

超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物的残留量的研究

刘 开, 郭建博, 薛晓文, 林 芳, 王 蕊, 宋 莉, 李 涛*, 王 晶

(陕西省食品药品监督检验研究院, 西安 710065)

摘 要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物的分析方法。**方法** 试样经三氯乙酸溶液提取, MCX 固相萃取小柱净化, 5%的甲醇水(V/V)溶液复溶。电喷雾正离子模式电离, 多反应监测模式检测, 基质匹配内标法定量。**结果** 硝基咪唑及其代谢物在 0.25~50 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.9915, 加标回收率为 73.5%~120.4%; 相对标准偏差在 2.4%~13.4%之间, 定量限为 0.1~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。**结论** 本方法简便、灵敏, 适用于动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物残留的定性、定量分析。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 硝基咪唑药物及其代谢物; 动物源性食品

Determination of nitroimidazoles and their metabolites residues in foodstuffs of animal origin by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Kai, GUO Jian-Bo, XUE Xiao-Wen, LIN Fang, WANG Rui, SONG Li, LI Tao*, WANG Jing

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of nitroimidazoles and their metabolites in animal foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with trichloroacetic acid solution, cleaned with MCX column, and then reconstituted with 5% methanol aqueous solution (V/V). The samples were determination by mass spectrometry with electrospray ion source in the positive mode, monitored by the multiple reaction monitoring (MRM) mode, and then quantified by the matrix matching of internal standard calibration. **Results** The linear relationship of nitroimidazole and its metabolites was good in the range of 0.25–50 ng/mL, the correlation coefficient was greater than 0.9915, and the standard recovery was 73.5%–120.4%. The RSD ranged from 2.4% to 13.4% and the quantitative limit was 0.1 to 0.5 $\mu\text{g/kg}$. **Conclusion** This method is simple and sensitive, and can be applied to qualitative and quantitative analysis of nitroimidazoles and their metabolites residues in foodstuffs of animal origin.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; nitroimidazoles and their metabolites; foodstuffs of animal origin

基金项目: 陕西省重点产业链(群)项目(2019ZDLSF07-08)、陕西省创新能力支撑计划(2019PT-22)

Fund: Supported by the Shaanxi Key Industry Chain (Group) Project (2019ZDLSF07-08), and the Shaanxi Innovation Capability Support Plan (2019PT-22)

*通讯作者: 李涛, 主任药师, 主要研究方向为食品及保健食品检验、食品安全快速检测技术研究。E-mail: westyx@126.com

*Corresponding author: LI Tao, Chief Pharmacist, Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China. E-mail: westyx@126.com

1 引言

硝基咪唑类药物是一类含有 5 位硝基取代咪唑杂环的化合物,主要包括甲硝唑、二甲硝咪唑、洛硝哒唑、奥硝唑、替硝唑、苯硝咪唑等,其结构的共同特点是咪唑环上有硝基取代,根据取代基的种类和位置分为不同的硝基咪唑类药物。该类药物具有抗厌氧菌、广谱、杀菌作用强、价格低、疗效好等优点^[1],常用于预防和治疗家禽组织滴虫病、球虫病以及猪出血性炎等疾病。但因其对人体有较强的毒副作用,滥用后易造成耐药性,危害公共卫生安全^[2]。我国已于 2002 年禁止该药物的使用^[3]。我国 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》^[4]明确规定,除二甲硝咪唑和甲硝唑允许用于治疗,不得在动物性食品中检出,其他硝基咪唑类药物在所有食品动物中禁止使用,且不得检出。硝基咪唑代谢物在动物体内比原药维持时间长^[5],以二甲硝咪唑为例,在给家禽喂药 2 d 后,肌肉组织中未检出原药残留,1 d 后在蛋中检测到其代谢物。因此,硝基咪唑类药物的代谢产物的检测备受关注^[6,7]。

