

# 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中 22 种兽药残留

董曼曼<sup>1</sup>, 李卓<sup>1</sup>, 张艳<sup>2</sup>, 王蓓蓓<sup>1</sup>, 贾寒冰<sup>1</sup>, 梁红月<sup>1</sup>, 贾兵<sup>1</sup>, 张亚锋<sup>1\*</sup>

(1. 西安市食品药品检验所, 西安 710054; 2. 富平县检验检测中心, 渭南 711700)

**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)同时测定猪肉、牛肉、鸡肉、水产等动物源性食品中 6 种  $\beta_2$ -受体激动剂类、8 种磺胺类、氯霉素、氟苯尼考、金刚乙胺、金刚烷胺、孔雀石绿、隐色孔雀石绿、地西洋、地塞米松 22 种兽药残留量的方法。**方法** 样品分别用乙腈、2%甲酸乙腈和 90%乙腈水(含 1%甲酸)提取, 提取液在 40 °C 下氮气吹干后用 10%乙腈水(含 5%甲酸)溶液复溶, 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱分离, 以电喷雾离子源在正、负离子多反应监测模式下进行测定。**结果** 22 种兽药用 2%甲酸乙腈作为提取溶剂时, 回收率均较高; 在 0.2~40.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的浓度范围内呈现良好的线性关系,  $r$  均大于 0.998, 定量限范围为 0.2~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 加标水平为 1、5、10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 回收率在 62.6%~120.0%之间, 相对标准偏差为 1.4%~11.0%。**结论** 该方法简单、快速、准确、灵敏, 极大地提高了多兽药残留的检测效率, 适用于食品安全突发事件应急处置中多兽药残留的快速分析, 对动物源性食品中药物残留的监控具有很重要的现实意义。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱法; 动物源性食品; 兽药残留

## Simultaneous determination of 22 kinds of veterinary drug residues in animal-derived food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

DONG Man-Man<sup>1</sup>, LI Zhuo<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>2</sup>, WANG Bei-Bei<sup>1</sup>, JIA Han-Bing<sup>1</sup>, LIANG Hong-Yue<sup>1</sup>, JIA Bing<sup>1</sup>, ZHANG Ya-Feng<sup>1\*</sup>

(1. Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China;  
2. Fuping County Inspection Testing Center, Weinan 711700, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the simultaneous determination of 22 kinds of veterinary drug residues, including 6 kinds of  $\beta_2$ -agonist residues, 8 kinds of sulfonamides, chloramphenicol, florfenicol, rimantadine, amantadine, malachite green, leucomalachite green, diazepam and dexamethasone in animal-derived foods such as pork, beef, chicken, aquatic products and other animal derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** Samples were extracted with acetonitrile, 2% formic acid acetonitrile

基金项目: 陕西省体育科研常规课题项目(2020227)、陕西省创新能力支撑计划资助项目(2021PT-044)

Fund: Supported by the Regular Topics of Sports Scientific Research in Shaanxi Province (2020227), and the Innovation Capability Support Program of Shaanxi (2021PT-044)

\*通信作者: 张亚锋, 硕士, 副主任药师, 主要研究方向为药品及食品质量分析。E-mail: 27327242@qq.com

\*Corresponding author: ZHANG Ya-Feng, Master, Associate Pharmacist, Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China. E-mail: 27327242@qq.com

and 90% acetonitrile (containing 1% formic acid) and redissolved with 10% acetonitrile (containing 5% formic acid) after nitrogen blowing at 40 °C. The samples were separated by C<sub>18</sub> column and determined by electrospray ion source in positive and negative ion multi-reaction monitoring mode. **Results** When 2% formic acid acetonitrile was used as solvent for the extraction of 22 kinds of veterinary drugs, the recoveries of all components were high; the linear relationships were good in the range from 0.2 to 40.0 µg/kg, with  $r > 0.998$ , and the limits of quantification were 0.2–1.0 µg/kg; the recoveries were ranged from 62.6% to 120.0% with the relative standard deviations of 1.4%–11.0% with 3 spiked levels of 1, 5 and 10 µg/kg. **Conclusion** The proposed method is simple, fast, accurate and sensitive, which greatly improves the detection efficiency of multiple veterinary drug residues. It is suitable for rapid analysis of multiple veterinary drug residues in food safety emergencies, and has important practical significance for monitoring drug residues in animal-derived foods.

