

渝东北地区食品中典型酰胺醇类抗生素 残留快速检测及风险评估

谭美龄^{1,2}, 汪开拓^{1*}, 王劲松¹, 王 晶¹, 黎春红¹, 廖云霞¹

(1. 重庆三峡学院生物与食品工程学院, 重庆 404120; 2. 重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404000)

摘 要: **目的** 建立食品中典型酰胺醇类抗生素残留的快速检测方法并对该类药物在渝东北地区的残留污染风险进行评估。**方法** 采用乙腈萃取食品基质中残留的酰胺醇类抗生素, QuEChERS 法进行净化, 超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)分析检测; 同时应用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)对渝东北地区食品中酰胺醇类药物残留的污染风险进行评估。**结果** QuEChERS-UPLC-MS/MS 检测技术精确度高, 氯霉素、氟苯尼考和甲砒霉素在 0.15~50.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内的线性相关系数均大于 0.999, 在 0.15~50.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平范围内的回收率分别为 85.2%~100.9%、76.7%~90.6%、85.3%~96.7%, 精密度均小于 15%, 检出限为 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。求解 AHP 模型可知, 渝东北地区酰胺醇类药物残留的食品污染风险程度为: 氟苯尼考>甲砒霉素>氯霉素。其中, 氟苯尼考: 畜副产品>鲜蛋>水产品>禽副产品>禽肉>畜肉; 甲砒霉素: 禽副产品>鲜蛋>禽肉; 氯霉素: 畜副产品>水产品>畜肉。**结论** QuEChERS-UPLC-MS/MS 适用于对食品中酰胺醇类抗生素残留的定性定量检测, AHP 评价法则可对可能引发的污染风险大小进行综合评估, 相关检测方法和评价模型能为区域食品安全的风险管控提供支撑。

关键词: 层次分析法; 酰胺醇类; QuEChERS; 风险评估

Rapid residue detection and risk assessment of typical amide alcohol antibiotics in food in northeast Chongqing

TAN Mei-Ling^{1,2}, WANG Kai-Tuo^{1*}, WANG Jin-Song¹, WANG Jing¹,
LI Chun-Hong¹, LIAO Yun-Xia¹

(1. College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404120, China; 2. Chongqing Wanzhou Institute for Food and Drug Control, Chongqing 404000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid detection method for typical aminool antibiotic residues in food in northeast Chongqing and to evaluate the risk of such drug residues. **Methods** Acetonitrile solution was used to extract the residues of aminool antibiotics in the food matrix, and then the QuEChERS method was applied for extraction and purification, ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671913)、重庆市高校创新群体项目(CXQT21036)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31671913), and the Chongqing University Innovation Group Project (CXQT21036)

***通信作者:** 汪开拓, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail: wangkaituo83@gmail.com

***Corresponding author:** WANG Kai-Tuo, Ph.D, Professor, College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, No.666, Tianxing Road, Wanzhou District, Chongqing 404120, China. E-mail: wangkaituo83@gmail.com

analysis and detection. Additionally, the analytic hierarchy process (AHP) evaluation model aimed to assess safety risk of amide alcohol drug residues. **Results** The results showed that the detection technology of QuEChERS-UPLC-MS/MS was highly accurate, in which the linear correlation coefficients of chloramphenicol, florfenicol and thiamphenicol were all greater than 0.999 in the concentration ranging from 0.15 to 50.00 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries were 85.2%–100.9%, 76.7%–90.6%, and 85.3%–96.7% in the range of 0.15 to 50.00 $\mu\text{g/kg}$ respectively, the precision was less than 15%, meanwhile, the limit of detection was 0.10 $\mu\text{g/kg}$, with the limit of quantitation being 0.15 $\mu\text{g/kg}$. According to the results of the AHP evaluation model, the risk degree of food contamination of amide alcohol residues in northeast Chongqing was as follows: Florfenicol>thiamphenicol>chloramphenicol. Among them, florfenicol: Livestock byproducts>fresh eggs>aquatic products>poultry byproducts>poultry meat>livestock meat, thiamphenicol: Poultry byproducts>fresh eggs>poultry meat, and chloramphenicol: Livestock byproducts>aquatic products>livestock meat. **Conclusion** QuEChERS-UPLC-MS/MS is suitable for qualitative and quantitative detection of amide alcohol antibiotic residues in food, AHP can comprehensively evaluate the possible pollution risks, and the related detection methods and evaluation models can provide support for risk management and control of regional food safety.

KEY WORDS: analytic hierarchy process; amide alcohols; QuEChERS; risk assessment

0 引言

渝东北地区是伴随着三峡大坝的修建而生,库区径流从先前的天然江河转变为水库型河流,流域内长江流速减慢,水体对污染物的自净能力下降^[1]。因此,监测农业面源污染物的产生并制定相应的控制策略是维持三峡库区生态安全的重要内容。渝东北地区为三峡库区腹地,地理上以山地和丘陵为主,农业集约化、规模化程度较小^[2],在农副产品生产和销售上监管困难,越来越多的农兽药被投入使用,存在食品安全隐患,而兽药残留是影响动物源性食品安全的主要因素。因此,建立动物源性食品中兽药残留的风险评价及快速检测体系,对于居民健康和环境保护均有积极意义。

氯霉素(chloramphenicol, CAP)、氟苯尼考(flорfenicol, FFC)、甲砒霉素(thiamphenicol, TAP)均属于酰胺醇类抑菌性广谱抗生素,通过阻扰细菌蛋白质的合成,防止细菌的生长和增殖,可以对家畜禽、水产、蜜蜂的传染性疾病进行防治^[3]。但其具有一定的免疫毒性、血液毒性和胚胎毒性,通过饲料添加或疾病治疗在动物体内残留并不断积累,以食物链传递,对人体产生危害^[4]。目前针对其残留量的检测方法主要有高效液相色谱法、液相色谱-质谱法、气相色谱-质谱法等^[5-7]。前处理方法有液液萃取法^[5]和固相萃取法^[6-7],但以上方法试剂使用量大,检出限较高,基质干扰较大,净化过程耗时较长。QuEChERS 是一种基于分散固相萃取技术建立起来的多残留分析前处理方法,首先使用有机溶剂和萃取盐萃取基质中的目标物,然后使用吸附剂净化,最后结合超高效液相色谱-串联质谱分析测定^[8-10],可实现对多药物残留进行快速、精准、高通量的筛查,对保障食品安全具有非常重要意义^[11-12]。

