

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240408001

高效液相色谱-串联质谱法同时检测畜产品中 67 种兽药残留

王佳琪¹, 李剑军¹, 李超², 皇金龙¹, 常昌明³, 孙小丽^{4*}

(1. 呼伦贝尔市农畜产品质量安全中心/呼伦贝尔市农牧业检验检测中心, 呼伦贝尔 021000;
2. 内蒙古自治区农畜产品质量安全中心, 呼和浩特 010010; 3. 赤峰市疾病预防控制中心, 赤峰 024000;
4. 赤峰应用技术职业学院, 赤峰 024005)

摘要: **目的** 建立一种基于猪肉、牛肉、羊肉为基质的高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)同时检测磺胺类、喹诺酮类、苯并咪唑类、 β 受体激动剂类、四环素类、糖皮质激素类、硝基咪唑类、大环内脂类、酰胺醇类等 9 大类 67 种兽药残留。**方法** 样品经 0.1 mol/L 乙二胺四乙酸二钠(ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, EDTA-2Na)水溶液预处理后用 0.2%甲酸乙腈提取, 通过 PRiME HLB 固相萃取柱净化, 40℃氮气浓缩后 90%水-乙腈溶液(含 0.05%甲酸)溶液复溶, InfinityLab Proroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱分离, 以 AJS ESI 离子源在正、负离子多反应监测模式下进行测定。**结果** 67 种兽药经 0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液(含 0.2%甲酸)-乙腈(8:2, V/V)提取后, 在 1~50 $\mu\text{g/L}$ 的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r^2 均大于 0.999, 67 种化合物的检出限(limits of detection, LODs)为 0.02~1.35 $\mu\text{g/kg}$, 定量限(limits of quantification, LOQs)为 0.05~4.51 $\mu\text{g/kg}$; 在加标水平为 5、10、50 $\mu\text{g/kg}$ 时, 回收率为 61.6%~112.7%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 1.0%~15.3%。**结论** 该方法前处理过程简单、试剂用量小、检测灵敏、准确度高, 极大提高了风险监测检测效率, 将在各级大范围初级畜禽产品风险监测项目的初步筛查工作中发挥重要作用。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 畜产品; 兽药残留

Simultaneous determination of 67 kinds of veterinary drug residues in livestock products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Jia-Qi¹, LI Jian-Jun¹, LI Chao², HUANG Jin-Long¹, CHANG Chang-Ming³, SUN Xiao-Li^{4*}

(1. Hulunbuir Agricultural and Livestock Husbandry Product Quality and Safety Center/Hulunbuir Agricultural and Livestock Husbandry Inspection and Testing Center, Hulunbuir 021000, China; 2. Inner Mongolia Center for Quality and Safety of Agricultural and Livestock Products, Hohhot 010010, China; 3. Chifeng Center for Disease Prevention and Control, Chifeng 024000, China; 4. Chifeng Vocational Institute of Applied Technology, Chifeng 024005, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 67 kinds of veterinary drug residues in 9 categories including sulfonamides, quinolones, benzimidazoles, β -agonists, tetracyclines,

*通信作者: 孙小丽, 硕士, 讲师, 主要研究方向为农产品食品检测。E-mail: sx1890325@163.com

*Corresponding author: SUN Xiao-Li, Master, Lecturer, Chifeng Vocational Institute of Applied Technology, No.2, Keyan Road, Songshan District, Chifeng 024005, China. E-mail: sx1890325@163.com

glucocorticoids, nitroimidazoles, macrolides and amide alcohols based on pork, beef and mutton by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The samples were pretreated with 0.1 mol/L ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA-2Na) aqueous solution, extracted with 0.2% formic acid acetonitrile, purified by PRiME HLB solid phase extraction column, concentrated by nitrogen at 40°C, redissolved with 90% water-acetonitrile solution (containing 0.05% formic acid) solution, separated by InfinityLab Proroshell 120 EC-C₁₈ chromatographic column, and determined by AJS ESI ion source in positive and negative ion multi-reaction monitoring mode. **Results** The 67 kinds of veterinary drugs were extracted by 0.1 mol/L EDTA-2Na aqueous solution (containing 0.2% formic acid)-acetonitrile (8:2, V:V). The linear relationship was good in the mass concentration range of 1–50 µg/L, and the correlation coefficient r^2 was greater than 0.999. The limits of detection (LODs) range of 67 kinds of compounds were 0.02–1.35 µg/kg, and the limits of quantification (LOQs) range were 0.05–4.51 µg/kg. When the spiked levels were 5, 10, 50 µg/kg, the recoveries were 61.6%–112.7%, and the relative standard deviations (RSDs) were 1.0%–15.3%. **Conclusion** The method has the advantages of simple pretreatment process, small reagent dosage, high sensitivity and accuracy, which greatly improves the efficiency of risk monitoring and detection. It will play an important role in the preliminary screening of risk monitoring projects of large-scale primary livestock and poultry products at all levels.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; livestock products; veterinary drug residues

0 引言

近年来食品安全问题成为当前社会的热点话题^[1],老百姓从“吃饱”到“吃好”最关键的问题就是吃的是否安全。因此,食品安全既关乎人们的身体健康又关乎社会的良性发展^[2–3]。由于人们生活水平的提高,动物性产品的消费量呈现逐年上升的趋势^[4],而在畜牧业发展的同时,用于治疗 and 预防动物疾病的兽药使用成为研究人员重点关注的问题^[5–7]。养殖过程中过量使用、违背休药期规则使用和违反相关条例使用禁用兽药等行为正威胁着人们的身体健康^[8–10]。

常用的兽药有磺胺类、喹诺酮类、苯并咪唑类、 β 受体激动剂类、四环素类、糖皮质激素类、硝基咪唑类、大环内脂类、酰胺醇类等,不规范使用兽药容易造成动物源食品中兽药的残留,进而被摄入人体对健康造成威胁^[11]。例如违规使用 β 受体激动剂造成的残留会导致人类产生肌肉震颤、肌无力等中毒症状,严重者危及生命^[12–13];磺胺类和喹诺酮类药物作为一类具有抗菌广谱性和强效性特点的药物被广泛使用,而滥用造成的药物残留,会导致人类食用后消化系统、中枢神经系统以及肝肾血液等器官功能性损伤,严重者诱发癌症^[14–16];糖皮质激素类残留、硝基咪唑类残留和酰胺醇类残留会造成代谢异常、早熟、发育异常、致癌、致突变、致畸形和不可逆的再生障碍性贫血等严重后果^[17–18]。目前,由于待测药物种类众多、结构差异较大,行业内的众多检测标准也比较分散、繁杂,不能做到同时检测多种兽药残留。因此,有必要开发一种针对不同基质同时检测多兽药残留的快速、准确、高通量的检测方法。

传统的兽药残留检测技术以液相色谱法(liquid chromatography, LC)、气相色谱法(gas chromatography, GC)和液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)常见^[19–20],LC定性手段单一,复杂基质中由于基质干扰较大,常造成定性困难的情况,GC检测过程需要衍生化,造成的外部干扰较大不利于准确性的把控,LC-MS具有分析速率快、高灵敏度、准确度和筛查通量大等优点而被广泛应用于多兽药残留的检验检测^[21–22]。但初级畜禽产品常常由于品种、产地和饲养条件的差异造成基质过于复杂^[23],而基质对配置电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI)的仪器产生离子竞争,进而影响灵敏度和准确性,造成定性定量的不准确。因此,前处理过程中合适的净化方式对于基质效应的消除至关重要。常见的基质净化技术有液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)^[24]、固相萃取(solid-phase extraction, SPE)^[25]、分散固相萃取(dispersive solid phase extraction, DSPE)等^[26–27],每一种净化均有其优势和局限性,需要根据实际检测情况来针对性选择。也正是基于上述原因,现在行业内利用LC-MS结合固相萃取法同时测定不同基质的药物残留报道较少,并且缺少实际样品检测过程中方法比对结果的数据分析。

