

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动源性食品中33种兽药残留及质谱库的建立

李云飞, 张薇, 高燕, 陶蕾, 杨玲春*

(昆明海关技术中心, 昆明 650228)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动源性食品中33种兽药残留的检测方法。**方法** 采用乙腈-水(80:20, V:V)为提取溶剂, QuEChERS方法净化, 在Full MS-ddMS²正离子扫描模式下, 快速对动源性食品中的目标化合物进行检测。**结果** 在 $r=70000$, 扫描范围80~1000 m/z 内, 33种目标化合物的线性相关系数均大于0.99, 基质加标回收率范围为70.4%~97.3%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为2.1%~6.0%($n=6$)。**结论** 建立的方法适用于动源性食品中33种兽药残留快速检测。同时, 本研究建立的33种兽药高分辨质谱库, 可应用于非目标化合物的定性筛查。

关键词: 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法; 兽药残留; 动源性食品; 质谱库

Detection of veterinary drug residues in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and establishment of mass library

LI Yun-Fei, ZHANG Wei, GAO Yan, TAO Lei, YANG Ling-Chun*

(Technical Center of Kunming Customs, Kunming 650228, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 33 veterinary drug residues in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS). **Methods** The samples were extract with acetonitrile-water (80:20, V:V), and purified by QuEChERS. In the Full MS ddMS² positive ion scanning mode, the target compounds in animal-derived foods food were detected quickly. **Results** Under the conditions of Full MS(80~1000 m/z) and 70000 mass resolution, the 33 veterinary drug residues had good linear relationships ($r \geq 0.99$). The matrix recoveries were between 70.4%~97.3%. The relative standard deviations were between 2.1%~6.0% ($n=6$). **Conclusion** The established method is suitable for rapid detection and analysis of 33 veterinary drug residues in animal-derived foods. An accurate mass library has been established and the library can be used to screen and confirm the non-target compounds.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; veterinary drug

基金项目: 云南省重点研发计划项目(2018BC005)

Fund: Supported by the Yunnan Province Science and Technology Major Project (2018BC005)

*通信作者: 杨玲春, 研究员, 主要研究方向为食品检测。E-mail: lcyang333@sina.com

*Corresponding author: YANG Ling-Chun, Professor, Technical Center of Kunming Customs, Kunming 650228, China. E-mail: lcyang333@sina.com

residues; animal-derived foods; mass library

0 引言

兽药是用于预防和治疗动物疾病,有目的调节动物生理机能,并规定其作用、用途和用量的物质。科学规范地使用兽药,可以预防动物疾病、促进动物生长,改善产品质量,提高产量。然而,一些不法商贩在经济利益的驱使下,在养殖过程中违规或滥用药物,使之残留在动物源性食品中,如我们熟知的瘦肉精事件、鸡蛋中检出氟苯尼考、水产中检出孔雀石绿等事件都是违规或滥用药物的典型例子。消费者长期食用药物残留超标的食品后,体内蓄积的药物浓度达到一定量时会对人体产生多种急慢性中毒,甚至会诱发基因突变或致癌。为保证消费者的健康,我国发布了多个动物源性食品中兽药残留限量标准及禁用药物公告^[1-2],欧盟等发达国家更是制定了严苛的限量标准^[3],以此保障动物源性食品的食用安全。这些标准的出台也对动物源性食品中兽药残留检测提出了新的要求。

兽药残留检测由于基质复杂,目标化合物含量低,检测难度较大,目前兽药残留检测前处理方法主要为固相萃取法^[4-6]、检测手段多基于液相色谱-质谱法^[7-9]、气相色谱-质谱法^[10]等,这些方法前处理过程较为繁琐,且大多是针对单类兽药的检测,而随着兽药种类和应用范围的急剧增加,迫切需要发展高通量、快速有效的同时筛查多类兽药残留的检测方法。高分辨质谱由于其灵敏度高、选择性好、抗干扰能力强,已经被分析工作者逐渐应用到了兽药残留的检测中^[11-12],本研究基于高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱建立了同时测定动物源性食品中苯并咪唑类(16种)、硝基咪唑类(7种)、激素类(10种)3类33种兽药的检测方法,同时建立了33种兽药的精确质量数质谱库,可以实现对非目标化合物的定性筛查。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂、材料