层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)是通过分析待解决问题所含因素及相互关系,将其分解为不同要素,建立递阶层次结构^[13-15];通过比较各层因素对上一层某准则的影响程度,构造成对判断矩阵^[16-18];计算该矩阵的最大特征根和相应的特征向量,并经一致性检验后确定该层因素相对于某一准则所占的比重^[19];然后计算总目标的组合权重得到层次总排序,作为决策依据^[20-21]。本研究建立了 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)快速测定食品中酰胺醇类药物残留的检测方法。同时引入定性与定量分析相结合的层析分析法原理^[22],选择检出率和检出构成为主要因素,对渝东北地区动物源性食品中酰胺醇类抗生素残留的污染风险情况进行综合评价分析,为渝东北地区相关食品的风险监管和安全抽检提供参考,加快推动辖区食品安全管理的高质高速发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

畜禽肉及副产品、水产品、鲜蛋:抽样于渝东北地区的超市和农贸市场。

酰胺醇类混合标准物质、氘代氯霉素-D₅(chloramphenicol D₅, CAP-D₅)(纯度>99.9%, 100 $\mu\text{g/mL}$, 北京坛墨质检科技股份有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司)。

1.2 仪器与设备

GRINDOMIX GM200 研磨仪(德国 Retsch 公司); IKA T25 digital ULTRA-TURRAX 分散匀浆机、IKA MS 3 digital

涡旋混合器(德国 IKA 公司); Quintix224-1CN 万分之一电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); DIONEX UltiMate-3000 液相色谱-TSQ Quantum Access Max 三重四极杆质谱仪(配电喷雾电离源)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SIGMA 3-15 型离心机(德国 SIGMA 实验室离心机公司); Reeko AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪(厦门睿科集团股份有限公司); N-丙基乙二胺(primary secondary amine sorbent, PSA)、C₁₈ (40~63 μm)(上海安谱实验科技股份有限公司); Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ 液相色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

畜禽肉及副产品: 去除骨和筋膜, 经组织研磨仪均匀研碎, 装入清洁容器内, 密封保存(-20℃)。

水产品: 去除骨、鳞、头等非可食部分, 经组织研磨仪均匀研碎, 装入清洁容器内, 密封保存(-20℃)。

鲜蛋: 敲碎去壳, 混匀, 装入清洁容器内, 密封保存(-20℃)。

1.3.2 样品前处理

称取 4 g 分散匀浆后的试样, 加入 4 mL 冷水(<4℃), 混匀。加入 10 mL 乙腈和 50 μL CAP-D₅ 工作溶液(1 μg/mL), 涡旋混合 1 min。加入 4 g MgSO₄、1 g CH₃COONa、1 颗陶瓷均质子, 涡旋混合 30 s, 8000 r/min 离心 5 min。取 4 mL 上清液, 加入 600 mg MgSO₄、100 mg PSA、50 mg C₁₈, 涡旋混合 1 min, 8000 r/min 离心 10 min。取 2 mL 上清液用氮气吹至近干(<40℃)后复溶至 1 mL, 过 0.22 μm 滤膜后待测。

1.3.3 仪器分析

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 柱温: 40℃; 进样量: 5 μL; 流动相: A 乙腈、B 5 mmol/L 乙酸铵水溶液; 流速: 0.2 mL/min; 梯度洗脱: 0~1.0 min, 流动相 A 为 10%并保持。1.0~2.5 min, 流动相 A 从 10%线性增加至 90%, 并保持至 6.0 min。6.0~8.0 min, 流动相 A 从 90%线性回至 10%, 并保持至 10.0 min。

离子源: 电喷雾电离(electro spray ionization, ESI-); 检测方式: 选择反应监测扫描(selective reaction monitoring, SRM); 电喷雾电压: -2500 V; 雾化器蒸发温度: 300℃; 毛

细管温度: 350℃; 鞘气: 241.32 kPa; 辅助气: 3.3 L/min; 相关质谱参数如表 1 所示。

1.3.4 数据处理

使用 Trace Finder 4.1 软件进行数据采集和处理。所有实验重复 6 次, 结果以平均值±标准差表示。

1.3.5 风险评价

在食品风险评价体系, 通常以阳性检出率来衡量风险大小, 尽管符合国家最大残留限量标准的食品(合格食品)对人是相对安全的, 但并不表示不存在污染风险。本研究以 0.1 μg/kg(检出限)作为评价危害物的污染风险程度标准, 统计 2018 年至 2022 年间, 渝东北地区(万州、开州、梁平、云阳、忠县、奉节、巫山、巫溪、城口、丰都、垫江)共 11 个区县的食品抽检中酰胺醇类药物残留检测数据, 使用 Matlab 9.4 软件构建 AHP 数学模型, 对该地区的药物残留污染风险进行评估^[23]。

2 结果与分析

2.1 前处理方法优化

大部分食用农产品含水量不高(<80%), 根据 QuEChERS 原理, 在样品中加入足量的水(<4℃), 为之后的分层萃取创造条件的同时, 可以防止缓冲盐与水发生放热反应影响回收率。酰胺醇类抗生素可在极性溶剂和部分中等极性溶剂中溶解, 本研究选用了具有沉淀蛋白能力且能减少脂肪溶出、破除乳化的乙腈作为提取溶剂。结合无水 MgSO₄, 进行饱和水溶液-乙腈的液液萃取。陶瓷均质子可防止过量的无水 MgSO₄ 结块析出, 均匀分散样品, 缩短萃取净化时间, 进一步提高回收率。

