

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240726002

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法筛查鸡蛋中 165 种农药、兽药残留

孟 蕾¹, 吕 斌¹, 聂晓红¹, 宋志超¹, 彭 丽¹, 张盼盼¹, 赵逢冰¹, 王克然^{2*}

(1. 河南农畜水产品检验技术研究院, 郑州 450008; 2. 漯河市畜牧兽医执法大队, 漯河 462000)

摘 要: **目的** 建立一种基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查鸡蛋中 165 种农药、兽药残留的方法。**方法** 样品经过 0.1% 甲酸水溶液和乙腈溶液提取, 氯化钠和无水硫酸钠盐析, HyperSep Retain PEP 固相萃取柱净化后, 采用 ZORBAX Eclipse plus C₁₈ 色谱柱分离, 以 0.1% 甲酸水(0.03% 氨水)-0.1% 甲酸乙腈(0.03% 氨化乙腈)梯度洗脱, 分别在正/负离子模式下, 使用高分辨质谱 Q-Exactive Plus 采集数据。通过目标物信号响应、保留时间偏差、质量偏差等因素进行筛查和确证。**结果** 建立了 165 种农药、兽药的质谱数据库。165 种农药、兽药在 0.5~100.0 ng/mL 范围内线性关系良好, 线性相关系数(r^2)均大于 0.99。检出限为 0.5~3.0 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 1.0~10.0 $\mu\text{g/kg}$; 在 3 个不同浓度添加水平下, 165 种农药、兽药的平均回收率为 41.36%~134.79%; 批内和批间的相对标准偏差($n=5$)为 1.02%~19.97%, 均小于 20.00%。将该方法应用于 100 批鸡蛋样品的检测, 其中检出氟苯尼考阳性 8 份, 浓度为 5.27~15.62 $\mu\text{g/kg}$; 检出恩诺沙星阳性 5 份, 浓度为 10.53~26.52 $\mu\text{g/kg}$; 检出磺胺间甲氧嘧啶阳性 2 份, 浓度分别为 12.66 $\mu\text{g/kg}$ 和 19.49 $\mu\text{g/kg}$, 与国家标准检测结果相比, 本方法的筛查准确率为 100%。**结论** 该方法简单、快速、准确, 可用于鸡蛋中农药、兽药残留的筛查和确证, 为政府监管鸡蛋质量安全提供技术支撑。

关键词: 鸡蛋; 农药; 兽药; 残留; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法; 筛查

Rapid screening of 165 kinds of pesticides and veterinary drugs residual in eggs by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry

MENG Lei¹, LV Bin¹, NIE Xiao-Hong¹, SONG Zhi-Chao¹, PENG Li¹, ZHANG Pan-Pan¹,
ZHAO Feng-Bing¹, WANG Ke-Ran^{2*}

(1. Henan Institute of Agricultural, Animal and Aquatic Products Inspection and Testing Technologies, Zhengzhou 450008, China; 2. Luohe Institute of Animal Husbandry Veterinarian Law Enforcement Corps, Luohe 462000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid screening method for 165 kinds of pesticides and veterinary drugs in eggs based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods** The sample was extracted with 0.1% formic acid and acetonitrile, cleaned by HyperSep Retain PEP cartridge after salted out by sodium chloride and sodium sulfate anhydrous, separated by ZORBAX Eclipse plus C₁₈ column, and then eluted by gradient with 0.1% formic acid water (0.03% ammonia water)-0.1% formic acid acetonitrile (0.03% ammoniated acetonitrile), using the high resolution mass spectrometry Q-Exactive

*通信作者: 王克然, 高级兽医师, 主要研究方向为畜产品质量安全。E-mail: xcp77929@163.com

*Corresponding author: WANG Ke-Ran, Senior Veterinarian, Luohe Institute of Animal Husbandry Veterinarian Law Enforcement Corps, Luohe 462000, China. E-mail: xcp77929@163.com

plus to collect data in the positive/negative ion mode, screening and confirmation were carried out through target signal response, retention time deviation, quality deviation and other factors. **Results** The mass spectrum database of 165 kinds of pesticides and veterinary drugs was established, the results showed that 165 kinds of pesticides and veterinary drugs exhibited good linearity within the range of 0.5–100.0 ng/mL, and the correlation coefficient (r^2) were all over 0.99. The limits of detection for this method were 0.5–3.0 $\mu\text{g/kg}$, the limits of quantitative were 1.0–10.0 $\mu\text{g/kg}$. Recovery test with 3 different addition contents showed the results in the range of 41.36%–134.79%, and all the relative standard deviation ($n=5$) were 1.02%–19.97%, less than 20.00%. At last the method was applied to detection of 100 egg samples, among which 8 samples contained florfenicol with the amount range from 5.27–15.62 $\mu\text{g/kg}$, 5 samples contained enrofloxacin with the amount range from 10.53–26.52 $\mu\text{g/kg}$, 2 samples contained sulfamonomethoxine with the amount 12.66 $\mu\text{g/kg}$ and 19.49 $\mu\text{g/kg}$. Compared with the results of national standard method, the accuracy of this method for veterinary drugs screening was 100% in this study. **Conclusion** This method is simple, fast and accurate, and could be used for simultaneous screening and quantitative analysis of pesticides and veterinary drugs in eggs, providing technical support for government supervision of egg quality and safety.

KEY WORDS: egg; pesticides; veterinary drugs; residues; ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry; screening

0 引言

随着世界范围内农药、兽药的广泛使用,动物食品中农药、兽药的残留是不可避免的。鸡蛋作为最重要的动物源食品之一,其安全性会直接影响消费者的身体健康。尤其 2017 年“毒鸡蛋”事件,引起了公众对鸡蛋中农药、兽药残留的广泛关注。针对农药、兽药残留,欧盟和我国均制定了相关标准。我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》和 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》明确规定了兽药在鸡蛋中的最高残留限量和禁止使用的兽药种类,但是养殖户在利益的驱使下,滥用农药和兽药,不遵守休药期的现象依然存在。因此,建立同时检测鸡蛋中多种农药、兽药残留的高通量筛查方法,对保障食品安全有重要意义。

近些年,随着检测技术的发展,农药、兽药残留检测从单一类别向多类别发展,前处理技术和仪器分析技术也趋向多元化。常见的前处理技术包括液液萃取^[1–2]、固相萃取^[3–4]、基质分散固相萃取^[5–7]、分子印迹和 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)^[8–13]等。常见的仪器分析技术主要包括液相色谱-串联四极杆^[14–17]和液相色谱-高分辨质谱法^[18–23],其中液相色谱-高分辨质谱因其更好的选择性、分辨率和灵敏度^[24–28],在动物源性食品的中残留检测分析得到广泛应用。

目前,我国关于鸡蛋的残留检测研究和现行标准主要基于液相色谱-串联四极杆技术,并且检测化合物种类为兽药,同时检测农药和农药的检测研究较少。李婧妍等^[6]利用高效液相色谱-串联质谱法检测了 9 种氟喹诺酮类药物,朱万燕等^[14]利用高效液相色谱-串联质谱法检测了鸡蛋中 31 种产蛋期禁用兽药。但从大宗饲料、中兽药、杀虫剂、环境消毒等环节引入并造成鸡蛋农药残留的高风险因

子不容忽视,为鸡蛋的质量安全造成了安全隐患。

因此,本研究主要利用液液萃取和固相萃取技术,结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术,建立一种可同时检测鸡蛋中磺胺、氟喹诺酮、苯并咪唑、硝基咪唑、 β -受体激动剂、激素、抗病毒、镇静剂、农药 9 大类 165 种农药、兽药残留的筛查方法,旨在为鸡蛋中农药、兽药的风险评估和政府监管鸡蛋质量安全提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋购于郑州市超市和农贸市场。

磺胺、酰胺醇和抗病毒等 29 种标准品(纯度均大于 95%,中国药品生物制品检定所);氟喹诺酮和苯并咪唑等 37 种标准品(纯度均大于 95%,天津阿尔塔科技有限公司);硝基咪唑、镇静剂和农药等 62 种标准品(纯度均大于 95%,德国 DrEhrenstorfer 公司); β -受体激动剂等 19 种标准品(纯度均大于 95%,北京振翔科技有限公司);激素等 18 种标准品(纯度均大于 95%,德国 Witega 公司),化合物名称见表 1;乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Meker 公司);甲酸(色谱纯,美国 Fisher 公司);氨水(色谱纯,美国 Sigma 公司);氯化钠、无水硫酸钠(分析纯,天津科密欧公司);实验用水为经 Milli-Q 净化系统(美国 Millipore 公司)制备的去离子水。

1.2 仪器与设备

Q-Exactive Plus 四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪(配 H-ESI II 源)、UltiMate 3000 液相色谱系统、HyperSep Retain PEP 柱(500 mg)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);3-30K 型高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司);Xp-205 型电子分析天平(精度 0.001 g,梅特勒-托利多仪器上海有限公司);IKA MS3 basic 漩涡仪(艾卡广州仪器设备有限公司);

