

超高效液相色谱-串联质谱法检测预包装畜禽肉制品中多种兽药残留

刘 瑜^{1*}, 于 丽¹, 李晓东¹, 张 彤¹, 姜玲玲¹, 金 雁¹, 姜 莉¹, 李志远²

(1. 沈阳海关技术中心, 沈阳 110016; 2. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 北京 100015)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法检测预包装畜禽肉制品中 54 种兽药残留的方法。**方法** 样品经甲酸乙腈提取, Oasis PRiME HLB 固相萃取柱净化, 经 BEH C₁₈ 色谱柱分离, 以甲醇和 0.1% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾正离子模式电离, 外标法定量。**结果** 54 种化合物在 0.5 ~ 50 ng/mL 范围内均呈现良好的线性关系, 相关系数均大于 0.990, 检出限 0.03 ~ 3.51 μg/kg, 回收率为 61.4% ~ 97.4%, 相对标准偏差为 4.5% ~ 13.3%。**结论** 本方法操作简便, 稳定性好, 适用于预包装畜禽肉制品中 54 种兽药残留的同时定性、定量分析。

关键词: 预包装畜禽肉制品; 兽药残留; 超高效液相色谱-串联质谱法

Determination of veterinary drug residues in prepackaged animal and poultry meat products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Yu^{1*}, YU Li¹, LI Xiao-Dong¹, ZHANG Tong¹, JIANG Ling-Ling¹, JIN Yan¹, JIANG Li¹, LI Zhi-Yuan²

(1. Shenyang Customs Technology Center, Shenyang 110016, China;

2. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd, Shanghai 100015, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 54 kinds of veterinary drug residues in prepackaged animal and poultry meat products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted by formic acid and acetonitrile, purified by Oasis PRiME HLB solid phase extraction column, separated with BEH C₁₈ chromatographic column for gradient elution using methanol and 0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase, ionized by electrospray positive ion mode, and quantified by external standard method. **Results** The 54 compounds showed good linear relationships in the range of 0.5–50 ng/mL, the correlation coefficients were all greater than 0.990, the limits of detection were 0.03–3.51 μg/kg, the recovery rates were 61.4%–97.4%, and the relative standard deviations were 4.5%–13.3%. **Conclusion** The method is simple and stable, and suitable for the simultaneous qualitative and quantitative analysis of 54 kinds of veterinary drug residues in prepackaged animal and poultry meat products.

KEY WORDS: prepackaged meat products; veterinary drug residues; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划项目(20180551238)

Fund: Supported by Liaoning Provincial Natural Science Foundation Guidance Program Project(20180551238)

*通讯作者: 刘瑜, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: liuyu-0117@163.com

*Corresponding author: LIU Yu, Senior Engineer, Shenyang Customs District, No.106, Dong Binhe Road, Shenhe District, Shenyang 110016, China. E-mail: liuyu-0117@163.com

1 引言

预包装畜禽肉制品是人们日常生活中最重要的消费品之一。随着人们逐渐认识到食品安全与身体健康的重要性,对预包装畜禽肉制品质量安全也提出了更高的要求。而出于治疗及预防的目的,兽药被广泛应用于现代畜禽养殖的一些环节中,但是药物的不合理应用及不遵守正确的休药期导致药物在动物体内滞留或蓄积,并以残留的方式进入人体,危害人类健康^[1,2]。有些不法分子甚至违法添加激素、非法添加物等禁用药品,长期食用对人体健康产生严重影响,因此对预包装畜禽肉制品中兽药残留的检测具有重要意义。

在样品净化方面,传统的固相萃取柱操作复杂,且大都针对某一两类化合物进行检测,Oasis PRiME HLB 固相萃取柱为通过型净化方式,不需活化、平衡、洗脱等步骤,特别是针对脂肪、磷脂等物质具有很好的除杂作用,因此特别适合肉制品的净化过程,并且适用于多残留前处理过程^[3,4]。传统的液相色谱-串联质谱检测方法测定药物残留,大多采用多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM)的扫描方式^[5-15],即通过离子丰度比和保留时间来定性,但仍可能出现假阳性结果,鉴于此本研究采用多反应监测-信息依赖性采集(information-dependent acquisition, IDA)-增强子离子扫描(enhanced product ion scan, EPI)的扫描方式,增加了二级质谱图的比对方式,从而进一步对化合物进行确证,并且结合数据库检索功能,既可避免假阳性样品的检出,又可实现对样品中的 54 种化合物进行筛查和定量确证分析,为日常监测工作提供方法参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

ACQUITYTM 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); AB Sciex Qtrap 5500 三重四极杆-线性加速离子阱复合质谱(美国 AB 公司); AE163 电子分析天平(瑞士 Mettler 公司); SK-1 快速混匀器(国华仪器制造有限公司); MG-2200 氮吹仪(美国 EYELA 公司); Z36HK 高速离心机(德国 Hermle 公司); Milli-Q 纯水机(美国 Millipore 公司)。

