

同位素内标-超高效液相色谱串联质谱法测定禽类食品中喹诺酮与四环素残留量

刘柏林*, 谢继安, 赵紫微, 单晓梅, 王秀莉

(安徽省疾病预防控制中心, 合肥 230601)

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)测定禽类食品中 11 种喹诺酮与 4 种四环素兽药残留的方法。**方法** 鸡肉和鸡蛋样品经 McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液提取, 7% 钨酸钠溶液沉淀蛋白, HLB 柱净化, 喹诺酮类药物采用 10 mmol/L 乙酸铵(含 0.1% 甲酸, V:V)与甲醇为流动相, 四环素类药物采用 0.1% 甲酸与乙腈为流动相。2 种类型药物均采用多反应监测模式监测, 内标法定量。**结果** 15 种兽药残留在 0.1~50.0 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.9927, 检出限为 0.05~0.20 $\mu\text{g/kg}$, 平均回收率为 60.6%~117.9%, 相对标准偏差为 0.51%~15.3%。采用建立的方法检测安徽省市售 2016~2018 年的鸡肉和鸡蛋样品中喹诺酮与四环素残留, 检测结果通过食品安全指数(international foundation for science, IFS)评估, 发现鸡肉和鸡蛋中喹诺酮类 IFS 均值分别为 0.00048、0.000097 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, 四环素类 IFS 均值分别为 0.00073、0.00098 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, 均小于 1, 说明其膳食暴露风险较低。**结论** 该方法的样品前处理可以完全沉淀蛋白, 净化效果好, 能够减少基质效应的影响, 适用于大批量禽类食品中喹诺酮与四环素兽药残留量的快速测定。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 喹诺酮; 四环素; 鸡蛋; 鸡肉; 同位素内标

Determination of quinolones and tetracycline residues in poultry food by isotope internal standard-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Bo-Lin*, XIE Ji-An, ZHAO Zi-Wei, SHAN Xiao-Mei, WANG Xiu-Li

(Anhui Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hefei 230601, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 11 quinolones and 4 tetracycline residues in animal products from poultry by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The analysts were extracted from the chicken and egg samples using the McIlvaine- Na_2EDTA buffer solution. The protein in extract was precipitated by 7% sodium tungstate solution, and then the extract was purified on the HLB column. The quinolones were detected using the methanol and 10 mmol/L ammonium acetate (containing 0.1% formic acid, V:V) as the mobile phases. The tetracyclines were detected using the acetonitrile and 0.1% formic acid (V:V) as the mobile phases. Both types of drugs were monitored by multiple reactions monitoring mode and quantified by the internal standard method. **Results** The 15 veterinary drug residues

*通讯作者: 刘柏林, 主管技师, 主要研究方向为营养与食品安全检测。E-mail: liubolin087@163.com

*Corresponding author: LIU Bo-Lin, Technician, Anhui Provincial Center for Disease Control and Prevention, No.12560, Fanhua Boulevard, Economic and Technological Development Zone, Hefei 230601, China. E-mail: liubolin087@163.com

had good linearity in the concentration range of 0.1–50.0 $\mu\text{g/L}$, the correlation coefficients were all greater than 0.9927, the limits of detections were 0.05–0.20 $\mu\text{g/kg}$, the average recoveries were 60.6%–117.9%, and the relative standard deviations were 0.51%–15.3%. The established method was used to detect the residues of quinolone and tetracycline in chicken and egg samples sold in Anhui province from 2016 to 2018. The test results were evaluated by the international foundation for science (IFS), and it was found that the average IFS of quinolones in chicken and eggs were 0.00048 and 0.000097 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, respectively, and the mean values of tetracycline IFS were 0.00073 and 0.00098 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, respectively, which were both less than 1, indicating that their dietary exposure risks were low. **Conclusion** This method can completely precipitate the protein, has good purification effect, and can reduce the influence of matrix effect. It is suitable for the rapid determination of quinolones and tetracycline residues in large quantities of poultry food.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; quinolones; tetracycline; eggs; chicken; isotopic internal standard

1 引言

喹诺酮与四环素为畜禽和水产养殖中常用的抗生素,其过量使用的残留问题已引起广泛关注。联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂专家联席会议、美国食品和药物管理局(food and drug administration, FDA)与欧盟已制定了动物性食品中部分喹诺酮与四环素类药物的最大残留限量(maximum residue limit, MRLs),限值为 100~1900 $\mu\text{g/kg}$ ^[1,2],我国国家标准 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》^[3]中规定禽类肌肉中达氟沙星、恩诺沙星、二氟沙星、沙拉沙星和多西环素的 MRLs 分别为 200、100、300、10、和 100 $\mu\text{g/kg}$,产蛋鸡均为禁止使用;四环素类药物土霉素、金霉素和四环素的 MRLs 均为 200 $\mu\text{g/kg}$,鸡蛋中的 MRLs 均为 400 $\mu\text{g/kg}$ 。2015 年农业部 2292 号公告停止洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星与诺氟沙星在食品动物中使用^[4]。但实际滥用普遍,需要建立可靠的方法进行监测和控制。

检测喹诺酮与四环素药物残留的常见方法有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[5,6]、高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)^[7-12]。随着多残留检测的需要,建立了多种药物残留同时检测的分析方法,如罗辉泰等^[7]建立了同时检测水产品中 5 类 33 种药物残留的快速方法,Turnipseed 等^[8]开发了超高效液相色谱串联质谱法分析鱼虾样品中多种药物残留,孟娟等^[9]建立了超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中 7 种四环素和 14 种喹诺酮类药物残留,李宁等^[10]建立了超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中磺胺类、喹诺酮类甾体激素类及四环素类兽药残留。但这些检测方法与国家标准或者针对单一类别残留

的检测或使用外标法定量,在快速前处理,复杂样品的基质效应及定量准确性等方面存在一些不足。解决基质效应的最好方法是基质加标或同位素内标法^[13],而基质加标法需要制备工作曲线,一般很难找到合适的空白本底的基质样品。采用同位素内标法很好克服了这一缺点,降低了基质效应的影响,样品前处理时不必担心待测物在处理过程中损失,从而保证测定结果准确可靠^[14]。