复杂的样品基质不仅会影响结果分析, 还会污染仪器。本研究考察了不同 QuEChERS 吸附剂的净化效果, 无水 MgSO₄ 在净化过程中将去除多余的水分并提高样品分布, 防止吸附剂吸水影响净化效果。PSA 主要用于去除样品中的强极性杂质, 其含有的伯胺基可与还原糖的活性羰基缩合成席夫碱, 除去样品中的还原糖。PSA 中两个氨基上的孤对电子提供金属螯合作用可以去除样品中微量的矿物质元素, 如铁、镁等。C₁₈ 是一种反相吸附剂, 因具有较高的碳含量和相覆盖率可以去除样品中的非极性干扰物, 如蛋白质、脂类。本研究选用不同品种样品基质, 以回收

表 1 质谱参数
Table 1 Mass spectrum parameters

化合物	保留时间/min	质荷比(m/z)		透镜电压/V	碰撞能量/eV
		母离子	子离子		
CAP	5.42	320.917	151.925*, 256.885	-44	-22, -14
FFC	5.11	355.942	335.837*, 184.913	-53	-12, -21
TAP	4.81	353.905	289.874*, 184.897	-57	-15, -23
CAP-D ₅	5.40	325.953	156.947*, 261.916	-43	-22, -14

注: *为定量离子对。

率为指标考察了 600 mg MgSO_4 结合其他 2 种分散吸附剂组合(①50 mg PSA+50 mg C_{18} 、②50 mg PSA+100 mg C_{18} 、③100 mg PSA+50 mg C_{18} 、④100 mg PSA+100 mg C_{18})的净化效果。如图 1 所示,通过对比发现,随着 PSA 量的增加, CAP 回收率越高。PSA 中两个氨基的酸度系数(pK_a)分别为 10.1 和 10.9,可在弱酸条件下结合 H^+ 形成阳离子,通过离子交换作用去除样品中的脂肪酸和氨基酸等负离子,而不结合弱酸条件下呈阳离子状态的 CAP、FFC、TAP,减少基质所带来的影响。随着 C_{18} 的增加,回收率总体有下降的趋势。由于 C_{18} 填料的疏水性可能与 CAP、FFC、TAP 中的苯环发生相互作用,太多会吸附目标物,影响回收率。通过对比吸附剂对 FFC、TAP 的影响情况,最终筛选的最佳组合为 600 mg MgSO_4 、100 mg PSA、50 mg C_{18} 。

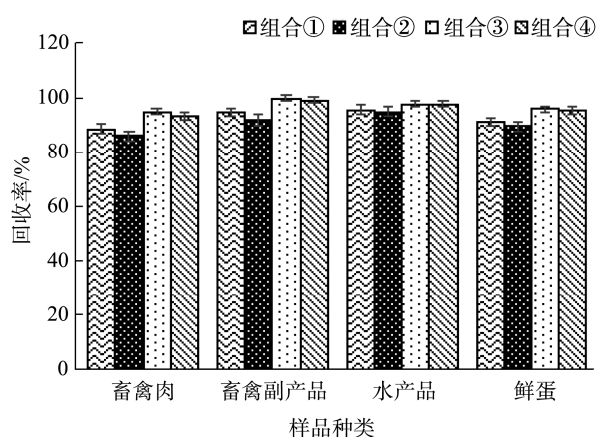


图 1 吸附剂对氯霉素回收率的影响

Fig.1 Effects of adsorbent on recovery of chloramphenicol

2.2 仪器方法优化

CAP、FFC、TAP 的结构中均含有苯环,在 C_{18} 柱上有一定的疏水保留能力。使用乙腈作为洗脱流动相,并加入更易挥发的乙酸铵来提高目标化合物的电离效率。采用梯度洗脱的方式,保持初始低比例的有机相让极性杂质先流出,和弱极性的酰胺醇类化合物通过在 C_{18} 柱上的保留能力不同而分离,将基质的干扰降到最低。由于 ESI 质谱仪是浓度检测器,流速越小,在一定注射体积下流出峰的高度越大。使用 0.2 mL/min 的低流速产生的雾滴更利于雾化并增加信号强度,可获得更好的峰形和灵敏度。样品最终溶剂和流动相初始比例中有机相比比例差距过大,可能会造成二次洗脱,导致峰型变差分叉的现象。当进样量超过 8 μL 后,峰型变宽,甚至出现分叉的情况,综合考虑最终选择 5 μL 进样量。

通过对 3 种化合物进行结构分析,羟基可以失去 H^+ 形成较稳定的分子内氢键。二氯乙酰胺基团中氮原子的氢

也具有一定酸性,容易解离丢失 H^+ 以形成稳定的(M-H)⁻ 分子离子,故采用负离子模式下的监测方式(ESI⁻)。通过一级质谱全扫描方式观测离子情况,出现两个母离子峰(m/z): M-2、M+2,而并未出现少一个氢离子的母离子峰(M-1)。这是由于 3 种化合物均含有两个氯,氯的两个同位素 35 和 37 的丰度比为 3:1。经过分子质量的计算,失去一个 H^+ 的情况下,两个峰正好是 M-2 和 M+2,且峰高比约为 3:1。这表明 3 个化合物的母离子 M-2 并不是由于失去了两个 H^+ ,而是由氯的两个同位素丰度不同造成的。通过对 3 种化合物在电喷雾质谱下各碎片离子相应的键断裂能及各碎片的稳定结构分析,从理论上推导了 3 种化合物的可能的质谱碎裂途径^[24]。由于 3 种化合物的结构类似,以 CAP 为例,分子离子依次失去 Cl、CHO、 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NH}_2\text{COCHCl}_2$ 等中性基团,形成 m/z 257、194 和 152 碎片离子。从质谱调谐可以看出,在 5~60 eV 碰撞能量下,由 320.917 母离子产生的相对丰度比最大的 3 个子离子的 m/z 分别为 151.925、193.895、256.885,实际得到的质谱条件与预期基本相符,选择丰度值更高的 151.925 作为定量离子、256.885 作为定性离子。最后,通过设定合适的 SRM 采集窗口使获得的色谱峰峰形尽可能地趋向高斯分布。以氘代氯霉素-D₅ 作为同位素内标物质,以内标峰面积与目标物峰面积的比率进行定量分析,用于控制样品提取、净化、液相色谱进样、流动相和电离等过程的误差,提高定量的准确性。图 2 为通过使用优化的仪器方法,采集出的阳性样品的总离子流色谱图,可以看出 3 种目标化合物及内标物的分离度和响应值均较高。