1.1.1 试剂与材料

甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司);乙酸铵(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);CQS-1 高效 QuEChERS 样品前处理试剂盒(青云实验耗材有限公司);实验用水:超纯水;实验用 33 种兽药标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

样品:均来自日常抽检样品。

1.1.2 标准储备液

分别准确称取标准品 10 mg,于各自的 25 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度。配制成浓度为 400 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液,避光-18 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,有效期 6 个月。

1.1.3 混合标准溶液

准确吸取各类标准储备液适量,用水稀释配成 10 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作液,避光 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 1 个月。

1.1.4 工作标准溶液

准确吸取适量混合标准溶液,用空白基质提取液稀释定容,配制成不同浓度的基质匹配标准溶液。

1.1.5 仪器与设备

UHPLC-Q Exactive 超高效液相色谱-质谱联用系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、AccucoreTM RP-MS 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);3K15 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);STV-100 多管涡旋混合仪(杭州茂丰仪器有限公司);XPE204 分析天平(0.1 mg, 瑞士 Mettler 公司);Turbovap Lv 多功能全自动样品浓缩仪(瑞典 Biotage Sweden AB 公司);Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 样品前处理方法

称取经组织捣碎机均质,混合均匀后的试样(5 \pm 0.01) g,于 50 mL CQS-1 高效 QuEChERS 专用萃取管中,涡旋混合 1 min 后,准确加入 20 mL 乙腈:水(80:20, V:V)溶液,涡旋振荡 2 min,将专用盐包打开,将盐全部加入萃取管中涡旋振荡 2 min。9000 r/min 冷冻离心 5 min,取 10 mL 上清液于 CQS-1 高效 QuEChERS 专用净化管中,涡旋混合 2 min,9000 r/min 条件下冷冻离心 5 min 后,取上层清液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下,氮吹浓缩近干,准确加入 1 mL 0.1%甲酸水定容,过 0.22 μm 滤膜至色谱瓶,供 UHPLC-Q Exactive 测定。

1.3 样品检测

1.3.1 色谱条件

色谱柱: AccucoreTM RP-MS 柱(2.1 mm \times 2.6 μm , 100 mm),或性能相当者。柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。流速: 0.3 mL/min,进样量: 10 μL 。流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈;采用梯度洗脱程序: 0~10 min, 5%B~95%B; 10~12 min, 95%B; 12.1~13 min, 95%B 和 5%B; 13~18 min, 5%B。

1.3.2 质谱条件

可加热的电喷雾离子源(high-electro spray ionization positive, H-ESI);正负切换扫描模式; Full MS-ddMS² 扫描模式,扫描范围 80~1000 m/z ; Full MS 分辨率 70000(FWHM) (m/z 200), ddMS² 分辨率 17500(FWHM) (m/z 200);喷雾电压为 3200 V;鞘气(N_2)流速为 11 L/min;辅助气(N_2)流速为 4 L/min;离子传输管温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 。毛细管温度: 325 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.3 定性方法

在 Full MS-ddMS² 模式下对实际样品中的兽药残留进

行筛查, 依据保留时间、精确质量数偏差并与标准溶液获得的质谱图进行匹配, 若母离子精确质量数与理论质量数的偏差小于或等于 5 ppm, 保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内, 二级质谱图与标准溶液获得的质谱图进行匹配, 获得超过 2 个特征碎片离子匹配(质量数的偏差小于或等于 5 ppm), 可以判定试样中含有该种兽药残留。

1.3.4 定量方法

样品定量依据目标化合物的母离子峰的峰面积计算, 外标基质标曲定量。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

为保证各类兽药能有较好的峰形和响应, 本研究对不同型号的色谱柱进行了考察, 包括: Accucore C₁₈ AQ、Accucore™ RP-MS。实验结果表明在 Accucore™ RP-MS 色谱柱上各化合物能够获得较好的峰形和分离度。同时, 还考察了水-甲醇、水-乙腈、0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈作为流动相的效果, 结果表明水-甲醇作为流动相峰形较差, 响应较低, 水-乙腈作为流动相峰形好, 响应较低。0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈作为流动相因其加入甲酸有助于提高化合物的离子响应强度, 且峰形较好, 最终本研究采用 0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈作为流动相, 见图 1。