为提高检测的可靠性,本研究采用 McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液螯合金属离子,使用钨酸钠与盐酸体系作为沉淀剂,使样品中蛋白质变性转为沉淀物,除去样品中蛋白质大分子杂质,建立超高效液相色谱串联质谱法(ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时提取 11 种喹诺酮与 4 种四环素类残留的处理方法,并使用同位素内标法校正基质效应,降低样品在提取、净化等过程中待测物的损失,提高分析效率,适用于批量禽类食品中低含量、多种喹诺酮与四环素等药物的快速测定,为动物源性食品中多种抗生素残留的日常监控提供更方便、快捷的检测方法支持。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Waters ACQUITYTM 超高效液相色谱仪、Waters Xevo TQ 质谱仪、8010 G 样品均质器(美国 Waters 公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); VORTEX Geni3 漩涡混匀器(德国 IKA 公司)。

标准品:氧氟沙星(ofloxacin, CAS 号: 82419-36-1, 纯度 95.7%)、培氟沙星(pefloxacin, CAS 号: 70458-92-3, 纯度 98.5%)、诺氟沙星(norfloxacin, CAS 号: 70458-96-7, 纯度 99.0%)、环丙沙星(ciprofloxacin, CAS 号: 85721-33-1, 纯度 94.0%)、洛美沙星(lomefloxacin, CAS 号: 98079-51-7, 纯度 99.5%)、达氟沙星(danofloxacin, CAS 号: 119478-55-6,

纯度 94.0%)、双氟沙星(difloxacin, CAS 号: 91296-86-5, 纯度 96.1%)、恩诺沙星(enrofloxacin, CAS 号: 93106-60-6, 纯度 99.0%)、氟甲喹(flumequin, CAS 号: 42835-25-6, 纯度 99.0%)、恶喹酸(oxolinic acid, CAS 号: 14698-29-4, 纯度 98.0%)、沙拉杀星(sarafloxacin, CAS 号: 91296-87-6c, 纯度 97.0%)、土霉素(oxytetracycline, CAS 号: 79-57-2, 纯度 97.7%)、四环素(tetracycline, CAS 号: 64-75-5, 纯度 97.1%)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 多西环素(doxycycline, CAS 号: 24390-14-5, 纯度 99.0%)、金霉素(Chlortetracycline, CAS 号: 64-72-2, 纯度 95.0%)(加拿大 TRC 公司)。

同位素内标标准品: ofloxacin-D3(CAS 号: 1173147-91-5, 纯度 99.1%)、pefloxacin-D5 (CAS 号: 1228182-51-1, 纯度 99.0%)、norfloxacin-D5(CAS 号: 1015856-57-1, 纯度 99.0%)、ciprofloxacin-D8(CAS 号: 1130050-35-9, 纯度 98.2%)、lomefloxacin-D5(CAS 号: 无, 纯度 99.0%)、danofloxacin-D3(CAS 号: 1217683-55-0, 纯度 99.5%)、difloxacin-D3(CAS 号: 1173021-89-0, 纯度 99.0%)、oxolinic Acid-D5(CAS 号: 1189890-98-9, 纯度 99.0%)(北京百灵威科技有限公司); enrofloxacin-D5 (CAS 号: 1173021-92-5, 纯度 98.0%)、sarafloxacin-D8(CAS 号: 1352879-52-7, 纯度 99.0%)(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); flumequine- $^{13}\text{C}_3$ (CAS 号: 1185049-09-5, 纯度 99.0%)、tetracycline-D6(CAS 号: 无, 纯度 80%)、doxycycline-D3(CAS 号: 无, 纯度 80%)(加拿大 TRC 公司); U- $^{13}\text{C}_{22}$ - $^{15}\text{N}_2$ -Oxytetracycline (CAS 号: 无, 浓度为 2.55 $\mu\text{g/mL}$, 美国 Romer Labs 公司); 甲醇、甲酸、乙腈、氨水(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙酸铵(色谱纯, 美国 Sigma 公司)。

2.2 溶液配制

标准品储备液: 分别称取适量的标准品及同位素内标标准品, 用甲醇溶解后, 定容至刻度, 配制成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

混合标准品中间液: 分别准确移取上述标准储备液 10 μL 移至 10 mL 容量瓶中, 用 5% 甲醇水溶液(含 0.1% 甲酸, V:V)稀释至刻度, 混匀, 配制成 100 ng/mL 的混合标准品中间液; 分别准确移取上述同位素内标标准品储备液 10 μL 移至 10 mL 容量瓶中, 用 5% 甲醇水溶液(含 0.1% 甲酸)稀释至刻度, 混匀, 配制成 100 ng/mL 的混合内标中间溶液, 现配现用。

标准系列应用液: 分别准确移取上述混合标准品中间液(100 ng/mL)5、10、50、100、200、500、1000、5000 μL 移至 10 mL 容量瓶中, 加入 500 μL 混合内标中间液, 用 5% 甲醇水溶液(含 0.1% 甲酸)定容至刻度, 配制成 0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 与 50.0 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列。

0.1 mol/L 柠檬酸溶液: 称取 21.01 g 柠檬酸, 用超纯水溶解并定容至 1000 mL, 即得; 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液: 称取 28.41 g 磷酸氢二钠, 用超纯水溶解并定容至 1000 mL, 即得; McIlvaine 缓冲液: 将上述 0.1 mol/L 柠檬酸溶液 1000 mL 与 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液 625 mL 混合, 用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 值至 4.0 ± 0.5 。

0.1 mol/L McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液: 称取 60.5 g 乙二胺四乙酸二钠放入上述 1625 mL McIlvaine 缓冲液中, 使其溶解, 摇匀即得。

2.3 实验方法

2.3.1 超高效液相色谱条件

分析喹诺酮类的条件: 色谱柱: Waters AcquityTM UPLC BEH C_{18} 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm); 柱温: $40\text{ }^\circ\text{C}$; 样品室温度 $10\text{ }^\circ\text{C}$; 进样体积: 10 μL ; 流动相 A: 10 mmol/L 乙酸铵(含 0.1% 甲酸, V/V); 流动相 B: 甲醇; 流速: 0.3 mL/min; 梯度洗脱条件为: 0~4.5 min, 90% A~60% A; 4.5~7.0 min, 60% A~5% A; 7.0~8.0 min, 保持 5% A; 8.0~8.5 min, 5% A~90% A; 8.5~9.5 min, 保持 90% A。

分析四环素类的条件: 色谱柱: Waters AcquityTM UPLC HSS T3 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm); 柱温: $40\text{ }^\circ\text{C}$; 样品室温度 $10\text{ }^\circ\text{C}$; 进样体积: 10 μL ; 流动相 A: 0.1% 甲酸水溶液(体积比, V/V); 流动相 B: 乙腈; 流速: 0.3 mL/min; 梯度洗脱条件为: 0~2.0 min, 95% A~80% A; 2.0~5.0 min, 80% A~25% A; 5.0~5.5 min, 25% A~5% A; 5.5~6.0 min, 保持 5% A; 6.0~6.5 min, 5% A~95% A; 6.5~7.5 min, 保持 95% A。

