

液相色谱-线性离子阱-串联质谱法测定海参中 127种兽药残留

李妍¹, 罗佳¹, 徐静^{1*}, 徐天¹, 赵宁², 姜淙允²

(1. 大连海关技术中心, 大连 116001; 2. 大连工业大学食品学院, 大连 116001)

摘要: 目的 建立液相色谱-线性离子阱-串联质谱法测定海参中 127 种兽药残留量的分析方法。**方法** 样品经乙腈:水:甲酸(75:25:0.1, V:V:V)提取, 涡旋振荡 5 min 后超声提取 30 min, 9000 r/min 离心 10 min, 滤膜过滤后采用液相色谱-质谱联用仪测定。**结果** 该方法检出限可达到 5 μg/kg, 127 种兽药均在 9 min 之内流出, 线性相关系数大于 0.99, 回收率在 30%~116.2%之间, 相对标准偏差在 15%以内。**结论** 与传统的检测方法相比, 该方法样品制备简单, 仪器检测速度快, 具有很好的实用性。

关键词: 兽药残留; 线性离子阱; 液相色谱-串联质谱法; 海参

Determination of 127 kinds of veterinary drugs in sea cucumber by liquid chromatography-Qtrap-tandem mass spectrometry

LI Yan¹, LUO Jia¹, XU Jing^{1*}, XU Tian¹, ZHAO Ning², JIANG Cong-Yun²

(1. Technical Center of Dalian Customs, Dalian 116001, China;
2. Food College of Dalian Polytechnic University, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 127 kinds of veterinary drug residues in sea cucumbers by liquid chromatography-Qtrap-tandem mass spectrometry. **Methods** The sample was extracted by acetonitrile:water:formic acid (75:25:0.1, V:V:V), vortex oscillation for 5 min, ultrasonic extraction for 30 min, centrifugation at 9000 r/min for 10 min, filtration by membrane, and determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Results** The detection limit of this method could reach 5 μg/kg, 127 kinds of veterinary drugs could flow out within 9 min, the linear correlation coefficient was greater than 0.99, the recoveries were between 30%–116.2%, and the relative standard deviation was lower than 15%. **Conclusion** Compared with the traditional detection, this method provides an alternative with easier sample preparation, faster instrumental detection and has good practicability.

KEY WORDS: veterinary drug residue; linear ion trap; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; sea cucumber

基金项目: 大连市青年科技之星项目(2017RQ161)

Fund: Supported by the Foundation for the Young Scientists of Dalian (2017RQ161)

*通信作者: 徐静, 研究员, 主要研究方向为食品理化安全检测。E-mail: 6189948@qq.com

*Corresponding author: XU Jing, Professor, Technical Center of Dalian Customs, 60 Changjiang East Road, Dalian 116001, China. E-mail: 6189948@qq.com

0 引 言

随着兽药在养殖业中的广泛应用和人们对其相关危害的深入认识, 动物源食品中兽药残留已逐步成为食品安全领域的热点和焦点。在我国滥用、乱用限用药物、非法使用禁用药物等现象屡禁不止, 已成为导致食品安全问题的主要原因。喹诺酮类、大环内酯类、磺胺类、磺胺增效剂、林可胺类、硝基咪唑类、喹噁啉类和多肽类等在水产养殖方面使用较多; 水产品特别是名贵的海产品如海参等, 因生长周期较长, 其农兽药残累积也更严重, 最终通过食物链在人体内蓄积, 导致过敏反应和使人体产生抗药性等副作用^[1-2]。当前我国仍缺少针对海参检测的相关标准, 研究论文也较为少见。

多残留筛查检测已经成为当前检验检疫领域重要的发展趋势^[3-9], 并在农药检测中获得了广泛的应用, 如 GB/T 23200.8—2016《食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》、GB 23200.9—2016《食品安全国家标准 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》等。但迄今为止, 兽药残留的检测仍延续着传统方法, 即根据化合物结构进行分类后, 针对各类药物采取不同的检测方法(多数为液相色谱或液相色谱-串联质谱法), 如 GB/T 21320—2007《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》、GB/T 21316—2007《动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》等^[10-11], 至今尚无能够囊括多种类兽药的检测标准。近年来, 兽药的多残留分析方法已引起了越来越多的关注^[12-15]。邓兰月等^[16-17]对动物源食品中多种兽药残留的前处理和检测方法进行了综述, 张林田等^[18]建立了高效液相色谱-串联质谱法检测 42 种兽药残留的分析方法, ZHANG 等^[19]采用超高效液相色谱-串联质谱法建立了动物源食品中 51 种兽药的检测方法, 李云飞等^[20]采用四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法对动物源食品中 33 种兽药进行检测并建立了质谱库。但尚未见针对海参产品中百种以上兽药残留检测的报道。

因此本研究针对目前海参中兽药检测领域中方法分散、多次前处理和上机的现状, 建立液相色谱检验方法, 以期对海参中兽药残留的风险监控及日常检测提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

海参: 购于超市。

乙腈(色谱级, 德国 Lichrosolv 公司); 甲酸(色谱级, 上海安谱公司); 超纯水(美国 Millipore 纯水系统)。

标准溶液混标(10000 ng/mL, 天津阿尔塔科技有限

公司)。

1.2 仪器与设备

Qtrap 4500 超高效液相色谱-线性离子阱-三重四极杆质谱仪(美国 AB 公司); AJ0-8782 预柱(C₁₈)、Kinetex 超高效液相色谱柱(50 mm×3.0 mm, 2.6 μm, 100 Å, 美国 Phenomenex 公司); Allegra X-30R Centrifuge 离心机(美国贝克曼库尔特公司); JYL-C022E 料理机(济南九阳股份有限公司); 移液器(0.5~10 μL, 20~200 μL, 200~1000 μL, 德国 Eppendorf 公司); 分析天平(精度 0.0001 g, 瑞士 Mettler toledo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