甲酸、乙腈、甲醇(色谱纯美国 Sigma 公司); 标准品: 群勃龙、地西洋、利巴韦林、磺胺脒、3-甲基喹恶啉、特布他林、沙丁胺醇、甲硝唑、克球酚、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、地美硝唑、磺胺吡啶、替硝唑、林可霉素、沙拉沙星、达氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、磺胺二甲基嘧啶、环丙沙星、培氟沙星、磺胺甲氧嘧啶、土霉素、四环素、金霉素、强力霉素、奥硝唑、恩诺沙星、磺胺氯噻唑、莱克多巴胺、新诺明、磺胺异噻唑、双氟沙星、磺胺多辛、噻苯

达唑、奥芬达唑、磺胺间甲基嘧啶、磺胺苯吡唑、磺胺喹恶啉、氟甲唑、甲苯咪唑、吉他霉素、去氢睾酮、阿苯达唑、芬苯达唑、甲睾酮、醋酸氯地孕酮、丙酸睾酮、苯唑西林、青霉素 G、氯唑西林、氨苄青霉素、头孢氨苄 54 种兽药(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司)。

Oasis PRiME HLB 固相萃取柱(200 mg, 6 mL)、C₁₈ 固相萃取柱(500 mg, 6 mL)(美国 Waters 公司); 0.22 μm 滤膜(尼龙材质, 北京迪马科技有限公司)。

实际样品检测中, 样品来源为超市采购的预包装动物源性食品, 如酱牛肉、猪肝、鸡肉、猪蹄、鸡肝等样品。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

准确称取样品 5.00 g(精确至 0.01 g)放置于 50 mL 萃取管中, 加入 20 mL 1%的甲酸乙腈水溶液(80%乙腈, 20%水), 于漩涡混合器上涡旋 3 min, 以 5000 r/min 离心 5 min。全部上清液过 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱净化, 收集全部洗脱液 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下浓缩至干, 再加入 1.0 mL 20%的甲醇水溶液溶解残渣, 过 0.22 μm 滤膜, 供液相色谱-串联质谱仪检测。

2.2.2 仪器条件

(1) 色谱条件

色谱柱: Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 5 μL ; 流速: 0.3 mL/min; 流动相: A 相为 0.1% 甲酸水溶液, B 相为甲醇, 梯度洗脱: 起始 B 相为 5% 甲醇; 1~10 min, B 相梯度变化到 40%; 10~15 min, B 相梯度变化为 95%; 15~18 min, B 相维持 95%; 18~18.1 min, B 相梯度变化为 5%, 保持 5 min。

(2) 质谱条件

电离方式: ESI+; 喷雾电压: 5500 V; 雾化气(gas 1)压力: 50 psi; 气帘气(curtain gas)流量: 30 psi; 辅助加热气(gas 2)流量: 60 psi; 离子源温度: 600 $^{\circ}\text{C}$; 碰撞室出口电压: 11 V; 检测模式: MRM-IDA-EPI。所测定的 54 种药物的仪器参数如见表 1。

3 结果与分析

3.1 前处理方法优化

本方法为兼顾 54 种不同性质的药物, 在不经过净化的条件下, 先考察了提取溶剂种类、提取溶剂比例等因素对提取效果的影响, 发现用 20 mL 1%的甲酸乙腈水溶液(80%乙腈, 20%水), 提取效果较好; 选用优化后的提取溶剂, 比较了 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱、C₁₈ 固相萃取柱净化方法, 发现经 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱净化后大部分药物均获得了满意的回收率, 且能去除部分杂质干扰。不同前处理方法回收率结果见表 2。

