霉素类药物残留的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(8): 2483-2488.
LI LT, LIU JH, LIU BT, *et al.* Residue analysis of five kinds of penicillins in eggs by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection

- [J]. *Chin J Anim Sci Vet Med*, 2017, 44(8): 2483–2488.
- [4] 林海丹, 林峰, 张美金, 等. 高效液相色谱法同时测定动物组织中 16 种苯并咪唑类药物残留[J]. *食品科学*, 2011, 32(2): 238–243.
LIN HD, LIN F, ZHANG MJ, *et al.* Simultaneous HPLC determination of 16 benzimidazoles residues in animal tissue [J]. *Food Sci*, 2011, 32(2): 238–243.
- [5] 邓樱花, 李林, 张洪权, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定鸡肉中 5 种磺胺类药物残留[J]. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2014, 48(1): 53–57, 65.
DENG YH, LI L, ZHANG HQ, *et al.* Simultaneous determination of five kinds of sulfonamide residues in chicken by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Huazhong Norm Univ (Nat Sci)*, 2014, 48(1): 53–57, 65.
- [6] 吴平谷, 冯靛, 王强, 等. 固相萃取结合高效液相色谱测定鸡肉中 10 种磺胺类药物残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(11): 22–24.
WU PG, FENG L, WANG Q, *et al.* Simultaneous determination of sulfonamide residues in chicken muscle by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2008, 18(11): 22–24.
- [7] 覃玲, 董亚雷, 王钢力, 等. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定常见动物源性食品中 42 种兽药残留[J]. *色谱*, 2018, (36): 880–888.
TAN L, DONG YL, WANG LG, *et al.* Determination of 42 kinds of veterinary drug residues in common animal derived food by dispersive solid phase [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, (36): 880–888.
- [8] 姜冰, 丁涛, 曹崇江, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定动物源性食品中 9 种吡咯里西啶类生物碱的含量[J]. *分析测试学报*, 2020, 39(4): 473–478.
JIANG B, DING T, CAO CJ, *et al.* Determination of 9 kinds of pyrrolizidine alkaloids in animal-derived foods by HPLC-MS/MS [J]. *J Instrum Anal*, 2020, 39(4): 473–478.
- [9] 何秀玲, 张晓, 白玉廷, 等. 液相色谱-串联质谱法测定羊肉中红霉素残留量[J]. *动物医学进展*, 2020, 41(4): 58–63.
HE XL, ZHANG X, BAI YT, *et al.* Determination of erythromycin residue in mutton by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Prog Veter Med*, 2020, 41(4): 58–63.
- [10] 徐伟, 耿士伟, 刘路, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 125 种兽药残留[J]. *天津农业科学*, 2020, (2): 50–57.
XU W, GENG SW, LIU L, *et al.* Simultaneous determination of 125 kinds of veterinary drug residues in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Tianjing Agric Sci*, 2020, (2): 50–57.
- [11] 杨艳, 丘文倩, 李宇翔. 基于 QuEChERS 法-超高效液相色谱-串联质谱同位素标记内标法测定动物源性食品中 11 种喹诺酮类药物残留[J]. *国际药学研究杂志*, 2019, 46(2): 158–162.
YANG Y, QIU WQ, LI YX. The simultaneous determination of 11 kinds of quinolone drug residues in animal-sourced foods by the UPLC-MS/MS with isotope-labeled internal standards coupled with the QuEChERS method [J]. *J Int Pharm Res*, 2019, 46(2): 158–162.
- [12] 李娜, 张玉婷, 刘磊, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 4 类 29 种禁用兽药残留[J]. *色谱*, 2014, 32(12): 31–37.
LI N, ZHANG YT, LIU L, *et al.* Simultaneous determination of 4 kinds of 29 banned and restricted veterinary drugs in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and modified QuEChERS for sample preparation [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(12): 31–37.
- [13] 梁飞燕, 张科明, 卢日刚. QuEChERS 方法净化 UPLC-MS 检测猪肉中 35 种兽药残留[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(25): 41–45.
LIANG FY, ZHANG KM, LU RG. Determination of 35 kinds of veterinary drugs residues in pork by QuEChERS purification-UPLC-MS [J]. *Anhui Agric Sci*, 2016, 44(25): 41–45.
- [14] 李峰格, 苏敏, 李晓岩, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肝中磺胺类、喹诺酮类和苯并咪唑类药物及其代谢物的残留量[J]. *色谱*, 2011, 29(2): 120–125.
LI FG, SU M, LI XY, *et al.* Determination of sulfonamides, quinolones, benzimidazoles and the metabolites of benzimidazoles in chicken livers by dispersive solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(2): 120–125.
- [15] 郭黎明, 朱奎, 江海洋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肝中残留的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物[J]. *色谱*, 2009, 27(4): 37–41.
GUO LM, ZHU K, JIANG HY, *et al.* Simultaneous determination of tetracyclines, sulfonamides and quinolones residues in chicken livers by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2009, 27(4): 37–41.
- [16] 任明兴, 刘正才, 唐寰宇, 等. QuEChERS 方法结合超高效液相色谱-串联质谱法快速检测鸡肉组织中扎那米韦药物的残留量[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(7): 854–858.
REN MX, LIU ZC, TANG HY, *et al.* Rapid determination of zanamivir residues in chicken tissues using QuEChERS combined with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(7): 854–858.
- [17] 马春华, 陈文文, 邢越. QuEChERS 结合高效液相色谱法快速检测鸡肉中氟喹诺酮类药物残留[J]. *食品工程*, 2020, (3): 58–61.
MA CH, CHEN WW, XING Y. Rapid detection of fluoroquinolone residues in chicken by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography [J]. *Food Eng*, 2020, (3): 58–61.
- [18] 黄坤, 吴婉琴, 罗彤, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉中 11 种喹诺酮类药物残留[J]. *肉类研究*, 2019, 33(3): 40–45.
HUANG K, WU WQ, LUO T, *et al.* simultaneous determination of 11 quinolone residues in livestock and poultry meat by QuEChERS and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Meat Res*, 2019, 33(3): 40–45.
- [19] 余鹏飞, 赵月均, 杨鲁琼, 等. QuEChERS-HPLC-MS/MS 测定禽蛋中利巴韦林及其代谢物残留量[J]. *食品工业*, 2021, 2(42): 286–290.
YU PF, ZHAO YJ, YANG LQ, *et al.* Determination of ribavirin and its metabolites in eggs by QuEChERS-HPLC-MS/MS [J]. *Food Ind*, 2021, 2(42): 286–290.
- [20] 秦立德, 赵思俊, 宋翠平. QuEChERS 法在兽药残留检测中的优化与应用[J]. *中国动物检疫*, 2020, (12): 98–107.
QIN LD, ZHAO SJ, SONG CP. Optimization and application of QuEChERS in detection of veterinary drug residues [J]. *Chin Anim Health Ins*, 2020, (12): 98–107.

(责任编辑: 于梦娇 王欣)

作者简介



邵 丽, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 254726727@qq.com