目前,硝基咪唑类药物残留的检测方法主要有酶联免疫法^[8]、气相色谱-质谱联用法^[9]、高效液相色谱法^[10-12]、液相色谱-串联质谱法^[7,13-17],酶联免疫法易产生假阳性或者假阴性结果,一般用于常规大批量快速筛查;气相色谱-质谱联用法需要衍生化,实验条件要求严格,液相色谱法灵敏度相对较低;液相色谱-串联质谱法,具有选择性好、灵敏度高等优势。当前关于食品中硝基咪唑类药物残留检测的前处理手段主要有液相萃取净化法、分子印迹净化法、QuEChERS 净化法、固相萃取小柱净化法等。常规液相萃取净化法存在溶剂消耗量大、环境危害大等缺陷;分子印迹净化法尽管净化效果好,但也存在操作要求高、制备时间长等缺陷;QuEChERS 是一种主要用于农药残留分析的前处理技术,方法简单、快速,但石墨化碳(graphitized carbon, GBC)对含有苯环的硝基咪唑类化合物并不友好,N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA)对其也有吸附作用;而采用固相萃取小柱净化是做动物源性食品中常用方法,通过理论计算,硝基咪唑类药物能够呈现较好的亲水性,并在酸性环境中能够结合氢离子呈现正电性,由此,采用阳离子固相萃取小柱进行富集、净化,净化后样品澄清,干扰小,有利于延长色谱柱寿命,减少离子源的清洗次数。本研究建立了超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid phase - tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定猪肉、鸡肉、奶粉、蜂蜜、鱼等动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物的方法,同时优化了提取净化方法和色谱-质谱条件,并通过基质匹配内标法消除了不同类型基质效应的影响,确保结果的准确性,以期对硝基咪唑类药物及其代谢物的检测提供了可靠的技术

支撑。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

UPLCI-Class/Xevo TQ 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司);Hitachi 低温高速离心机(日本日立公司);IKA VORTEX GENIUS3 涡旋混合器、T 25 均质器(德国 IKA 公司);Mili Q 超纯水机(美国 Milipore 公司);MGS-2200 氮吹仪(日本 EYELA 公司);XPE205 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

标准品:塞克硝唑(secnidazole, SNZ)(CAS: 3366-95-8)、甲硝唑(metronidazole, MNZ)(CAS: 443-48-1)、异丙硝唑(ipronidazole, IPZ)(CAS: 14885-29-1)、苯硝咪唑(5-nitrobenzimidazole, NBI)(CAS: 94-52-0)、2-羟基-1-甲基-5-硝咪唑-D₃(2-hydroxy-1-methyl-5-nitroimidazol-D₃, HMMNI-D₃)(CAS: 1015855-78-3)、2-羟基-1-甲基-5-硝咪唑(HMMNI)(CAS: 936-05-0)(德国 WITEGA 公司);替硝唑(tinidazole, TNZ)(CAS: 19387-91-8)、奥硝唑(ornidazole, ONZ)(CAS: 16773-42-5)、洛硝哒唑(ronidazole, RNZ)(CAS: 7681-76-7)、羟基甲硝唑-D₂(metronidazole-hydroxy-D₂, MNZOH-D₂)(CAS: 4812-40-2)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司);羟基异丙硝唑-D₃(ipronidazole-hydroxy, IPZOH-D₃)(CAS: 1156508-86-9)、羟基甲硝唑(metronidazole-OH, MNZOH)(CAS: 4812-40-2)、羟基异丙硝唑(ipronidazole-OH, IPZOH)(CAS: 35175-14-5)、特尼哒唑(ternidazole, TerNDZ)(CAS: 1077-93-6)(美国 Sigma 公司);二甲硝咪唑(dimetridazole, DMZ)(CAS: 551-92-8)、4-硝基咪唑(4-nitroimidazole, 4-HMZ)(CAS: 3034-38-6)(中国食品药品检定研究院)。标准品纯度均≥97.3%;甲酸(LC-MS 级)、甲醇(色谱纯)(德国 CNW 公司);三氯乙酸、氨水(分析纯,天津科密欧公司);Oasis MCX 固相萃取小柱(60 mg、3 mL, 美国 waters 公司),使用前依次用 3 mL 甲醇,5 mL 0.1%盐酸溶液活化;超纯水由 Mili-Q 超纯水系统制得。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