2.3 方法学验证

根据 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对本方法进行了验证(表 2)。各检测参数在 0.15~50.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内的线性相关系数均大于 0.999。使用基质效应(matrix effect, ME)计算公式 $\text{ME}/\%=[(\text{基质匹配标准曲线斜率}/\text{纯溶剂标准曲线斜率})-1]\times 100\%$ 来考察不同样品基质对实验结果的影响^[25]。结果显示大部分样品表现为弱基质增强效应($|\text{ME}|<20\%$),对信号干扰较低,不需要绘制基质匹配标准工作曲线来补偿基质效应^[25]。以信噪比 $S/N\geq 3$ 确定检出限(limit of detection, LOD)为 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,以 $S/N\geq 10$ 确定定量限(limit of quantitation, LOQ)为 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。CAP、FFC、TAP 在 0.15~50.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平范围内的回收率分别为 85.2%~100.9%、76.7%~90.6%、85.3%~96.7%,精密度均小于 15%,符合相关标准要求。使用 SPSS 19.0 软件进行方差分析和最小显著差别(least significant difference, LSD)检验,比较结果间差异的显著性,对不同类别样品下同一添加水平和不同添加水平下同一类别样品的检测情况做显著性差异分析,检测结果大多表现为差异显著($P<0.05$)。

