

张飞,王远,马小宁,等.超高效液相色谱-串联质谱法检测卤肉中 36 种兽药残留[J].食品工业科技,2023,44(13):340-348. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080155

ZHANG Fei, WANG Yuan, MA Xiaoning, et al. Determination of 36 Veterinary Drug Residues in Cooked Meat by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 340-348. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080155

· 分析检测 ·

超高效液相色谱-串联质谱法检测卤肉中 36 种兽药残留

张 飞,王 远*,马小宁,张金磊,巩婧婷,付明鑫
(新疆农垦科学院分析测试中心,新疆石河子 832000)

摘 要:建立了卤肉中金刚烷胺、磺胺类、喹诺酮类及氯霉素类等 36 种兽药残留的检测方法。卤肉样品通过乙腈-水溶液(V:V=8:2)提取,PRiME HLB 固相萃取柱净化,配有电喷雾离子源(ESI±)的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS),在正负离子多反应监测(MRM)模式下同时测定,基质匹配标准曲线定量。结果表明,所研究的 36 种兽药在 0.5~20.0 ng/mL 浓度范围内均呈良好线性关系($R^2>0.999$)。本方法中 36 种药物的检出限均为 0.10 $\mu\text{g/kg}$,定量限均为 0.33 $\mu\text{g/kg}$,在高中低 3 个不同浓度(0.5, 1.0 和 5.0 $\mu\text{g/kg}$) 36 种兽药的添加回收率为 70.8%~106.9%,相对标准偏差(RSD, n=6) 0.2%~6.2%。该研究建立的方法操作简单、准确性高、回收率和重现性好,可同时对待卤肉中的 36 种兽药残留进行测定。

关键词:超高效液相色谱-串联质谱法,卤肉,PRiME HLB 固相萃取,兽药残留

中图分类号:O657.63

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2023)13-0340-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080155

本文网刊:



Determination of 36 Veterinary Drug Residues in Cooked Meat by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

ZHANG Fei, WANG Yuan*, MA Xiaoning, ZHANG Jinlei, GONG Jingting, FU Mingxin

(Analysis and Testing Center, Xinjiang Academy of Agricultural Reclamation Science, Shihezi 832000, China)

Abstract: A method was developed for the determination of amantadine sulfonamides, quinolones and chloramphenicols in cooked meat. The samples were extracted with acetonitrile-water mixtures (V:V=8:2), purified with PRiME HLB solid phase extraction column. 36 veterinary drugs were determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) with an electrospray ion source (ESI±) in positive and negative ion switching scanning mode. The results showed that the 36 veterinary drugs showed a good linear relationship in the concentration range of 0.5~20.0 ng/mL ($R^2>0.999$). The limits of detection were 0.10 $\mu\text{g/kg}$ and the limits of quantitation were 0.33 $\mu\text{g/kg}$. The average recovery was 70.8%~106.9% in the range of high, medium and low concentrations (0.5, 1.0 and 5.0 $\mu\text{g/kg}$). The relative standard deviations (RSD, n=6) was 0.2%~6.2%. The method is simple, sensitive and accurate, and could be used for the determination of 36 veterinary drug residues in cooked meat.

Key words: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; cooked meat; PRiME HLB solid phase extraction; veterinary drug residue

兽药残留是指畜禽动物在用药后,经动物体内
新陈代谢,未代谢完全而富集在动物本体内部或其副产

品中药物本身或其代谢产物,包括与兽药有关的杂质
的残留^[1-3]。在畜禽动物生长过程中使用频繁且较容

收稿日期:2022-08-17

作者简介:张飞(1990-),男,本科,助理实验师,研究方向:食品及农产品质量安全检测工作,E-mail: 1919233269@qq.com。

* 通信作者:王远(1983-),男,博士,高级实验师,研究方向:食品及农产品质量安全及风险评估工作,E-mail: duguyuan@126.com。

易引起兽药残留量的兽药种类主要有抗生素类药物(氯霉素类、四环素类)、抗菌类药物(磺胺类、喹诺酮类)、激素类药物(β -兴奋剂类、皮质激素类)等^[4]。畜禽动物在经常反复食用某一种兽药后,其体内的耐药细菌对该药产生抑制作用,使得该药药效降低甚至丧失并大量富集于畜禽及其副产品中^[5-6]。由于消费者经常食用含兽药残留的畜禽及其副产品,残留兽药也随着食物一起进入人体内,药物残留会使人体内的菌株产生耐药抗性,扰乱人体内代谢平衡,使人体产生过敏反应和激素障碍变态反应等^[7-8]。卤肉作为人们经常食用的熟肉制品,含有大量的蛋白质、脂肪、碳水化合物和微量元素等人类所需要的营养成分^[9-10]。然而生产商为了提高卤肉的口感,在制作工艺上会增加一些香料和食品添加剂,这些香料和食品添加剂在提高卤肉口感的同时,也会掩盖畜禽产品的健康状况,兽药残留也随着卤肉进入人体,严重影响人的健康^[11],所以卤肉的安全隐患也逐渐增多。在这种情况下,建立卤肉中兽药残留的检测方法是十分必要的,因此本实验采用最常见的猪肉卤肉制品作为研究对象,来建立卤肉制品中兽药残留的检测方法。

