

动物源性食品兽药残留分析中样品前处理方法的 研究进展

钱琛, 李静, 陈桂良*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: 随着养殖业的迅猛发展, 动物源食品兽药残留问题日益成为食品安全领域的重要内容, 引起了世界范围内的广泛关注。动物源食品基质复杂, 而其中残留的兽药含量甚微, 因此, 发展快速、简易、高灵敏度、高通量的兽药残留检测技术已成为迫切需要。样品前处理技术是农兽药残留分析的关键步骤, 直接影响检测的结果。目前兽药残留检测中常用的样品前处理方法有液-液萃取、固相萃取、QuEChERS等。本文分别对兽药残留分析中常用的前处理技术进行比较全面的综述, 对近年来各种前处理技术在兽药残留分析中的新应用进行了探讨, 并对兽药残留检测技术在未来的发展方向作了进一步的展望。

关键词: 兽药残留; 样品前处理; 液-液萃取; 固相萃取; QuEChERS

Research progress of sample preparation methods in veterinary drug residue analysis for animal-derived foods

QIAN Chen, LI Jing, CHEN Gui-Liang*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: With the development of breeding industry, veterinary drug residue in animal-derived foods has become a crucial issue in food quality and safety. Because of the complexity of food matrix and the trace amount of veterinary drug residue, it is an eager demand to develop fast, simple, high sensitivity and high applicability veterinary drug residues determination methods. Sample preparation is a key step of veterinary drug residue analysis, which affects the result of testing. Currently, the common sample preparation methods are liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and QuEChERS. In this article, the commonly used sample preparation methods were reviewed; new applications of sample preparation methods in the determination of veterinary drug residue in recent years were studied; and expectations of further development were offered.

KEY WORDS: veterinary drug residue; sample preparation; liquid-liquid extraction; solid-phase extraction; QuEChERS

1 引言

食用动物养殖过程中, 出于治疗、预防疾病或促进生

长的因素, 许多养殖人员会使用多种兽药, 包括禁限用兽药。不科学的使用兽药会造成兽药在动物源性食品中残留。残留量超过世界卫生组织 WHO 和联合国粮农组织 FAO 规

*通讯作者: 陈桂良, 主任药师, 博士生导师, 主要研究方向为食品药品安全与检验。E-mail: guiliangc@hotmail.com

*Corresponding author: CHEN Gui-Liang, Chief Pharmacist, Ph.D. Mentor, Shanghai Institute for Food and Drug Control, 1500 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. E-mail: guiliangc@hotmail.com

定的最大残留限度(maximum residue limits, MRLs), 即可能对人体健康造成危害, 因此兽药残留检验是食品安全检验的重要组成部分。兽药残留检验中至关重要的步骤便是样品前处理, 近年已有多篇综述介绍兽残检验的样品前处理方法。Lara 等^[1]阐述了动物源性食品中 β -内酰胺类抗生素的检测方法与进展; Frenich 等^[2]阐述了应用 UPLC-MS 配合多种前处理方法检测食品中农药残留、兽药残留和化学添加剂的方法与进展; Bargan'ska Z 等^[3]阐述了应用多种检测方法和前处理方法检测蜂蜜中兽药残留的方法与进展; 曲斌^[4]阐述了应用 QuEChERS 作为前处理方法检测动物源性食品中兽药残留的方法与进展。本文在上述文献的基础上, 总结最新的前处理成果, 并对其在兽药残留检测的应用作介绍。

欧盟指令 2377/90/EC、96/22/EC 和 96/23/EC 明文规定了禁限用兽药的种类和限度。国内禁限用兽药的种类和限度分别为农业部 235 号公告《动物性食品中兽药最高限量》^[5]、农业部 193 号公告《食品动物禁用的兽药及其它化合物清单》^[6]和农业部 560 号公告《兽药地方标准废止目录》^[7]。刘畅^[8]总结了 3 份公告, 共有 26 类(种)动物源性食品中有最高限量或不得检出的兽药, 包括 β -受体兴奋剂、性激素类、镇静催眠类、硝基咪唑类、喹噁啉类、抗病毒药、抗生素等。这 26 类(种)兽药残留的检测, 是目前兽药残留检测中重要的目标化合物, 而对于未知兽药的筛查和结构确认, 则是兽药残留检测的重要内容之一。Hird 等^[9]认为, 液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS/MS)法是检测动物源性食品中兽药残留的“金标准”方法。

2 兽药残留检验的前处理方法

为制备适用于色谱或 LC-MS 法的供试液, 样品前处理方法需具备将样品中兽药残留提取、净化、浓缩等作用。最常用的样品前处理方法包括液-液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)、固相萃取(solid-phase extraction, SPE)、QuEChERS 等。

2.1 液-液萃取(LLE)

LLE 是一种传统的兽药残留前处理方法。该方法受基质效应影响较大, 净化效果相对较差, 可用于某些基质中部分兽药残留的定量检验, 更常用于兽药多残留的半定量筛查。Piatkowska 等^[10]比较 8 种不同的前处理方法, 建立基于 LLE 筛查鸡蛋中 85 种兽药残留的方法。常用乙腈作为提取剂, 其适用范围极广, 对大量兽药均有不错的提取效果。