**KEY WORDS:** ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; animal-derived food; veterinary drug residues

## 0 引言

随着现代养殖业呈集约化和规模化发展,为了预防禽畜及水产被细菌或病毒侵害,减少高密度饲养带来的风险,兽药在畜牧业中的使用日趋广泛。由于这些药物抗菌抗病毒效果好,价格低廉,而使用者和经营者对这些药物的毒性和危害认识不足,导致超量和超种类的滥用、误用、违规使用;又因动物源性食品消费量大,受众范围广,从而造成的兽药及其代谢物残留、超标的现象屡有发生。大量兽药污染的食品经食物链进入人体后,会破坏人的造血系统,导致毒性损伤、激素障碍变态反应、过敏反应及细菌耐药性增加等危害<sup>[1-2]</sup>,为保证食品安全,我国发布了多项法规以规范兽药使用<sup>[3]</sup>。但是畜牧业中目前有近百种兽药在使用<sup>[4]</sup>,其理化性质各异,大量的动物源性食品需进行兽药残留分析。国家标准方法多以化学结构类似的同族化合物进行方法开发(GB/T 22286—2008《动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》),虽样品前处理方法适合多类基质,检测需经几次前处理,检测成本高,周期长,造成仪器设备、人员浪费,也难以满足愈来愈多突发事件的应急监控需要<sup>[5-7]</sup>。

高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)在满足多组分同时检测的情况下仍具有选择性强、基质干扰小、灵敏度和检测效率高等优势,是近几年来动物源性食品及排泄物等基质中多类兽药残留快速测定的首选<sup>[8-10]</sup>。在已报道的分析方法中,由于目标物极性分布宽泛,前处理技术多采用 QuEChERS 法<sup>[11-13]</sup>或吸附-洗脱模式的固相萃取法<sup>[14-16]</sup>,但这些方法依然有前处理步骤多、速度较慢,涵盖基质范围不宽等局限性<sup>[17-20]</sup>,且同时测定国家食品安全监督抽检实施细则要求必检的项目磺胺类、β-受体激动剂类、氯霉素类等 22 种兽药残留的文献鲜有报道。因此,迫切需要建立快速检测动物源性食品中上述 22 种兽药残留的方法。

本研究通过优化样品前处理方法、色谱及质谱条件,建立超高效液相色谱-串联质谱法对猪肉、牛肉、鸡肉、水产等动物源性食品中常见的 22 种兽药同时进行测定的分析方法,以期能够满足动物源性食品中多类兽药风险筛查及监测工作的需要。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Ultimate 3000-TSQ Quantiva 型超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪(配有 ESI 源和 TraceFinder 定量处理软件,美国赛默飞世尔科技公司); HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); Milli2Q 型超纯水器(美国 Millipore 公司); i Swix MV 型平行涡旋振荡器(英国 Neutron 科技公司); N-EVAP 112 氮吹仪(美国 Organomation 公司); MS105 电子分析天平、ME204E 电子分析天平(瑞士 Mettler 公司); 5~50 mL 数字式瓶口分液器(德国 Brand 公司)。

对照品:克仑特罗(99.30%)、沙丁胺醇(99.90%)、盐酸莱克多巴胺(95.00%)、特布他林半硫酸盐(99.80%)、克仑丙罗(98.40%)、氯霉素(99.20%)、氯霉素-D<sub>5</sub> (100 ng/µL)、隐色孔雀石绿(99.60%)、磺胺甲基嘧啶(99.70%)、磺胺邻二甲氧嘧啶(99.14%)、磺胺氯吡啶(99.10%)、磺胺喹恶啉(98.90%) (德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); 沙丁胺醇-D<sub>3</sub> (98.80%)、莱克多巴胺-D<sub>6</sub> (100 µg/mL)(加拿大 C/D/N 公司); 克仑特罗-D<sub>9</sub> (99.80%)、隐色孔雀石绿-D<sub>6</sub> (100.0%)、磺胺邻二甲氧嘧啶-D<sub>3</sub> (99.8%)、磺胺间二甲氧嘧啶-D<sub>6</sub> (99.9%)(德国 WITEGA 公司); 孔雀石绿(100%)、金刚乙胺(98%)、美金刚-D<sub>6</sub> (100.3 µg/mL) (加拿大 TRC 公司); 孔雀石绿-D<sub>5</sub> (99.5%)、金刚烷胺(98.2%)、氯化可的松-D<sub>3</sub> (9.7 µg/mL) (上海 ANPEL 公司); 金刚烷胺-D<sub>15</sub> (100.0 µg/mL)、氟苯尼考(100.1 µg/mL) (英国 First Standard 公司); 地西洋(99.90%)、地塞米松(99.8%)、磺胺嘧啶