本研究建立一种基于猪肉、牛肉和羊肉为基质,采用固相萃取为净化手段,利用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)同时检测 67 种兽药残留的分析方法,并将该方法与相关国家标准进行实际样品检测的方法比对分析来进行该方法的准确性和可用性评估,旨在为畜产品风险监测的初步筛查任务以及未来畜禽产品多兽

药残留检测方法的开发提供技术和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

畜产品供试样品来源于呼伦贝尔市 12 个旗市区的风险监测样品。

磺胺类(100 mg/L)、喹诺酮类(100 mg/L)、苯并咪唑类(100 mg/L)、 β 受体激动剂类(100 mg/L)、糖皮质激素类(100 mg/L)、硝基咪唑类(100 mg/L)、大环内脂类(100 mg/L)、酰胺醇类(100 mg/L)、四环素类(100 mg/L)共计 67 种兽药标准溶液(纯度均大于 95%, 天津阿尔塔科技有限公司); 乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯, 北京迈瑞达科技有限公司); 纯化水为屈臣氏蒸馏水(屈臣氏商标有限公司); 乙二胺四乙酸二钠(ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, EDTA-2Na)(天津大茂化学试剂厂); PRiME HLB 固相萃取柱(200 mg/6 cc, 美国 Waters 公司); Cleanert LipoNo 净化管(15 mL)、Cleanert PEP Plus 固相萃取柱(200 mg/6 mL)(天津博纳艾杰尔科技有限公司); ProElut PLS 亲水亲脂平衡柱(200 mg/6 mL, 北京迪马科技有限公司); 0.22 μ m 微孔滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

Agilent 1290-6470 三重四极杆液相色谱-串联质谱仪(匹配 AJS ESI 离子源和 Masshunter 定量软件)、InfinityLab Proroshell 120 EC-C₁₈ 柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.9 μ m)(美国安捷伦公司); 3-18KS 低温高速离心机(德国 Sigma Laborzentrifugen 公司); IKA HS 260 basic 型震荡仪、IKA MS 3 basic 涡旋震荡仪(德国 IKA 公司); N-EVAP 116 氮吹仪(美国 Organomation 公司); KQ-500DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 50 mL 瓶口分液器(德国 Brand 公司); TD-C 系列电子天平(精度 0.001 g, 天津天马衡基仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 溶液配制

(1)标准溶液配制

分别准确量取标准品母液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容得到质量浓度为 10 μ g/mL 的标准储备液, 于-18 $^{\circ}$ C 保存。分别准确量取上述标准储备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容得到质量浓度为 1 μ g/mL 的标准工作液, 于-18 $^{\circ}$ C 保存。

(2)流动相配制

A 相-0.05%甲酸水: 取 0.5 mL 甲酸用纯化水稀释至 1000 mL; B 相-乙腈。

(3)溶液配制

0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液: 准确称取 0.372 g EDTA-2Na, 用纯化水定容到 1000 mL, 混匀; 0.2%甲酸乙

腈: 取 2 mL 甲酸用乙腈稀释至 1000 mL, 混匀; 90%水乙腈溶液(含 0.05%甲酸): 准确量取 10 mL 乙腈用纯化水定容到 100 mL, 再加入 50 μ L 甲酸, 混匀。

1.3.2 样品前处理

(1)样品预处理

取猪、牛、羊肌肉部分 500 g 用组织匀浆机充分匀浆, 于自封袋中-18 $^{\circ}$ C 避光保存。

(2)提取

准确称取 2.00 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入 2 mL 0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液涡旋振荡 2 min, 再加入 8 mL 0.2%甲酸乙腈, 涡匀。于往复式振荡器上振荡 30 min, 再置于冰水浴中超声 30 min, 10000 r/min 离心 5 min, 上层清液备用。

(3)净化

准确量取上述上层清液 3.5 mL 上样于 PRiME HLB 固相萃取小柱, 保持每秒 1 滴流速, 准确量取 2 mL 流出液备用。

(4)浓缩

将上述量取的流出液于 40 $^{\circ}$ C 水浴氮气吹至近干, 用 90%水-乙腈溶液(含 0.05%甲酸)1 mL 定容, 涡旋振荡 1 min, 经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 供 HPLC-MS/MS 测定。

1.3.3 基质标准曲线的绘制

准确量取适量混合标准工作液, 用 90%水-乙腈溶液(含 0.05%甲酸)稀释, 配制 1、2、5、10、20、50 μ g/L 的系列标准溶液。再分别用猪、牛、羊空白基质样品按照 1.3.2 前处理过程处理获得空白基质溶液, 取空白基质溶液 2 mL 在 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干, 1 mL 目标化合物系列标准溶液复溶, 充分混匀, 经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 制得质量浓度为 1、2、5、10、20、50 μ g/L 的系列基质标准溶液, 现用现配。

1.3.4 基质效应评价

在日常检测过程中, 评价基质效应可以将空白基质匹配标准溶液峰面积与纯溶剂匹配标准溶液峰面积的比值进行比较, 来评价基质效应(matrix effect, ME)的强弱, 计算方法见公式(1)^[28]。

$$ME/\% = \frac{Am}{As} \times 100\% \quad (1)$$

式中, Am : 目标分析物在基质匹配标准溶液中的峰面积; As : 目标分析物在纯溶剂匹配标准溶液中的峰面积; $ME > 100$ 为基质增强效应, $ME < 100$ 为基质抑制效应, $80 < ME < 120$ 为弱基质效应, $ME < 80$ 或 $ME > 120$, 为强基质效应, $ME = 100$ 无基质效应。

1.3.5 仪器条件

(1)液相色谱条件

色谱柱: InfinityLab Proroshell 120 EC-C₁₈ 柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.9 μ m), 流速 0.300 mL/min; 进样量 3 μ L; 柱温 35.0 $^{\circ}$ C; 流动相 0.05%甲酸水(A), 乙腈(B), 梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序

Table 1 Liquid chromatography gradient elution procedure			
时间/min	流速 (mL/min)	流动相	
		A 相/%	B 相/%
0	0.300	95.0	5.0
2.1	0.300	95.0	5.0
3.5	0.300	70.0	30.0
4.9	0.300	40.0	60.0
6.3	0.300	10.0	90.0
9.3	0.300	10.0	90.0
9.31	0.300	95.0	5.0
12.0	0.300	95.0	5.0

(2)质谱条件

离子源配备 ESI+Agilent Jet Streat, 多反应监测模式采集参数, 采集条件如表 2 所示。

1.4 数据处理

本研究检测数据的定性定量分析和目标物质色谱图在安捷伦 Masshunter 软件中完成, 而所有测定结果均通过 3 次平行测定后以平均值给出。数据分析利用 Microsoft Excel 2007 进行数据录入及整理, 采用 IBM SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 应用最小显著差数(least significant difference, LSD)法进行差异显著性检验。可视化图形的绘

制由 SigmaPlot 15.0 完成。

表 2 质谱离子源条件

Table 2 Ion source conditions for mass spectrometry		
参数	正模式	负模式
干燥气温度/℃	325	325
干燥气流速 (L/min)	8	8
雾化器压力/psi	45	45
鞘气温度/℃	350	350
鞘气流速(L/min)	12	12
毛细管电压/V	4000	3500
喷嘴电压/V	500	2000
倍增电压/V	0	300

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

将质量浓度为 100 μg/L 的混合标准品溶液, 上机检测, 通过不断优化离子源条件、梯度洗脱程序、碎片电压和碰撞能量等关键参数, 最终获得离子响应值最大、分离度最好的仪器条件和离子参数结果, 67 种兽药质谱参数结果见表 3。