表 1 中简单概括了应用 LLE 前处理技术的兽药残留筛查、检测技术, 表中大多数收录方法为近两年的新方法。如 Dasenaki 等^[11]建立的鱼肉中多达 143 种兽药残留筛查的方法, 是筛查能力较强的方法。Freitas 等^[12]与 Storey 等^[13]

建立的方法均有不错的回收率, 可以满足几十种兽药残留同时定量检验的要求。再如 Robert 等^[14]利用 UHPLC-MS/MS 高灵敏度及可进行结构确认的优势, 建立了 4 种基质中同时筛查多达 160 余种兽药残留的方法。由于主要用于定性分析, 没有公布检测限和回收率的具体数据, 仅列明用于定性检验的保留时间等方法验证参数。于洁^[15]建立了 16 种基质中同时筛查 120 种兽药残留的方法, 是国内研究领域一个大胆的尝试。虽然该方法回收率不能满足定量检验的要求, 但其对兽药多残留同时定性、定量检验提供了思路。

2.2 固相萃取(SPE)

SPE 是目前广泛使用的样品前处理方法, 已被多个国家标准收录作为法定的前处理方法。表 2 概括了近年建立的 SPE 前处理方法的兽药残留检测技术, 大多数方法为近 2 年建立的新方法, 如 Azzouz 等^[22]建立的鸡蛋、蜂蜜中 22 种兽药残留定量分析的方法, 其回收率、检测限与定量限等方法验证参数令人满意。Dasenaki 等^[23]建立的牛奶中多达 143 种兽药同时筛查的方法, 是少有的以 SPE 作为前处理方法建立的兽药多残留筛查方法。再如 Stolker 等^[24]与 Kaufmann 等^[25]分别建立的多种基质中上百种兽药残留筛查与定量检测的方法。不但可以大范围定性筛查兽药残留, 而且也具有一定定量检测的能力。

为加强萃取纯化效果、加快前处理时间, 一些改进的 SPE 技术也被采用, 包括固相微萃取、基质分散固相萃取、磁性固相萃取等。

基质分散固相萃取(matrix solid-phase extraction)是 Barker 在 1989 年提出的一种快速样品前处理技术。根据秦峰^[38]的研究, 基质分散固相萃取技术可以显著增强溶剂萃取效率。固相吸附剂的选择中, 粒径大小是重要的影响因素。而其吸附待测物的原理可能基于 pH 或极性, 也可以选择惰性吸附剂, 通过区分待测物与干扰物的粒径起到分离作用。表 2 中即有。王重洋^[30]基于该前处理方法建立的检测方法, 测定了牛肉中 4 种磺胺类兽药残留, 其回收率为 71.73%~113.13%。

随着近年对纳米材料的深入研究, 一些磁性纳米材料逐渐代替传统填料应用于固相萃取技术, 发展出新颖的磁性固相萃取技术(magnetic solid-phase extraction)。磁性固相萃取使用铁、镍、硅及其氧化物作为磁性吸附剂填充于固相萃取柱中, 通过磁性吸附待测物, 可以有效缩短萃取时间、增强萃取效果。Wierucka 等^[39]总结了近年应用磁性固相萃取技术检测动物源性食品中兽药残留的案例。这项技术在不同基质中四环素类、氟喹诺酮类、磺胺类、氯霉素、三聚氰胺及苯并咪唑类药物残留筛查、定量检测领域均有不错的效果。Karami-Osboo 等^[40]利用磁性固相萃取技术, 建立了牛奶中 2 种磺胺类兽药残留的检测方法, 其回收率达到 92.9%~102.4%。

2.3 QuEChERS 法

2003年,美国农业部 Anastassiades 等建立了 QuEChERS 作为一种农药残留样品前处理方法,适用于高湿低脂的基质环境^[41]。通过方法改进, QuEChERS 也适用于动物源性食品中复杂的基质环境,可用于兽药残留检测。QuEChERS 实质上是将传统的液-液萃取、分离和基质固相分散技术组合起来的前处理方法。该方法具有回收率

高,检测结果准确等优点,操作简单以及应用范围广使得该方法成为兽药残留定量检验的首选方法之一^[42]。2007年 Stolker 等^[43]指出,在该时期兽残检验论文中,应用 LLE 和 SPE 作为前处理方法的检测方法占到了所有方法的 80%以上。然而随着 QuEChERS 的强势崛起,近年发表的关于兽残检测技术的论文中越来越多论文应用 QuEChERS 作为前处理方法。

表 1 应用 LLE 前处理技术进行兽药残留检测的方法
Table 1 The determination of veterinary drug residues using LLE as sample preparation