(99.90%) (中国药品生物制品检定所); 甲砒霉素(99.30%)、盐酸普萘洛尔(100%)、磺胺甲噁唑(99.60%)、磺胺间甲氧嘧啶(97.5%) (中国食品药品检定研究院)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 硫酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲酸(色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 溶液配制

标准溶液配制: 分别准确称取 10 mg 的上述对照品于 10 mL 的容量瓶中, 用乙腈配成质量浓度各约为 1 mg/mL 的标准储备液, 于 -18 °C 保存; 分别取适量标准储备液, 用乙腈配成质量浓度为 1 μg/mL 的混合标准工作液。11 种内标用同样的方法配成 1 μg/mL 的混合内标工作液。

90%乙腈水(含 1%甲酸): 取 90 mL 乙腈, 加入 9 mL 水, 然后加入 1 mL 甲酸, 混匀。

2%甲酸乙腈提取液: 取甲酸 20 mL, 用乙腈稀释至 1000 mL, 混匀。

10%乙腈水(含 5%甲酸): 取 10 mL 乙腈, 加入 85 mL 水, 然后加入 5 mL 甲酸, 混匀。

### 1.2.2 样品前处理

#### (1) 采样和试样制备

取样品中有代表性的可食部分约 500 g, 用组织捣碎机充分捣碎混匀, 均分成 2 份, 分别装入洁净容器作为试样, 密封, 并标明标记, 将试样置于 -18 °C 避光保存。

#### (2) 提取

准确称取 5 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入 100 μL 混合内标溶液, 加入陶瓷均质子, 然后分别用 10 mL 以下 3 种溶剂提取: (A)90%乙腈水(含 1%甲酸)、(B)乙腈、(C)2%甲酸乙腈, 剧烈振荡使样品分散, 然后涡旋振荡 5 min, 超声提取 5 min, 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液于另一干净的 50 mL 具塞离心管中, 剩余部分再用 10 mL 提取溶剂重复提取 1 次, 合并上清液, 备用。

#### (3) 净化

将用 A 溶剂提取得到的上清液全部转移至

QuEChERS 净化管[含 150 mg 聚合物/层状硅酸盐纳米复合材料(polyme/layered silicate-nanocomposites, PLS-A)和 50 mg 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(primary secondary amine, PSA)]中, 涡旋混匀 1 min, 8000 r/min 离心 2 min, 上清液备用。

分别取上述步骤得到的上清液 5 mL, 于 40 °C 水浴下氮气吹干, 然后用 1 mL 10%乙腈水(含 5%甲酸)溶液复溶, 涡旋振荡 1 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜后, 供 LC-MS/MS 测定。

### 1.2.3 液相色谱-串联质谱条件

#### (1) 液相色谱条件

色谱柱: 资生堂 CAPCELL PAK C<sub>18</sub> 柱(150 mm×2.0 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈(A)-水(B), 流速: 0.2 mL/min, 进样体积: 5 μL, 柱温: 35 °C。梯度洗脱程序: 0~2 min, 10% A; 2~8 min, 10%~60% A; 8~10 min, 60%~90% A; 10~13 min, 90% A; 13~13.5 min, 90%~10% A; 13.5~25 min, 10% A。

#### (2) 质谱条件

电离条件: 电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI); 扫描模式: 正模式/负模式; 检测方式: 选择反应监测(selective reaction monitoring, SRM); 鞘气压力: 30 Arb; 辅助气压力: 5 Arb; 吹扫气压力: 0 Arb; 蒸发温度: 300 °C; 离子传输管温度: 350 °C; 扫描电压: 3500(正)/2500(负)。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件优化

实验采用 1 μg/mL 的上述标准品溶液, 通过注射泵注入持续进样的方式, 与适当流速的流动相共同进入质谱仪中。化合物进入电喷雾离子源后形成带电液滴, 当液滴的电荷密度超过表面张力时, 引起液滴自发的分裂, 最终形成稳定的带电离子。离子源参数优化, 在全扫描(Full-Scan)模式下调节电压、鞘气、辅助气及尾吹气使母离子响应最大且最稳定; 然后分别对射频电压(RF Lens)和裂解电压进行优化, 选择强度较强、出峰稳定的碎片作为定性定量离子。22 种兽药及 11 种内标的质谱参数优化结果见表 1。

表 1 22 种兽药及 11 种同位素内标的质谱参数

Table 1 Mass spectrum parameters of the 22 kinds of veterinary drugs and the 11 kinds of isotope internal standards

