

水产品中大环内酯类药物残留检测技术的 研究进展

梁敏^{1*}, 章雪琴²

(1. 云浮市食品药品检验所, 云浮 527300; 2. 武汉欧米嘉生物医药有限公司, 武汉 430070)

摘要: 大环内酯类抗生素在水产养殖过程中广泛使用, 如果使用不当会造成药物残留, 危害人体健康。当前对大环内酯类药物残留的监控日益受到重视, 本文主要介绍水产品中大环内酯类药物残留测定采用各种的样品前处理和检测方法, 并分析比较薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、紫外分光光度法、微生物效价法、气相色谱-质谱法(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-质谱法(liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS/MS)等几种检测方法的优劣, 研究认为采用HPLC和LC-MS/MS法检测大环内酯类药物残留, 能够很好地满足标准限量的要求。

关键词: 水产品; 大环内酯类; 药物残留; 检测方法

Research progress on detection of macrolide residues in aquatic product

LIANG Min^{1*}, ZHANG Xue-Qin²

(1. Yunfu Institute of Food and Drug Inspection, Yunfu 527300, China;
2. Wuhan Omega Biomedicine Co., LTD., Wuhan 430070, China)

ABSTRACT: Macrolide antibiotics are widely used in aquaculture. Drug residues and human health damage could be caused by inappropriate use of macrolide antibiotics. More attention has been paid to the monitoring of macrolide residues nowadays. This paper mainly introduced the determination of macrolide residues in aquatic products by various sample pretreatment and determine methods, and analyzed and compared the advantages and disadvantages of thin layer chromatography, ultraviolet spectrophotometry, microbial titer, gas chromatography mass spectrometry, high performance liquid chromatography (HPLC) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). It was considered that HPLC and LC-MS/MS can satisfy the requirements of standard limit for the determination of macrolide residues.

KEY WORDS: aquatic product; macrolide antibiotics; drug residues; detection method

0 引言

近年来, 随着经济的发展和人民生活水平的提高, 我国水产养殖业随之迅速发展, 水产品出口规模逐渐扩大, 已出口到世界各国。但同时也存在一些负面问题, 最主要

的就是养殖过程中药物的滥用、非法使用, 目前水产养殖过程中所用药物种类多、范围广, 主要包括消毒剂、杀虫驱虫类、抗生素类三大类, 个别情况下还会使用某些激素、基因诱导剂, 若这些药物使用不当会导致水产品出现药物残留超标的问题, 严重威胁水产品质量安全和消费者身体

*通信作者: 梁敏, 助理工程师, 主要研究方向为水产品加工。E-mail: sophia_lm@163.com

*Corresponding author: LIANG Min, Assistant Engineer, Yunfu Institute of Food and Drug Inspection, North Side of Fuqian Road, Yuncheng District, Yunfu 527300, China. E-mail: sophia_lm@163.com

健康^[1],这也是制约我国水产品国际竞争力的一个重要原因。我国水产品出口的主要市场有欧盟、日本、美国等国家,这些国家对有关药物残留的最大限量已制定了严格的标准,此标准已成为影响国际食品贸易的主要技术性壁垒,所以建立快速、严格、准确的水产品药物残留检测方法尤为重要。

大环内酯类抗生素(macrolide antibiotics, MALs)作为兽药中重要一员,在临床及兽药领域均得到广泛使用,具有广谱抗菌作用,广泛应用于畜牧和水产养殖^[2]。主要有红霉素、竹桃霉素、交沙霉素、泰乐菌素、替米考星等,这类药物化学结构相似,作用相似。其理化性质可以概括为以下几点^[3]:(1)易溶于酸性水溶液和极性溶剂;(2)在 pH 6~8 的水溶液中相对较稳定,抗菌活性最高;(3)绝大多数为无色弱碱性化合物,多呈负的旋光性;(4)多数在 200~300 nm 之间有较强的紫外吸收;(5)多数是多组分的化合物,有 1 个主要组分和若干个次要组分,药物残留分析中常以主要组分为检测对象,用来定性和定量分析。

根据国内外报道,大环内酯类药物残留检测方法主要薄层层析色谱(thin layer chromatography, TLC)、紫外分光光度法、微生物效价法、气相色谱-质谱法(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和高效液相色谱-质谱法(liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS/MS)等,其中 HPLC、LC-MS/MS 是 2 种比较理想的检测方法。本文介绍了国内外检测水产品中 MALs 残留采用的各种样品前处理方法及检测方法的优缺点,以筛选出合适的、便捷、灵敏度和准确度高的检测方法,使之达到低检测限的要求,对进一步提高我国水产品质量安全检测技术水平具有重要意义。

1 样品前处理

大多数情况下,兽药、渔药残留浓度很低,生物样品基质成分复杂,这些成分的存在不仅会干扰对目标物的检测,还会污染仪器设备,降低灵敏度和使用寿命,故在检测之前需要对样品进行前处理,即对样品中待测组分进行提取、净化、浓缩的过程,其在药物残留分析中占据着非常重要的作用,是影响实验成败的关键步骤^[4]。