2.3.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 电离模式: ESI^+ ; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 3.8 kV; 离子源温度: $150\text{ }^\circ\text{C}$; 脱溶剂气温度: $500\text{ }^\circ\text{C}$; 脱溶剂气流量: 800 L/h; 碰撞气流量: 0.13 mL/min。待测物的母离子、子离子及对应的碰撞能量、锥孔电压, 见表 1。

2.4 样品处理

鸡肉样品经高速组织捣碎机均匀绞碎, 用四分法缩分出适量试样, 均分成 2 份, 转入清洁容器内, 加封后作出标记, 一份用于分析, 另一份用于留样, 于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下保存。鸡蛋样品去壳混合均匀, 转入清洁容器内, 加封后作出标记, 一份用于分析, 另一份用于留样, 于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下保存。

称取(2 ± 0.01) g 混匀样品, 置 50 mL 离心管中, 加入 50 μL 混合内标工作液(100 ng/mL), 加 McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液 10 mL, 涡旋混匀, 超声 10 min, 加入 5 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液并充分混匀, 再加入 5 mL 7% 钨酸钠溶液, 室温静置 10 min 沉淀蛋白, 10000 r/min 离心 10 min(温度为 $4\text{ }^\circ\text{C}$)。取上清液备用。

表 1 15 种喹诺酮类药物及同位素内标的质谱分析参数
Table 1 Mass spectrometry analysis parameters of 15 quinolones and their isotopic internal standard

待测物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV	锥孔电压/V
ofloxacin-D3	3.73	365.3	261.2*	28	48
氧氟沙星	3.74	362.3	318.3*/261.2	20/26	46
pefloxacin-D5	3.79	339.3	238.2/295.3*	26/18	46
培氟沙星	3.78	334.3	233.2/290.3/316.3*	26/18/22	48
norfloxacin-D5	3.90	325.3	281.3/307.3*/238.2	18/20/26	50
诺氟沙星	3.90	320.3	276.2/302.3*/233.2	18/22/24	50
ciprofloxacin-D8	4.06	340.4	249.2*	26	48
环丙沙星	4.06	332.3	245.2/288.3/314.3*	24/17/20	48
danofloxacin-D3	4.19	361.3	343.3*/85.2	24/40	50
达氟沙星	4.20	358.3	340.3*/96.1	26/25	44
enrofloxacin-D5	4.21	365.4	245.2*	28	44
恩诺沙星	4.21	360.4	316.4*/245.2/342.3	20/26/22	44
lomefloxacin-D5	4.34	357.3	270.2*/313.3/238.1	26/18/34	52
洛美沙星	4.34	352.3	265.2*/308.3/237.1	24/18/34	52
difloxacin-D3	4.56	403.3	359.4*/299.2/385.3	20/30/25	46
双氟沙星	4.56	400.3	356.4*/299.2/382.3	20/28/25	46
sarafloxacin-D8	4.68	394.3	350.4/303.3/376.4*	20/30/24	46
沙拉杀星	4.68	386.3	342.3/299.3/368.3*	20/28/22	44
oxolinic Acid-D5	5.65	267.2	249.2*/161.1/217.2	20/36/30	34
恶喹酸	5.65	262.2	244.2*/216.1	20/28	34
flumequine- ¹³ C ₃	6.52	265.2	247.1*/205.1	18/32	34
氟甲喹	6.52	262.2	244.2*/202.1/216.1	18/32/30	34
tetracycline-D6	3.40	451.4	416.4	20	36
四环素	3.41	445.4	410.3*/427.5	18/14	40
doxycycline-D3	3.88	448.5	155.1/431.3	30/20	42
多西环素	3.89	445.4	428.3*	20	42
U-[¹³ C ₂₂ ¹⁵ N ₂]-oxytetracycline	3.25	485.4	449.4	20	38
土霉素	3.23	461.4	426.3*/443.4	22/12	40
金霉素	3.82	479.3	154.1/444.3*	28/22	42

注: *为定量离子。

HLB 小柱依次用甲醇、水各 5 mL 活化。取备用液上柱,依次用水、5%甲醇水溶液各 5 mL 淋洗,抽干。用甲醇 6 mL 分两次洗脱,洗脱液用氮气吹干(温度低于 40 ℃)。用 1 mL 复溶液溶解(先加入 50 μL 甲醇,溶解后加入 950 μL 0.1%甲酸水)残余物,过滤膜后供 UPLC-MS/MS 测定。

2.5 加标回收率实验

分别称取已绞碎均匀的阴性样品 2.0 g(精确到 0.01 g)

于 3 个 50 mL 离心管中,分别按 1.0、5.0 和 10.0 μg/kg 浓度添加 15 种药物混合标液,提取步骤同样品前处理。

2.6 风险评估

采用食品安全指数(food security index, IFS)描述安徽省 2016~2018 年市售鸡肉和鸡蛋样品中喹诺酮类与四环素类药物残留的风险。若 IFS 值远远小于 1 时,表示残留药物对人们的健康不会造成危害效应;若 IFS 值小于 1,表示

残留药物产生的风险处在可接受的水平, 值越小风险越小; 若 IFS 值大于 1 时, 表示残留药物产生的风险处在不可接受的水平, 值越大风险越高^[15-17]。其计算公式如下:

$$EDI = \frac{R \times F}{bw} \quad (1)$$

$$IFS = \frac{R \times F}{SI \times bw} \quad (2)$$

式中: IFS 为食品安全指数; EDI 为日膳食暴露量, $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw} \cdot \text{d})$; R 为样品中某种药物残留的浓度, $\mu\text{g}/\text{kg}$; F 为鸡蛋或鸡肉消费量, $\text{g}/\text{标准人日}$, 根据 2015 年《中国居民营养与慢性病状况报告》^[18]显示, 中国城乡居民每标准人日禽肉食物摄入量为 14.7 g, 蛋类 24.3 g, 因此 F 值按 0.0147 $\text{kg}/\text{人}/\text{日}$ 与 0.0243 $\text{kg}/\text{人}/\text{日}$ 计算。SI 为某种药物的每日允许摄入量(acceptable daily intake, ADI)值, 而药物的 ADI 值参考我国食品中兽药最大残留限量标准 GB 31650-2019 与 FAO/WHO 官方公布数值^[19], 其中沙拉沙星的 ADI 为 0~0.3 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 、恩诺沙星为 0~2 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 、诺氟沙星为 0~11.4 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 、氟甲喹为 0~30 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 、多西环素为 0~3.0 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 、金霉素、四环素与土霉素的 ADI 值为 0~30 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$, 培氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星未设置 ADI 值。 bw 为成人平均体重, kg , 本文取标准体重 60 kg 计算。

