

4种不同净化方法在猪肉兽药残留检测中的应用 比较研究

方志娟, 叶 湖, 王 伟, 钟晓红, 李晓芹*

(苏州市食品检验检测中心, 苏州 215104)

摘 要: **目的** 通过对猪肉中 194 种兽药残留的回收率和基质效应进行分析, 评价 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 4 种方式的净化效果。**方法** 样品采用 0.1%甲酸-90%乙腈混合溶液提取后, 取上清液分别经 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 4 种不同的方式净化, 氮吹浓缩复溶后经超高效液相色谱-串联质谱法分析, 考察兽药的回收率和基质效应。**结果** 经 4 种方式净化后, 分别有 84.5%、82.0%、80.0%、91.2% 兽药的回收率在 60%~120% 之间, 回收率低于 60%或高于 120%的兽药数量分别是 30、36、38、17 种; 分别有 62.9%、55.7%、83.0%、83.0% 兽药的基质效应为弱基质效应, 6.2%、4.6%、3.1%、3.1%的兽药为强基质效应。**结论** LipoNo 处理后各类兽药平均回收率在 60%~120%间比例最多, 基质效应干扰相对较小, 适用于猪肉中 194 种兽药残留量的测定。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 兽药残留; 净化; 基质效应

Comparative study of 4 kinds of different purification methods in detection of veterinary drug residues in pork

FANG Zhi-Juan, YE Hu, WANG Wei, ZHONG Xiao-Hong, LI Xiao-Qin*

(Suzhou Institute For Food Control, Suzhou 215104, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the purification effects of 4 kinds of ProElut, PRiME, EMR and LipoNo through analyzing the recovery rates and matrix effects of 194 kinds of veterinary drug residues in pork. **Methods** The samples were extracted with 0.1% formic acid and 90% acetonitrile mixed solution, the supernatant was purified by 4 kinds of different methods including ProElut, PRiME, EMR and LipoNo, concentrated by nitrogen blowing, redissolved and analyzed through ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to investigate the recovery rates and matrix effects of veterinary drugs. **Results** After purified by ProElut, PRiME, EMR and LipoNo, the recovery rates of 84.5%, 82.0%, 80.0% and 91.2% veterinary drugs were between 60% and 120%, respectively, the numbers of veterinary drugs with recovery rates lower than 60% or higher than 120% were 30, 36, 38 and 17, respectively; the matrix effects of 62.9%, 55.7%, 83.0% and 83.0% veterinary drugs were weak, 6.2%, 4.6%, 3.1% and 3.1% veterinary drugs had strong matrix effects, respectively. **Conclusion** After LipoNo treatment, the average recoveries of all kinds of veterinary drugs in the ranged from 60% to 120% are the highest, and matrix effects interference are relatively small, which is suitable for the determination of 194 kinds of veterinary drug residues in pork.

基金项目: 苏州市科技计划项目(SS2019039)、江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ196038、KJ21125003)

Fund: Supported by the Science and Technology Planning Project of Suzhou City (SS2019039), and the Science and Technology Planning Project of Jiangsu Market Supervision Administration (KJ196038, KJ21125003)

*通信作者: 李晓芹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测与质量控制。E-mail: lxq20122@163.com

*Corresponding author: LI Xiao-Qin, Master, Senior Engineer, Suzhou Institute For Food Control, No.1336, Wuzhong Street, Wuzhong District, Suzhou 215104, China. E-mail: lxq20122@163.com

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; veterinary drug residues; purification; matrix effect

0 引言

近年来,农产品的质量安全受到越来越多的关注,各地食品安全抽检工作也渐渐向农产品倾斜。随着农产品抽检量的日益增多,实验室的检测压力也越来越大,提高检测效率是必然趋势。各大耗材供应企业均在兽药残留前处理技术上有突破。目前,国内商业化的前处理方法很多,如迪马科技 ProElutQuEChERS(以下简称 ProElut)^[1]、沃特世 Oasis PRiME HLB(以下简称 PRiME)^[2-3]、安捷伦 Captive EMR(以下简称 EMR)^[4-5]、艾杰尔 CleanertLipoNo(以下简称 LipoNo)^[6]等。其中,ProElut 含有聚合物吸附剂 A (polymer sorbent A, PLS-A)和 N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)填料,PLS-A 为大孔聚苯乙烯,表面接枝亲水基团,可以吸附油脂、非极性、极性杂质;PSA 主要通过离子交换作用和极性氢键作用,吸附有机酸、碳水化合物等杂质。PRiME 填料是一种反相固相萃取(solid phase extraction, SPE)吸附剂,能够去除样品中磷脂类非极性干扰物。EMR 利用体积排阻原理和吸附剂与脂质的长链官能团之间的疏水作用,使磷脂杂质更容易被吸附。LipoNo 是一种除脂材料,填料表面修饰了许多长的碳链,可针对性地吸附脂肪。其中 PRiME 和 EMR 是固相萃取小柱,ProElut 和 LipoNo 是采用 QuEChERS 的方式进行净化。这 4 种商业化的净化方式均可以应用于蛋、肉、奶等复杂的动物源食品兽药残留检测的前处理,在去除脂质的同时,保证兽药良好的回收率,适合实验室大规模样品前处理。

目前,关于这 4 种净化方式的应用报道很多^[7-10]。但大多应用范围相对局限,而且鲜有不同净化方式之间比较的相关报道。郭添荣等^[11]比较了 PRiME 和 EMR 2 种净化方式对鱼肉中 30 种蛋白同化激素及糖皮质激素的回收率和基质效应的影响,最终选择 PRiME 进行净化,目标物质的回收率达 69.7%~103.2%。郭海霞等^[12]比较了 C₁₈、PSA、氨基和石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB) 4 种吸附剂对猪肉中 121 种兽药的净化效果,最终选择 C₁₈ 和 PSA 组合的方式进行净化。在日常检测过程中,针对每种净化方式进行系统比较,费时费力。本实验室目前已建立兽药残留高通量检测方法,194 种化合物在 5~200 ng/mL 范围内线性关系良好($r^2>0.99$)^[13]。基于此,本研究比较了 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 4 种净化方式,采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS),对猪肉样品中 16 大类 194 种常见兽药残留进行分析,以加标回收率和基质效应为考察指标,评价比较 4 种净化方式的效果,为实验室的样品前处理选择提供相关参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

固相萃取柱: Oasis PRiME HLB (6 cc/200 mg, 美国沃特世公司); Captive EMR Lipid (6 mL/600 mg, 美国安捷伦公司); 分散固相萃取包: ProElut QuEChERS (150 mg PLS-A/50 mg PSA, 北京迪马有限公司); Cleanert LipoNo 萃取管(15 mL, 天津博纳艾杰尔科技公司)。

甲醇(质谱级,德国默克公司); 甲酸(色谱纯,美国 TEDIA 天地公司); 乙腈(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 标准物质混合标准溶液(100 µg/mL, 天津阿尔塔科技有限公司); 实验中水为实验室自制一级水。

本研究采用的猪肉购自当地农贸市场。

1.2 仪器与设备

UPLC I-Class 超高效液相色谱仪、Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 µm)(美国 Waters 公司); QTRAP® 6500+线性离子阱-三重四极杆质谱仪(配电喷雾离子源,美国 AB SCIEX 公司); Allegra X-30R 高速冷冻离心机(美国贝克曼公司); N-EVAP 氮吹仪(美国 Organomation 公司); RiOs™ 超纯水仪(美国密理博公司); IKA-3 涡旋混合仪(德国 IKA 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确移取 100 µg/mL 混合标准溶液 200 µL, 用甲醇定容至 10 mL, 配制成 2000 ng/mL 混合标准储备液, -18 °C 保存。移取适量混合标准储备液, 用水稀释成质量浓度为 2、5、10、20、50、100 ng/mL 的系列标准工作溶液。