将多种兽药混标溶液(10000 ng/mL), 采用基质添加的方式配成 1、2.5、5、10、50 ng/mL 的标准曲线溶液, 现配现用。所有溶液于-4℃冷藏避光储存。

1.3.2 样品前处理

首先将泡发好的海参剁成碎块, 经均质机均质 5 min, 使得样品成糊状的均质样品; 在 50 mL 离心管中, 称取 2.5 g 上述均质样品, 加入 10 mL 提取液(乙腈:水:甲酸=75:25:0.1, V:V:V), 盖上盖子, 涡旋振荡 5 min 使肉分散均匀, 后放入超声仪, 超声萃取 30 min; 在转速 9000 r/min 下离心 10 min; 取上清液经 0.22 μm 过滤膜过滤, 供液相色谱-质谱联用仪分析。

1.3.3 仪器条件

(1)液相色谱条件

柱温: 室温; 进样体积: 5 μL; 流速: 0.4 mL/min; 流动相 A: 水+0.1%甲酸, 流动相 B: 乙腈+0.1%甲酸, 洗针液(甲醇:水=1:1, V:V); 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	1.00	1.10	9.50	9.60	11.50	11.60	13.50
B/(有机相)	3	15	75	95	95	3	停止

(2)质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization source, ESI); 扫描模式: 正/负离子同时扫描; 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM), 质谱检测参数见表 2。

表 2 离子源条件

Table 2 Ion source condition

扫描模式	电压/V	气帘气/psi	温度/℃	碰撞气/psi	辅助气/psi
正离子	5500	30	600	50	60
负离子	-4500	30	600	50	60

(3)线性离子阱方法

EPI 参数设置如下: 扫描速度: 10000 Da/s; 扫描范围: 70~920 Da(正离子), 70~400 Da(负离子); 碰撞电压: 40 V; 碰撞池出口电压: 15 V。

2 结果与分析

2.1 色谱柱条件的优化

针对海参样品的特点, 为最大程度提高多种兽药的回收率, 前处理步骤采取的净化手段较为简单^[13-16]; 同时配合三重四极杆质谱仪, 通过母离子/子离子筛选功能可实现较高的选择性, 有效屏蔽来自样品基质的干扰^[17]。但样品液中的杂质也给色谱柱和质谱离子源带来了较大的污染负担, 特别是超高效液相色谱柱, 其填料的粒度和孔径

都决定了抗污染能力较差。为解决以上问题, 在液相色谱柱前串联了 C₁₈ 预柱, 可有效对样品液中的杂质进行拦截, 获得抗污染性和回收率之间的平衡。

2.2 质谱条件的优化

利用 MRM 开展靶向化合物分析, 可同时保证方法的灵敏度、稳定性、选择性和线性范围^[4]。在本研究中, 对正离子在 70~920 Da 范围, 负离子在 70~400 Da 范围进行分别扫描; 受扫描速度限制, 正离子选最强离子, 负离子两个离子对全部进入。为保证检出的准确度, 采用 MRM 结合 Q-TRAP 技术, 利用 CLIQUID 软件快速筛查, 对扫描中发现的可疑化合物放入离子阱中进行增强子离子扫描, 并通过二级质谱图库检索对比, 从而实现精准定性分析^[18-19]。各化合物详细 MRM 质谱参数见表 3。

表 3 MRM 质谱参数
Table 3 MS/MS conditions of multiple veterinary drugs

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入 口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出 口电压/V
1	安宫黄体酮(醋酸甲孕酮)	387.1	327.3	7.36	96	10	18	14
		387.1	123	7.36	96	10	30	14
2	甲睾酮	303.2	109	5.84	106	10	30	14
		303.2	97	5.84	106	10	28	14
3	丙酸睾丸素(丙酸睾酮)	345.2	97	8.01	114	10	23	14
		345.2	109	8.01	114	10	29	14
4	醋酸氯地孕酮	405.2	309.2	7.42	100	10	21	14
		405.2	345.2	7.42	100	10	17	14
5	去氢睾酮	287.1	121	5.19	85	10	25	13
		287.1	135	5.19	85	10	19	13
6	群勃龙	271	253.1	4.92	90	10	27	13
		271	199	4.92	90	10	33	13
7	苯丙酸诺龙	407.2	105.2	8.85	80	10	36	13
		407.2	257.2	8.85	80	10	25	13
8	格列本脲	494.2	369	6.99	90	10	18	13
		494.2	169	6.99	90	10	45	13
9	格列美脲	491.2	352	6.99	90	10	19	13
		491.2	126.2	6.99	90	10	34	13
10	格列吡嗪	446.2	321.2	5.41	85	10	20	13
		446.2	103	5.41	85	10	62	13
11	瑞格列奈	453.3	230.2	5.66	100	10	38	13
		453.3	162	5.66	100	10	27	13
12	甲苯磺丁脲	271.1	155	5.39	72	10	24	13
		271.1	91.1	5.39	72	10	45	13
13	泼尼松(脱氢可的松)	359.2	147.2	4.18	80	10	35	13
		359.2	341.2	4.18	80	10	15	13
14	可的松	361.2	163.2	4.24	80	10	34	13
		361.2	121.1	4.24	80	10	47	13

表 3(续)