表 3 67 种兽药质谱参数

Table 3 Mass spectral parameters of 67 kinds of veterinary drugs							
序号	化合物	保留时间 /min	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)	去簇电压 /V	碰撞气能量 /V	极性
1	阿苯哒唑	6.02	266.1>234.1	266.1>191	130	16/34	+
2	阿苯哒唑 2 氨基砒	3.49	240.1>198.1	240.1>133	150	16/30	+
3	阿苯哒唑砒	5.49	298.1>266.1	298.1>159	160	16/39	+
4	阿苯哒唑亚砒	5.06	282.1>240.1	282.1>208	130	7/21	+
5	苯甲酰磺胺	5.70	277>156	277>108	70	12/28	+
6	磺胺苯吡唑	5.85	315>158	315>92	130	36/40	+
7	磺胺吡啶	3.14	250>156	250>108	110	16/28	+
8	磺胺对甲氧嘧啶	4.78	281>156	281>92	110	16/32	+
9	磺胺二甲嘧啶	1.98	279>186	279>92	110	16/36	+
10	磺胺二甲异噁唑	5.53	268>156	268>92	102	12/32	+
11	磺胺间二甲氧嘧啶	5.81	311>156	311>92	110	20/40	+
12	磺胺甲噁唑	5.37	254>156	254>92	97	16/28	+
13	磺胺甲基嘧啶	3.56	265>156	265>92	102	16/36	+
14	磺胺间甲氧嘧啶	5.15	281>156	281>92	112	16/32	+
15	磺胺甲噻唑	4.84	271>156	271>92	97	12/32	+
16	磺胺甲氧哒嗪	4.91	281>156	281>92	117	16/32	+
17	磺胺氯哒嗪	5.20	285>156	285>92	92	12/32	+
18	磺胺邻二甲氧嘧啶	5.37	311>156	311>92	121	20/40	+
19	磺胺嘧啶	2.03	251>156	251>92	102	16/28	+
20	磺胺噻唑	2.95	256>156	256>92	112	16/32	+

表 3(续)

序号	化合物	保留时间 /min	定量离子 (<i>m/z</i>)	定性离子 (<i>m/z</i>)	去簇电压 /V	碰撞气能量 /V	极性
21	甲氧苄啶	4.61	291.1>230.1	291.1>123	120	25/25	+
22	乙酰磺胺	1.55	215>156	215>108	70	8/20	+
23	达氟沙星	4.94	358>340	358>96	150	24/40	+
24	二氟沙星	5.18	400>356	400>99	150	20/32	+
25	噁唑酸	5.64	262>244	262>216	110	20/32	+
26	恩诺沙星	4.99	360>316	360>245	150	20/32	+
27	氟甲喹	6.16	262>244	262>202	110	20/36	+
28	环丙沙星	4.85	332>314	332>231	130	20/40	+
29	洛美沙星	4.92	352>308	352>265	130	16/28	+
30	诺氟沙星	4.80	320>302	320>233	110	24/28	+
31	培氟沙星	4.83	334>316	334>290	130	24/20	+
32	沙拉沙星	5.15	386>342	386>299	130	20/32	+
33	司帕沙星	5.18	393>349	393>292	130	20/28	+
34	氧氟沙星	4.81	362>318	362>261	130	20/32	+
35	依诺沙星	4.74	321>303	321>234	130	24/24	+
36	氯霉素	5.60	320.9>57	320.9>152	118	8/16	-
37	氟苯尼考	5.43	356>336	356>185	134	8/16	-
38	氟苯尼考胺	0.649	248>230	248>130	94	9/25	+
39	甲砒霉素	4.64	354>290	354>185	134	8/20	-
40	非诺特罗	3.44	304.15>134.61	304.15>106.59	105	20/36	+
41	克伦特罗	5.07	277.11>258.94	277.11>202.78	95	8/16	+
42	氯丙那林	4.79	214.13>195.97	214.13>153.75	90	12/16	+
43	莱克多巴胺	4.90	302.33>163.87	302.33>106.77	105	16/36	+
44	喷布特罗	6.14	292.36>236.22	292.36>201	115	16/20	+
45	沙丁胺醇	1.23	240.17>221.97	240.17>147.7	95	8/20	+
46	特布他林	1.18	226.15>151.74	226.15>124.67	95	16/28	+
47	妥布特罗	5.07	228.22>171.88	228.22>153.9	95	12/16	+
48	西马特罗	1.26	220.18>201.95	220.18>143.3	85	8/20	+
49	金霉素	4.90	479>462	479>444	120	16/24	+
50	强力霉素	5.45	445.1>428	445.1>321	130	15/33	+
51	四环素	4.91	445.2>427	445.2>410	125	8/16	+
52	土霉素	4.78	461>443	461>426	110	12/20	+
53	红霉素	5.79	734.5>576.3	734.5>158.1	170	14/30	+
54	罗红霉素	6.15	837.5>679.4	837.5>158	170	18/38	+
55	林可霉素	4.04	407.2>359	407.2>126	150	15/30	+
56	泰乐菌素	5.89	916.5>174	916.5>101	240	42/54	+
57	替米考星	5.54	869.6>696.4	869.6>174	250	45/50	+
58	倍氯米松	6.20	409>391	409>147	110	6/30	+
59	倍他米松	6.11	393>373	393>355	110	6/10	+
60	地塞米松	6.11	393>373	393>355	110	6/10	+
61	甲基泼尼松	6.06	375.2>357.1	375.2>161.1	110	6/20	+
62	泼尼松	5.83	359>341	359>147	90	6/24	+
63	泼尼松龙	5.82	361>343	361>147	110	6/20	+
64	地美硝唑	1.89	142.1>96	142.1>81	90	14/30	+
65	甲硝唑	1.51	172.1>128	172.1>82	90	12/26	+
66	羟基地美硝唑	1.38	158.1>140	158.1>55	90	10/18	+
67	羟基甲硝唑	1.07	188>126	188>123	90	15/10	+

2.2 流动相优化

由于同时采集 67 种兽药参数,为秉持高效的原则,本研究采用梯度洗脱的方法,在安捷伦的 InfinityLab Proroshell 120 EC-C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.9 μm) 色谱柱上通过不断地考察不同流动相组合以及梯度洗脱程序,来获得各物质最佳的响应值。通常在流动相中添加一定量的酸有利于正模式下各物质的离子电离,最终得到较高的响应值和好的峰形^[29]。但是过量的酸不但能降低负离子模式下化合物的响应值,也会由于离子竞争作用降低正离子模式下化合物的响应值。因此,针对加入酸的量分别考察的以下几个流动相组合。流动相I: A 相为 0.1% 甲酸水-B 相为甲醇;流动相II: A 相为 0.05% 甲酸水-B 相为乙腈;流动相III: A 相为 0.1% 甲酸水-B 相为乙腈;流动相IV: A 相为 0.1% 甲酸水-B 相为 0.1% 甲酸乙腈。

结果表明,乙腈相较于甲醇更能够提高响应值并且目标化合物峰形分离度更好,而过量的酸确实降低了四环素类,以及部分大环内酯类物质的响应值。4 种流动相条件下,流动相II能够使目标物质均获得较高的响应值和较好的峰形,结果如图 1 所示。

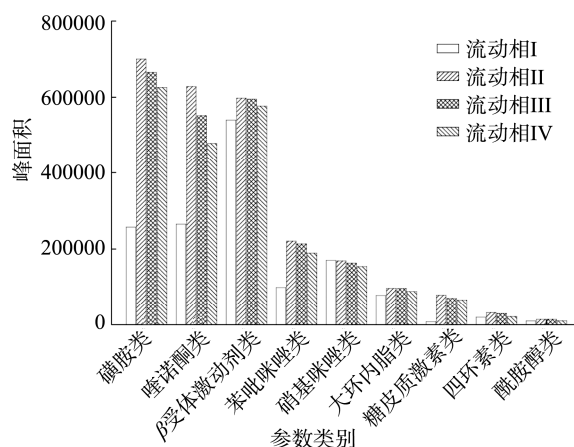


图1 4种不同流动相条件下各类物质峰面积总和

Fig.1 Sum of peak areas of each substance under 4 kinds of different mobile phase conditions