被测物(种)	基质	提取方法	分析方法	方法验证参数	参考文献
氟喹诺酮类 (8)	鸡肉 猪肉 牛肉	样品经乙腈提取,取有机相与离子溶液 [C ₄ MIM][PF ₆]混合萃取,取水相进样	HPLC	回收率为 60.4%~96.3% LOD 为 0.5~1.1 μg/kg	[16]
磺胺类(9)	牛奶	样品先后与 20%三氯乙酸和乙腈混合,用氯仿提取	HPLC	回收率为 90.8%~104.7% LOD 低于 1.21 μg/kg	[17]
兽药(143)	鱼	样品经 0.1%甲酸和 0.1% 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液、甲醇、乙腈提取,己烷脱脂,氮吹后溶于甲醇-0.05%甲酸水溶液(V:V, 25:75)	UHPLC-MS	LOD 为 15~150 μg/kg	[11]
兽药(160)	牛奶 鸡蛋 蜂蜜、肉	样品经乙腈提取,氮吹后用乙腈-水(V:V, 25:75)溶解	UHPLC-MS/MS	/	[14]
5 类兽药(41)	牛肉	样品经乙腈-EDTA 混合溶液萃取,正己烷脱脂净化	UPLC-MS/MS	回收率为 91%~119% CC _α 为 0.01~513 μg/kg CC _β 为 0.02~330 μg/kg	[12]
7 类兽药(26)	水产品	样品与 EDTA-McIlvaine 缓冲液混合,分别经乙腈、p-TSA、TMPD 提取,氮吹后用流动相溶解	LC-MS/MS	除磺胺嘧啶外,其他回收率在 88%~118%之间 LOD 为 0.073~0.915 μg/kg	[13]
磺胺类(16)	肝脏	样品用乙腈萃取,超声处理后用正己烷脱脂。	LC-MS/MS	回收率为 80%~120% LOQ 为 10~25 μg/kg	[18]
5 类兽药(33)	牛奶	样品经乙腈提取,氮吹后用流动相溶解	LC-MS/MS	LOD 为 0.01~3.7 μg/kg	[19]
8 类兽药(38)	水产品	样品经 1%乙酸-乙腈提取,正己烷脱脂净化	LC-MS/MS	回收率为 43~123% LOQ 为 5~20 μg/kg	[20]
兽药和真菌毒素(21)	鸡蛋	样品经甲醇-水-乙酸(V:V:V, 80:20:1)提取,醋酸钠和无水硫酸镁净化	LC-MS/MS	除拉沙里菌素 A 和苯唑西林外,其他回收率在 62%~95%之间 LOD 为 0.9~27.1 μg/kg	[21]
10 类兽药 (120)	16 种动物组织	样品分别经乙腈和水提取	LC-MS/MS	约 70% 被测物回收率在 30~50%之间 LOD 为 0.5~3.0 μg/kg LOQ 为 1.5~10.0 μg/kg	[15]

表 2 应用 SPE 前处理技术进行兽药残留检验的方法
Table 2 The determination of veterinary drug residues using SPE as sample preparation

被测物(种)	基质	提取方法	分析方法	方法验证参数	参考文献
兽药(22)	鸡蛋 蜂蜜	样品经乙腈-水(V:V, 3:2)提取, HLB 固相萃取柱净化, 氮吹浓缩	GC-MS	回收率为 87%~102% LOD 为 0.4~3.3 μg/kg LOQ 为 1.2~10 μg/kg	[22]
抗生素(38)	牛奶	样品经水和乙腈分别提取, 下层氮吹后加 0.1 mol/L PBS, HLB 固相萃取柱净化, 乙腈-水(V:V, 1:1)洗脱	UPLC-MS/MS	回收率为 68%~118% LOQ 为 0.03~10 μg/kg	[26]
兽药(143)	牛奶	样品经乙腈-5%三氯乙酸(V:V, 1:3)提取, HLB 固相萃取柱净化, 用甲醇洗脱	UHPLC-MS	LOD 为 15~150 μg/kg	[23]
磺胺类、硝基咪唑类、喹诺酮类(27)	蜂蜜	样品经水与正己烷分别提取, Strata-X 固相萃取柱净化, 用乙腈-氨水(V:V, 70:30)和甲醇-氨水(V:V, 70:30)分别洗脱	LC-MS/MS	除磺胺甲噁唑外, 其余回收率在 83.2%~122%之间 LOD 小于 2 μg/kg LOQ 小于 3 μg/kg	[27]
7 类兽药(39)	肝脏	样品经乙腈与 0.1 mol/L EDTA 溶液分别提取, HLB 固相萃取柱净化, 用乙腈洗脱	UPLC-MS/MS	回收率为 81%~110% CC α 为 0.22~1024 μg/kg CC β 为 0.48~1048 μg/kg	[28]
8 类兽药(23)	双壳类 水产品	样品经甲醇-水(V:V, 1:2)提取, 加入水与 EDTA, HLB 固相萃取柱净化, 用甲醇洗脱	UPLC-MS/MS	回收率为 40%~115% LOD 为 0.01~1.11 μg/kg LOQ 为 0.02~3.70 μg/kg	[29]
磺胺类(4)	牛肉	样品与固相萃取剂硅藻土混合装柱, 用甲醇洗脱	UFLC	回收率为 71.73%~113.13% LOD 为 4.39~7.82 μg/kg LOQ 为 14.62~26.08 μg/kg	[30]
11 类兽药(66)	猪肉	样品经乙腈-甲醇(V:V, 95:5)和乙腈-水(V:V, 15:2)分别提取后, PEP 固相萃取柱净化, 分别用乙腈和甲醇洗脱, 氮吹后用乙腈-水(V:V, 20:80)溶解	UPLC-MS/MS	回收率为 35%~140% LOD 为 0.2~5 μg/kg LOQ 为 0.5~20 μg/kg	[31]
非甾体抗炎药(10)	牛肝 猪肝 鸡肝	样品经乙腈和 0.002 mol/L 甲酸铵溶液提取, C ₁₈ 吸附剂净化, 氮吹后用蒸馏水溶解	LC-MS/MS	除 1 种外, 其他回收率在 65%~100%之间 LOD 为 0.5~10 μg/kg LOQ 为 1.0~30 μg/kg	[32]
β -受体激动剂(22)	猪肉 猪肝	样品用 β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶水解, 正己烷脱脂后, 用 MCX 固相萃取柱净化, 5%氨水-乙酸乙酯洗脱, 氮吹后用甲醇-0.1%甲酸(V:V, 10:90)溶解	LC-MS	回收率为 80%~125% LOD 均不大于 0.5 μg/kg	[33]
β -受体激动剂(31)	猪肉	样品经葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶水解, 乙腈提取, C ₁₈ 、PSA 和无水硫酸镁净化, 氮吹后用 0.1%甲酸-乙腈(V:V, 5:95)溶解	LC-MS	绝大部分化合物回收率为 39.0%~151.5% LOD 为 0.01~5 μg/kg LOQ 为 0.1~10 μg/kg	[34]
喹诺酮类(7)	禽畜肉 水产品 牛奶	样品经 2%甲酸-乙腈溶液提取, 正己烷脱脂, 下层蒸干, 0.2%甲酸溶液溶解, HLB 固相萃取柱净化, 甲醇洗脱, 氮吹后用 0.2%甲酸和甲醇溶解	LC-MS	回收率为 60%~120% LOD 小于 0.2 μg/kg LOQ 小于 1.0 μg/kg	[35]
β -受体兴奋剂、镇静剂、磺胺类(73)	猪肉	样品经乙腈提取, 用 PSA、C ₁₈ 和无水硫酸镁净化, 氮吹后用甲酸-乙腈(V:V, 5:95)溶解	UPLC-MS	除磺胺硝苯、硝西洋外, 其余回收率在 60%~120%之间 LOD 为 0.01~5 μg/kg LOQ 为 0.1~10 μg/kg	[8]