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入 口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出 口电压/V
15	氢化可的松	363.2	121.1	4.09	80	10	31	13
		363.2	105	4.09	80	10	68	13
16	甲基泼尼松龙	375.2	339.2	4.52	66	10	14	13
		375.2	161.2	4.52	66	10	28	13
17	氟米龙	377.2	279.3	5.28	80	10	22	13
		377.2	321.3	5.28	80	10	18	13
18	倍他米松	393.2	355.2	4.67	80	10	15	13
		393.2	337.3	4.67	80	10	19	13
19	曲安西龙	395.2	357.2	3.61	80	10	17	13
		395.2	225.1	3.61	80	10	26	13
20	醋酸泼尼松	401.2	124.1	4	80	10	53	13
		401.2	147.2	4	80	10	40	13
21	醋酸可的松	403.2	163.2	5.59	80	10	34	13
		403.2	343.2	5.59	80	10	25	13
22	醋酸氢化可的松	405.3	309.2	5.27	80	10	25	13
		405.3	327.2	5.27	80	10	24	13
23	倍氯米松	409.2	391.2	4.87	80	10	15	13
		409.2	279.3	4.87	80	10	29	13
24	氟米松	411.3	253.2	4.91	80	10	22	13
		411.3	121	4.91	80	10	50	13
25	甲基泼尼松龙醋酸酯	417.2	253.2	5.69	80	10	28	13
		417.2	161.1	5.69	80	10	28	13
26	氟米龙醋酸酯	419.3	279.2	6.22	80	10	20	13
		419.3	321.2	6.22	80	10	19	13
27	醋酸氟氢可的松	423.2	239.2	5.37	80	10	34	13
		423.2	343.2	5.37	80	10	31	13
28	布地奈德	431.2	413.2	5.81	80	10	15	13
		431.2	147.1	5.81	80	10	42	13
29	丁酸氢化可的松	433.3	327.2	5.83	80	10	22	13
		433.3	309.2	5.83	80	10	23	13
30	曲安奈德	435.2	415.2	5.15	80	10	15	13
		435.21	397.2	5.15	80	10	15	13
31	氟氢缩松	437.3	361.2	5.3	80	10	24	13
		437.3	285.2	5.3	80	10	29	13
32	地夫可特	442.3	124.1	5.45	80	10	65	13
		442.3	142.1	5.45	80	10	45	13
33	氢化可的松-17-戊酸酯	447.3	345.3	6.28	80	10	19	13
		447.3	121.1	6.28	80	10	39	13
34	醋酸曲安奈德	477.2	339.2	6.6	80	10	22	13
		477.2	321.2	6.6	80	10	23	13
35	丁酸氯倍他松	479.3	343.2	8.21	80	10	19	13
		479.3	279.2	8.21	80	10	22	13
36	泼尼卡酯	489.2	381.3	7.08	80	10	16	13
		489.2	115.1	7.08	80	10	25	13
37	二乙酸二氟拉松	495.2	317.2	6.94	80	10	20	13
		495.2	279.2	6.94	80	10	23	13
38	安西奈德	503.2	339.2	7.19	80	10	24	13
		503.2	321.2	7.19	80	10	25	13

表3(续)

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出口电压/V
39	倍他米松二丙酸酯	505.3	411.2	7.53	80	10	15	13
		505.3	319.2	7.53	80	10	21	13
40	丙酸倍氯米松	521.1	503.2	7.76	80	10	16	13
		521.1	319.2	7.76	80	10	23	13
41	曲安西龙双醋酸酯	479.2	441.2	5.38	81	10	14	13
		479.2	147	5.38	81	10	48	13
42	脱氢皮醇(泼尼松龙)	361.2	343.2	4.07	80	10	14	13
		361.2	147.2	4.07	80	10	34	13
43	地塞米松	393.2	373.4	4.66	80	10	15	13
		393.21	355.2	4.66	80	10	15	13
44	泼尼松龙醋酸酯	403.2	147.1	5.22	80	10	35	13
		403.2	385.2	5.22	80	10	14	13
45	醋酸地塞米松	435.3	415.2	5.76	80	10	15	13
		435.3	337	5.76	80	10	17	13
46	醋酸倍他米松	435.3	397.2	5.92	80	10	15	13
		435.31	415.2	5.92	80	10	15	13
47	莫美他松	521.1	263.2	7.76	80	10	40	13
		521.11	503.2	7.76	80	10	16	13
48	阿氯米松双丙酸酯	521.2	301.2	7.3	80	10	22	13
		521.2	279.2	7.3	80	10	22	13
49	替诺昔康	338.2	121.1	3.65	80	10	26	13
		338.2	78	3.65	80	10	80	13
50	氟芬那酸 氟灭酸	282.2	264	7.6	40	10	24	13
		282.2	167	7.6	40	10	55	13
51	萘酮苯丙酸	282.2	236	5.07	85	10	28	13
		282.2	218	5.07	85	10	43	13
52	双水杨酸酯	259.2	120	5.37	50	10	22	13
		259.2	119	5.37	50	10	22	13
53	托灭酸	262.2	244.1	7.48	40	10	21	13
		262.2	209	7.48	40	10	38	13
54	美洛昔康	352.1	115	5.81	50	10	24	13
		352.1	141	5.81	50	10	26	13
55	氟尼辛	297.1	279.1	5.61	45	10	32	13
		297.1	264	5.61	45	10	45	13
56	甲灭酸	242.1	224.1	7.22	40	10	21	13
		242.1	209	7.22	40	10	39	13
57	双氯芬酸	296.2	215	6.69	32	10	26	13
		296.2	250.1	6.69	32	10	19	13
58	吡罗昔康	332.2	95.1	4.79	50	10	23	13
		332.2	164	4.79	50	10	24	13
59	萘丁美酮	229.1	171.1	6.8	40	10	23	13
		229.1	128.2	6.8	40	10	53	13
60	舒林酸	357.2	233	5.5	80	10	65	13
		357.2	340	5.5	80	10	28	13
61	托麦汀	258.2	119.1	5.36	60	10	24	13
		258.2	91	5.36	60	10	51	13

表 3(续)