2.3 提取液的优化

与其他有机溶剂相比,乙腈是应用最普遍的提取液^[30],提取过程中在完成化合物提取的同时最大化地沉淀蛋白,且更少提取样品基质^[31]。一些 QuEChERS 方法将乙腈和水按照一定的比例组合,探索到了不错的提取方法。另外,根据物质化学性质的特点,在提取液中添加适量的酸性物质和盐能提高一些棘手化合物提取效率。比如适量的酸能够提高喹诺酮类、硝基咪唑类物质的回收率,而过量的酸却能够降低磺胺类和糖皮质激素类等物质的回收率^[32]。对于四环素类这样特殊的物质由于螯合作用,在提取液中添加一定量的 EDTA-2Na 盐对于提高响应值和回收率有很大的

改善作用^[33]。因此,本研究考察了甲酸添加量为 0.1%、0.2%、1.0%、2.0%于 0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液-乙腈(8:2, V:V)作为提取液所得到的实验结果,结果如图 2 所示,0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液(含 0.2% 甲酸)-乙腈(8:2, V:V)作为提取液效果较好。

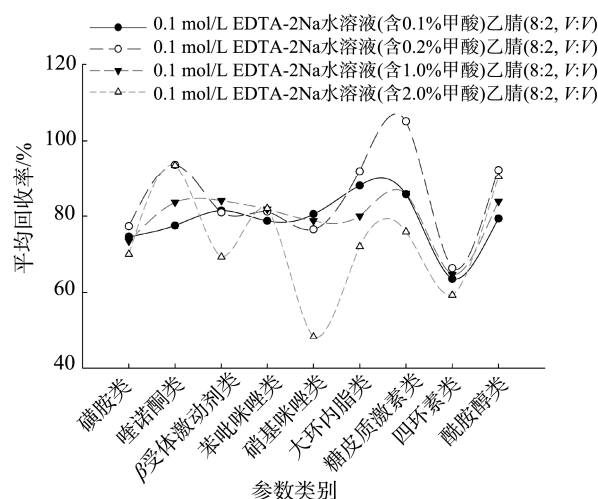


图2 4种不同提取液条件下各类物质平均回收率

Fig.2 Average recoveries of various substances under 4 kinds of different extract conditions

2.4 提取方式的优化

超声和振荡均是畜禽产品药物残留提取过程中的有效手段,而过程中提取时间的把控却是保证提取效率的要点,如果提取时间过长,提取目标物的同时基质中的干扰物质也被提取出来造成基质干扰,时间过短提取不充分造成回收率偏低^[34]。本研究的方法考察了超声和振荡组合下不同提取时间对回收率的影响。分别为:振荡 10 min、超声 10 min;振荡 20 min、超声 20 min;振荡 30 min、超声 30 min。结果如图 3 所示,除了酰胺醇类在 3 种提取模式下回收率变化不明显,其余参数回收率随着提取时间的增加,呈逐渐增加趋势。因此,选择振荡 30 min、超声 30 min 来进行提取。

2.5 净化材料的选择

针对 QuEChERS 法前处理方式,市场上相关产品不在少数,本研究考察了 Waters 公司的 PRiME HLB 固相萃取柱、艾杰尔科技有限公司的 Cleanert LipoNo 净化管和 Cleanert PEP Plus 固相萃取柱以及迪马科技有限公司 ProElut PLS 亲水亲脂平衡柱 4 种净化材料的净化效果。经 PEP Plus 净化,回收率在 80%~120% 占 59.7%、在 60%~120% 占 97.0%,阿苯达唑砵 2 氨基砵和四环素回收率低于 60%;经 LipoNo 净化,回收率在 80%~120% 占 50.7%、在 60%~120% 占 98.5%,羟基甲硝唑砵率低于 60%;经 ProElut PLS 净化,回收率在 80%~120% 占 38.8%、在 60%~120% 占 89.6%,有 10.4% 的参数回收率不足 60%;经

PRiME HLB 净化, 回收率在 80%~120%占 64.2%、在 60%~120%占 100%。因此, 从回收率的高低和分布并结合产品功能角度来看, PRiME HLB 可去除 90%以上包括内源性磷脂等非极性干扰物, 基质消除率达 95%^[35-37], PRiME HLB 固相萃取柱是相对较好的净化材料。

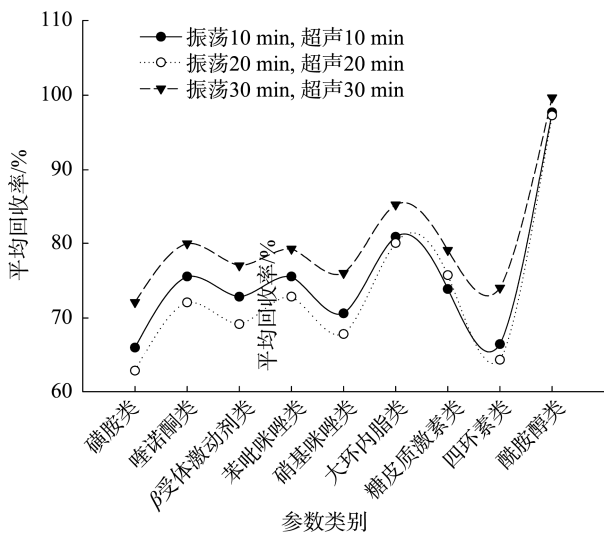


图3 3种不同提取方式组合下各类物质平均回收率
Fig.3 Average recoveries of various substances under 3 kinds of different combinations of extraction methods

2.6 复溶液的优化

由于不同兽药极性不同, 根据“相似相溶”原理^[28], 在本研究所使用的反相色谱柱上的保留效果也不同, 有大部分兽药的峰形受溶剂效应干扰较小, 但仍有一些强极性化合物表现出峰形分叉或峰过宽, 不利于定性定量。本研究对比了 60%水-乙腈溶液(含 0.1%甲酸)、70%水-乙腈溶液(含 0.1%甲酸)、80%水-乙腈溶液(含 0.1%甲酸)、90%水-乙腈溶液(含 0.1%甲酸)作为复溶液, 以化合物响应值和和峰形态为评价标准, 发现有机相比比例越高溶剂效应越明显, 出峰靠前的氟苯尼考胺、沙丁胺醇、特布他林等参数受溶剂干扰较大, 水相比比例达到 90%时, 整体良好, 峰形锐利。另外, 有研究表明适量的甲酸能够促进磺胺类和四环素类物质的溶解来提高回收率^[38]。因此, 对比了 90%水-乙腈溶液(含 0.1%甲酸)和 90%水-乙腈溶液(含 0.05%甲酸)两种选择, 结果发现大环内酯类物质响应值随着酸含量的上升呈下降趋势, 而红霉素由于分子结构中含有多个羟基这种趋势表现得更为明显。因此本研究选择与初始流动相相同的 90%水-乙腈溶液(含 0.05%甲酸)为复溶液。

2.7 基质效应

在猪肉、牛肉和羊肉中添加适量标准品进行前处理, 与不含基质经前处理的溶剂标进行检测结果比对。根据公

式计算出不同基质在本研究方法中表现出的基质效应, 如表 4 所示, 可以看出 3 类基质中猪肉基质效应最小, 羊肉基质效应最大。猪肉有 3 类, 牛肉有 4 类参数表现出强基质效应, 而羊肉仅有 1 类表现为弱基质效应, 说明即便是经过了净化材料的处理, 一些化合物仍然受到基质干扰较大。因此, 本研究通过基质标准溶液曲线定量和减小进样量来校正基质效应。