表 1 质谱库信息
Table 1 Information of mass library

名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2	名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2
磺胺二甲嘧啶	甲醇	279.09102	M+H	+	8.60	156.01138	124.08694	己烷雌酚	甲醇	271.16926	M+H	+	12.25	109.11170	253.15870
磺胺邻二甲氧嘧啶	甲醇	311.08085	M+H	+	9.77	156.01138	140.04545	去氢甲睾酮	甲醇	301.21621	M+H	+	13.05	283.20564	149.13248
磺胺异噁唑	甲醇	268.07504	M+H	+	10.07	156.01110	108.04462	甲基泼尼松龙	甲醇	375.21660	M+H	+	11.31	161.09610	135.08040
磺胺咪	甲醇	215.05972	M+H	+	3.60	156.01138	108.04439	炔诺酮	甲醇	299.20056	M+H	+	13.43	109.06480	281.19000
磺胺甲噁啶	5%氨化甲醇	265.07537	M+H	+	8.04	190.02809	156.01138	泼尼卡酯	甲醇	489.24829	M+H	+	15.20	147.08040	289.15870
磺胺甲噁二唑	甲醇	271.03179	M+H	+	8.53	156.01138	108.04439	泼尼松龙	甲醇	361.20095	M+H	+	10.51	147.08040	171.08040
磺胺甲恶唑	甲醇	254.05939	M+H	+	9.79	156.01138	108.04439	泼尼松	甲醇	359.18530	M+H	+	10.57	341.17474	237.12739
磺胺对甲氧嘧啶	5%氨化甲醇	281.07029	M+H	+	8.05	108.04465	156.01115	去氢睾酮	甲醇	287.20056	M+H	+	12.52	121.06470	135.11670
磺胺甲氧吡嗪	5%氨化甲醇	281.07029	M+H	+	7.82	215.09274	156.01138	康力龙	甲醇	329.25874	M+H	+	12.90	121.10118	81.04472
磺胺间甲氧嘧啶	甲醇	281.07029	M+H	+	8.41	215.09274	156.01138	丙酸睾酮	甲醇	345.24242	M+H	+	18.16	271.20564	253.19508
磺胺二甲唑	甲醇	268.07504	M+H	+	8.23	156.01110	108.04462	群勃龙	甲醇	271.16926	M+H	+	12.25	253.15869	199.11174
磺胺吡啶	5%氨化甲醇	250.06447	M+H	+	7.73	184.08692	156.01138	曲安奈德	甲醇	435.21774	M+H	+	11.98	397.20100	339.15910
磺胺噻恶咪	5%氨化甲醇	301.07537	M+H	+	10.66	156.01138	108.04439	倍氯米松	甲醇	409.17763	M+H	+	11.77	391.16710	279.17430
磺胺噻唑	甲醇	256.02089	M+H	+	7.50	156.01138	108.04439	倍他米松双丙酸酯	甲醇	505.25961	M+H	+	15.72	279.17410	319.16930
磺胺二甲异噻唑	甲醇	279.09102	M+H	+	6.72	124.08692	108.04439	地美硝唑	甲醇	142.06110	M+H	+	7.20	112.06311	95.06037
甲氧苄啶	甲醇	291.14517	M+H	+	7.46	275.11387	261.09822	异丙硝唑	甲醇	170.09240	M+H	+	10.42	140.09441	123.09167
二甲氧苄啶	甲酸	261.13460	M+H	+	7.20	245.10330	123.06652	甲硝唑	甲醇	172.07167	M+H	+	6.49	128.04545	82.05255
酞磺胺噻唑	甲醇	404.03694	M+H	+	9.33	149.02313	256.02032	奥硝唑	甲醇	220.04835	M+H	+	8.90	128.04547	203.14304
苯砒磺胺	甲醇	277.06414	M+H	+	10.57	156.01138	108.04439	羧基地美硝唑	甲醇	158.05602	M+H	+	6.51	140.04550	110.04750
磺胺醋酰	甲醇	215.04849	M+H	+	6.92	173.03792	156.01138	罗硝唑	甲醇	201.06183	M+H	+	7.16	140.04545	110.04746
磺胺氯吡嗪	甲醇	285.02075	M+H	+	9.48	156.01138	108.04439	塞克硝唑	甲醇	186.08732	M+H	+	7.60	128.04550	111.04270
磺胺密啶	5%氨化甲醇	251.05972	M+H	+	7.30	156.01138	108.04439	替硝唑	甲醇	248.06995	M+H	+	8.27	154.06110	110.08384
磺胺间二甲氧嘧啶	甲醇	311.08085	M+H	+	10.67	156.07675	108.04439	金刚烷胺	甲醇	152.14338	M+H	+	7.67	135.11683	107.08553
洛美沙星	甲醇	352.14672	M+H	+	7.78	308.15690	265.11470	金刚乙胺	甲醇	180.17468	M+H	+	9.25	163.14778	81.07040
马波沙星	5%氨化甲醇	363.14631	M+H	+	7.38	320.10411	72.08078	氯霉素	甲醇	321.00505	M-H	-	6.08	257.03346	194.04588
那氟沙星	5%氨化甲醇	361.15581	M+H	+	11.10	343.14389	283.08725	氟米尼考	甲醇	355.99319	M-H	-	4.27	335.98696	185.02779
萘啶酸	5%氨化甲醇	233.09207	M+H	+	11.70	205.06077	187.05020	甲氧霉素	甲醇	353.99752	M-H	-	5.70	290.02593	185.02779

表 1(续)

名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2	名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2
诺氟沙星	5%氯化甲醇	320.14050	M+H	+	7.46	276.15067	233.10847	氟哌啶醇	甲醇	376.14741	M+H	+	10.56	358.13685	165.07102
氧氟沙星	甲醇	362.15106	M+H	+	7.52	318.16123	261.10338	盐酸丙咪嗪	甲醇	281.20123	M+H	+	11.02	86.09630	236.14340
奥比沙星	甲醇	396.15295	M+H	+	8.11	352.16312	295.10527	硝西洋	甲醇	282.08732	M+H	+	11.79	268.08383	207.09126
恶唑酸	5%氯化甲醇	262.07100	M+H	+	10.24	244.06043	234.03970	奥沙西洋	甲醇	287.05818	M+H	+	11.77	241.05203	269.04703
培氟沙星	甲醇	334.15615	M+H	+	7.56	290.16632	233.10847	匹莫林	甲醇	177.06585	M+H	+	7.93	106.06510	79.05420
西诺沙星	甲醇	263.06625	M+H	+	9.02	235.07133	217.06077	奋乃静	甲醇	404.15579	M+H	+	11.09	143.11763	171.14877
沙拉沙星	甲醇	386.13107	M+H	+	8.40	342.14125	299.09905	异丙嗪	甲醇	285.14200	M+H	+	10.65	198.03720	86.09643
司帕沙星	5%氯化甲醇	393.17327	M+H	+	8.46	349.18344	292.12559	丙酸丙噻	甲醇	341.16821	M+H	+	11.28	86.09640	58.06510
环丙沙星	5%氯化甲醇	332.14050	M+H	+	7.59	288.15067	245.10847	舒必利	甲醇	342.14820	M+H	+	6.41	214.01690	112.11210
达氟沙星	甲醇	358.15615	M+H	+	7.77	314.16632	283.12412	甲苯噻嗪	甲醇	221.11070	M+H	+	8.48	90.03720	164.05280
二氟沙星	甲醇	400.14672	M+H	+	8.50	356.15689	299.09905	乙酞丙噻	甲醇	327.15256	M+H	+	10.52	254.06341	86.09643
依诺沙星	5%氯化甲醇	321.13575	M+H	+	7.35	277.14592	257.13969	阿扎哌醇	甲醇	330.19762	M+H	+	7.56	312.18650	121.07600
恩诺沙星	甲醇	360.17180	M+H	+	7.95	316.18197	245.10847	阿扎哌隆	甲醇	328.18197	M+H	+	8.17	165.07069	121.07603
氟罗沙星	5%氯化甲醇	370.13730	M+H	+	7.56	326.14747	269.08962	卡马西平	甲醇	237.10224	M+H	+	11.44	194.09640	220.07570
氟甲喹	5%氯化甲醇	262.08740	M+H	+	11.89	244.07683	220.04045	地西洋	甲醇	285.07892	M+H	+	13.85	154.04150	193.08830
加替沙星	5%氯化甲醇	376.16671	M+H	+	8.19	332.17688	289.13468	苯海拉明	甲醇	256.16959	M+H	+	10.20	167.08550	152.06210
甲苯咪唑	二甲基亚砷	296.10297	M+H	+	11.05	264.07675	105.03349	氟哌利多	甲醇	380.17688	M+H	+	9.61	165.07072	194.09726
氨基甲苯咪唑	甲醇	238.09749	M+H	+	8.67	105.03369	/	艾司唑仑	甲醇	295.07450	M+H	+	11.75	267.05524	205.07550
2-氨基氟苯咪唑	二甲基亚砷	256.08807	M+H	+	8.97	123.02410	113.03970	噻嗪酮	丙酮	306.16346	M+H	+	17.65	201.10561	116.05285
奥芬达唑	二甲基亚砷	316.07504	M+H	+	9.46	284.04882	223.05760	萎锈灵	丙酮	236.07398	M+H	+	12.81	143.01613	93.05730
奥苯达唑	二甲基亚砷	250.11862	M+H	+	9.48	218.09240	176.04545	3-羟基咪喃丹	丙酮	238.10738	M+H	+	9.26	163.07536	135.08044
丁苯咪唑	二甲基亚砷	248.13935	M+H	+	10.78	216.11310	160.05050	噻虫胺	丙酮	250.01600	M+H	+	9.17	131.96692	113.01680
5-羟基噻苯达唑	二甲基亚砷	218.03826	M+H	+	6.60	191.02736	/	环丙氨噻	丙酮	167.10397	M+H	+	3.82	85.05087	125.08217
噻苯达唑	甲醇	219.06989	M+NH4	+	7.25	175.03245	131.06037	地昔尼尔	丙酮	191.10397	M+H	+	5.66	150.06462	109.05099
三氟苯咪唑	甲醇	358.95739	M+H	+	15.72	273.99597	343.93353	苯醚甲环唑	丙酮	406.07197	M+H	+	15.99	251.00250	337.03928
阿米达唑	甲醇	266.09577	M+H	+	9.73	234.06956	191.01478	氟脲杀	丙酮	309.02478	M+H	-	9.86	156.02555	289.01746
阿米达唑砜	甲醇	298.08560	M+H	+	9.61	266.05939	224.01244	敌草隆	丙酮	233.02429	M+H	+	12.84	72.04439	159.97153
阿米达唑亚砷	甲醇	282.09069	M+H	+	8.22	240.04347	208.01752	硫丹硫酸酯	丙酮	418.80452	M+H	-	12.70	96.95901	/

表 1(续)