近年来,国内外对兽药残留的测定方法研究主要有酶联免疫法检测牛奶和猪尿中的喹诺酮类、氯霉素类和四环素类药物^[12-14];液相色谱法检测肉制品和奶制品中磺胺类、氟喹诺酮类和四环素类药物^[15-16];气相色谱法检测水产中氯霉素类药物^[17];气相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中的氯霉素类^[18];飞行时间质谱检测猪肉中抗生素^[19]和液相色谱-串联质谱法检测畜禽产品和奶制品中的氯霉素类、磺胺类和四环素类药物^[20-23]等。其中,酶联免疫法操作简单、检测成本低,但是检测结果假阳性率高;气相色谱法和液相色谱法灵敏度高、定量准确,但分析时间长,同时定性准确度不高^[24]。气相色谱-串联质谱法测定兽药时,前处理步骤繁琐、部分兽药需要衍生化、且检测周期长^[25]。飞行时间质谱具有分辨力好,扫描速度快但无串联功能,无法进一步定性和检测成本高等特点。液相色谱-串联质谱法具有灵敏度高、操作简单、分析时间短等特点,近年来被广泛应用于兽药残留分析^[26-28]。但是现存液相色谱-串联质谱方法检测兽药组分较为单一,目前尚未发现有对卤肉样品中多种兽药残留分析的方法。为把控卤肉制品兽药残留情况,本研究拟通过对仪器条件及前处理进行优化,建立超高效液相色谱-串联质谱测定卤肉中 36 种兽药残留的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乙腈、甲醇 色谱级,美国 Fisher 公司;甲酸色谱级,德国 CNW 公司;16 种磺胺类混合标准品 100 $\mu\text{g/mL}$,购于天津阿尔塔科技有限公司;其他 20 种兽药标准品 纯度均 $>98\%$,购于德国 Dr.Ehrstorfer 公司;Oasis Prime HLB 固相萃取小柱(3 cc,

150 mg) 美国 Waters 公司; C_{18} 固相萃取小柱(3 cc, 200 mg) 美国 Waters 公司;孔径 0.22 μm 有机相针式滤器 上海安谱实验科技股份有限公司。

TQ-S 液相色谱-串联三重四级杆质谱联用仪(配有电喷雾 ESI $\pm$ 离子源) 美国 waters 公司;BSA4 202S-CW 电子天平($d=0.01\text{ g}$) 德国 Sartorius 公司;BSA224S-CW 电子天平($d=0.0001\text{ g}$) 德国 Sartorius 公司;Multifuge X4R Pro-MD 高速冷冻离心机 美国 ThermoFisher 公司;R210 旋转蒸发仪 瑞士 Buchi 公司;MS3 Basic 涡旋混匀器 德国 IKA 公司;IQ 7000 超纯水净化仪 美国 Milli-Q 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制 准确称取 25 mg 氯霉素类、喹诺酮类和金刚烷胺固体标准品于 25 mL 容量瓶内,加入乙腈溶解后定容至刻线,配制成 1000 mg/L 的单个标准储备液。取适量的 36 种兽药单个储备液于 10 mL 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度线,配制成 1.0 mg/L 混合标准中间液。用空白基质(称取之前检测样品中的阴性样品按照前处理步骤处理所得到的定容液)将中间液逐级稀释成 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL 的系列混合标准工作液,现用现配。

1.2.2 样品前处理 提取:称取分散均匀的卤肉样品 2.00 g(精确至 $\pm 0.05\text{ g}$)于 50 mL 高速离心管中,加入 10 mL 提取液乙腈:水($V:V=8:2$),置于涡旋混匀器上分散 2 min,使样品被提取充分,8000 r/min 离心 5 min,收集上清液于 50 mL 离心管中,残渣重复提取一次,合并两次上清液,涡旋混匀,待净化。

净化:将上清液通过 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱,直接收集于 100 mL 鸡心瓶中,旋转蒸发,浓缩至近干,用 1 mL 0.1% 甲酸水溶液:乙腈($V:V=9:1$)溶解,过有机相针式滤器,待上机检测分析。

1.2.3 色谱条件 色谱柱:Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm);流动相:0.1% 甲酸水溶液(A),甲醇(B);流速 0.3 mL/min;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 5.0 μL ;梯度洗脱程序:0~1 min, 98% A;1~2 min, 65% A;2~5 min, 65% A;5~7 min, 98% A;7~15 min, 98% A。

1.2.4 质谱条件 离子源:电喷雾离子源(ESI $\pm$);扫描模式:MRM 离子扫描;毛细管电压:2.5 kV;锥孔流速:50 L/h;离子源温度:150 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度:400 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流速 800 L/h。