表 4 猪肉、牛肉、羊肉基质效应
Table 4 Matrix effects of pork, beef, and lamb

项目	猪肉/%	牛肉/%	羊肉/%
苯并咪唑类	96.3	86.8	72.0
磺胺类	79.2	56.6	46.3
喹诺酮类	143.3	105.2	66.5
酰胺醇类	109.9	129.7	119.7
β受体激动剂类	97.1	66.3	60.2
四环素类	137.2	109.5	77.7
大环内酯类	117.6	116.8	72.0
糖皮质激素类	56.4	52.3	52.8

2.8 方法学验证

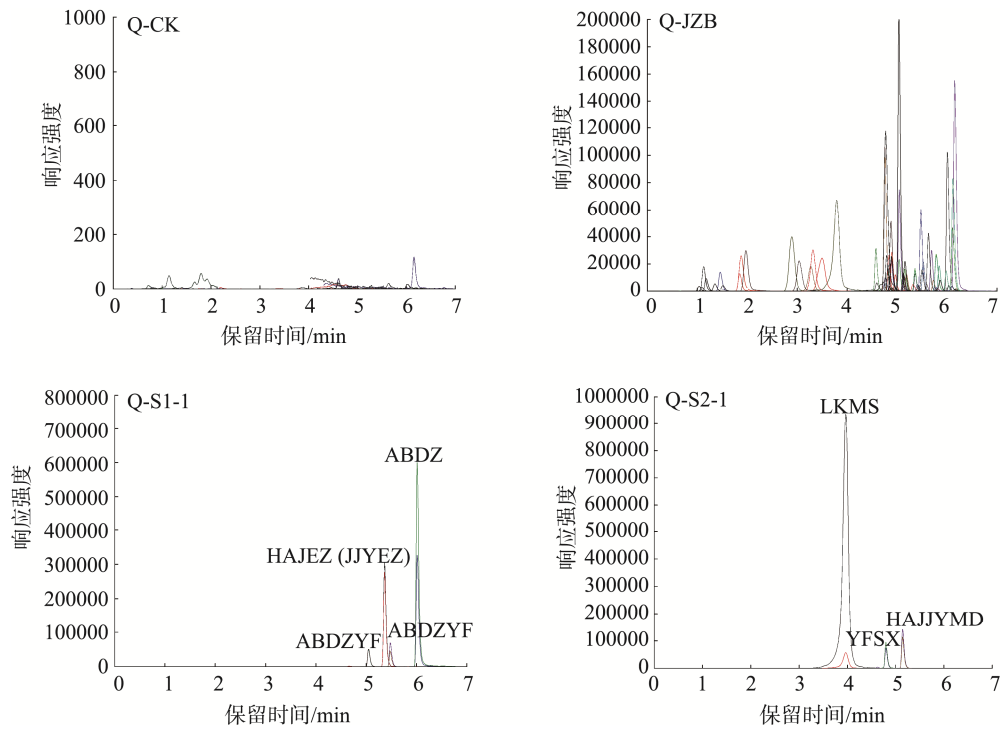
2.8.1 线性范围、检出限和定量限
以牛肉基质为例, 采用阴性样品按照优化好的前处理程序制备基质标准溶液曲线, 以优化好的仪器条件进行上机测定, 以目标化合物定量离子的峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度(X, μg/L)为横坐标绘制标准曲线, 得到 67 种兽药的线性回归方程和相关系数, 如表 5 所示。67 种化合物在 1~50 μg/L 的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r^2 均大于 0.999, 按照定量离子信噪比(S/N)≥3 时计算 LODs, 以(S/N)≥10 时计算 LOQs, 67 种化合物的定量限均低于 10 μg/kg。该方法检出限和定量限低于 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》以及 GB 31650.1—2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》限量要求, 满足日常检测需求。

2.8.2 回收率及精密度
以猪肉、牛肉和羊肉为基质, 加入一定量标准工作液得到低浓度、中浓度和高浓度分别为 5、10 和 50 μg/kg 的基质加标样品, 每个浓度做 3 次平行实验, 经前处理上机检测, 通过数据分析和计算得到平均回收率及精密度[相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)]。以牛肉为例, 结果如表 5 所示, 67 种兽药在低浓度加标水平回收率为 62.7%~99.8%, RSDs 为 1.0%~15.3%; 中浓度加标水平回收率为 61.6%~98.0%, RSDs 为 3.7%~6.6%; 高浓度加标水平回收率为 71.1%~112.7%, RSDs 为 3.0%~8.6%。由此可知本方法符合相关标准要求可用于上述 3 种基质的定性定量检测。

2.9 实际样品测定

本研究应用该方法对呼伦贝尔市 12 个旗市区的 181 批次风险监测样品进行了初筛检测, 结果在 2 批次羊肉样品中检测出 5 种兽药残留不符合 GB 31650—2019 和 GB 31650.1—2022 限量要求。为对检测结果进行确证, 将这 2 批次样品同时使用本研究方法和 GB 31658.17—2021、

GB/T 21324—2007、GB/T 20762—2006 进行方法比对实验, 检测结果图谱如图 4 所示。检测数据经 IBM SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 应用 LSD 法进行差异显著性检验。结果表明 5 种兽药检测值的差异除了磺胺间甲氧嘧啶之外 ($P<0.05$), 其余 4 种兽药与国标方法相比均无显著差异 ($P>0.05$)(表 6), 说明本研究方法检测结果可靠。



注: 1. Q-CK为阴性空白色谱图; Q-JZB为阳性添加色谱图; Q-S1-1为阳性样品I色谱图; Q-S2-1为阳性样品II色谱图。2. 图中目标化合物缩写 LKMS(林可霉素)、YFSX(氧氟沙星)、ABDZYF(阿苯哒唑亚砷)、HAJJYMD(磺胺间甲氧嘧啶)、HAJEZ(磺胺甲噁唑)、ABDZF(阿苯哒唑砷)、ABDZ(阿苯哒唑)。

图4 应用本方法检测羊肉67种兽药残留色谱图
Fig.4 Chromatograms of 67 kinds of veterinary drug residues detected in lamb using this method

3 结 论

本研究建立了 HPLC-MS/MS 同时检测猪肉、牛肉和羊肉中 67 种兽药残留的快速分析方法, 该方法使用 PRiME HLB 通过式固相萃取柱净化样品, 能够有效提高前处理效率, 并对多种兽药进行准确定性定量。方法验证

实验中 3 种基质加标回收率均处于 60%~120%; 实际样品检测过程中, 在实现了高通量快速检测的同时, 实际检测值与国标方法比对结果差异性不显著, 可满足日常大批量多组分兽药残留的分析。另外, 对于承担大批量风险监测任务的检测机构来说, 该方法作为初筛定性定量方法, 在提高检验检测效率和节约资源角度来讲具有现实意义。

表 5 牛肉中 67 种兽药回归方程、相关系数、LODs、LOQs、回收率和 RSDs (n=3)											
Table 5 Regression equations, correlation coefficients, LODs, LOQs, recoveries and RSDs of 67 kinds of veterinary drugs in beef (n=3)											
序号	化合物	线性方程	相关系数	LODs /(μg/kg)	LOQs /(μg/kg)	低加标水平/(μg/kg)		中加标水平/(μg/kg)		高加标水平/(μg/kg)	
						回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
1	阿苯哒唑	$Y=6877.337438X-159.573309$	0.99999	0.08	0.27	75.4	4.5	64.7	5.4	73.5	7.0
2	阿苯哒唑 2 氨基砷	$Y=2327.281871X+232.726097$	0.99997	0.31	1.03	75.7	5.0	75.4	5.1	90.9	5.6

表 5(续)