名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2	名称	溶剂	母离子	加合方式	模式	保留时间/min	子离子 1	子离子 2
阿苯达唑啞基砒	甲醇	240.08012	M+H	+	7.10	198.03317	165.05328	乙氧酰肼苯甲酯	丙酮	238.10738	M+H	+	10.52	206.08117	164.07061
苯并咪唑	甲醇	119.06037	M+H	+	4.99	92.04950	65.03860	氟虫脒	丙酮	434.93143	M-H	-	11.53	329.95845	249.95853
非班太尔	二甲基亚砒	447.13328	M+H	+	15.03	383.08085	280.05391	氟虫脒疏醚	丙酮	418.93651	M-H	-	12.72	170.00863	382.96057
芬苯吡唑	甲醇	300.08012	M+H	+	12.53	268.05391	159.04271	氟啶草酮	丙酮	330.11003	M+H	+	13.80	310.10380	290.09757
拉来咪唑	甲醇	206.09240	M+H	+	7.71	160.05050	178.06090	乙酰甲胺磷	丙酮	184.01918	M+H	+	5.80	142.99264	112.99968
盐酸赛庚啶	甲醇	288.17468	M+H	+	10.97	191.08553	96.08078	环嗪酮	丙酮	253.16590	M+H	+	10.82	171.08765	71.06037
非诺特罗	甲醇	304.15433	M+H	+	6.74	286.14377	135.08044	抑霉唑	丙酮	297.05560	M+H	+	10.95	158.97628	255.00864
拉贝洛尔	甲醇	329.18597	M+H	+	9.22	311.17540	294.14886	吡虫啉	丙酮	256.05958	M+H	+	9.51	209.05885	175.09793
喷布特罗	甲醇	292.22711	M+H	+	11.38	236.16451	201.12739	虱螨脲	丙酮	508.97115	M-H	-	14.28	452.98824	325.95796
苯乙醇胺 A	甲醇	345.18088	M+H	+	10.29	327.17032	150.09134	甲霜灵	丙酮	280.15433	M+H	+	12.84	220.13321	192.13829
莱克多巴胺	甲醇	302.17507	M+H	+	7.78	284.16451	164.10699	啉草酮	丙酮	215.09611	M+H	+	11.86	187.10119	131.03859
沙丁胺醇	甲醇	240.15942	M+H	+	5.90	148.07569	166.08625	腈菌唑	丙酮	289.12145	M+H	+	14.42	70.03997	125.01525
沙美特罗	甲醇	416.27954	M+H	+	11.33	398.26897	380.25840	啉虫脒	丙酮	223.07450	M+H	+	9.04	126.01050	98.99970
特布他林	甲醇	226.14377	M+H	+	5.88	170.08117	152.07061	氟草敏	丙酮	304.04590	M+H	+	12.98	284.03967	160.03686
马布特罗	甲醇	311.11325	M+H	+	9.20	237.03951	217.03343	苯基硫脲	丙酮	153.04810	M+H	+	8.17	136.02129	94.06545
妥布特罗	甲醇	228.11497	M+H	+	8.43	172.05237	154.04180	毒草胺	丙酮	212.08367	M+H	+	13.43	170.03672	94.06513
班布特罗	甲醇	368.21800	M+H	+	8.86	312.15540	294.14483	吡啶醚菌酯	丙酮	410.08780	M+Na	+	16.42	163.06278	164.07060
溴布特罗	甲醇	364.98586	M+H	+	8.93	290.91270	211.99436	啉虫脒	丙酮	365.14489	M+H	+	19.25	147.11683	309.08229
西马特罗	甲醇	220.14444	M+H	+	6.08	202.13387	160.08692	吡丙醚	丙酮	344.12571	M+Na	+	17.84	96.04439	227.10666
西布特罗	甲醇	234.16009	M+H	+	6.77	160.08656	143.06007	莠去津	丙酮	216.10105	M+H	+	12.75	174.05410	96.05562
克伦特罗	甲醇	277.08690	M+H	+	7.60	259.07633	203.01373	西玛津	丙酮	202.08540	M+H	+	11.45	132.03230	104.00100
克伦丙罗	甲醇	271.20564	M+H	+	7.97	253.19508	/	虫酰肼	丙酮	375.20430	M+Na	+	15.65	133.06479	105.06988
盐酸可乐定	甲醇	230.02463	M+H	+	6.96	212.99808	/	呋菌酯	丙酮	431.11891	M+Na	+	16.86	186.05251	145.02596
氯丙那林	甲醇	214.09932	M+H	+	7.94	196.08875	154.04180	去乙基锡去津	丙酮	188.06975	M+H	+	9.48	146.02280	104.00100
司的松	甲醇	361.20095	M+H	+	10.51	163.11170	121.06480	甲基吡啶磷	丙酮	324.98093	M+H	+	11.52	182.99532	130.00531
地夫可特	甲醇	442.22241	M+H	+	12.69	142.04990	312.19580	啉菌酯	丙酮	404.12410	M+H	+	14.39	344.10397	329.07949
苯甲酸雌二醇	甲醇	377.21112	M+H	+	12.52	279.17430	321.18490	阿托品	甲醇	290.17507	M+H	+	7.80	124.11208	93.06988
氟米龙	甲醇	377.21226	M+H	+	12.52	279.17430	135.08040	/	/	/	/	/	/	/	/

注: /表示无此项;

Milli-QA10 超纯水仪(美国 Milipore 公司); TTL-DCII型氮吹仪(美国 Organomation Associates 公司); 尼龙针式过滤器(0.22 μm , 上海安普公司); ZORBAX Eclipse plus C₁₈ 柱(150 mm $\times$ 3.0 mm, 1.8 μm)(美国 Agilent 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

称取 5.00 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入 3.0 mL 0.1% 甲酸水溶液和 10.0 mL 乙腈, 涡旋混匀后, 高速振荡 10 min, 25 $^{\circ}\text{C}$, 4000 r/min 离心 5 min, 转移上清液于另一 50 mL 离心管中, 残渣重复提取, 合并两次上清液。上清液加入 1.5 g 氯化钠和 6.0 g 无水硫酸钠, 涡旋 30 s, 静置 10 min 后 7000 r/min 离心 5 min, 吸出上层液备用。

HyperSep Retain PEP 小柱(500 mg/6 cc)依次用 4.0 mL 甲醇和 4.0 mL 水活化平衡后, 先取 2.0 mL 上层液润洗小柱, 弃去流出液。再移取适量备用液通过小柱, 收集流出液并准确移取 4.0 mL 于 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹干, 加入 200 μL 甲醇后涡旋混匀 30 s, 再加入 800 μL 纯水涡旋混匀 10 s, 过 0.22 μm 尼龙滤膜, 上机测定。

1.3.2 标准溶液的配制

标准储备液: 取 165 种药物标准品各适量(相当于各活性成分约 10 mg), 精密称定, 分别加入表 1 中每种药物对应的溶剂适量使溶解并用甲醇稀释定容至 10 mL 棕色容量瓶, 配成质量浓度均为 1 mg/mL 的标准储备液, -18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光冷冻保存, 保存期为 6 个月。

混合标准中间液: 分别移取同类别药物标准储备液各 100 μL , 用甲醇分别稀释定容至 10 mL 棕色容量瓶, 配成质量浓度均为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的磺胺、氟喹诺酮、苯并咪唑、硝基咪唑、 β -受体激动剂、激素、抗病毒、镇静剂、农药等共 9 类混合标准中间液, 现配现用。

混合标准工作液: 分别准确移取适量的混合标准中间液, 用 20% 甲醇水溶液稀释成 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/mL 的 165 种农药、兽药的混合标准溶液系列, 现配现用。

1.3.3 基质匹配标准曲线

取 8 份空白鸡蛋样品, 按 1.3.1 步骤进行前处理, 洗脱液氮气吹干后, 移取 1.3.2 混合标准工作液各 1.0 mL 溶解残余物, 过滤后上机测定。以特征离子质量色谱峰面积(Y)为纵坐标, 标准溶液质量浓度(X , ng/mL)为横坐标, 绘制基质匹配标准曲线。

1.3.4 仪器条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse plus C₁₈ 柱(150 mm $\times$ 3.0 mm, 1.8 μm)。流动相: A: 正模式 0.1% 甲酸水, 负模式 0.03% 氨水; B: 正模式 0.1% 甲酸乙腈, 负模式 0.03% 氨水乙腈。梯度洗脱, 洗脱程序: 0~15 min, 95%~5% A; 15~17.1 min, 5% A; 17.1~20 min, 95% A。流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 10 μL 。

离子源温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压 3.2 kV; 雾化气温度

350 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气压(N_2) 40 arb; 辅助气压(N_2) 10 arb。分别在正离子模式和负离子模式下进行扫描, 扫描模式为全扫描加自动触发二级扫描模式, 一级质谱驻留时间为 100 ms, 二级质谱驻留时间为 60 ms, 扫描质量范围为 80~1000 m/z , 一级分辨率为 70000, 二级分辨率为 17500, 二级碰撞裂解气为高纯氮, 碰撞能量范围为 20%~60%。

1.4 数据处理

实验采用 Thermo Xcalibur 软件采集数据, 使用 Thermo Trace Finder 3.3 软件进行数据和标准品及样品的谱图处理, 使用 Excel 2024 对相关数据进行统计分析、制表及绘图。

2 结果与分析

2.1 仪器工作条件的优化

2.1.1 色谱条件的优化

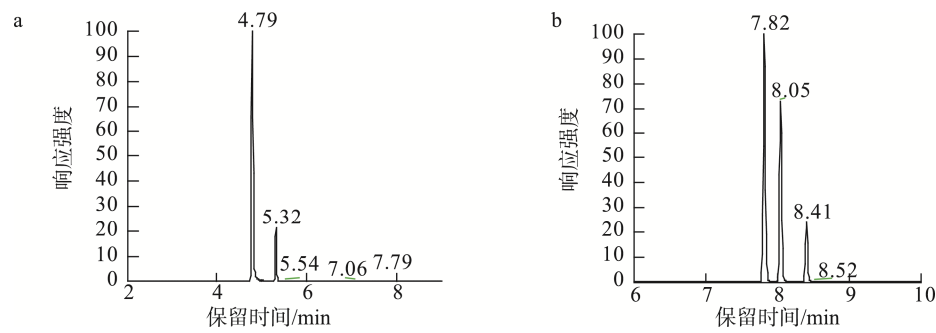
多药物筛查使用 C₁₈ 柱较多, 通常在流动相中加入一定浓度的甲酸、乙酸铵、甲酸铵、氨水来调节 pH。因此, 本研究考察了在流动相中加入 0.1% 甲酸、不同浓度乙酸铵和甲酸铵时, 各化合物的分离度、响应值和峰型, 结果表明各流动相体系差异并不明显, 最终选择了稳定性更好、配制方便的 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈体系。此外, 还比较了 100 mm 和 150 mm 的色谱柱, 发现柱长较长的色谱柱可以较好地分离磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶 3 种同分异构体, 如图 1 所示。因此最终选择色谱柱为 ZORBAX Eclipse plus C₁₈ 柱(150 mm $\times$ 3.0 mm, 1.8 μm)。部分农药、兽药标准物质质谱图如图 2 所示。

2.1.2 质谱条件的优化

本研究对质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的 165 种农药、兽药的混合标准溶液在全扫描加自动触发二级扫描(Full-MS-ddms²)模式下进行采集, 并针对一级全扫描分辨率和二级质谱分辨率进行了优化, 当一级分辨率为 70000, 二级分辨率为 17500 时, 165 种农药、兽药的母离子、子离子质量精度及一级离子提取色谱图的扫描点数符合筛查要求。再对离子源温度、毛细管电压、雾化气温度、鞘气压、辅助气压、碰撞能量等质谱条件进行了优化, 最终确定了 165 种农药、兽药的质谱参数, 具体见 1.3.4。