1.1 提取

提取(extraction)就是采用适当的溶剂和方法,将待测物连同部分样本基质从样品中释放出来并转至于净化或分析的溶液状态,通常可除去 99% 的样本杂质,溶剂的选择和方法是影响提取效果的重要因素^[5]。样品提取方法^[6]有索氏提取法、超临界流体萃取法、加速溶剂提取法和微波辅助提取等。其中组织捣碎法、振荡法相对简单,对设备要求低,可操作性强,是目前实验室药物残留分析中使

用最为广泛的方法。

根据 MALs 易溶于极性溶剂的性质,常用乙腈、甲醇、Tris 缓冲液或乙酸乙酯作为提取剂。朱世超等^[7]建立了水产品中 7 种大环内酯类抗生素残留的 HPLC-MS/MS 检测方法,样品采用乙腈进行提取,采用选择反应检测模式检测,基质匹配标准工作曲线定量,在 1~100 ng/mL 范围内,7 种药物的峰面积与质量浓度具有良好的线性关系, $R^2>0.995$,回收率为 75.4%~108%,相对标准偏差为 0.665%~12.9%,该方法的检出限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。此方法简单、灵敏度高、重现性好,为水产品中 7 种大环内酯类抗生素残留检测提供技术支持。高玲等^[8]用乙腈作为提取剂,从龙虾和鲷鱼中提取 10 种大环内酯类抗生素进行测定,加标回收率分别为 69.4%~115.3%和 63.1%~100.9%。LEE 等^[9]采用甲醇、正丁醇和乙醇对海鲷和牡蛎等进行提取,泰乐菌素、红霉素和螺旋霉素的回收率达到 89%~95.5%。杨方等^[10]建立了同时检测水产品中螺旋霉素与泰乐菌素药物残留的分析方法。在碱性条件下采用乙酸乙酯提取,提取液挥干后溶于酸性缓冲液中,经正己烷去脂、HLBS 小柱净化后,采用高效液相色谱进行分析。方法在 1~200 ng 之间呈线性相关,相关系数在 0.9998 以上,平均回收率为 82.2%~89.0%,相对标准偏差为 6.24%~9.83%,对螺旋霉素、泰乐菌素的检出限分别为 0.0054 mg/kg 与 0.031 mg/kg。

1.2 净化

样品提取后,经过净化进一步除去基质中的干扰物质,有利于提高检测的灵敏度,延长仪器和色谱柱的寿命。药物残留分析中的净化方法有液-液萃取^[11-13]、超声辅助提取^[8]和固相萃取(solid-phase extraction SPE)^[14]等,其中在常规固相萃取基础上衍生出其他类型固相萃取如:固相微萃取^[15]、磁性固相萃取^[16]、QuEChERS^[17]、分子印迹固相萃取^[18]和基质固相萃取分散技术^[19]等。其中固相萃取法在药物残留分析中运用较多。SPE 是 20 世纪 80 年代中期发展起来的一种有效分离的方法。由于它可以节省其在时间和溶剂, SPE 已成为分离、纯化和富集不同基质中痕量大环内酯类化合物的最常用技术。如今,市面上有多种 SPE 小柱,如 Oasis HLB 柱、C₁₈ 柱、MCX 柱和 SCX 柱等,涵盖了多种分析物,因而具有广泛的应用^[20-23]。李雪红等^[23]通过对比 Oasis HLB、WCX 和 MCX 3 种 SPE 柱对样品的净化效果,指出 HLB 柱可完全吸附提取液中的大环内酯,且较易洗脱,具有良好的净化效果。VRAGOVIC 等^[24]用体积分数 70% 的乙腈溶液提取鱼肉中 7 种大环内酯类抗生素的残留,用正己烷除去脂肪后再用 HLB 柱净化,回收率达 68%~85%。磁性材料是另一种新型的固相萃取吸附剂,用于从不同的基质中提取大环内酯类化合物。它们不需要像传统的 SPE 那样打包到设备中;这种简化的过程