2.2 前处理条件的优化

本研究涉及的 3 类兽药的检测, 参考国家标准与行业

标准, 不同类别兽药采取 ENVI-Carb 串接氨基柱, C₁₈、MCX 固相萃取小柱进行净化, 以鸡蛋基质为例, 考察了这 3 种固相萃取小柱的净化效果, 实验结果表明: 在不同固相萃取小柱上化合物的净化效果表现大不相同, 使用 C₁₈ 小柱净化 3 类化合物的回收率均低于 20%, 在 ENVI-Carb 串接氨基柱上激素类的净化效果稍好, MCX 固相萃取小柱上苯并咪唑类回收率较高。因此, 本研究考虑采用 QuEChERS 的方法进行净化, 使用 CQS-1 高效 QuEChERS 样品前处理试剂盒, 考察了 3 类兽药残留的净化效果, 发现除了去氢睾酮、醋酸美仑孕酮、洛硝唑回收率稍低在 60%~70%, 其他兽药化合物均有较好的净化效果, 回收率能够到达 85%以上, 并且操作简便快速, 因此本研究基于 CQS-1 高效 QuEChERS 样品前处理试剂盒建立了前处理方法。

2.3 质谱条件的优化与高分辨质谱谱库建立

根据多种兽药的分子结构, 采用正离子电喷雾模式 ESI⁺进行检测。首先在 70000 分辨率下, 采用 Full MS 扫描模式, 对 200 ng/mL 的混合标准工作溶液进行检测, 依据每个化合物的理论质量数提取其一级离子流图, 得到每个化合物的保留时间和精确质量数测定值。同时添加 ddMS² 自动触发二级质谱模式, 通过优化碰撞能量得到各化合物最佳的二级质谱图, 确定其特征碎片离子, 通过每种兽药的二级质谱图及其特征碎片离子与各种目标化合物名称、化学式相关联、精确质量数、保留时间相关联完成谱库构建。具体信息见表 1。

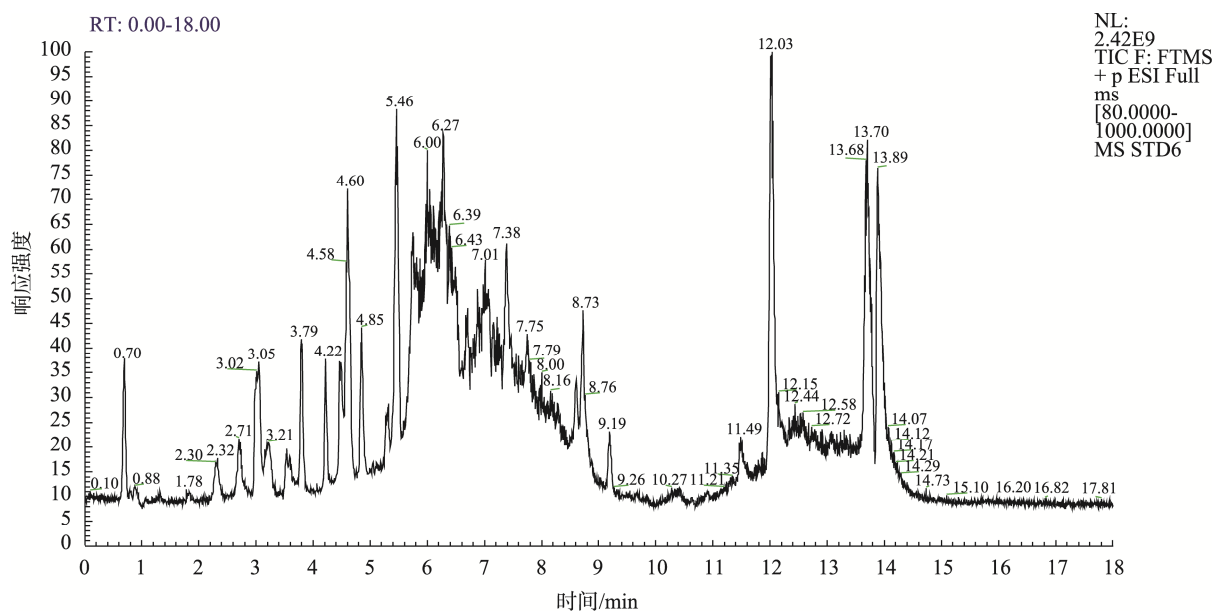


图1 Accucore™ RP-MS 色谱柱的总离子色谱图
Fig.1 Total ion chromatogram of Accucore™ RP-MS column