表 1 化合物的质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters of compounds

| 序号 | 化合物 | 保留时间/min | 母离子 | 子离子 | 去簇电压/V | 碰撞能量/V | 序号 | 化合物 | 保留时间/min | 母离子 | 子离子 | 去簇电压/V | 碰撞能量/V |
|----|---------|----------|-------|-------|--------|--------|----|---------|----------|-------|-------|--------|--------|
| 1 | 群勃龙 | 12.3 | 271.0 | 97 | 90 | 27 | 28 | 奥硝唑 | 5.2 | 220.1 | 128.3 | 70 | 24 |
| | | | 271.0 | 109 | 90 | 33 | | | | 220.1 | 82.4 | 70 | 50 |
| 2 | 地西泮 | 13.1 | 285.2 | 193 | 51 | 29 | 29 | 恩诺沙星 | 5.5 | 360.1 | 316.1 | 80 | 28 |
| | | | 285.2 | 153 | 51 | 65 | | | | 360.1 | 254.1 | 80 | 36 |
| 3 | 利巴韦林 | 0.7 | 254.2 | 113 | 62 | 13 | 30 | 磺胺氧吡嗪 | 5.6 | 285.1 | 156 | 65 | 22 |
| | | | 254.2 | 96.1 | 62 | 41 | | | | 285.1 | 108.1 | 65 | 37 |
| 4 | 磺胺脒 | 0.9 | 215 | 156.1 | 70 | 21 | 31 | 莱克多巴胺 | 5.7 | 302.2 | 164.1 | 34 | 23 |
| | | | 215 | 108.1 | 70 | 35 | | | | 302.2 | 107.1 | 34 | 51 |
| 5 | 3-甲基噻恶咪 | 2.9 | 189.2 | 143.1 | 50 | 20 | 32 | 新诺明 | 6.0 | 254.1 | 156.3 | 65 | 22 |
| | | | 189.2 | 143.1 | 50 | 20 | | | | 254.1 | 108.2 | 65 | 36 |
| 6 | 特布他林 | 2.1 | 226.2 | 152 | 54 | 23 | 33 | 磺胺异噻唑 | 6.2 | 268.1 | 156.1 | 82 | 22 |
| | | | 226.2 | 107.1 | 54 | 43 | | | | 268.1 | 113.2 | 82 | 25 |
| 7 | 沙丁胺醇 | 2.3 | 240.2 | 148.1 | 36 | 26 | 34 | 双氟沙星 | 6.2 | 400.1 | 356.1 | 80 | 28 |
| | | | 240.2 | 222.1 | 36 | 17 | | | | 400.1 | 299.1 | 80 | 41 |
| 8 | 甲硝唑 | 2.3 | 172.2 | 128 | 62 | 20 | 35 | 磺胺多辛 | 6.3 | 311.2 | 156.3 | 70 | 30 |
| | | | 172.2 | 81.9 | 62 | 34 | | | | 311.2 | 108.2 | 70 | 37 |
| 9 | 克球酚 | 2.8 | 192.2 | 100.9 | 100 | 35 | 36 | 噻苯达唑 | 6.7 | 202 | 174.7 | 46 | 25 |
| | | | 192.2 | 86.9 | 100 | 42 | | | | 202 | 130.7 | 46 | 31 |
| 10 | 磺胺密啶 | 2.9 | 251.2 | 156.1 | 80 | 23 | 37 | 奥芬达唑 | 7.6 | 316 | 158.7 | 38 | 34 |
| | | | 251.2 | 92.2 | 80 | 40 | | | | 316 | 190.8 | 38 | 21 |
| 11 | 磺胺噻唑 | 3.4 | 256.1 | 156.1 | 63 | 22 | 38 | 磺胺间甲基噻啶 | 7.9 | 311.3 | 156.1 | 100 | 28 |
| | | | 256.1 | 108.1 | 63 | 32 | | | | 311.3 | 218 | 100 | 18 |
| 12 | 地美硝唑 | 3.4 | 142 | 95.9 | 64 | 22 | 39 | 磺胺苯吡唑 | 8.0 | 315.1 | 156 | 85 | 29 |
| | | | 142 | 89.8 | 60 | 35 | | | | 315.1 | 160.1 | 85 | 31 |
| 13 | 磺胺吡啶 | 3.7 | 250.2 | 156.1 | 90 | 25 | 40 | 磺胺喹恶咪 | 8.0 | 301.1 | 156.1 | 80 | 24 |
| | | | 250.2 | 184.1 | 90 | 25 | | | | 301.1 | 100 | 80 | 36 |