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入 口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出 口电压/V
62	吡啶美辛	358.2	139	6.94	60	10	27	13
		358.2	111	6.94	60	10	70	13
63	磺胺噻唑	256	156	2.59	40	10	22	13
		256	108	2.59	40	10	32	13
64	磺胺吡啶	250.1	156.1	2.62	40	10	23	13
		250.1	108	2.62	40	10	32	13
65	磺胺甲基嘧啶	265.2	156.1	2.73	82	10	25	13
		265.2	172.1	2.73	82	10	25	13
66	磺胺-6-(间)甲氧嘧啶	281.1	156	3.03	75	10	25	13
		281.1	126.1	3.03	75	10	30	13
67	磺胺甲噻二唑	271	156.1	3	65	10	21	13
		271	108	3	65	10	36	13
68	磺胺-5-(对)甲氧嘧啶	281.1	156.1	3.03	70	10	25	13
		281.1	108.1	3.03	70	10	35	13
69	磺胺氯噻嗪	285.1	156	3.4	65	10	22	13
		285.1	108.1	3.4	65	10	37	13
70	磺胺甲氧噻嗪	281	156	3.03	75	10	25	13
		281	126.1	3.03	75	10	27	13
71	磺胺邻二甲氧嘧啶 (磺胺多辛)	311.11	156.1	3.55	70	10	30	13
		311.1	108.2	3.55	70	10	37	13
72	磺胺间二甲氧嘧啶	311.1	156.1	4.26	70	10	28	13
		311.1	218	4.26	70	10	28	13
73	磺胺二甲异噻唑 (磺胺异噻唑)	268.1	156.1	3.82	82	10	22	13
		268.1	113.2	3.82	82	10	25	13
74	苯酰磺胺	277.1	156	4.11	60	10	19	13
		277.1	108	4.11	60	10	32	13
75	磺胺醋酰	215	156	2.41	52	10	17	13
		215	108	2.41	52	10	29	13
76	三甲氧苄胺嘧啶(甲氧苄啶)	291.1	230.1	2.64	95	10	33	13
		291.1	123.1	2.64	95	10	34	13
77	氯硝西洋	316.1	270	5.11	90	10	35	13
		316.1	214	5.11	90	10	52	13
78	地西洋	285.1	193	5.55	80	10	40	13
		285.1	154	5.55	80	10	36	13
79	劳拉西洋	321.1	275.1	4.82	80	10	30	13
		321.1	229.1	4.82	80	10	41	13
80	三唑仑	343.1	308.1	5.14	100	10	36	13
		343.1	239	5.14	100	10	55	13
81	奥沙西洋	287.1	241	4.66	90	10	32	13
		287.1	269	4.66	90	10	21	13
82	硝西洋	282.2	236.1	4.77	80	10	34	13
		282.2	180	4.77	80	10	50	13
83	羟基甲硝唑	188.2	123	1.6	50	10	19	13
		188.2	126	1.6	50	10	23	13

表3(续)

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入 口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出 口电压/V
84	甲硝唑	172.2	127.9	2.17	50	10	20	13
		172.2	82	2.17	50	10	37	13
85	二甲硝咪唑(地美硝唑)	142.2	96	2.36	65	10	21	13
		142.2	81	2.36	65	10	36	13
86	洛硝哒唑	201.2	140	2.42	50	10	15	13
		201.2	55	2.42	50	10	27	13
87	氯甲硝咪唑	162.2	115.9	2.71	75	10	23	13
		162.2	144.9	2.71	75	10	23	13
88	苯硝咪唑	164.2	118	2.65	80	10	27	13
		164.2	90.9	2.65	80	10	46	13
89	阿苯达唑	266.3	234	4.4	90	10	28	13
		266.3	190.9	4.4	90	10	44	13
90	阿苯达唑亚砷	282.1	240	2.91	70	10	19	13
		282.1	208	2.91	70	10	34	13
91	氟苯达唑(氟苯咪唑)	314.1	282	4.85	90	10	32	13
		314.1	123	4.85	90	10	48	13
92	芬苯达唑砷(芬苯达唑)	300.2	268	5.38	100	10	30	13
		300.2	158.9	5.38	100	10	46	13
93	奥芬达唑	316.2	159	3.58	70	10	43	13
		316.2	191.1	3.58	70	10	27	13
94	噻苯哒唑	202.2	175	2.53	60	10	37	13
		202.2	130.9	2.53	60	10	48	13
95	替硝唑	248.2	121.2	2.85	80	10	21	13
		248.2	93	2.85	80	10	25	13
96	奥硝唑	220	128	3	70	10	23	13
		220	82	3	70	10	43	13
97	莱克多巴胺	302.2	164.1	2.84	80	10	23	13
		302.2	107.1	2.84	80	10	51	13
98	沙丁胺醇	240.2	148.1	2.25	70	10	24	13
		240.2	222.1	2.25	70	10	15	13
99	特布他林	240.2	166	2.25	70	10	18	13
		226.2	152	2.25	70	10	21	13
100	西马特罗	226.2	107.1	2.25	70	10	36	13
		220	202	2.29	65	10	13	13
101	克伦特罗	220	160	2.29	65	10	22	13
		277	203	3.2	65	10	21	13
102	妥布特罗	277	168.1	3.2	65	10	38	13
		228	154	3.09	65	10	21	13
103	喷布特罗	228	118	3.09	65	10	35	13
		292.2	236.2	5.34	73	10	23	13
		292.2	201	5.34	73	10	28	13

表 3(续)

