第 11 卷 第 16 期 食品安全质量检测学报 Vol. 11 No. 16
2020 年 8 月 Journal of Food Safety and Quality Aug. , 2020

液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中 3 种 β-受体激动剂的残留量

易可可[1,2], 谢 洁[2*], 江 游[2], 乔晓婷[2], 龚晓云[2], 黄泽建[2], 翟 睿[2], 彭 涛[2], 戴新华[2], 方 向[2], 时国庆[1*]

(1. 北京科技大学化学与生物工程学院, 北京 100083; 2. 中国计量科学研究院前沿计量科学中心, 质谱仪器工程技术研究中心, 北京 100029)

摘 要: 目的 建立液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)同时测定猪肉中 3 种 β-受体激动剂类药物(沙丁胺醇、莱克多巴胺、克伦特罗)的检测方法。**方法** 制备的样品用含 1%乙酸的乙腈提取, 正己烷去脂后, 采用 ZORBAX SB-C_{18} 色谱分离, 采用乙腈-0.1%甲酸(含 5 mmol/L 乙酸铵)梯度洗脱, 多反应监测模式定量。**结果** 本方法在 12 min 内完成 3 种目标化合物的分离分析。方法的检出限为 0.003~0.015 μg/kg, 定量限为 0.01~0.05 μg/kg。在 0.01~5 μg/kg 的添加范围内, 动物肌肉组织中添加回收率为 71.6%~112.6%, 相对标准偏差为 7.2%~16.9%。**结论** 该方法快速、准确、灵敏, 适合同时定量猪肉中 3 种 β-受体激动剂类药物残留测定。

关键词: 动物源性食品; 液相色谱-串联质谱法; 禁用兽药

Simultaneous determination of 3 kinds of β-agonist residues in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YI Ke-Ke[1,2], XIE Jie[2*], JIANG You[2], QIAO Xiao-Ting[2], GONG Xiao-Yun[2], HUANG Ze-Jian[2], ZHAI Rui[2], PENG Tao[2], DAI Xin-Hua[2], FANG Xiang[2], SHI Guo-Qing[1*]

(1. *Faculty of Chemical and Biological Engineering University of Science and Technology Beijing*, *Beijing* 100083, *China*; 2. *Center for Mass Spectrometry Engineering Technology*, *China Metering Frontiers Science Center Research Institute*, *Beijing* 100029, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous quantification of 3 kinds of β-agonist stimulant drugs (salbutemol, ractopamine, clenbuterol) in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** The prepared samples were extracted with acetonitrile containing 1% acetic acid and acetonitrile saturated n-hexane, and then separated by ZORBAX SB-C_{18} chromatography. The mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid, with a gradient elution, and the content of β-agonist stimulant drugs was quantified by multiple reaction monitoring (MRM) mode. **Results** This method completed the analysis of 3 target compounds

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFF0216303、2016YFF0200502、2016YFF0200504)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFF0216303, 2016YFF0200502, 2016YFF0200504)

***通讯作者:** 谢洁, 副研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为质谱新技术新方法与化学计量。E-mail: xiejie@nim.ac.cn

时国庆, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为食品与环境中污染物的生物检测与分离技术。E-mail: shiguoqing@ustb.ed u.cn

***Corresponding author:** XIE Jie, Associate Professor, Center for Mass Spectrometry Engineering Technology, China Metering Frontiers Science Center Research Institute, Beijing 100029, China. E-mail: xiejie@nim.ac.cn

SHI Guo-Qing, Associate Professor, Faculty of Chemical and Biological Engineering University of Science and Technology Beijing. 100083, China. E-mail: shiguoqing@ustb.edu.cn

within 12 min. The limits of detection were 0.003–0.015 μg/kg, and the limits of quantitation were 0.01–0.05 μg/kg. Average recoveries were found in the range of 71.6%–112.6% at the addition to animal muscle tissue of 0.01–5 μg/kg with relative standard deviations of 7.2%–16.9%. **Conclusion** This method is rapid, accurate and sensitive, and suitable for simultaneous determination of 3 β-agonist drugs residues in pork.