1.3.2 样品前处理

准确称取均质后的试样 2 g(精确至 0.01 g)至 50 mL 带盖塑料离心管中, 加混合标准溶液 20 ng, 加入 10 mL 0.1% 甲酸-90%乙腈混合溶液, 涡旋混匀 1 min, 超声 2 min。在 8000 r/min 的转速下离心 3 min 后, 取上清液 3 mL 分别经 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 4 种不同的方式净化, 取净化液 2 mL 氮吹至约 0.5 mL, 1 mL 90%水-乙腈溶液复溶, 10000 r/min 离心 5 min 后取清液, 供 UPLC-MS/MS 分析。每种净化方式做 3 个重复, 同时做空白实验。

1.3.3 色谱和质谱条件

色谱条件: 色谱柱: Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 µm); 柱温 45 °C, 进样体积 2 µL, 流速 0.30 mL/min。梯度洗脱条件见表 1。

质谱条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 分段多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式

采集, 扫描窗口: 60 s。雾化电压: +5500 V(正), -4500 V(负); 气帘气: 30 psi; 离子源温度: 600 °C; 雾化气: 50 psi; 辅助加热气: 60 psi。194 种兽药残留 MRM 模式下总离子流图见图 1, 质谱参数见表 2。

1.3.4 基质效应评价

本研究采用提取后添加法, 通过纯溶剂标准曲线斜率(m_{solvent})及空白基质匹配标准曲线斜率(m_{matrix})计算基质效应, 计算方式见公式(1):

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	流速/(mL/min)	A(0.1%甲酸水溶液)/%	B(乙腈)/%
0	0.3	98	2
0.5	0.3	98	2
13	0.3	1	99
15	0.3	1	99
15.1	0.3	98	2
17	0.3	98	2

表 2 194 种兽药化合物信息和质谱参数及猪肉样品中 4 种净化方式的平均回收率及基质效应
Table 2 Compounds information and mass spectrum parameters of 194 kinds of veterinary drugs, mean recoveries and matrix effects of 4 kinds of purification methods in pork

序号	化合物	保留时间 /min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能量 /V	平均回收率/% (<i>n</i> =3)				基质效应/%			
							ProElut	PRiME	EMR	LipNo	ProElut	PRiME	EMR	LipNo
磺胺类(22)														
1	磺胺嘧啶	3.47	251.1	156.0/92.0	40	22/38	79.1	75.1	83.1	71.4	-20.3	-23.9	-27.9	-27.2
2	磺胺噻唑	3.77	256.0	156/108.0	40	22/32	55.8	39.0	74.5	57.1	-40.6	-65.4	-32.0	-41.5
3	磺胺吡啶	3.96	250.1	156.1/108.0	40	23/32	81.9	73.8	88.3	86.1	-16.0	-31.3	-18.1	-11.4
4	磺胺甲基嘧啶	4.17	265.2	156.1/172.1	82	25/25	81.9	77.9	92.9	84.3	-13.0	-31.4	-9.0	-9.9
5	磺胺二甲嘧啶	4.8	279.1	186.1/156.0	60	23/27	81.0	83.5	93.8	99.2	-10.8	-19.0	-5.0	-5.6
6	磺胺-6-甲氧嘧啶	4.95	281.1	156.0/126.1	75	25/30	88.0	60.8	95.4	95.0	-10.5	-47.5	-10.8	-7.6
7	磺胺甲噻二唑	4.71	271.0	156.1/108.0	65	21/36	80.5	82.8	99.5	92.9	-14.1	-18.3	-7.3	-0.9
8	磺胺-5-甲氧嘧啶	4.62	281.1	156.1/108.1	70	25/35	86.5	57.6	110.7	110.1	-10.6	-52.3	-3.1	8.2
9	磺胺氯哒嗪	5.20	285.1	156.0/108.1	65	22/37	71.8	47.7	92.4	89.7	-21.9	-57.5	-13.7	-8.2
10	磺胺甲氧哒嗪	5.41	281.0	156.0/126.1	75	25/27	74.6	70.1	99.4	92.5	-21.0	-30.9	-4.9	0.6
11	磺胺邻二甲氧嘧啶	5.62	311.1	156.1/108.2	70	30/70	77.7	67.4	96.5	92.2	-19.7	-41.6	-9.1	-9.6
12	磺胺间二甲氧嘧啶	6.63	311.1	156.1/218.0	70	28/28	72.3	72.9	103.5	95.9	-22.5	-22.8	-7.4	-7.2
13	磺胺甲基异恶唑	5.34	254.1	156.0/108.0	65	22/36	87.7	81.0	107.1	98.3	-8.5	-29.5	-8.3	-9.2
14	磺胺二甲异恶唑	5.64	268.1	156.1/113.2	82	22/25	70.1	62.3	102.1	96.6	-25.2	-44.0	-6.8	-8.4
15	苯酰磺胺	5.95	277.1	156.0/108.0	60	19/32	82.5	67.9	105.3	96.5	-5.4	-30.5	1.8	0.8
16	磺胺噻恶唑	6.88	301.1	156.0/108.0	80	24/36	59.6	63.6	91.4	86.6	-41.5	-37.7	-21.9	-9.7
17	磺胺醋酐	2.97	215.0	156.0/108.0	52	17/29	61.2	65.1	83.9	62.2	-34.5	-37.3	-19.5	-31.7
18	三甲氧苄胺嘧啶	4.56	291.1	230.1/123.1	95	33/34	93.0	90.2	82.9	88.4	-6.8	-9.0	-7.1	-8.8
19	磺胺苯吡唑	6.27	315.0	156.0/108.0	90	27/40	67.7	73.1	109.0	92.2	-22.8	-31.4	-9.7	-11.1
20	磺胺脒	1.56	215.0	156.0/92.0	80	27/35	18.7	23.6	41.0	21.8	-78.0	-72.0	-52.5	-76.4
21	磺胺二甲异噻唑	3.53	279.1	124.1/186.1	80	30/23	82.9	79.0	80.3	79.3	-13.7	-21.6	-15.4	-16.3
22	磺胺恶唑	4.63	268.1	156.1/113.0	82	22/25	85.0	68.6	103.0	84.4	-14.6	-40.7	-11.0	-1.1
喹诺酮类(19)														
23	恩诺沙星	5.07	360.0	316.1/245.1	80	25/35	94.3	69.2	56.8	94	11.3	-29.3	3.1	12.2
24	诺氟沙星	4.85	320.1	276.1/233.1	80	26/36	88.9	91.2	63.1	96.3	21.9	9.3	0.6	9.9
25	培氟沙星	4.71	334.1	316.1/290.2	80	27/25	63.6	66.9	38.2	98.1	-11.7	-25.3	-15.0	10.9
26	环丙沙星	4.98	332.1	288.1/245.1	80	25/33	93.6	88.7	67.7	99.6	14.4	7.5	6.3	16.2
27	氧氟沙星	4.71	362.2	318.1/261.1	80	26/38	91.6	78.7	56.0	99.0	11.9	-9.7	5.2	16.9
28	沙拉沙星	5.48	386.0	342.3/299.0	80	25/38	90.8	89.1	82.1	94.8	7.0	0.3	4.0	11.1
29	依诺沙星	4.74	321.0	303.0/234.0	80	24/30	74.8	78.9	48.5	100.7	-8.0	-15.7	-8.0	16.0
30	洛美沙星	5.21	352.0	265.0/308.1	80	33/28	84.7	75.9	71.2	90.3	5.7	-18.8	-1.4	4.7
31	萘啶酸	7.90	233.0	215.0/187.0	68	18/34	72.9	86.0	89.4	87.0	-14.5	-5.9	-6.8	-1.8
32	恶喹酸	6.81	262.0	244.1/216.1	70	26/40	85.3	91.2	91.6	95.3	-6.7	-1.0	-4.3	3.5
33	氟甲喹	8.20	262.1	244.1/202.1	77	23/42	57.4	87.3	93.9	89.6	-30.1	-7.4	-3.9	1.6
34	达氟沙星	5.09	358.1	340.1/314.1	77	30/24	88.3	74.5	42.5	109.1	14.2	-15.5	-5.4	16.3
35	双氟沙星	5.32	400.1	356.1/299.1	80	28/41	89.0	83.6	78.5	91.3	5.7	-4.6	1.9	0.5
36	奥比沙星	5.29	396.0	352.0/295.2	80	24/32	92.7	80.4	88.8	96.2	6.5	-6.3	2.7	-1.5
37	司帕沙星	5.96	393.0	349.2/292.0	80	30/38	84.9	75.3	82.7	89.6	-4.1	-26.0	-4.9	-2.5
38	氟罗沙星	4.50	370.0	326.1/269.2	80	27/35	90.7	94.3	61.2	98.2	13.0	2.2	5.2	8.4
39	马波沙星	4.42	363.1	320.1/72.0	80	23/46	96.1	93.7	57.6	97.7	13.7	4.2	3.2	10.9