续表 1

| 序号 | 化合物 | 保留时间/min | 母离子 | 子离子 | 去簇电压/V | 碰撞能量/V | 序号 | 化合物 | 保留时间/min | 母离子 | 子离子 | 去簇电压/V | 碰撞能量/V |
|----|---------|----------|-------|-------|--------|--------|----|--------|----------|-------|--------|--------|--------|
| 14 | 替硝唑 | 4.1 | 248 | 121 | 80 | 18 | 41 | 氟甲唑 | 9.5 | 262.1 | 244.1 | 65 | 26 |
| | | | 248 | 92.7 | 80 | 28 | | | | 262.1 | 202.1 | 65 | 54 |
| 15 | 林可霉素 | 4.6 | 407.2 | 126.1 | 50 | 37 | 42 | 甲苯咪唑 | 9.6 | 296 | 105 | 104 | 29 |
| | | | 407.2 | 359.2 | 50 | 24 | | | | 296 | 77.2 | 104 | 34 |
| 16 | 沙拉沙星 | 6.0 | 386 | 342.3 | 80 | 25 | 43 | 吉他霉素 | 10.3 | 772.3 | 215.2 | 70 | 43 |
| | | | 386 | 299 | 80 | 38 | | | | 772.3 | 109.1 | 70 | 42 |
| 17 | 达氟沙星 | 5.2 | 358.1 | 340.1 | 77 | 30 | 44 | 去氢睾酮 | 10.7 | 287.1 | 121 | 76 | 31 |
| | | | 358.1 | 314.1 | 77 | 24 | | | | 287.1 | 135.1 | 76 | 21 |
| 18 | 诺氟沙星 | 4.9 | 320.1 | 276.1 | 80 | 26 | 45 | 阿米达唑 | 11.0 | 266 | 233.9 | 34 | 19 |
| | | | 320.1 | 233.1 | 80 | 35 | | | | 266 | 190.9 | 34 | 33 |
| 19 | 氧氟沙星 | 4.9 | 362.1 | 318.1 | 80 | 26 | 46 | 芬苯达唑 | 12.0 | 300 | 267.9 | 34 | 21 |
| | | | 362.1 | 318.1 | 80 | 38 | | | | 300 | 158.7 | 34 | 34 |
| 20 | 磺胺二甲基噻啉 | 4.9 | 279.2 | 186.1 | 90 | 27 | 47 | 甲睾酮 | 12.2 | 303.1 | 109.1 | 106 | 37 |
| | | | 279.2 | 156.1 | 90 | 17 | | | | 303.1 | 97.1 | 106 | 39 |
| 21 | 环丙沙星 | 5.0 | 332.1 | 288.1 | 80 | 25 | 48 | 醋酸氯地孕酮 | 13.6 | 405.1 | 354 | 96 | 17 |
| | | | 332.1 | 254.1 | 80 | 33 | | | | 405.1 | 309 | 96 | 21 |
| 22 | 培氟沙星 | 5.0 | 334.1 | 316.1 | 75 | 25 | 49 | 丙酸睾酮 | 14.6 | 354.1 | 97.1 | 96 | 33 |
| | | | 334.1 | 290.2 | 75 | 27 | | | | 354.1 | 109.1 | 96 | 41 |
| 23 | 磺胺甲氧哒嗪 | 5.0 | 281 | 156 | 75 | 25 | 50 | 苯唑西林 | 15.4 | 402.3 | 160.0* | 70 | 22 |
| | | | 281 | 126.1 | 75 | 27 | | | | 402.3 | 242.9 | 75 | 20 |
| 24 | 土霉素 | 10.4 | 461.2 | 426.2 | 80 | 25 | 51 | 青霉素G | 14.7 | 335.1 | 160.0* | 64 | 15 |
| | | | 461.2 | 443.2 | 80 | 17 | | | | 335.1 | 175.9 | 56 | 15 |
| 25 | 四环素 | 10.1 | 454.0 | 410.2 | 80 | 24 | 52 | 氯唑西林 | 15.6 | 436.3 | 160.1 | 47 | 15 |
| | | | 454.0 | 427.1 | 80 | 19 | | | | 436.3 | 277.0* | 46 | 19 |
| 26 | 金霉素 | 10.9 | 479.0 | 462.0 | 80 | 24 | 53 | 氨基青霉素 | 9.6 | 350.0 | 106.0* | 60 | 23 |
| | | | 479.0 | 444.0 | 80 | 28 | | | | 350.0 | 192.0 | 50 | 20 |
| 27 | 强力霉素 | 10.1 | 454.0 | 428.1 | 80 | 24 | 54 | 头孢氨苄 | 9.1 | 348.2 | 158.1* | 40 | 14 |
| | | | 454.0 | 154.1 | 80 | 35 | | | | 348.2 | 174.0 | 40 | 24 |

表 2 不同前处理方法各化合物回收率
Table 2 Recovery rates of compounds under different pretreatment methods