KEY WORDS: animal derived food; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; banned veterinary drugs

1 引　言

兽药在动物养殖中不可或缺, 对防治动物疾病、促进生长、促进肉类食品的增产等方面起着十分显著的作用[1]。20 世纪 80 年代以来, β-受体激动剂被用于畜牧生长以提高瘦肉率, 但 β-受体激动剂会在动物组织中长时间残留, 长期食用会引起不良反应。如克仑特罗(clenbuterol, CLB), 作为强效 β-受体激动剂类药物可用于治疗哮喘, 人食用含药物残留的肉类后可引起肌肉震颤、过敏反应[2], 其他类似的药物还有沙丁胺醇(salbutemol, SLB)和新型瘦肉精莱克多巴胺(ractopamine, RCT)。

为保证动物源性食品安全, 欧盟、美国、日本、中国等纷纷制订了动物源性食品中兽药最高残留限量, 并禁止在畜禽养殖中添加瘦肉精等兽药。2002 年, 我国农牧发布[2002]1 号文明确规定克伦特罗、沙丁醇、莱克多巴胺为禁用药物, 实施例行监测以来, 养殖业中非法使用这几种违禁药物的行为得到了有效遏制, 但仍有违法分子为利益所驱铤而走险, 滥用兽药或不遵守停药期的事件仍有发生。β-受体激动剂类兽药残留已成为动物源性食品监控中最重要的项目[3], 因此建立同时监测该类药物的检测方法是十分必要的。

目前对兽药残留的检测方法主要包括酶联免疫法[4,5]、液相色谱法及气相或液相色谱质谱联用法[6-9]。酶联免疫法操作简单, 快速检测可以用于前期筛查, 但由于其假阳性率高, 无法作为多残留分析的确证方法。随着现代化学分析技术发展迅速, 液相色谱-串联质谱技术(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)在动物源性食品的多组分残留检测中具有明显优势, 如灵敏度高、选择性高和痕量确证分析等[10], 已经为目前主要的检测和确证方法。Huerta 等[11]建立了分析鱼组织中多种药物的高效液相色谱串联质谱法, 在鱼组织中目标化合物的检出限范围为 0.01~0.98 μg/kg。王炼等[12]建立了一种超高效液相色谱–串联质谱法测定畜禽肉和牛奶中多种兽药残留的方法, 方法的检出限和定量限分别为 0.05~3.05 μg/kg 和 0.16~10.0 μg/kg。现行的国标检测方法 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》[13]的对于猪肉中包括 CLB、SLB、RCT 在内的 11 种 β-受体激动剂药物的残留检出限均为 0.5 μg/kg, 而现有针对 β-受体激动剂类药物的 LC-MS/MS 检测方法的检出限大多接近国标检出限, 使用这些方法检测, 若食品中药物残留量低, 可能产生假阴性结果, 导致食品安全监管出现漏洞。为了适应残留检测的需要, 本研究在探索优化适合同时提取 3 种 β-受体激动剂类药物的前处理方法的基础上, 结合 LC-MS/MS 定量确证技术, 建立一种同时定量猪肉组织中 β-受体激动剂类药物的残留检测方法, 为我国动物源性食品安全监控提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器、试剂与材料

Agilent 6460 三重四级杆质谱仪(美国 Agilent 公司); N–EVAP 112 氮吹浓缩仪(美国 Organomation Associates 公司); 3–30K 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); HLB 固相萃取柱(150 mg/6 cc, 美国 Waters 公司)。

沙丁胺醇(salbutemol, SLB)、莱克多巴胺(ractopamine, RCT)、克伦特罗(clenbuterol, CLB)标准品(纯度均大于等于 99%, 德国 Dr. Ehrenstorfer Gmbh 公司); 乙腈、甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 氨水、乙酸、氯化钠(分析纯, 北京精细化学试剂公司); 甲酸、乙酸铵(色谱纯, 美国 Acros Organics 公司)。

本实验收集的 11 份国内猪肉组织样品购买自北京各农业批发市场。

2.1.2 溶液配制

乙腈饱和正己烷: 100 mL 正己烷中加入 10 mL 乙腈, 充分振荡后, 静置分层, 取上层液体。

0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵): 取 1 mL 甲酸和 0.38 g 乙酸铵置于 1 L 容量瓶中, 用水溶解并定容至 1 L。

稀释液: 准确量取 8.5 mL 超纯水, 加入 1.5 mL 乙腈, 充分振荡混匀, 现用现配。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

标准储备液的配制: 分别精密称取标准品 10.0 mg(以纯品计算)于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解、定容, 配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。