化合物	保留时间/min	扫描模式	母离子( <i>m/z</i> )	子离子( <i>m/z</i> )	裂解电压/V	射频透镜电压/V
沙丁胺醇	2.07	ESI <sup>+</sup>	240.2	148.0 <sup>*</sup> , 222.1	18, 11	42
特布他林	2.09	ESI <sup>+</sup>	226.3	152.1 <sup>*</sup> , 107.1	16, 30	45
克仑特罗	2.96	ESI <sup>+</sup>	277.0	202.9 <sup>*</sup> , 258.9	16, 10	49
莱克多巴胺	2.69	ESI <sup>+</sup>	302.0	164.0 <sup>*</sup> , 121.0	15, 22	53
普萘洛尔(心得安)	6.01	ESI <sup>+</sup>	260.1	116.1 <sup>*</sup> , 183.1	18, 17	68
克仑普罗(克仑丙罗)	2.44	ESI <sup>+</sup>	263.1	245.0 <sup>*</sup> , 132.0	10, 27	38
金刚乙胺	4.32	ESI <sup>+</sup>	180.1	163.1 <sup>*</sup> , 81.1	17, 24	33
金刚烷胺	2.27	ESI <sup>+</sup>	152.2	135.3 <sup>*</sup> , 93.3	18, 28	35

表1(续)

化合物	保留时间/min	扫描模式	母离子( <i>m/z</i> )	子离子( <i>m/z</i> )	裂解电压/V	射频透镜电压/V
地西洋	11.46	ESI <sup>+</sup>	285.1	193.3*, 154.2	31, 27	92
孔雀石绿	7.62	ESI <sup>+</sup>	329.2	313.2*, 208.1	37, 37	112
隐色孔雀石绿	14.57	ESI <sup>+</sup>	331.2	239.2*, 316.2	32, 22	90
氯霉素	8.76	ESI <sup>-</sup>	321.0	152.0*, 257.1	15, 10	83
氟苯尼考	8.57	ESI <sup>-</sup>	356.0	336*, 185.1	10, 19	66
地塞米松	9.63	ESI <sup>-</sup>	437.1	361.2*, 307.1	17, 31	57
磺胺嘧啶	6.37	ESI <sup>+</sup>	251.1	156.2*, 108.3	15, 23	55
磺胺甲恶唑	8.72	ESI <sup>+</sup>	254.1	156.2*, 92.3	16, 25	57
磺胺氯哒嗪	8.99	ESI <sup>+</sup>	285.3	156.2*, 108.3	15, 26	57
磺胺邻二甲氧嘧啶	8.58	ESI <sup>+</sup>	311.0	156.2*, 108.3	18, 25	69
磺胺喹恶啉	9.53	ESI <sup>+</sup>	301.0	156.2*, 108.3	1, 7, 26	62
磺胺甲基嘧啶	7.15	ESI <sup>+</sup>	265.0	108.3*, 156.2	24, 17	63
磺胺间甲氧嘧啶	8.24	ESI <sup>+</sup>	281.1	156.2*, 108.3	17, 26	67
磺胺二甲嘧啶	7.63	ESI <sup>+</sup>	279.2	186.2*, 124.3	13, 22	0
沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	2.06	ESI <sup>+</sup>	243.2	151*, 225	18, 10	44
克仑特罗-D <sub>9</sub>	2.92	ESI <sup>+</sup>	286.0	203.9*, 268.0	16, 11	48
莱克多巴胺-D <sub>6</sub>	2.69	ESI <sup>+</sup>	308.3	168.2*, 290.2	17, 13	59
氯霉素-D <sub>5</sub>	8.74	ESI <sup>-</sup>	326.0	157.1*, 262.0	16, 10	86
美金刚-D <sub>6</sub>	4.84	ESI <sup>+</sup>	186.3	169.2*, 110.1	17, 28	34
金刚烷胺-D <sub>15</sub>	2.24	ESI <sup>+</sup>	167.2	150.2*, 86.2	19, 33	30
孔雀石绿-D <sub>5</sub>	7.61	ESI <sup>+</sup>	334.2	318.2*, 213.1	36, 34	104
隐色孔雀石绿-D <sub>6</sub>	14.51	ESI <sup>+</sup>	337.3	240.2*, 322.2	32, 22	85
氢化可的松-D <sub>3</sub>	8.95	ESI <sup>-</sup>	410.3	334.2*, 300.2	17, 32	58
磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	8.55	ESI <sup>+</sup>	314.2	156.2*, 108.3	18, 26	70
磺胺间二甲氧嘧啶-D <sub>6</sub>	9.27	ESI <sup>+</sup>	317.2	162.3*, 156.2	23, 20	75