表1 33种兽药保留时间、精确质量数测定值、碎片离子信息
Table 1 Retention time, accurate mass, and product ion detected for 33 veterinary drugs

化合物名称	分子式	理论精确质量数(m/z)	保留时间/min	质量数测定值(m/z)	二级碎片离子(m/z)
芬苯达唑	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	300.08012	6.29	300.08066	159.04291、268.05420
氟苯达唑	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	314.09355	5.75	314.09412	123.02456、282.06796
奥苯达唑	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	250.11862	4.62	250.11882	176.04579、218.09271
5-羟基甲苯咪唑	C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O ₃	298.11862	4.23	298.11981	220.08714、266.09274
阿苯达唑	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	266.09577	5.46	266.09607	234.06976、191.01495
奥芬达唑	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	316.07504	4.58	316.07745	284.04984、126.12820
甲苯咪唑	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	296.10297	5.46	296.10364	105.03409、264.07724
左旋咪唑	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	205.07940	3.03	205.07974	149.02385、178.06886
2-氨基氟苯咪唑	C ₁₄ H ₁₀ FN ₃ O	256.08807	4.49	256.08862	123.02459、113.04015
苯硝咪唑	C ₇ H ₅ N ₃ O ₂	164.04545	3.21	164.04573	118.05304、123.02359
5-羟基噻苯咪唑	C ₁₀ H ₇ N ₃ O ₃ S	218.03826	2.74	218.03864	191.02779、165.99278
噻苯咪唑	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	202.04334	3.07	202.04376	175.03281、134.99666
阿苯达唑砒	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₄ S	298.08560	4.64	298.08150	159.04285、66.05963
芬苯达唑砒	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	332.06995	5.47	332.07066	159.04305、300.04434
阿苯达唑亚砒	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃ S	282.09069	3.80	282.09140	208.01794、240.04417
奥芬达唑砒	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	332.06995	5.47	332.07265	159.04305、300.04434
去氢睾酮	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	287.20056	6.51	287.20142	121.06525、135.11725
17 α -甲睾酮	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	303.23186	7.40	303.23236	285.22241、109.06529
醋酸甲羟孕酮	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	387.25299	8.72	387.25105	268.17819、326.22000
群勃龙	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	271.16926	6.42	271.16980	199.11224、253.15900
醋酸美仑孕酮	C ₂₅ H ₃₂ O ₄	397.23734	8.75	397.23804	149.02353、67.32939
醋酸甲地孕酮	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	385.23734	8.61	385.14709	209.13264、267.17456
19-去甲睾酮	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	275.20056	6.70	275.20213	109.06537、257.19043
睾酮	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.21621	7.03	289.21695	123.08080、109.06539
孕酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	315.23186	8.73	315.23294	123.08082、97.06544
左炔诺孕酮	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	313.21621	7.76	313.21677	109.06531、208.26422
洛硝达唑	C ₆ H ₈ N ₄ O ₄	201.06183	2.86	201.06210	174.98529、140.04576
甲硝唑	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	172.07167	2.35	172.07217	105.00388、128.04584
地美硝唑	C ₅ H ₇ N ₃ O ₂	142.06110	2.71	142.06146	112.06366、120.02404
羟基甲硝唑	C ₆ H ₉ N ₃ O ₄	188.06658	1.86	188.06700	126.03020、144.04059
羟甲基甲硝咪唑	C ₅ H ₇ N ₃ O ₃	158.05602	2.35	158.06700	125.00298、140.04575
异丙硝唑	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₂	170.09240	4.85	170.09277	123.09216、109.07658
2-(2-羟异丙基)-1-甲基-5-硝基咪唑	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃	186.08732	3.26	186.08792	111.04314、128.04588

