

动物源性食品中磺胺类药物残留能力验证 关键技术点分析

王琳玲*, 王焕新, 柴平海

(上海华测品标检测技术有限公司, 上海 200237)

摘 要: **目的** 通过参加能力验证, 提高实验室对动物源性食品中磺胺类药物残留能力验证的检测能力。**方法** 依据能力验证作业指导书并参照 GB/T 20759-2006 及农业部 1077 号公告-1-2008 针对不同样品基质, 设计合适的检测实验方案, 对样品进行前处理, 采用液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)进行检测。**结果** 样品 S18-10、H-18-05 检验结果与能力验证组织单位结果一致, 能力验证过程中的关键点如内标的添加、样品均质、质控样的使用及质谱检测定性定量的准确性等尤为重要。**结论** 通过能力验证可以确保日常检测结果准确可靠, 同时还可以提高实验室检测人员的技术水平, 加强实验室质量控制。**关键词:** 能力验证; 动物源性食品; 兽药残留; 液相色谱-串联质谱法

Analysis of proficiency testing for sulfonamides residues in animal-derived food

WANG Lin-Ling*, WANG Huan-Xin, CHAI Ping-Hai

(Centre Testing International (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 200237, China)

ABSTRACT: Objective To effectively improve the capability of detection techniques for sulfonamides residues in animal-derived food by participating in capacity verification. **Methods** Appropriate test protocols were designed for different sample substrates according to the capability verification work instruction and in accordance with GB/T 20759-2006 and Ministry of Agriculture announcement No. 1077-1-2008. After pretreatment, samples were analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Results** The results of S18-10 and H-18-05 were consistent with the results of the organization unit for capacity verification. Key points in the process of capacity verification, such as addition of internal standard, sample homogeneity, use of quality control sample and qualitative and quantitative accuracy of mass spectrometry detection were particularly important. **Conclusion** The ability verification can ensure the accuracy and reliability of daily test results, improve the technical level of laboratory testing personnel, and strengthen the quality control of laboratory. **KEY WORDS:** proficiency testing; animal-derived food; drug residues; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

*通讯作者: 王琳玲, 硕士, 工程师, 主要研究方向为日用化学品和食品质量安全。E-mail: linling_wang@yeah.net

*Corresponding author: WANG Lin-Ling, Master, Engineer, Centre Testing International (Shanghai) Co., Ltd. No 1996 New JinQiao Road, Pudong District, Shanghai, 200237, China. Email: linling_wang@yeah.net

1 引言

能力验证是反映实验室质量管理体系有效性的重要手段,对实验室中隐藏的风险有预测和预警的作用^[1-3]。兽药在动物防疫治病、促进生长和维护公共卫生安全方面应用广泛,但在畜牧养殖、渔业生产等过程中存在一定的滥用、误用现象,常造成药物在动物体内的蓄积^[4],进而引起相应食材的污染,可能使人体产生耐药性或过敏反应等副作用,威胁人民饮食健康^[5-9]。而由兽残残留问题造成的技术性贸易壁垒也给实验室检测工作的带来了新的挑战和要求^[10-13]。因能力验证的考核结果与参加实验室能否承担相关检验检测项目、获得认可资质等因素相关联,实验室对能力验证工作高度重视。

我实验室已连续多年参加动物源性食品兽药残留的盲样考核及能力验证项目,涉及定性及定量指标,一为畜禽类产品中兽药和违禁添加物残留检测能力验证;二为水产品中磺胺类药物残留测定。为了避免在以后的检测活动中避免发生相同的错误,提高实验室检测质量,并探讨能力验证的过程中可能出现的问题,以期为今后实验室的能力验证工作提供参考。

2 材料与方法

2.1 样品

样品由能力验证组织机构提供(水产类磺胺 H-18-05、猪肉中的磺胺 S-18-10)。

2.2 试剂与仪器

磺胺嘧啶(98%)、磺胺二甲基嘧啶(99.6%)、磺胺甲基嘧啶(99.2%)、磺胺间甲氧嘧啶(98%)(德国 Dr.Ehrenfer 公司);乙腈、正己烷(色谱纯,德国 Merck 公司);异丙醇(色谱纯,美国安普公司)。

高效液相色谱-串联质谱联用仪(Waters TQS Micro);旋转蒸发器(德国 IKA 公司);涡旋振荡器(德国 IKA 公司)。

2.3 方法

实验类别及检测方法见表 1。

表 1 2 种方法比较

Table 1 Comparison of the 2 methods

类别	检测方法	前处理过程简述
畜禽产品中兽药和违禁添加物残留检测	GB/T 20759-2006	乙腈提取 2 次,合并提取液,加入异丙醇,50℃旋蒸,复溶,正己烷净化,取下层清液,待用。
水产品中药物残留检测	农业部 1077 号公告-1-2008	酸化乙腈超声提取 2 次,合并提取液,40℃旋蒸,复溶,正己烷净化,取下层清液,待用。