1.2.5 定性定量方法 定性:根据对应标准物质的保留时间与离子丰度比进行定性。

定量:根据对应标准物质的色谱峰面积进行定量。

1.3 数据处理

使用 MassLynx 4.1 数据处理软件对数据分析。

2 结果与分析

2.1 质谱离子源参数的优化

36 种兽药标准品分别用乙腈稀释成 100 ng/mL

的单个标准溶液,分别注入质谱中。根据不同化合物切换离子源模式,找到响应最高母离子和子离子并找

到与之相对应的锥孔电压和碰撞能量。36 种兽药质谱分析参数如表 1 所示。

表 1 多反应监测离子对及质谱参数

Table 1 Multi reaction monitoring ion pair and mass spectrometry parameters

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能(eV)	保留时间(min)
金刚烷胺(JGWA) (Amantadine)	152.2	135.2 [*] 93.1	40	15 24	4.24
磺胺吡啶(HABD) (Sulfapyridine)	250.0	156.0 [*] 184.0	40	15 17	3.16
磺胺嘧啶(HAMD) (Sulfadiazine)	251.0	156.0 [*] 108.0	40	15 23	2.80
磺胺甲恶唑(HAJEZ) (Sulfamethoxazole)	254.0	156.0 [*] 108.0	40	15 22	4.15
磺胺噻唑(HASZ) (Sulfathiazole)	256.0	156.0 [*] 108.0	40	13 20	3.01
磺胺甲基嘧啶(HAJJMD) (Sulfamerazine)	265.0	156.0 [*] 172.0	40	15 16	3.32
磺胺二甲异恶唑(HAEJYEZ) (Sulfisoxazole)	268.0	156.0 [*] 108.0	40	15 16	4.36
磺胺甲噻二唑(HAJSEZ) (Sulfamethizole)	271.0	156.0 [*] 108.0	40	15 20	3.70
磺胺二甲基嘧啶(HAEJJMD) (Sulfamethazine)	279.0	186.0 [*] 156.0	40	15 16	2.82
磺胺二甲基异嘧啶(HAEJJYMD) (Sulfisomidine)	279.0	186.0 [*] 156.0	40	16 16	3.77
磺胺对甲氧嘧啶(HADJYMD) (Sulfameter)	281.0	156.0 [*] 215.0	40	16 12	3.64
磺胺间甲氧嘧啶(HAJJYMD) (Sulfamonomethoxine)	281.0	156.0 [*] 215.0	40	16 12	4.22
磺胺甲氧哒嗪(HAJYDQ) (Sulfamethoxypyridazine)	281.0	156.0 [*] 215.0	40	16 12	3.87
磺胺喹恶琳(HAKEL) (Sulfaquinolaxine)	301.0	156.0 [*] 108.0	40	17 25	5.23
磺胺氯哒嗪(HALDQ) (Sulfachloropyridazine)	285.0	156.0 [*] 108.0	40	15 25	4.08
磺胺邻二甲氧嘧(HALEJYMD) (Sulfadoxine)	311.0	156.0 [*] 108.0	40	15 30	4.36
磺胺间二甲氧嘧啶(HAJEJYMD) (Sulfadimethoxine)	311.0	156.0 [*] 108.0	40	19 29	5.05
萘啶酸(NDS) (Nalidixic acid)	233.1	215.0 [*] 187.1	40	19 25	5.96
氟甲喹(FJK) (Flumequine)	262.1	244.0 [*] 202.0	40	18 33	5.19
恶喹酸(EKS) (Oxolinic Acid)	262.1	244.0 [*] 216.0	40	17 28	6.17
诺氟沙星(NFSX) (Norfloxacin)	320.2	276.2 [*] 233.2	40	16 25	3.74
依诺沙星(YNSX) (Enoxacin)	321.1	303.0 [*] 232.0	40	33 22	3.65
环丙沙星(HBSX) (Ciprofloxacin)	322.1	314.2 [*] 288.2	40	22 17	3.83
培氟沙星(PFSX) (Pefloxacin)	334.0	290.1 [*] 233.1	40	16 25	3.64
洛美沙星(LMSX) (Lomefloxacin)	352.1	308.2 [*] 265.1	40	16 20	3.99
达氟沙星(DFSX) (Danofloxacin)	358.2	314.2 [*] 96.0	40	18 25	3.89
恩诺沙星(ENSX) (Enrofloxacin)	360.3	316.2 [*] 342.2	40	17 20	3.87
氧氟沙星(YFSX) (Ofloxacin)	362.2	318.2 [*] 261.1	40	18 27	3.63

续表 1

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能(eV)	保留时间(min)
麻保沙星(MBSX) (Marbofloxacin)	363.1	320.1 [*]	40	15	3.43
		345.0		20	
沙拉沙星(SLSX) (Sarafloxacin)	395.6	342.1 [*]	40	19	4.18
		299.1		27	
司帕沙星(SPSX) (Sparfloxacin)	393.1	349.1 [*]	40	20	4.50
		329.1		23	
奥比沙星(OBSX) (Orbifloxacin)	396.1	352.1 [*]	40	17	4.04
		295.0		24	
二氟沙星(EFSX) (Difloxacin)	400.1	356.1 [*]	40	20	4.06
		382.0		23	
氯霉素(LMS) (Chloramphenicol)	320.9	152.0 [*]	-40	-46	5.10
		257.0		-12	
甲砜霉素(JFMS) (Thiamphenicol)	354.0	185.1 [*]	-40	-21	3.59
		290.0		-13	
氟苯尼考(FBNK) (Florfenicol)	356.2	336.1 [*]	-40	-10	4.26
		185.1		-18	