编号	化合物	碰撞池 Q1 Mass/Da	碰撞池 Q3 Mass/Da	保留时间 /min	去簇电压 /V	碰撞池入 口电压/V	碰撞电压 /V	碰撞池出 口电压/V
104	普萘洛尔	260.1	116.1	4.21	80	10	23	13
		260.1	183.1	4.21	80	10	24	13
105	氯丙那林	214	154.1	2.79	73	10	23	13
		214	118	2.79	73	10	34	13
106	恩诺沙星	360	316.1	3.12	80	10	25	13
		360	245.1	3.12	80	10	35	13
107	诺氟沙星	320.1	276.1	2.85	80	10	26	13
		320.1	233.1	2.85	80	10	35	13
108	培氟沙星	334.1	316.1	2.9	80	10	27	13
		334.1	290.2	2.9	80	10	25	13
109	环丙沙星	332.1	288.1	2.92	80	10	25	13
		332.1	245.1	2.92	80	10	33	13
110	氧氟沙星	362.2	318.1	2.85	80	10	26	13
		362.2	261.1	2.85	80	10	38	13
111	沙拉沙星	386	342.3	3.48	80	10	25	13
		386	299	3.48	80	10	38	13
112	依诺沙星	321	303	2.74	80	10	24	13
		321	234	2.74	80	10	30	13
113	洛美沙星	352	265	3	80	10	33	13
		352	308.1	3	80	10	28	13
114	萘啶酸	233	215	4.56	68	10	18	13
		233	187	4.56	68	10	34	13
115	恶喹酸(奥索利酸)	262	244.1	4.05	70	10	26	13
		262	216.1	4.05	70	10	40	13
116	氟甲唑	262.1	244.1	4.97	77	10	23	13
		262.1	202.1	4.97	77	10	42	13
117	达氟沙星	358.1	340.1	2.97	77	10	30	13
		358.1	314.1	2.97	77	10	24	13
118	双氟沙星	400.1	356.1	3.56	80	10	28	13
		400.1	299.1	3.56	80	10	41	13
119	奥比沙星	396	352	3.22	80	10	24	13
		396	295.2	3.22	80	10	32	13
120	司帕沙星	393	349.2	3.51	80	10	30	13
		393	292	3.51	80	10	38	13
121	红霉素	734.5	576.4	4.44	30	10	26	13
		734.5	158	4.44	30	10	36	13
122	林可霉素	407.3	126.1	2.41	30	10	32	13
		407.3	359.2	2.41	30	10	27	13
123	克林霉素	425.3	126.1	3.43	50	10	32	13
		425.3	377.1	3.43	50	10	27	13
124	罗红霉素	837.6	679.5	5.39	50	10	30	13
		837.6	158.1	5.39	50	10	37	13
125	泰乐菌素	916.6	174	4.69	150	10	47	13
		916.6	772.5	4.69	150	10	43	13
126	吉他霉素	772.5	109	5.31	140	10	84	13
		772.5	215.1	5.31	140	10	39	13
127	替米考星	869.5	696.5	4	100	10	52	13
		869.5	174.2	4	100	10	52	13

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系

采用基质添加的方法,配制多种兽药的混合标准溶液,浓度范围为1、2.5、5、10、50 ng/mL,建立回归方程考察其线性关系,表4给出了14种代表性化合物的线性方程。图1、2分别给出了海参的基质添加总离子流图(正离子、负离子),图3给出了14种代表性化合物的提取离子流图。结果发现所有兽药的相关系数均大于0.99,符合我国国家标准对线性曲线的要求,可满足日常检测需求。

表4 14种代表性化合物线性方程
Table 4 Linear regression of 14 kinds of representative compounds

化合物名称	线性方程
二甲硝咪唑	$Y=1.653e5X+1.321e^4$
金刚烷胺	$Y=1.0325e6X+2.392e^5$
苯硝咪唑	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
异丙硝唑	$Y=2.0395e5X-1.457e^4$
甲硝唑	$Y=1.5736e5X+2.398e^4$
洛硝唑唑	$Y=1.3968e5X+4.560e^4$
羟基甲硝唑	$Y=7.2306e4X-1.253e^3$
噻苯唑唑	$Y=1.4105e6X-1.0257e^5$
氯丙那林	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
磺胺醋酰	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
奥硝唑	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
特布他林	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
妥布特罗	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$
氯甲硝咪唑	$Y=2.4632e5X+3.205e^4$

2.3.2 回收率、精密度和检出限

在5 μg/kg水平上,对6个平行样品开展添加回收实验,考察海参的回收率和精密度。以60%~110%为标准,有85%种兽药落在合理区间内。因前处理手段单一,其余兽药的回收率并不理想,但考虑到本方法覆盖种类多,各类兽药的极性不同,因此属于正常现象^[20-21]。对回收率不理想的化合物,因检出限低于我国限量标准,因此即便回收率较低也可以保证检出率,详见图4。

考察精密度数据($n=6$),相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于10%的兽药可达85%;其余品种精密度RSD<15%,详见图5。

按照最低添加水平,对多种兽药的检出限设定为5 μg/kg。对比GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定,该检出限可满足绝大部分药物的检测需求。

3 结论与讨论

本研究建立了液相色谱-线性离子阱-串联质谱法测定海参中多种兽药残留的检测方法。采用一次样品前处理和一次上机分析,即可同时对海参中127种兽药进行定性筛查,并对可疑化合物进行增强扫描及最终的定量检测。相对于按种类分别检测的传统方式,该法可有效节约有机试剂,减少环境污染,降低人力及时间成本,同时加快检测流程,对促进我国动物源食品快速通关出口并建立良好的国际声誉具有一定的促进作用。另外该方法在畜产品养殖企业、食品加工企业、质监、工商、食品监管等部门使用中具有较为广泛的应用前景。

