

QuEChERS-UPLC-MS/MS 同时测定鸡肉中 80 种兽药残留

Simultaneous determination of 80 veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-UPLC-MS/MS

李宏¹ 向俊^{1,2} 李丹³ 李丽娟¹ 何青科¹

LI Hong¹ XIANG Jun^{1,2} LI Dan³ LI Li-juan¹ HE Qing-ke¹

(1. 湖南省产商品质量检验研究院食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 湖南长沙 410017;

2. 中南大学化学化工学院, 湖南长沙 410083; 3. 湖南食品药品职业学院, 湖南长沙 410208)

(1. *Hunan Provincial Institute of Product and Goods Quality Inspection, Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha, Hunan 410117, China;*

2. *Central South University, School of Chemistry and Chemical Engineering, Changsha, Hunan 410083, China;* 3. *Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha, Hunan 410208, China*)

摘要:目的:建立一种同时测定鸡肉中包括喹诺酮类、磺胺类、 β -受体激动剂类、糖皮质激素类、大环内酯类、抗病毒类药物、四环素类等在内的 80 种兽药的 QuEChERS-超高效液相色谱—串联质谱法(UPLC-MS/MS)分析方法。方法:样品经 1% 甲酸乙腈水溶液提取, QuEChERS 多兽药残留净化柱净化, 超高效液相色谱—串联质谱(UPLC-MS/MS)多反应监测模式检测, 基质标准曲线外标法定量。结果:80 种兽药在特定质谱条件下响应性高, 样品在质谱检测条件下检测灵敏, 无杂峰干扰。80 种药物质量浓度在 5.0~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的范围内, 线性关系良好, 相关系数均大于 0.99。80 种兽药的方法检出限均为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。样品中 2.0, 5.0, 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的平均回收率为 62.2%~106.8%, 相对标准偏差为 2.07%~10.85%。结论:80 种药物在样品中加标回收率均符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》标准要求, 适用于鸡肉中 80 种兽药残留的筛查测定。**关键词:**兽药残留; QuEChERS; 超高效液相色谱—串联质谱法; 鸡肉

Abstract: Objective: This study aimed to establish a method for the simultaneous determination of 80 veterinary drugs including quinolones, sulfonamides, receptor agonists, glucocorticoids,

基金项目:湖南创新型省份建设专项重点研发项目(编号: 2020SK2128)

作者简介:李宏,男,湖南省产商品质量检验研究院工程师,硕士。

通信作者:向俊(1984—),女,湖南省产商品质量检验研究院高级工程师,博士。E-mail:105224640@qq.com

收稿日期:2023-02-08 **改回日期:**2023-05-24

macrolides, tetracyclines, antiviral drugs in chicken by QuEChERS - ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods:** The samples were extracted by 1% formic acid acetonitrile aqueous solution, purified by QuEChERS multi-veterinary drug residue purification column, detected by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) multi-reaction monitoring mode, and quantified by matrix standard curve external standard method. **Results:** The results showed that 80 kinds of veterinary drugs were highly responsive under specific mass spectrometry conditions, and the samples were sensitive to detection under the conditions of mass spectrometry without interference of foreign peaks. The correlation coefficient of 80 drugs were greater than 0.99 in the range of 5.0~100 $\mu\text{g}/\text{L}$, with good linearity. The detection limit of 80 veterinary drugs were 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average recovery of spiked concentration of 2.0, 5.0, 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in the sample was 62.2%~106.8%; RSD was 2.07%~10.85%. **Conclusion:** The recovery rate of 80 drugs in the samples conformed to the standard requirements of GB/T 27404—2008 Code for Laboratory Quality Control - Physical and Chemical Testing of Food. The method was suitable for the screening and determination of 80 veterinary drug residues in chicken.

Keywords: veterinary drug residues; QuEChERS; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; chicken

兽药是指用于预防、治疗、诊断动物疾病,或者有目

的地调节动物生理机能的物质。目前常用的兽药有喹诺酮类、磺胺类、 β -受体激动剂类、糖皮质激素类、大环内酯类、四环素类、抗病毒类药物等。兽药残留是指食品动物用药后,动物产品的任何食用部分中与所用兽药有关的物质的残留,包括原型兽药或/和其代谢产物。滥用兽药极易造成动物源食品中兽药残留,这些药物通过食物链在人体蓄积,从而导致人体产生过敏反应或者产生抗药性等副作用。目前,中国国家标准关于动物源性食品中兽药残留检测主要以分类检测为主,一个样品要经过多种前处理方式,多种检测手段进行检测,这需要耗费大量的财力、人力、物力和时间^[1-3]。同时,动物源性食品的食品基质复杂,基质干扰较大,兽药种类繁多^[4]。