分别准确称取 13 种硝基咪唑类药物及其代谢物标准品和 3 种内标标准品,用乙腈溶解,配制成 100 μg/mL 的标准储备液,4 °C 冰箱保存。

分别移取适量硝基咪唑类药物及其代谢物标准储备液,用甲醇溶液稀释,配制成 0.1 μg/mL 混合标准中间液,4 °C 冰箱保存。

分别移取适量硝基咪唑类药内标储备液,用甲醇溶液稀释,配制成 0.1 μg/mL 混合内标中间液,4 °C 冰箱保存。

最后用空白基质溶液配制成质量浓度为 0.25~50 ng/mL 的系列混合标准工作液,混合标准工作液中内标

含量均为 2.5 ng/mL, 临用现配。

2.2.2 样品制备

称取试样 5 g(精确至 0.01 g), 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 准确加入 25 μ L 3 种混合内标中间液, 加入 10 mL 10%三氯乙酸溶液, 12000 r/min 匀浆 2 min, 置于水浴中超声提取 15 min, 取出后, 12000 r/min 离心 10 min, 上清液置于另一离心管内, 残渣用 10 mL 三氯乙酸溶液重复提取 1 次, 合并 2 次提取液, 待净化。将提取液转移至已活化的 MCX 阳离子固相萃取小柱上, 依次用 5%甲酸-甲醇 5 mL、甲醇 5 mL 淋洗固相萃取小柱, 用 5 mL 氨水-甲醇(5%)溶液洗脱待测物。洗脱液于 40 $^{\circ}$ C 水浴中氮吹浓缩至近干, 用 1 mL 5%甲醇水溶液溶解残渣, 12000 r/min 离心 15 min 后, 上清液上机测定。

若样品中脂肪(油脂)含量较高(如肥肉、五花肉样品), 将三氯乙酸提取液置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中, 放置 30 min, 并在 4 $^{\circ}$ C 下 5000 r/min 离心 10 min, 去除脂质。若提取液中还含有脂质, 可继续用 10 mL 正己烷萃取脱脂。

2.2.3 仪器条件

(1)色谱条件

色谱柱: BEH C_{18} (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m); 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 流速: 0.25 mL/min; 流动相: A 为甲醇, B 为 1%甲酸溶液; 梯度洗脱程序: 0~2.5 min, 5% A; 2.5~7.0 min, 30% A; 7.0~10.0 min, 65% A; 10.0~10.1 min, 85% A; 10.1~12.0 min,

85% A; 12.0~12.1 min, 5% A; 后平衡 3 min; 梯度变化模式为线性模式; 进样量: 5 μ L。

(2)质谱条件

离子源: 电喷雾离子(electron spray ionization, ESI)源, 正离子模式; 源温: 150 $^{\circ}$ C; 扫描模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 脱溶剂气温度: 500 $^{\circ}$ C; 喷雾电压: 3.2 kV; 脱溶剂气温度: 500 $^{\circ}$ C; 碰撞气: 氦气 0.15 mbar, 脱溶剂气流速: 1000 L/hr, 锥孔气流速: 50 L/hr。13 种硝基咪唑类药物及其代谢物的其他质谱参数见表 1。

3 结果与分析

3.1 分析条件优化

3.1.1 色谱条件优化

硝基咪唑类药物及其代谢物是一类极性较强的化合物(表 2), 为获得更高的分离度、灵敏度和样品通量, 本研究比较了小颗粒填料、柱效较高的 3 种色谱柱进行优化: 本文比较了 Hypersil GOLD aQ(2.0 mm $\times$ 100 mm, 1.9 μ m)、Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μ m) 和 Agilent ZORBAX SB C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m) 的分离效果, 结果表明, 在同等色谱条件下, 13 种硝基咪唑类药物在 BEH C_{18} 柱上的色谱峰形最优, 并且经梯度洗脱获得的分离效果最理想(图 1)。

表 1 硝基咪唑类药物及其代谢物的质谱参数
Table 1 MS Parameters of nitroimidazoles and their metabolites