序号	化合物	线性方程	相关系数	LODs /(μg/kg)	LOQs /(μg/kg)	低加标水平/(μg/kg)		中加标水平/(μg/kg)		高加标水平/(μg/kg)	
						回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
3	阿苯哒唑砒	$Y=1873.864872X-399.217174$	0.99985	0.33	1.10	99.0	2.9	88.2	3.7	86.9	4.5
4	阿苯哒唑亚砒	$Y=863.149250X+383.321362$	0.99953	0.17	0.56	67.5	2.9	71.3	5.8	92.6	6.2
5	苯甲酰磺胺	$Y=2810.581212X+286.705940$	0.99995	0.09	0.32	62.7	2.2	66.4	6.4	71.1	8.6
6	磺胺苯吡唑	$Y=946.040605X+346.328431$	0.99960	0.49	1.64	65.6	1.9	66.2	6.1	82.1	7.3
7	磺胺吡啶	$Y=2785.106653X+951.014702$	0.99978	0.13	0.44	64.1	4.0	68.5	6.2	85.7	7.1
8	磺胺对甲氧嘧啶	$Y=590.360030X+39.121414$	0.99998	0.09	0.31	78.7	2.2	78.8	4.8	78.9	6.3
9	磺胺二甲嘧啶	$Y=1466.284214X+257.987097$	0.99984	0.08	0.27	71.7	3.9	68.6	5.6	81.7	6.7
10	磺胺二甲异噁唑	$Y=1092.972309X-155.593474$	0.99984	0.16	0.55	65.2	3.0	68.4	6.1	79.0	7.6
11	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y=3118.003392X+822.532830$	0.99947	0.04	0.14	66.3	5.2	66.8	6.1	81.0	7.3
12	磺胺甲噁唑	$Y=576.004887X-15.157231$	0.99994	0.54	1.81	67.6	3.1	65.8	6.0	75.9	7.6
13	磺胺甲基嘧啶	$Y=2440.867694X+15.955157$	0.99964	0.10	0.33	75.0	1.3	73.4	5.2	84.8	6.2
14	磺胺间甲氧嘧啶	$Y=474.815409X+183.240081$	0.99992	0.06	0.19	74.9	5.7	65.0	5.4	72.3	7.1
15	磺胺甲噻噁唑	$Y=825.054927X+455.919469$	0.99986	0.68	2.25	66.8	4.6	65.4	6.1	72.2	8.0
16	磺胺甲氧哒嗪	$Y=859.930472X+236.853424$	0.99967	0.23	0.69	72.1	2.5	71.7	5.4	80.6	6.7
17	磺胺氯哒嗪	$Y=605.707565X-97.335653$	0.99997	0.45	1.49	63.1	3.7	61.6	6.6	72.3	8.5
18	磺胺邻二甲氧嘧啶	$Y=831.772600X+145.241928$	0.99989	0.60	1.98	74.9	1.0	64.7	5.4	81.6	6.4
19	磺胺嘧啶	$Y=1192.264922X+271.590575$	0.99981	0.15	0.52	68.4	9.7	66.1	5.9	79.7	7.2
20	磺胺噻唑	$Y=1533.029857X-5.746038$	0.99969	0.04	0.14	74.7	1.7	69.9	5.3	81.1	6.5
21	甲氧苄啶	$Y=2473.544824X+543.371022$	0.99985	0.05	0.17	83.4	2.7	82.2	4.5	96.7	4.7
22	乙酰磺胺	$Y=903.608992X+363.451945$	0.99966	0.36	1.20	72.4	4.9	63.4	5.6	83.2	6.5
23	达氟沙星	$Y=2458.265750X-1366.155889$	0.99980	0.39	1.29	99.8	6.0	86.6	3.7	92.9	4.2
24	二氟沙星	$Y=632.896663X-27.784437$	0.99960	0.52	1.74	79.4	2.0	81.7	4.7	91.1	5.4
25	噻啶酸	$Y=9976.317849X+3836.748860$	0.99996	0.26	0.87	78.4	3.2	80.9	4.8	95.2	5.1
26	恩诺沙星	$Y=704.879881X-69.133174$	0.99914	0.18	0.61	85.2	1.4	84.0	4.3	89.5	5.1
27	氟甲喹	$Y=8120.831849X+4811.901666$	0.99983	0.17	0.58	79.5	1.0	75.1	4.8	95.2	5.1
28	环丙沙星	$Y=1054.063633X+165.161373$	0.99958	0.96	3.21	93.7	1.4	79.3	4.0	87.8	4.8
29	洛美沙星	$Y=1178.146152X+72.659536$	0.99959	0.38	1.25	75.2	1.9	73.9	5.2	82.7	6.3
30	诺氟沙星	$Y=1224.162426X+229.999663$	0.99954	0.30	0.99	98.0	3.3	80.5	3.8	90.4	4.4
31	培氟沙星	$Y=2137.441290X+1910.721663$	0.99968	0.38	1.28	76.6	6.7	89.9	4.7	93.5	5.4
32	沙拉沙星	$Y=494.297281X-208.709557$	0.99975	0.36	1.21	69.5	7.0	88.1	5.2	83.9	6.7
33	司帕沙星	$Y=1045.995855X+48.012220$	0.99981	0.17	0.58	69.9	1.6	78.2	5.4	89.8	6.2
34	氧氟沙星	$Y=1378.411448X+240.626368$	0.99968	0.21	0.68	67.1	4.1	70.8	5.9	83.4	7.0
35	依诺沙星	$Y=2222.035137X-268.923618$	0.99981	0.32	1.08	93.1	2.4	84.7	4.0	89.5	4.7

表 5(续)

序号	化合物	线性方程	相关系数	LODs /(μg/kg)	LOQs /(μg/kg)	低加标水平/(μg/kg)		中加标水平/(μg/kg)		高加标水平/(μg/kg)	
						回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
36	氯霉素	$Y=181.344430X+142.077391$	0.99978	1.12	3.73	67.6	2.7	74.9	5.7	110.2	4.7
37	氟苯尼考	$Y=234.406897X+0.201320$	0.99995	0.06	0.21	82.5	5.8	98.0	4.2	112.7	3.0
38	氟苯尼考胺	$Y=100.819825X+550.044183$	0.99986	0.97	3.23	77.5	1.8	93.1	4.6	96.6	5.1
39	甲矾霉素	$Y=62.159255X+13.587498$	0.99963	0.13	0.44	72.7	8.7	91.8	4.9	88.5	6.1
40	非诺特罗	$Y=1231.701837X+583.242468$	0.99980	0.06	0.21	68.7	3.4	75.7	5.6	91.3	6.2
41	克伦特罗	$Y=3696.233161X+913.098936$	0.99989	0.02	0.05	71.0	6.3	71.3	5.5	88.3	6.2
42	氯丙那林	$Y=5690.367274X+1317.263362$	0.99947	0.27	0.91	65.9	5.8	72.7	5.9	91.0	6.5
43	莱克多巴胺	$Y=1903.841477X+259.397973$	0.99994	0.10	0.34	72.1	2.3	75.7	5.3	88.3	6.1
44	喷布特罗	$Y=12185.355636X+2541.424639$	0.99990	0.02	0.08	72.2	2.6	73.3	5.4	90.5	5.9
45	沙丁胺醇	$Y=2001.968684X+1138.915208$	0.99983	0.31	1.02	69.3	2.0	78.9	5.5	99.4	5.5
46	特布他林	$Y=1391.477434X+738.770666$	0.99947	0.10	0.35	71.0	4.5	75.3	5.4	96.3	5.6
47	妥布特罗	$Y=9145.661153X+2096.120814$	0.99967	0.06	0.19	64.9	1.4	70.7	6.1	90.2	6.6
48	西马特罗	$Y=3184.152485X+22000.078657$	0.99934	0.04	0.12	63.7	2.3	80.5	5.9	97.6	6.1
49	金霉素	$Y=134.351191X+22.776419$	0.99959	1.10	3.68	64.5	5.7	70.2	6.1	86.8	7.0
50	强力霉素	$Y=570.254978X+335.155543$	0.99992	0.52	1.75	63.8	4.6	66.2	6.3	72.7	8.3
51	四环素	$Y=443.523845X+179.879847$	0.99963	0.63	2.08	66.8	6.4	84.8	5.5	80.6	7.3
52	土霉素	$Y=427.869547X+193.804766$	0.99954	0.40	1.34	74.6	1.4	65.0	5.4	71.4	7.2
53	红霉素	$Y=98.894836X+6.990707$	0.99978	1.35	4.51	71.0	15.3	73.3	5.5	100.2	5.3
54	罗红霉素	$Y=1504.326612X-148.206202$	0.99936	0.06	0.19	82.1	3.2	79.0	4.6	90.4	5.2
55	林可霉素	$Y=6542.017707X+194.113019$	0.99988	0.34	1.14	81.8	2.3	75.9	4.7	93.9	5.0
56	泰乐菌素	$Y=1031.526246X+19.544100$	0.99990	0.07	0.24	82.9	2.5	93.5	4.3	109.6	3.9
57	替米考星	$Y=590.967911X-163.197853$	0.99929	0.21	0.71	84.8	1.9	95.1	4.2	110.3	3.7
58	倍氯米松	$Y=261.959621X+130.818544$	0.99909	1.32	4.38	84.8	2.6	64.8	4.8	77.2	6.0
59	倍他米松	$Y=564.121914X+217.831091$	0.99941	0.12	0.41	69.8	1.9	71.4	5.6	91.6	6.1
60	地塞米松	$Y=504.153751X+285.446552$	0.99941	0.23	0.75	66.0	1.3	70.5	6.0	88.8	6.7
61	甲基泼尼松	$Y=526.221459X+227.565157$	0.99963	1.07	3.57	86.0	4.3	73.4	4.5	89.6	5.1
62	泼尼松	$Y=166.236807X+42.691498$	0.99969	0.66	2.19	90.0	1.5	86.3	4.1	90.2	4.8
63	泼尼松龙	$Y=327.322966X+270.619002$	0.99985	1.03	3.42	68.0	6.0	79.6	5.6	91.7	6.2
64	地美硝唑	$Y=1888.719556X-26.468473$	0.99993	0.48	1.61	78.3	2.0	74.1	4.9	86.2	5.8
65	甲硝唑	$Y=1133.791485X+202.286589$	0.99995	0.20	0.68	76.9	2.2	76.9	5.0	94.8	5.3
66	羟基地美硝唑	$Y=571.763146X-224.288436$	0.99914	1.01	3.37	91.7	14.9	82.2	4.1	89.4	4.8
67	羟基甲硝唑	$Y=227.029471X+111.353476$	0.99925	0.30	1.00	67.5	7.2	71.9	5.8	88.4	6.5