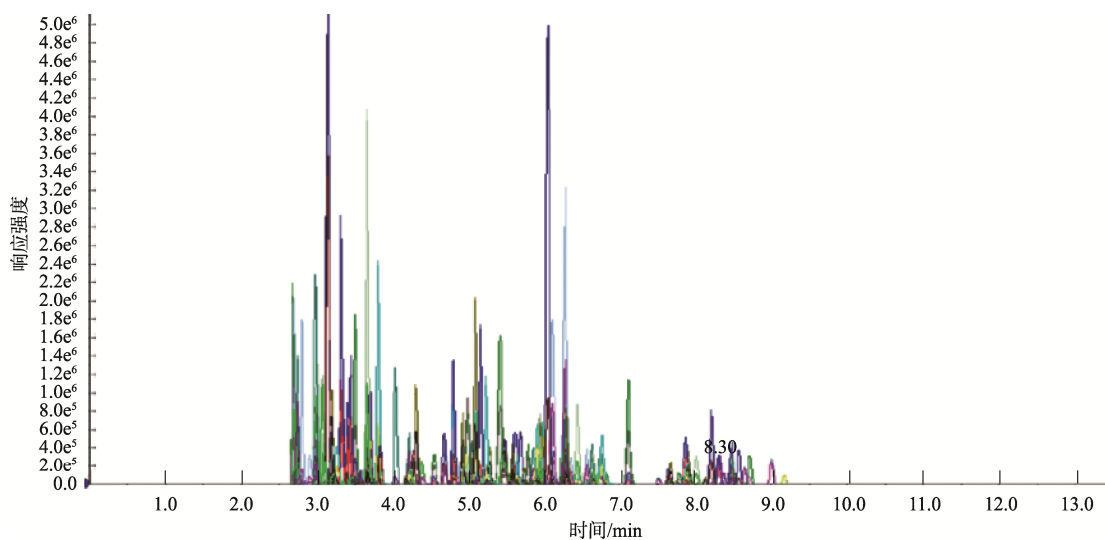


图1 基质添加总离子流图(正离子)

Fig.1 Total ion flow diagram of spiked sample (positive ion)

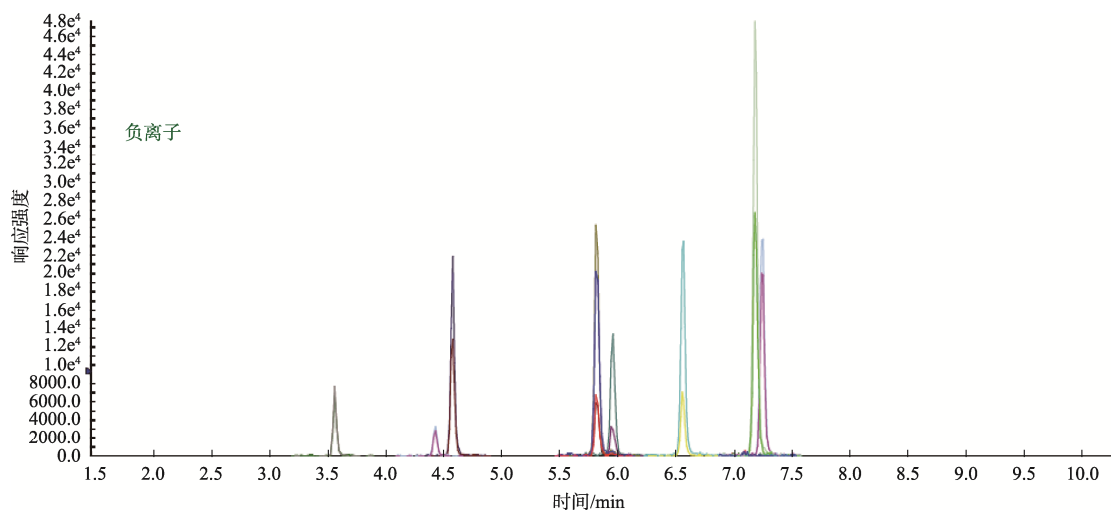


图 2 基质添加总离子流图(负离子)

Fig.2 Total ion flow diagram of spiked sample (negative ion)