| 化合物 | C ₁₈ 固相萃取柱 | Oasis PRIME HLB 固相萃取柱 | 乙腈-水(1:1, V:V) | 乙腈-水(8:2, V:V) | 化合物 | C ₁₈ 固相萃取柱 | Oasis PRIME HLB 固相萃取柱 | 乙腈-水(1:1, V:V) | 乙腈-水(8:2, V:V) |
|--------------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------|---------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| 群勃龙 | 82.5 | 91.5 | 84.3 | 92.4 | 奥硝唑 | 73.2 | 81.2 | 74.8 | 82.0 |
| 地西洋 | 60.9 | 67.5 | 62.2 | 68.2 | 恩诺沙星 | 65.4 | 72.5 | 66.8 | 73.2 |
| 利巴韦林 | 74.0 | 82.0 | 75.6 | 82.8 | 磺胺氯吡嗪 | 76.2 | 84.5 | 77.8 | 85.3 |
| 磺胺脒 | 65.0 | 72.0 | 66.4 | 72.7 | 莱克多巴胺 | 62.1 | 68.9 | 63.5 | 69.5 |
| 3-甲基噻恶啉-2-羧酸 | 76.1 | 84.4 | 77.7 | 85.2 | 新诺明 | 67.7 | 75.1 | 69.2 | 75.8 |
| 特布他林 | 55.7 | 83.9 | 77.4 | 84.8 | 磺胺异噻唑 | 75.2 | 83.3 | 76.8 | 84.2 |
| 沙丁胺醇 | 64.3 | 82.4 | 76.0 | 83.2 | 双氟沙星 | 76.8 | 85.2 | 78.5 | 86.0 |
| 甲硝唑 | 79.9 | 88.6 | 81.7 | 89.5 | 磺胺多辛 | 77.9 | 86.4 | 79.6 | 87.2 |
| 克球酚 | 60.3 | 66.8 | 61.6 | 67.5 | 噻苯达唑 | 60.2 | 66.7 | 61.5 | 67.4 |
| 磺胺嘧啶 | 57.5 | 63.8 | 58.8 | 64.4 | 奥芬达唑 | 81.8 | 90.7 | 83.6 | 91.6 |
| 磺胺噻唑 | 57.2 | 63.4 | 58.5 | 64.1 | 磺胺同甲基噻唑 | 72.1 | 80.0 | 73.7 | 80.8 |
| 地美硝唑 | 77.5 | 85.9 | 79.1 | 86.7 | 磺胺苯吡唑 | 72.2 | 80.1 | 73.8 | 80.9 |
| 磺胺吡啶 | 61.7 | 68.4 | 63.1 | 69.1 | 磺胺噻恶啉 | 89.1 | 98.7 | 91.0 | 99.7 |
| 替硝唑 | 77.1 | 85.5 | 78.8 | 86.3 | 氟甲唑 | 89.6 | 99.3 | 91.6 | 100.3 |
| 林可霉素 | 65.0 | 72.1 | 66.5 | 72.8 | 甲苯咪唑 | 59.6 | 66.1 | 60.9 | 66.7 |
| 沙拉沙星 | 78.7 | 87.2 | 80.4 | 88.1 | 吉他霉素 | 59.7 | 66.2 | 61.0 | 66.8 |
| 达氟沙星 | 76.0 | 84.3 | 77.6 | 85.1 | 去氢鞣酮 | 70.4 | 78.0 | 71.9 | 78.8 |
| 诺氟沙星 | 59.4 | 65.9 | 60.7 | 66.5 | 阿苯达唑 | 78.3 | 86.8 | 80.0 | 87.7 |
| 氧氟沙星 | 68.4 | 75.9 | 69.9 | 76.6 | 芬苯达唑 | 59.2 | 65.6 | 60.4 | 66.2 |
| 磺胺二甲基噻唑 | 71.4 | 79.2 | 72.9 | 79.9 | 甲睾酮 | 64.0 | 71.0 | 65.4 | 71.7 |
| 环丙沙星 | 88.7 | 98.3 | 90.6 | 99.3 | 醋酸氯地孕酮 | 68.4 | 75.9 | 69.9 | 76.6 |
| 培氟沙星 | 75.2 | 83.3 | 76.8 | 84.2 | 丙酸萘酮 | 70.7 | 78.3 | 72.2 | 79.1 |
| 磺胺甲氧吡嗪 | 77.6 | 86.0 | 79.2 | 86.8 | 苯唑西林 | 46.6 | 62.7 | 57.8 | 63.3 |
| 土霉素 | 67.8 | 97.3 | 89.7 | 98.3 | 青霉素 G | 50.5 | 62.6 | 57.7 | 63.2 |
| 四环素 | 52.6 | 80.5 | 74.2 | 81.3 | 氯唑西林 | 48.6 | 62.7 | 57.8 | 63.3 |
| 金霉素 | 54.9 | 83.0 | 76.5 | 83.8 | 氨苄青霉素 | 52.4 | 69.2 | 63.7 | 69.8 |
| 强力霉素 | 61.4 | 79.2 | 72.9 | 79.9 | 头孢氨苄 | 66.6 | 85.0 | 78.3 | 85.8 |

3.2 仪器条件的优化

3.2.1 色谱条件的优化

考察了甲醇—甲酸、甲醇—乙酸铵、乙腈—甲酸、乙腈—乙酸铵作为流动相各化合物的分离情况,结果表明各化合物在甲醇—甲酸为流动相的条件下色谱峰响应值较高,峰型也较好,因此最终选择甲醇—0.1%甲酸水溶液作为流动相,54种兽药的色谱图见图1。

3.2.2 质谱条件的优化

配制浓度为0.5 μg/mL的各化合物通过针泵进样,找到相应的母离子、子离子,优化去簇电压、碰撞能量等质谱参数,建立MRM方法。对54种化合物标准品在不同碰撞电压条件下分别进行EPI增强子离子扫描,得到不同碰撞电压下的各化合物标准品二级全扫描质谱图,优化后的质谱参数如表1。