节省了时间并减少了浪费。磁性固相萃取具有萃取时间短、溶剂体积小、可重复利用磁性材料等优点, 已成为一种流行的样品制备方法^[25]。分子印迹固相萃取基于分子印迹的固相萃取技术, 分子印迹聚合物是利用模板、功能单体、交联剂和引发剂人工合成的三维交联聚合物, 由于其特殊的空间结构和结合位点, 分子印迹聚合物可以特异性地识别模板或类似物, 能够提高识别选择性和检测灵敏度。分子印迹固相萃取具有操作简单、高通量、低成本和高选择性等优点^[26]。ZHOU^[27]等将以上 2 种技术结合, 以红霉素(erythromycin, ERY)为模板分子, Fe_3O_4 纳米粒子为载体, 利用表面分子印迹技术制备了磁性分子印迹聚合物。分子印迹聚合物对红霉素的吸附量为 94.1 mg/g, 印迹因子为 11.9, 对红霉素具有良好的印迹效果。选择性评价表明分子印迹聚合物对多种大环内酯类抗生素具有良好的选择性。以分子印迹聚合物为吸附材料, 建立了一种快速、简便的磁性固相萃取方法, 对猪肉、鱼虾样品中的 6 种大环内酯进行了高效液相色谱-紫外分析。在不同浓度下, 提取回收率可达 89.1%, 相对标准偏差小于 12.4%。色谱图显示, 加标样品经磁性固相萃取处理后, 大环内酯的响应信号明显增强, 基体干扰得到有效消除。该方法结合高效液相色谱-紫外分光光度法, 实现了食品样品中多种大环内酯的选择性、灵敏测定。QuEChERS 也称为分散 SPE(d-SPE), 由 ANASTASSIADES 等^[28]提出。2003 年, 在 QuEChERS 法中, 首先用乙腈萃取均质样品, 并加入盐混合物(例如 MgSO_4)盐析, 然后使用吸附填料(PSA、 C_{18} 、GCB 等)进行 d-SPE 技术。QuEChERS 法具有简便、可靠、灵敏度高优点, 已被广泛应用于各种样品中痕量大环内酯类化合物的提取和纯化^[29]。陈琳垚^[30]建立了基于多壁碳纳米管(multi walled carbon nanotubes, MWCNTs)的新型 QuEChERS 前处理方法, 结合超高效液相色谱-串联质谱技术(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)对水产品中大环内酯类和林可酰胺类药物残留进行了定量分析。所建立的方法净化效果显著, 降低了基质干扰, 具有较高的准确度和较好的重现性, 平均回收率为 60.65%~110.36%; 日内和日间精密度小于 8.5%; 检出限为 0.30~2.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 1.00~8.93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 MALs 残留检测技术

近年来对大环内酯类药物残留测定的主要方法有 TLC、紫外分光光度法、微生物效价检测法、毛细管电泳、电化学法、免疫分析方法、GC-MS、HPLC 和 HPLC-MS 等。目前已经有运用毛细管电泳、电化学法、免疫分析方法检测鸡肉、蜂蜜、奶制品及牛奶中大环内酯的相关报道^[31-33], 但在水产品上的运用尚未有报道。下面介绍这些方法在检

测水产品中大环内酯类药物残留的使用情况, 确认最优的检测方法是 HPLC 和 HPLC-MS/MS, 能够很好的满足相关标准限量的要求。

2.1 微生物法检测

在抗生素检测中, 微生物法属于经典的含量检测方法, 是根据抗生素对该药敏感微生物的抑菌圈大小与抗生素浓度呈线性相关来定量检测的。如黄晓蓉等^[34]应用微生物法筛查肉、水产品 and 蛋内大环内酯类抗生素。但是由于不同生产菌种、不同生产厂家, 易造成组分比例不同, 使得微生物效价的测定差别加大, 难以满足准确性定量的要求而逐渐被取代。所以现在主要作为一种筛选方法, 在样品量大时作为 GC 或 HPLC 法的辅助方法。

2.2 薄层色谱法检测

TLC 利用薄层板和各种有机溶剂在固液吸附色谱过程中将样品组分分离和显色, 用薄层扫描法测定含量。该方法简单、方便、操作费用低, 可以在一块层析板上同时展开多个试样及将多条滤纸同时展开。采用方形薄层板还可以方便的进行二维展开, 即按一般方法展开后, 改变方向和展开剂再次展开, 进一步改善分离效果。试样一般不需要经过预处理即可分离。郭清峰等^[35]采用硅胶 H-CMC-Na 薄层色谱板, 苯-无水甲醇-吡啶(13:2:1, *V:V:V*)为展开剂, 碘蒸气为显色剂, 在 16~24 $^{\circ}\text{C}$ 下对麦白霉素、柱晶霉素和乙酰螺旋霉素等大环内酯类抗生素进行鉴定, 结果麦白霉素标准品可区分出 9 个斑点, 柱晶白霉素有 8 个, 乙酰螺旋霉素可分离出 5 个, 根据其比移值(retardation factor, Rf)(表示溶质移动的距离/溶液移动的距离)确定其主要斑点(主要成分)分别有 3 个、2 个和 5 个, 用其与待测液展开的色谱图进行比较可进行鉴别测定。TLC 法操作简便、样品容量大, 但分离效率较低, 分离能力较差, 对复杂样品的鉴定能力不足、灵敏度较低、重现性不好, 不适用挥发性试样分离, 不利于准确定量分析^[36]。