标准工作液的配制: 分别移取 0.1 mL 兽药标准品储备液于 10 mL 容量品中, 用乙腈稀释、定容, 配制成 10.0 μg/mL 的混合标准工作溶液。

以上标准储备液和标准工作液分别于–20 ℃避光保存。

2.2.2 样品前处理

称取 2.0 g(精确至 0.1 g)试样(猪肉)于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈(含 1%乙酸), 涡旋 30 s, 振荡 15 min, 5000 r/min (2599 *g*)离心 10 min, 收集上清于另一 50 mL 离心管。残渣用 10 mL 乙腈(含 1%乙酸)按以上步骤重复提取 1 次, 合并上清液。上清液中加入 10 mL 乙腈饱和正己烷, 剧烈振荡 30 s, 5000 r/min(2599 *g*)离心 10 min, 去除正己烷层, 收集下层液体, 40 ℃水浴中减压浓缩至干。用稀释液复溶, 定容至 1 mL, 混匀后过 0.22 μm 尼龙滤膜, 待检测。

2.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C_{18}(100 mm ×2.1 mm, 3.5 μm); 柱温: 40 ℃; 进样量: 10 μL。流动相 A 为 0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵), 流动相 B 为乙腈。流速: 0.4 mL/min。液相色谱采用梯度洗脱: 0 min, 1% B; 3 min, 25% B; 3.5 min, 35% B; 5 min, 50% B; 6.5 min, 80% B; 9.5 min, 100% B; 10.5 min, 100% B; 11.5 min, 1% B; 13 min, 1% B。

(2) 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 正离子扫描; 监测方式: ESI^+为动态多反应监测; 毛细管电压: 4000 V; 雾化气压力: 40 psi; 干燥气温度: 300 ℃; 干燥气流速: 10 L/min; 鞘气温度: 350 ℃; 鞘气流速: 11 L/min; 其他质谱参数见表 1(母离子、子离子、碰撞能量和碎裂电压)。

2.2.4 基质匹配标准曲线的绘制

准确量取适量混合标准工作液, 用 2.2.2 方法处理空白基质的提取液作为标准溶液的稀释液, 稀释混合标准工作液, 得基质匹配标准溶液经 LC-MS/MS 分析, 每一个浓度平行进样 2 次。以基质匹配标准工作液的浓度为横坐标, 化合物对应定量离子的峰面积比为纵坐标, 绘制基质匹配标准曲线。

2.2.5 方法确证

准确度与精密度分别用回收率和相对标准偏差。取猪肉空白样品 2 g, 按 1 倍、10 倍和 100 倍定量限(limit of quantitation, LOQ)3 个浓度水平添加混合标准工作液进行添加回收实验, 按照 2.2.2 和 2.2.3 所示方法进行样品处理和分析测定。根据各分析物的峰面积, 用基质匹配标准曲线计算对应的浓度, 然后计算相应的回收率和相对标准偏差。每个浓度样品制备 6 个平行, 连续 3 d 重复制备, 计算平均回收率、日内精密度和日间精密度。

2.2.6 实际样品检测

按 2.2.2 和 2.2.3 所示方法对收集的样品进行前处理以及检测分析。

3 结果与分析

3.1 实验条件选择

3.1.1 液相色谱条件优化

反相色谱柱适用范围较广, 兽药分析多采用反相 C_{18} 柱。C_{18}柱种类繁多, 性能、特点各不相同, 色谱分析效果存在较大的差异。本研究对 Acquity UPLC BEH C_{18} 柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)与 Agilent ZORBAX SB-C_{18}柱(100 mm×2.1 mm, 3.5 μm)的分离效果进行了比较。Acquity UPLC BEH C_{18}柱峰形较宽且有拖尾; ZORBAX SB-C_{18}柱分离效果较为理想, 峰形较窄, 拖尾现象明显改善, 最后选择 ZORBAX SB-C_{18}柱。

流动相可影响目标化合物的保留时间和峰形、离子化效率和灵敏度。本实验对流动相以及流动相添加剂进行优化, 以得到好的分离和高的灵敏度。在正离子模式下, 0.1%甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)和乙腈为流动相时取得了最优的结果, 加入 0.1%甲酸可促进化合物在正离子模式下的电离, 生成$[M+H]^+$离子; 加入 5 mmol/L 乙酸铵则可以改善化合物在正离子模式下的峰形和拖尾等现象。因此, 本实验最终采用 0.1%甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)和乙腈为流动相, 根据化合物保留性质的差异, 优化洗脱梯度, 保证所有药物保留, 得到对称、尖锐的峰形及最佳色谱分离效果。