3 结果与分析

3.1 样品前处理

3.1.1 样品提取

在加入内标和提取液后,涡旋 30 s,更好地避免样品结块造成的目标药物的损失,进行均质,减少刀头上样品的粘附,在不同样品间添加试剂空白清洗刀头,避免样品间的交叉污染。

为了提高回收率,采用质控样品对提取次数进行优化,实验证明提取 3 次后,药物的提取效率可达 95%以上(表 2)。但是由于提取液过多,在蒸发时溶液如果爆沸极易溅到旋蒸仪的瓶颈上造成药物损失,降低回收率。旋转蒸发提取液时应控制水浴温度及蒸发速度,分次蒸发,有必要时加入 2 mL 正丙醇避免发生爆沸造成药物损失。

表 2 不同提取次数对检测结果的影响

Table 2 Effects of different extraction times on the detection results

样品名称	样品基质	提取次数	磺胺嘧啶 实测值/(μg/kg)	理论加标量 /(μg/kg)	回收率 /%
样品 1	猪肉	2	35.2	50.0	70.4
样品 2	猪肉	3	43.0	50.0	86.0
样品 3	鱼肉	2	37.3	50.0	74.6
样品 4	鱼肉	3	45.6	50.0	91.2

方法中要求的旋蒸温度分别为 50℃和 40℃,在实验中尝试采用质控样进行回收率比对,45℃时不易爆沸且烘干时间保持在 5 min 左右(表 3)。

表 3 不同旋蒸温度对检测结果的影响

Table 3 Effects of different spin evaporation temperatures on the detection results

样品名称	样品基质	旋蒸温度/℃	磺胺嘧啶 实测值/(μg/kg)	理论加标量 /(μg/kg)	回收率 /%
样品 5	草鱼	50	40.2	50.0	80.4
样品 6	草鱼	45	44.0	50.0	88.0
样品 7	草鱼	40	43.5	50.0	87.0
样品 8	草鱼	35	45.0	50.0	90.0

3.1.2 样品净化

由于猪肉样品比鱼肉样品中的脂肪含量更高,使用正己烷进行液液萃取时无法一次净化完全,可以采用冷冻离心法提高除脂效率。

3.2 人员操作

检验人员掌握操作技巧和操作流程的偏差,是造成检测结果偏差的重要原因,人员操作失误造成的能力验证

结果离群的出现频率较低,但不排除偶然失误的可能,很多检测项目看似简单,一些关键步骤的处理却容易出现失误。比如在提取过程中,样品的处理步骤为:称取 5 g 试样,准确加入 50 μ L 混合内标工作液,涡旋混合 30 s,加入 10 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,再加入 20 mL 酸化乙腈,涡旋混合 1 min,超声波提取 10 min。样品的提取过程较为简单,但存在“避光”、“涡旋混合”等过程,另外由于样品为水产品或畜禽肉,在加入酸化乙腈后可采取均质器均质的方式使样品充分均匀地分散在溶剂中,避免蛋白质遇到乙腈变性结块,未提取完全。

如在旋蒸完复溶的过程,如何将鸡心瓶中的残留物质完全复溶出来,人员操作不够熟练,缺乏该项目的操作经验,容易造成测定结果离群。在进行实验操作时,经验往往很重要,需要加强操作和技能培训,尽量降低检测风险。

在检测过程中,仪器状态也是影响检测结果的重要因素。检测人员需采用质控样品对液质联用仪的灵敏度、准确度进行考量,如发现仪器性能有较大的变化,需采取相对应措施对仪器进行维护保养,如清洗离子源,优化流动相梯度比例。

应将能力验证融入平常的检测工作,组织检测人员进行学习和技能培训。实验操作人员在检测前应熟读标准,多向经验丰富、操作能力强的同事请教,加强操作能力的培养和提高,积累经验;实验室应常规性安排进行人员比对或外购质控样进行测定,对风险系数较大的检测项目进行常态化随机抽查、留样复测等考核,人员考核合格后才能持证上岗,促进实验室提升质量管理水平和检测技术能力。

3.3 检测方法的理解

对检测方法要仔细研究:能力验证试验前,实验室相关人员应仔细阅读能力验证机构所提供的作业指导书,在作业指导书中规定了样品测试方法或推荐采用的标准,如作业指导书中有附加说明,应仔细阅读,严格按照作业指导书进行操作。如本次能力验证硝基咪唑类代谢物考核样品为草鱼阳性冻干品,要求称量空气湿度 $\leq 40^{\circ}\text{C}$,室温 20°C 左右,实验室需提前准备好温度和湿度的控制措施。

4 结 论

通过对动物源性食品兽药残留能力验证流程进行梳理,强化检测方法中的操作要领和关键点如内标的添加、样品均质、质控样的使用及质谱检测定性定量的准确性等尤为重要,提升检测人员的实际检测水平,保证检测质量。

能力验证是确保质量管理有效和持续改进的措施,我们需要从意识上认真对待每一次能力验证^[14-16],尤其是反映有可疑或不满意结果,通过自查分析和整改,查找实际工作中有代表性的重点和难点,总结出经验教训,制定