注: \*为定量离子。

## 2.2 流动相体系的优化

对于多组分分析,采用梯度洗脱更易于化合物的分离。本方法以 CAPCELL PAK C<sub>18</sub>柱(150 mm×2.0 mm, 5 μm)作为色谱柱,考察了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液4种流动相体系,流动相中加入酸是为了给化合物在正离子模式下更好地提供质子。实验结果表明,当用乙腈-水作为流动相时,所有化合物均能获得较好的峰型及较高的响应。22种兽药及11种同位素内标的提取离子叠加图,如图1所示。

## 2.3 提取溶剂选择

兽药残留的提取溶剂多为乙腈或酸性乙腈,本研究对乙腈、2%甲酸乙腈和90%乙腈水(含1%甲酸)3种提取溶剂进行了比较,实验结果表明,在相同添加水平下,用2%甲酸乙腈作为提取溶剂时各组分的平均回收率较高,详见表2。

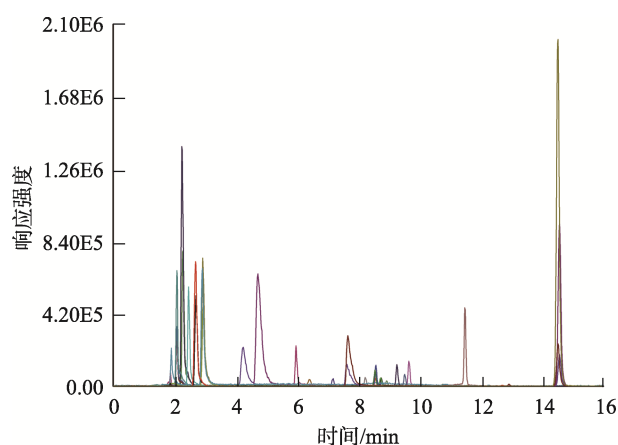


图1 22种兽药及11种同位素内标提取离子叠加图  
Fig.1 Overlapping extracted ion chromatogram of 22 kinds of veterinary drugs and 11 kinds of isotope internal standards

表 2 不同提取溶剂回收率  
Table 2 Recoveries in different solvent

化合物	定量方式	对应的内标	乙腈 平均回收率/%	乙腈 RSD/%	2%甲酸乙腈 平均回收率/%	2%甲酸乙腈 RSD/%	90%乙腈水 (含 1%甲酸) 平均回收率/%	90%乙腈水(含 1%甲酸) RSD/%
沙丁胺醇	内标法	沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	101	8.0	104	8.5	103	9.1
特布他林	内标法	沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	100	3.7	98	3.5	90	4.2
克仑特罗	内标法	克仑特罗-D <sub>9</sub>	108	3.2	115	3.6	100	4.3
莱克多巴胺	内标法	莱克多巴胺-D <sub>6</sub>	107	1.2	105	1.4	98	2.0
普萘洛尔 (心得安)	内标法	沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	75	3.5	77	2.7	74	4.2
克仑普罗 (克仑丙罗)	内标法	克仑特罗-D <sub>9</sub>	70	5.3	85	4.5	82	5.6
金刚乙胺	内标法	美金刚-D <sub>6</sub>	102	3.5	116	3.9	94	4.1
金刚烷胺	内标法	金刚烷胺-D <sub>15</sub>	106	2.4	93	2.0	89	2.3
地西洋	外标法	/	45	4.7	80	4.6	54	4.8
孔雀石绿	内标法	孔雀石绿-D <sub>5</sub>	96	3.0	107	3.3	92	3.5
隐色孔雀 石绿	内标法	隐色孔雀石绿-D <sub>6</sub>	88	3.0	81	2.7	118	3.1
氯霉素	内标法	氯霉素-D <sub>5</sub>	104	5.2	104	5.4	109	5.7
氟苯尼考	外标法	/	113	2.8	103	2.6	101	3.0
地塞米松	内标法	氢化可的松-D <sub>3</sub>	42	2.5	86	2.7	190	3.0
磺胺嘧啶	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	91	11.1	81	10.8	74	12.3
磺胺甲恶唑	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	82	4.7	86	4.4	105	5.0
磺胺氯哒嗪	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	76	4.6	81	4.3	74	4.8
磺胺邻二甲 氧嘧啶	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	98	1.2	104	1.5	72	2.1
磺胺喹恶啉	内标法	磺胺间二甲氧嘧啶-D <sub>6</sub>	80	4.8	88	4.4	91	5.0
磺胺甲基 嘧啶	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	91	7.5	97	8.2	42	6.8
磺胺间甲氧 嘧啶	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	78	5.4	84	5.2	65	5.8
磺胺二甲 嘧啶	内标法	磺胺邻二甲氧嘧啶-D <sub>3</sub>	116	4.5	62	4.3	86	5.0