3.1.2 质谱条件优化

将标准品配制为 0.5 μg/mL 的乙腈-水(1:1, *V/V*), 在正离子模式下进行全扫描, 考察了各目标物的响应, 确定目标物的母离子, 并对各分析物的碎裂电压进行优化。获得母离子峰后再做子离子扫描, 确定每种化合物的特征碎片离子和碰撞能量, 根据这些碎片离子可以准确定性和定量。

表 1 各种化合物质谱条件

Table 1 MRM parameters of compounds

化合物	电离模式(ESI)	母离子(*m/z*)	子离子(*m/z*)	碎裂电压/V	碰撞能量/V	保留时间/min
CLB	M+H	277.2	203.0*/132.1	120	15/30	4.1
RCT	M+H	302.2	121.1/107.0*	120	20/35	3.6
SLB	M+H	240.1	166.0/148.0*	80	10/15	2.2

注: *为定量离子。

正离子扫描模式选用乙腈和 0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 醋酸铵)为流动相对分析物进行分离。ESI^+下采用 MRM 监测模式。本实验以猪肉进行前处理优化, 文中所列谱图为猪肉中添加色谱图。部分化合物标准溶液的质量离子色谱图如图 1。

3.2　样品前处理方法优化

提取时, 样品中蛋白和脂肪含量不同会影响化合物的回收率。本实验比较了乙腈-乙酸乙酯(1:1, *V/V*)、乙腈-乙酸乙酯-乙酸(49.5:49.5:1, *V/V/V*)、乙腈-乙酸乙酯-氨水(49.5:49.5:1, *V/V/V*)提取分析物的回收率(图 2A), 提取溶剂中加入 1%乙酸时综合提取效率最好。本实验比较了酸解、酶解、碱解和不水解对回收率的影响(图 2B), 采用酸性提取液乙腈-乙酸乙酯-乙酸(49.5:49.5:1, *V/V/V*)直接提取, 所有分析物的回收率基本满足要求。为了保证充分彻底提取, 实验了重复提取的效果(图 2C), 结果发现 1 次提取不能完全将分析物提取出, 2 次提取后, 回收率可增加约 10%~20%, 因此前处理方法优化后采用 2 次提取来提取分析物。本实验比较了乙腈、甲醇、乙腈和甲醇的混合液、甲醇和二氯甲烷的混合液的洗脱能力(图 2D), 研究发现在乙腈-甲醇(1:1, *V/V*)中加入氨水使洗脱液呈碱性, 使药物在洗脱时呈游离态, 防止盐的形成, 利于洗脱。综合考虑, 选择含 5%氨水的乙腈-甲醇-氨水(47.5:47.5:5, *V/V*)和甲醇-二氯甲烷(3:7, *V/V*)依次洗脱, 能最大程度保留杂质并洗脱各种分析物。

3.3　基质匹配标准曲线

在液相色谱串联质谱方法中, 基质效应是由基质的干扰产生的。本研究按照 Matuszewski 等[14]建立的数学模型评价基质效应的影响。结果显示猪肉中存在基质效应, 因此本研究采用基质匹配标准曲线定量, 抵消基质效应的影响。3 种化合物的基质匹配标准曲线的线性范围、相关系数和回归方程见表 2, 在线性范围内, 相关系数(r^2)都大于 0.99, 表明其方程的相关性良好。

3.4　检出限和定量限

根据 20 个空白样品的基线噪音值, 求其平均值, 将 *S/N* 为 3 时对应的浓度定为检出限(limit of detection LOD), 以 *S/N* 为 10 时对应的浓度定为 LOQ, 肌肉组织中 3 种兽药和污染物的 LOD 和 LOQ 分别在 0.003~0.015 μg/kg 和 0.01~0.05 μg/kg, 具体结果见表 3。根据相关文献, 郭德华等[15]建立了一种固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中 76 种兽药残留, 采用乙腈和含 Mg^{2+} 的柠檬酸缓冲液提取, 阳离子交换固相萃取柱串联净化。其中 β-受体激动剂类药物残留(SLB、RCT、CLB)的定量限为 0.1~0.3 μg/kg, 肉类样品的添加回收率为 64.4%~107.9%, 相对标准偏差分别为 3.9%~20.8%。Geis-Asteggiante 等[16]采用超高效液相色谱-串联质谱法定