2.7 数据处理方法

统计分析检测结果时, 对于小于检出限 LOD 的数据, 根据文献报道的方法和 WHO 全球环境监测系统/食品污染监测与评估规划第二次会议“食品中低水平污染物可信评鉴”原则进行处理^[20-22]。

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

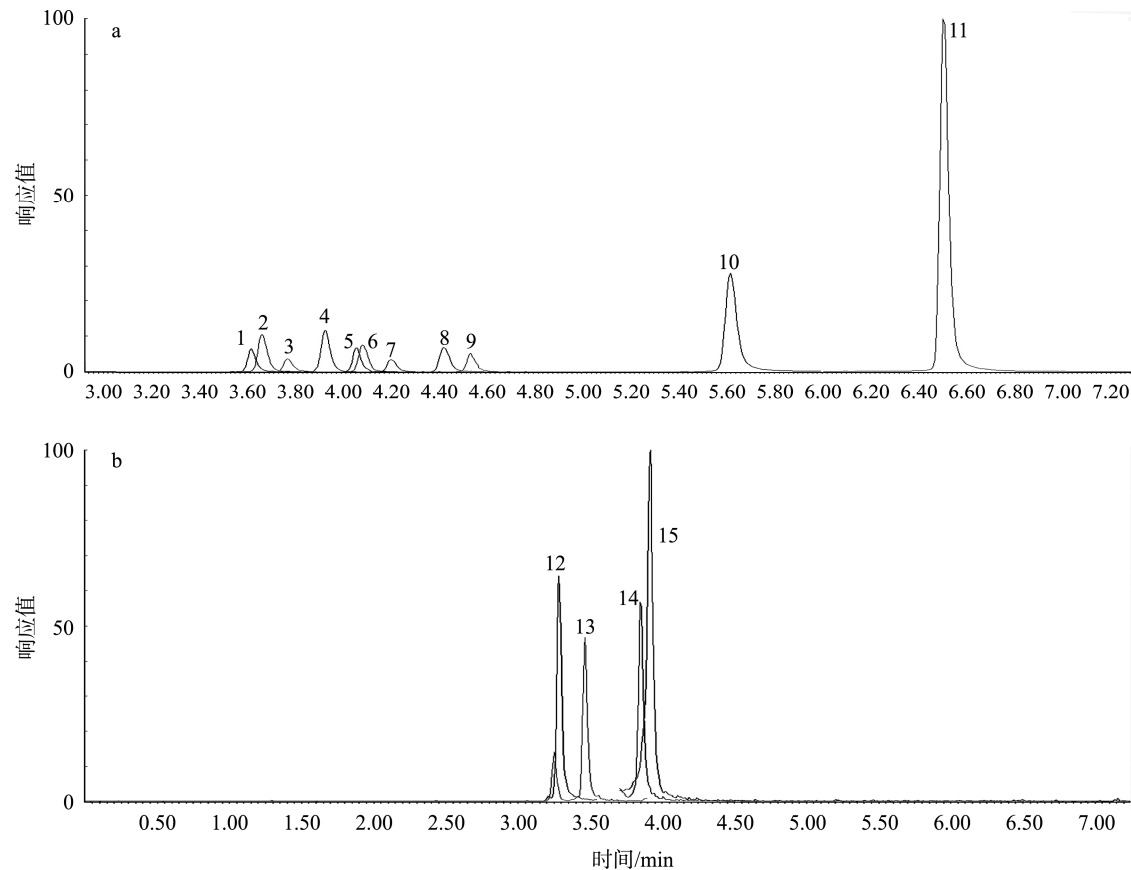
分别配制浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 15 种药物标准溶液, 以 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的针流速在正离子模式下进行母离子全扫描, 确定 4 种四环素类化合物和 11 种喹诺酮类化合物的分子离子, 分别以药物的分子离子为母离子, 对其子离子进行全扫描, 得到 15 种药物的碎片离子。分析碎片离子的特性, 选取离子丰度较强、干扰较小的 2 个子离子分别作为定性离子和定量离子, 并优化锥孔电压与碰撞能量, 使得每种药物的离子化效率达到最佳, 获得最佳的质谱条件如表 1 所示。

实验比较了 BEH C_{18} 柱与 HSS T3 柱对药物分离的影响, 四环素类药物在 T3 上分离效果比较好, 峰型好且对称, 而在 C_{18} 柱上出现伸舌严重, 峰型变宽, 可能原因是四环素类化合物易于与反向硅胶柱上残留的硅醇类化合物产生不可逆吸附, 容易导致色谱峰出现峰

形拖尾现象。而 11 种喹诺酮类药物在 C_{18} 柱上响应较好, 能够达到基线分离, 该实验选用 BEH C_{18} 柱分析喹诺酮类药物, HSS T3 分析四环素类药物, 以达到有效分离的目的。另外, 喹诺酮类与四环素类药物均为酸碱两性化合物, 流动相的 pH 对药物的分离与保留影响较大, 实验比较了乙腈-水和甲醇-水作为流动相时的峰型和响应, 以及水相中添加甲酸与乙酸铵的离子化效率, 发现使用甲醇-5 mmol/L 乙酸铵作为流动相时, 喹诺酮类药物的离子化效率高, 峰型好, 响应高, 但四环素类药物的分离度变差, 峰型变宽。使用乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为流动相, 可以改善四环素类的分离度, 提高待测物的响应。15 种药物的标准溶液 MRM 色谱图如图 1 所示。