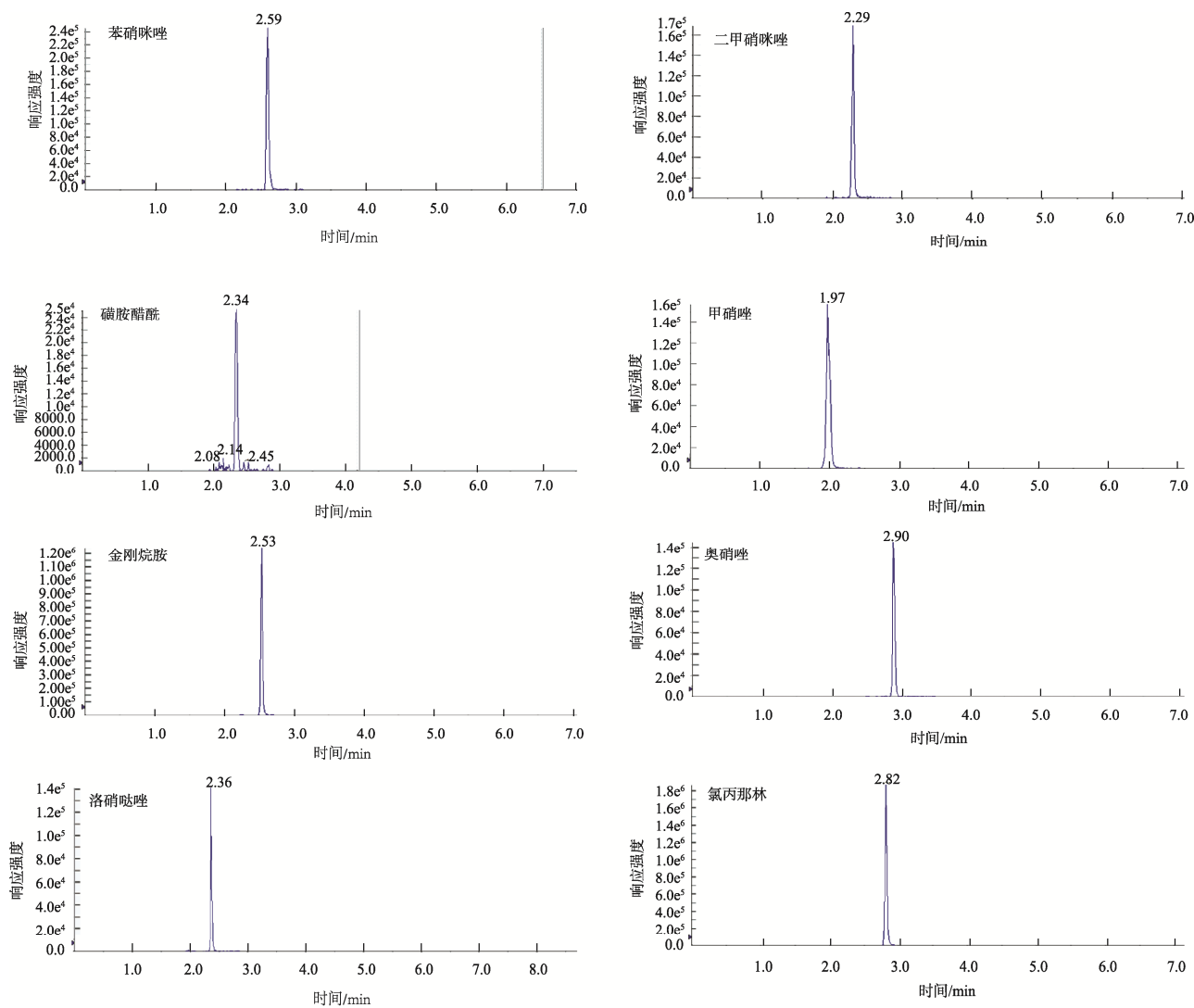


图 3 14 种代表性化合物提取离子流图

Fig.3 Extraction ion flow diagram of 14 kinds of representative compounds

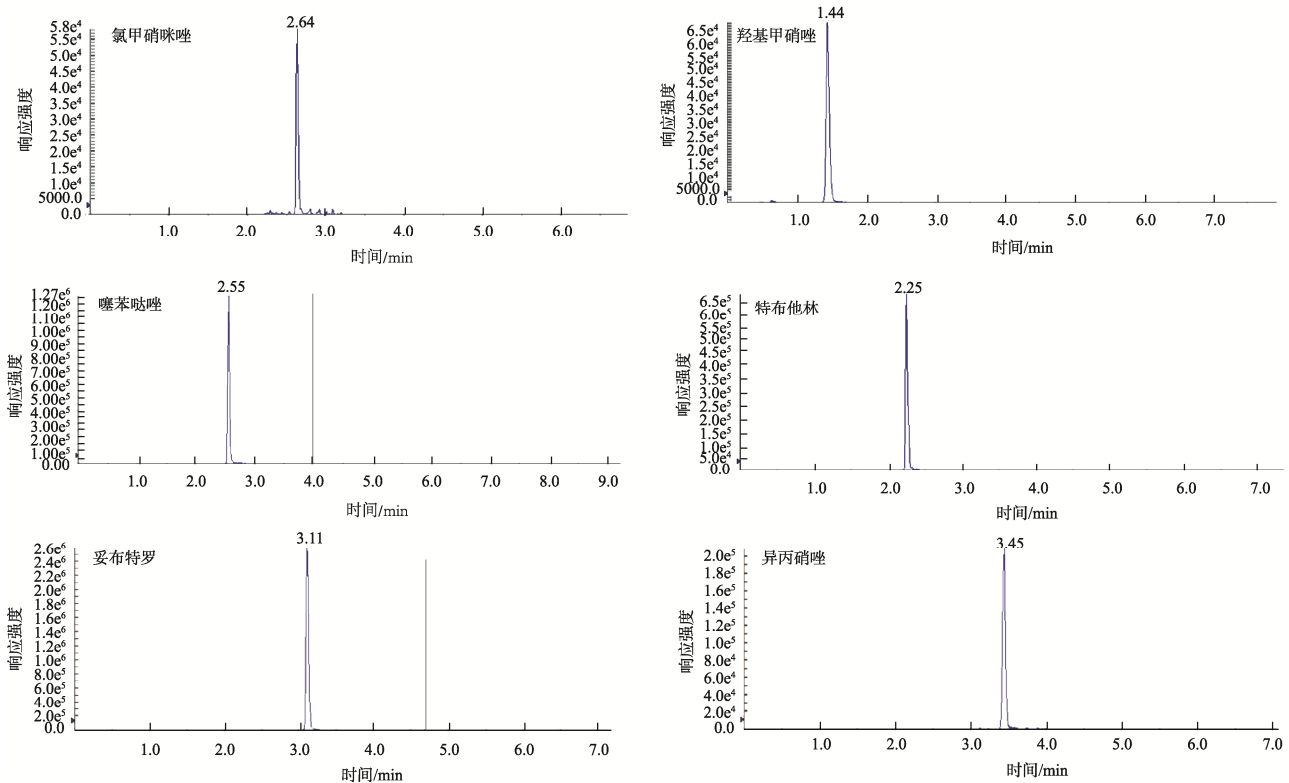


图3(续) 14种代表性化合物提取离子流图

Fig.3 Extraction ion flow diagram of 14 kinds of representative compounds

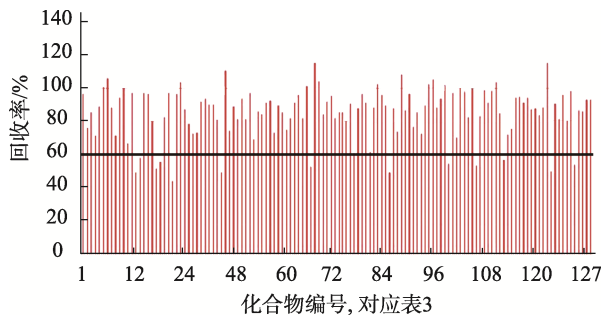


图4 127种化合物的回收率

Fig.4 Recoveries of 127 compounds

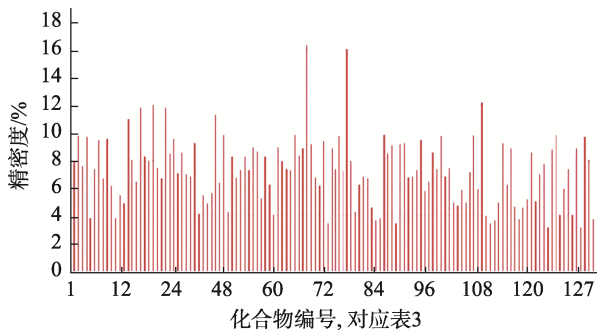


图5 127种化合物的精密度

Fig.5 Precision of 127 kinds of compounds

参考文献

- [1] PETROVIC M, BARCELO D. Multi-residue analytical methods using LC-tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and wastewater samples: A review [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386(4): 941–952.
- [2] MARAZUELA MD, BOGIALLI S. A review of novel strategies of sample preparation for the determination of antibacterial residues in foodstuffs using liquid chromatography-based analytical methods [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 645(1/2): 5–17.
- [3] YI Z, YUE ZF, FANG L, *et al.* dispersive solid-phase extraction purification and liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of the 8 class disable drug residues in milk [J]. *J Anal Chem*, 2012, 40(5): 724–729.
- [4] 农业农村部. 农业农村部关于印发《2019年动物及动物产品兽药残留监控计划》的通知 [EB/OL]. [2019-05-20]. http://www.moa.gov.cn/nygb/2019/201905/201906/t20190625_6319247.htm
Ministry of Agriculture and Rural Areas. Notice of Ministry of agriculture and rural areas on printing and distributing 2019 *animal and animal products veterinary drug residue monitoring plan* [EB/OL]. [2019-05-20]. http://www.moa.gov.cn/nygb/2019/201905/201906/t20190625_6319247.htm
- [5] MENG Z, SHI ZH, LIANG SX, *et al.* Residues investigation of fluoroquinolones and sulphonamides and their metabolites in bovine milk by quantification and confirmation using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, 174:

- 597-605.
- [6] KUNG TA, TSAI CW, KU BC, *et al.* A generic and rapid strategy for determining trace multiresidues of sulfonamides in aquatic products by using an improved QuEChERS method and liquid chromatography-electrospray quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, 175: 189-196.
- [7] CEPURNIEKS G, Rjabova J, ZACS D, *et al.* The development and validation of a rapid method for the de-termination of antimicrobial agent residues in milk and meat using ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 102: 184-192.
- [8] AZZOUC A, BALLESTEROS E. Multiresidue method for the determination of pharmacologically active substances in egg and honey using a continuous solid-phase extraction system and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, 178(1): 63-69.
- [9] 唐吉旺, 袁列江, 肖泳, 等. 固相萃取-高效液相色谱-质谱联用法同时测定食品中 9 种人工合成甜味剂[J]. *色谱*, 2019, 37(6): 619-625.