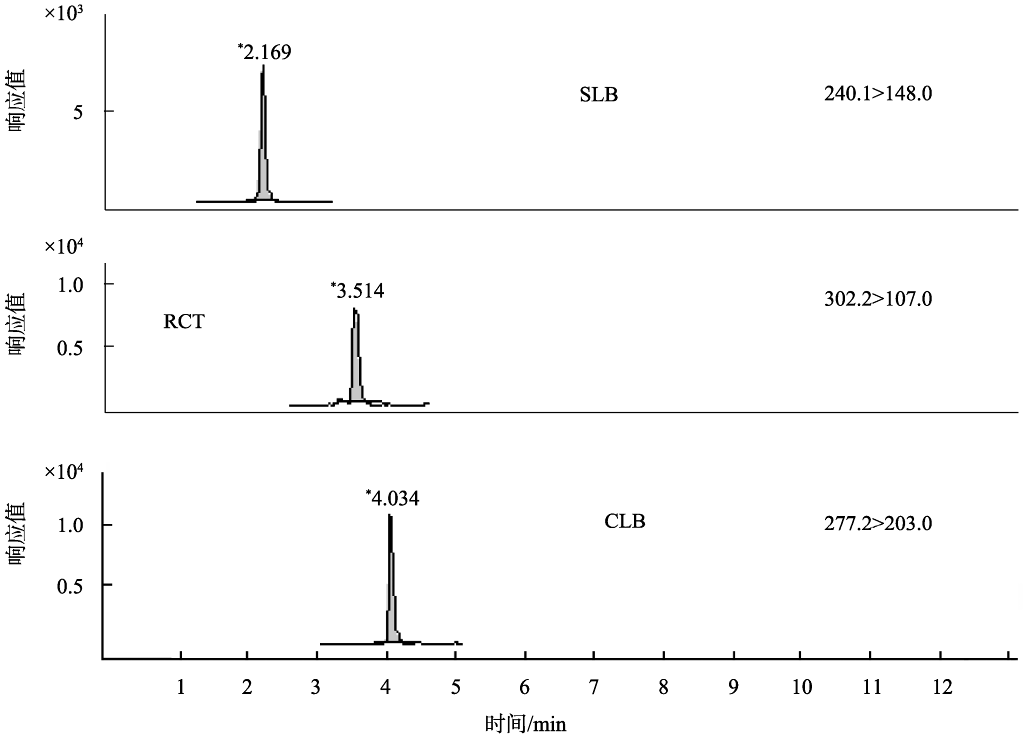
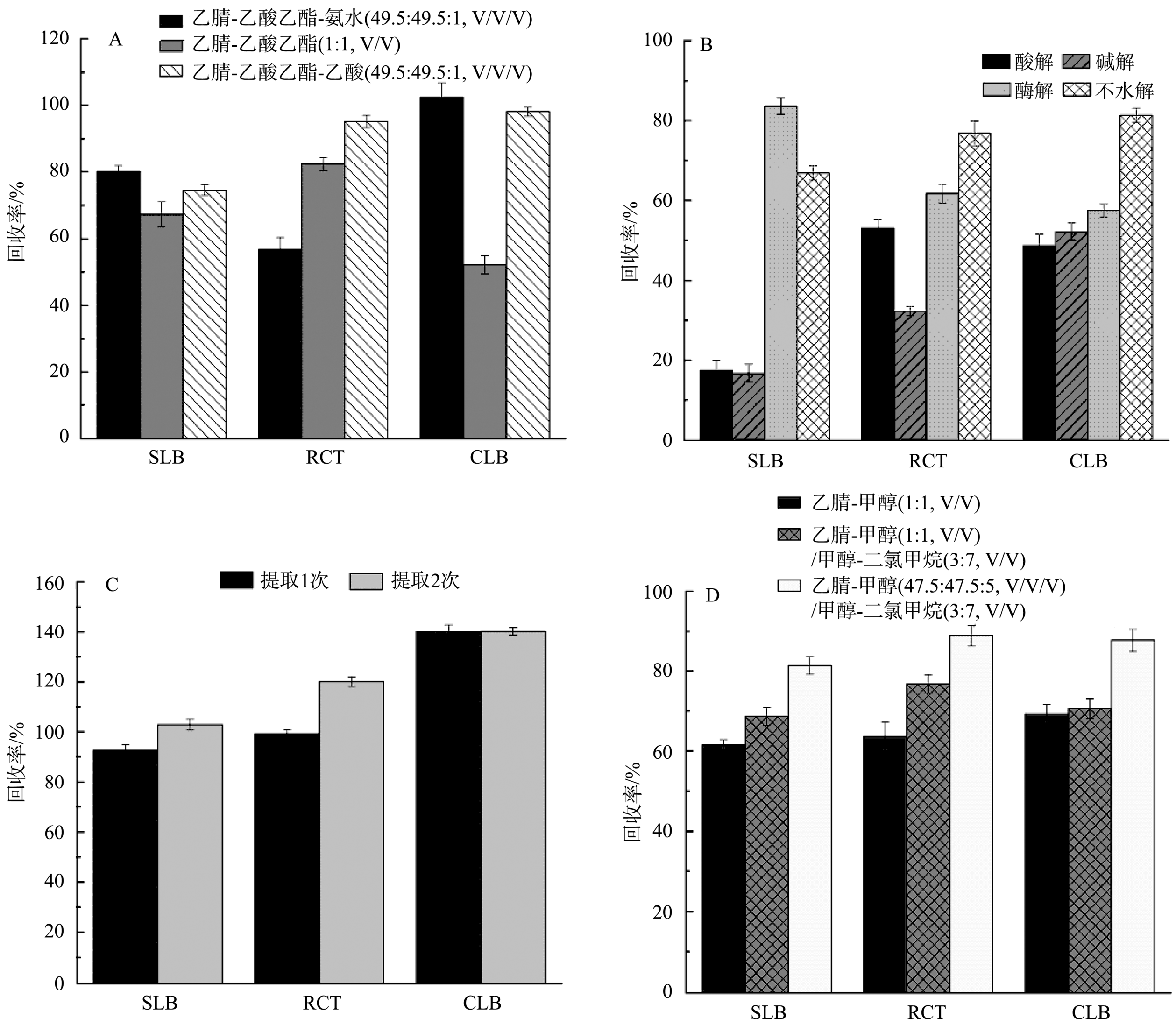