## 2.4 线性关系

准确移取混合标准中间液, 用 10%乙腈水溶液(含 5% 甲酸)稀释成 0.25、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 ng/mL 的系列标准工作溶液(内标质量浓度均为 10 ng/mL), 外标法以各特征离子质量色谱的峰面积为纵坐标  $Y$ (内标法以各特征离子质量色谱峰与相应同位素内标的峰面积比为纵坐标), 标准品溶液质量浓度( $X$ ,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )为横坐标绘制标准工作曲线, 见表 3。22 种兽药在 0.2~40.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的浓度范围内呈现良好的线性关系,  $r$  均大于 0.998。

## 2.5 检出限和定量限

添加一定量的混合标准中间溶液于 5 g 空白猪肉样品中, 经过提取和测定, 以 3 倍信噪比( $S/N \geq 3$ )对应的浓度作为方法检出限, 检出限范围为 0.1~0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 以 10 倍信噪比( $S/N \geq 10$ )对应的浓度作为定量限, 定量限范围为 0.2~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 2.6 回收率与精密度

在空白猪肉、牛肉、鸡肉、水产等样品中分别添加混合标准中间液, 使样品中化合物质量浓度分别为 1.0、5.0、

10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 每个质量浓度做3个平行, 按照优化后的样品处理方法进行处理并进行检测, 得到本方法的回收率及精密度, 结果表明猪肉中22种化合物回收率在62.6%~120.0%之间, 精密度[用相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)表示]在1.4%~11.0%之间; 牛肉中22种化合物的回收率范围为65.6%~115%, 精密度为1.2%~9.1%; 鱼肉中22种化合物的回收率范围为60.4%~119.0%, RSD为1.2%~14.2%, 其中猪肉中22种化合物回收率及精密度的详细结果如表3所示。由表上述实验结果可知, 22种兽药残留不同基质中的回收率在60.4%~120.0%之间, 精密度在1.2%~14.2%之间, 满足GB/T

27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的要求。

### 3 结论与讨论

本研究建立了一种超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中22种兽药残留的方法。该方法简单、快速、准确、灵敏, 可用于猪肉等动物源性食品中多种兽药残留的高通量快速检测, 在实际应用中对目标物分离良好, 重现性好, 为监管部门对市场上兽药的监管提供了一种有力的技术手段, 对提高食用农产品监管工作效率、节约检测成本、保障食品安全具有重要意义。

表3 猪肉中22种兽药的回归方程、相关系数、回收率和相对标准偏差( $n=3$ )  
Table 3 Regression equations, correlation coefficients, recoveries and RSDs of 22 kinds of veterinary drugs in pork ( $n=3$ )