3.3 分析方法的评价

3.3.1 线性关系

将54种药物混合标准溶液逐级稀释至0.5、2.0、5.0、20、50 ng/mL,绘制标准曲线,进行液相色谱质谱分析。结果发现54种药物在0.5~50 ng/mL范围内呈现良好的线性关系,相关系数(r)均大于0.990,见表3。

3.3.2 方法的灵敏度和精确度

依据信噪比 $S/N=3$ 计算方法检出限,54种兽药的检出限为0.03~3.51 μg/kg,见表3。

以空白酱牛肉为样品,制备添加1.0、5.0、10 μg/kg 3个水平的54种药物混标,制成模拟加标样品,按上述实验方法进行测定,每个添加水平重复测定5个样品,同时做空白对照。所得到的样品中各待测药物的平均添加回收率为61.4%~97.4%,相对标准偏差为4.5%~13.3%,见表3。

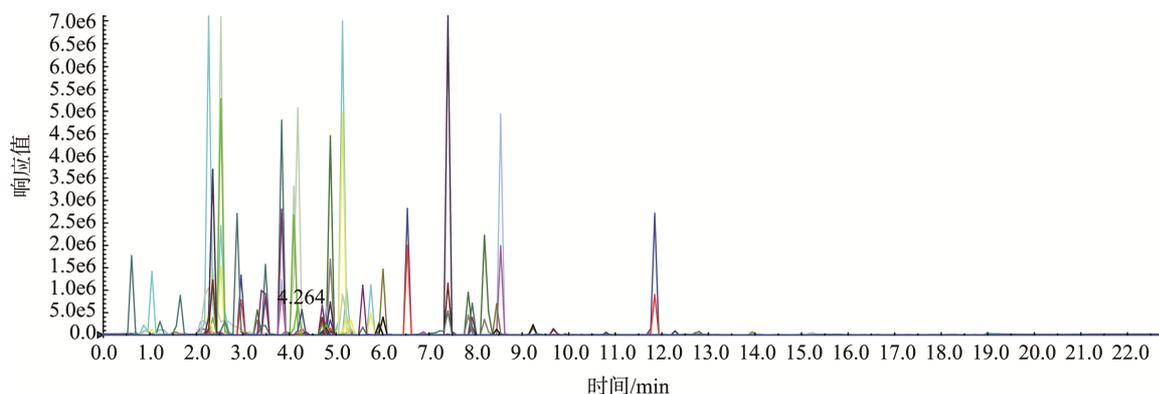


图 1 54 种兽药的色谱图

Fig.1 Chromatograms of 54 kinds of veterinary drugs

表 3 方法学验证数据
Table 3 Methodology validation data

| 化合物 | 检出限 (μg/kg) | 平均回收率 /% | 相对标准偏差 /% | 相关系数 r | 化合物 | 检出限 (μg/kg) | 平均回收率 /% | 相对标准偏差/% | 相关系数 r |
|------------------|----------------|-------------|--------------|----------|-------|----------------|-------------|----------|----------|
| 群勃龙 | 2.14 | 89.7 | 7.6 | 0.997 | 奥硝唑 | 0.04 | 79.6 | 8.5 | 0.998 |
| 地西洋 | 0.09 | 66.2 | 7.3 | 0.996 | 恩诺沙星 | 0.03 | 71.1 | 4.5 | 0.995 |
| 利巴韦林 | 0.08 | 80.4 | 8.1 | 0.996 | 磺胺氯哒嗪 | 0.09 | 82.8 | 6.2 | 0.996 |
| 磺胺脒 | 0.08 | 70.6 | 6.2 | 0.995 | 莱克多巴胺 | 0.03 | 67.5 | 8.9 | 0.994 |
| 3-甲基喹恶啉 -2-羧酸 | 0.06 | 82.7 | 7.5 | 0.997 | 新诺明 | 0.21 | 73.6 | 7.1 | 0.998 |
| 特布他林 | 0.06 | 82.3 | 9.2 | 0.994 | 磺胺异噁唑 | 0.16 | 81.7 | 6.6 | 0.998 |
| 沙丁胺醇 | 0.03 | 80.8 | 10.6 | 0.993 | 双氟沙星 | 0.23 | 83.5 | 5.9 | 0.991 |
| 甲硝唑 | 0.05 | 86.9 | 13.3 | 0.999 | 磺胺多辛 | 0.06 | 84.7 | 7.1 | 0.995 |
| 克球酚 | 0.15 | 65.5 | 10.7 | 0.993 | 噻苯达唑 | 0.04 | 65.4 | 4.7 | 0.992 |
| 磺胺嘧啶 | 0.10 | 62.5 | 6.6 | 0.994 | 奥芬达唑 | 0.07 | 88.9 | 8.3 | 0.991 |