表 2(续)

序号	化合物	保留时间 /min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能量 /V	平均回收率/% (<i>n</i> =3)				基质效应/%			
							ProElut	PRiME	EMR	LipNo	ProElut	PRiME	EMR	LipNo
40	西诺沙星	6.40	263.1	217.1/245.0	60	30/22	75.0	83.6	90.1	90.3	-11.0	-13.9	-6.3	6.4
41	吡哌酸	4.24	304.2	286.2/217.1	80	25/31	81.1	79.0	39.3	90.4	6.5	-5.5	-10.9	13.4
<i>β</i> -受体激动剂类(14)														
42	莱克多巴胺	5.04	302.2	164.1/107.1	80	23/51	89.4	70.2	86.4	95.0	2.4	-30.6	-4.0	10.4
43	沙丁胺醇	3.30	240.2	148.1/222.1	70	24/15	103.7	111.1	68.9	118.6	24.7	25.8	6.1	38.9
44	特布他林	3.17	226.2	152.0/107.1	70	21/36	110.5	123.4	79.6	123.8	30.9	27.6	6.8	44.1
45	西马特罗	3.03	220.0	202.0/160.0	65	13/22	84.1	82.6	72.4	82.8	3.1	2.4	5.1	2.2
46	克伦特罗	5.55	277.0	203.0/168.1	65	21/38	77.8	73.4	79.8	86.5	-11.7	-18.4	-5.3	-3.2
47	妥布特罗	6.05	228.0	154.0/118.0	65	21/35	80.2	73.1	75.2	85.4	-11.3	-20.2	-11.1	-14.2
48	喷布特罗	9.22	292.2	236.2/201.0	73	23/28	70.6	81.6	67.7	86.2	-18.7	-6.7	-6.6	-2.9
49	普萘洛尔	7.37	260.1	116.1/183.1	80	23/24	73.8	82.9	83.5	92.5	-21.9	-17.6	-10.5	-5.5
50	氯丙那林	5.37	214.0	154.1/118.0	73	23/34	82.4	77.3	73.8	84.2	-4.5	-8.3	-6.6	-2.0
51	溴布特罗	6.09	367.0	293.0/349.2	90	24/17	72.9	70.3	81.1	90.2	-14.2	-32.0	-6.8	0.1
52	西布特罗	3.69	234.0	160.1/143.0	70	21/34	90.1	87.7	75.9	94.6	3.6	-6.6	-7.3	2.5
53	马布特罗	6.20	311.1	237.2/202.1	110	24/40	81.4	80.6	82.3	86.0	-6.6	-14.5	-5.0	-2.9
54	马贲特罗	6.89	325.0	237.0/217.0	50	24/34	79.9	81.3	84.4	90.2	-11.2	-12.2	-10.1	-3.8
55	苯氧苯酚胺	6.25	302.2	107.0/284.2	80	35/21	92.4	96.0	97.0	98.2	-6.3	-13.3	-6.7	-1.5
大环内脂类(10)														
56	红霉素	8.60	734.5	576.4/158.0	30	26/36	94.3	69.2	56.8	94	-28.6	-16.5	-20.2	21.2
57	林可霉素	4.53	407.3	126.1/359.2	30	32/27	88.9	91.2	63.1	96.3	-10.0	-11.5	-7.4	5.3
58	克林霉素	7.55	425.3	126.1/377.1	50	32/27	63.6	66.9	38.2	98.1	-31.2	-18.0	-2.1	-0.7
59	罗红霉素	9.46	837.6	679.5/158.1	50	30/37	93.6	88.7	67.7	99.6	-32.9	-21.6	-35.7	-38.1
60	交沙霉素	9.20	828.6	174.1/109.0	70	38/70	91.6	78.7	56.0	99.0	-8.0	-8.7	-8.0	-5.6
61	泰乐菌素	8.56	916.6	174.0/772.5	150	47/43	90.8	89.1	82.1	94.8	-26.2	-2.0	-1.7	-3.0
62	吉他霉素	8.55	772.5	109.0/215.1	140	84/39	74.8	78.9	48.5	100.7	-28.3	-11.9	-6.3	-14.4
63	替米考星	7.40	869.5	696.5/174.2	100	52/52	84.7	75.9	71.2	90.3	20.8	25.9	-6.1	29.2
64	螺旋霉素	6.52	843.3	174.2/142.2	60	50/48	72.9	86.0	89.4	87.0	29.0	42.3	1.7	28.7
65	竹桃霉素	7.90	688.4	158.2/544.3	30	70/42	85.3	91.2	91.6	95.3	-54.7	-28.4	-22.6	-1.1
四环素类(7)														
66	四环素	4.97	445.1	410.2/427.1	80	24/19	90.1	82.7	21.0	98.9	9.6	5.3	7.9	31.9
67	土霉素	5.10	461.2	426.2/443.2	80	25/17	80.3	74.8	15.6	83.3	17.4	-6.0	3.3	18.4
68	金霉素	6.27	479.1	462.0/444.0	80	24/28	84.2	53.0	9.4	82.7	-8.4	-20.6	-8.6	-1.0
69	强力霉素	7.23	445.0	428.1/154.1	80	24/35	76.1	84.3	24.8	91.0	-23.1	-1.3	-3.5	-3.8
70	甲烯土霉素	6.89	443.1	381/127.1	80	33/99	63.2	63.0	12.6	67.0	1.4	0.0	-0.9	10.0
71	4-差向四环素	4.47	445.1	410.1/427.1	76	27/19	64.2	63.9	17.8	70.5	-4.7	-2.5	-14.7	4.8
72	去甲金霉素	5.58	465.1	448.0/430.0	76	19/25	68.3	60.4	16.0	65.4	2.9	-13.7	-12.6	0.0
硝基咪唑类(10)														
73	羟基甲硝唑	2.75	188.2	123.0/126.0	50	19/23	91.1	95.1	84.9	97.0	-5.7	-7.9	-12.5	-2.8
74	甲硝唑	3.29	172.2	127.9/82.0	50	20/37	64.3	78.0	82.0	83.0	-30.4	-22.6	-15.8	-14.6
75	地美硝唑	3.54	142.2	96.0/81.0	65	21/36	91.1	85.6	80.8	65.7	-9.1	-16.9	-18.4	-29.5
76	洛硝哒唑	3.47	201.2	140.0/55.0	50	15/27	63.0	61.4	70.3	61.9	-32.6	-40.3	-28.7	-33.5
77	氯甲硝咪唑	4.16	162.2	115.9/144.9	75	23/23	85.2	83.3	100.5	97.7	-6.4	-20.1	-7.6	-0.9
78	苯硝咪唑	4.29	164.2	118.0/90.9	80	27/46	75.1	77.2	89.9	71.5	-14.9	-19.7	-13.4	-23.8
79	异丙硝唑	6.04	170.3	124.0/109.0	50	25/33	78.6	71.4	98.6	86.3	-18.1	-31.6	-7.5	-10.9
80	羟甲基甲硝咪唑	3.11	158.2	140.1/55	70	17.3/24.7	98.9	134.6	81.0	85.6	-4.1	23.3	-13.0	-11.2
81	4-硝基咪唑	1.90	114.0	67.8/83.8	71	26/19	42.9	56.0	67.2	62.4	-47.9	-44.3	-27.4	-32.9
82	2-甲硝咪唑	2.66	128.1	81.9/41.9	77	26/45	84.0	93.6	104.5	97.2	2.1	-3.9	2.1	8.3
苯并咪唑类(18)														
83	阿苯达唑	8.74	266.3	234.0/190.9	90	28/44	50.4	77.1	96.2	89.9	-39.3	-18.6	-3.9	-1.1
84	阿苯达唑亚砷	6.31	282.1	240.0/208.0	70	19/34	97.7	89.5	88.8	112.8	-7.1	-19.0	-12.9	2.4
85	氟苯达唑	8.88	314.1	282.0/123.0	90	32/48	58.0	79.8	100.2	99.5	-35.8	-19.9	-5.1	1.9
86	芬苯达唑	9.86	300.2	268/158.9	100	30/46	79.0	59.4	102.8	84.5	-8.9	-15.4	-6.1	-4.8