化合物名称	线性范围/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	线性方程	添加浓度/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
沙丁胺醇	1.0~40	$Y=8.335E-2X+7.043E-4$	1, 5, 10	99.9, 118.0, 114.0	111.0	8.6
特布他林	1.0~40	$Y=4.686E-2X+9.318E-3$	1, 5, 10	95.2, 97.5, 102.0	98.2	3.5
克仑特罗	1.0~40	$Y=3.415E-2X+-2.28E-4$	1, 5, 10	111.0, 111.0, 118.0	113.0	4.0
莱克多巴胺	1.0~40	$Y=93908E-2X-6.663E-3$	1, 5, 10	109.0, 106.0, 108.0	108.0	1.4
普萘洛尔	1.0~40	$Y=1.078E5X+-3.936E3$	1, 5, 10	76.3, 78.5, 76.7	77.2	1.5
克仑普罗	1.0~40	$Y=1.222E-1X+2.186E-2$	1, 5, 10	88.7, 83.7, 83.3	85.2	3.5
金刚乙胺	1.0~40	$Y=7.408E-2X+2.892E-3$	1, 5, 10	104.0, 106.0, 112.0	107.0	3.9
金刚烷胺	1.0~40	$Y=1.102E-1X-6.129E-3$	1, 5, 10	101.0, 107.0, 110.0	106.0	4.3
地西洋	1.0~40	$Y=1.461E5X+3.635E-4$	1, 5, 10	76.5, 75.4, 78.2	76.7	1.8
孔雀石绿	1.0~40	$Y=4.711E-1X-4.321E-2$	1, 5, 10	117.0, 118.0, 111.0	115.0	3.3
隐色孔雀石绿	1.0~40	$Y=9.887E-2X+4.113E-3$	1, 5, 10	115.0, 117.0, 111.0	114.0	2.7
氯霉素	0.2~40	$Y=7.379E-2X+3.697E-2$	1, 5, 10	122.0, 113.0, 126.0	120.0	5.5
氟苯尼考	0.2~40	$Y=2.051E4X-9.358E3$	1, 5, 10	87.7, 84.7, 83.3	85.2	2.6
地塞米松	0.8~40	$Y=1.302E4X+6.836E2$	1, 5, 10	80.7, 86.2, 88.1	85.0	4.5
磺胺嘧啶	1.0~40	$Y=8.399E-2X+2.578E-3$	1, 5, 10	95.2, 81.1, 78.6	85.3	11.0
磺胺甲恶唑	0.4~40	$Y=3.463E-2X+1.68E-3$	1, 5, 10	102.0, 102.0, 110.0	105.0	4.4
磺胺氯哒嗪	1.0~40	$Y=3.983E-2X+2.966E-3$	1, 5, 10	97.9, 96.9, 104.9	99.9	4.4
磺胺邻二甲氧嘧啶	1.0~40	$Y=1.663E-1X-5.179E-2$	1, 5, 10	104.0, 102.0, 105.0	104.0	1.5
磺胺喹恶啉	1.0~40	$Y=7.454E-2X-1.028E-2$	1, 5, 10	87.2, 84, 91.6	87.6	4.3
磺胺甲基嘧啶	1.0~40	$Y=6.175E-2X+8.072E-4$	1, 5, 10	102.0, 102.0, 88.1	97.4	8.2
磺胺间甲氧嘧啶	1.0~40	$Y=6.671E-2X-3.765E-3$	1, 5, 10	85.3, 87.5, 79.6	84.1	4.8
磺胺二甲嘧啶	1.0~40	$Y=2.812E-1X-6.303E-2$	1, 5, 10	61.6, 65.4, 60.8	62.6	3.9