2.3 紫外分光光度法

紫外分光光度法是根据被测物质在特定波长内有吸收, 且其吸光度与浓度成正比的定律, 其关系可以用朗伯-比尔定律表述。部分大环内酯类药物如螺旋霉素、吉他霉素、替米考星等含有 α, β -不饱和酮, 在 200~300 nm 处有紫外吸收的光谱特征, 可以应用紫外分光光度法检测。宋艳红等^[37]采用紫外分光光度法测定替米考星的含量, 在最大吸收波长 291 nm 处测定其吸光度值, 在 0~51.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈良好线性关系, 加标实验平均回收率为 (101.7 \pm 3.8)%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 3.7%。紫外分光光度法仪器成本低、操作简单, 但仪器灵敏度较低, 其检测结果易受样品中杂质的影响, 要求样品纯度较高, 定量结果难以满足现在相关标准要求。

2.4 气相色谱-质谱联用法

GC-MS 灵敏度高、专属性好,适用于挥发性高、热稳定性较好、极性较高的化合物。若大环内酯类要应用 GC 或 GC-MS 法测定,需要将其衍生化。如 KEIGO 等^[38]将吉他霉素、螺旋霉素和泰乐菌素衍生化后用 GC-MS 测定其含量。虽其检测限和灵敏度可与 HPLC 和 HPLC-MS/MS 法相当,但衍生化步骤繁杂,不适合进行快速大量的检测,无疑限制大环内酯类抗生素的 GC 法和 GC-MS 法的应用。

2.5 高效液相色谱法

HPLC 法是利用被测组分在两相中吸附或分配系数的微小差异而达到分离的目的,加上与紫外-可见检测器或荧光检测器相结合,能够同时准确的检测大量的组分^[39],是目前国内外药物残留检测应用中最广泛的方法之一,具有重现性好、检测速度快和检出限低等优点,仪器价格相对较低,与 GC 法只能分析挥发性高、热稳定性较好、分子质量小的化合物不同,HPLC 适合分析沸点高、热稳定性较差、分子质量大的化合物^[40]。

于慧娟等^[41]建立了高效液相色谱-荧光法测定对虾中红霉素的残留量,结果显示其回收率在 75%以上,相关系数 $R^2 > 0.9998$,检测限 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。杨方等^[10]建立了同时检测鲈鱼中螺旋霉素与泰乐菌素药物残留的 HPLC 分析方法,结果显示 2 种目标物在 1~200 ng 之间呈线性相关,相关系数 $R > 0.9998$,螺旋霉素、泰乐菌素的检测限分别为 5.4、3.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均回收率为 82.2%~89.0%,相对标准偏差分别为 6.24%~9.83%。刘永涛等^[42]建立了水产品肌肉组织中螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素和北里霉素同时测定的超高效液相色谱-紫外检测 (ultra performance liquid chromatography ultraviolet, UPLC-TUV)方法。方法在 0.100~20.0 mg/L 范围内呈线性相关,螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素和北里霉素的相关系数分别为 0.9987、0.9993、0.9994 和 0.9980,平均回收率为 70%~102%,相对标准偏差为 2.9%~11.2%,螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素和北里霉素的检出限分别为 25、25、50、75 $\mu\text{g}/\text{kg}$,此方法满足水产品肌肉组织中螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素和北里霉素的残留量测定。MASAKA 等^[43]采用 HPLC 同时测定肉类中 5 种大环内酯类化合物(交沙霉素、吉他霉素、米洛昔米星、螺旋霉素和泰乐菌素)的含量。在 232 nm 处检测交沙霉素、吉他霉素、米罗米星星和螺旋霉素,以及 287 nm 的泰乐菌素。每种药物的校准曲线从 2.5~100 ng 呈直线;在 1.0 mg/g 水平下,回收率为 70.8%~90.4%,每种药物的检出限为 0.05 mg/g。由此可见,HPLC 法广泛应用于食品中大环内酯类药物残留检测,但也存在一些缺点,比如其受基质干扰比较大、没办法使用离子对进行定性,出现假阳性概率大。

2.6 HPLC-MS/MS 法

与 HPLC 法相比,HPLC-MS/MS 法集色谱的高分离能力和质谱的高灵敏度于一体。该方法的灵敏度比传统方法提高了 10 倍以上,不仅可解决 HPLC 基质干扰大的问题,而且重现性好、灵敏度和精确度高、适合多参数、大批量样品的同时检测,可节省分析时间和损耗^[44]。国内外已有诸多文献报道 HPLC-MS/MS 法对于大环内酯类抗生素的残留检测研究与探讨。但是质谱分析仪器比较昂贵、对操作人员要求较高,在基层检测中还有待进一步推广。