2.1.3 质谱数据库的建立

按药物类别配制成 9 组混合标准溶液, 质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$, 按照 1.3.4 仪器条件对 165 种农药、兽药进行正负模式下的全扫描和二级扫描, 以恩诺沙星为例, 恩诺沙星一级离子提取色谱图, 一级、二级质谱图如图 3 所示。根据各化合物的分子式利用 Trace Finder 工作软件计算其精确分子量, 结合各化合物的一级和二级质谱图得到其对应的保留时间、母离子、二级碎片离子和同位素丰度比等信息, 如表 1 所示。对于同分异构体, 需单独配制每一种同分异构体的标准溶液(质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$), 再按照 1.3.4 仪器条件对其进行扫描, 获得其质谱信息。



注: a 图中磺胺对甲氧嘧啶和磺胺间甲氧嘧啶未分离; b 图中 3 种磺胺类药物分离度良好。

图 1 磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶分离情况

Fig.1 Separation effects of sulfamethazine, sulfamethoxazine, and sulfamethoxazine

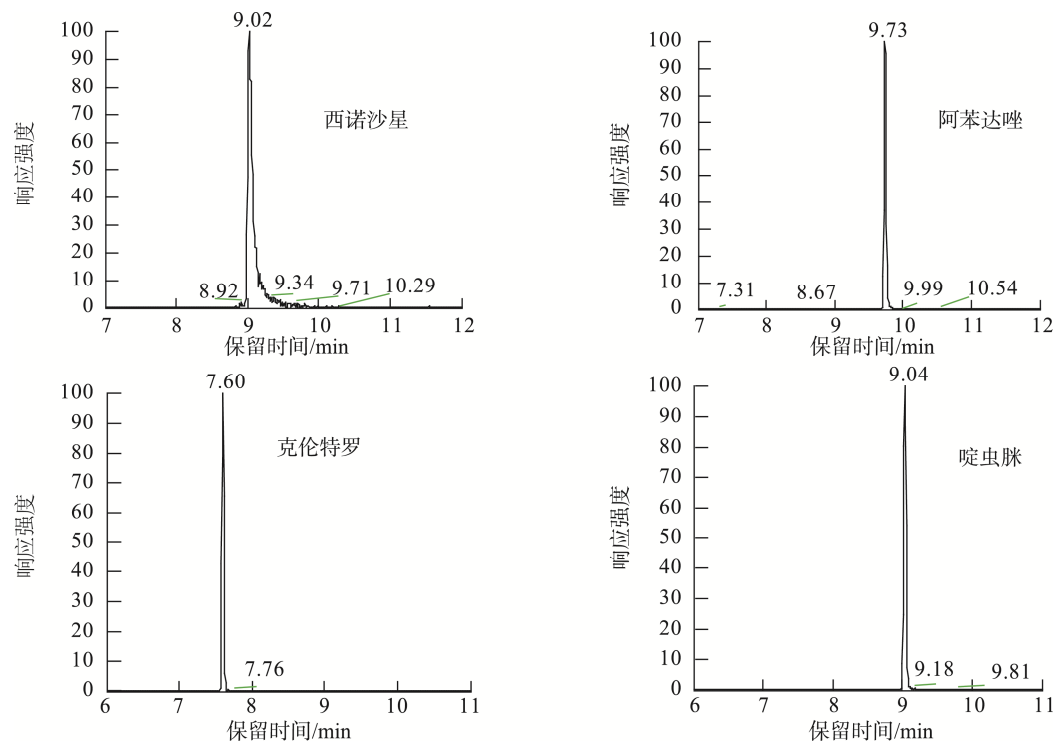


图 2 部分农药兽药提取离子色谱图(24 ng/mL)

Fig.2 Extracted ion chromatogram of pesticides and veterinary drugs (24 ng/mL)

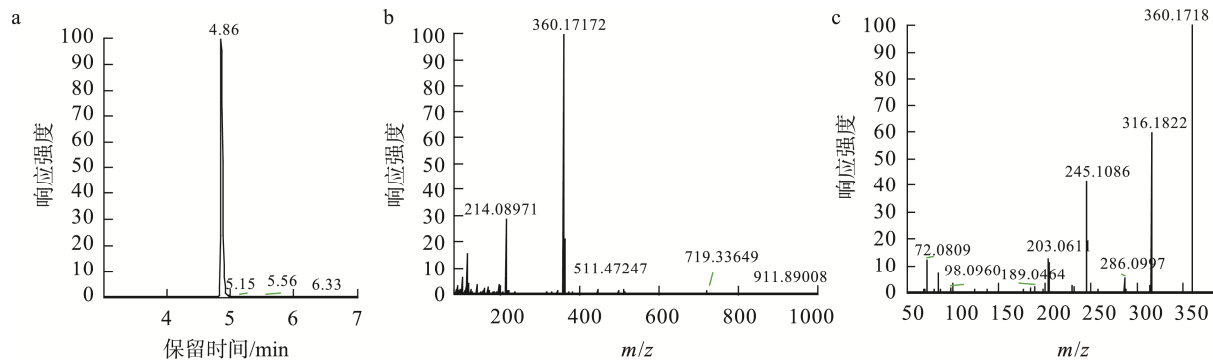


图 3 恩诺沙星一级离子提取色谱图(a)、一级质谱图(b)、二级质谱图(c) (20 ng/mL)

Fig.3 Enoxacin parent ion extraction chromatogram (a), parent ion mass spectrum (b), daughter ion (c) mass spectrum (20 ng/mL)

2.2 提取条件的优化

现有研究中, 多种类药物残留常见的提取液有 0.1 mol/L 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) Mcllvaine 缓冲溶液、酸化乙腈、乙腈、甲醇、乙酸乙酯、丙酮溶液。同时提取 9 大类 165 种农药兽药, 药物极性差别较大, 需采用水溶液和有机溶液两步提取的方法。水溶液考察了 0.1 mol/L EDTA Mcllvaine 缓冲溶液、0.1%甲酸溶液、1%醋酸溶液、5%醋酸溶液。有机溶液考察了乙腈、甲醇、乙酸乙酯和丙酮, 结果显示甲醇、乙酸乙酯、丙酮提取液基质效应(matrix effects, ME)较强, 而乙腈不仅沉淀蛋白效果好, 且 ME 也相对较小, 但是仅用乙腈提取, 对于部分氟喹诺酮类和镇静剂类药物提取效率并不理想。为了提高这两类化合物的回收率, 本研究采用酸性水溶液先提取, 但不同酸度会影响部分 β -受体激动剂的回收率, 因此, 考察了鸡蛋样品在相同加标量 50 $\mu\text{g/kg}$ 的情况下, 通过比较不同水溶液下氟喹诺酮类、镇静剂类、 β -受体激动剂类药物在不同提取效率范围内的个数来确定最佳提取液, 结果如表 2 所示, 0.1%甲酸溶液(表 2 中 A)-乙腈溶液提取效果最好。因此, 选择 0.1%甲酸溶液-乙腈溶液作为提取液进行提取。

表 2 不同水溶液下化合物的提取情况(n=3)
Table 2 Extraction of compounds in different aqueous solutions (n=3)

化合物的 个数	回收率($\geq 80\%$)				回收率(30%~80%)				回收率($\leq 30\%$)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
氟喹诺酮	17	13	14	15	3	4	4	5	0	3	2	0
β -受体 激动剂	19	19	8	5	0	0	7	8	0	0	4	6
镇静剂	16	8	17	18	2	7	1	0	0	4	0	0

注: A. 0.1%甲酸溶液; B. 0.1 mol/L EDTA Mcllvaine 缓冲溶液; C. 1%醋酸溶液; D. 5%醋酸溶液。

2.3 净化条件的优化

为了尽量避免药物损失, 本研究优先采用提取液直接过滤上机, 但由于鸡蛋中含大量蛋白、色素和磷脂, 样品 ME 强, 无法满足大部分药物的最高残留限量要求, 因此, 需对提取液进行净化处理。现有研究中, 净化方法包括盐析净化、固相萃取柱净化、QuEChERS 净化。其中通过式固相萃取柱因其操作简单、除磷脂效果好被广泛应用于多兽药残留的检测中, 因此本研究分别比较了上述 3 种方法, 其中直接使用 QuEChERS 净化时, 农药、兽药的检出率为 60%, 这可能与 QuEChERS 粉包的壁面损失和吸附作用有关; 而直接使用通过式固相萃取柱, 农药、兽药筛查率为 80%, 原因可能是通过式柱除磷脂较好, 但除水溶性杂质能力较差, 因此采用盐析法除去水溶性杂质, 尝试

使用了氯化钠、无水硫酸镁、无水硫酸钠, 其中加入无水硫酸镁后放出大量热, 药物损失较大, 氯化钠和无水硫酸钠效果良好, 但氯化钠过量会导致部分磺胺类和氟喹诺酮类回收率偏低, 因此实验考察了不同配比的氯化钠和无水硫酸钠对净化效果的影响, 氯化钠的量分别为 0.5、1.0、1.5 g, 无水硫酸钠分别为 4.0 g 和 6.0 g, 结果显示当氯化钠和无水硫酸钠分别为 1.5 g 和 6.0 g 时, 药物的筛查率可达 100%, 因此选择 1.5 g 氯化钠和 6 g 无水硫酸钠进行盐析。通过比较单独过柱、单独盐析、两者结合(盐析+过柱)条件下 165 种农药、兽药的筛查率和回收率, 如表 3 所示, 最终选择了盐析后过固相萃取柱进行净化。在相同加标水平 50.0 $\mu\text{g/kg}$ 下, 比较了 Prime HLB 和 HyperSep Retain PEP 两种通过式固相萃取柱下各药物的回收率, 选择了回收率更稳定的 PEP 柱, 实验结果如图 4 所示。

表 3 不同净化条件下化合物的提取情况(n=3)
Table 3 Extraction of compounds in different purification condition (n=3)

化合物的个数	单独过柱	单独盐析	盐析+过柱
回收率($>135\%$)	21	34	0
回收率 (40%~135%)	110	113	165
回收率($<40\%$)	1	18	0

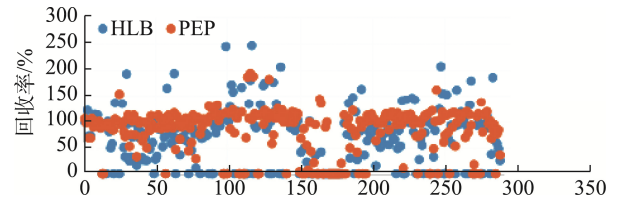


图 4 Prime HLB 柱和 HyperSep Retain PEP 柱净化下各化合物的回收率(n=3)
Fig.4 Recoveries of compounds after purification by Prime HLB column and HyperSep Retain PEP column (n=3)