2.4 定性确证评估

对于定性, 目标化合物的确证基于与理论精确质量偏差、保留时间、同位素占比以及与二级碎片离子质谱图的匹配度, 匹配度高定性越准确, 匹配度低, 出现假阳性或假阴性的可能越大。本研究在空白样品中添加了3个水平(10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, $n=3$), 对筛查结果的稳定性进行了考察。结果表明在浓度为50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 匹配度都能达到85以上, 浓度在10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平匹配度大于70的占67.8%, 匹配度较低的为硝基咪唑类兽药, 主要由于这类化合物在10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 响应较低, 使得二级碎片离子偏差较大, 匹配点在2~4个点, 相对丰度比偏差较高, 导致匹配度较差。但相对于低分辨质谱而言, 高分辨质谱在定性确证上仍然具有明显的优势。

2.5 基质效应研究

以阴性空白样品经前处理后的基质溶液为溶剂, 配制各兽药为50 $\mu\text{g}/\text{L}$, 测定各化合物的峰面积为 B 。同时以初始流动相为溶剂配制各兽药为50 $\mu\text{g}/\text{L}$, 测定其峰面积为 A 。按照文献报道方法^[13-14]计算基质效应, 基质效应 $ME(\%)=B/A$, 各兽药残留基质效应在0.63~0.92, 结果表明

部分兽药残留物表现出了一定的基质效应, 如去氢睾酮、醋酸美仑孕酮、洛硝哒唑, 因此本研究采用基质标曲, 用以降低基质效应对定量结果的影响。

2.6 线性范围与定量限

取不含目标化合物的动物源性食品样品, 制备空白基质溶液, 用空白基质溶液将标准品溶液稀释成一定浓度的标准曲线工作液, 考察了多种兽药残留的线性范围及相关系数, 结果显示线性关系良好, 相关系数都 ≥ 0.99 。同时根据多种兽药残留响应的不同, 在空白样品中添加目标化合物, 按照1.2所述进行前处理, 1.3所述上机测定, 以信噪比 $S/N=10$ 对应的添加水平确定定量限, 各化合物定量限具体见表2。

2.7 回收率及精密度

在基质中分别添加了20、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的33种兽药残留混合标液溶液进行加标回收实验, 每个加标浓度重复测定6次, 33种兽药残留的回收率为70.4%~97.3%, 相对标准偏差为2.1%~6.0%(具体见表2)。结果说明该方法准确度高, 精密度良好, 满足检测的要求。

表2 33种兽药残留的线性范围、相关系数和定量限、加标回收率及精密度实验结果($n=6$)

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients, limits of quantitation, spiked recoveries and precisions of 33 veterinary drugs ($n=6$)

化合物	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	相关系数 r	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%(相对标准偏差/%)								
				鱼/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			猪肉/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			鸡蛋/($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
				20	50	100	20	50	100	20	50	100
芬苯达唑	2~400	0.9992	2	83.2(3.7)	90.1(4.2)	83.4(2.6)	79.6 (3.2)	94.1 (5.1)	92.5 (3.2)	91.6 (4.3)	89.6 (3.6)	90.8 (3.9)
氟苯达唑	2~400	0.9988	2	85.2(3.4)	80.5(3.1)	89.1(2.6)	83.9 (3.6)	96.3 (4.1)	95.0 (3.2)	86.1 (3.6)	83.7 (4.1)	85.2 (3.7)
奥苯达唑	2~400	0.9996	2	82.1(5.6)	87.6(5.1)	93.1(4.7)	80.6 (5.0)	93.4 (2.9)	93.4 (3.5)	74.4 (3.5)	79.0 (3.1)	72.1 (4.2)
5-羟基甲苯咪唑	2~400	0.9957	2	73.1(4.1)	83.5(3.0)	87.2(3.3)	82.0 (4.2)	81.6 (4.0)	90.8 (5.0)	78.4 (3.1)	74.5 (2.3)	76.8 (2.5)
阿苯达唑	2~400	0.9984	2	73.9(3.9)	93.0(2.6)	84.6(3.0)	81.5 (3.9)	87.9 (4.5)	88.1 (3.8)	88.8 (3.4)	85.5 (2.7)	87.6 (2.9)
奥芬达唑	2~400	0.9992	2	83.3(5.7)	76.2(3.4)	82.7(3.0)	85.9 (2.5)	84.2 (5.1)	87.3 (2.9)	87.5 (3.8)	84.7 (4.2)	86.6 (3.6)
甲苯咪唑	2~400	0.9984	2	78.6(2.8)	85.3(4.9)	89.9(5.1)	83.8 (3.2)	74.8 (3.5)	89.4 (2.4)	74.9 (4.7)	70.4 (2.5)	73.1 (3.4)
左旋咪唑	2~400	0.9994	2	93.7(4.8)	80.8(3.7)	90.6(6.0)	83.6 (2.6)	72.8 (3.3)	87.9 (3.5)	88.7 (5.1)	89.7 (3.5)	75.5 (4.3)
2-氨基氟苯咪唑	2~400	0.9939	2	85.1(4.3)	81.1(3.0)	96.2(5.4)	78.3 (5.2)	84.8 (3.9)	86.4 (5.4)	90.1 (3.5)	90.6 (3.1)	83.8 (2.5)
苯硝咪唑	2~400	0.9990	2	89.9(5.1)	80.4(2.4)	87.1(2.8)	80.5 (5.4)	84.8 (3.2)	78.3 (3.1)	73.4 (4.5)	75.6 (3.7)	89.6 (2.4)