SONG^[45]采用液相色谱-四极杆飞行时间质谱(liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry, LC-QTOF)法对罗非鱼鱼片中的大环内酯类(红霉素、交沙霉素、罗米考星、泰乐菌素、螺旋霉素和新螺旋霉素)进行了定性和定量分析。样品制备简单,成本低:蛋白质沉淀,分析物用乙醇提取,提取物用正己烷脱脂,溶剂蒸发浓缩。在验证过程中,对矩阵匹配方法进行了统计验证。利用 QTOF 质谱仪产生全扫描光谱和精确的质量测量能力,阐明了基体效应的机理。定量限度至少比最大残留限量低 45%。该方法能够识别相对 m/z 误差小于 2.5 mg/kg 的大环内酯类化合物,并能监测每个分析物的 2 个碎片离子,符合欧洲共同体食品污染物分析建议。用所开发的方法对巴西圣保罗州零售市场的样品进行了分析,结果表明,所研究的大环内酯类化合物均无阳性结果。陈莹等^[46]建立了同时测定鳗鱼组织中大环内酯、喹诺酮和磺胺类共 25 种药物残留的 UPLC-MS/MS 分析方法,结果显示其检测限为 0.1~0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率均在 75%~97%之间。MASAKA 等^[47]建立了可同时检测出鱼类和肉类中含有的螺旋霉素、替米考星、红霉素、竹桃霉素、吉他霉素、泰乐菌素、米罗米星和交沙霉素 8 种大环内酯类药物残留的液相色谱-电喷雾串联质谱测定方法,回收率在 70.4%~93.2%,检测限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。刘正才等^[48]建立了鳗鱼中 9 种大环内酯类药物残留量的超高效液相色谱-串联质谱测定的方法,在 0~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 内,峰面积与质量浓度有良好的线性关系,相关系数 $R^2 > 0.9900$,加标实验平均回收率为 70.26%~124.22%,相对标准偏差为 1.31%~16.00%,检测限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限均为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。张园等^[49]为了建立鱼、虾中泰乐菌素残留量的液相色谱串联质谱检测方法,以罗红霉素为内标,泰乐菌素在 1.0~500 ng/mL 质量浓度范围内呈良好的线性关系,相关系数均大于 0.998,定量限为 1.0~1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,3 个不同质量浓度水平的加标回收率为 82.40%~100.70%,相对标准偏差为 0.86%~5.82%,符合对水产品中药物残留检测的技术要求。SUSAKATE 等^[50]采用超高效液相色谱-串联质谱联用技术,建立了同时测定虾肌肉中 55 种抗菌药物残留的多组分方法,所研究的化合物包括 8 个不同类别,即氟喹诺酮类、磺胺类和增效剂类、四环素类、大环内酯类、林可酰胺类、青霉素类、硝基咪唑类和两性化合物类,

采用乙腈和乙二胺四乙酸混合溶剂萃取, 然后用正己烷脱脂, 对色谱条件进行优化, 得到的色谱操作时间 <10 min, 平均回收率为 74.3%~113.3%, 精密度试验的重复性和再现性的相对标准偏差分别小于 15.0%和 24.0%, 检出限和定量限分别为 1.0~5.0 ng/g 和 3.0~10.0 ng/g, 最后, 将该方法应用于实际样品, 结果表明恩诺沙星、环丙沙星、培氟沙星和多西环素在对虾样品中均可定量。

3 小 结

通过对上述方法的介绍, 可知微生物效价法、紫外分光光度法、TLC、GC-MS 等检测方法各有其优缺点。其中微生物法重现性较差, 难以满足准确性、定量的要求。紫外分光光度法需要进行显色和比色处理检测, 灵敏度较低, 结果容易受样品中杂质影响, 对前处理要求高, 一般用于检测微量和常量目标物的含量, 痕量级的检测难以实现。薄层色谱法检测限较高、重现性不好、分离能力较差, 不利于准确定量分析; 气相色谱-质谱联用法需要对样品进行汽化, 而大环内酯类抗生素极性高或沸点偏高, 检测时需要进行衍生化等繁琐的步骤, 不适合进行快速大量的检测。以上 4 种检测方法因其各自的不足, 可作为初筛阶段的方法, 但不适合作为准确的定性和定量分析方法, 因此这 4 种方法在水产品中大环内酯类药物残留检测中的应用并不广泛。

HPLC 和 HPLC-MS/MS 是检测大环内酯类药物残留的理想方法, 是国内外在药物残留检测中应用最广泛的方法, 其具有灵敏度高、分辨率高、检测限低和分析范围广泛的优点, 可进行准确的定性和定量分析。其中 HPLC 价格比较便宜、易于推广, 也存在受基质干扰大、分离不充分的缺点, 但仍然是国内使用最广泛的检测手段之一。而 HPLC-MS/MS 正好弥补了这一缺点, 还具有选择性和特异性, 能够对低浓度的样品进行很好的定性确认, 既是通用型的检测器, 又是有选择性的检测器, 多反应检测模式(multiple reaction monitoring, MRM)可以提高信噪比, 克服背景干扰, 适合多参数、大批量样品的同时检测, 不过质谱分析的仪器比较昂贵, 对操作人员要求较高, 普及率相对偏低, 在基层检测中还有待进一步推广, 不适合在较小检测机构中推广, 适合大量进出口水产品中大环内酯类药物的检测, 是有条件的检测单位进行确证分析的最佳选择。