表 2(续)

序号	化合物	保留时间 /min	母离子 (m/z)	子离子(m/z)	去簇电 压/V	碰撞能量 /V	平均回收率/% (n=3)				基质效应/%			
							ProElut	PRiME	EMR	LipNo	ProElut	PRiME	EMR	LipNo
87	奥芬达唑	7.42	316.2	159/191.1	70	43/27	79.0	91.5	111.1	105.6	-18.3	-12.0	-7.7	6.2
88	甲苯咪唑	8.52	296.3	264.1/77.1	100	32/76	56.7	81.1	100.1	97.6	-37.0	-17.2	-13.6	-1.5
89	噻苯哒唑	4.75	202.2	175.0/130.9	60	37/48	93.1	81.7	100	96.4	-2.9	-11.9	-8.6	-8.2
90	替硝唑	4.14	248.2	121.2/93.0	80	21/25	82.0	72.2	102.7	91.3	-25.8	-37.1	-12.4	-19.1
91	奥硝唑	5.19	220.0	128.0/82.0	70	23/43	90.2	70.1	103.4	98.5	-17.1	-38.6	-6.6	-10.3
92	芬苯哒唑砜	7.71	332.0	300.0/159.0	80	20/32	66.8	82.6	102.1	104.6	-25.1	-13.8	-7.1	3.8
93	阿苯达唑-2-氨基砜	4.20	240.0	133.0/198.0	80	30/22	79.7	75.7	76.7	87.7	-6.7	-15.0	-9.9	-2.2
94	阿苯达唑砜	6.71	298.0	159.0/266.0	80	30/22	74.5	82.5	92.1	105.1	-24.1	-17.6	-14.4	-0.1
95	2-氨基-5-苯甲酰苯并咪唑	6.33	238.0	105.0/77.0	80	35/40	62.5	63.9	80.6	82.1	-18.1	-27.1	-2.0	-1.0
96	5-羟基甲苯咪唑	6.69	298.1	266.0/160.0	80	25/38	71.8	81.4	93.2	88.4	-23.6	-22.5	-8.1	-1.5
97	噻苯咪唑-5-羟基	4.25	218.0	191.0/147.0	60	25/30	78.2	71.1	81.9	89.4	-7.4	-13.2	-11.1	0.6
98	2-氨基氟苯达唑	6.81	256.0	123.0/95.0	80	28/38	64.6	69.2	84.9	85.9	-24.6	-21.0	-2.3	-2.9
99	坎苯达唑	7.19	303.1	217.0/261.0	70	33/19	69.4	75.8	92.9	88.7	-23.6	-15.8	-9.1	-4.6
100	丙氧苯咪唑	7.27	250.0	218.0/176.0	70	20/28	71.7	74.6	92.2	86.9	-16.6	-18.1	-11.1	-2.6
糖皮质激素类(37)														
101	泼尼松	8.24	359.2	147.2/341.2	80	35/15	59.1	84.8	96.8	95.3	-35.9	-21.4	-11.1	-4.8
102	可的松	8.35	361.2	163.2/121.1	80	34/47	68.4	90.9	109.8	97.8	-32.7	-15.2	-2.8	-7.1
103	氢化可的松	8.68	363.2	121.1/105.0	80	31/68	70.0	97.5	110.5	112.8	-32.8	-18.9	5.0	4.4
104	甲基泼尼松龙	9.43	375.2	339.2/161.2	66	14/28	74.2	109.1	86.2	70.3	-50.2	-33.2	-31.6	-15.4
105	氟米龙	9.62	377.2	279.3/321.3	80	22/18	99.2	122.3	61.9	66.2	-26.9	-19.3	-27.5	-18.4
106	倍他米松	9.29	393.2	355.2/337.3	80	15/19	0	53.4	120.8	60.4	-47.3	-90.2	-77.3	-86.3
107	曲安西龙	7.49	395.2	357.2/225.1	80	17/26	85.8	148.4	164.2	124.8	-43.9	-36.9	-21.8	-5.7
108	醋酸泼尼松	9.35	401.2	295.1/147.2	80	23/40	80.3	71.0	110.3	103.4	-6.9	-43.2	-11.5	-3.2
109	醋酸可的松	9.41	403.2	163.2/343.2	80	34/25	80.0	81.0	100.4	98.7	-9.4	-24.5	-5.5	-5.4
110	醋酸氢化可的松	9.44	405.3	309.2/327.2	80	25/24	86.5	79.8	102.0	101.6	-6.6	-20.8	-6.9	-6.7
111	倍氯米松	9.41	409.2	391.2/279.3	80	15/29	94.9	20.4	38.2	47.3	58.1	46.4	-35.5	34.0
112	氟米松	9.11	411.3	253.2/121.0	80	22/50	109.9	117.9	98.0	108.9	-5.2	-34.0	-18.3	23.3
113	甲基泼尼松龙醋酸酯	10.06	417.2	253.2/161.1	80	28/28	94.8	74.0	121.4	38.1	-15.3	-47.4	23.8	-35.7
114	氟米龙醋酸酯	10.09	419.3	279.2/321.2	80	20/19	120.8	85.1	118.2	116.5	21.3	-47.1	-45.2	25.4
115	醋酸氟氢可的松	9.35	423.2	239.2/343.2	80	34/31	68.0	75.9	97.8	96.8	-20.8	-24.2	-11.7	-9.1
116	丁酸氢化可的松	10.38	433.3	327.2/309.2	80	22/23	85.9	73.0	99.5	69.5	4.5	-26.9	-3.9	-16.3
117	曲安奈德	9.41	435.2	415.2/397.2	80	15/15	58.0	117.8	107.0	79.5	-16.6	1.8	50.6	-12.6
118	氟氢缩松	9.70	437.3	361.2/285.2	80	24/29	80.2	90.4	104.6	89.4	-12.3	-24.7	1.2	-8.1
119	地夫可特	9.90	442.3	124.1/142.1	80	65/45	84.2	71.9	86.6	89.0	-15.2	-32.3	-11.6	-8.9
120	氢化可的松-17-戊酸酯	10.89	447.3	345.3/121.1	80	19/39	88.1	54.0	82.0	77.1	-17.3	-23.5	-12.1	-25.1
121	哈西奈德	10.97	455.3	359.2/121.1	80	27/61	87.5	68.4	93.0	91.7	-12.9	-29.9	-13.7	-8.8
122	丙酸氯倍他索	10.92	467.2	355.2/373.2	80	18/13	143.0	41.8	87.8	51.2	-57.6	2.6	-48.5	-65.9
123	醋酸曲安奈德	10.47	477.2	339.2/321.2	80	22/23	121.2	57.0	94.8	48.1	45.5	-56.7	58.7	-6.5
124	丁酸氯倍他松	11.32	479.3	343.2/279.2	80	19/22	69.0	64.0	87.8	82.2	-9.2	-26.3	-13.0	-19.8
125	泼尼卡酯	11.01	489.2	381.3/115.1	80	16/25	58.7	96.0	115.2	62.5	-23.4	-35.9	-40.2	-8.2
126	安西奈德	11.28	503.2	339.2/321.2	80	24/25	59.0	70.2	71.2	47.9	-47.7	-58.7	-33.8	-13.0
127	氟替卡松丙酸酯	10.96	501.2	293.2/313.2	80	22/20	142.2	31.5	151.0	102.7	62.3	-36.6	58.7	66.8
128	曲安西龙双醋酸酯	8.84	479.2	441.2/147.0	81	14/48	27.2	82.8	155.1	85.5	-66.9	-27.1	-31.0	-10.0
129	泼尼松龙	8.67	361.2	343.2/147.2	80	14/34	43.9	62.7	110.0	135.9	-65.6	-27.2	-29.9	-29.1
130	地塞米松	9.27	393.21	373.4/355.2	80	15/15	44.6	92.7	78.7	54.9	-48.7	-40.2	-48.7	-57.6
131	泼尼松龙醋酸酯	9.43	403.2	147.1/385.2	80	35/14	93.5	66.6	103.7	115.8	-10.9	-18.9	23.4	5.6
132	醋酸地塞米松	9.89	435.3	415.2/337.0	80	15/17	73.3	107.8	108.7	46.9	-51.7	-11.8	-11.8	58.3
133	倍他米松戊酸酯	11.22	477.2	355.3/279.3	80	18/24	81.9	53.8	91.0	43.4	-54.4	-20.2	-46.5	39.8
134	醋酸倍他米松	9.98	435.31	397.2/415.2	80	15/15	69.3	119.3	70.2	34.8	-53.7	-47.1	-0.3	-41.3
135	莫美他松	11.61	521.11	503.2/263.2	80	16/40	93.0	46.1	76.1	91.2	18.5	-42.7	21.9	-32.3