图 1　部分兽药标准溶液的色谱图(浓度为 5 倍 LOQ)

Fig.1　Chromatograms of several veterinary drug standard solutions (The concentration was 5 times of LOQ)



注: A: 提取环境的提取率比较; B: 不同水解方式的提取效率比较; C: 提取次数的影响; D: 不同洗脱溶液洗脱能力的比较。

图 2 前处理条件优化结果

Fig.2 Optimization results of pretreatment conditions

表 2 猪肉基质匹配标准曲线的线性范围、回归方程和相关系数

Table 2 Linearity ranges, correlation coefficients, regression equations of matrix-matched calibration curves in swine muscle

化合物	线性范围/(μg/ kg)	回归方程	相关系数(r^2)
SLB	0.01~2.5	Y=0.31X–0.03	0.9956
RCT	0.05~5.0	Y=0.19X+0.02	0.9976
CLB	0.01~1.0	Y=3.11X–0.17	0.9934

性和定量的肉类中 100 多种兽药残留, 回收率范围在 70%–120%, 超过 100 种分析物的平均重复性≤25%。其中 β-受体兴奋剂类药物残留(SLB、RCT、CLB)的回收率范围在 76%~82%, 值得注意的是该方法 RCT 结果较差, 加标回收实验假阴性率高达 40%, 远超实验验证阈值(可接受的假阴性≤10%)。本研究确立的方法快速简单灵敏, 在 12 min 内即可完成 3 种目标化合物的分离分析。相比报道的方法, 本研究确立的方法消除了基质干扰和假阴性问题, 检测结果更加灵敏、准确、可靠。

表 3　肌肉组织中 3 种兽药的检测限和定量(μg/kg)
Table 3　LODs and LOQs of three veterinary drugs in muscle (μg/kg)