表2(续)

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)	回收率/(相对标准偏差/%)								
				鱼/($\mu\text{g/kg}$)			猪肉/($\mu\text{g/kg}$)			鸡蛋/($\mu\text{g/kg}$)		
				20	50	100	20	50	100	20	50	100
5-羟基噻苯咪唑	2~400	0.9981	2	77.7(3.3)	88.7(5.0)	84.4(3.2)	79.1(4.6)	74.7(4.1)	80.5(2.8)	84.7(3.1)	85.4(2.7)	91.7(4.2)
噻苯咪唑	2~400	0.9935	2	84.4(5.3)	83.1(4.2)	85.7(3.1)	77.9(3.8)	77.0(5.0)	79.1(4.2)	92.5(4.6)	93.3(5.1)	93.5(3.7)
阿苯达唑砒	2~400	0.9989	2	80.5(3.9)	95.2(3.4)	91.1(4.3)	86.4(3.1)	78.6(2.5)	97.3(3.6)	75.1(2.4)	77.0(5.2)	78.7(3.5)
芬苯达唑砒	2~400	0.9994	2	87.0(2.8)	84.6(3.6)	89.3(3.8)	85.1(3.2)	79.6(3.6)	96.2(2.8)	89.1(3.6)	89.6(4.0)	90.3(4.3)
阿苯达唑亚砒	2~400	0.9985	2	93.2(4.0)	84.7(3.8)	89.0(4.7)	82.2(5.2)	80.6(4.0)	91.5(3.6)	93.6(3.5)	94.3(4.6)	88.6(5.2)
奥芬达唑砒	2~400	0.9993	2	93.0(2.5)	81.1(5.5)	79.2(2.1)	82.3(4.7)	97.2(3.6)	90.3(2.5)	76.3(3.4)	77.5(2.8)	94.4(4.6)
去氢睾酮	5~400	0.9983	5	84.2(3.3)	90.4(4.1)	87.3(3.6)	78.5(5.2)	86.0(3.9)	77.6(3.4)	81.2(2.7)	82.5(3.5)	78.0(5.4)
17 α -甲睾酮	5~400	0.9980	5	81.6(4.7)	96.1(5.2)	81.0(2.2)	80.6(3.5)	83.9(2.8)	85.8(4.2)	71.8(4.6)	73.6(3.7)	86.1(2.8)
醋酸甲羟孕酮	5~400	0.9954	5	87.3(3.6)	77.8(4.8)	89.6(2.3)	74.4(2.2)	70.7(5.1)	93.5(2.3)	90.8(5.4)	85.6(4.7)	89.4(5.1)
群勃龙	5~400	0.9989	5	81.3(3.9)	81.6(3.2)	83.1(3.6)	70.6(4.0)	91.7(2.5)	91.6(3.6)	88.3(5.1)	89.5(3.8)	92.9(2.9)
醋酸美仑孕酮	5~400	0.9994	5	80.9(2.6)	83.9(3.1)	83.7(2.9)	88.2(2.5)	91.5(4.8)	87.9(4.2)	88.8(3.9)	89.3(4.1)	92.6(4.4)
醋酸甲地孕酮	5~400	0.9993	5	88.1(4.0)	90.1(3.1)	92.2(3.8)	83.8(2.6)	93.3(5.7)	84.2(3.5)	86.9(4.5)	88.0(3.0)	91.6(4.7)