4 展 望

抗生素因能防治养殖生物的细菌性疾病, 以及能促进养殖生物的生长, 而广泛应用大规模、集约化、高密度的水产养殖中, 但由于人为的不当或违规使用, 不仅对水生态环境造成污染, 还导致水产品中药物残留, 通过

食物链传递, 威胁着人类健康。目前, 我们改善养殖环境的同时, 有较为严格的使用添加标准指导人们合理使用抗菌药物, 并对水产品实行残留保障人民身体健康。随着技术的发展与基础理论的完善, 新型仪器的出现, 常规仪器的精密度灵敏度的不断提高, 前处理方法的简化, 高通量且快速精准检测将是抗菌药物残留检测技术发展的新要求。总而言之, 随着抗生素残留检测技术的发展和完善, 法律法规逐渐健全和相关检测标准的制定, 水产品“绿色化”指日可待。

参考文献

- [1] BAUMANN M, WEISS K, MALETZKI D. Aquatic toxicity of the macrolide antibiotic clarithromycin and its metabolites [J]. *Chemosphere*, 2015, 120: 192-198.
- [2] YANG C, SONG G, LI MW. A review of the toxicity in fish exposed to antibiotics [J]. *Comp Biochem Phys*, 2020, 237: 108840.
- [3] 魏博娟, 钱卓真, 朱世超, 等. 水产品中大环内酯类抗生素药物残留分析方法综述[J]. *福建水产*, 2010, 4: 75-81.
WEI BJ, QIAN ZZ, ZHU SC, *et al.* Review of analytical methods for macrolide antibiotic residues in aquatic products [J]. *Fujian Aquat Prod*, 2010, 4: 75-81.
- [4] 陈舒奕, 梁剑, 郑麟毅, 等. 水产品中多类抗生素药物同时检测样品处理技术[J]. *广州化工*, 2014, 42(12): 112-115.
CHEN SY, LIANG J, ZHENG LY, *et al.* Sample processing technology for simultaneously detection of multiple antibiotics in aquatic products [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2014, 42(12): 112-115.
- [5] 赵春晖. 水产品中五类药物多残留检测方法的建立及应用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
Zhao CH. Establishment and application of multi residue detection method for five kinds of drugs in aquatic products [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [6] 周伟娥, 张元, 李伟青. 动物源性食品中大环内酯类药物前处理及检测方法研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(12): 241-247.
ZHOU WE, ZHANG Y, LI WQ. Research progress on pretreatment and detection methods of macrolides in animal derived food [J]. *Food Ferment Ind*, 2015, 41(12): 241-247.
- [7] 朱世超, 钱卓真, 吴成业, 等. 水产品中 7 种大环内酯类抗生素残留量的 HPLC-MS/MS 测定法[J]. *南方水产科学*, 2012, 1: 54-60.
ZHU SC, QIAN ZZ, WU CY, *et al.* Determination of seven macrolide antibiotics residues in aquatic products by HPLC-MS/MS [J]. *Southern Fish Sci*, 2012, 1: 54-60.
- [8] 高玲, 张丹, 曹军, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中大环内酯类药物残留[J]. *中国兽药杂志*, 2012, 46(4): 29-33.
GAO L, ZHANG D, CAO J, *et al.* Determination of macrolide residues in aquatic products by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Veter Med*, 2012, 46(4): 29-33.
- [9] LEE JB, CHUNG HH, CHUNG YH, *et al.* Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods [J]. *Food Chem*, 2018, 105(4): 1726-1731.
- [10] 杨方, 李耀平, 方宇, 等. 高效液相色谱法同时检测水产品中螺旋霉素与泰乐菌素药物残留[J]. *理化检验(化学分册)*, 2011, 4: 272-274.