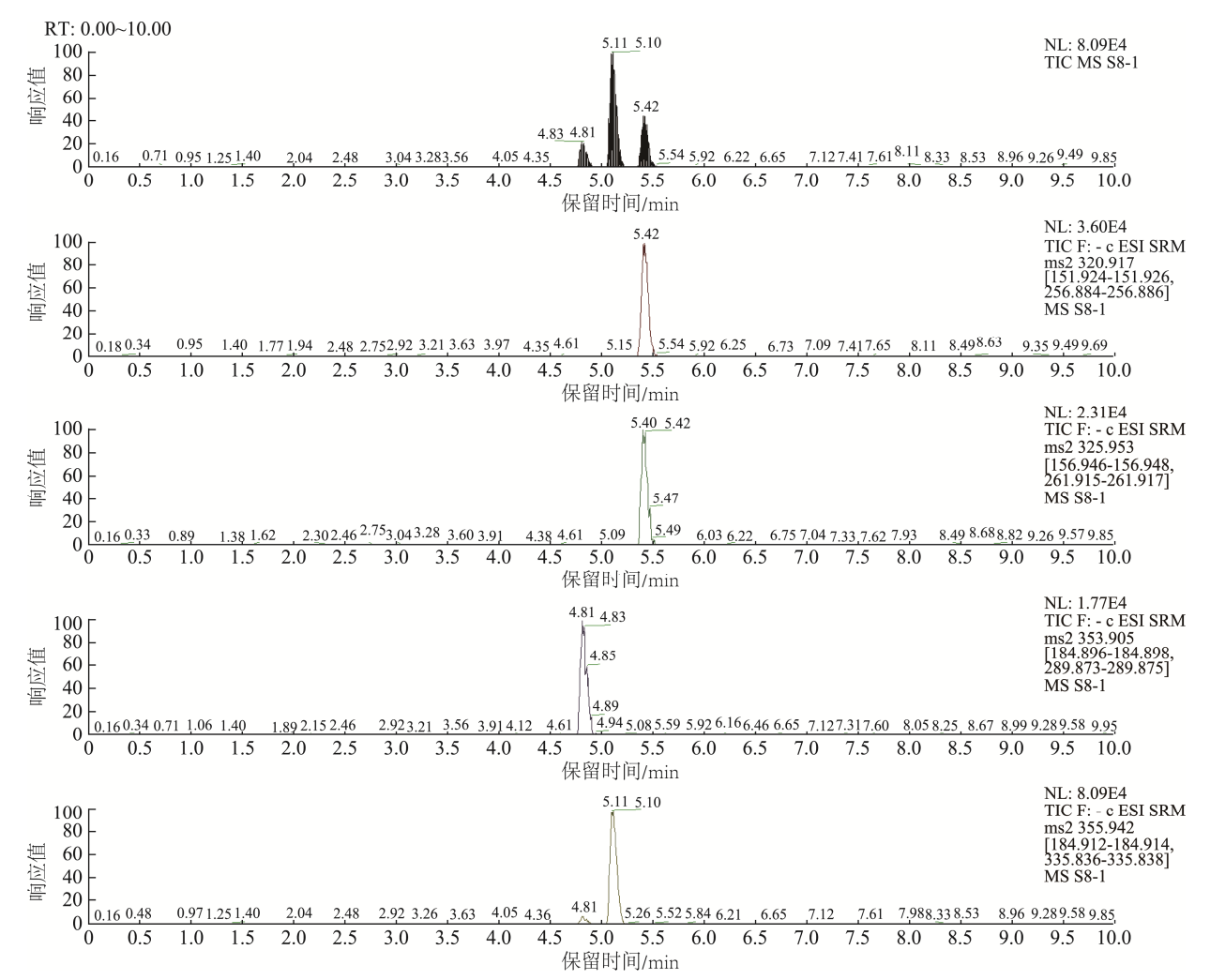


图 2 阳性样品的离子流色谱图
Fig.2 Ion flow chromatogram of positive sample

表 2 方法学验证的相关参数
Table 2 Relevant parameters of methodological verification

检测项目		CAP			FFC			TAP	
加标水平 /(μg/kg)		0.15	25.00	50.00	0.15	25.00	50.00	0.15	25.00 50.00
回收率/%		85.2±1.28 ^{Dc}	93.5±0.70 ^{Bb}	95.4±1.45 ^{Ca}	76.7±0.96 ^{Dc}	89.2±0.87 ^{Ba}	81.3±1.22 ^{Bb}	94.6±1.34 ^{Ba}	86.3±1.56 ^{Bc} 89.1±1.59 ^{Ab}
畜禽肉	RSDs/%	2.9	4.1	1.2	2.3	4.7	3.3	6.0	2.3 6.5
	MEs/%		19			17			17
	回收率/%	91.3±1.25 ^{Bc}	94.3±1.09 ^{Bb}	100.9±1.02 ^{Aa}	80.5±1.58 ^{Cb}	84.1±1.20 ^{Da}	80.4±1.51 ^{Bb}	96.7±0.84 ^{Aa}	85.3±1.21 ^{Bc} 89.6±0.13 ^{Ab}
	RSDs/%	7.1	4.3	1.6	3.0	5.0	1.2	2.8	1.6 3.2
畜禽副 产品	MEs/%		14			15			19
	回收率/%	93.4±2.53 ^{Ab}	97.7±1.32 ^{Aa}	96.8±1.01 ^{Bab}	82.6±1.39 ^{Bb}	85.4±1.02 ^{Ca}	84.4±0.95 ^{Aa}	94.3±0.96 ^{BCa}	88.0±1.22 ^{Ac} 90.4±0.81 ^{Ab}
水产品	RSDs/%	3.2	8.1	4.0	2.8	2.6	5.1	1.6	4.9 1.3
	MEs/%		13			16			18

表 2(续)

检测项目	CAP				FFC				TAP	
回收率/%	89.8±1.34 ^{Cb}	90.4±0.91 ^{Cb}	96.2±0.91 ^{BCa}	86.8±1.32 ^{Ab}	90.6±0.98 ^{Aa}	87.2±4.47 ^{Ab}	93.2±0.58 ^{Ca}	89.0±0.89 ^{Ab}	89.8±1.06 ^{Ab}	
鲜蛋 RSDs/%	1.6	3.5	2.9	1.2	8.5	1.0	4.4	5.8	1.8	
MEs/%	15				8				16	
回归方程	$Y=7.005e^{-2}X-1.355e^{-2}$				$Y=1.134e^4X+2.15e^2$				$Y=1.877e^3X-1.266e^2$	
相关系数(r^2)	0.9992				0.9990				0.9996	
线性范围/($\mu\text{g/kg}$)					0.15~50.00					
LOD/($\mu\text{g/kg}$)					0.10					
LOQ/($\mu\text{g/kg}$)					0.15					

注：数据右上角大写字母代表不同类别样品间的差异显著性，小写字母代表同一化合物在不同添加水平下的差异显著性($P<0.05$)；相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)。

2.4 检测情况

其中，检出率是指样品中检出的药物残留批次占同期总检测批次的百分比^[26]；检出构成比是指样品中检出的药物残留批次占同期总检出批次的百分比^[26]。表 3 为 2018 年到 2022 年间渝东北食品中 3 种酰胺醇类药物残留的实验室检测数据，其中，每个大类下的具体样品品种分别为：(畜肉)猪、牛、羊的肌肉组织；(禽肉)鸡、鸭、鹅的肌肉组织；(畜副

产品)猪、牛、羊的肝、肾、肠、肚；(禽副产品)鸡、鸭、鹅的肝、肾、胗、爪；(鱼类)草鱼、鲫鱼、鲤鱼、鲢鱼、鲈鱼、带鱼；(虾类)小龙虾、基围虾；(蟹类)中华绒螯蟹、梭子蟹；(贝类)贻贝、蛤、蛏、田螺；(鲜蛋)鸡蛋、鸭蛋、鹌鹑蛋。可以发现各类样品中均有不同程度检出，样本量及样本规模间差异均较大。但每种兽药残留样品的检出构成比是相同的，可以消除样本规模的差异性，更有助于风险评估的真实性^[23]。

表 3 2018 年 1 月至 2022 年 6 月食用农产品中 3 种兽残检出情况
Table 3 Detection of 3 kinds of animal residues in edible agricultural products from January 2018 to June 2022

检测项目	样品种类	检测批次	检出批次	检出率/%	检出构成比/%
CAP	畜肉	1832	4	0.218	30.769
	畜副产品	201	3	1.493	23.077
	禽肉	855	0	0.000	0.000
	禽副产品	393	0	0.000	0.000
	水产品	2495	6	0.240	46.154
	鲜蛋	770	0	0.000	0.000
	合计	6546	13	0.199	
FFC	畜肉	1635	1	0.061	2.273
	畜副产品	136	5	3.676	11.364
	禽肉	695	2	0.288	4.545
	禽副产品	140	1	0.714	2.273
	水产品	785	10	1.274	22.727
	鲜蛋	1681	25	1.487	56.818
	合计	5072	44	0.868	
TAP	畜肉	312	0	0.000	0.000
	畜副产品	89	0	0.000	0.000
	禽肉	197	1	0.508	25.000
	禽副产品	160	1	0.625	25.000
	水产品	597	0	0.000	0.000
	鲜蛋	415	2	0.482	50.000
	合计	1770	4	0.226	

2.5 风险评价

2.5.1 建立层次结构模型

将 2018 年至 2022 年间渝东北畜产品中酰胺醇类药物残留的风险评价作为目标层 G ; 检出率 D_1 和检出构成比 D_2 作为准则层; 不同药物及不同样品残留检出情况作为方案层 μ_i , 构成畜产品中酰胺醇类药物残留风险评价的多层递阶结构^[26]。