化合物	LOD	LOQ
SLB	0.003	0.01
RCT	0.015	0.05
CLB	0.003	0.01

3.5　准确度、精密度和重现性

称取空白样品，按 1 倍、10 倍和 100 倍 LOQ 3 个浓度水平进行添加回收试验，每个浓度水平制备 6 个平行，连续 3 d 制备，其方法的准确度和精密度结果见表 4。在 0.01~5.0 μg/kg 的添加范围内，猪肉中回收率在 71.6%~112.6%之间，日内精密度和日间精密度分别为 8.0%~16.9%、7.2%~14.5%，表明方法准确可靠，可用于实际样品检测。

3.6　实际样品的检测

采用本方法对收集的 11 份猪肉样品进行处理和分析，检测结果见表 5，其中 5 个样品有 RCT 检出，其中 1 例阳性样品的多反应监测谱图见图 3。若采用 GB/T 22286-2008，其中只有 1 个样品有 RCT 检出，检出率为 9%，存在较多假阴性结果。若采用文献报道的方法，RCT 的定量限为 0.3 μg/kg，实验预期有 2 个样品 RCT 检出，检出率为 18%，依然会出现假阴性结果。根据农业部公告第 250 号[17]和 GB 2763-2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》[18]的规定，禁止 RCT 在动物养殖中的使用，即对市场在售的肉类要求是 RCT 零检出。因此，对于食品中的药物残留结果应当避免出现假阴性，采用本方法的检测结果显示 RCT 的检出率为 45%，然而，本研究中检测样本容量过小，可能导致抽样误差增大，但从食品安全的角度考虑，建议监管部门加强对市场肉类产品的监管，严禁不合格肉类产品进入销售市场。

表 4　猪肉添加 3 种兽药的回收率和精密度(日内，n=6；日间，n=3)
Table 4　Recoveries and precisions of 3 veterinary drugs in swine muscles (inner-, n=6; intra-, n=3)

化合物	添加浓度/(μg/kg)	回收率/%	日内精密度/%	日间精密度/%
SLB	0.01	112.6	8.0	10.4
	0.1	101.9	11.8	11.2
	1	71.6	13.1	9.3
RCT	0.05	96.6	15.1	14.5
	0.5	98.2	13.2	12.8
	5	98.4	16.9	7.2
CLB	0.01	74.1	10.4	7.4
	0.1	83.0	9.0	12.9
	1	104.7	12.3	9.3

表 5　国内外肉样检测结果
Table 5　Results of import and export meat samples

序号	基质	检出物	浓度/(μg/kg)
1	猪肉	RCT	0.11
2	猪肉	-	-
3	猪肉	-	-
4	猪肉	RCT	0.06
5	猪肉	-	-
6	猪肉	RCT	0.32
7	猪肉	RCT	0.53
8	猪肉	-	-
9	猪肉	-	-
10	猪肉	RCT	0.05
11	猪肉	-	-

注：-为未检出。

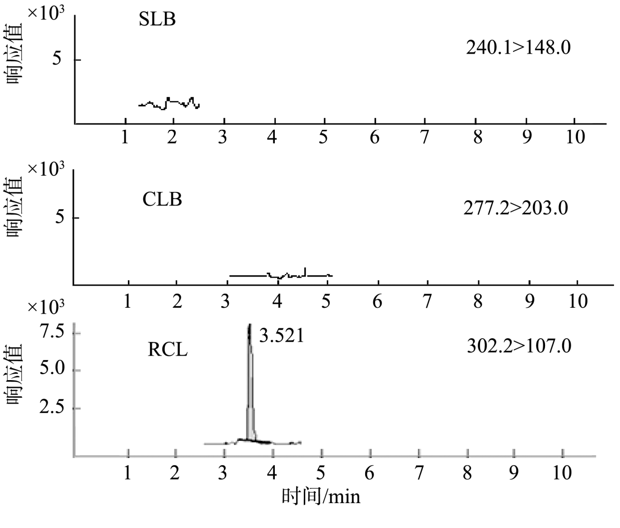


图 3　6 号阳性样品的 MRM 谱图
Fig.3　MRM chromatogram of a positive sample No. 6

4 结 论

本研究建立了一种适合同时定量猪肉中3种β-受体激动剂类药物残留(SLB、RCT、CLB)的 LC-MS/MS 检测方法。该方法快速、准确、灵敏，适合用于猪肉中 β-受体激动剂类药物残留定量分析。采用本方法对收集的 11 份肉样进行处理和分析，有 5 个样品有 RCT 残留检出，检出率为 45%，检测结果比国标方法和文献方法更加准确。本研究确立的方法高效、灵敏、准确、可靠，为我国动物源性食品的监管提供技术保障。

参考文献

[1] 魏法山, 盖圣美, 谢文佳, 等. 动物源性食品中硝基呋喃类兽药残留检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(6): 2289–2295.
Wei FS, Gai SM, Xie WJ, *et al*. Research progress on nitrofurans residues detection methods in animal derived foods [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(6): 2289–2295.