近年来,国内外对动物源性食品中兽药残留检测方法研究主要集中在样品前处理方法研究以及检测技术上。常用的前处理方法主要有:固相萃取法^[5-6]、固液萃取法^[7-8]、基质固相萃取法^[9-10]、QuEChERS 快速净化法^[11-12]等。主要的检测技术包括:液相色谱法^[13-14]、液相色谱—串联质谱法^[15-16]等。QuEChERS 快速净化法是一种新型的快速净化样品前处理方法,其具有操作简单、快速、环保、价廉等优点。液相色谱—串联质谱法因其具有分离能力强、灵敏度高、选择性强以及准确度高等优点而被广泛应用于动物源性食品中兽药残留检测。研究拟使用 QuEChERS 新型的快速净化样品前处理方法处理鸡肉样品,建立鸡肉中 80 种兽药残留检测液相色谱—串联质谱分析方法,以期实现对鸡肉中多种兽药残留的同时测定。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

24 种磺胺混合标准物质、19 种喹诺酮混合标准物质、14 种大环内酯混合标准物质、8 种糖皮质激素混合标准物质、9 种 β -受体激动剂混合标准物质、4 种四环素类混合标准物质:质量浓度 1.0 g/L,天津阿尔塔科技有限公司;

金刚烷胺标准物质、尼卡巴嗪代谢物标准物质:质量浓度 1.0 g/L,上海安谱实验科技股份有限公司;

MedLut QuEChERS 多兽药残留净化柱、biocomma 多兽药残留净化柱:日本岛津公司;

Oasis HLB 固相萃取柱:上海安谱实验科技股份有限公司;

0.22 μm 微孔滤膜:上海安谱实验科技股份有限公司;

甲酸、乙腈:色谱级,上海安谱实验科技股份有限公司;

乙酸铵:分析纯,上海安谱实验科技股份有限公司;
所用水均为超纯水;

实际样品来源于湖南省 14 个地州市国家监督抽检样品。

1.2 仪器设备

超高效液相色谱串联质谱联用仪: Thermo Fisher Vanquish Flex+ TSQ Quantis 型,美国 Thermo Fisher 公司;

高速冷冻离心机: Neofuge 1600R 型,美国贝克曼库尔特有限公司;

电子分析天平: BSA224s 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

多管涡旋振荡器: 945066 数显型,美国 Talboys 公司;

超纯水机制备系统: Milli-Q 型,美国 Millipore 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理 准确称取 5 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 1% 甲酸乙腈溶液,涡旋混匀 30 s,于高速振荡器中振荡提取 20 min,10 000 r/min 离心 5 min。取 10 mL 上清液通过已用乙腈活化的 MedLut QuEChERS 多兽药残留净化柱,接收滤液,室温下氮吹至近干,用 0.1% 甲酸乙腈溶液溶解定容至 1 mL,过 0.22 μm 有机滤膜,UPLC-MS/MS 分析。

1.3.2 溶液的配制

(1) 0.1% 甲酸溶液: 准确吸取 1 mL 甲酸于 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至 1 000 mL。

(2) 1% 甲酸乙腈溶液: 准确吸取 10 mL 甲酸于 1 000 mL 容量瓶中,加 100 mL 水,用乙腈定容至 1 000 mL。

(3) 5 mol/L 乙酸铵: 准确称取 38.5 g 乙酸铵于 100 mL 容量瓶中,纯水定容至 100 mL。

(4) 0.1% 甲酸溶液—5 mmol/L 乙酸铵溶液: 准确吸取 0.5 mL 5 mol/L 乙酸铵于 500 mL 容量瓶中,0.1% 甲酸溶液定容至 500 mL。

1.3.3 标准溶液的配制

(1) 混合标准溶液配制: 准确移取一定量的混合标准溶液,用乙腈配制成 10 mg/L 标准储备液,再将 10 mg/L 储备液稀释成 1.0 mg/L 的混合标准使用溶液,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

(2) 基质标准溶液配制: 用空白基质鸡肉样品按照 1.3.1 样品前处理获得空白基质溶液,采用空白基质溶液配制成 5,10,20,40,60,80,100 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作溶液。