19-去甲睾酮	5~400	0.9978	5	83.4(5.9)	90.1(3.6)	90.0(4.7)	79.6(2.9)	75.0(4.8)	90.0(3.7)	89.6(4.1)	80.1(3.7)	93.0(4.3)
睾酮	5~400	0.9959	5	74.9(3.4)	79.1(2.9)	88.4(3.8)	87.1(3.5)	96.0(2.7)	88.2(4.1)	82.8(2.8)	93.0(3.3)	75.7(3.7)
孕酮	5~400	0.9991	5	86.7(3.1)	87.2(3.3)	78.9(2.4)	83.3(2.6)	81.5(3.5)	76.7(3.9)	92.7(2.1)	83.9(2.8)	95.6(2.7)
左炔诺孕酮	5~400	0.9965	5	93.4(4.6)	87.7(2.5)	82.4(2.2)	84.7(2.8)	85.9(2.1)	95.8(2.8)	83.7(4.0)	85.9(3.2)	87.4(4.5)
洛硝达唑	10~400	0.9984	10	86.8(4.1)	83.4(3.6)	78.3(5.2)	88.6(5.0)	83.8(4.8)	70.5(4.3)	84.6(2.6)	86.4(3.9)	87.9(2.9)
甲硝唑	10~400	0.9993	10	84.8(2.8)	93.0(2.5)	83.1(4.6)	89.7(4.4)	83.6(3.5)	83.2(3.4)	83.2(3.8)	84.8(2.8)	86.1(3.1)
迪美唑	10~400	0.9978	10	89.6(5.1)	94.2(3.3)	92.2(3.6)	86.0(2.7)	93.2(2.1)	96.3(3.8)	85.8(3.2)	87.8(2.9)	88.9(3.6)
羟基甲硝唑	10~400	0.9969	10	83.2(3.9)	91.6(3.7)	81.6(5.6)	92.3(5.1)	93.2(4.8)	83.9(4.1)	88.0(4.6)	90.4(3.5)	92.2(4.9)
羟甲基甲硝唑	10~400	0.9984	10	80.7(2.1)	87.5(3.5)	84.1(3.1)	91.6(5.1)	80.5(4.6)	95.2(3.8)	88.2(4.1)	90.8(3.6)	91.9(4.8)
异丙硝唑	10~400	0.9971	10	96.5(4.1)	86.4(3.7)	81.0(5.1)	92.7(2.5)	84.6(2.7)	83.8(3.4)	71.3(2.7)	73.2(3.5)	76.6(3.6)
2-(2-羟异丙基)-1-甲基-5-硝基咪唑	10~400	0.9975	10	81.2(2.9)	83.4(5.2)	87.3(4.3)	88.6(5.1)	92.3(2.9)	82.2(3.8)	64.7(2.3)	66.4(2.9)	69.6(2.2)

2.8 实际样品测定

按建立的方法对60份日常抽检的不同类型动物源性食品(海水鱼,猪肉和蜂蜜)进行检测,结果表明,33种兽药在1份多宝鱼中检出含有甲硝唑15.6 μg/kg,2份蜂蜜中检出地美硝唑,含量分别为12.3 μg/kg,17.4 μg/kg。

3 结论

本研究基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱,建立了一种快速,有效的动物源性食品中3类33种兽药残留的检测方法。该方法具有灵敏度高、准确性好,抗干扰能力强等优点。其回收率、精密度和定量限均满足残留分析的要求。同时本研究建立了33种兽药的高分辨质谱库,包含化合物名称、化学式、精确质量数、保留时间、二级碎片离子信息及质谱图,建立的质谱库可以实现非目标化合物的定性筛查。