表 2(续)

序号	化合物	保留时间 /min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能量 /V	平均回收率/% (<i>n</i> =3)				基质效应/%			
							ProElut	PRiME	EMR	LipNo	ProElut	PRiME	EMR	LipNo
136	醋酸氟轻松	10.46	495.2	337.2/121.1	80	24/60	44.4	23.0	120.7	35.4	-5.9	-36.4	-34.5	-17.1
137	阿氯米松双丙酸酯 非甾体消炎类(16)	10.82	521.2	301.2/279.2	80	22/22	39.3	23.4	93.4	50.3	-11.6	-73.8	-58.8	-36.5
138	氟灭酸	11.79	282.2	264.0/167.0	40	24/55	104.1	56.9	85.4	105.0	-12.1	-15.4	-2.6	3.7
139	茚酮苯丙酸	9.01	282.2	236.0/218.0	85	28/43	64.6	71.4	86.9	83.1	6.1	-5.9	-8.9	8.7
140	双水杨酸酯	9.57	259.2	120.0/119.0	50	22/22	75.6	66.3	82.5	83.6	-23.8	-12.8	-10.0	-7.0
141	卡洛芬	11.00	274.2	193.2/228.1	88	38/19	69.2	14.5	92.0	79.7	-10.7	-18.2	-8.8	-7.1
142	酮基布洛芬	9.59	255.2	209.1/76.9	66	20/60	80.8	69.9	95.6	88.4	-3.8	-11.8	-7.6	0.2
143	托灭酸	12.19	262.2	244.1/209.0	40	21/38	56.2	0	73.8	63.3	-2.0	-11.0	-3.0	-1.5
144	美洛昔康	9.41	352.1	115.0/141.0	50	24/26	75.1	74.2	93.7	87.7	-10.8	-17.0	-14.2	-10.5
145	氟尼辛	10.48	297.1	279.1/264.0	45	32/45	76.4	44.9	80.7	68.1	-10.9	-13.3	-6.2	1.9
146	甲灭酸	11.88	242.1	224.1/209.0	40	21/39	58.0	8.6	76.6	64.7	-4.2	-24.6	-7.1	-16.8
147	双氯芬酸	11.08	296.2	215.0/250.1	32	26/19	69.4	40.0	83.9	76.4	-11.3	-17.6	-12.9	-14.9
148	吡罗昔康	8.24	332.2	95.1/164.0	50	23/24	57.3	73.8	90.9	86.7	-7.4	-16.2	-9.0	-4.7
149	萘丁美酮	10.16	229.1	171.1/128.2	40	23/53	66.9	50.0	83.5	64.4	-33.1	-13.0	-6.7	-0.2
150	舒林酸	9.55	357.2	233.0/340.0	80	65/28	81.0	80.0	90.3	87.4	-16.2	-28.5	-14.5	-13.6
151	托麦汀	9.56	258.2	119.1/91.0	60	24/51	77	68.7	81.7	80.8	-4.2	-5.5	-6.2	-4.4
152	吲哚美辛	11.08	358.2	139/111.0	60	27/70	74.8	51.5	89.5	74.5	-6.8	-13.2	-5.2	-2.0
153	替诺昔康 固醇激素类(7)	6.61	338.2	121.1/78.0	80	26/80	72.0	76.4	87.2	86.0	-7.0	-11.1	-7.5	-4.5
154	醋酸甲孕酮	11.08	387.1	327.3/123.0	96	18/30	74.6	61.0	80.9	77.3	-6.1	-24.1	-10.2	-5.0
155	甲睾酮	10.57	303.2	109.0/97.0	106	30/28	78.0	58.9	78.6	80.7	-11.0	-33.2	-12.4	-13.4
156	丙酸睾酮	12.28	345.2	97.0/109.0	114	23/29	65.8	51.9	50.4	70.5	-6.8	-12.1	-7.7	-7.2
157	醋酸氯地孕酮	11.04	405.2	309.2/345.2	100	21/17	85.7	43.1	81.9	66.5	-0.7	-32.4	-1.4	8.2
158	去氢睾酮	9.67	287.1	121.0/135.0	85	25/19	74.9	73.6	76.5	88.6	-16.4	-31.8	-11.1	-13.8
159	群勃龙	9.50	271.0	253.1/199.0	90	27/33	71.9	70.3	80.8	83.4	-20.1	-26.7	-11.9	-8.9
160	苯丙酸诺龙 安定类(16)	12.85	407.2	105.2/257.2	80	36/25	29.0	13.0	30.1	34.4	-35.6	-16.7	-10.4	-29.9
161	咪唑唑仑	7.45	326.1	291.1/249	110	37/49	69.3	58.5	35.2	81	-18.6	-10.9	-7.7	-6.1
162	阿普唑仑	9.24	309.1	281.1/205	100	39/55	61.6	61.9	50.7	84.9	-22.6	-11.5	-6.8	-2.1
163	氯硝西洋	8.68	316.1	270.0/214.0	90	35/52	23.8	51	85.7	74	-61.8	-42.2	-5.5	-12.1
164	地西洋	10.00	285.1	193.0/154.0	80	40/36	69.6	61.7	74.3	70.7	-13.1	-25.5	-12.2	-11.0
165	劳拉西洋	9.25	321.1	275.1/229.1	80	30/41	66.9	74.5	90.3	82.7	-18.4	-17.3	-9.8	-2.8
166	三唑仑	9.2	343.1	308.1/239.0	100	36/55	59.1	71.6	49.5	90.1	-24.2	-15.0	-7.1	1.7
167	奥沙西洋	9.27	287.1	241.0/269.0	90	32/21	62.6	67.3	83.7	80.5	-18.3	-20.6	-13.1	-10.8
168	硝西洋	9.00	282.2	236.1/180	80	34/50	62.5	73.8	90.5	85.2	-25.7	-12.6	-13.2	-4.6
169	赛拉嗪	5.46	221.1	90.0/164.1	68	27/35	82.8	82.7	68.6	86.4	-4.7	-7.0	-7.9	-2.2
170	阿扎哌醇	4.73	330.0	192.0/121.0	78	20/35	88.4	88.4	84.4	91.3	-4.6	-6.5	-3.9	-8.4
171	阿扎哌隆	5.26	328.0	165.0/121.0	85	24/36	87.2	80.7	80.7	81.9	-4.1	-13.0	-8.6	-2.1
172	卡拉洛尔	6.30	299.1	116.1/222.0	40	24/60	83.0	77.6	82.7	90.6	-2.5	-7.6	-3.3	6.8
173	氯丙嗪	9.17	319.0	58.0/86.1	66	67/23	61.0	76.2	40.1	68.4	-23.3	-12.6	-8.9	-10.6
174	氟哌啶醇	7.81	376.1	123.0/165.0	40	26/21	72.5	79.0	82.2	85.6	-17.8	-10.4	-8.1	-10.8
175	丙酰二甲氨基丙吩 噻嗪	8.93	341.0	268.0/86.0	77	20/36	64.5	75.1	45.6	72.4	-28.4	-14.8	-14.2	-14.9
176	乙酰丙嗪 抗病毒类(3)	8.24	327.0	254.0/86.0	80	20/36	66.4	73.8	48.7	81.5	-21.4	-12.9	-8.1	-11.8
177	金刚烷胺	5.31	152.1	135.0/93.0	70	25/38	72.1	66.2	55.3	79.7	-18.8	-16.5	-7.2	-11.6
178	美金刚	7.64	180.2	163.1/107.1	55	20/20	58.6	68.4	57.5	62.2	-27.6	-10.4	-11.3	-24.9
179	金刚乙胺 唑乙醇及代谢物(2)	7.37	180.2	163.1/81.0	60	20/20	77.6	80.2	67.9	91.3	-21.0	-18.7	-8.1	-6.1
180	唑乙醇	3.34	264.2	143.0/212.0	80	43/30	48.3	64.5	55.5	61.1	-33.1	-25.4	-24.3	-16.7