- YANG F, LI YP, FANG Y, *et al.* Simultaneous determination of spiramycin and tylosin residues in aquatic products by HPLC [J]. *Phy Chem Inspect (Chem Div)*, 2011, 4: 272–274.
- [11] 刘培勇, 张惠, 米之金, 等. 两步液液萃取-固相萃取净化结合高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 11 种磺胺类兽药残留[J]. *色谱*, 2019, 37(10): 1098–1104.
- LIU PY, ZHANG H, MI ZJ, *et al.* Determination of 11 sulfonamides residues in pork by two-step liquid-liquid extraction solid phase extraction combined with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographic*, 2019, 37(10): 1098–1104.
- [12] JO MR, LEE HJ, LEE TS, *et al.* Simultaneous determination of macrolide residues in fish and shrimp by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2011, 20(3): 823–827.
- [13] 徐锦忠, 储晓刚, 胡小钟, 等. 液相色谱在线净化-电喷雾串联质谱测定水产品中大环内酯和林可酰胺类药物残留[J]. *分析试验室*, 2009, 12: 26–30.
- XU JZ, CHU XG, HU XZ, *et al.* Determination of macrolides and lincomycin residues in aquatic products by on-line purification and electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Lab*, 2009, 12: 26–30.
- [14] LESLIE CD. Performance characterization of a quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for 12 macrolide and lincosamide antibiotics in salmon, shrimp and tilapia [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 967: 203–210.
- [15] 王凤丽, 胡奇杰, 王东旭, 等. 新型固相微萃取技术在食品安全检测中的应用进展[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(23): 214–218.
- WANG FL, HU QJ, WANG DX, *et al.* Application progress of new solid phase microextraction technology in food safety detection [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(23): 214–218.
- [16] JIANG HL, LI N, CUI L, *et al.* Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis [J]. *Trend Anal Chem*, 2019, (120): 115632.
- [17] XU X, XU XY, HAN M, *et al.* Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the simultaneous determination of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in eggs by UPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2019, 276: 419–426.
- [18] SONG XQ, ZHOU T, ZHANG JH, *et al.* Preparation and application of molecularly imprinted monolithic extraction column for the selective microextraction of multiple macrolide antibiotics from animal muscles [J]. *Polymers*, 2019, 11: 1109.
- [19] TAO YF, ZHU FW, CHEN DM, *et al.* Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-fenicolis determination in shrimp and fish by liquid chromatography–electrospray ionisation tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2014, 150(2014): 500–506.
- [20] VOIGT M, SAVELSBERG C, JAEGER M. Identification of pharmaceuticals in the aquatic environment using HPLC-ESI-Q-TOF-MS and elimination of erythromycin through photo-induced degradation [J]. *J Visual Exper*, 2018, (138): 57434.
- [21] ZHAO ZY, ZHANG YM, XUAN YF, *et al.* Ion-exchange solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of veterinary drugs in organic fertilizers [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1022: 281–289.
- [22] 王一涵, 王展华, 陈万勤, 等. 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中 14 种大环内酯类兽药残留[J]. *分析试验室*, 2019, 38(10): 1247–1253.
- WANG YH, WANG ZH, CHEN WQ, *et al.* Simultaneous determination of 14 macrolides residues in pork by solid phase extraction / ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Lab*, 2019, 38(10): 1247–1253.
- [23] 李雪红, 张焯涛, 占秀梅. 动物性食品中大环内酯类抗生素残留分析综述[J]. *草食家畜*, 2006, 3: 10–12.
- LI XH, ZHANG HT, ZHAN XM. Review on analysis of macrolide antibiotics residues in animal food [J]. *Grass Feed Livest*, 2006, 3: 10–12.
- [24] VRAGOVIC N, BAULIC D, NJARI B. Risk assessment of streptomycin and tetracycline residues in meat and milk on Croatian market [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(2): 352–355.
- [25] JIANG HL, LI N, CUI L, *et al.* Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis [J]. *Trac-Trend Anal Chem*, 2019, (120): 115632.
- [26] HU C, ZHANG Y, ZHOU Y, *et al.* A review of pretreatment and analysis of macrolides in food (Update Since 2010) [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1634: 461662.
- [27] ZHOU Y, ZHOU T, JIN H, *et al.* Rapid and selective extraction of multiple macrolide antibiotics in foodstuff samples based on magnetic molecularly imprinted polymers [J]. *Talanta*, 2015, 137: 1–10.
- [28] ANASTASSIADES M, LEHOTAY SJ, ŠTAJNBAHER D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. *J AOAC Int*, 2003, 86: 412–431.
- [29] ZHANG CY, DENG YC, ZHENG JF, *et al.* The application of the QuEChERS methodology in the determination of antibiotics in food: A review [J]. *Trac-trend Anal Chem*, 2019, 118: 517–537.
- [30] 陈琳垚. 新型 QuEChERS 方法在水产品兽药多残留分析中的应用研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2013.
- CHEN LG. Application of QuEChERS method in multi residue analysis of veterinary drugs in aquatic products [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2013.
- [31] LORENZETTI AS, LISTA AG, DOMINI CE. Reverse ultrasound-assisted emulsification-microextraction of macrolides from chicken fat followed by electrophoretic determination [J]. *LWT*, 2019, 113: 108334.
- [32] WANG Z, MI T, BEIER RC. Hapten synthesis, monoclonal antibody production and development of a competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay for erythromycin in milk [J]. *Food Chem*, 2015, 171: 98–107.
- [33] SONG B, ZHOU Y, JIN H, *et al.* Selective and sensitive determination of erythromycin in honey and dairy products by molecularly imprinted polymers based electrochemical sensor [J]. *Microchem J*, 2014, 116: 183–190.
- [34] 黄晓蓉, 郑晶, 吴谦, 等. 食品中多种抗生素残留的微生物筛检方法研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(8): 418–421.
- HUANG XR, ZHENG J, WU Q, *et al.* Study on microbial screening method of antibiotic residues in food [J]. *Food Sci*, 2007, 28(8): 418–421.
- [35] 郭清峰, 缴秀琴, 毛巍巍, 等. 大环内酯类抗生素薄层色谱鉴别方法改进[J]. *中国药事*, 2014, 14(1): 40–41.
- GUO QF, JIAO XQ, MAO WW, *et al.* Improvement of TLC identification of macrolide antibiotics [J]. *Chin Pharm Affa*, 2014, 14(1): 40–41.