注：检出限(limits of detection, LODs), 定量限(limits of quantification, LOQs)。

表 6 本方法与国标方法比对结果
Table 6 Comparison results between this method and the national standard method

化合物	磺胺甲噁唑		阿苯哒唑-2-氨基砒		磺胺间甲氧嘧啶		氧氟沙星		林可霉素	
方法	本方法	GB 31658.17— 2021	本方法	GB/T 21324— 2007	本方法	GB 31658.17— 2021	本方法	GB 31658.17— 2021	本方法	GB/T 20762— 2006
检测值 /(μg/kg)	4120.99± 89.44	4189.96± 16.51	1157.03± 22.50	1143.98± 32.07	2452.58± 86.04	2191.25± 57.15	649.26± 54.36	638.79± 36.30	2377.72± 85.84	2606.41± 142.32
P	0.259		0.595		0.012		0.795		0.076	

参考文献

[1] ABDISA Y, ABDISSA B, KPLPLA T, *et al.* Investigation report of food safety practice and its determinant among food handlers employed in food establishments in Ethiopia Ambo town [J]. *J Agric Food Res*, 2024, 15: 100958.

[2] ZHOU ZX, TIAN DM, YANG YG, *et al.* Machine learning assisted biosensing technology: An emerging powerful tool for improving the intelligence of food safety detection [J]. *Current Res Food Sci*, 2024, 8: 100679.

[3] ZHOU BX, KHAN IM, DING XW, *et al.* Fluorescent DNA-Silver nanoclusters in food safety detection: From synthesis to application [J]. *Talanta*, 2024, 273: 125834.

[4] 郑耀林, 林秋凤, 杨乐, 等. 液相色谱-高分辨质谱技术在兽药残留检测中的研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(3): 7.

ZHENG YL, LIN QF, YANG L, *et al.* Research progress of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry in the detection of veterinary drug residues [J]. *Food Sci*, 2023, 44(3): 7.

[5] WEI LY, WANG ZL, ZHANG HT, *et al.* Recent advances in magnetic relaxation switching biosensors for animal-derived food safety detection [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2024, 146: 104387.

[6] PARK H, CHOI SY, KANG HS, *et al.* Multi residue determination of 96 veterinary drug residues in domestic livestock and fishery products in South Korea [J]. *Aquaculture*, 2022, 553: 738064.

[7] MORLOCK GE, MORLOCK JA, CARDAK AD, *et al.* Potential of simple, rapid, and non-target planar bioassay screening of veterinary drug residues [J]. *J Chromatogr A*, 2022, 1679: 463392.

[8] 洪璐, 刘书余, 郭亚文, 等. 禽蛋和禽肉中兽药残留检测技术研究进展[J]. *中国兽药杂志*, 2023, 57(9): 77–86.

HONG L, LIU SY, GUO YW, *et al.* Research progress on the detection of veterinary drug residues in poultry eggs and poultry meat [J]. *Chin J Vet Med*, 2023, 57(9): 77–86.

[9] SIN JEV, SHEN P, TEO GS, *et al.* Surveillance of veterinary drug residues in food commonly consumed in Singapore and assessment of dietary exposure [J]. *Heliyon*, 2023, 9(11): 21160.

[10] YANG YF, ZHANG H, ZHOU GY, *et al.* Risk assessment of veterinary drug residues in pork on the market in the People’s Republic of China [J]. *J Food Protect*, 2022, 85(5): 815–827.

[11] WANG H, TIAN H, AI LF, *et al.* Screening and quantification of 146 veterinary drug residues in beef and chicken using QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2023, 408: 135207.

[12] 沈建忠, 江海洋. 畜产品中 β -受体激动剂残留及其危害[J]. *中国动物检疫*, 2011, 28(6): 27–28.

SHEN JZ, JIANG HY. Residues of β -receptor agonists in animal products and their hazards [J]. *Chin J Anim Quar*, 2011, 28(6): 27–28.

[13] 张微, 肖曼, 吴丹, 等. 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产养殖“非药品”投入品中 37 种禁限兽药[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(12): 1751–1757.

ZHANG W, XIAO M, WU D, *et al.* Simultaneous determination of 37 kinds of prohibited veterinary drug residues in aquacultural “non-pharmaceutical” inputs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with solid phase extraction [J]. *J Instrum Anal*, 2022, 41(12): 1751–1757.

[14] 孙德军. 畜产品中磺胺类药物残留危害及检测技术的研究进展[J]. *饲料工业*, 2023, 44(9): 73–80.

SUN DJ. Research progress on the hazards and detection technology of sulfonamide residues in livestock products [J]. *Feed Ind*, 2023, 44(9): 73–80.

[15] 许磊. 简述动物源食品中氟喹诺酮类药物残留的危害及检测方法[J]. *四川农业科技*, 2022, (9): 92–94.

XU L. Briefly describe the hazards and detection methods of fluoroquinolone residues in animal-derived foods [J]. *Sichuan Agric Sci Technol*, 2022, (9): 92–94.

[16] HOOF NV, WASCH KD, OKERMAN L, *et al.* Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantification of eight quinolones in bovine muscle, milk and aquacultured products [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 529(1-2): 265–272.

[17] 吴家全, 李军民. 多抗霉素研究现状与市场前景[J]. *农药科学与管理*, 2010, 31(11): 21–23.

WU JQ, LI JM. Research status and market prospect of polyantimycin [J]. *Pestic Sci Adm*, 2010, 31(11): 21–23.