表 2(续)

序号	化合物	保留时间 /min	母离子 (m/z)	子离子(m/z)	去簇电 压/V	碰撞能量 /V	平均回收率/% (n=3)				基质效应/%			
							ProElut	PRiME	EMR	LipNo	ProElut	PRiME	EMR	LipNo
181	3-甲基喹噁啉-2-羧酸	5.99	189.0	143.1/145.2	55	23/23	67.1	62.0	44.6	72.2	-4.2	-21.5	-3.3	1.1
氯霉素类(3)														
182	氯霉素	6.57	321.0	152.1/256.9	-75	-24/-17	84.5	79.0	101.7	93.2	-4.9	-2.9	-8.2	-1.1
183	甲砒霉素	4.51	353.9	289.9/184.9	-75	-18/-28	107.2	104.3	107.7	112.8	47.6	58.0	25.4	40.7
184	氟苯尼考	5.43	356.0	335.7/184.9	-80	-13/-52	82.7	84.0	100.3	87.9	12.7	1.1	-8.6	-4.8
玉米赤霉醇类(6)														
185	α-玉米赤霉烯醇	10.05	319.1	275.1/301.1	-30	-29/-30	90.6	66.8	112.5	95.6	-1.8	-11.4	-0.3	7.3
186	β-玉米赤霉烯醇	9.44	319.1	275.1/301.1	-30	-29/-30	85.6	69.4	75.2	86.7	-6.7	1.8	-10.2	-11.3
187	玉米赤霉醇	9.87	321.1	277.1/303.1	-40	-29/-29	87.1	70.2	95.0	91.4	-4.5	-11.9	-7.9	-5.7
188	β-玉米赤霉醇	9.19	321.1	277.1/303.1	-40	-29/-29	80.6	72.5	96.2	91.5	-12.4	-13.0	-2.0	-8.3
189	玉米赤霉酮	10.15	319.1	205.0/301.0	-30	-32/-30	81.2	59.3	89.8	90.2	-7.4	-2.0	-12.7	-8.9
190	玉米赤霉烯酮	10.23	317.1	174.9/273.1	-80	-33/-26	81.6	60.6	102.3	81.0	-3.3	0.0	-7.2	-8.9
氟虫腈及代谢物(4)														
191	氟虫腈	10.96	434.9	329.8/249.8	-50	-22/-38	88.6	99.4	110.2	100.2	6.3	15.9	0.5	10.0
192	氟甲腈	10.78	386.9	350.8/281.8	-40	-19/-44	96.4	94.2	112.3	97.3	-2.9	9.0	21.2	16.2
193	氟虫腈砒	11.25	450.9	281.8/243.8	-40	-35/-62	93.0	95.7	104.4	95.6	2.1	9.9	-0.9	3.1
194	氟虫腈硫酸酯	11.06	418.9	382.8/261.8	-60	-20/-38	90.4	90.7	104.3	106.1	0.2	10.0	0.5	3.1

注: 1~188、190、191: ESI+, 射入电压: 10 V, 碰撞室射出电压: 14 V; 189、192~204: ESI-, 射入电压: -10 V, 碰撞室射出电压: -11 V。

$$ME(\%)=(m_{\text{matrix}}/m_{\text{solvent}})\times 100 \tag{1}$$

式中, ME>0 表示基质增强; ME<0 表示基质抑制。通常认为 ME 在±20%之间为弱基质效应, 可以忽略不计。当 ME 范围在±20%~±50%为中等基质效应。当 ME<-50%或 ME>50%为强基质效应^[14-15]。

2 结果与分析

2.1 4 种净化方式回收率比较

本研究在猪肉样品中比较了 PRiME、EMR、ProElut、LipoNo 4 种净化方式, 对 194 种兽药残留的回收率进行了比较分析。16 类 194 种兽药的平均回收率、基质效应结果见表 2。4 种不同净化方式处理后, 194 种兽药平均回收率在各区间的分布情况如图 2 所示。经 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 净化后, 分别有 45.9%、32.0%、58.8%、69.6%的兽药回收率分布在 80%至 110%之间; 84.5%、82.0%、80.0%、91.2%的兽药回收率分布在 60%至 120%之间; 回收率低于 60%或高于 120%的兽药数量分别是 30、36、38、17。

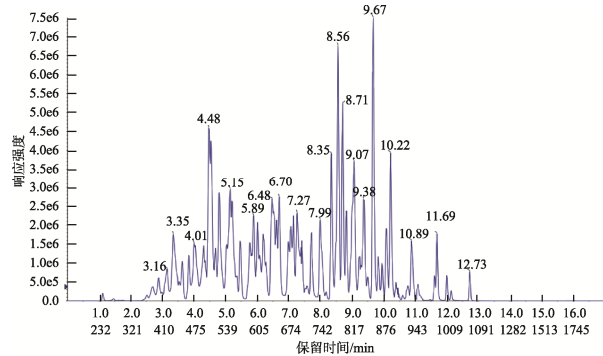


图 1 194 种兽药 MRM 模式下总离子流图(20 ng/mL)

Fig.1 Total ion chromatogram of the 194 kinds of veterinary drugs at MRM mode (20 ng/mL)

经 ProElut 净化, 平均回收率低于 60%或超过 120%的 30 种兽药中, 14 种为糖皮质激素类兽药, 分别为泼尼松、倍他米松、氟米龙醋酸酯、曲安奈德、丙酸氯倍他索、醋酸曲安奈德、泼尼卡酯、安西奈德、氟替卡松丙酸酯、曲安西龙双醋酸酯、泼尼松龙、地塞米松、醋酸氟轻松、阿氯米松双丙酸酯。其余 16 种为磺胺噻唑、磺胺喹恶啉、磺胺脒、氟甲喹、4-硝基咪唑、阿苯达唑、氟苯达唑、甲苯咪唑、托灭酸、甲灭酸、吡罗昔康、苯丙酸诺龙、氯硝西泮、三唑仑、美金刚和唑乙醇。