2.4 样品基质效应的消除

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱相较于常规的三重四极杆质谱具有更强的抗干扰能力, 但 ME 仍然存在^[29]。本研究按照 $ME = [(样品净化液氮吹前加标的峰面积/标准溶液峰面积) - 1] \times 100\%$, 对 ME 进行评价, 当 ME 值介于 0.85 和 1.15 之间表明无明显 ME, 大于 1.15 是基质增强, 小于 0.85 是基质抑制, 鸡蛋中 165 种农药兽药的 MEs 范围为 0.42~9.21, 表明部分农药、兽药在鸡蛋中存在基质增强或抑制, 因此本研究采用基质匹配的标准曲线进行定量, 消除 ME 的影响。

2.5 化合物的筛查和确证

参美国食品药品监督管理局(Food and Drug

Administration, FDA)食品和兽药指导委员会提出的《化学物质残留高分辨质谱确证要素》^[30]、《兽药残留检测中质谱方法确证指南》^[31]、欧盟 2002/657/EC 决议^[32]规定的筛选方法性能指标,需满足以下条件才能判定为阳性结果。

2.5.1 化合物的筛查

在 5 ppm 质量窗口范围内进行提取: 目标物信号响应信噪比 $S/N>3$; 当 S/N 不存在时, 那么至少需要 5 个连续的扫描才能确定为一个信号。目标物保留时间与质谱库中的保留时间参数偏差小于等于 0.2 min 或者 $\pm 2.5\%$ 以内(不超过 0.5 min); 目标物和高分辨质谱数据库相比, 可以匹配上一级母离子和一个二级碎片离子, 且一级母离子质量精度偏差小于 5 ppm, 二级碎片离子质量精度偏差小于 10 ppm; 同时满足以上 3 项条件, 则判定样品为疑似阳性样品。

2.5.2 化合物的确证

疑似阳性样品的二级碎片谱图与浓度接近的标准溶液中该药物的二级碎片谱图进行比较, 若 2 张谱图中 2 个或 2

个以上碎片离子的准确分子量精度偏差小于 10 ppm, 则判定样品为阳性样品。当碎片离子质量误差大于 10 ppm, 但与浓度接近的标准溶液中对应的碎片离子的相对丰度进行比较, 若偏差不超过表 4 规定的范围, 则判定样品为阳性样品。

表 4 相对离子丰度的允许偏差($n=3$)

Table 4 Permissible deviation of relative ions abundance ($n=3$)	
相对离子丰度/%	允许偏差/%
>50	± 10
20~50	± 15
10~20	± 20
≤ 10	± 50

2.6 方法学验证

2.6.1 基质匹配标准曲线

通过提取一级质谱的精确相对分子质量进行定量分析, 165 种农药、兽药在 0.5~100.0 ng/mL 线性关系良好, 相关系数(r^2)均大于 0.99, 详见表 5。

表 5 空白鸡蛋中 165 种农药兽药的检出限、定量限、线性范围、线性方程、相关系数、回收率和 RSDs ($n=5$)
Table 5 Limits of detection, limits of quantitation, linear ranges, linear equations, correlation coefficients, recoveries and RSDs of 165 kinds of pesticides and veterinary drugs in eggs ($n=5$)

化合物	检出限 /($\mu\text{g/kg}$)	定量限 /($\mu\text{g/kg}$)	线性范围 /(ng/mL)	线性方程	r^2	添加水平 1		添加水平 2		添加水平 3	
						回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%
磺胺二甲嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.63384\times 10^6X-1.85490\times 10^6$	0.9964	103.24	6.37	105.71	5.33	97.06	2.63
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.46093\times 10^6X+1.57973\times 10^6$	0.9916	106.78	4.35	114.43	3.53	103.71	1.41
磺胺异噻唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.41515\times 10^6X+5.58367\times 10^6$	0.9983	92.00	10.57	109.37	6.13	96.51	6.57
磺胺脒	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.67808\times 10^5X+1.23955\times 10^5$	0.9931	64.82	13.78	78.78	3.37	83.87	18.48
磺胺甲嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.68728\times 10^5X+8.64026\times 10^6$	0.9982	105.89	7.19	108.81	3.57	98.91	2.71
磺胺甲噻二唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.79532\times 10^6X-6.55958\times 10^5$	0.9916	90.74	6.78	106.59	4.15	93.60	1.55
磺胺甲恶唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.51287\times 10^5X+9.26330\times 10^6$	0.9904	105.46	8.14	117.00	4.91	100.39	3.13
磺胺对甲氧嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.09663\times 10^7X-5.45163\times 10^6$	0.9943	108.14	5.98	109.72	2.36	99.07	2.54
磺胺甲氧哒嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.63946\times 10^5X+8.05185\times 10^6$	0.9951	108.14	5.98	109.72	2.36	99.07	2.54
磺胺间甲氧嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.66562\times 10^6X+9.61572\times 10^6$	0.9934	97.15	7.18	114.66	4.02	97.98	3.33
磺胺二甲唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.76396\times 10^6X+7.73877\times 10^6$	0.9982	94.38	4.31	95.21	6.83	91.57	3.85
磺胺吡啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.75672\times 10^6X+4.62199\times 10^5$	0.9934	104.76	5.00	105.67	4.31	94.84	2.71
磺胺喹恶啉	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.25300\times 10^5X-9.87901\times 10^4$	0.9948	112.81	9.15	115.01	4.49	101.34	3.45
磺胺噻唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.38682\times 10^6X+9.02368\times 10^5$	0.9967	98.12	3.19	106.05	5.11	96.05	2.10
磺胺二甲异嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.02665\times 10^6X+6.96026\times 10^5$	0.9916	84.39	6.15	94.83	3.51	94.97	2.04
甲氧苄啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.64061\times 10^5X+2.39589\times 10^6$	0.9980	84.69	1.02	94.30	3.75	86.37	2.22
二甲氧苄啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.44195\times 10^6X+3.45181\times 10^5$	0.9942	80.14	4.38	86.72	3.49	79.65	2.01
酞磺胺噻唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.41848\times 10^6X+3.06705\times 10^6$	0.9935	84.16	18.99	79.73	10.52	69.46	3.93
苯酰磺胺	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.85889\times 10^6X+6.40912\times 10^6$	0.9914	101.46	7.64	113.35	1.96	94.98	2.29
磺胺醋酰	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.95201\times 10^6X+2.00483\times 10^5$	0.9951	129.80	19.97	98.83	4.31	93.18	2.84
磺胺氯哒嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.82293\times 10^6X-4.12737\times 10^5$	0.9937	97.94	8.94	106.52	2.98	104.33	4.17
磺胺嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.78960\times 10^6X+2.39687\times 10^5$	0.9962	106.18	7.15	95.54	5.39	92.34	2.53
磺胺间二甲氧嘧啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.07391\times 10^6X+2.69460\times 10^6$	0.9918	109.78	4.61	108.80	3.07	94.37	3.70
洛美沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.24575\times 10^6X-9.17065\times 10^5$	0.9934	83.77	7.64	83.47	2.03	76.34	5.52
马波沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.32804\times 10^6X-5.23622\times 10^6$	0.9948	74.68	7.94	76.56	5.04	69.64	3.78
那氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.94297\times 10^5X+4.53884\times 10^5$	0.9932	116.42	9.87	106.19	2.80	92.34	5.46
萘啶酸	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.86269\times 10^6X+5.62494\times 10^6$	0.9946	110.84	8.79	107.20	2.07	91.45	8.82
诺氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.87959\times 10^6X-1.34028\times 10^6$	0.9941	56.15	10.13	59.82	4.12	56.34	8.40
氧氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.85704\times 10^6X+3.88011\times 10^6$	0.9930	79.15	6.37	79.65	4.45	71.64	5.68

表 5(续)