[18] 佟芳荪, 潘晓敏, 邱国林, 等. LC-MS/MS 检测动物源性食品中 12 种激素类、硝基咪唑类和酰胺醇类药物残留[J]. *食品安全导刊*, 2023, (14): 53–57, 62.

TONG FD, PAN XM, QIU GL, *et al.* Detection of 12 hormones, nitroimidazoles and amide alcohols in animal-derived foods [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2023, (14): 53–57, 62.

[19] PEDERSEN M, HAKME E, NINGAN E, *et al.* Analysis of veterinary drug- and pesticide residues in pig muscle by LC-QTOF-MS [J]. *Food Control*, 2023, 148: 109656.

[20] 张念英, 嵯欢欢, 郭冰. 畜禽肉及鸡蛋等动物源性食品中 44 种多兽药残留检测超高效液相色谱-串联质谱法[J]. *农产品加工*, 2021, (23): 5.

ZHANG NY, ZHEN HH, GUO B. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the detection of 44 kinds of multi-veterinary drug residues in animal-derived foods such as livestock and poultry meat and eggs [J]. *Farm Prod Process*, 2021, (23): 5.

[21] DESMARCHELIER A, SAVOY MC, DELATOUR T, *et al.* Extended coverage of veterinary drug residues in food by LC-HRMS to ensure food compliance and prevent the spread of antimicrobial resistance [J]. *Microchem J*, 2022, 183: 108057.

[22] 解迎双, 张欢, 王新潮, 等. 动物源性食品中多种兽药残留 UPLC-MS/MS 分析方法的构建[J]. *中国口岸科学技术*, 2023, 5(3): 88–96.

XIE YS, ZHANG H, WANG XC, *et al.* Construction of UPLC-MS/MS analysis method for multiple veterinary drug residues in animal-derived

- food [J]. *Chin Port Sci Technol*, 2023, 5(3): 88–96.
- [23] 李宏, 向俊, 李丹, 等. QuEChERS-UPLC-MS/MS 同时测定鸡肉中 80 种兽药残留[J]. *食品与机械*, 2023, 39(6): 48–54, 80.
- LI H, XIANG J, LI D, *et al*. Simultaneous determination of 80 veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-UPLC-MS/MS [J]. *Food Mach*, 2023, 39(6): 48–54, 80.
- [24] 鲍珊, 钱东坤, 付慧, 等. 液液萃取/气相色谱-串联质谱法测定人尿中 16 种羟基多环芳烃[J]. *分析测试学报*, 2024, 43(2): 261–268.
- BAO S, QIAN JK, FU H, *et al*. Determination of 16 kinds of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by liquid-liquid extraction/gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2024, 43(2): 261–268.
- [25] 刘先军, 冯家力, 曾栋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中 18 种生物碱及风险评估[J]. *分析测试学报*, 2023, 42(11): 1517–1523.
- LIU XJ, FENG JL, ZENG D, *et al*. Risk assessment and determination of 18 alkaloids in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2023, 42(11): 1517–1523.
- [26] 严祖浩, 李晓薇, 夏曦. 牛奶中 69 种兽药残留的超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱快速筛查[J]. *分析测试学报*, 2023, 42(10): 1309–1318.
- YAN ZH, LI XW, XIA X. Rapid screening of 69 veterinary drug residues in milk by ultra-high performance liquid chromatography- quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Inst Anal*, 2023, 42(10): 1309–1318.
- [27] 季宝成, 杨澜瑞, 韩雨, 等. 动物源性食品兽药多残留检测中基质净化与液相色谱-质谱联用技术研究进展[J]. *轻工学报*, 2023, 38(5): 8–16.
- JI BC, YANG LR, HAN Y, *et al*. Research progress on matrix purification and liquid chromatography-mass spectrometry technology in the detection of multiple residues in animal-derived food and veterinary drugs [J]. *J Light Ind*, 2023, 38(5): 8–16.
- [28] 何苗. 蛋类农产品中兽药残留检测技术优化与应用研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2023.
- HE M. Optimization and application of veterinary drug residue detection technology in egg agricultural products [D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2023.
- [29] 李晓芹, 方志娟, 王伟, 等. 乙腈和甲酸含量对猪肉和鸡蛋中兽药残留回收率的影响[J]. *安徽农业科学*, 2023, 51(8): 190–193, 217.
- LI XQ, FANG ZJ, WANG W, *et al*. Effect of acetonitrile and formic acid content on the recovery rate of veterinary drug residues in pork and eggs [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2023, 51(8): 190–193, 217.
- [30] JIA TT, OUYANG SL, CHEN WR, *et al*. Develop an external standard method for high-flux determination of veterinary drug residues liquid milk without solid phase extraction [J]. *Food Chem*, 2024, 433: 137269.
- [31] 刘新辉, 孙艳丽, 丁文慧, 等. Oasis PRiME HLB 净化法测定动物源性食品中的硝基呋喃代谢物[J]. *农产品质量与安全*, 2020, (1): 32–36.
- LIU XH, SUN YL, DING WH, *et al*. Determination of nitrofurans metabolites in animal-derived food by Oasis PRiME HLB purification method [J]. *Agric Prod Qual Saf*, 2020, (1): 32–36.
- [32] 吴彦蕾, 苏敏, 周纯洁, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 76 种兽药及其代谢物[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(20): 311–321.
- WU YL, SU M, ZHOU CJ, *et al*. Simultaneous detection of 76 veterinary drugs and their metabolites in pork by QuEChERS-ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, 44(20): 311–321.
- [33] 秦立得, 赵思俊, 宋翠平. QuEChERS 法在兽药残留检测中的优化与应
- 用[J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(12): 98–107.
- QIN LD, ZHAO SJ, SONG CP. Optimization and application of QuEChERS method in the detection of veterinary drug residues [J]. *Chin J Anim Quar*, 2020, 37(12): 98–107.
- [34] 周雪蕊, 胡婷婷, 王佳慧, 等. 高效液相色谱-高分辨质谱法快速筛查动物源性药食同源产品中 32 种抗生素兽药残留[J]. *吉林中医药*, 2023, 43(12): 1469–1474.
- ZHOU XC, HU TT, WANG JH, *et al*. Rapid screening of 32 kinds of antibiotics and veterinary drug residues in animal-derived medicinal and edible homologous products by high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Jilin J Tradit Chin Med*, 2023, 43(12): 1469–1474.
- [35] 李照, 常建军, 喻东威, 等. 高效液相色谱串联质谱法检测液体乳中四环素类和喹诺酮类兽药残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(3): 688–692.
- LI Z, CHANG JJ, YU DW, *et al*. Detection of tetracycline and quinolone veterinary drug residues in liquid milk by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(3): 688–692.
- [36] 秦宇, 葛宇. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定禽蛋中 12 种禁用兽药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(7): 2258–2266.
- QIN Y, GE Y. Simultaneous determination of 12 kinds of banned veterinary drugs residues in poultry eggs by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(7): 2258–2266.
- [37] 武源, 覃慧丽, 黄姝焱, 等. PRiME HLB 固相萃取柱结合气相色谱-串联质谱法快速测定茶叶中 200 种农药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(2): 650–656.
- WU Y, QIN HL, HUANG XY, *et al*. Rapid determination of 200 kinds of pesticide residues in tea by PRiME HLB solid phase extraction column combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(2): 650–656.
- [38] 张颖. QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 测定水产品中兽药残留的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021.
- ZHANG Y. Study on the determination of veterinary drug residues in aquatic products by QuEChERS combined with UPLC-MS/MS [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2021.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

作者简介



王佳琪, 硕士, 工程师, 主要研究方向为农畜产品质量安全检验检测。
E-mail: 1396531031@qq.com



孙小丽, 硕士, 讲师, 主要研究方向为农产品食品检测。
E-mail: sxl890325@163.com