2.5.2 构造判断矩阵

通过比较各层因素对上一层某准则的影响程度, 构造成对比较矩阵。用 a_{ij} 表示第 i 个因素对第 j 个因素的影响程度大小^[27], 则 $a_{ij}=1/a_{ji}$ ($a_{ij}>0, a_{ii}=1$)。比较时取 1~9 尺度, 其中 1、3、5、7、9 分别表示第 i 个因素比第 j 个因素一样重要、稍重要、较为重要、非常重要、绝对重要。中间偶数值表示因素 i 与 j 的重要性介于旁边两奇数之间。依此来构造准则层对目标层兽药残留风险 G 的判断矩阵 T_1 ^[26], 见公式(1)。

以氟苯尼考药物残留的层次分析为例, 根据重要性建立标度值 1~6。检出率 $\text{Max } \mu_i-\mu_j=0.03615$, $\text{Max } \mu_i-\mu_j \in (0.036, 0.037)$ 。以 $\mu_i-\mu_j \in [0.036, +\infty)$ 的标度值为 6, 则步长为 $0.036/4=0.009$ 。检出构成比 $\text{Max } \mu_i-\mu_j=0.54545$, $\text{Max } \mu_i-\mu_j \in (0.54, 0.55)$, 以 $\mu_i-\mu_j \in [0.54, +\infty)$ 的标度值为 6, 则步长为 $0.54/4=0.135$ 。分别构造方案层对准则层的判断矩阵 T_2 、 T_3 , 见公式(2)~(3), 判断标度详见表 4。同法构造其余药物残留的判断矩阵。

$$T_1 = \begin{pmatrix} 1 & 3 \\ \frac{1}{3} & 1 \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$T_2 = \begin{pmatrix} 1 & \frac{1}{6} & \frac{1}{2} & \frac{1}{2} & \frac{1}{3} & \frac{1}{3} \\ 6 & 1 & 5 & 5 & 4 & 4 \\ 2 & \frac{1}{5} & 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{3} & \frac{1}{3} \\ 2 & \frac{1}{5} & 2 & 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{2} \\ 3 & \frac{1}{4} & 3 & 2 & 1 & \frac{1}{2} \\ 6 & \frac{1}{4} & 3 & 2 & 2 & 1 \end{pmatrix} \quad (2)$$

$$T_3 = \begin{pmatrix} 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{2} & 1 & \frac{1}{3} & \frac{1}{6} \\ 2 & 1 & 2 & 2 & \frac{1}{2} & \frac{1}{5} \\ 2 & \frac{1}{2} & 1 & 2 & \frac{1}{3} & \frac{1}{5} \\ 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{2} & 1 & \frac{1}{3} & \frac{1}{6} \\ 3 & 2 & 3 & 3 & 1 & \frac{1}{4} \\ 6 & 5 & 5 & 6 & 4 & 1 \end{pmatrix} \quad (3)$$

表 4 准则层的标度值
Table 4 Scaling values of the criterion layer

标度值	检出率 D_1 的差值范围	检出构成比 D_2 的差值范围
	$\mu_i-\mu_j$	$\mu_i-\mu_j$
1	0	0
2	(0, 0.009]	(0, 0.135]
3	(0.009, 0.018]	(0.135, 0.270]
4	(0.018, 0.027]	(0.270, 0.405]
5	(0.027, 0.036]	(0.405, 0.54]
6	(0.036, $+\infty$)	(0.540, $+\infty$)

2.5.3 层次总排序及一致性检验

根据以上判断矩阵, 采用 Matlab 求解模型, 依次计算准则层对目标层 (W_{D1} 、 W_{D2}) 以及方案层对准则层 ($W_{\mu i}$, $i=1,2,3,4,5$) 的各相对权数^[28]。并组合得方案层对目标层的权值, 即分别得到 3 种药物残留以及每种药物残留检出样品的权重。CR 为一致性比率, 是一致性检验的指标, 当 $CR<0.10$ 时, 认为相应判断矩阵的不一致程度在容许范围内, 一致性检验通过, 即可按照相应的结果进行决策, 否则需要重新考虑模型。以 FFC 药物残留的层次分析为例, 求得模型的解详见表 5。根据总层次的权向量可得 FFC 药物残留检出样品中, 畜肉、畜副产品、禽肉、禽副产品、水产品、鲜蛋分别占比 5.31%、37.63%、7.25%、8.55%、15.52%、25.74%。各单排序及总排序一致性比例 $CR<0.10$, 模型一致性检验通过^[29-31]。同法求得其余药物残留的层析分析模型, 分别得出各因素权值。CAP 药物残留检出样品中, 畜肉、畜副产品、水产品分别占比 12.83%、58.16%、29.01%。TAP 药物残留检出样品中, 禽肉、禽副产品、鲜蛋分别占比 16.03%、57.56%、26.40%。在酰胺醇类兽残污染风险总体评估下, CAP、FFC、TAP 分别占比 15.73%、64.21%、20.06%。综上, 通过分析渝东北片区食品中酰胺醇类抗生素的污染风险评估模型, 得出污染风险程度为: $FFC>TAP>CAP$ 。其中, FFC: 畜副产品>鲜蛋>水产品>禽副产品>禽肉>畜肉; TAP: 禽副产品>鲜蛋>禽肉; CAP: 畜副产品>水产品>畜肉。

表 5 FFC 总排序结果
Table 5 Total ranking results of FFC

样品种类		检出率 D_1	检出构成比 D_2	总权值
		$W_{D1}=0.7500$	$W_{D2}=0.2500$	
畜肉	$W_{\mu 1}$	0.0510	0.0594	0.0531
畜副产品	$W_{\mu 2}$	0.4626	0.1176	0.3763
禽肉	$W_{\mu 3}$	0.0671	0.0886	0.0725
禽副产品	$W_{\mu 4}$	0.0942	0.0594	0.0855
水产品	$W_{\mu 5}$	0.1437	0.1897	0.1552
鲜蛋	$W_{\mu 6}$	0.1814	0.4852	0.2574
CR		0.0347	0.0256	0.0324