续表2

被测物(种)	基质	提取方法	分析方法	方法验证参数	参考文献
兽药(36)	蜂蜜	样品经磷酸溶液提取, 过 HLB 串联 PSA 固相萃取柱净化, 用氨水-甲醇(V:V, 2:98)洗脱, 氮吹后用甲醇-0.1%甲酸(V:V, 1:3)溶解	UPLC-MS	回收率为 63.2%~125.5% LOD 为 0.4~4.0 μg/kg	[36]
兽药(76)	猪肉 牛奶 肝脏 鸡蛋 虾	样品经乙腈和柠檬酸缓冲液分别提取, PEP 固相萃取柱和 MCX 固相萃取柱净化, 甲醇和甲醇-氨水(V:V, 95:5)分步洗脱, 氮吹后用 0.1%甲酸水-甲醇(V:V, 9:1)溶解	LC-MS/MS	回收率为 59.4%~115.3% LOQ 为 0.5~20 μg/kg	[37]
13 类兽药 (101)	牛奶	样品经 0.1%甲酸水溶液与水-乙腈-甲酸(V:V:V, 100:900:1)分别提取, Strata-X 固相萃取柱净化, 甲醇洗脱	UPLC-MS	88% 被测物回收率在 80%~120%之间 CCβ 为 1.2~100 μg/kg	[24]
兽药(108)	肌肉 肝脏 肾脏	样品经水-乙腈-甲酸(V:V:V, 947:50:3)与乙腈-水-甲酸(V:V:V, 947:50:3)分别提取, HLB 柱净化, 乙腈洗脱	UPLC-MS	约 60% 被测物回收率在 80%~120%之间 CCα 为 1~1000 μg/kg	[25]

QuEChERS 之所以在兽药残留检测领域迅速占有一席之地, 是因为其具有特殊的优势: 可以根据不同基质和不同兽药的物理、化学性质, 通过调整提取溶剂、pH、盐类或稀释剂等来适应不同情况^[44]。为适应动物源性基质的特性, 近年开展了一些改进工作, 如杨黎忠^[45]比较了甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯、甲酸-乙腈(V:V=1:99)和不同比例乙酸-乙腈等 6 种常用溶剂提取的效果, 结果表明, 乙酸-乙腈(V:V=1:99)的提取效果最佳; 在净化过程中, 不同吸附剂可起到不同净化效果。采用 PSA 和 C₁₈ 作为净化剂, 可去除基质中的脂类、蛋白质、有机酸、糖类干扰物。C₁₈ 吸附剂可以去除基质中的脂类和蛋白质, NH₂、PSA 和 SAX 等吸附剂, 可以更好地去除基质中的极性有机酸、糖类和脂肪酸等酸性干扰物。表 3 概述了通过 QuEChERS 完成的大量兽残检测新方法和传统方法。相比较传统方法, 近年新方法的定量检验能力有显著提升, 如 Kung 等^[46]建立的检测鱼肉中 14 种磺胺类药物的方法, 其回收率达到 80.2%~93.5%, 有较灵敏的检测限与定量限。Lombardo-Agüí 等^[47]、Arroyo-Manzanares 等^[48]、李娜等^[49]建立的方法均同样有良好的方法验证参数, 定量检验能力值得信任。

2.4 其他样品前处理方法

除上述 3 种外, 其他样品前处理方法包括超临界流体萃取法(SFE)、微波萃取法(MAE)、分子印迹技术、基质固相分散(MSPD)技术、免疫亲和色谱(IAC)技术等。这些方法在目前均有各自的缺陷, 如超临界流体萃取法的萃取率