续表 3

| 化合物 | 检出限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 平均回收率 /% | 相对标准 偏差/% | 相关系数 r | 化合物 | 检出限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 平均回收率 /% | 相对标准 偏差/% | 相关系数 r |
|---------|-------------------------------------|-------------|--------------|----------|---------|-------------------------------------|-------------|--------------|----------|
| 磺胺噻唑 | 0.07 | 62.2 | 7.0 | 0.999 | 磺胺间甲基嘧啶 | 0.13 | 78.4 | 7.8 | 0.998 |
| 地美硝唑 | 0.04 | 84.2 | 7.7 | 0.993 | 磺胺苯吡唑 | 0.07 | 78.5 | 6.9 | 0.996 |
| 磺胺吡啶 | 0.07 | 67.1 | 8.8 | 0.998 | 磺胺喹恶啉 | 0.09 | 96.8 | 8.4 | 0.993 |
| 替硝唑 | 0.04 | 83.8 | 12.4 | 0.996 | 氟甲唑 | 0.05 | 97.4 | 5.2 | 0.996 |
| 林可霉素 | 0.03 | 70.7 | 10.3 | 0.995 | 甲苯咪唑 | 0.06 | 64.8 | 6.9 | 0.998 |
| 沙拉沙星 | 0.20 | 85.5 | 11.9 | 0.994 | 吉他霉素 | 0.40 | 64.9 | 4.6 | 0.994 |
| 达氟沙星 | 0.06 | 82.6 | 6.4 | 0.994 | 去氢睾酮 | 0.12 | 76.5 | 6.8 | 0.993 |
| 诺氟沙星 | 0.18 | 64.6 | 5.0 | 0.993 | 阿苯达唑 | 0.10 | 85.1 | 9.0 | 0.993 |
| 氧氟沙星 | 0.03 | 74.4 | 9.0 | 0.995 | 芬苯达唑 | 0.22 | 64.3 | 10.5 | 0.990 |
| 磺胺二甲基嘧啶 | 0.03 | 77.6 | 7.3 | 0.997 | 甲睾酮 | 0.09 | 69.6 | 7.6 | 0.997 |
| 环丙沙星 | 0.47 | 96.4 | 6.4 | 0.997 | 醋酸氯地孕酮 | 0.14 | 74.4 | 7.5 | 0.995 |
| 培氟沙星 | 0.04 | 81.7 | 10.5 | 0.994 | 丙酸睾酮 | 0.10 | 76.8 | 8.6 | 0.996 |
| 磺胺甲氧哒嗪 | 0.14 | 84.3 | 8.1 | 0.995 | 苯唑西林 | 2.69 | 61.5 | 8.9 | 0.997 |
| 土霉素 | 0.16 | 95.4 | 8.5 | 0.994 | 青霉素 G | 1.71 | 61.4 | 11.5 | 0.990 |
| 四环素 | 0.12 | 78.9 | 4.7 | 0.998 | 氯唑西林 | 3.51 | 61.5 | 8.9 | 0.995 |
| 金霉素 | 0.30 | 81.4 | 9.9 | 0.995 | 氨苄青霉素 | 0.20 | 67.8 | 7.8 | 0.996 |
| 强力霉素 | 0.15 | 77.6 | 7.2 | 0.993 | 头孢氨苄 | 0.15 | 83.3 | 7.6 | 0.997 |

3.4 实际样品检测

对市售的 30 多种预包装畜禽肉制品中 54 种兽药进行筛查检测, 在猪蹄中检出莱克多巴胺 5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其余均未检出。

4 结 论

采用 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱的前处理方法, 对大多数药物的回收率较好, 因此可达到通量高效的效果, MRM-IDA-EPI 扫描模式的应用, 在未知样品的色谱图中, 超过 IDA 阈值的色谱峰会自动进行增强子离子扫描, 从而得到化合物的二级全扫质谱图, 与谱库中标准品的二级谱图进行比对, 从而进一步对其进行确证分析, 可有效避免假阳性样品的检出, 并可应用于其他动物源性样品中药物残留检测, 很好的解决了复杂基质中兽药通量检测的技术难题, 并可实现一针进样 54 种药物同时筛查、确证及定量分析。从而降低检测成本, 极大的提高了检测效率, 为有效控制畜禽产品质量提供技术支撑, 保障食品安全。

参考文献

- [1] 熊琳, 李维红, 杨晓玲, 等. 肉制品中药物残留风险因子概述[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(4): 1572-1577.
Xiong L, Li WH, Yang XL, *et al.* Overview of risk factors of drug

residues in meat products [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(4): 1572-1577.