3.2 前处理条件的优化

动物性食品基质复杂, 脂肪、蛋白质等杂质含量高, 提取目标物时, 尤其脂肪与蛋白质也常常被提取出来, 干扰测定, 如何有效除去这些杂质是关键, 本实验比较了有机溶剂与 EDTA-McIlvaine 缓冲液的提取效果, 乙腈作为提取液时, 能较好的沉淀蛋白, 提取液澄清, 有利于净化, 且在提取液中加入 1% 乙酸后, 提取更优, 但是, 仅用酸化乙腈提取时, 实验发现, 11 种喹诺酮类药物的回收率较好, 平均回收率在 82.4%~104.3% 之间^[23], 四环素类药物的回收率很低。四环素类多采用 EDTA-McIlvaine 缓冲液作为提取液, 优点是 EDTA 缓冲液可与基质中的金属离子螯合而不影响目标化合物在溶液中分布, 此外缓冲液有稀释基质的作用, 缺点是 EDTA 缓冲液提取时, 溶液浑浊, 动物性食品中水溶性一些杂质全部提取出来, 如鸡蛋中的蛋白质, 严重影响后续的净化处理, 导致净化成本增加, 步骤复杂。而钨酸钠溶液及甲醇都是很好的蛋白质沉淀剂, 比较了二者的沉淀效果, 并考察对 15 种目标化合物回收率的影响, 甲醇沉淀蛋白效果很好, 但是在后续 HLB 柱净化时, 高浓度的甲醇, 会使目标物直接穿透 HLB 柱, 不能保留, 加大溶液体积以降低甲醇含量, 延长了净化时间。而用 EDTA 缓冲液提取后, 加入 7% 钨酸钠溶液, 可以很好沉淀蛋白, 使提取液变澄清, 目标化合物的内标回收率也较高, 其他 2 种沉淀剂降低目标物的回收率。沉淀蛋白前, 加入一定浓度的无机酸可以更好的破坏蛋白质, 使沉淀完全。文献报道^[24]采用 10% 钨酸钠与 0.33 mol/L 硫酸体系沉淀蛋白, 15 种待测物的回收率为 80.3%~110%, 净化效果较好。但是实验发现硫酸会降低四环素类药物的回收率, 硫酸会与四环素类产生颜色反应, 而 0.1 mol/L 盐酸溶液则没有影响, 故本实验选择 0.1 mol/L 盐酸与 7% 钨酸钠溶液沉淀蛋白。



注: 1. 氧氟沙星; 2. 培氟沙星; 3. 诺氟沙星; 4. 环丙沙星; 5. 达氟沙星; 6. 恩诺沙星; 7. 洛美沙星; 8. 双氟沙星; 9. 沙拉沙星; 10. 恶唑酸; 11. 氟甲喹; 12. 土霉素; 13. 四环素; 14. 金霉素; 15. 多西环素。

图 1 MRM 模式下的 15 种药物标准溶液色谱图

Table 1 Chromatograms of fifteen analytes standard solutions in MRM mode

3.3 基质效应的影响

UPLC-MS/MS 分析测定动物源性食品时, 提取液中基质通常对分析物的离子化具有增强或抑制效应, 可能严重影响定量的准确性^[25]。该实验考察了基质效应对 15 种药物的影响, 以阴性样品提取液作为溶剂, 配制 10.0 ng/mL 的混合标准溶液, 测定其峰面积为 A; 以初始流动相为溶剂, 配制 10.0 ng/mL 的混合标准溶液测定其峰面积为 B。基质效应(matrix effect, ME/%)=A/B×100^[26], 其中 ME>100%为基质增强效应, ME<100%为基质抑制效应^[27]。如表 2 所示, 对 15 种药物的基质效应进行分析, 以鸡肉为基质时, 采用上述单点基质效应公式计算, 发现 15 种药物的 ME 均小于 100%, 为基质抑制, 以鸡蛋为基质时, 11 种喹诺酮类药物及土霉素的 ME 均小于 100%, 为基质抑制, 而四环素、多西环素与金霉素的 ME 大于 100%, 为基质增强效应, 由此可见, 样品提取液对目标化合物存在一定的基质影响。同时, 采用基质匹配标准曲线的斜率与标准曲线的斜率的比值, 公式为 ME=[基质匹配标准曲线的斜率/标准曲线的斜率-1]×100%, 考察同位素内标法与外标法两种定量方法时的基质效应影响, 如

图 2 所示, 给出了鸡肉基质样品中内标法与外标法的基质效应大小比较, 图中可以看出, 采用外标法定量时, 达氟沙星、金霉素与多西环素的 ME<20%, 为弱基质效应, 氧氟沙星、诺氟沙星、氟甲喹与四环素的 ME>50%, 为强基质效应, 其余的化合物的 ME 为 20%~50%之间, 为中等基质效应; 采用内标法定量时, 除土霉素的 ME 为 11.7%, 其余 14 种化合物的 ME 均小于 10%, 为弱基质效应, 故本方法采用样品中添加待测物的同位素内标, 与样品同时进行前处理, 内标法定量, 从而降低了样品基质效应的影响, 确保方法的灵敏度高、重现性好和定量分析准确。

3.4 线性关系、检出限、精密度和回收率

选取阴性鸡蛋样品, 加入标准系列应用液, 按照样品前处理的步骤进行处理, 上机测定, 以待测物峰面积与同位素内标峰面积的比值为纵坐标(Y), 质量浓度(X, μg/L)为横坐标, 绘制标准曲线, 得到线性回归方程(见表 2), 各待测物在浓度为 0.1~50.0 μg/L 的范围内与其峰面积呈良好的线性关系, 相关系数(r^2)均大于 0.9927。15 种药物的标准溶液及样品的 MRM 谱图见图 1。

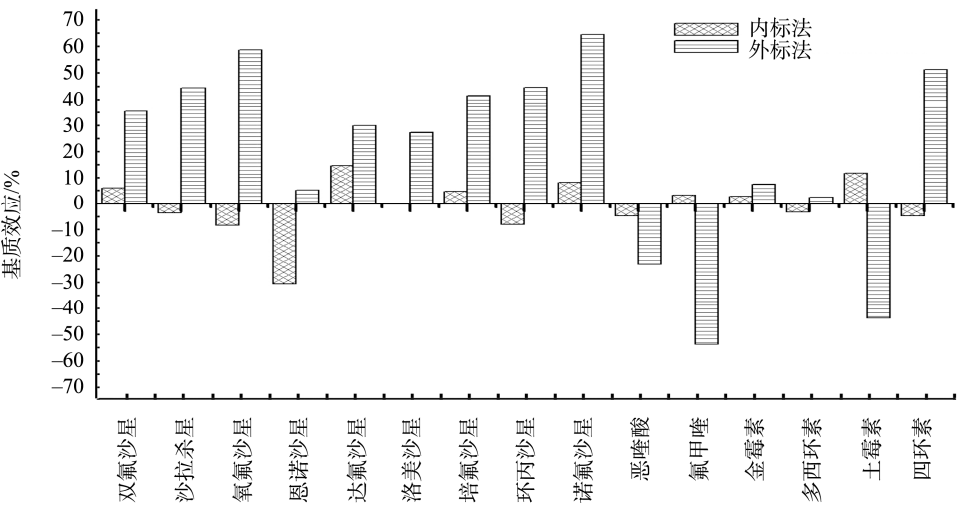


图 2 同位素内标法和外标法定量的基质效应

Fig.2 Matrix effects of isotopic internal standard method and external standard method