化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)/(碰撞能量/eV)	锥孔电压/V	同位素内标	保留时间/min
SNZ	186.1	58.0(18), 115.1(18)	23	MNZOH-D ₂	0.83
4-HMZ	114.0	68.0*(13), 84.0(15)	28	MNZOH-D ₂	1.57
MNZOH	188.1	126.0*(18), 144.0(13)	23	MNZOH-D ₂	2.29
HMMNI	158.1	140.0*(13), 55.0(18)	23	HMMNI-D ₃	3.05
MNZ	172.1	128.0*(13), 82.0(23)	25	MNZOH-D ₂	3.19
DMZ	142.0	96.0*(15), 81.0(20)	28	MNZOH-D ₂	3.89
RNZ	201.1	140.0*(13), 55.0(20)	18	HMMNI-D ₃	4.21
TerNDZ	186.1	82.0*(25), 128.0(18)	23	MNZOH-D ₂	4.62
NBI	164.0	91.0*(38), 118.0(18)	30	MNZOH-D ₂	5.00
TNZ	248.1	121.0*(18), 128.0(20)	30	IPZOH-D ₃	5.70
IPZOH	186.1	168.0*(15), 122.0(20)	23	IPZOH-D ₃	6.23
ONZ	220.1	82.0*(18), 93.0(18)	25	IPZOH-D ₃	6.40
IPZ	170.1	109.1*(23), 123.0(25)	33	IPZOH-D ₃	7.49
MNZOH-D ₂	190.1	128.0*(18)	23		2.30
HMMNI-D ₃	161.0	143.0*(13)	23		3.00
IPZOH-D ₃	189.1	125.0*(20)	25		6.21

注: *表示定量离子。

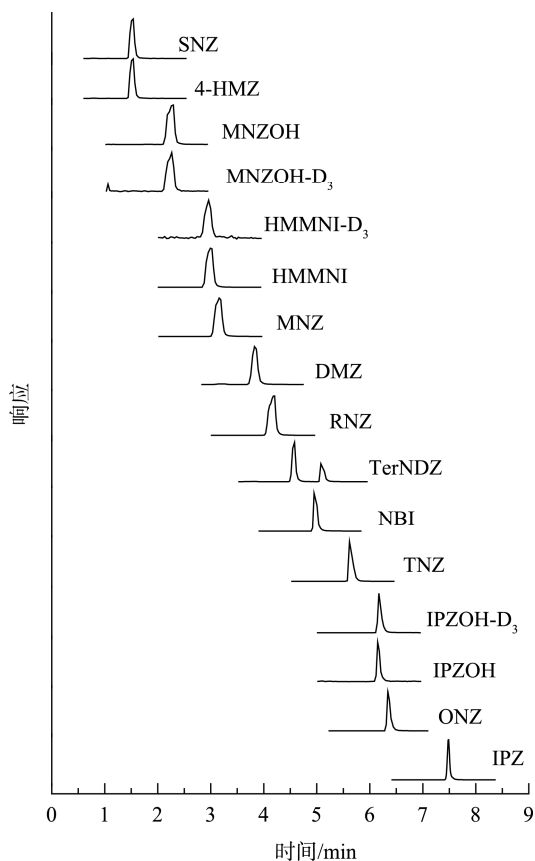


图 1 硝基咪唑类药物总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of nitroimidazoles and their metabolites

本研究比较了 0.1%甲酸水-甲醇与含 0.5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸)-甲醇 2 个流动相体系对目标化合物分离效果的影响。结果显示,当流动相体系中加入乙酸铵后,峰型变宽,丰度降低。综上所述,本研究采用 BEH C₁₈ 色谱柱,含 0.1%甲酸-甲醇作为流动相分离待测组分,此时目标化合物能较好地实现分离。

3.1.2 质谱条件优化

对硝基咪唑类药物及其代谢物进行一级质谱扫描确定准分子离子峰(即母离子),优化毛细管电压、锥孔电压、离子源温度、脱溶剂气温度、脱溶剂气流量、锥孔气流量等质谱参数,对母离子进行子离子扫描获得相应的子离子峰。选择丰度强、干扰小的离子作为定性或定量离子。优化后的锥孔电压、碰撞能量、定性和定量离子见表 1。选出的离子对数量符合欧盟 EC/657 指令中利用质谱方法对药物残留进行确证时必须满足 4 个识别点的要求(母离子为 1 个识别位点,特征子离子为 2 个识别位点,保留时间为 1 个识别位点)。

3.2 提取条件优化

根据油水分配系数(LgP 值)和酸度系数(pKa 值)见表

2,从各化合物 LgP 值和 pKa 值可以看出,硝基咪唑类化合物亲水性较好,在酸性环境下更容易解离带正电荷。故本研究采用三氯乙酸溶液作为提取溶剂,考察了含 1%三氯乙酸、5%三氯乙酸、10%三氯乙酸、20%三氯乙酸溶液作为提取溶剂的提取效果,结果表明,10%三氯乙酸和 20%三氯乙酸沉淀蛋白效果明显,且回收率均能达到 70%以上,最终先择 10%三氯乙酸作为提取溶剂。