- [2] 尚蓓. 谈食品检验对肉制品安全的重要性[J]. 技术与市场, 2016, 23(5): 342-342.
Shang P. On the importance of food inspection to the safety of meat products [J]. *Technol Market*, 2016, 23(5): 342-342.
- [3] 刘新辉, 王情情, 张瑗, 等. Oasis PRiME HLB 净化法测定动物源性食品中的兽药多残留[J]. 农产品质量与安全, 2019, (5): 15-20.
Liu XH, Wang QQ, Zhang Y, *et al.* Oasis PRiME HLB purification method for determination of multiple residues of veterinary drugs in animal-derived foods [J]. *Agric Prod Qual Saf*, 2019, (5): 15-20.
- [4] 蒋定之, 辛丽娜, 谭喜梅, 等. PRiME HLB 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定鸡蛋中 48 种兽药残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(22): 259-266.
Jiang DZ, Xin LN, Tan XM, *et al.* Simultaneous rapid determination of 48 veterinary drug residues in eggs by PRiME HLB solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2019, 40(22): 259-266.
- [5] 李晓东, 赵颖, 徐宜宏, 等. QuEChERS 试剂盒—超高效液相色谱串联质谱法同时检测畜禽肉中 18 种喹诺酮类兽药残留研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2016, 37(12): 12-16.
Li XD, Zhao Y, Xu YH, *et al.* Simultaneous detection of 18 quinolone veterinary drug residues in livestock and poultry by QuEChERS kit-ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Livestock Feed Sci*, 2016, 37(12): 12-16.
- [6] 候美玲, 董宪兵, 李红丽, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法

- (UPLC-MS/MS)同时检测畜禽肉中抗生素及镇静剂类兽药残留[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(3): 113-117, 126.
- Hou ML, Dong XB, Li HL, *et al.* UPLC-MS/MS simultaneous detection of antibiotics and sedatives in livestock and poultry meat [J]. Food Ferment Sci Technol, 2020, 56(3): 113-117, 126.
- [7] 梁任佳, 李学劲, 梁光纤, 等. 液相色谱-串联质谱法同时检测水产品中 41 种兽药残留[J]. 化工管理, 2020, (21): 40-42.
- Liang RJ, Li XJ, Liang GX, *et al.* Simultaneous detection of 41 veterinary drug residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Manag, 2020, (21): 40-42.
- [8] 徐伟, 耿士伟, 刘路, 等. 高效液相色谱—串联质谱法同时检测猪肉中 125 种兽药残留[J]. 天津农业科学, 2020, 26(2): 50-57.
- Xu W, Geng SW, Liu L, *et al.* Simultaneous detection of 125 veterinary drug residues in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Tianjin Agric Sci, 2020, 26(2): 50-57.
- [9] 李照, 常建军, 喻东威, 等. 高效液相色谱串联质谱法检测液体乳中四环素类和喹诺酮类兽药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(3): 688-692.
- Li Z, Chang JJ, Yu DW, *et al.* Determination of veterinary drug residues of tetracyclines and quinolones in liquid milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(3): 688-692.
- [10] 张桂云, 杨伟强, 林振宇. 分散固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测水产品中多兽药残留[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2019, 47(3): 424-429, 434.
- Zhang GY, Yang WQ, Lin ZY. Dispersive solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry to detect multiple veterinary drug residues in aquatic products [J]. J Fuzhou Univ (Nat Sci Ed), 2019, 47(3): 424-429, 434.
- [11] 谭力韬. 多种兽药残留的液相串联质谱高通量检测方法[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- Tan LX. A high-throughput detection method for multiple veterinary drug residues by liquid-phase tandem mass spectrometry [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [12] 赵颖, 李晓东, 姜玲玲, 等. 鸡肉鸡肝中 20 种磺胺类兽药残留的测定-QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法[J]. 当代畜牧, 2016, (33): 44-46.
- Zhao Y, Li XD, Jiang LL, *et al.* Determination of 20 sulfonamide veterinary drug residues in chicken livers-QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Contempor Anim Husb, 2016, (33): 44-46.
- [13] 刘瑜, 赵颖, 李晓东, 等. 用超高效液相色谱-串联质谱法同时检测浓缩饲料中的多种兽药残留[J]. 化学通报, 2013, 76(02): 157-162.
- Liu Y, Zhao Y, Li XD, *et al.* Simultaneous detection of multiple veterinary drug residues in concentrated feed by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Bull, 2013, 76(2): 157-162.
- [14] 薛焕, 金雁, 于永丽. 超高效液相色谱-串联三重四极杆线性离子阱质谱法同时检测猪肉中 33 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2018, 34(3): 387-392.
- Xue H, Jin Y, Yu YL. Simultaneous detection of 33 veterinary drug residues in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry [J]. Chin J Anal Sci, 2018, 34(3): 387-392.
- [15] 姜文华, 韦立毅, 邱晋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 93 种兽药和违禁化合物[J]. 现代预防医学, 2020, 47(8): 1477-1483.
- Jiang WH, Wei LY, Qiu J, *et al.* Determination of 93 veterinary drugs and prohibited compounds in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Prev Med, 2020, 47(8): 1477-1483.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



刘瑜, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: liuyu-0117@163.com