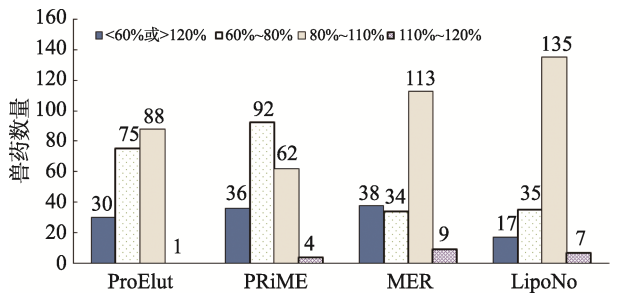


图 2 4 种净化方式处理后 194 种兽药的回收率在各区间的分布
Fig.2 Distribution of recovery rates of 194 kinds of veterinary drugs treated with 4 different purification methods

经 PRiME 净化, 平均回收率低于 60%或超过 120%的 36 种兽药中, 12 种为糖皮质激素类兽药, 分别为氟米龙、倍他米松、曲安西龙、倍氯米松、氢化可的松-17-戊酸酯、丙酸氯倍他索、醋酸曲安奈德、氟替卡松丙酸酯、倍他米松戊酸酯、莫美他松、醋酸氟轻松、阿氯米松双丙酸酯。8 种为非甾体消炎类, 分别为氟灭酸、卡洛芬、托灭酸、氟尼辛、甲灭酸、双氯芬酸、萘丁美酮、吲哚美辛。其余为磺胺噻唑、磺胺-5-

甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺脒、特布他林、金霉素、HMMNI、4-硝基咪唑、芬苯达唑、甲睾酮、丙酸睾酮、醋酸氯地孕酮、苯丙酸诺龙、咪哒唑仑、氯硝西泮、玉米赤霉酮。

经 EMR 净化, 平均回收率低于 60%或超过 120%的 38 种兽药中, 9 种为糖皮质激素类兽药, 分别为倍他米松、曲安西龙、倍氯米松、甲基泼尼松龙醋酸酯、氟替卡松丙酸酯、曲安西龙双醋酸酯、醋酸氟轻松、丙酸睾酮、苯丙酸诺龙。7 种为四环素类兽药, 分别为四环素、土霉素、金霉素、强力霉素、甲烯土霉素、4-差向四环素、去甲金霉素。7 种为喹诺酮类兽药, 分别为恩诺沙星、培氟沙星、氧氟沙星、依诺沙星、达氟沙星、马波沙星、吡哌酸。其余为磺胺脒、红霉素、克林霉素、交沙霉素、吉他霉素、咪哒唑仑、阿普唑仑、三唑仑、氯丙嗪、丙酰二甲氨基丙吩噻嗪、乙酰丙嗪、金刚烷胺、美金刚、喹乙醇、MQCA。

与其他 3 种净化方法相比, LipoNo 净化后, 平均回收率在 80%至 110%之间的兽药数量最多, 达 135 种; 低于 60%或超过 120%的兽药数量最少, 只有 17 种, 明显优于其他 3 种净化方式, 但也不能完全满足所有 194 种兽药的回收率要求。对于 LipoNo, 回收率低于 60%或超过 120%的 17 种兽药中 13 种为糖皮质激素类兽药, 分别为曲安西龙、倍氯米松、甲基泼尼松龙醋酸酯、丙酸氯倍他索、醋酸曲安奈德、安西奈德、泼尼松龙、地塞米松、醋酸地塞米松、倍他米松戊酸酯、醋酸倍他米松、醋酸氟轻松、阿氯米松双丙酸酯。其余 4 种为苯丙酸诺龙、磺胺噻唑、磺胺脒以及特布他林。磺胺噻唑和特布他林采用 EMR 进行净化可以得到满意的回收率, 而磺胺脒用 4 种净化方式的回收率均不理想。可能是由于磺胺脒的分子结构中有强碱性胍基, 极性很强, 出峰时间比较早, 受基质干扰比较大^[16]。

4 种净化方式均存在回收率偏离在 60%~120%区间之外的现象, 主要涉及糖皮质激素类、固醇激素类、非甾体消炎类、四环素类及安定类兽药。结合方从容等^[17]、陈晶艳等^[18]、郭添荣等^[11]的研究, 这可能是由于不同种类兽药性质的差别, 每种净化方式都难以同时兼顾, 并不是特别适合这几类兽药的提取和净化, 实验条件还需进一步优化。

2.2 4 种净化方式基质效应比较

使用液质方法分析兽药残留时^[19-20], 样品中的基质成分以及实验前处理过程中引入的杂质都可能增强或抑制待测物在喷雾接口处的离子化效率, 进而影响分析结果的准确度、精密度等, 即出现基质效应(matrix effect, ME)^[21-23]。有效的前处理方法等手段有助于减轻基质效应的干扰。经 4 种不同净化方式处理后的基质效应见表 2。经 ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 净化后, 基质效应区间主要分布在-50%~50%; 对应分别有 62.9%、55.7%、83.0%、83.0%兽药的基质效应分布在-20%至 20%之间, 表现为弱基质效应; 30.9%、39.7%、13.9%、13.9%兽药的基质效应绝对值分布在 20%至 50%之间, 表现为中等基质效应; 6.2%、4.6%、3.1%、3.1%兽药的基质

效应低于-50%或高于 50%, 兽药数量分别是 12、9、6、6。此外, 194 种兽药在不同的净化方式处理后, 主要表现为基质抑制效应, ProElut、PRiME、EMR、LipoNo 净化后基质抑制比例分别为 81.4%、87.6%、85.1%、68.0%。与其他 2 种净化方法相比, EMR 和 LipoNo 净化后, 表现为弱基质效应的兽药数量最多, 达 161 种, 优于其他 2 种净化方式。从基质效应角度分析, EMR 和 LipoNo 除杂效果更好。

2.3 针对不同种类兽药回收率分析

将 194 种兽药分为 16 类, 分析 4 种不同净化方式处理后各类兽药平均回收率在 60%~120%间的占比情况。从表 3 可以看出, 对于氯霉素类、氟虫腈及代谢物 2 类兽药经不同的净化方式处理后, 平均回收率均分布在 60%~120%间。对于大环内酯类, PRiME 可以获得更好的回收率; 对于磺胺类、糖皮质激素类, EMR 可以获得更好的回收率; 对于安定类, LipoNo 回收率更好。在多残留检测侧重于非甾体消炎类、固醇激素类时, 不推荐使用 PRiME 进行净化; 侧重四环素类、抗病毒类、喹诺酮类时, 不推荐使用 EMR 进行净化; 侧重喹乙醇及代谢物时, 不推荐使用 ProElut 进行净化。

综上分析, 我们发现 LipoNo 处理后各类兽药平均回收率在 60%~120%间的占比情况最好, 有 11 类兽药回收率全部分布在 60%~120%间, 结合基质效应干扰小的优势, 推荐使用 LipoNo 进行进行猪肉多残留检测时的净化操作。

表 3 经 4 种净化方式处理后 16 类兽药回收率在 60%~120%间的占比(%)

Table 3 Percentage of recovery rates between 60% and 120% in 16 kinds of veterinary drugs under 4 kinds of different purification methods (%)

兽药名称	ProElut	PRiME	EMR	LipoNo
磺胺类	86.4	81.8	95.5	90.9
喹诺酮类	94.7	100.0	63.2	100.0
β-受体激动剂类	100.0	92.9	100.0	92.9
大环内酯类	70.0	90.0	80.0	80.0
四环素类	100.0	85.7	50.0	100.0
硝基咪唑类	90.0	80.0	100.0	100.0
苯并咪唑类	83.3	94.4	100.0	100.0
糖皮质激素类	62.2	67.6	81.1	62.2
非甾体消炎类	81.3	50.0	100.0	100.0
固醇激素类	85.7	42.9	71.4	85.7
安定类	87.5	87.5	62.5	100.0
抗病毒类	66.7	100.0	33.3	100.0
喹乙醇及代谢物	50.0	100.0	100.0	100.0
氯霉素类	100.0	100.0	100.0	100.0
玉米赤霉醇类	100.0	83.3	100.0	100.0
氟虫腈及代谢物	100.0	100.0	100.0	100.0