3 结 论

本研究采用乙腈提取, QuEChERS 法净化, 内标法定量, 建立了超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中酰胺醇类药物残留的检测方法。该法检出限低、线性范围广、回收率高、抗干扰能力强, 适合大批量的日常分析检测, 为建立同时快速测定相关兽药残留的研究提供了数据和支持。

本研究通过构建污染风险评估模型, 分析出了不同品种酰胺醇类药物在渝东北地区动物源性食品中的污染风险程度。在动物疾病防治上, CAP 产生的不良反应与同类药物相比要大很多, FFC 的作用效果显著优于 CAP 和 TAP。《中华人民共和国农业农村部公告 第 250 号》中规定了食品动物中禁止使用 CAP。GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中对 TAP 及 FFC 有不同的最大残留限量要求。从判定标准来看, 对 CAP 的要求相对严格。分析近几年的检测数据, 发现 FFC 的检出情况是最多的, CAP 残留的污染风险程度显著低于有最大残留限量要求的 FFC 和 TAP。同时, 根据结果发现酰胺醇类抗生素主要在一些动物代谢靶器官, 如肝肾中残留蓄积, 其残留污染风险相对更大。

本研究的风险评价模型可以将类似专家经验给予量化, 减少主观影响, 但是经验本身还是可能带入不确定性。因此在制定风险管理措施时还应充分考虑到风险分析的不确定性与影响性。在食品安全各项抽检工作计划制定时, 可借鉴本研究的 AHP 方法原理, 将影响食品安全各类不确定因素转化为定量指标, 根据评价结果调整相关兽药残留的检测品种、批次和抽检频度, 合理配置检测资源, 为监管部门的有效监管和风险评价提供有效技术支撑。

参考文献

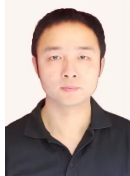
- [1] 朱惇, 徐芸, 贾海燕, 等. 三峡库区江段潜在水环境污染风险评价研究[J]. 长江流域资源与环境, 2021, 30(1): 180–190.
- [2] ZHU D, XU Y, JIA HY, *et al.* Risk assessment of potential water environmental pollution in the Three Gorges Reservoir Area [J]. Res Environ Yangtze Basin, 2021, 30(1): 180–190.
- [3] 郑永林, 王海燕, 王一格, 等. 三峡库区笋溪河流域面源污染及其与土壤可蚀性 k 值的关系[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(1): 208–213.
- [4] ZHENG YL, WANG HY, WANG YG, *et al.* Relationship between non-point source pollution and soil erodibility k value in Zhuxi River Basin, Three Gorges Reservoir Area [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2021, 27(1): 208–213.
- [5] 罗兰, 王甫, 黄承鹏, 等. 液质联用法同时检测动物源性食品中氯霉素和甲硝唑[J]. 现代预防医学, 2019, 46(21): 3956–3959, 3976.
- [6] LUO L, WANG F, HUANG CP, *et al.* Simultaneous detection of chloramphenicol and metronidazole in food of animal origin by liquid mass spectrometry [J]. Mod Prev Med, 2019, 46(21): 3956–3959, 3976.
- [7] 卜宁霞, 陈娟, 李永琴, 等. 鸡蛋中酰胺醇类药物及其代谢物残留检测超高效液相色谱-串联质谱法建立[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(9): 1625–1633.
- [8] BU NX, CHEN J, LI YQ, *et al.* Determination of aminoalcohols and their metabolites in eggs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(9): 1625–1633.
- [9] 仲伶俐, 雷欣宇, 李曦, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 4 种酰胺醇类抗生素残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(22): 8687–8694.
- [10] ZHONG LL, LEI XY, LI X, *et al.* Simultaneous determination of four amide alcohol antibiotic residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(22): 8687–8694.
- [11] 陈涛, 倪建秀, 陈桂芳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱检测鸡蛋、鸡肉和猪肉中酰胺醇类药物残留[J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(6): 66–75.
- [12] CHEN T, NI JX, CHEN GF, *et al.* Determination of amide alcohols residues in eggs, chicken and pork by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anim Husb Vet Med, 2020, 52(6): 66–75.
- [13] 张丽萍, 孟蕾, 张盼盼, 等. 鸡、猪组织中甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(9): 33–40.
- [14] ZHANG LP, MENG L, ZHANG PP, *et al.* Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and swine tissues by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Vet Drug, 2020, 54(9): 33–40.
- [15] KATARZYNA SK, MAGDALENA S, WIESLAW W, *et al.* Determination of perfluoroalkyl substances (PFASs) in fats and oils by QuEChERS/micro-HPLC-MS/MS [J]. Food Res Int, 2020, 137: 109583.
- [16] TIAN FJ, QIAO CK, LUO J, *et al.* Development and validation of a method for the analysis of five diamide insecticides in edible mushrooms using modified QuEChERS and HPLC-MS/MS [J]. Food Chem, 2020, 333: 127468.
- [17] NATORII Y, KAMIOKA S, YOSHIMOTO T, *et al.* A simple and rapid method for quantifying aconitines and their metabolites in whole blood by modified QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) [J]. Forensic Sci Int, 2022, 341: 111475.
- [18] 扈斌, 蒋康丽, 连思雨, 等. 自动 QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法测定香叶中的 212 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1114–1122.
- [19] HU B, JIANG KL, LIAN SY, *et al.* Determination of 212 pesticide residues in fragrant leaves by automatic QuEChERS combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(4): 1114–1122.
- [20] 朱颖洁, 曹燕卿, 毛劼, 等. QuEChERS 前处理结合超高效液相色谱-串联质谱法同时检测茶叶中 14 种农药残留[J]. 食品工业科技, 2022, 43(12): 283–290.
- [21] ZHU YJ, CAO YQ, MAO J, *et al.* Simultaneous determination of 14 pesticide residues in tea by QuEChERS pretreatment combined with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(12): 283–290.
- [22] VAN TD, WANG JM, WILSON VD. An integrated fuzzy AHP and fuzzy TOPSIS approach to assess sustainable urban development in an emerging economy [J]. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(16): 2902.
- [23] 刘蕤, 陈紫雯, 华桂丰, 等. 基于层次分析法(AHP)的保健食品原料评价体系构建及分析[J]. 中草药, 2020, 51(18): 4829–4836.