1.3.4 液相色谱条件 色谱柱: Hypersil GOLD C_{18} (100 mm \times 2.1 mm,3 μm);柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量: 5 μL ;流速: 200 $\mu\text{L/min}$;流动相: 0.1% 甲酸+5 mmol/L 乙酸铵(A)和甲醇(B),梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

Table 1 Mobile phase and gradient elution conditions

时间/min	0.1%甲酸+5 mmol/L 乙酸铵/%	甲醇/%
0.1	95	5
1.5	95	5
12.0	40	60
16.0	5	95
22.0	5	95
23.0	95	5
25.0	停止	

1.3.5 质谱条件 离子源:电喷雾离子源;扫描方式:正离子扫描(ESI+);毛细管电压:3 500 V;离子源温度:350 ℃;检测方式:多反应监测(MRM);碰撞气:氩气;加热气:氮气;雾化气:氮气;具体监测条件见表 2。

1.4 数据处理

谱图在 MULTIQUANT 3.0 软件上处理,可疑样品通过保留时间、定性离子、定量离子及离子峰度比匹配进行定性确证,外标法计算各组分含量。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂选择

通过查阅文献以及结合食品安全国家标准,将 80 种兽药按照类别分为喹诺酮类、磺胺类、β-受体激动剂类、糖皮质激素类、大环内酯类、抗病毒类药物、四环素类 7 个大类,在空白鸡肉样品中加入 10 μg/kg 含量的标准物质,以 7 类药物的平均回收率为考察指标,考察 4 种不同提取溶剂对目标分析物的提取效果,提取溶剂分别是甲醇、乙腈、1%甲酸乙腈水溶液以及 Na₂EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液。结果如图 1 所示。结果发现:甲醇、乙腈作为提取溶剂提取时,总体回收率偏低,尤其是 β-受体激动剂类,回收率<60%。原因可能在于甲醇、乙腈溶液能够使蛋白沉淀变性,当样品中加入纯的甲醇或者乙腈时,鸡肉样品表面蛋白迅速变性后结块,不利于目标分析物的提取;Na₂EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液进行提取时样品分散,提取较完全,但 Na₂EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液提取剂中蛋白含量高,溶剂混浊,不利于样品净化与检测,其整体平均回收率水平低于 1%甲酸乙腈水溶液的提取水平;1%甲酸乙腈水溶液作为提取溶剂既能分散样品基质,使目标分析物提取完全,同时部分乙腈溶液能够沉淀蛋白,使样品提取剂离心后较澄清,杂质相对较少,同时甲酸可以增强目标物分析信号,提高检测灵敏度。因此,选取 1%甲酸乙腈水溶液作为提取溶剂。

2.2 净化条件的优化

在空白鸡肉样品中加入 10 μg/kg 含量的标准物质,以 7 类药物的平均回收率为考察指标,考察 QuEChERS

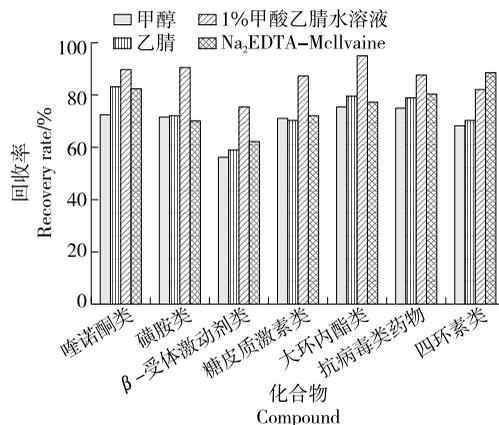


图 1 提取溶剂对 7 类药物残留的提取效果
Figure 1 Extraction effects of different extraction solvents on seven kinds of drug residues

多兽药残留净化柱、biocomma 多兽药残留净化柱、Oasis HLB 固相萃取柱 3 种不同的多功能固相萃取净化柱对目标分析物的提取效果,结果如图 2 所示。结果发现:QuEChERS 多兽药残留净化柱净化效果较好,上机溶剂澄清,且操作简便,快捷。所有分析物的回收率在 74.5%~101.3%。biocomma 多兽药残留净化柱净化效果一般,杂质较多,且 β-受体激动剂类药物平均回收率<60%,不满足检测要求。Oasis HLB 固相萃取柱操作复杂且过柱速度慢,某些分析物回收率较低,如 β-受体激动剂类药物和抗病毒类药物,不满足检验要求。因此,选择 QuEChERS 多兽药残留净化柱进行净化。