经固相萃取小柱净化后,可以更有效地去除蛋白质、脂肪和杂质等。根据各硝基咪唑类化合物酸度系数(pKa 值)可知,在 10%三氯乙酸溶液中,各化合物能够结合氢离子呈现正电性。由此本文比较了 HLB(60 mg、3 mL)和 MCX(60 mg、3 mL)2 种固相萃取小柱,结果表明,MCX 小柱能够更好地保留阳离子化合物,用 5 mL 5%氨水-甲醇改变离子强度,使目标化合物洗脱下来,而杂质等被保留在柱子上,净化效果好,回收率高。而采用 HLB 小柱净化后,甲硝唑、塞克硝唑等回收率偏低。因此,选用 MCX 小柱对样品进行净化。

3.3 基质效应评估

基质效应是指样品基质中的某些共提取物组分对待测物目标物质的影响,本研究采用相对响应值法去除基质效应。基质效应 Matrix Effect(%)=B/A×100, A: 在纯溶剂中目标化合物的响应值, B: 样品基质中添加的相同含量目标化合物响应值。以二甲硝基咪唑为例,在蜂蜜基质中基质效应为 142%,在猪肉基质中为 120%,在鸡肉和奶粉基质中为 110%左右,二甲硝基咪唑在大部分动物源性食品中具有基质增强效应;替硝唑在鸡肉和鱼肉基质中基质效应为 85%和 93%,在猪肉和蜂蜜中基质效应为 113%左右,替硝唑在动物源性食品中既有基质增强效应,又有基质抑制效应。其他样品基质中各硝基咪唑类药物及其代谢物的基质效应为 88%~140%,本文采用基质匹配内标法测定实际样品,也可在一定程度上补偿基质效应的影响。

3.4 方法学考察

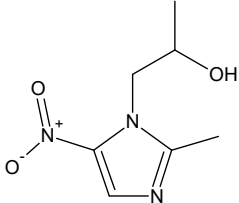
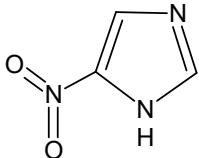
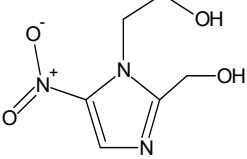
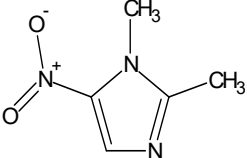
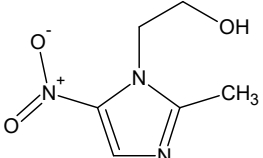
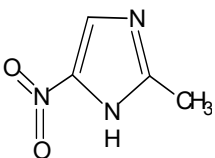
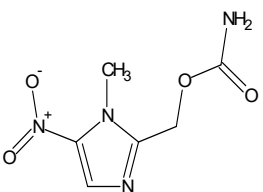
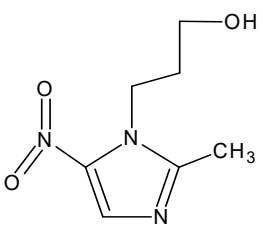
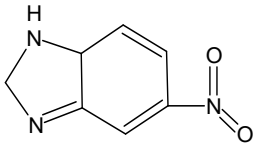
3.4.1 线性范围

用空白基质溶液配制质量浓度为 0.25~50 ng/mL(同位素内标均为 0.5 μg/kg)的系列混合基质标准溶液,按照 2.2.3 节条件进行分析,以硝基咪唑类药物及其代谢物的质量浓度为横坐标、目标化合物峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标绘制基质工作曲线。结果表明,在 0.25~50 ng/mL 范围内目标化合物线性相关性良好,相关系数均≥0.9915。

3.4.2 定量限

在空白基质样品中加入低浓度的硝基咪唑及其代谢物混合标准溶液,重复测定 6 次,以信噪比 S/N≥10 确定硝基咪唑及其代谢物定量限(LOQ),其中 HMMNI 和 IPZOH 0.2 μg/kg, MNZOH 和 SNZ 0.5 μg/kg,另外 9 种硝基咪唑类药物为 0.1 μg/kg。