3 结论与讨论

4 种净化方式对猪肉中 194 种兽药回收率和基质效应的影响结果显示, 使用 LipoNo 净化时, 可获得最佳的回收率, 且基质效应影响最弱。本研究将兽药研究种类扩大到 16 类 194

种, 净化方式采用常见的商业净化方法包, 为实验室选择提供数据参考, 缩短实验室摸索时间, 但仍有 17 种化合物的回收率不能满足要求, 后续将进一步优化实验条件, 扩充兽药种类。

参考文献

- [1] 张鑫, 刘文竹, 康优, 等. QuEChERS 技术结合高效液相色谱-串联质谱法快速测定动物源性食品中克伦特罗的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1555-1558.
- [2] ZHANG X, LIU WZ, KANG Y, *et al.* Rapid determination of clenbuterol residues in animal-derived foods by QuEChERS technique with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(6): 1555-1558.
- [3] 马东杰, 艾连峰, 霍惠玲, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法快速测定中兽药制剂中 4 种硝基咪唑类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2773-2778.
- [4] MA DJ, AI LF, HUO HL, *et al.* Rapid and simultaneous determination of 4 nitroimidazoles in traditional Chinese veterinary medicine by pass-through solid phase extraction purification and ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(9): 2773-2778.
- [5] 刘新辉, 王倩倩, 张媛, 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.
- [6] LIU XH, WANG QQ, ZHANG Y, *et al.* Determination of multiple veterinary drug residues in animal original food by Oasis PRiME HLB purification method [J]. Qual Saf Agric Prod, 2019, (5): 15-20.
- [7] LUO P, LIU XH, KONG F, *et al.* Simultaneous determination of 169 veterinary drugs in chicken eggs with EMR-Lipid clean-up using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anal Methods, 2019, 11(12): 1657-1662.
- [8] LIMIAN Z, DERICK L, DAVID L, *et al.* Multi-class multi-residue analysis of veterinary drugs in meat using enhanced matrix removal lipid cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2018, 1549: 14-24.
- [9] 刘璇. 气相色谱-质谱法测定鸡蛋中氟虫腈的 3 种前处理方法比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(11): 1303-1305.
- [10] LIU X. Comparison of three pretreatment methods for determination of fipronil residues in chicken eggs by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2018, 28(11): 1303-1305.
- [11] SOUCHI Y, CHIEKO N, MAKI K, *et al.* Simultaneous determination of multi-class veterinary drugs in chicken processed foods and muscle using solid-supported liquid extraction clean-up [J]. J Chromatogr B, 2017, 1057: 15-23.
- [12] LEHOTAY SJ, LIGHTFIELD AR. Extract-and-inject analysis of veterinary drug residues in catfish and ready-to-eat meats by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J AOAS Int, 2020, 103(2): 584-606.
- [13] MANIMEKALAI M, ASHISH R, ANIMESH SS, *et al.* Development, optimization, and validation of methods for quantification of veterinary drug residues in complex food matrices using liquid-chromatography-A review [J]. Food Anal Methods, 2019, 12(8): 1823-1837.
- [14] LIMIAN Z, DERICK L, DAVID L, *et al.* Multi-class multi-residue analysis of veterinary drugs in meat using enhanced matrix removal lipid cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2018, 1549: 14-24.
- [15] 郭添荣, 吴文林, 张崑, 等. 基于 UHPLC-Q/Orbitrap 高分辨质谱多目标快速筛查鱼肉中 30 种蛋白同化激素及糖皮质激素[J/OL]. 食品科学, 2018: 1-11. [2021-10-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210524.0902.026.html>
- [16] GUO TR, WU WL, ZHANG Y, *et al.* Multi-objective rapid screening of 30 protein assimilation hormones and glucocorticoids in fish based on UHPLC-Q/Orbitrap high resolution mass spectrometry [J/OL]. Food Sci, 2018: 1-11. [2021-10-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210524.0902.026.html>
- [17] 郭海霞, 肖桂英, 张喜庆, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 121 种兽药[J]. 色谱, 2015, 33(12): 1242-1250.
- [18] GUO HX, XIAO GY, ZHANG XQ, *et al.* Simultaneous determination of 121 veterinary drugs in pork by QuEChERS and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(12): 1242-1250.
- [19] 李晓芹, 丁洪流, 何新叶, 等. UPLC-MS/MS 同时测定动物源性食品中 114 种兽药残留[J]. 食品工业, 2021, 42(7): 310-316.
- [20] LI XQ, DING HL, HE XY, *et al.* Simultaneous determination of 114 veterinary drug residues in foodstuffs of animal origin by UPLC-MS/MS [J]. Food Ind, 2021, 42(7): 310-316.
- [21] 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): 321-332.
- [22] WANG LQ, HE LM, CENG ZL, *et al.* Progress in matrix effect of veterinary drug residues analysis by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chin Mass Spect Soc, 2011, 32(6): 321-332.
- [23] 高彦. QuEChERS 结合 LC-MS/MS 法在动物源性食品中兽药残留分析中的应用研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- [24] GAO Y. Application of QuEChERS combined with LC-MS/MS method in the analysis of veterinary drug residues in food of animal origin [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017.
- [25] 李清雪, 刘巨波, 刘娟. 水环境中多种磺胺类抗生素残留的 HPLC 同步检测[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2013, 37(3): 270-275.
- [26] LI QX, LIU JB, LIU J. Simultaneous determination of sulfonamides residues in water environment by HPLC [J]. J Hebei Norm Univ (Nat Sci Ed), 2013, 37(3): 270-275.
- [27] 方从容, 高洁, 王雨昕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 125 种兽药残留[J]. 色谱, 2018, 36(11): 1119-1131.
- [28] FANG CR, GAO J, WANG YX, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(11): 1119-1131.
- [29] 陈晶燕, 陈万勤, 刘柱, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定鸡肉中 40 种糖皮质激素和 9 种非甾体抗炎药物残留[J]. 质谱学报, 2019, 40(2): 123-130.
- [30] CHEN JY, CHEN WQ, LIU Z, *et al.* Simultaneous determination of residues of 40 glucocorticoids and 9 non-steroidal anti-inflammatory drugs in chicken tissues by HPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spect Soc, 2019, 40(2): 123-130.
- [31] 刘冬虹, 吴玉鑫, 王斌, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱测定肉制品中 5 类药物残留[J]. 现代食品科技, 2016, 32(10): 290-296.
- [32] LIU DH, WU YL, WANG B, *et al.* Analysis of five types of veterinary drug residues in meat products by dispersive solid phase extraction-UPLC-MS/MS [J]. Mod Food Sci Technol, 2016, 32(10): 290-296.
- [33] 隋涛, 付建, 李晓玉, 等. 超高效液相色谱串联质谱法同时测定水产品中 6 种兽药残留[J]. 食品科学, 2011, 32(10): 203-207.
- [34] SUI T, FU J, LI XY, *et al.* Simultaneous determination of veterinary drug residues in aquatic products by UPLC-MS/MS [J]. Food Sci, 2011, 32(10): 203-207.
- [35] HOFFER B, RUBENSAM G, JANK L, *et al.* Analytical quality assurance in veterinary drug residue analysis methods: Matrix effects determination and monitoring for sulfonamides analysis [J]. Talanta, 2015, 132: 443-450.
- [36] ZHAO L, LUCAS D, LONG D, *et al.* Multi-class multi-residue analysis of veterinary drugs in meat using enhanced matrix removal lipid cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2018, 1549: 14-24.
- [37] ZHANG N, FAN S, XUE Y, *et al.* Rapid detection of 8 veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Hyg Res, 2017, 46(1): 89-93.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



方志娟, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测与质量控制
E-mail: 18115680485@163.com



李晓芹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测与质量控制。
E-mail: lxq20122@163.com