相对较低, 选择性不高; 分子印迹技术对使用环境要求较高, 操作复杂; 免疫亲和和色谱价格相对昂贵。由于多方面原因, 使得这些前处理方法目前尚未得到大规模应用。

3 展望

尽管经过近年的研究, 兽药残留检测的前处理技术已有一定进展, 然而目前尚存在一些问题, 亟待研究改进。国内外标准规定的禁限用兽药的种类成百上千, 未知化学添加剂更是不可预料, 而食品检验周期限制常常很短。尤其是重大赛事保障任务, 不但工作量大、不容有失, 更是时间紧迫, 这就对兽药残留多组分筛查的能力提出了更高的要求。开发准确、快速、通用的样品前处理方法势在必行。

对于检验同一前处理方法处理后的被测物含量, 使用不同分析方法, 结果的准确度、精密度和检测时间上有一定区别。Frenich 等^[2]比较了 HPLC 与 UPLC 在兽药多残留检测中的作用, 表明通过 UPLC 得到的色谱峰峰宽相对较窄, 分辨率相对较高。单个样品的检验一般在 10 min 以内即可完成, 10 种磺胺类药物的多残留检测仅需 20 min 即可完成。不同分析方法之间的显著差异给开发新仪器、新分析方法提出了要求。通过发展分析方法提高检验效率并加快检验速度对检验检测机构有非常现实的意义。

另外, 动物源性食品中基质效应较强, 对结果的准确度和精密度造成很大影响。近年发表的 2 篇文献皆通过 LC-MS 的方法测定蜂蜜中氯霉素的含量, 用到了不同的前处理方法(LLE、SPE 和 QuEChERS), 结果表明: 使用

表 3 应用 QuEChERS 前处理技术进行兽药残留检验的方法
Table 3 The determination of veterinary drug residues using QuEChERS as sample preparation

被测物(种)	基质	提取方法	分析方法	方法验证参数	参考文献
磺胺类(14)	鱼	样品经乙腈提取, 用 C ₁₈ 吸附剂净化	LC-MS/MS	回收率为 80.2%~93.5% LOD 为 0.43~1.22 μg/kg LOQ 为 1.27~3.71 μg/kg	[46]
磺胺类(24)	15 种 基质	样品经水和乙酸-乙腈(V:V, 1:99)分别提取, 用 PSA 吸附剂净化, 氮吹后用甲酸-95%甲醇(V:V, 1:9999)溶解	LC-MS/MS	回收率为 50%~120% LOD 为 0.5~14.5 μg/kg LOQ 为 1.8~48.4 μg/kg	[50]
喹诺酮类(8)	鱼	样品经甲酸-乙腈(V:V, 5:95)提取, 用 C ₁₈ 与 PSA 吸附剂净化, 氮吹后用水-乙腈-甲酸(V:V:V, 88:10:2)溶解	UPLC	回收率为 72%~108% LOD 为 0.1~4.7 μg/kg LOQ 为 0.3~15.6 μg/kg	[47]
5 类兽药(55)	猪肉 羊肉 牛肉	样品经 5%乙酸-乙腈提取, 用 C ₁₈ 吸附剂净化, 氮吹后用甲酸-水-乙腈(V:V:V, 1:900:100)溶解	LC-MS/MS	89.1% 待测物回收率为 70%~120% LOQ 为 0.1~20 μg/kg	[51]
磺胺类(9)	牛奶	样品经 5%乙酸-乙腈提取, 用 C ₁₈ 与 PSA 吸附剂净化, 氮吹后用氨丁三醇缓冲液溶解	HPLC	回收率为 83.6%~104.8% LOD 低于 2.73 μg/kg	[48]
兽药(60)	蜂蜜	样品经 5%乙酸-乙腈提取, 用 NH ₂ 吸附剂净化, 氮吹后用 0.1%甲酸-乙腈(V:V, 9:1)溶解	LC-MS/MS	回收率为 70%~120% LOD 为 0.01~17.99 μg/kg LOQ 为 0.02~59.97 μg/kg	[52]
四环素类、磺胺类、喹诺酮类、金刚烷胺(29)	鸡肉 鸡肝 猪肉 猪肝	样品经乙腈提取, 用 C ₁₈ 和 NH ₂ 吸附剂净化, 氮吹后用 0.1%甲酸-甲醇(V:V, 9:1)溶解	UPLC-MS/MS	回收率为 71.5%~93.2% LOD 为 0.3~3.0 μg/kg	[49]
兽药(72)	虾	样品经 5%乙酸-乙腈提取, 用 C ₁₈ 吸附剂净化, 氮吹后用 0.1%甲酸-乙腈(V:V, 4:1)溶解	LC-MS/MS	除 6 种兽药外, 其余回收率为 61%~119% LOQ 为 0.02~33.58 μg/kg	[53]
兽药(29)	牛奶	样品经 1%甲酸-乙腈提取, 用 C ₁₈ 吸附剂净化	UPLC-MS	回收率为 68.2%~129.1% LOQ 为 1~100 μg/kg	[54]
兽药(59)	牛奶 蜂蜜	样品经乙腈与水溶液(含 0.1%甲酸与 0.01 mol 甲酸铵)提取, 用无水硫酸镁和乙酸钠净化, 氮吹后用乙腈溶解	UPLC-MS	蜂蜜中 31 种、牛奶中 34 种兽药回收率在 50%~120%之间 LOQ 为 1~100 μg/kg	[55]
11 类兽药(120)	牛肾	样品经 80%乙腈溶液提取, 正己烷脱脂, 用 C ₁₈ 吸附剂净化	LC-MS/MS	66 种兽药回收率在 70%~120%之间 109 种兽药的 LOD 低于 10 μg/kg	[56]
11 类兽药(21)	鸡肉	样品经 1%乙酸-乙腈溶液提取, NH ₂ 吸附剂净化	LC-MS/MS	除 3 种兽药, 其他兽药回收率在 60%~90%之间 CC _α 为 0.27~444 μg/kg CC _β 为 0.45~487 μg/kg	[57]
兽药(18)	牛奶	样品经 1%乙酸-乙腈提取, 醋酸钠净化	UPLC-MS	回收率为 70%~110% LOD 为 1~4 μg/kg	[58]