表 2 硝基咪唑类化合物结构、LgP 值和 pKa 值
Table 2 Molecular structure, calculated LgP and pKa values of nitroimidazoles and their metabolites

化合物	分子结构	LgP 值	pKa 值
SNZ		0.33±0.30	14.50±0.35
4-HMZ		-0.08±0.33	9.21±0.50
MNZOH		-0.81±0.37	14.52±0.34
HMMNI		-0.31±0.25	13.31±0.25
MNZ		-0.01±0.03	14.44±0.34
DMZ		-0.11±0.36	2.81±0.25
RNZ		-0.45±0.40	12.99±0.50
TerNDZ		0.10±0.26	14.50±0.34
NBI		1.64±0.23	9.39±0.30

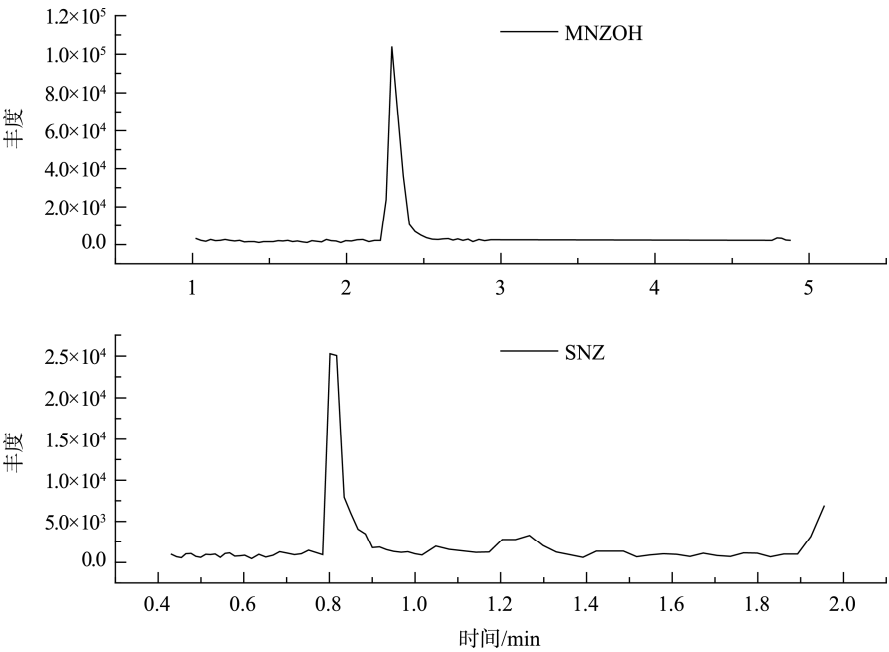
续表 2

化合物	分子结构	LgP 值	pKa 值
TNZ		-0.27±0.33	2.30±0.34
IPZOH		0.39±0.31	13.22±0.34
ONZ		0.68±0.34	13.29±0.35
IPZ		1.19±0.25	2.55±0.25

3.4.3 回收率和精密度

对空白基质样品做添加回收和精密度实验,在样品中添加不同浓度的标准溶液后,按照 2.2.3 所述进行测定,图 2 为鱼肉中羟基甲硝唑和塞克硝唑的 MRM 谱图(加标水

平 0.5 μg/kg)。结果表明,本方法在 3 个不同添加水平下回收率为 73.5%~120.4%,RSD 为 2.4%~13.4%,见表 3,表明本方法有良好的准确度和精密度,满足硝基咪唑药物及其代谢物痕量分析的要求。



注: 加标水平为 0.5 μg/kg

图 2 羟基甲硝唑和塞克硝唑谱图

Fig.2 MRM chromatogram of MNZOH, SNZ

表 3 硝基咪唑类药物及其代谢物的线性关系、平均回收率、精密度与定量限(n=6)
Table 3 Linear regression results, average recoveries, precision and LOQs of NMZs (n=6)