注: *表示定量离子,谱图中各组分用汉语缩写表示。

2.2 样品前处理的优化

2.2.1 提取液的优化 综合考虑 36 种兽药的化学性质和其他单一种类兽药的提取办法,比较甲醇、甲醇-水溶液(V:V=5:5)、乙腈、乙腈-水溶液(V:V=5:5) 4 种提取体系对 36 种兽药的提取效率。结果表明(见表 2),在空白卤肉中添加 10.0 μg/kg 36 种兽药标准溶液,纯有机溶剂作为提取溶剂时,磺胺类、喹诺酮类和氯霉素类回收率较低,且部分组分回收率低于 50%。这是由于纯有机试剂不利于样品的分散,提取不充分。而甲醇-水溶液和乙腈-水溶液作为提取液时,36 种兽药的回收率明显提高,这是由于样品能充分溶于提取液中与提取液充分混合,有利于提取。由表 2 进一步看出当甲醇-水溶液作为提取液时,部分磺胺类和氯霉素类兽药回收率低于 70%,而当提取溶液换成乙腈-水溶液时,36 种兽药各组分回收率均超过 70%。进一步改变乙腈和水的比例,选择合适的比例使各组分回收率达到最优。通过实验发现随着乙腈比例增加所测兽药各组分回收率也随之增加,当乙腈比例为 80% 时回收率达到最佳,再增加乙腈比例回收率反而下降。原因是乙腈利于所测兽药残留的溶解,但是乙腈含量过大,样品会变性,抱团,不利于提取。所以实验最终选择乙腈-水(V:V=8:2)溶液作为提取液。

表 2 不同提取溶液对卤肉中 36 种药物的提取效果
Table 2 Extraction effects of different extraction solutions on 36 drugs in cooked meat

化合物名称	甲醇回收率 (%)	乙腈回收率 (%)	甲醇-水回收率 (%)	乙腈-水回收率 (%)
金刚烷胺	60.0~72.2	62.2~75.4	70.5~88.3	83.5~102.2
磺胺类	48.6~62.4	50.5~60.9	67.2~78.5	77.5~91.6
喹诺酮类	23.5~70.9	35.8~66.6	72.6~86.8	73.5~98.1
氯霉素类	35.2~50.5	40.1~65.7	56.8~73.5	71.5~89.8

2.2.2 净化条件的优化 本实验比较了 C₁₈ 固相萃

取柱和 Prime HLB 固相萃取柱对样品的净化效率。在空白卤肉中添加 10 μg/kg 的 36 种兽药,分别采用 C₁₈ 固相萃取柱和 Prime HLB 固相萃取柱进行净化处理。结果表明(见图 1),采用 C₁₈ 固相萃取柱净化时,氯霉素类药物均没有保留,磺胺类和喹诺酮类药物保留也相对较差,在废弃液中检出其组分。而采用 Prime HLB 固相萃取柱净化时,通过固相萃取柱的杂质物质被柱子吸附,目标物流出柱子被回收检测分析,研究的 36 种兽药通过柱子后回收率均大于 70%,能满足本实验对净化效果的要求。

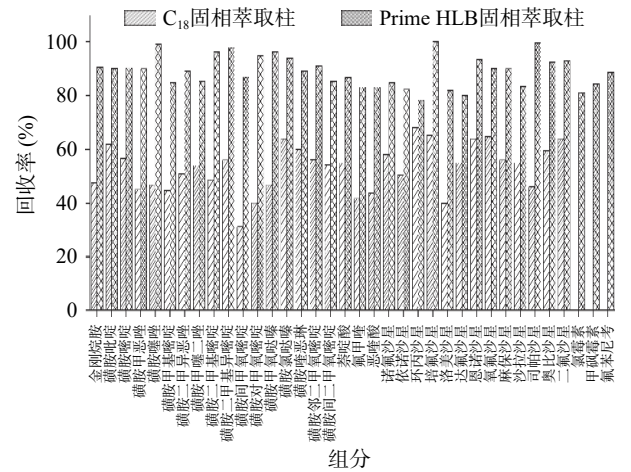


图 1 不同固相萃取柱的净化效果
Fig.1 Purification effect of different solid phase extraction columns

2.3 色谱条件的优化

2.3.1 色谱柱的优化 根据 36 种兽药的结果及化学性质,选择合适的分析色谱柱使各组分的分离及响应达到最优。实验比较了 HSS T₃(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)、CSH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 2.5 μm)和 BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)3 种色谱柱对 36 种兽药分离和响应的影响。HSS T₃ 色谱柱采用高强度硅胶为填料,对水溶性和极性大的小分子化合物有很好

的保留作用,因此 HSS T₃ 色谱柱对喹诺酮类药物分离效果不太理想,其中麻保沙星没有响应,恩诺沙星、沙拉沙星、氧氟沙星和二氟沙星虽然有出峰但峰型较差且响应较低(如图 2 a 所示)。CSH C₁₈ 色谱柱采用表面带电杂化颗粒为填料,对碱性化合物有很好的保留效果,因此 CSH C₁₈ 色谱柱对氯霉素类和部分喹诺酮类保留效果较差,其中甲砒霉素没有响应,麻保沙星、依诺沙星、诺氟沙星和培氟沙星分离效果差且响应较低(如图 2 b 所示)。而 BEH C₁₈ 色谱柱采用三官能键合 BEH 颗粒作为填料,能利用 pH 对各种化合物有很好的保留和分离作用,当使用 BEH C₁₈ 色谱柱分析时,36 种兽药分离度和质谱响应均能满足实验要求(如图 2 c 所示),因此本实验采用 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱作为分析 36 种兽药残留的分析柱。

2.3.2 流动相的优化 在优化完色谱柱的基础上,使用 BEH C₁₈ 作为分析柱进一步对色谱条件中流动相进行优化。根据单类化合物的质谱条件分别比较水和甲醇、0.1% 甲酸水溶液和甲醇、10 mmol/L 的乙酸铵溶液和甲醇 3 种流动相体系对 36 种兽药的分离效果和质谱响应情况。结果表明,在 ESI 源正、负