QuEChERS 完成样品前处理得到的实验结果(回收率为78%~92%, LOD 约为 0.002 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ 约为 0.006 $\mu\text{g}/\text{kg}$)明显好于通过 LLE 或 SPE 完成样品前处理得到的实验结果(回收率为 64%~74%, LOD 约为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ 约为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)^[59,60]虽然两篇文章实验条件并非完全一致,但其结果对定量检验中前处理方法对结果的影响有一定启示。通过改进样品前处理方法,建立准确度、精密度、回收率更高的检验方法,对保障食品安全有极大价值。

参考文献

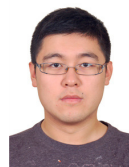
- [1] Lara FJ, Olmo-Iruela M, Cruces-Blanco C, *et al.* Advances in the determination of β -lactam antibiotics by liquid chromatography [J]. Trends Anal Chem, 2012, 38: 52–66.
- [2] Frenich AG, Romero-Gonzalez R, Aguilera-Luiz MM. Comprehensive analysis of toxics (pesticides, veterinary drugs and mycotoxins) in food by UHPLC-MS [J]. Trends Anal Chem, 2014, 63: 158–169.
- [3] Bargan'ska Z, S'lebioda M, Namies'nik J. Determination of antibiotic residues in honey [J]. Trends Anal Chem, 2011, 30(7): 1035–1041.
- [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] 中华人民共和国农业部 235 号公告. 动物性食品中兽药最高残留限量 [Z].
Peoples' Republic of China Ministry of Agriculture Bulletin No. 235. The maximum residue limits of veterinary drugs in animal derived foods [Z].
- [6] 中华人民共和国农业部 193 号公告. 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单 [Z].
Peoples' Republic of China Ministry of Agriculture Bulletin No. 193. List of banned veterinary drugs and compounds in animal derived foods [Z].
- [7] 中华人民共和国农业部 560 号公告. 兽药地方标准废止目录 [Z].
Peoples' Republic of China Ministry of Agriculture Bulletin No. 560. List of abandon veterinary drug provincial standards [Z].
- [8] 刘畅. 食品中兽药残留高通量筛查与检测平台的建立及膳食暴露评估研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
Liu C. Studies of high-throughput screening and determination platform for veterinary residues in food and diary exposure assessment [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2013.
- [9] Hird SJ, Lau BPY, Schuhmacher R, *et al.* Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of chemical contaminants in food [J]. Trends Anal Chem, 2014, 59: 59–72.
- [10] Piatkowska M, Jedziniak P, Zmudzki J. Comparison of different sample preparation procedures for multiclass determination of selected veterinary drug, coccidiostat and insecticide residues in eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Methods, 2014, 6, 3034–3044.
- [11] Dasenaki ME, Bletsou AA, Koulis GA, *et al.* Qualitative multi-residue 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, just accepted.
- [12] Freitas A, Barbosa J, Ramos F. Multi-residue and multi-class method for the determination of antibiotics in bovine muscle by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Meat Sci, 2014, 98: 58–64.
- [13] Storey JM, Clark SB, Johnson AS, *et al.* Analysis of sulfonamides, trimethoprim, fluoroquinolones, quinolones, triphenylmethane dyes and methyltestosterone in fish and shrimp using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2014, 972: 38–47.
- [14] Robert C, Gillard N, Brasseur PY, *et al.* Rapid multi-residue and multi-class qualitative screening for veterinary drugs in foods of animal origin by UHPLC-MS/MS [J]. Food Addit Contam: Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2013, 30(3): 443–457.
- [15] 于洁. 兽用抗微生物药物残留质谱筛选方法研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
Yu J. Develop a liquid chromatography combined with mass spectrometry screening method for veterinary anti-microbial drugs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.
- [16] Wang GN, Feng C, Zhang HC, *et al.* Determination of fluoroquinolone drugs in meat by ionic-liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction-high performance liquid chromatography [J]. Anal Methods, 2015, 7: 1046–1052.
- [17] Arroyo-Manzanares N, Gámiz-Gracia L, García-Campana AM. Alternative sample treatments for the determination of sulfonamides in milk by HPLC with fluorescence detection [J]. Food Chem, 2014, 143: 459–464.
- [18] Hoff RB, Pizzolato TM, Peralba MCR, *et al.* Determination of sulfonamide antibiotics and metabolites in liver, muscle and kidney samples by pressurized liquid extraction or ultrasound-assisted extraction followed by liquid chromatography-quadrupole linear ion trap-tandem mass spectrometry (HPLC-QqLIT-MS/MS) [J]. Talanta, 2015, 134: 768–778.
- [19] Freitas A, Barbosa J, Ramos F. Development and validation of a multi-residue and multiclass ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry screening of antibiotics in milk [J]. Int Dairy J, 2013, 33: 38–43.
- [20] 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.
Xiong CL, Guo P, Zhan CR, *et al.* Simultaneous determination of 8 kinds of 38 veterinary drug residues in aquatic products by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2013, 32(2): 193–198.
- [21] Capriotti AL, Cavaliere C, Piovesana S, *et al.* Multiclass screening method based on solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of antimicrobials and mycotoxins in egg [J]. J Chromatogr A, 2012, 1268: 84–90.
- [22] Azzouz A, Ballesteros E. Multiresidue method for the determination of pharmacologically active substances in egg and honey using a continuous solid-phase extraction system and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Chem, 2015, 178: 63–69.
- [23] Dasenaki ME, Bletsou AA, Koulis GA, *et al.* Qualitative multi-residue 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, just accepted.
- [24] Stolker AAM, Rutgers P, Oosterink E, *et al.* Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC-ToF-MS [J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 391: 2309–2322.