化合物	加标水平/(μg/kg)	平均回收率/(精密度/%)	线性方程	相关系数	定量限/(μg/kg)
SNZ	0.5, 1.0, 2.5	115.4(5.9), 108.1(2.6), 94.2(7.5)	Y=1459.82X+768.87	0.9976	0.5
4-HMZ	0.1, 0.2, 0.5	88.4(6.6), 90.6(9.2), 98.7(8.6)	Y=950.071X-120.139	0.9952	0.1
MNZOH	0.5, 1.0, 2.5	84.5(6.6), 86.3(8.4), 96.5(7.9)	Y=1619.91X-1147.7	0.9965	0.5
HMMNI	0.2, 0.4, 1.0	73.5(10.4), 84.3(7.2), 77.8(8.1)	Y=3206.96X+4110.76	0.9959	0.2
MNZ	0.1, 0.2, 0.5	119.4(6.7), 88.3(3.2), 90.1(5.2)	Y=9624.18X+17051.6	0.9952	0.1
DMZ	0.1, 0.2, 0.5	78.7(2.6), 88.5(4.2), 92.1(3.7)	Y=7157.27X+7019.09	0.9960	0.1
RNZ	0.1, 0.2, 0.5	108.9(3.6),120.4(2.5), 104.2(4.2)	Y=12446.4X+27260.5	0.9976	0.1
TerNDZ	0.1, 0.2, 0.5	75.7(2.6), 88.5(4.2), 92.1(3.2)	Y=4325.99X-6451.02	0.9964	0.1
NBI	0.1, 0.2, 0.5	88.9(6.1), 80.8(13.4), 105.5(7.9)	Y=7974.8X+20608.3	0.9986	0.1
TNZ	0.1, 0.2, 0.5	103.3(4.6),94.8(2.8),117.6(3.5)	Y=1962.77X+5867.11	0.9964	0.1
IPZOH	0.2, 0.4, 1.0	78.4(6.6), 85.3(9.2), 94.6(8.6)	Y=4842.5X+11164.2	0.9988	0.2
ONZ	0.1, 0.2, 0.5	93.3(4.6),99.8(2.2),110.6(3.9)	Y=5678.11X+60119.4	0.9988	0.1
IPZ	0.1, 0.2, 0.5	102.4(5.3), 108.1(4.6), 98.0(5.5)	Y=10573.3X+24152.7	0.9997	0.1

3.5 实际样品分析

应用本方法对 15 份鸡肉样品、15 批猪肉样品、45 批蜂蜜、10 批奶粉和 10 批鱼肉样品进行检测, 其中有 1 份鸡肉样品检出甲硝唑, 含量为 2.49 μg/kg, 2 份蜂蜜样品分别检出甲硝唑和羟基甲硝唑, 含量为 1.66 μg/kg 和 0.79 μg/kg, 其余样品均未检出硝基咪唑类药物及其代谢物。

4 结 论

本研究建立并优化了 UPLC-MS/MS 检测动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物残留的方法。样品以 10% 三氯乙酸溶液提取后, 经阳离子固相萃取小柱净化, 浓缩后直接进样, 与常规方法比, 本方法干扰小、灵敏度高、重复性好, 适用于动物源性食品中硝基咪唑类药物残留量的测定。

参考文献

[1] 陈迁, 梅和坤, 白楠, 等. 硝基咪唑类药物在人体内代谢的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(14): 1169-1173.
Chen Q, Mei HK, Bai N, et al. Metabolism research progress of nitroimidazoles in human body [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(14): 1169-1173.
[2] 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]. 分析试验室, 2010, 29(8): 61-65.
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(8): 61-65.

[3] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 193 号[Z].
Ministry of Agriculture. No. 193, Bulletin of the ministry of agriculture of the Peoples Republic of China [Z].
[4] 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 of veterinary drugs in food [S].
[5] 谢文, 陈笑梅, 丁慧瑛, 等. 液相色谱串联质谱同位素稀释法对蜂王浆中 10 种硝基咪唑类药物残留的检测[J]. 分析测试学报, 2010, 29(5): 497-501.
Xie W, Chen XM, Ding HY, et al. Determination of ten nitroimidazole residues in royal jelly by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2010, 29(5): 497-501.
[6] Fraselle ST, Derop V, Degroodt JM, et al. Validation of a method for the detection and confirmation of nitroimidazoles and the corresponding hydroxy metabolites in pig plasma by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2007, 586: 383-393.
[7] 张璐, 孔祥虹, 王涵, 等. 在线净化-超高效液相色谱同位素稀释串联质谱法检测蜂蜜中硝基咪唑类及其代谢物的残留[J]. 分析化学, 2014, 42(12): 1735-1742.
Zhang L, Kong XH, Wang H, et al. Determination of nitroimidazoles and their metabolites residues in honey by turbo flow online purification-ultra performance liquid chromatography-tandem mass sepctrometry and istopes dilution technique [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(12): 1735-1742.
[8] 张弛, 潘家荣, 帅瑞琪, 等. 动物性食品中硝基咪唑类兽药多残留酶联免疫检测方法建立[J]. 核农学报, 2016, 30(2): 323-331.
Zhang C, Pan JR, Shuai RQ, et al. Research on enzyme linked immunosorbent assay for multi-residues of nitroimidazoles in foods of animal origin [J]. J Nucl Agric Sci, 2016, 30(2): 323-331.
[9] 王金玲, 李义坤, 赵京杨, 等. 单滴微萃取-气相色谱-质谱联用测定水