化合物	检出限 /(μg/kg)	定量限 /(μg/kg)	线性范围 /(ng/mL)	线性方程	r^2	添加水平 1		添加水平 2		添加水平 3	
						回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%
奥比沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.55415 \times 10^6 X+6.87075 \times 10^5$	0.9968	94.00	5.97	99.36	4.83	94.61	4.08
恶唑酸	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.02866 \times 10^6 X+3.92876 \times 10^5$	0.9910	118.37	14.53	114.95	3.79	103.54	11.51
培氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.95834 \times 10^6 X+8.35027 \times 10^6$	0.9908	85.34	12.52	81.96	5.46	76.34	8.43
西诺沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.87504 \times 10^6 X+1.30587 \times 10^6$	0.9970	106.14	14.01	103.56	4.39	94.89	4.46
沙拉沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.87863 \times 10^5 X+3.31262 \times 10^6$	0.9918	105.67	16.06	104.51	2.64	84.26	6.58
司帕沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.37381 \times 10^6 X-7.75864 \times 10^5$	0.9950	91.54	7.94	103.49	2.80	91.38	2.99
环丙沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.78475 \times 10^6 X-7.59358 \times 10^5$	0.9945	70.58	12.67	68.93	4.43	60.45	8.58
达氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.37144 \times 10^6 X+1.75344 \times 10^6$	0.9909	86.15	10.89	78.78	3.80	73.15	5.64
二氟沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.64452 \times 10^6 X+2.91491 \times 10^6$	0.9935	105.91	11.67	105.48	2.01	96.34	4.03
依诺沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.75893 \times 10^6 X-4.67090 \times 10^5$	0.9931	54.38	14.91	56.56	6.36	48.89	7.23
恩诺沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.28129 \times 10^5 X+1.22069 \times 10^6$	0.9912	103.49	11.27	98.46	3.69	89.34	6.51
氟罗沙星	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.94608 \times 10^6 X+7.49482 \times 10^6$	0.9949	84.39	10.95	83.42	5.81	77.34	5.34
氟甲喹	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.14161 \times 10^6 X+7.09529 \times 10^6$	0.9938	126.34	11.89	115.15	3.54	98.00	13.12
加替沙星	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.71578 \times 10^5 X-6.59701 \times 10^4$	0.9906	104.61	9.48	94.36	4.49	93.31	5.93
甲苯咪唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.31036 \times 10^6 X+9.43802 \times 10^6$	0.9914	118.37	5.69	104.36	4.13	78.51	17.74
氨基甲苯咪唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.86999 \times 10^6 X+5.64019 \times 10^5$	0.9975	106.48	9.61	86.72	3.77	89.18	3.66
2-氨基氟苯咪唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.80551 \times 10^6 X+7.76254 \times 10^6$	0.9923	118.64	9.46	105.18	2.04	93.35	3.48
奥芬达唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.39935 \times 10^5 X+6.14486 \times 10^6$	0.9952	114.63	9.61	114.39	2.58	102.45	3.78
奥苯达唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.92549 \times 10^6 X+1.94999 \times 10^6$	0.9914	118.61	5.14	114.36	1.17	106.34	3.08
丁苯咪唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.60141 \times 10^6 X+6.61125 \times 10^6$	0.9980	125.94	6.34	108.82	1.03	90.34	7.44
5-羟基噻苯达唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.81572 \times 10^6 X-4.76467 \times 10^6$	0.9911	116.47	13.91	117.70	6.25	102.00	6.57
噻苯达唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.65140 \times 10^6 X+9.14144 \times 10^6$	0.9938	109.64	6.45	114.36	3.43	101.34	4.39
三氯苯达唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.54852 \times 10^6 X+3.29526 \times 10^6$	0.9941	67.14	11.94	68.11	11.14	78.79	4.11
阿苯达唑	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=3.06716 \times 10^6 X+1.60712 \times 10^6$	0.9922	126.34	11.67	103.81	14.69	81.44	15.48
阿苯达唑砒	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.43837 \times 10^6 X+6.87662 \times 10^6$	0.9934	108.61	3.48	116.37	1.53	98.45	3.34
阿苯达唑亚砒	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.60262 \times 10^5 X+5.85148 \times 10^6$	0.9961	110.66	12.80	109.93	4.30	97.92	3.14
阿苯达唑氨基砒	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.45205 \times 10^6 X-3.35623 \times 10^5$	0.9904	89.60	8.61	92.12	4.20	81.34	3.82
苯并咪唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.53065 \times 10^6 X+5.23243 \times 10^6$	0.9961	89.67	5.53	93.02	3.54	87.95	4.93
非班太尔	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.97916 \times 10^6 X+2.37586 \times 10^6$	0.9935	130.47	6.39	112.09	5.08	97.56	3.65
芬苯达唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.10248 \times 10^6 X+4.80473 \times 10^5$	0.9981	126.31	6.63	88.90	6.83	126.34	18.07
拉苯咪唑	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=3.15149 \times 10^6 X-3.49287 \times 10^5$	0.9967	116.34	5.35	111.64	1.08	103.67	3.46
盐酸赛庚啶	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.90711 \times 10^7 X-7.41740 \times 10^6$	0.9915	129.97	13.71	119.91	5.94	91.31	5.19
非诺特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.67557 \times 10^7 X+1.48180 \times 10^6$	0.9964	89.43	7.80	96.31	9.17	83.64	8.61
拉贝洛尔	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.61911 \times 10^7 X+7.90406 \times 10^7$	0.9928	111.84	6.20	101.47	3.47	93.05	5.84
喷布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.38825 \times 10^7 X+1.91264 \times 10^7$	0.9961	84.34	14.50	103.78	3.46	76.83	14.27
苯乙醇胺 A	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=1.95069 \times 10^7 X+6.71726 \times 10^7$	0.9937	131.45	7.85	111.02	4.04	106.38	8.24
莱克多巴胺	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.70566 \times 10^7 X+1.10556 \times 10^7$	0.9982	108.65	6.29	106.41	1.78	94.38	2.36
沙丁胺醇	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.30818 \times 10^7 X+4.87291 \times 10^7$	0.9931	45.41	5.10	46.94	4.61	46.81	3.84
沙美特罗	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=9.05038 \times 10^7 X-6.81094 \times 10^7$	0.9943	129.90	8.70	106.24	1.40	80.34	13.05
特布他林	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.13471 \times 10^7 X-6.32128 \times 10^7$	0.9961	56.35	6.96	64.30	3.37	60.64	3.32
马布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.79515 \times 10^7 X+1.25875 \times 10^7$	0.9960	107.01	4.16	108.06	4.36	103.57	3.89
妥布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.26966 \times 10^7 X+5.54787 \times 10^7$	0.9905	98.89	3.31	101.37	1.99	91.52	2.39
班布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.33377 \times 10^7 X+8.12947 \times 10^6$	0.9981	108.26	5.17	104.22	2.10	102.19	3.14
溴布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.77419 \times 10^7 X+7.84358 \times 10^7$	0.9984	105.39	6.37	99.59	3.05	93.57	2.51
西马特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.30528 \times 10^7 X+7.57105 \times 10^6$	0.9930	77.10	3.30	79.47	3.22	76.38	3.90
西布特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.56537 \times 10^7 X+2.61159 \times 10^6$	0.9951	88.87	4.50	94.89	2.45	86.05	1.52
克伦特罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.79272 \times 10^7 X-4.47965 \times 10^7$	0.9905	101.84	3.37	103.67	2.64	94.06	2.17
克伦丙罗	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.25039 \times 10^7 X-8.90096 \times 10^6$	0.9936	92.32	1.91	94.78	1.76	94.85	2.35
盐酸可乐定	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.26359 \times 10^7 X+1.16278 \times 10^7$	0.9919	94.26	4.30	86.34	3.81	89.68	4.27
氯丙那林	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.23696 \times 10^7 X+2.96694 \times 10^6$	0.9937	90.13	3.63	94.12	3.22	86.94	3.47

表 5(续)

化合物	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)	线性范围 (ng/mL)	线性方程	r ²	添加水平 1		添加水平 2		添加水平 3	
						回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%
可的松	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.40413\times10^5X-2.17586\times10^4$	0.9925	93.24	5.68	97.00	15.63	108.34	5.10
地夫可特	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.60152\times10^5X+6.91059\times10^5$	0.9941	103.77	4.43	82.97	1.51	125.48	12.49
苯甲酸雌二醇	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.95968\times10^5X+1.48550\times10^5$	0.9965	102.24	6.91	91.97	4.85	134.79	15.81
氟米龙	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.18034\times10^5X+4.89615\times10^5$	0.9981	102.24	6.91	91.97	5.17	128.34	15.37
己烷雌酚	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.02219\times10^5X+8.45081\times10^4$	0.9935	101.38	5.14	100.37	2.35	111.42	13.24
去氢甲睾酮	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.39151\times10^5X+7.84143\times10^5$	0.9943	109.24	3.11	78.64	6.89	121.01	10.40
甲基泼尼松龙	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=9.53369\times10^5X-7.37188\times10^5$	0.9918	119.66	4.59	98.26	2.35	89.30	4.06
炔诺酮	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.92387\times10^5X+9.69889\times10^5$	0.9926	112.35	3.27	64.38	10.44	91.45	7.34
泼尼卡酯	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=7.56246\times10^5X+0.74507\times10^5$	0.9943	110.69	9.68	115.66	8.38	90.79	7.11
泼尼松龙	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.52753\times10^5X+2.99847\times10^5$	0.9981	126.33	8.26	116.34	4.55	92.57	3.01
泼尼松	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.23415\times10^5X-3.68248\times10^5$	0.9973	115.07	8.44	110.34	5.37	104.09	4.20
去氢睾酮	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.81957\times10^5X+6.54818\times10^5$	0.9917	93.21	7.74	96.39	14.56	120.32	18.46
康力龙	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=1.55289\times10^6X-2.79009\times10^4$	0.9956	130.37	10.09	71.34	13.63	114.77	11.16
丙酸睾酮	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=1.94213\times10^6X+1.44055\times10^6$	0.9935	75.74	3.11	64.35	16.31	59.97	6.07
群勃龙	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.82854\times10^6X+0.91715\times10^4$	0.9941	101.38	5.41	103.45	13.51	112.23	13.63
曲安奈德	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.47968\times10^5X-5.16373\times10^4$	0.9938	107.16	7.56	109.34	13.25	97.72	12.48
倍氯米松	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.59744\times10^6X+1.65235\times10^4$	0.9982	118.77	8.99	109.34	4.45	89.52	13.57
倍他米松双丙酸酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.61068\times10^6X+0.63215\times10^6$	0.9957	126.47	8.36	103.47	12.48	94.53	6.12
地美硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=9.06535\times10^5X+7.22744\times10^6$	0.9915	89.30	7.47	103.12	5.21	93.34	10.29
异丙硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.97760\times10^5X+0.96397\times10^5$	0.9934	93.22	10.36	106.12	6.61	95.47	12.58
甲硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.46041\times10^5X+1.29921\times10^5$	0.9968	98.79	7.84	104.31	3.84	92.57	3.71
奥硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.39724\times10^5X+6.22932\times10^5$	0.9935	100.64	9.47	114.38	4.05	104.59	2.48
羟基地美硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=1.26816\times10^5X-0.55621\times10^5$	0.9914	82.84	19.01	106.37	5.73	95.66	2.90
罗硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=9.93153\times10^5X+6.30929\times10^5$	0.9908	106.37	10.64	104.38	2.28	93.80	2.44
塞克硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.64623\times10^5X+3.93051\times10^5$	0.9915	105.61	7.09	104.37	3.67	97.38	2.71
替硝唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.50817\times10^5X-2.83880\times10^5$	0.9909	116.48	3.47	114.38	2.63	97.01	3.74
金刚烷胺	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.77974\times10^6X-1.32679\times10^6$	0.9910	64.68	2.98	72.54	2.59	65.89	2.48
金刚乙胺	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.84723\times10^6X-2.18194\times10^6$	0.9914	89.37	2.10	88.12	2.99	80.34	3.61
氯霉素	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.33117\times10^6X+2.65134\times10^6$	0.9937	116.78	4.91	114.38	2.67	104.35	2.07
氟苯尼考	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.79995\times10^6X+1.24177\times10^6$	0.9914	119.63	10.36	116.38	4.79	106.34	2.18
甲砒霉素	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.35778\times10^6X-1.43822\times10^6$	0.9959	118.40	5.61	115.37	3.73	102.38	2.32
氟哌啶醇	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.10178\times10^7X-5.07818\times10^6$	0.9931	123.67	5.39	114.44	2.48	101.97	3.27
盐酸丙咪嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.27007\times10^7X-1.89807\times10^7$	0.9965	119.35	4.20	104.37	4.60	96.71	4.31
硝西洋	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.35206\times10^7X+3.36531\times10^7$	0.9934	118.96	3.31	108.15	3.48	88.63	19.53
奥沙西洋	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.43231\times10^7X+4.97714\times10^7$	0.9922	121.98	8.69	106.34	2.48	94.38	12.18
匹莫林	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.72592\times10^7X+3.81865\times10^7$	0.9942	103.94	8.27	102.48	3.76	95.35	3.62
奋乃静	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.19412\times10^7X+0.78917\times10^7$	0.9973	119.37	10.23	94.37	3.52	77.17	12.45
异丙嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=5.82537\times10^7X+8.28996\times10^6$	0.9946	124.67	7.29	95.34	3.48	93.24	5.55
丙酰丙嗪	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.30056\times10^7X-1.73092\times10^7$	0.9905	133.34	9.01	101.45	1.70	84.33	6.80
舒必利	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.314921\times10^7X-5.89825\times10^7$	0.9938	72.37	6.81	78.34	3.14	74.82	3.80
甲苯噻嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=9.08563\times10^7X+8.23683\times10^6$	0.9936	89.64	6.81	94.38	2.87	89.33	4.17
乙酰丙嗪	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=8.84158\times10^7X-6.37296\times10^6$	0.9990	126.37	9.15	112.37	1.82	94.35	5.74
阿扎哌醇	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.26456\times10^7X+2.93039\times10^6$	0.9935	106.64	3.69	104.68	2.60	93.12	2.65
阿扎哌隆	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.29609\times10^7X+1.19733\times10^6$	0.9931	112.67	4.67	111.34	2.89	102.35	4.28
卡马西平	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=7.52923\times10^7X+2.94854\times10^6$	0.9949	107.72	3.06	104.35	3.04	79.00	13.67
地西洋	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=5.45945\times10^7X-0.424102\times10^7$	0.9992	53.47	12.43	125.38	14.31	86.47	5.12
苯海拉明	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.38246\times10^7X-9.95593\times10^6$	0.9964	115.74	5.74	106.97	4.34	97.35	3.11
氟哌利多	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.38425\times10^7X+1.70134\times10^7$	0.9914	109.34	6.47	107.68	1.67	103.45	5.73
艾司唑仑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.00601\times10^7X+8.63519\times10^7$	0.9924	118.95	12.93	107.37	3.01	80.34	4.15
噻嗪酮	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.60904\times10^6X+3.25534\times10^6$	0.9998	96.63	8.31	70.38	16.90	70.51	7.76
姜锈灵	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=6.15483\times10^6X+6.75422\times10^6$	0.9957	76.13	4.15	86.37	5.68	124.95	11.42