- [36] ANYAKUDO F, ADAMS E, VAN SA. Analysis of amikacin, gentamicin and tobramycin by thin layer chromatography-flame ionization detection [J]. *Microchem J*, 2020, 157: 105032.
- [37] 宋艳红, 白小红, 李英. 紫外分光光度法测定替米考星的含量[J]. *山西医科大学学报*, 2015, 36(1): 71-73.
SONG YB, BAI XH, LI Y. Determination of tilmicosin by UV Spectrophotometry [J]. *J Shanxi Med Univ*, 2015, 36(1): 71-73.
- [38] KEIGO T, ISAMU U, TAKURO S. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of macrolide antibiotics in beef and pork using single ion monitoring [J]. *J Chromatogr A*, 1987, 391(1): 207-217.
- [39] LIDIA M. Two-dimensional liquid chromatography approaches in foodomics-A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 1083: 1-18.
- [40] Gonzalez HMJ, Vincent U. Analysis of macrolide antibiotics by liquid chromatography [J]. *J Pharm Biomed*, 2005, 39 : 376-398.
- [41] 于慧娟, 沈晓盛, 李庆, 等. 高效液相色谱-荧光法测定对虾组织中红霉素残留量[J]. *分析试验室*, 2013, 5(4): 82-85.
YU HJ, SHEN XS, LI Q, *et al.* Determination of erythromycin residues in shrimp tissues by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Anal Lab*, 2013, 5(4): 82-85.
- [42] 刘永涛, 艾晓辉, 邹世平, 等. 水产品中螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素与北里霉素残留量的超高效液相色谱-紫外检测法同时测定[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(3): 316-320.
LIU YT, AI XH, ZOU SP, *et al.* Simultaneous determination of spiramycin, tilmicosin, tylosin and beilimycin residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography ultraviolet detection [J]. *J Anal Test*, 2010, 29(3): 316-320.
- [43] MASAKA H, KOICHI S, ISHII R, *et al.* Simultaneous determination of five macrolide antibiotics in meat by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 812: 295-302.
- [44] TANG YY, LU HF, LIN HY. Multiclass analysis of 23 veterinary drugs in milk by ultraperformance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 881-882: 12-19.
- [45] SONG X, ZHOU T, LIU Q, *et al.* Molecularly imprinted solid-phase extraction for the determination of ten macrolide drugs residues in animal muscles by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2014, 208: 169-176.
- [46] 陈莹, 陈辉, 林谷园, 等. 超高效液相色谱串联质谱法对鳊鱼中大环内酯类、喹诺酮类和磺胺类兽药残留量的同时测定[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(5): 538-541.
CHEN Y, CHEN H, LIN GY, *et al.* Simultaneous determination of macrolides, quinolones and sulfonamides residues in Eel by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Test*, 2008, 27(5): 538-541.
- [47] MASAKA H, HARUMI T, KAZUO T. Determination of macrolide antibiotics in meat and fish by liquid chromatography electrospray mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 492(1): 187-189.
- [48] 刘正才, 杨方, 林永辉, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定鳊鱼中大环内酯类和林可酰胺类抗生素残留量的研究[J]. *福建分析测试*, 2010, 19(3): 1-5.
LIU ZC, YANG F, LIN YH, *et al.* Determination of macrolide and lincomamide antibiotics residues in eel by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Fujian Anal Test*, 2010, 19(3): 1-5.
- [49] 张园, 吴成业, 赵春晖, 等. 液相色谱质谱联用法测定水产品中泰乐菌素残留方法的研究[J]. *南方水产科学*, 2013, 2: 57-62.
ZHANG Y, WU CY, ZHAO CH, *et al.* Determination of tylosin residues in aquatic products by liquid chromatography mass spectrometry [J]. *South Chin Fish Sci*, 2013, 2: 57-62.
- [50] SUSAKATE S, POAPOLATHEP S, CHOKEJAROENRAT C. Multiclass analysis of antimicrobial drugs in shrimp muscle by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Drug Anal*, 2019, (2019): 118-134.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



梁 敏, 助理工程师, 主要研究方向为水产品加工。
E-mail: sophia_lm@163.com