2.3 方法选择性

按照 1.4.3 液相色谱条件,1.4.4 质谱条件进行 80 种兽药仪器分析,获得 80 种兽药分析图谱。按照 1.4.1 样品前处理方法,制备空白样品、空白鸡肉样品及鸡肉加标样品,上机分析,结果见图 3。

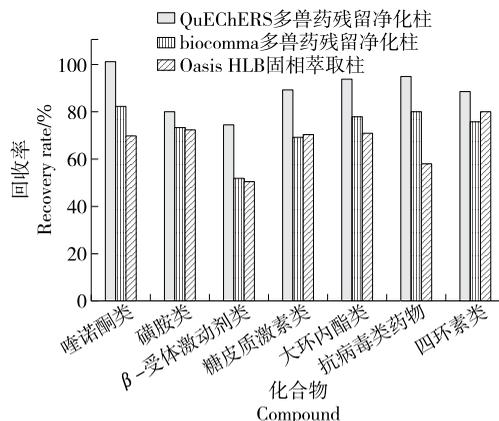


图 2 固相萃取柱对 7 类药物残留的提取效果
Figure 2 Extraction effects of different solid phase extraction columns on seven kinds of drug residues

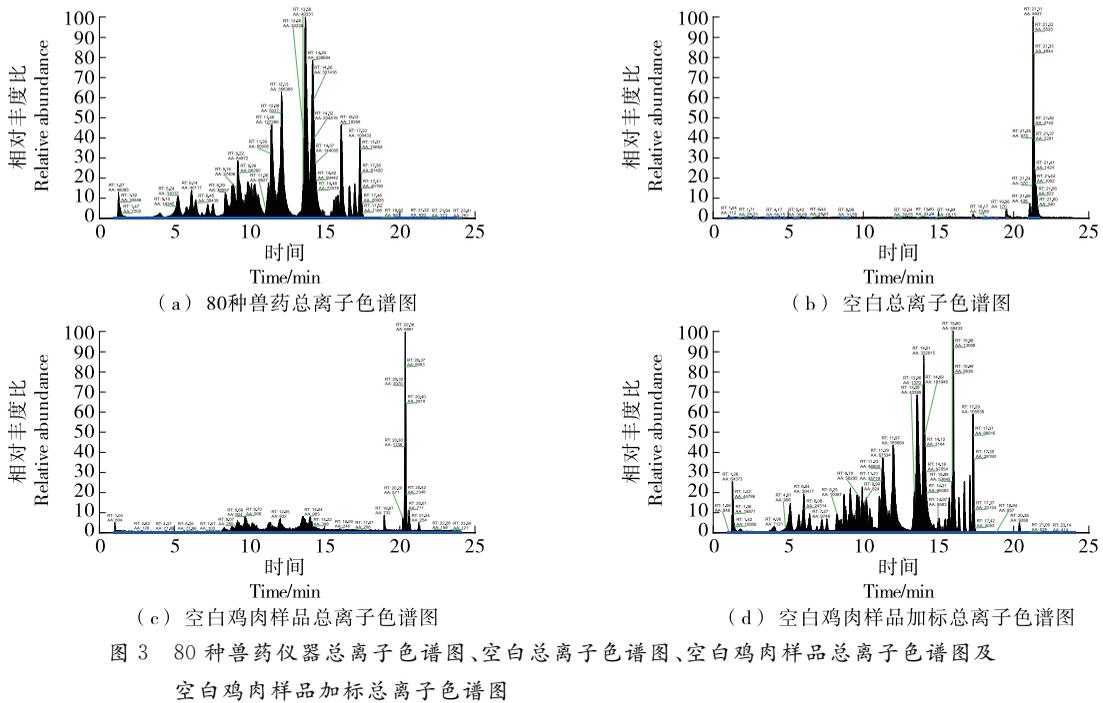


图3 80种兽药仪器总离子色谱图、空白总离子色谱图、空白鸡肉样品总离子色谱图及空白鸡肉样品加标总离子色谱图

Figure 3 Total ion chromatograms of 80 veterinary drug instruments, blank total ion chromatograms, blank chicken sample total ion chromatograms, and blank chicken sample spiked total ion chromatograms

由图3可知,80种兽药在特定仪器色谱、质谱条件下响应性高,分离度较好,满足样品定性和定量要求。空白色谱图中仪器基线噪音小,空白鸡肉样品在质谱检测条件下检测灵敏,基本无杂峰干扰。综上所述,该方法选择性良好,灵敏度较高,能满足样品快速检验要求。