[2] Reig M, Toldrá F. Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection [J]. Meat Sci, 2008, 78(1): 60–67.

[3] 王辉. 食品快速检测技术的应用概况[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(11): 2767–2774.
Wang H. Application of food rapid detection technology [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(11): 2767–2774.

[4] Lin L, Jiang W, Xu L, *et al*. Development of IC-ELISA and immunochromatographic strip assay for the detection of flunixin meglumine in milk [J]. Food Agric Immunol, 2018, 29(1): 193–203.

[5] Vargas-Mamani MC, Reyes-Reyes FG, Rath S. Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC-DAD [J]. Food Chem, 2009, 117(3): 545–552.

[6] 张春霞. 仪器分析法在食品中化学污染物检测方面的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(11): 2762–2766
Zhang CX. Applications of instrument analysis in the detection of chemical contaminants in food [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(11): 2762–2766.

[7] Granelli K, Elgerud C, Lundström Å, *et al*. Rapid multi-residue analysis of antibiotics in muscle by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2009, 637(1): 87–91.

[8] Zhu AL, Li XJ, Chen DD, *et al*. Simultaneous determination of thirty non-steroidal anti-inflammatory drug residues in swine muscle by ultra-high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1219: 104–113.

[9] Yu H, Tao Y, Chen D, *et al*. Development of a high performance liquid chromatography method and a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method with pressurized liquid extraction for simultaneous quantification and confirmation of cyromazine, melamine and its metabolites in foods of animal origin [J]. Anal Chim Acta, 2010, 682(1): 48–58.

[10] 张振宇, 李明, 柴磊. 动物源性食品中非法使用药物残留检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(10): 3228–3232.
Zhang ZY, Li M, Chai L. Research progress in detection methods of illegal drug residues in animal derived foods [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(10): 3228–3232

[11] Huerta B, Jakimska A, Gros M, *et al*. Analysis of multi-class pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2013, 1288: 63–72.

[12] 王炼, 黎源倩, 王海波, 等. 基质固相分散-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉和牛奶中 20 种兽药残留[J]. 分析化学, 2011, 39(2): 203–207.
Wang L, Li YQ, Wang HB, *et al*. Simultaneous determination of twenty veterinary drug residues in milk and meat using matrix solid phase dispersion-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2011, 39(2): 203–207.

[13] 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[S].
GB/T 22286－2008 Determination of residues of several β-agonists in foods of animal origin-Liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].

[14] 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.

[15] 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, 038(03): 318–324.
Guo DH, Deng XJ, Zhao SZ, *et al*. Simultaneous determination of 76 veterinary drug residues in foodstuffs of animal origin by solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(3): 318–324.

[16] Geis-Asteggiante L, Lehotay SJ. Ruggedness testing and validation of a practical analytical method for >100 veterinary drug residues in bovine muscle by ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1258: 43–54.

[17] 中华人民共和国农业部公告 第 250 号[EB/OL]. [2003-11-20]. http://www.moa.gov.cn/nybgb/2003/erqi/201806/t20180624_6153096.htm
Announcement of the ministry of agriculture of the People's Republic of China No.250 [EB/OL]. [2003-11-20]. http://www.moa.gov.cn/nybgb/2003/erqi/201806/t20180624_6153096.htm

[18] GB 2763–2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763–2019 National food safety standard- Maximum pesticide residue limit in food [S].

(责任编辑：韩晓红)

作者简介

易可可，硕士研究生，主要研究方向为质谱新技术新方法与化学计量。
E-mail: 583614104@qq.com

谢 洁，副研究员，主要研究方向为质谱新技术新方法与化学计量。
E-mail: xiejie@nim.ac.cn

时国庆，副教授，主要研究方向为食品与环境中污染物的生物检测与分离技术。
E-mail: shiguoqing@ustb.edu.cn