表 5(续)

化合物	检出限 /(μg/kg)	定量限 /(μg/kg)	线性范围 /(ng/mL)	线性方程	r^2	添加水平 1		添加水平 2		添加水平 3	
						回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%	回收率 /%	RSDs /%
3-羟基咪喃丹	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=4.19535 \times 10^6 X+4.63155 \times 10^6$	0.9994	113.37	6.51	114.38	3.67	101.27	2.23
噻虫胺	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=8.57627 \times 10^5 X+5.36181 \times 10^6$	0.9957	126.78	14.70	112.80	6.34	103.84	5.47
环丙氨嗪	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.65199 \times 10^7 X+4.16423 \times 10^6$	0.9934	55.91	7.09	50.34	4.95	56.57	8.01
地昔尼尔	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=1.37798 \times 10^7 X-4.30126 \times 10^6$	0.9913	86.34	4.32	94.38	5.61	92.45	4.67
苯醚甲环唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.79692 \times 10^5 X+7.32532 \times 10^5$	0.9912	121.35	9.69	87.38	14.44	82.64	6.04
氟脲杀	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=9.98203 \times 10^5 X+5.26617 \times 10^5$	0.9961	106.98	4.14	110.33	4.46	104.65	8.29
敌草隆	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=7.87984 \times 10^5 X+4.89881 \times 10^5$	0.9984	108.34	6.01	86.34	5.75	121.51	7.12
硫丹硫酸酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=4.50078 \times 10^5 X+0.905136 \times 10^6$	0.9927	100.69	8.57	104.33	3.49	92.34	7.38
乙氧酰胺苯甲酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=9.66943 \times 10^5 X+7.48771 \times 10^5$	0.9916	106.34	6.34	115.11	4.70	96.13	7.04
氟虫睛	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.12283 \times 10^5 X+8.35385 \times 10^4$	0.9950	107.33	7.54	112.60	2.76	103.54	5.91
氟虫腈硫酸酯	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=6.58848 \times 10^5 X+8.13738 \times 10^5$	0.9913	112.53	8.45	119.34	3.31	103.64	5.24
氟啶草酮	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=6.24376 \times 10^5 X+2.69941 \times 10^5$	0.9935	76.83	15.31	98.32	14.13	94.68	3.15
乙酰甲胺磷	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.06528 \times 10^5 X+5.50120 \times 10^5$	0.9981	68.33	8.31	67.91	6.64	70.45	6.78
环嗪酮	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=4.584079 \times 10^6 X+5.89433 \times 10^6$	0.9922	107.76	3.00	105.91	3.95	96.34	4.13
抑霉唑	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=3.29139 \times 10^6 X-6.19319 \times 10^5$	0.9938	122.94	7.71	118.64	4.61	93.14	3.08
吡虫啉	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=9.02963 \times 10^6 X-8.75681 \times 10^5$	0.9943	115.67	5.56	116.78	2.95	103.28	3.17
虱螨脲	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=2.68429 \times 10^6 X+5.50471 \times 10^6$	0.9961	99.36	10.25	106.71	8.47	95.34	9.15
甲霜灵	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=7.07448 \times 10^5 X+1.02239 \times 10^5$	0.9948	105.71	3.89	94.36	4.31	114.57	7.31
噻草酮	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=1.77973 \times 10^6 X-8.93212 \times 10^5$	0.9937	109.37	3.51	106.34	11.66	93.15	12.34
腈菌唑	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.36961 \times 10^6 X+7.88231 \times 10^6$	0.9949	126.50	12.16	129.48	3.81	98.23	3.72
啶虫脒	3.0	10.0	5.0~100.0	$Y=7.69804 \times 10^5 X+9.14644 \times 10^5$	0.9950	109.67	4.60	118.34	2.96	101.20	2.34
氟草敏	0.5	1.0	0.5~100.0	$Y=2.63862 \times 10^6 X+1.18381 \times 10^6$	0.9916	115.34	4.79	75.34	8.55	123.48	9.62
苯基硫脲	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=4.85364 \times 10^6 X+9.91175 \times 10^6$	0.9953	76.34	11.20	89.61	13.64	79.31	14.47
毒草胺	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=3.72846 \times 10^6 X+6.70825 \times 10^6$	0.9924	84.37	7.34	65.37	18.90	103.30	19.14
吡啶醚菌酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=2.23432 \times 10^5 X+7.59049 \times 10^5$	0.9929	114.78	9.46	91.34	7.57	80.24	7.33
哒螨灵	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.30691 \times 10^5 X-2.73796 \times 10^5$	0.9960	76.35	11.45	54.36	7.01	42.34	2.42
吡丙醚	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=6.39003 \times 10^5 X+2.51864 \times 10^5$	0.9973	56.34	12.03	48.69	3.11	41.36	13.78
莠去津	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=5.51351 \times 10^5 X+3.25595 \times 10^5$	0.9914	99.72	1.19	80.77	4.07	126.34	13.86
西玛津	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=4.64855 \times 10^5 X+5.31913 \times 10^6$	0.9985	111.13	5.71	110.69	3.87	84.93	15.97
虫酰肼	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.45102 \times 10^5 X+7.75367 \times 10^6$	0.9934	126.31	13.92	78.34	6.54	103.25	17.05
肟菌酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.12133 \times 10^5 X-6.95787 \times 10^4$	0.9930	111.37	12.91	113.45	7.66	90.00	5.24
去乙基锈去津	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=8.03058 \times 10^5 X+9.60806 \times 10^5$	0.9987	106.73	3.81	108.43	2.23	103.57	3.18
甲基吡啶磷	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.38247 \times 10^5 X-2.60794 \times 10^4$	0.9961	106.71	2.76	106.29	2.18	84.35	13.48
嘧菌酯	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=4.19935 \times 10^5 X+2.42748 \times 10^5$	0.9983	129.34	10.34	121.54	3.49	102.45	3.48
阿托品	2.0	5.0	2.0~100.0	$Y=7.92982 \times 10^6 X+1.34135 \times 10^6$	0.9951	86.34	2.65	82.61	3.85	76.09	3.05

注: 定量限为 1.0 μg/kg 的化合物, 3 个添加水平分别为 1.0、5.0、10.0 μg/kg; 定量限为 5.0 μg/kg 的化合物, 3 个添加水平分别为 5.0、10.0、20.0 μg/kg; 定量限为 10.0 μg/kg 的化合物, 3 个添加水平分别为 10.0、50.0、100.0 μg/kg。相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

2.6.2 检出限与定量限

添加适量混合标准溶液于 5 g 空白鸡蛋中, 经提取后测定, 依据信噪比 $S/N>3$ 、 $S/N>10$, 确定各化合物的检出限和定量限, 165 种农药、兽药检出限为 0.5~3.0 μg/kg, 定量限为 1.0~10.0 μg/kg。各化合物的检出限、定量限见表 5。

2.6.3 精密度与准确度

在空白鸡蛋中添加 165 种农药兽药标准溶液, 按不同定量限进行不同浓度水平的加标, 分别为 1.0、5.0、10.0 μg/kg(定量限为 1.0 μg/kg), 5.0、10.0、20.0 μg/kg(定量限为 5.0 μg/kg), 10.0、50.0、100.0 μg/kg(定量限为 10.0 μg/kg), 每个浓度

平行测定 5 个, 165 种农药兽药的平均回收率为 41.36%~134.79%, RSDs 为 1.02%~19.97%。本研究建立的筛查方法符合 NY/T 1986—2010《兽药残留实验室质量控制规范》中的要求, 筛选分析方法的回收率范围大于 40%, 所有样品之间的变异系数小于或者等于 30%, 表明本方法有较好的准确度和精密度。

2.7 实际样品的测定

利用本方法对购自超市和农贸市场的 100 份鸡蛋进行了筛查分析, 检出氟苯尼考阳性 8 份, 浓度为 5.27~15.62 μg/kg;

检出恩诺沙星阳性 5 份, 浓度为 10.53~26.52 $\mu\text{g/kg}$; 检出磺胺间甲氧嘧啶阳性 2 份, 浓度分别为 12.66 $\mu\text{g/kg}$ 和 19.49 $\mu\text{g/kg}$ 。阳性样品均满足“2.5 化合物的筛查和确证”条件。同时采用 GB 31658.17—2021《动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》和 GB 31658.20—2022《动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》对 100 批次鸡蛋样品中的氟苯尼考、恩诺沙星、磺胺间甲氧嘧啶药物残留进行分析, 15 批次样品的检测结果阳性。通过与标准方法的检测, 结果比对发现, 该方法对本次氟苯尼考、恩诺沙星、磺胺间甲氧嘧啶残留的筛查准确率为 100%。