2.4 线性结果及方法检出限

以药物浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,外标法定量,绘制标准曲线,80种药物质量浓度在 $5.0\sim 100\ \mu\text{g/L}$ 的范围内,线性良好,相关系数均大于0.99。将80种兽药混合标准储备溶液用空白基质溶液逐级稀释后,以3倍信噪比的溶液浓度计算方法检出限,得出该方法中80种兽药的方法检出限均为 $1.0\ \mu\text{g/kg}$ 。

2.5 添加回收结果

将空白鸡肉样品进行 $2.0, 5.0, 10.0\ \mu\text{g/kg}$ 含量加标后,按照1.4.1前处理方法处理后上机,平行测试6份样品,重复3次考察回收率和相对标准偏差(RSD),具体结果见表2。 $2.0\ \mu\text{g/kg}$ 添加水平的平均回收率为 $65.4\%\sim 105.3\%$,RSD为 $4.06\%\sim 10.05\%$; $5.0\ \mu\text{g/kg}$ 添加水平的平均回收率为 $62.2\%\sim 106.5\%$,RSD为 $2.07\%\sim 10.76\%$; $10.0\ \mu\text{g/kg}$ 添加水平的平均回收率为 $71.5\%\sim 106.8\%$,RSD为 $2.65\%\sim 10.85\%$ 。80种药物在鸡肉样品中加标回收率符合GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》标准要求。

2.6 实际样品检测

根据《食品安全监督抽检和风险监测实施细则》中的

采样要求,采用研究建立的鸡肉中80种常用兽药残留检测方法,完成了鸡肉样品兽药残留监测540批次,监测情况见表3。其中:长沙、株洲、湘潭、邵阳、郴州、衡阳、娄底、益阳8个地区的样品检出兽药残留;长沙共抽样230批次,检出兽药残留样品9批次,检出率为 3.91% ;由于其他地区样品基数不够多,且问题样品主要集中在少数几个企业,导致部分地区的问题样品所占比较高。

540批次鸡肉样品中有19批次检出兽药残留,检出率为 3.52% 。其中:检出违禁兽药金刚烷胺2批次,不合格率为 0.37% ;检出违禁兽药尼卡巴嗪4批次,不合格率为 0.74% 。鸡肉样品检出兽药残留原因在于鸡饲养过程主要采取笼养方式进行,鸡养殖密度大,容易致病。同时,鸡成长期较短,因此使用兽药的休药期较短,这直接导致鸡兽药残留检出数概率增大。建议:禽类养殖场在使用兽药过程中严格遵守兽药的休药期尤其是产蛋鸡的休药期,从而减少禽类产品中的兽药残留;金刚烷胺和尼卡巴嗪为严禁使用兽药,企业需要严格遵守兽药使用规则;市场监管部门应加强对企业尤其是禽类养殖企业的监督,以确保禽类产品安全。

3 结论

研究建立了QuEChERS-超高效液相色谱—串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定鸡肉中80种兽药残留的分析检测方法,对提取溶剂、净化条件以及方法选择性因素进行了优化,对方法灵敏度和准确度进行验证,并对实际样

表 2 80 种药物多反应监测 (MRM) 参数及鸡肉加标回收率和 RSD 结果

Table 2 MRM parameters of 80 drugs and recovery rate and RSD results of chicken spiked