将标准溶液分别添加到阴性样品中,按照上述前处理步骤处理后,上机测定,以 3 倍信噪比(S/N)对应的加标浓度作为检出限(limit of detection, LOD),10 倍信噪比(S/N)对应的加标浓度作为定量限(limit of quantitation, LOQ),获得该方法中 15 种药物的 LOD 范围为 0.05 ~ 0.20 μg/kg, LOQ 范围为 0.15 ~ 0.60 μg/kg。

我国农业部第 2292 号公告和 GB 31650-2019 限量标准规定^[3,4],食品动物中禁用洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星和诺氟沙星,产蛋鸡禁用多西环素,部分药物如金霉素、土霉素

与四环素在鸡肉中 MRLs 均为 200 μg/kg,鸡蛋中 MRLs 为 400 μg/kg,鸡肉中喹诺酮类药物 MRLs 为 10.0~300 μg/kg,其中沙拉沙星的 MRLs 为 10.0 μg/kg,按此公告与限量标准进行加标实验,考察该方法是否满足各化合物标准限值,称取 2.0 g(精确到 0.01 g)阴性鸡蛋与鸡肉样品,添加混合标准溶液,使加标水平分别达到 1.0、5.0 和 10.0 μg/kg,加入混合内标工作液,按照样品前处理方法进行处理,上机测定,每个添加水平进行 6 次平行测定。结果如表 3 所示,平均回收率范围为 60.6%~117.9%,相对标准偏差范围为 0.51%~15.3%。

表 2 15 种药物的线性方程、相关系数、检出限、定量限及基质效应

Table 2 Linear equations, correlation coefficients, LODs, LOQs and matrix effects for 15 compounds.

待测物	线性方程	相关系数	基质效应/%		检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
			鸡肉	鸡蛋		
氧氟沙星	Y=0.3577X+0.00456	0.9995	74.4	49.3	0.05	0.15
培氟沙星	Y=0.5082X+0.0149	0.9985	84.6	60.7	0.05	0.15
诺氟沙星	Y=0.2118X+0.00359	0.9979	70.3	47.9	0.05	0.15
环丙沙星	Y=1.828X+0.326	0.9971	71.0	44.7	0.10	0.30
达氟沙星	Y=0.09296X+0.0419	0.9944	84.8	92.2	0.05	0.15
恩诺沙星	Y=0.8659X+0.0603	0.9974	88.4	96.0	0.10	0.30
洛美沙星	Y=0.2026X+0.0123	0.9992	84.9	32.9	0.05	0.15
双氟沙星	Y=0.1838X-0.00739	0.9989	90.6	60.9	0.05	0.15
沙拉沙星	Y=0.2497X-0.0156	0.9979	80.0	64.7	0.05	0.15
恶喹酸	Y=0.1423X+0.00660	0.9999	90.2	70.8	0.05	0.15
氟甲喹	Y=0.1874X+0.01201	0.9999	74.4	47.2	0.05	0.15
四环素	Y= 0.5024X+0.0398	0.9993	58.6	144	0.10	0.30
多西环素	Y= 0.2779X+0.0319	0.9927	87.2	103	0.20	0.60
土霉素	Y= 0.3579X+0.0400	0.9974	44.6	42.9	0.10	0.30
金霉素	Y= 0.1642X+0.0446	0.9962	65.1	106	0.10	0.30

表 3 15 种药物在鸡肉鸡蛋中 3 个水平下的加标回收及精密度(n=6)
Table 3 Recoveries and the relative standard deviation of fifteen analysts in the chicken and egg samples(n=6)

样品名称	待测物	加标量 1.0 µg/kg		加标量 5.0 µg/kg		加标量 10.0 µg/kg	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
鸡蛋	氧氟沙星	100.7	4.1	99.3	1.6	101.8	6.1
	培氟沙星	84.2	6.8	79.8	7.5	78.4	1.0
	诺氟沙星	86.8	11	76.1	9.0	73.7	9.4
	环丙沙星	67.1	15.3	60.6	7.4	68.3	7.1
	达氟沙星	97.5	11	93.5	11	92.6	1.9
	恩诺沙星	112.3	1.8	109.0	7.9	107.5	3.0
	洛美沙星	113.6	7.6	112.3	9.4	115.6	6.1
	双氟沙星	83.8	3.1	85.4	1.5	96.9	3.7
	沙拉沙星	94.8	8.9	117.8	2.1	100.2	1.9
	恶喹酸	98.9	1.1	108.6	1.6	105.2	2.0
	氟甲喹	103.8	0.92	116.4	0.51	111.3	1.2
	四环素	92.6	11	106.6	3.3	100.4	3.0
	多西环素	89.3	7.4	93.2	3.8	107.3	0.85
	土霉素	78.8	6.1	102.3	2.2	92.2	2.9
	金霉素	95.6	12.1	97.2	6.7	97.0	2.2
	氧氟沙星	98.0	3.4	96.6	1.9	96.8	1.5
	培氟沙星	97.5	7.0	94.8	11	100.4	4.2
	诺氟沙星	99.8	4.9	95.0	4.4	93.7	5.5
	环丙沙星	96.7	7.8	105.5	13	99.7	4.9
	达氟沙星	100.9	11	110.6	2.9	99.1	4.7
鸡肉	恩诺沙星	96.2	6.8	75.9	13	85.1	5.2
	洛美沙星	91.1	13	83.2	7.5	89.6	6.8
	双氟沙星	83.8	3.1	85.4	1.5	96.9	3.7
	沙拉沙星	84.9	8.9	117.8	2.1	100.2	1.9
	恶喹酸	91.6	3.8	98.7	2.9	98.9	3.2
	氟甲喹	117.9	1.9	117.3	1.8	110.0	1.1
	四环素	105.3	2.4	105.3	3.1	101.9	1.6
	多西环素	107.3	0.85	96.0	11	94.8	3.8
	土霉素	83.5	6.5	103.0	6.0	94.3	6.0
	金霉素	84.0	13	82.1	10	82.7	4.3

3.5 实际样品的测定

对安徽省超市与农贸市场采集的样品进行检测, 240 份鸡肉中主要检出培氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星与氟甲喹等 5 种喹诺酮类药物残留, 检出率分别为 0.833%、9.58%、2.50%、17.1%与 1.67%; 鸡肉中土霉素、四环素、多西环素和金霉素 4 种药物残留都有检出, 检出