整改计划,切实有效地发现在检测过程中出现的错误,并在以后的检验过程中避免再发生;同时加强人员的技能培训,才能真正通过能力验证提升质量控制和检测水平,将保障人民舌尖上的安全切实落到实处。

参考文献

- [1] 席静,张思群,刘静宇,等.论能力验证活动对实验室能力建设作用和意义[J].中国卫生检验杂志,2011,21(6):1576-1578
Xi J, Zhang SQ, Liu JY, *et al.* The function and significance of capacity verification activities in laboratory capacity building [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(6): 1576-1578
- [2] 宋桂兰,能力验证的本质与作用[M].北京:中国质检出版社,2015.
Song GL. The essence and role of proficiency testing [M]. Beijing: China Zhijian Publishing House, 2015.
- [3] 孙伟红,刘欢,邢丽红,等.水产品兽药残留检测技术标准解析及能力验证工作探讨[J].中国渔业质量与标准,2017,7(2):15-18
Sun WH, Liu H, Xing LH, *et al.* Standards analysis of detection techniques and discussion of proficiency testing for veterinary drug residues in aquatic products [J]. Chin Fish Qual Stand, 2017, 7(2): 15-18
- [4] 刘欢,李晋成,田娟娟,等.水产品中药物残留检测能力验证现状与展望[J].中国渔业质量与标准,2017,7(2):7-10
Liu H, Li JC, Tian JJ, *et al.* The current status and prospects of proficiency testing of drug residues in aquatic products [J]. Chin Fish Qual Stand, 2017, 7(2): 7-10
- [5] 杨雯雯,张晓燕,姚倩,等.液相色谱-串联质谱法检测雄蜂蛹粉中 50 种抗生素残留[J].色谱,2019,37(1):46-53.
Yang WQ, Zhang XY, Yao Q, *et al.* Determination of 50 antibiotic residues in drone pupa powder by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2019, 37(1): 46-53.
- [6] 覃玲,董亚蕾,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(9):880-888.
Qin L, Dong YL, Wang GL, *et al.* Determination of 42 veterinary drug residues in common animal derived food by dispersive solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(9): 880-888.
- [7] 李蓉,杨璐齐,张鹏云,等.超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱同时检测水产品中 64 种兽药残留[J].色谱,2017,35(12):1266-1275.
Li R, Yang LQ, Zhang PY, *et al.* Determination of 64 veterinary drug residues in aquatic products by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(12): 1266-1275.
- [8] 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 Jie, Wang YX, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(11): 1119-1131.
- [9] 张秀尧,蔡欣欣.超高效液相色谱-三重四极杆质谱法快速同时测定牛奶中 53 种 β -内酰胺类抗生素及其代谢产物的残留[J].色谱,2014,32(7):693-701.
Zhang XY, Cai XX. Rapid simultaneous determination of 53 β -lactam

- antibiotics and their metabolites in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(7): 693–701.
- [10] 张娟. 食源性动物饲料中磺胺类药物残留的检测及其研究[J]. 饲料工业, 2017, (2): 82–85
Zhang J. Determination and study of sulfonamides residues in food-borne animal feed [J]. Feed Ind, 2017, (2): 82–85
- [11] 吴敏, 陈相宇. 高效液相色谱法测定猪肉中五种磺胺类药物残留量[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, (1): 72.
Wu M, Chen XY. Determination of five sulfonamide residues in pork by high performance liquid chromatography [J]. Chin Anim Husb Vet Digest, 2017, (1): 72.
- [12] 田雪珍, 郭建帮, 庞培. 人畜共患病、兽药残留对动物性食品安全的影响[J]. 广东畜牧兽医科技, 2016, (6): 27–30.
Tian XZ, Guo JB, Pang PP. Effects of zoonosis and veterinary drug residues on animal food safety [J]. Guangdong Anim Husb Vet Sci Technol, 2016, (6): 27–30.
- [13] 梁赛君. 浅谈兽药残留的现状与危害[J]. 畜禽业, 2018, (6): 57.
Liang SJ. Discussion on the present situation and harm of veterinary drug residues in [J]. Livestock Poul Ind, 2018, (6): 57.
- [14] 马捷, 关淑君, 茅祖兴. 能力验证及其结果处理与评价[M]. 北京: 中国质检出版社、中国标准出版社, 2016
Ma J, Guan SJ, Mao ZX. Results analysis and assessment for proficiency tests [M]. Beijing: China Zhijian Publishing House, China standards Publishing House, 2016.
- [15] 毛燕, 闫林. 实验室参加能力验证活动的意义分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(9): 2958–2961.
Mao Y, Yan L. Benefits analysis of the laboratories participation in proficiency testing programs [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(9): 2958–2961.
- [16] GB/T 28043-2011 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法[S].
GB/T 28043-2011 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons [S].

(责任编辑: 武英华)

作者简介

王琳玲, 硕士, 工程师, 研究方向为日用化学品和食品质量安全。
E-mail: linling_wang@yeah.net