3 结 论

本研究基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法建立了在 20 min 内同时检测鸡蛋中 165 种兽药和农药的快速筛查和确证方法。Q-Exactive Plus 的高分辨率在复杂基质中能够消除基质干扰, 降低假阳性率。该方法简便、灵敏、准确、快速, 有效提高了鸡蛋中农药、兽药残留的快速检测水平。将该方法用于鸡蛋样品的测定, 同时采用国家标准方法对检测结果进行验证, 结果表明该方法对于本次氟苯尼考、恩诺沙星、磺胺间甲氧嘧啶药物残留的筛查准确率为 100%, 可作为鸡蛋中快速筛选和确证检测技术广泛使用。但该方法也具有局限性, 高分辨质谱 Q-Exactive Plus 在 Full-MS-ddms² 模式下, 定性相较定量更有优势, 因此对于已经确证的阳性样品, 可在高分辨质谱 Q-Exactive Plus PRM 模式下重新采集进行定量。

参考文献

- [1] SCHNEIDER MJ, LEHOTAYS J, LIGHTFIELD AR. Evaluation of a multi-class, multi-residue liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for analysis of 120 veterinary drugs in bovine kidney [J]. *Drug Test Anal*, 2012, 4(S1): 91–102.
- [2] ZHAN J, YU XJ, ZHONG YY, *et al.* Generic and rapid determination of veterinary drug residues and other contaminants in raw milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 906(10): 48–57.
- [3] 孙雷, 王亦琳, 叶妮, 等. 猪肉中 92 种兽药残留的 UPLC-Qtrap 高通量筛查和定量方法的研究[J]. *中国兽药杂志*, 2017, 51(9): 36–42.
SUN L, WANG YL, YE N, *et al.* The study on high-throughput screening and quantitative method for 92 veterinary drugs residues in pig muscle by UPLC-Qtrap [J]. *Chin J Vet Drug*, 2017, 51(9): 36–42.
- [4] DASENAKI ME, THOMAIDIS NS. Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 880(7): 103–121.
- [5] 王炼, 黎源倩, 王海波, 等. 基质固相分散-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉和牛奶中 20 种兽药残留[J]. *分析化学*, 2011, 39(2): 203–207.
WANG L, LI YQ, WANG HB, *et al.* Simultaneous determination of twenty veterinary drug residues in milk and meat using matrix solid phase dispersion-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(2): 203–207.
- [6] 李婧妍, 郭春峰, 崔立辉, 等. 分散固相萃取法结合高效液相色谱-串联质谱法测定禽蛋中喹诺酮类兽药残留量[J]. *中国家禽*, 2016, 38(14): 31–35.
LI JY, GUO CP, CUI LF, *et al.* Determination of quinolones residues in eggs with dispersive solid phase extraction and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *China Poult*, 2016, 38(14): 31–35.
- [7] 李娜, 张玉婷, 刘磊, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 4 类 29 种禁用兽药残留[J]. *色谱*, 2014, 32(12): 1313–1319.
LI N, ZHANG YT, LIU L, *et al.* Simultaneous determination of 4 kinds 29 banned and restricted veterinary drugs in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and modified QuEChERS for sample preparation [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(12): 1313–1319.
- [8] 冯楠, 路勇, 姜洁, 等. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法快速筛查食品中 73 种有毒有害物质[J]. *食品科学*, 2013, 34(16): 214–220.
FENG N, LU Y, JIANG J, *et al.* Rapid screening of 73 toxic and harmful substances in foods by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry with QuEChERS [J]. *Food Sci*, 2013, 34(16): 214–220.
- [9] 郭海霞, 肖桂英, 张禧庆, 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.
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.
- [10] 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 determination of 76 kinds of veterinary drugs and their metabolites in pork by QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, 44(20): 311–321.
- [11] 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.
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.
- [12] 季宝成, 杨澜瑞, 程迎新, 等. 改良 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定乌鸡肉中 35 种兽药残留[J]. *质谱学报*, 2023, 44(6): 807–819.
JI BC, YANG LR, CHENG YX, *et al.* Determination of thirty-five veterinary drug residues in black chicken by modified QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2023, 44(6): 807–819.
- [13] 苏敏, 吴彦蕾, 邓惠玲, 等. QuEChERS-LC-MS/MS 法快速检测鱼肉中 54 种兽药残留[J]. *食品与发酵科技*, 2023, 59(6): 135–141.
SU M, WU YL, DENG HL, *et al.* Rapid determination of 54 veterinary drug residues in fish by QuEChERS-LC-MS/MS [J]. *Food Ferment Sci*, 2023, 59(6): 135–141.
- [14] 朱万燕, 张鸿伟, 车立志, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定禽蛋中 31 种产蛋期禁用兽药[J]. *色谱*, 2024, 42(5): 420–431.
ZHU W Y, ZHANG H W, CHE LZ, *et al.* Simultaneous determination of 31 banned veterinary drugs during egg-laying period in poultry eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2024, 42(5): 420–431.

- [15] 王亦琳, 叶妮, 尹晖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测畜禽肉中199种药物及代谢物残留[J]. 中国兽药杂志, 2024, 51(4): 50–61.
WANG Y L, YE N, YIN H, *et al.* The research of 199 drugs and metabolites residues in livestock and poultry muscle by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Veter Drug, 2024, 51(4): 50–61.
- [16] DENG XJ, YANG HQ, LI JZ, *et al.* Multiclass residues screening of 105 veterinary drugs in meat, milk, and egg using ultra high performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Liquip Chromatogr, 2011, 34(19): 2286–2303.
- [17] 郝杰, 姜洁, 余建龙, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中多种兽药残留[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 266–272.
HAO J, JIANG J, YU JL, *et al.* Simultaneous determination of multi-veterinary drug residues in animal-origin food by solid phase extraction coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2017, 38(12): 266–272.
- [18] 赵善贞, 盛永刚, 张旗, 等. 基质分散固相萃取-同位素稀释-液相色谱-高分辨质谱法测定水产品中的100种兽药[J]. 同位素, 2020, 33(5): 312–327.
ZHAO SZ, SHENG YG, ZHANG Y, *et al.* Determination of 100 kinds of veterinary drugs in aquatic products by matrix solid-phase dispersive extraction-isotope dilution-liquid chromatography-high mass spectrometry method [J]. J Isotop, 2020, 33(5): 312–327.
- [19] 欧阳少伦, 蓝草, 陈文锐, 等. 在线净化/液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查水产品中123种兽药残留[J]. 分析测试学报, 2022, 3(41): 309–318.
OUYNG SL, LAN C, CHEN WR, *et al.* Rapid screening and confirmation of 123 veterinary drugs in aquatic products by on-line cleanup/liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2022, 3(41): 309–318.
- [20] 田怀香, 何玉洁, 周兴鑫, 等. 高效液相色谱-串联飞行时间质谱高通量筛查生鲜乳中兽药残留[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 295–304.
TIAN HX, HE YJ, ZHOU XX, *et al.* High-throughput screening of veterinary drug residues in raw milk by HPLC-TOF-MS/MS [J]. Food Sci, 2018, 39(22): 295–304.
- [21] 刘迪, 韩莉, 江丰, 等. 液相色谱-串联质谱法高通量定性筛查畜禽肉中221种兽药残留[J]. 现代食品科技, 2023, 39(5): 290–303.
LIU D, HAN L, JIANG F, *et al.* High-throughput qualitative screening of 221 veterinary drug residues in livestock and poultry meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Food Sci Technol, 2023, 39(5): 290–303.
- [22] 郭恬荣, 万渝平, 孙利, 等. 通过式固相萃取结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查畜禽肉中108种兽药残留[J]. 分析化学, 2022, 50(2): 271–277.
GUO TR, WAN YP, SUN L, *et al.* Rapid screening and confirmation of 108 kinds of veterinary drug residues in livestock and poultry meat by solid phase extraction purification and liquid chromatography coupled with quadrupole/orbitrap mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2022, 50(2): 271–277.
- [23] TUMIPSEED SB, LOHNE JJ, STOREY JM, *et al.* Challenges in implementing a screening method for veterinary drugs in milk using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(17): 3660–3674.
- [24] LI JZ. Multiclass residues screening of 105 veterinary drugs in meat, milk, and egg using ultra high performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Liquip Chromatogr, 2010, 34(19): 2286–2303.
- [25] MARTIN J, BUCHBERGER W, ALONSO E, *et al.* Comparison of different extraction methods for the determination of statin drugs in wastewater and river water by HPLC/Q-TOF-MS [J]. Talanta, 2011, 85(1): 607–615.
- [26] GU JF, FENG L, ZHANG M H, *et al.* New metabolite profiles of Danshensu in rats by ultra performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2014, 955–956(1): 20–25.
- [27] SONG H, WANG J, ZHANG R, *et al.* In vivo metabolism study of bergenin in rats by HPLC-QTOF mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2013, 27(11): 1398–1405.
- [28] WANG J, LEUNG D, CHOW W, *et al.* Development and validation of a multiclass method for analysis of veterinary drug residues in milk using ultrahigh performance liquid chromatography electrospray ionization quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(41): 9175–9187.
- [29] 荣杰峰. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动物源性产品中磺酰脲吡唑及其代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(9): 195–201.
RONG JF. Determination of pyrasulfotole and its metabolite residues in animal-derived products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(9): 195–201.
- [30] FDA Foods and Veterinary Medicine Science and Research Steering Committee. Acceptance criteria for confirmation of identity of chemical residues using exact mass data for the FDA foods and veterinary medicine program [EB/OL]. [2015-09-24]. <https://www.fda.gov/science-research/field-science-and-laboratories/method-validation-guidelines> [2024-07-31].
- [31] Food and Drug Administration. FDA-2001-D-0102.FDA-CVM GFI#118.Guidance for industry mass spectrometry for confirmation of the identity of animal drug residues [EB/OL]. [2003-05-01]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cvm-gfi-118-mass-spectrometry-confirmation-identity-animal-drug-residues> [2024-07-31].
- [32] European Commission. 2002/657/EC. Commission decision implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results [EB/OL]. [2002-08-12]. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed928116-a955-4a84-b10a-cf7a82bad858/language-en> [2024-07-31].

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)

作者简介



孟蕾, 兽医师, 主要研究方向为兽药、饲料、畜产品质量安全。
E-mail: menglei47@126.com



王克然, 高级兽医师, 主要研究方向为畜产品质量安全。
E-mail: xcp77929@163.com