离子同时扫描模式下,水和甲醇作为流动相,喹诺酮类药物分离效果不理想,峰型对称性差(如图 3a 所示)。10 mmol/L 的乙酸铵溶液和甲醇作为流动相时,氯霉素类药物均无响应且喹诺酮类药物分离效果差、响应较低(如图 3b 所示)。0.1% 甲酸水溶液和甲醇作为流动相时,36 种兽药各组分均分离度较好且质谱响应高,这是由于在一定的质谱条件下甲酸提供的酸性条件更利于 36 种兽药的电离。与此同时,也比较了把有机相的甲醇换成乙腈当流动相时,36 种兽药的分离效果和质谱响应情况。结果表明,36 种兽药除磺胺甲氧嘧啶(SMP)、磺胺对甲氧嘧啶(SMD)和磺胺间甲氧嘧啶(SMM)三个组分外其他各组分均完全分离且质谱响应较好(如图 3c 所示)。由于这 3 种磺胺类化合物母离子、子离子信息完全一样,如果不能完全分离,将无法定性定量。而采用极性更强的甲醇和 0.1% 甲酸水溶液作为流动相,磺胺甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶和磺胺间甲氧嘧啶这三个组分能完全分离(如图 3d 所示),并且 36 种兽药各组分均能完全分离、质谱响应较高、峰型对称良好。故实验将采用 0.1% 甲酸水溶液和甲醇作为流动相来分析 36 种兽药残留。

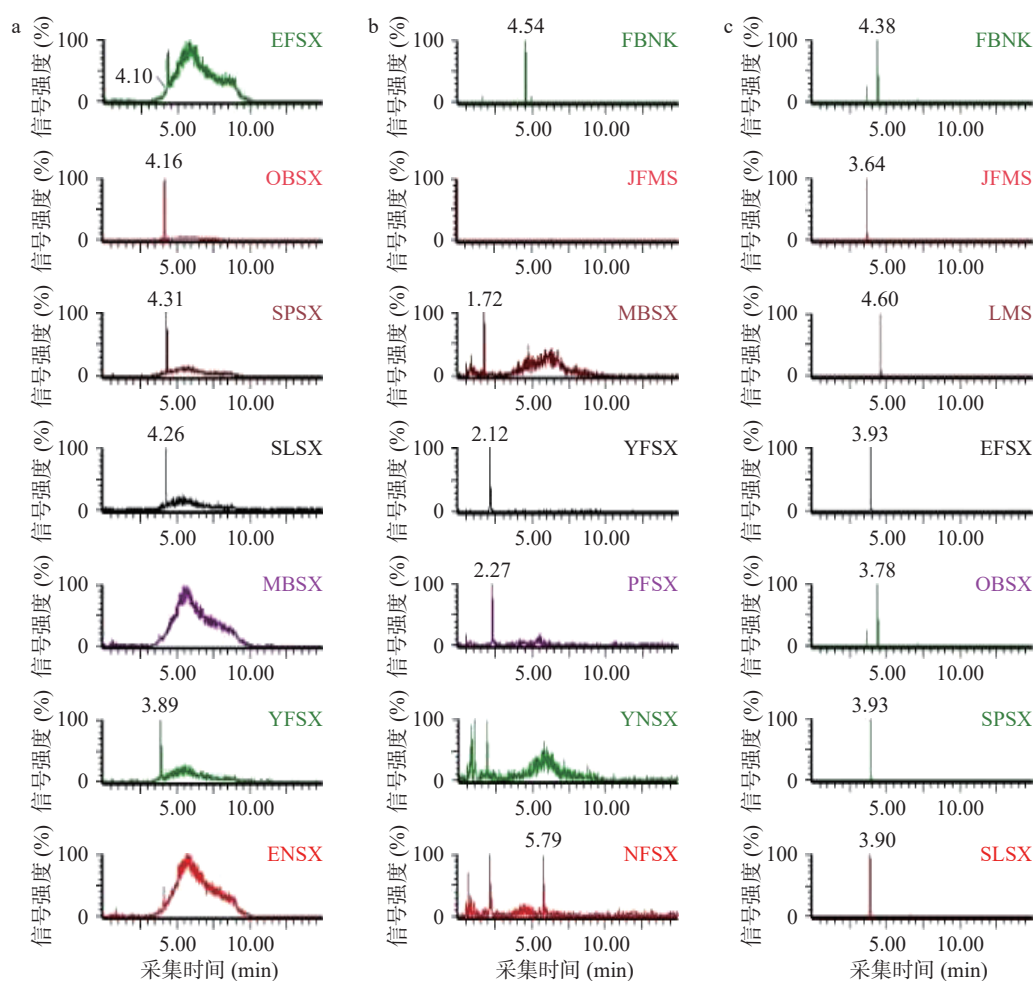


图 2 不同色谱柱的色谱图

Fig.2 Chromatogram of different chromatographic columns

注: a 为 HSS T₃ 色谱柱; b 为 CSH C₁₈ 色谱柱; c 为 BEH C₁₈ 色谱柱。

表 3 36 种兽药的添加范围、线性方程、决定系数、检出限和定量限

Table 3 Linear ranges, regression equations, determination coefficient, LOD, LOQ of 36 veterinary drugs