## 参考文献

- [1] 晏利芝, 赵永彪, 富玉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中受体激动剂、喹诺酮类和磺胺类兽药残留[J]. 分析实验室, 2011, 30(1): 84-86.  
YAN LZ, ZHAO YB, FU Y, *et al.* Simultaneous determination of quinolones and sulfonamides veterinary drug residues in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2011, 30(1): 84-86.
- [2] 王浩, 赵丽, 杨红梅, 等. 液相色谱-串联质谱法测定牛奶中 35 种四环素类、磺胺类、青霉素类、大环内酯类、氯霉素类抗生素残留[J]. 色谱, 2015, 33(9): 995-1001.  
WANG H, ZHAO L, YANG HM, *et al.* Determination of 35 antibiotic residues of tetracyclines, sulfonamides, penicillins, macrolides and amphenicols in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(9): 995-1001.
- [3] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 278 号[EB/OL]. [2003-05-22]. [http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606\\_1535494.htm](http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_1535494.htm) [2020-05-22].  
Ministry of Agriculture. Bulletin of the ministry of agriculture of the People's Republic of China No.278 [EB/OL]. [2003-05-22]. [http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606\\_1535494.htm](http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_1535494.htm) [2020-05-22].
- [4] 曲斌. QuEChERS 在动物源性食品兽药残留检测中的研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 327-331.  
QU B. Advances in application of QuEChERS for detection of veterinary drug residues in animal-derived foods [J]. Food Sci, 2013, 34(5): 327-331.
- [5] 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]. J Anhui Agric Sci, 2016, 44(25): 41-45.
- [6] 郭萌萌, 谭志军, 孙晓杰, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中三苯甲烷类、氯霉素类、磺胺类、氟喹诺酮类和四环素类渔药残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2013, 3(1): 51-56.  
GUO MM, TAN ZJ, SUN XJ, *et al.* Simultaneous determination of triphenylmethane, chloramphenicol, sulfonamides, fluoroquinolones and tetracycline residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin Fish Qual Stand, 2013, 3(1): 51-56.
- [7] 方从容, 高洁, 王雨昕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 125 种兽药残留[J]. 色谱, 2018, 36(11): 1119-1131.  
FANG CR, GAO J, WANG YX, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(11): 1119-1131.
- [8] 罗辉泰, 谢梦婷, 黄晓兰, 等. 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉中 63 种兽药残留[J]. 色谱, 2015, 33(4): 354-362.  
LUO HT, XIE MT, HUANG XL, *et al.* Simultaneous determination of 63 veterinary drug residues by disperse solid phase extraction with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(4): 354-362.
- [9] 郭德华, 邓晓军, 赵善贞, 等. 固相萃取-高效液相色谱/串联质谱同时检测动物源性食品中 76 种兽药残留[J]. 分析化学, 2010, 38(3): 318-324.  
GUO DH, DENG XJ, ZHAO SZ, *et al.* Simultaneous determination of 76 veterinary drug residues in animal-derived foods by solid phase extraction with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(3): 318-324.
- [10] ZHANG GJ, FANG BH, LIU YH, *et al.* Development of a multi-residue method for fast screening and confirmation of 20 prohibited veterinary drugs in feedstuffs by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2013, 936: 10-17.
- [11] 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食品中 4 类 29 种禁用兽药残留[J]. 色谱, 2014, 32(12): 1313-1319.  
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): 1313-1319.
- [12] 郝杰, 邵瑞婷, 姜洁, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋、鸡肉中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 326-331.  
HAO J, SHAO RT, JIANG J, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites residues in chicken meat and eggs by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2019, 40(2): 326-331.
- [13] 陆庆, 易路遥, 章红, 等. 超高效液相色谱串联飞行时间质谱法测定蛋及蛋制品中 18 种磺胺类药物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 3820-3828.  
LU Q, YI LY, ZHANG H, *et al.* Determination of 18 kinds of sulfonamides residues in eggs and egg products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(12): 3820-3828.
- [14] 魏玉霞, 王芳, 左郡, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定淡水鱼和淡水虾中的 11 种喹诺酮类兽药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2906-2912.  
WEI YX, WANG F, ZUO J, *et al.* Simultaneous determination of 11 quinolone residues in fresh water fish and shrimp by QuEChERS purification coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(7): 2906-2912.
- [15] 谢恺, 张琦, 郭萍, 等. 固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法同时检测水中四环素类抗生素的研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2020, 26(6): 49-51.  
XIE K, ZHANG Q, GUO P, *et al.* Simultaneous determination of tetracycline antibiotics in water by solid phase extraction ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Strait J Prev Med, 2020, 26(6): 49-51.
- [16] 曹慧, 陈小珍, 朱岩, 等. 同位素稀释-固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱技术同时测定畜禽肉中四类兽药残留[J]. 质谱学报, 2013, 34(4): 202-214.  
CAO H, CHEN XZ, ZHU Y, *et al.* Determination of four species of drugs in meat by solid phase extraction and UPLC-MS/MS with isotopes dilution [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2013, 34(4): 202-214.
- [17] 刘柏林, 谢继安, 赵紫薇, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 11 种禁用兽药及代谢物[J]. 色谱, 2021, 39(4): 406-414.

- LIU BL, XIE JA, ZHAO ZW, *et al.* Simultaneous determination of 11 prohibited and restricted veterinary drugs and their metabolites in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid phase extraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2021, 39(4): 406–414.
- [18] DASENAKI M, BLETSOU A, KOULIS G, *et al.* Qualitative multiresidue screening method for 143 veterinary drugs and pharmaceuticals in milk and fish tissue using liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(18): 4493–4508.
- [19] EDERINA N, YELENA S, STEVEN JL, *et al.* High-throughput mega-method for the analysis of pesticides, veterinary drugs, and environmental contaminants by UHPLC-MS/MS and robotic mini-SPE cleanup+LPGC-MS/MS, Part 2: Catfish [J]. *J Agric Food Chem*, 2020. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c00995
- [20] 张楠, 范赛, 薛颖, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速检测鸡肉中8种常见兽药残留[J]. *卫生研究*, 2017, 46(1): 89–93.
- ZHANG N, FAN S, XUE Y, *et al.* Rapid detection of 8 veterinary drug

residues in chicken by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Hyg Res*, 2017, 46(1): 89–93.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

### 作者简介



董曼曼, 主要研究方向为食品安全检测。  
E-mail: 1106442301@qq.com



张亚锋, 硕士, 副主任药师, 主要研究方向为药品及食品质量分析。  
E-mail: 27327242@qq.com