- 中的硝基咪唑类药物[J]. 分析试验室, 2010, 20(2): 107–110.
- Wang JL, Li YK, Zhao JY, *et al.* Determination of nitroimidazoles in water samples by gas chromatography-mass spectrometry with single-drop microextraction [J]. Chin J Anal Lab, 2010, 20(2): 107–110.
- [10] 于敏, 张美娟, 张河霞, 等. 高效液相色谱法测定牛奶中硝基咪唑类残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 447–451.
- Yu M, Zhang MJ, Zhang HX, *et al.* Determination of nitroimidazoles residues in milk by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(2): 447–451.
- [11] 王延映, 彭麟, 余祖功, 等. 高效液相色谱法测定饲料中甲硝唑、地美硝唑和异丙硝唑[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(5): 123–127.
- Wang YY, Peng L, Yu ZG, *et al.* Determination of metronidazole, dimetridazole and ipronidazole in feeds by HPLC [J]. J Nanjing Agric Univ, 2014, 37(5): 123–127.
- [12] 陈张好, 黄文静, 刘小娟, 等. 高效液相色谱法测定化妆品中 4 种硝基咪唑类药物[J]. 理化检验(化学分册), 2014, 50(2), 184–186.
- Chen ZH, Huang WJ, Liu XJ, *et al.* HPLC determination of 4 nitroimidazoles in cosmetics [J]. Phys Testing Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2014, 50(2), 184–186
- [13] 陈岑, 黄柳倩, 程巧鹭, 等. 基于 QuEChERS 提取的高效液相色谱-串联质谱法同时测定 4 种不同基质类型化妆品中 15 种硝基咪唑类禁用药[J]. 分析测试学报, 2019, 38(11): 1285–1293
- Chen C, Huang LQ, Cheng QY, *et al.* Simultaneous determination of 15 prohibited nitroimidazoles in 4 matrixes of cosmetics by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS extraction [J]. J Instrum Anal, 2019, 38(11): 1285–1293
- [14] 张丽媛, 周剑, 王敏, 等. 液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和鸡蛋中 3 种硝基咪唑类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4508–4514.
- Zhang LY, Zhou J, Wang M, *et al.* Determination of 3 kinds of nitroimidazoles in chicken and egg by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(14): 4508–4514.
- [15] Wang YY, Li XW, Zhang ZY, *et al.* Simultaneous determination of nitroimidazoles, benzimidazoles, and chloramphenicol components in bovine milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2016, 192: 280–287.
- [16] 方力, 邱凤梅, 余新威, 等. 基质分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中硝基咪唑药物及其代谢物[J]. 色谱, 2018, 36(5): 431–438.
- Fang L, Qiu FM, Yu XW, *et al.* Determination of nitroimidazoles and their metabolites in animal-derived foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with dispersive solid phase extraction [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(5): 431–438.
- [17] 张毅, 岳振峰, 蓝芳, 等. 分散固相萃取净化与液相色谱/串联质谱法测定牛奶中 8 类禁用药物残留[J]. 分析化学, 2012, 40(5): 724–729.
- Zhang Y, Yue ZF, Lan F, *et al.* Determination of 8 species of banned drugs in bovine milk by using QuEChERS cleanup approach and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2012, 40(5): 724–729.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



刘 开, 工程师, 主要研究方向为食品安全质量检测。

E-mail: liukai_love@yeah.net



李 涛, 主任药师, 主要研究方向为食品及保健食品检验、食品安全快速检测技术研究。

E-mail: westyx@126.com