化合物	浓度范围(ng/mL)	回归方程	决定系数 R^2	检出限LOD($\mu\text{g/kg}$)	定量限LOQ($\mu\text{g/kg}$)
金刚烷胺	0.50~20.00	$y=1.35\times 10^4x+3.54\times 10^3$	0.9996	0.10	0.33
磺胺吡啶	0.50~20.00	$y=6.79\times 10^4x-1.32\times 10^3$	0.9993	0.10	0.33
磺胺嘧啶	0.50~20.00	$y=5.82\times 10^4x+4.60\times 10^3$	0.9997	0.10	0.33
磺胺甲恶唑	0.50~20.00	$y=5.25\times 10^4x-1.12\times 10^3$	0.9994	0.10	0.33
磺胺噻唑	0.50~20.00	$y=6.45\times 10^4x-7.40\times 10^2$	0.9993	0.10	0.33
磺胺甲基噻唑	0.50~20.00	$y=5.28\times 10^4x+7.41\times 10^3$	0.9991	0.10	0.33
磺胺二甲异恶唑	0.50~20.00	$y=3.61\times 10^4x+5.40\times 10^3$	0.9991	0.10	0.33
磺胺甲噻二唑	0.50~20.00	$y=3.86\times 10^4x+2.58\times 10^3$	0.9991	0.10	0.33
磺胺二甲基噻唑	0.50~20.00	$y=6.24\times 10^4x+3.71\times 10^3$	0.9996	0.10	0.33
磺胺二甲基异噻唑	0.50~20.00	$y=8.90\times 10^4x+9.78\times 10^2$	0.9992	0.10	0.33
磺胺间甲氧嘧啶	0.50~20.00	$y=2.80\times 10^4x-2.54\times 10^3$	0.9995	0.10	0.33
磺胺对甲氧嘧啶	0.50~20.00	$y=3.84\times 10^4x+8.08\times 10^3$	0.9993	0.10	0.33
磺胺甲氧哒嗪	0.50~20.00	$y=6.34\times 10^4x+3.42\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
磺胺氯哒嗪	0.50~20.00	$y=3.34\times 10^4x+1.01\times 10^4$	0.9996	0.10	0.33
磺胺喹噁啉	0.50~20.00	$y=3.73\times 10^4x+2.62\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.50~20.00	$y=1.47\times 10^5x+5.10\times 10^3$	0.9993	0.10	0.33
磺胺间二甲氧嘧啶	0.50~20.00	$y=9.90\times 10^4x+5.40\times 10^4$	0.9993	0.10	0.33
萘啶酸	0.50~20.00	$y=3.51\times 10^5x+1.92\times 10^4$	0.9992	0.10	0.33
氟甲喹	0.50~20.00	$y=3.39\times 10^5x+5.57\times 10^4$	0.9994	0.10	0.33
恶喹酸	0.50~20.00	$y=3.32\times 10^5x+4.38\times 10^4$	0.9997	0.10	0.33
诺氟沙星	0.50~20.00	$y=3.44\times 10^4x+3.97\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
依诺沙星	0.50~20.00	$y=1.58\times 10^5x+7.23\times 10^3$	0.9997	0.10	0.33
环丙沙星	0.50~20.00	$y=1.28\times 10^5x+5.40\times 10^4$	0.9993	0.10	0.33
培氟沙星	0.50~20.00	$y=6.67\times 10^4x+1.12\times 10^4$	0.9990	0.10	0.33
洛美沙星	0.50~20.00	$y=9.38\times 10^4x-1.15\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
达氟沙星	0.50~20.00	$y=1.76\times 10^4x-2.59\times 10^2$	0.9995	0.10	0.33
恩诺沙星	0.50~20.00	$y=7.61\times 10^4x+2.11\times 10^5$	0.9996	0.10	0.33
氧氟沙星	0.50~20.00	$y=1.94\times 10^5x+5.72\times 10^5$	0.9991	0.10	0.33
麻保沙星	0.50~20.00	$y=3.97\times 10^4x+1.69\times 10^3$	0.9996	0.10	0.33
沙拉沙星	0.50~20.00	$y=4.32\times 10^4x+5.97\times 10^2$	0.9997	0.10	0.33
司帕沙星	0.50~20.00	$y=9.03\times 10^4x+7.42\times 10^3$	0.9994	0.10	0.33
奥比沙星	0.50~20.00	$y=1.05\times 10^5x+8.59\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
二氟沙星	0.50~20.00	$y=1.02\times 10^5x+5.22\times 10^3$	0.9992	0.10	0.33
氯霉素	0.50~20.00	$y=6.59\times 10^4x-1.59\times 10^2$	0.9993	0.10	0.33
甲砒霉素	0.50~20.00	$y=5.54\times 10^4x+4.82\times 10^3$	0.9996	0.10	0.33
氟苯尼考	0.50~20.00	$y=1.09\times 10^4x+3.25\times 10^2$	0.9995	0.10	0.33

表 4 卤肉中 36 种兽药的加标回收率及精密度(n=6)

Table 4 Recovery and precision of 36 veterinary drugs in cooked meat (n=6)