参考文献

- [1] 农业部兽医局. 中华人民共和国农业部公告第235号[EB/OL]. [2002-12-24].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304_1028649.htm
Veterinary Bureau, Ministry of Agriculture. Ministry of Agriculture of the People's Republic of China Notice No. 235 [EB/OL]. [2002-12-24].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304_1028649.htm
- [2] 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 drug in food [S].
- [3] European Union. Commission Regulation (EU) No 37/2010 [Z].
- [4] 郝杰, 姜洁, 余建龙, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中多种兽药残留[J]. 食品科学, 2017, (12): 266-272.
HAO J, JIANG J, YU JL. Simultaneous determination of veterinary drug residues in animal derived foods by solid phase extraction ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2017, (12): 266-272.
- [5] 邓兰月. 动物源性食品中多兽药残留前处理方法研究进展[J]. 畜牧兽医科技信息, 2020, 519(3): 17-18.
DENG LY. Research Progress on pretreatment methods of multi veterinary drug residues in animal derived food [J]. Chin J Anim Husb Vet Med, 2020, 519(3): 17-18.
- [6] 周晖, 陈燕, 迟秋池, 等. 动物源性食品中多种兽药残留检测的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(10): 2889-2895.
ZHOU H, CHENG Y, CHI QC, et al. Research progress on detection of veterinary drug residues in animal derived food [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(10): 2889-2895.
- [7] 陈刚, 邓晓军, 孙锦兰, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中35种兽药残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2014, 50(7): 809-814.
CHENG G, DENG XJ, SHUN JL, et al. Simultaneous determination of 35 veterinary drug residues in animal derived foods by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal (Chem Anal), 2014, 50(7): 809-814.
- [8] 孙雷, 张俪, 汪霞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法对动物源性食品

中13种β-内酰胺类药物残留的检测[J]. 分析测试学报, 2009, (5): 576-580.

SUN L, ZHANG L, WANG X, et al. Determination of 13 β-lactam residues in food of animal origin food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2009, (5): 576-580.

[9] 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种全氟烷基化合物[J]. 分析化学, 2015, 43(1): 40-48

HE JL, PENG T, XIE J, et al. Determination of 20 perfluorinated compounds in animal liver by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Anal Chem, 2015, 43(1): 40-48.

[10] 高丽红, 刘克克, 毛斐. 固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定动物源性食品中的瘦肉精[J]. 河南预防医学杂志, 2017, 28(8): 587-588.

GAO LH, LIU KK, MAO F. Solid phase extraction-gas phase gas chromatography-mass spectrometry determination of clenbuterol in animal-derived food [J]. Henan J Prev Med, 2017, 28(8): 587-588.

[11] 祝伟霞, 杨冀州, 李睢, 等. 液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速分析动物源性食品中多肽类药物残留[J]. 色谱, 2017, 35(2): 156-161.

ZHU WX, YANG JZ, LI S, et al. Quick determination of polypeptide drug residues in animal-origin foods by high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(2): 156-161.

[12] 孙兴权, 董振霖, 李一尘, 等. 动物源食品中兽药残留高通量快速分析检测技术[J]. 农业工程学报, 2014, (8): 280-292.

SUN XQ, DONG ZL, LI YC, et al. Rapid determination of veterinary drug residues in food of animal origin with high flux [J]. Transe Chin Soc Agric Eng, 2014, (8): 280-292.

[13] 王立琦, 贺利民, 曾振灵, 等. 液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J]. 质谱学报, 2011, 32(6): 321-321.

WANG LQ, HUO LM, ZENG ZL, et al. Research progress of matrix effect in detection of veterinary drug residues by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chin Mass Spec Soc, 2011, 32(6): 321-321.

[14] 丁葵英, 许文娟, 郭礼强, 等. 液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中烟碱类化合物的基质效应研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(10): 2949-2954.

DING KY, XU WJ, GUO LQ, et al. Matrix effect of determination of nicotine compounds in vegetables by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(10): 2949-2954.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

李云飞, 硕士, 主要研究方向为食品中兽药残留检测。

E-mail: 1985984372@qq.com

杨玲春, 研究员, 主要研究方向为食品检测。

E-mail: lingchunyang333@sina.com