TANG JW, YUAN LJ, XIAO Y, *et al.* Simultaneous determination of nine artificial sweeteners in food by solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(6): 619-625.
- [10] GEORGAKOPOULOS P, ZACHARI R, MATARAGAS M, *et al.* Optimisation of octadecyl (C₁₈) sorbent amount in QuEChERS analytical method for the accurate organophosphorus pesticide residues determination in low-fatty baby foods with response surface methodology [J]. *Food Chem*, 2011, 128(2): 536-542.
- [11] WIEST L, BULETE A, GIROUD B, *et al.* Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(34): 5743-5756.
- [12] DAGNAC T, GARCIA-CHAO M, PULLEIRO P, *et al.* Dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the multi-residue analysis of pesticides in raw bovine milk [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(18): 3702-3709.
- [13] ZHAO C, LI Y, LIU Z, *et al.* Determination of 8 estrogen residues in milk powder by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(2): 253-259.
- [14] TIAN HJ, LIU T, YOU S, *et al.* Rapid determination of trace ciprofloxacin residues in milk by molecularly imprinted membrane extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38 (7): 775-781.
- [15] ZHENG K, CHEN J, CHEN D, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Agrochemicals*, 2019, 58(12): 898-900.
- [16] 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]. *畜牧兽医学科技信息*, 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 Veter Med*, 2020, 519(3): 17-18.
- [17] 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): 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): 2889-2895.
- [18] 张林田, 陆奕娜, 黄学泓, 等. 通过式净化-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 42 种兽药残留[J]. *分析科学学报*, 2020, 36(1): 81-87.
ZHANG LT, LU YN, HUANG XH, *et al.* Determination of 42 veterinary drug residues in animal-derived foods by pass-through cleanup-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Sci*, 2020, 36(1): 81-87.
- [19] ZHANG C, WU Z, LI H, *et al.* Rapid screening of 51 drug residues in animal products by captiva EM R-lipid solid phase extraction ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2020, 39(2): 174-181.
- [20] 李云飞, 张薇, 高燕, 等. 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物源性食品中 33 种兽药残留及质谱库的建立[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(2): 629-635.
LI YF, ZHANG W, GAO Y, *et al.* Detection of veterinary drug residues in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and establishment of mass library [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(2): 629-635.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



李 妍, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: liyan_13700094186@163.com



徐 静, 研究员, 主要研究方向为食品理化安全检测。
E-mail: 6189948@qq.com