化合物名称	0.5 $\mu\text{g/kg}$		1.0 $\mu\text{g/kg}$		5.0 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
金刚烷胺	89.3~95.5	0.7~2.4	86.2~97.3	0.2~4.2	85.8~106.9	0.2~2.2
磺胺类	76.2~89.8	1.3~4.0	72.5~90.6	0.9~3.8	75.5~94.3	1.3~4.5
喹诺酮类	82.0~93.1	0.8~5.0	85.5~92.9	0.3~2.9	81.2~97.7	0.3~3.5
氯霉素类	70.8~81.2	1.2~6.2	74.4~83.3	0.9~4.6	72.2~86.9	1.0~5.3

3 结论

通过对流动相、色谱柱、提取溶液及净化柱等条件的优化,建立了卤肉中磺胺类、喹诺酮类、氯霉素类及金刚烷胺等 36 种兽药残留的超高效液相色谱-串联质谱检测方法。样品经乙腈:水(V:V=8:2)重复

提取,PRiME HLB 固相萃取柱净化,基质匹配标准曲线定量。结果表明,36 种兽药在 0.50~20.00 ng/mL 浓度范围内呈良好线性关系($R^2>0.999$),方法检测限均为 0.10 $\mu\text{g/kg}$,定量限均为 0.33 $\mu\text{g/kg}$ 。在中高低三个不同浓度的添加范围下,36 种兽药的回收率在 70.8%~106.9% 之间,相对标准偏差 RSD 均小于 6.2%。该方法灵敏度高、前处理简单、准确度和重现性好,能满足卤肉中 36 种兽药残留的检测,可用于大批量样品中兽药残留的分析检测。

参考文献

- [1] 段玉林,陈栋岩,宁方尧.肉制品中重金属及兽药残留现状研究[J].食品安全质量检测学报,2021,12(8):3008-3015. [DU-AN Y L, CHEN L Y, NING F Y. Study on residues of heavy metals and veterinary drugs in meat products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(8): 3008-3015.]
- [2] 张秋霞,张涛,韩瑾瑾.兽药残留的种类及检测方法[J].畜禽