- [25] Kaufmann A, Butcher P, Maden K, *et al.* Quantitative multiresidue method for about 100 veterinary drugs in different meat matrices by sub 2- μ m particulate high-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1194: 66–79.
- [26] Han RW, Zheng N, Yu ZN, *et al.* Simultaneous determination of 38 veterinary antibiotic residues in raw milk by UPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2015, 181: 119–126.
- [27] Galarini R, Saluti G, Giusepponi D, *et al.* Multiclass determination of 27 antibiotics in honey [J]. *Food Control*, 2015, 48: 12–24.
- [28] Freitas A, Barbosa J, Ramos F. Multidetecion of antibiotics in liver tissue by ultra-high-pressure-liquid-chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 976–977: 49–54.
- [29] Alvarez-Muñoz D, Huerta B, Fernandez-Tejedor M, *et al.* Multi-residue method for the analysis of pharmaceuticals and some of their metabolites in bivalves [J]. *Talanta*, 2015, 136: 174–182.
- [30] 王重洋. 基质固相分散-色谱法分析食品中磺胺类兽药残留、苏丹红染料及挥发性成分 [D]. 长春: 吉林大学, 2014.
Wang CY. Analysis of sulfonamide residues, Sudan dyes and volatile constituents in food by matrix solid phase dispersion and chromatography [D]. Changchun: Jilin University, 2014.
- [31] 班付国, 胡兴娟, 吴宁鹏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中66种兽药残留的研究 [J]. *中国兽药杂志*, 2014, 48(6): 40–51.
Ban FG, Hu XJ, Wu NP, *et al.* Simultaneous determination of 66 kinds of veterinary drugs in porcine muscle using ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Vet Drug*, 2014, 48(6): 40–51.
- [32] Kang JW, Park SJ, Park HC, *et al.* Multiresidue determination of ten nonsteroidal anti-inflammatory drugs in bovine, porcine, and chicken liver tissues by HPLC-MS/MS [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 174: 1–5.
- [33] 黄泓, 夏苏捷, 刘畅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和猪肝中22种 β -激动剂 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(4): 1155–1165.
Huang H, Xia SJ, Liu C, *et al.* Determination of 22 β -agonists in pork and pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(4): 1155–1165.
- [34] 刘畅, 陈燕, 李晓雯, 等. 高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法同时测定猪肉中31种 β -受体激动剂 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26(5): 464–469.
Liu C, Chen Y, Li XW, *et al.* Determination of 31 β -agonists in pork by high performance liquid chromatography-Q-time of flight mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2014, 26(5): 464–469.
- [35] 孙丕, 王柯, 刘畅. 液质联用法测定禽畜肉、水产品、牛奶中7种喹诺酮类药物的残留 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(16): 2341–2345.
Sun P, Wang K, Liu C. Simultaneous determination of 7 quinolones in poultry meat, aquatic products and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2014, 24(16): 2341–2345.
- [36] 何强, 孔祥虹, 李建华, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蜂蜜中硝基咪唑类、磺胺类、喹诺酮类兽药残留 [J]. *分析实验室*, 2010, 29(3): 101–105.
He Q, Kong XH, Li JH, *et al.* Simultaneous determination of nitroimidazoles, sulfonamides and quinolones residues in honey by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometric detection [J]. *Chin J Anal Lab*, 2010, 29(3): 101–105.
- [37] 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, (3): 318–324.
Guo DH, Deng XJ, Zhao SZ, *et al.* Simultaneous determination of 76 veterinary drug residues in food stuffs of animal origin by solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2010, (3): 318–324.
- [38] 秦峰. 基质固相分散技术在兽药残留分析中的应用 [J]. *化学通报*, 2009, 2: 130–132.
Qin F. Application of matrix solid-phase dispersion in analysis of veterinary drugs residues [J]. *Chem*, 2009, 2: 130–132.
- [39] Wierucka M, Biziuk M. Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples [J]. *Trends Anal Chem*, 2014, 59: 50–58.
- [40] Karami-Osboo R, Miri R, Javidnia K, *et al.* Extraction and determination of sulfadiazine and sulfathiazole in milk using magnetic solid phase extraction-HPLC-UV [J]. *Anal Methods*, 2015, 7: 1586–1589.
- [41] 易江华, 段振娟, 方国臻, 等. QuEChERS方法在食品农兽药残留检测中的应用 [J]. *中国食品学报*, 2013, 13(2): 153–158.
Yi JH, Duan ZJ, Fang GZ, *et al.* Study of QuEChERS method for the detection of pesticides and veterinary drug residues in foods [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2013, 13(2): 153–158.
- [42] 王伟. LC-MS/MS测定蜂蜜中兽药多残留 [D]. 保定: 河北大学, 2013.
Wang W. Determination of veterinary multi-residues in honey by LC-MS/MS [D]. Baoding: Hebei University, 2013.