- LIU R, CHEN ZW, HUA GF, *et al.* Construction and analysis of health food raw material evaluation system based on analytic hierarchy process (AHP) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(18): 4829–4836.
- [15] MUHAMMAD I, ZHANG QY, ROBERT S. Developing integrated management systems using an AHP-Fuzzy VIKOR approach [J]. *Bus Strateg Environ*, 2020, 29(6): 2265–2283.
- [16] 高颖. 基于区间层次分析法的食品安全网络舆情预警评价[J]. *食品与机械*, 2019, 35(7): 103–106, 138.
- GAO Y. Food safety network public opinion early warning evaluation based on interval analytic hierarchy process [J]. *Food Mach*, 2019, 35(7): 103–106, 138.
- [17] 盘正华, 覃攀. 应用食品安全指数法对广西水产品兽药残留风险评价[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(14): 4926–4932.
- PAN ZH, QIN P. Application of food safety index method in risk assessment of veterinary drug residues in aquatic products in Guangxi [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(14): 4926–4932.
- [18] 陈晓燕, 施家威, 黎海涛, 等. 基于层次分析法的食品微生物安全风险评价体系研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(7): 2636–2641.
- CHEN XY, SHI JW, LI HT, *et al.* Research on food microbiological safety risk assessment system based on analytic hierarchy process [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(7): 2636–2641.
- [19] PAN WF, XU XX, MING H, *et al.* Clustering mashups by integrating structural and semantic similarities using fuzzy AHP [J]. *Int J Web Serv Res*, 2021, 18(1): 34–57.
- [20] NAFISEH GR, SYED AH, MUHAMMAD H, *et al.* Analytic hierarchy process (AHP) model for optimum distribution network selection in food industries [J]. *AIP Conf Proc*, 2019, 2097(1): 030100.
- [21] FAUZIYAH IS, RIDWAN AY, MUTTAQIN PS. Food production performance measurement system using halal supply chain operation reference (SCOR) model and analytical hierarchy process (AHP) [C]. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing, 2020.
- [22] XIONG YZ, ZHAO J, LAN J. Performance evaluation of food cold chain logistics enterprise based on the AHP and entropy [J]. *Int J Inf Syst Supply Chain Manage*, 2019, 12(2): 57–67.
- [23] 魏建华, 许如苏, 李冠斯. 兽药残留在水产品的对外贸易中的风险评估[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(18): 193–197.
- WEI JH, XU RS, LI GS. Risk assessment of veterinary drug residues in foreign trade of aquatic products [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(18): 193–197.
- [24] 崔悦, 刘墨一, 曹冬, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定禽肉和蛋中甲硝唑、氯霉素、氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(16): 1940–1943.
- CUI Y, LIU MY, CAO D, *et al.* Determination of metronidazole, chloramphenicol, flufenicol and their metabolite flufenicomide residues in poultry meat and eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2021, 31(16): 1940–1943.
- [25] 黄佳佳, 杨慧晴, 温惠敏, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鱼和虾中苯巴比妥残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(12): 3794–3802.
- HUANG JJ, YANG HQ, WEN HM, *et al.* Determination of phenobarbital residues in fish and shrimp by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(12): 3794–3802.
- [26] 魏建华, 张林田, 陆奕娜. 应用层次分析法对出口水产品中呋喃残留进行风险评估[J]. *检验检疫学刊*, 2014, 24(1): 68–72.
- WEI JH, ZHANG LT, LU YN. Application of analytic hierarchy process to risk assessment of furan residues in export aquatic products [J]. *J Inspect Quar*, 2014, 24(1): 68–72.
- [27] 徐文珍, 倪承珠, 郝伟, 等. 台州市养殖水产品中喹诺酮类残留分析及评价[J]. *中国卫生检验杂志*, 2022, 32(3): 382–385.
- XU WZ, NI CZ, HAO W, *et al.* Analysis and evaluation of quinolones residues in aquacultural aquatic products in Taizhou City [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2022, 32(3): 382–385.
- [28] MOHAMMAD Y, ORHAN K, SAHAND D. Application of fuzzy fault tree analysis based on modified fuzzy AHP and fuzzy TOPSIS for fire and explosion in the process industry [J]. *Int J Occup Saf Ergon*, 2020, 26(2): 319–335.
- [29] HEMANT S, NAGENDRA S, ASHISH Y. Comparative analysis of ranking the lean supply chain enablers: An AHP, BWM and fuzzy SWARA based approach [J]. *Int J Qual Reliab Managet*, 2022, 39(9): 2252–2271.
- [30] CHEWAPHORN C, KASIN R. Criteria analysis of food safety using the analytic hierarchy process (AHP)-a case study of Thailand's fresh markets [J]. *E3S Web Conf*, 2020, 141: 02001.
- [31] ZHAO L. Research on performance evaluation of green food marketing channel based on fuzzy-ahp model [C]. *Proceedings of 2019 4th International Symposium on Management, Economics, E-business and Marketing (ISMEEM 2019)*, 2019.
- (责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



谭美龄, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品加工与安全。
E-mail: 1538451780@qq.com



汪开拓, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品贮藏与加工。
E-mail: wangkaituo83@gmail.com