率分别为 13.3%、14.2%、45.8%和 17.9%。258 份鸡蛋中主要检出了培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星与恩诺沙星等 5 种喹诺酮类药物残留, 检出率分别为 1.94%、3.88%、1.16%、2.33%与 8.91%; 而 334 份鸡蛋中土霉素、四环素、多西环素和金霉素, 检出率分别为 4.19%、2.10%、23.1%和 2.69%。根据 GB 31650-2019 国家限量标准与农业

部第 2292 号公告, 鸡蛋中多西环素与恩诺沙星是违禁的, 所有食品动物中禁止检出洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星与诺氟沙星 4 种药物, 即检出意味着超标, 而有国家限量标准的, 只有 3 份鸡肉样品中多西环素超标, 2 份鸡肉中恩诺沙星与土霉素超标, 其余药物残留均未超标, 超标率见表 4 与表 5。

3.6 鸡肉与鸡蛋中喹诺酮类与四环素类药物的膳食暴露水平及风险评估

按照公式 1 和公式 2 计算日膳食暴露量(EDI)和食品安

全指数(IFS), 表 4 与表 5 的结果表明, 我省市售的鸡肉和鸡蛋样品中喹诺酮类残留 EDI 均值分别为 0.0014、0.00059 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, EDI 最大值分别为 0.154、0.042 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, IFS 均值分别为 0.00048、0.000097 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, IFS 最大值分别为 0.062、0.0061 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, 远小于 1。鸡肉与鸡蛋中四环素类 EDI 均值分别为 0.0034、0.0037 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, EDI 最大值分别为 0.109、0.352 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, IFS 均值分别为 0.00073、0.00098 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, IFS 最大值分别为 0.015、0.068 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$, 均小于 1, 说明其膳食暴露风险较低。

表 4 鸡蛋中喹诺酮类与四环素类药物的检测情况及食品安全指数
Table 4 Residues and IFS of quinolones and tetracyclines in egg samples

污染物	限值 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ADI/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	残留值范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	超标率/%	均值 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	EDI 均值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	EDI 最大值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	IFS 均值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	IFS 最大值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]
培氟沙星	禁用	-	ND~9.34	1.94 (5/258)	0.139	0.000056	0.0038	-	-
氧氟沙星	禁用	-	ND~4.71	3.88 (10/258)	0.148	0.000060	0.0019	-	-
诺氟沙星	禁用	-	ND~21.3	1.16 (3/258)	0.263	0.00011	0.0086	-	-
环丙沙星	禁用	-	ND~38.3	2.33 (6/258)	0.412	0.00017	0.016	-	-
恩诺沙星	禁用	0~2	ND~30.0	8.91(23/258)	0.480	0.00019	0.012	0.000097	0.0061
金霉素	400	0~30	ND~24.5	0.0(0/334)	0.211	0.000085	0.0099	0.0000028	0.00033
多西环素	禁用	0~3	ND~466	22.2(74/334)	7.00	0.0028	0.189	0.00095	0.063
四环素	400	0~30	ND~9.96	0.0(0/334)	0.142	0.000058	0.0040	0.0000019	0.00013
土霉素	400	0~30	ND~367	0.0(0/334)	1.777	0.00072	0.149	0.000024	0.0050
合计	喹诺酮		ND~38.3	-	0.288	0.00059	0.042	0.000097	0.0061
	四环素		ND~466	-	2.28	0.0037	0.352	0.00098	0.068

注: “ND”低于检出限; “-”为未进行相关计算, 以下同。

表 5 鸡肉中喹诺酮类与四环素类药物的检测情况及食品安全指数
Table 5 Residues and IFS of quinolones and tetracyclines in chicken samples

污染物	限值 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ADI /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	残留值范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	超标率/%	均值 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	EDI 均值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	EDI 最大值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	IFS 均值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	IFS 最大值 /[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]
培氟沙星	禁用	-	ND~4.47	0.833 (2/240)	0.895	0.00022	0.0011	-	-
氧氟沙星	禁用	-	ND~98.8	9.58 (23/240)	0.645	0.00016	0.024	-	-
环丙沙星	100	-	ND~21.7	0(0/240)	0.210	0.000051	0.0053	-	-
恩诺沙星	100	0~2	ND~508	0.833 (2/240)	3.91	0.00096	0.124	0.00048	0.062
氟甲喹	500	0~30	ND~0.377	0(0/240)	0.103	0.000025	0.000092	0.0000008	0.0000031
金霉素	200	0~30	ND~88.8	0(0/240)	1.29	0.00032	0.022	0.000011	0.00073
多西环素	100	0~3	ND~158	1.25 (3/240)	8.41	0.0021	0.039	0.00069	0.013
四环素	200	0~30	ND~10.3	0(0/240)	0.633	0.00016	0.0025	0.0000052	0.000084
土霉素	200	0~30	ND~186	0.833(2/240)	3.22	0.00079	0.046	0.000026	0.0015
合计	喹诺酮		ND~508	-	1.15	0.0014	0.154	0.00048	0.062
	四环素		ND~186	-	3.39	0.0034	0.109	0.00073	0.015

4 结 论

本研究建立了快速测定禽类食品中 15 种药物残留的 UPLC-MS/MS 分析方法。该法采用钨酸钠沉淀蛋白与 HLB 净化相结合的样品前处理方法,过程简便、快速、高效,同时采用基质匹配,同位素内标校正,解决了基质效应问题,提高了定量的准确性与可靠性,适合大批量禽类食品中喹诺酮类与四环素类残留的快速检测,可为风险评估提供技术支持,为制定残留限量标准提供基础。同时通过分析安徽省近 3 年监测的鸡肉与鸡蛋样品中喹诺酮与四环素类药物残留情况,采用食品安全指数法简单评估了残留风险,结果表明该省的鸡肉与鸡蛋样品中药物残留的 *IFS* 远低于 1,膳食暴露的风险较低。