- 业, 2019, 30(9): 33. [ZHANG Q X, ZHANG T, HAN J J. Types and detection methods of veterinary drug residues[J]. *Livestock and Poultry Industry*, 2019, 30(9): 33.]
- [3] 马芳. 兽药残留种类及检测方法[J]. *畜牧兽医科学*, 2020, 15(5): 30-31. [MA F. Types and detection methods of veterinary drug residues[J]. *Graziery Veterinary Sciences*, 2020, 15(5): 30-31.]
- [4] ZHANG H, CHEN Q, NIU B. Risk assessment of veterinary drug residues in meat products[J]. *Current Drug Metabolism*, 2020, 21: 779-789.
- [5] 高金芳, 岳婷婷, 赵祎, 等. 兽药多残留样品前处理技术研究进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(1): 8-22. [GAO J F, YUE T T, ZHAO Y, et al. Research progress on pretreatment of multi-residue samples of veterinary drugs[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2017, 48(1): 8-22.]
- [6] 蒋磊, 苏绍辉. 动物性食品中兽药残留的危害及预防措施[J]. *现代畜牧科学*, 2021, 5: 10-11. [JIANG L, SU S H. Hazards and preventive of veterinary drug residues in animal food[J]. *Modern Animal Husbandry Science*, 2021, 5: 10-11.]
- [7] 阿力腾才斯克, 萨仁高娃. 动物性食品中兽药残留危害及成因[J]. *畜牧兽医科学*, 2020, 14(14): 156-157. [ALIT Z, SAREN G. Effects of residues drugs on animal food[J]. *Graziery Veterinary Sciences*, 2020, 14(14): 156-157.]
- [8] 郭莉. 畜禽产品兽药残留危害的现状与分析[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2019, 43(3): 130-134. [GUO L. Present situation and analysis of veterinary drug residue harm in livestock and poultry products[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2019, 43(3): 130-134.]
- [9] 张根生, 王军茹, 岳晓霞, 等. 卤肉制品加工过程中风味物质形成机理和变化研究过程[J]. *中国调味品*, 2021, 11: 195-200. [ZHANG G S, WANG J R, YUE X X, et al. Study on the formation mechanism and change of flavor substances in the processing of halogen meat products[J]. *China Condiment*, 2021, 11: 195-200.]
- [10] 朱平, 张秀宇, 何涛, 等. 2016-2019 年国家肉制品监督检验结果分析[J]. *食品安全检测学报*, 2020, 11(16): 5594-5600. [ZHU P, ZHANG X Y, He T, et al. Analysis of national meat product supervision on inspection results from 2016 to 2019[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(16): 5594-5600.]
- [11] YANG Y, YE Y F, PAN D D, et al. Meta bonomics profiling of marinated meat in soy sauce during processing[J]. *Science of Food and Agriculture*, 2017, 98(4): 1325-1331.
- [12] 李燕君, 谭岳, 岳秀英, 等. 牛奶中氟喹诺酮类药物残留同步快速检测的酶联免疫吸附法研究[J]. *中国兽药杂志*, 2020, 54(1): 46-52. [LI Y J, TAN M, YUE X Y, et al. Simultaneous and rapid detection of fluoroquinolone residues in milk by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2020, 54(1): 46-52.]
- [13] 李然, 李泽佳, 杨金易, 等. 酶联免疫法检测动物组织及尿液中氟苯尼考与甲砒霉素的残留[J]. *分析化学*, 2018, 46(8): 1321-1328. [LI R, LI Z J, YANG J Y, et al. The residues of florfenicol and thiamphenicol in animal tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(8): 1321-1328.]
- [14] WANG G, ZHANG H C, LIU J, et al. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk[J]. *Analytical Biochemistry*, 2019, 40(46): 564-565.
- [15] 滕爽, 吕青骥, 沈娟, 等. 超高效液相色谱法检测猪肉及其制品中的磺胺类及氟喹诺酮类兽药残留[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(7): 263-268. [TENG S, LÜ Q Q, SHEN J, et al. Determination of sulfonamides and fluoroquinolones in pork and its products ultra-high performance liquid chromatography[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(7): 263-268.]
- [16] AGADELLS E, TARTAGLIA A, LOCATELLI M, et al. Mixed-mode fabric phase sorptive extraction of multiple tetracycline residues from milk samples prior to high performance liquid chromatography-ultraviolet analysis[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 105437.
- [17] 符靖雯, 黄子敬, 陈孟君, 等. 气相色谱-电子捕获检测器快速测定水产品中多种农药及兽药残留[J]. *理化检验-化学分册*, 2018, 54(9): 1015-1019. [FU J W, HUANG Z J, CHEN M J, et al. Rapid determination of pesticide and veterinary drug residues in aquatic products by gas chromatography-electron capture detector[J]. *PhyTestChem Anal Part B*, 2018, 54(9): 1015-1019.]
- [18] 张春辉. 气相色谱质谱法测定动物源性食品中氯霉素[J]. *分析实验室*, 2020, 39(6): 726-730. [ZHANG C H. Determination of chloramphenicol in food of animal origin by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2020, 39(6): 726-730.]
- [19] 裴雯, 韩萍, 王杰, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF/MS 法同时检测猪肉中主要抗生素类兽药残留[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(10): 298-304. [PEI W, HAN P, WANG J, et al. UHPLC-Q-TOF/MS was used to detect the residues of major antibiotics in pork[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(10): 298-304.]
- [20] REZENDE D R, FILHO N L, ROCHA G L, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol and florfenicol in liquid milk, milk powder and bovine muscle by LC-MS/MS[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2012, 45: 559-570.
- [21] 吴明, 徐飞. 液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中的喹诺酮类和四环素类抗生素[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(3): 249-254. [WU M, XU F. Determination of quinolones and tetracycline antibiotics in eggs by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(3): 249-254.]
- [22] LI J, REN X L, DIAO Y Y, et al. Multiclass analysis of 25 veterinary drugs in milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2018, 257: 259-264.
- [23] 马俊美, 何亮娜, 孙磊, 等. 在线固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和鸡蛋中 5 种抗病毒类药物残留量[J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 305-310. [MA J M, HE L N, SUN L, et al. Determination of residues of 5 antiviral drugs in chicken and egg liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 305-310.]
- [24] 蔡雪, 周川, 杨淑芬, 等. 大米中黄曲霉毒素 B₁ 酶联免疫法与液相色谱-柱后衍生法的比对探讨[J]. *分析检测*, 2019, 11: 186-189. [CAI X, ZHOU C, YANG S F, et al. Comparison of aflatoxin B₁ in rice by enzyme-linked immunoassay and liquid chromatography-post column derivation[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2019, 11: 186-189.]
- [25] 邓高琼, 陈亨业, 刘瑞, 等. 气相色谱-质谱联用技术在食药检测中的应用与发展[J]. *化学试剂*, 2021, 43(5): 555-562. [DENG G Q, CHEN H Y, LIU R, et al. Application and development of gas chromatography-mass spectrometry in food and drug detection[J]. *Chemical Reagents*, 2021, 43(5): 555-562.]
- [26] AN H, PARRALES L, WANG K, et al. Quantitative analysis of nitrofurantol metabolites and chloramphenicol in shrimp using acetonitrile extraction and liquid chromatography-tandem mass spectro-

metric detection: a single laboratory validation[J]. *Journal of AOAC International*, 2019, 98(3): 602–608.

[27] GUO P, WAN J C, ZHAN C R, et al. A simplified sample pretreatment for the rapid determination of 22 β -agonist residues in swine muscle and liver tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2018, 1096: 122–134.

[28] 张敏, 王鸽, 马晓冲, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定牛乳中 6 中兽药残留[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 255–260.

[ZHANG M, WANG G, MA X C, et al. Determination of 6 veterinary drug residues in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(5): 255–260.]

[29] 陈兴连, 林涛, 刘兴勇, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鱼和虾中多类禁、限用兽药残留[J]. *色谱*, 2020, 47(8): 538–546. [CHEN X L, LIN T, LIU X Y, et al. Rapid determina-

tion of multiple and restricted veterinary drug residues in fish and shrimp by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 47(8): 538–546.]

[30] 姜文华, 韦立毅, 邱晋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定猪肉中 93 种兽药和违禁化合物[J]. *实验技术及其应用*, 2020, 47(8): 1477–1483. [JIANG W H, WEI L Y, QIU J, et al. Determination of 93 veterinary drugs and prohibited chemicals in pork by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(8): 1477–1483.]

[31] 李永琴, 卜宁霞, 陈娟, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定牛肉中 80 中兽药及其代谢物[J]. *食品科学科技学报*, 2022, 40(1): 140–149. [LI Y Q, BO N X, CHEN J, et al. Determination of 80 veterinary drug residues and their metabolites in beef by HPLC-MS/MS[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(1): 140–149.]