- [43] Stolker AAM, Zuidema T, Nielen MWF. Residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents [J]. *Trends Anal Chem*, 2007, 26(10): 967–979.
- [44] Freitas A, Barbosa J, Ramos F. Multidetecion of antibiotics in liver tissue by ultra-high-pressure-liquid-chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 976–977: 49–54.
- [45] 杨黎忠. 食品中未知农兽药残留的高分辨质谱筛查方法研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2013.
Yang LZ. Development of screening method for unknown compounds, focusing on pesticide and veterinary drug residues in foodstuffs by high resolution mass spectrometry [D]. Xiamen: Jimei University, 2013.
- [46] Kung TA, Tsai CW, Ku BC, *et al.* A generic and rapid strategy for determining trace multiresidues of sulfonamides in aquatic products by using an improved QuEChERS method and liquid chromatography-electrospray quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, 175: 189–196.
- [47] Lombardo-Agüi M, García-Campana AM, Cruces-Blanco C, *et al.* Determination of quinolones in fish by ultra-high performance liquid chromatography with fluorescence detection using QuEChERS as sample treatment [J]. *Food Control*, 2015, 50: 864–868.
- [48] Arroyo-Manzanares N, Gámiz-Gracia L, García-Campana AM. Alternative sample treatments for the determination of sulfonamides in milk by HPLC with fluorescence detection [J]. *Food Chem*, 2014, 143: 459–464.
- [49] 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种禁限用兽药残留 [J]. *色谱*, 2012, 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*, 2012, 32(12): 1313–1319.
- [50] Abdallah H, Arnaudguilhem C, Lobinski R, *et al.* A multi-residue analysis of sulphonamides in edible animal tissues using QuEChERS extraction and HPLC-MS/MS [J]. *Anal Methods*, 2015, 7: 1549–1557.
- [51] Kang J, Fan CL, Chang QY, *et al.* Simultaneous determination of multi-class veterinary drug residues in different muscle tissues by modified QuEChERS combined with HPLC-MS/MS [J]. *Anal Methods*, 2014, 6: 6285–6293.
- [52] 王伟, 石志红, 康健, 等. 改进的 QuEChERS 结合 LC-MS /MS 同时测定蜂蜜中 60 种兽药残留[J]. *分析实验室*, 2013, 32(4): 82–88.
Wang W, Shi ZH, Kang J, *et al.* Simultaneous determination of 60 multi-residues of veterinary drugs in honey by modified QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2013, 32(4): 82–88.
- [53] 卜明楠, 石志红, 康健, 等. QuEChERS 结合 LC-MS/MS 同时测定虾肉中 72 种兽药残留[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(5): 552–558.
Bu MN, Shi ZH, Kang J, *et al.* Simultaneous determination of 72 veterinary drugs in shrimp by modified QuEChERS and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2012, 31(5): 552–558.
- [54] 高馥蝶, 赵妍, 邵兵, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查牛奶中的农药和兽药残留[J]. *色谱*, 2012, 30(6): 560–567.
Gao FD, Zhao Y, Shao B, *et al.* Determination of residues of pesticides and veterinary drugs in milk by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2012, 30(6): 560–567.
- [55] Wang J, Leung D. The challenges of developing generic extraction procedure to analyze multi-class veterinary drug residues in milk and honey using ultra-high pressure liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Drug Test Anal*, 2012, 4: 103–111.
- [56] Schneider MJ, Lehotay SJ, Lightfield AR. Evaluation of a multi-class, multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for analysis of 120 veterinary drugs in bovine kidney [J]. *Drug Test Anal*, 2012, 4(1): 91–102.
- [57] Stubbings G, Bigwood T. The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) approach [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 637(1/2): 68–78.
- [58] Aguilera-Luiz MM, Vidal JLM, Romero-Gonzalez R, *et al.* Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1205: 10–16.
- [59] Ortelli D, Edler P, Corvi C, *et al.* Analysis of chloramphenicol residues in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2004, 59(1–2): 61–64.
- [60] Pan C, Zhang H, Chen S, *et al.* Determination of chloramphenicol residues in honey by monolithic column liquid chromatography-mass spectrometry after use of QuEChERS clean-up [J]. *Acta Chromatogr*, 2006, 17: 320–327.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



钱琛, 硕士, 主要研究方向是食品
药品安全与检验。

E-mail: qcsifdc@hotmail.com



陈桂良, 主任药师, 博士生导师, 主
要研究方向为食品药品安全与检验。

E-mail: guiliangc@hotmail.com