参考文献

- [1] U.S. Code of Federal Regulations, Tolerances for residues of new animal drugs in food (Title 21, Chapter I, Subchapter E, Part 556) [EB/OL]. [2019-07-11]. <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=9cc2d0ef474c851a99a63d10cd6ce5d&mc=true&node=pt21.6.556&rgn=div5>.
- [2] Commission regulation (EC) No 508/1999, amending Annexes I to IV to Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin [Z].
- [3] GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S]. GB 31650-2019 National food safety standard-Maximum residue limits for veterinary drugs in foods [S].
- [4] 中华人民共和国农业部公告 第 2292 号 [EB/OL]. [2015-09-07]. http://jiuban.moa.gov.cn/fwllm/zxbs/xzsk/ggb/201509/t20150907_4819267.htm
No.2292 Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2015-09-07]. http://jiuban.moa.gov.cn/fwllm/zxbs/xzsk/ggb/201509/t20150907_4819267.htm
- [5] Rodri'guez-Di'az RC, Fernandez-Romero JM, Aguilar-Caballeros MP, *et al.* Determination of fluoroquinolones in milk samples by postcolumn derivatization liquid chromatography with luminescence detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(26): 9670–9676.
- [6] GB 29692-2013 牛奶中喹诺酮类药物多残留的测定 高效液相色谱法 [S]. GB 29692-2013 Determination of quinolones residues in milk-High performance liquid chromatography [S].
- [7] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. 快速高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 5 类 33 种药物残留 [J]. *分析化学*, 2012, 40(2): 273–279.
Luo HT, Huang XL, Wu HQ, *et al.* Simultaneous determination of 33 medicine residues in aquatic products by rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2012, 40(2): 273–279.
- [8] Turnipseed SB, Storey JM, Lohne JJ, *et al.* Wide-scope screening method for multiclass veterinary drug residues in fish, shrimp, and eel using liquid chromatography-quadrupole high-resolution mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 56(34): 7252–7267.
- [9] 孟娟, 杨永红. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中 7 种四环素和 14 种喹诺酮类药物残留 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(6): 546–549.
Meng J, Yang YH. Simultaneous determination of tetracyclines and quinolones residues in milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2012, 24(6): 546–549.
- [10] 李宁, 张玉龙, 林涛, 等. UPLC-MS 法同时测定牛奶中磺胺类、喹诺酮类、甾体激素类及四环素类兽药残留 [J]. *分析测试学报*, 2016, 35(6): 714–718.
Li N, Zhang YL, Lin T, *et al.* Analysis of sulfonamide, quinolones, steroid hormones and tetracyclines residues in milk by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(6): 714–718.
- [11] Ye ZQ, Weinberg HS. Trace Analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone, and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2007, 79(3): 1135–1144.
- [12] 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 food of animal origin-LC-MS/MS method and HPLC method [S].
- [13] European Commission, Directorate-General for health and food safety. SANTE/12682/2019, Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed [Z].
- [14] 刘柏林, 谢继安, 赵紫薇, 等. 稳定同位素内标-超高压液相色谱-串联质谱法同时测定水果与豆芽中 10 种植物生长调节剂残留 [J]. *分析测试学报*, 2017, 36(5): 601–606.
Liu BL, Xie JA, Zhao ZW, *et al.* Simultaneous determination of ten plant growth regulator residues in fruit and bean sprout by the ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry using stable isotope-labelled internal standards [J]. *J Instrum Anal*, 2017, 36(5): 601–606.
- [15] 张大文, 王冬根, 胡丽芳, 等. 猪肉产品中四环素类药物残留风险评估 [J]. *农产品质量与安全*, 2014, (6): 34–37.
Zhang DW, Wang DG, Hu LF, *et al.* Risk assessment of tetracycline residues in pork products [J]. *Qual Saf Agro-prod*, 2014, (6): 34–37.
- [16] 王安波, 孙思, 杨梅, 等. 黔东南州猪肉中四环素类药物残留的风险评估 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 134–137.
Wang AB, Sun S, Yang M, *et al.* Determination of tetracycline drugs residue in the pork of Qiandongnan prefecture and its risk assessment [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(24): 134–137.
- [17] 董峰光, 徐进杰, 王朝霞, 等. 烟台市动物源性食品违禁药物及兽药残留膳食暴露风险评估 [J]. *现代预防医学*, 2019, 46(3): 433–436.
Dong FG, Xu JJ, Wang ZX, *et al.* Dietary exposure risk assessment of forbidden drug and veterinary drug residues in animal-derived food, Yantai [J]. *Mod Prev Med*, 2019, 46(3): 433–436.
- [18] 中华人民共和国国家卫生计生委疾病预防控制局. 中国居民营养与慢性病状况报告 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
Department of Disease Prevention and Control, National Health Commission of the People's Republic of China. Report on nutrition and chronic diseases of Chinese residents [M]. Beijing: People's Medical

- Publishing House Co., LTD, 2015.
- [19] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization. Evaluation of certain veterinary drug residues in food [C]. thirty-eighth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives, 1999.
- [20] 赵凯, 杨大进. 食品中化学污染物及有害因素监测中截尾数据的处理方法[J]. 中华预防医学杂志, 2014, 48(3): 234–236.
- Zhao K, Yang DJ. Method for the treatment of tail data in the monitoring of chemical pollutants and harmful factors in food [J]. Chin J Prev Med, 2014, 48(3): 234–236.
- [21] 韩小敏, 张宏元, 张靖, 等. 中国 94 份玉米饲料原料中真菌及其毒素污染状况调查[J]. 中华预防医学杂志, 2016, 50(10): 907–911.
- Han XM, Zhang HY, Zhang J, *et al.* Survey on fungi contamination and natural occurrence of mycotoxins in 94 corn feed ingredients collected from China [J]. Chin J Prev Med, 2016, 50(10): 907–911.
- [22] World Health Organization, WHO European programme on monitoring and assessment of dietary exposure to potentially hazardous substances. GEMS/Food-EURO workshop on reliable evaluation of low-level contamination of food: Report on a workshop in the frame of GEMS/food-euro [Z].
- [23] 刘柏林, 谢继安, 赵紫薇, 等. 超高压液相色谱+电喷雾串联四极杆质谱内标法同时测定禽类食品中 11 种喹诺酮类药物[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(3): 316–321.
- Liu BL, Xie JA, Zhao ZW, *et al.* Simultaneous determination of eleven quinolones drug residues in poultry food by ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry with isotope-labelled internal standards [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(3): 316–321.
- [24] 倪海平, 朱宝立, 朱鸿儒. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 15 种药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3549–3555.
- Ni HP, Zhu BL, Zhu HR. Simultaneous determination of 15 drugs residues in eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3549–3555.
- [25] 李锋格, 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.
- [26] Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. Anal Chem, 2003, 75(13): 3019–3030.
- [27] 何建丽, 彭涛, 谢洁, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物肝脏中 20 种全氟烷基类化合物[J]. 分析化学, 2015, 43(1): 40–48.
- He JL, Peng T, Xie J, *et al.* Development of a QuEChERS method for determination of 20 perfluorinated compounds in animal liver by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Anal Chem, 2015, 43(1): 40–48.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

刘柏林, 主管技师, 主要研究方向为营养与食品安全检测。

E-mail: liubolin087@163.com