药物名称	保留时间/min	离子对(m/z)	碰撞能/V	添加水平					
				2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
				回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
恩诺沙星	9.90	360.2>316.2/342.1	17.59/19.41	83.1	7.96	81.4	7.54	82.4	8.36
环丙沙星	9.73	332.2>314.2/231.0	18.65/35.21	82.2	10.31	75.3	9.48	87.9	8.66
氧氟沙星	9.22	362.2>318.2/261.1	17.47/25.85	78.6	5.39	83.4	9.83	90.4	6.27
诺氟沙星	9.53	320.2>302.2/276.2	18.52/15.72	79.2	9.38	85.8	6.76	83.6	7.25
培氟沙星	9.34	334.2>316.2/290.2	18.69/16.54	84.2	7.11	87.7	7.41	86.7	8.64
洛美沙星	10.02	352.2>265.1/308.2	22.19/15.57	78.1	6.59	86.9	7.08	87.0	9.35
达氟沙星	9.96	358.2>340.2/255.0	20.92/38.24	80.2	9.13	82.4	7.63	83.2	5.11
伊诺沙星	9.30	321.2>303.2/232.1	18.31/33.62	86.5	8.51	86.2	10.74	85.8	7.63
沙拉沙星	10.57	386.2>368.1/299.2	20.12/25.72	92.8	7.78	92.4	8.65	87.4	8.22
双氟沙星	10.33	400.2>382.1/356.1	20.25/18.02	86.1	6.62	87.3	4.87	89.7	9.46
司帕沙星	11.27	393.2>349.2/292.2	18.23/23.58	89.3	8.05	76.5	5.32	95.6	4.15
吡派酸	8.38	304.2>217.1/286.2	20.12/17.01	94.3	7.99	73.7	6.54	99.4	9.06
西诺沙星	11.43	263.2>217.0/245.0	21.13/14.63	96.9	8.09	98.2	6.34	92.7	8.48
萘啶酸	13.70	233.2>215.0/187.1	12.54/24.04	77.6	9.64	88.4	7.76	91.6	9.64
氟甲喹	14.16	262.1>202.0/244.0	31.45/16.04	81.9	7.79	86.7	5.14	87.3	7.63
氟罗沙星	8.93	370.2>326.1/269.1	17.51/25.35	90.2	3.47	93.8	9.36	91.2	9.61
奥比沙星	10.12	396.2>352.1/295.2	16.54/22.90	93.4	9.61	94.7	6.58	95.1	8.15
噻啶酸	12.11	262.2>216.0/202.0	27.91/31.41	83.6	9.68	92.7	7.49	82.7	7.66
麻保沙星	8.69	363.2>320.2/262.1	14.01/26.02	92.3	5.01	95.3	10.76	93.8	8.62
螺旋霉素	12.35	844.5>101.1/540.5	38.57/29.85	101.3	8.69	91.8	8.13	101.2	7.55
阿奇霉素	16.12	749.9>158.1/591.5	30.43/22.44	90.3	7.98	94.7	7.23	97.8	9.48
氨基泰霉素	13.73	870.1>126.1/132.1	50.66/37.81	105.3	7.63	91.7	8.56	92.6	8.65
竹桃霉素	14.19	688.6>544.4/158.1	14.86/26.65	89.5	6.59	95.4	9.86	95.2	8.28
红霉素	15.26	734.9>158.1/576.4	26.19/14.94	104.3	4.46	96.2	3.21	91.6	6.31
泰乐菌素	13.88	917.1>617.6/881.9	22.48/18.31	91.3	7.14	94.1	8.61	96.9	7.06
克拉霉素	16.12	748.9>158.1/590.5	24.97/14.77	85.6	7.58	93.3	9.37	92.5	9.54
罗红霉素	16.25	838.0>158.1/679.6	30.06/15.36	89.9	9.02	106.5	8.64	106.8	7.16
莱克多巴胺	9.74	302.3>284.2/164.1	11.41/15.28	68.8	7.89	77.4	7.83	71.5	9.53
沙丁胺醇	6.09	240.3>148.0/222.2	17.97/9.90	79.3	8.62	82.7	8.59	84.8	8.46
特布他林	5.72	226.2>152.0/125.0	15.53/23.49	85.9	7.69	76.9	7.15	83.6	5.32
息喘宁	5.12	220.2>202.1/160.1	9.09/16.08	69.5	7.39	84.8	6.62	84.8	8.62
克伦特罗	10.49	278.1>204.0/260.1	15.49/10.14	98.5	6.91	103.2	6.54	93.7	7.04
妥洛特罗	11.35	228.73>155.0/119.0	16.37/28.29	80.2	7.59	87.6	8.98	83.9	8.65
戊巴洛尔	16.10	292.4>236.2/201.1	15.87/20.16	68.3	6.69	78.8	8.31	73.5	7.35
普萘洛尔	13.54	260.3>183.2/116.0	17.05/17.22	70.2	8.47	75.3	5.26	73.4	6.48
氯丙那林	10.23	214.7>197.1/155.0	11.53/17.09	72.6	5.64	75.7	7.25	83.7	8.61
群勃龙	15.87	271.3>253.2/199.1	18.95/21.89	96.3	8.19	95.1	6.34	94.2	9.02
睾酮	16.63	289.4>109.1/97.1	23.62/21.09	93.0	6.49	96.7	6.72	95.3	7.52
甲睾酮	16.98	303.4>109.1/97.1	25.72/17.62	92.6	7.16	87.8	8.54	95.1	7.61
去甲睾酮	16.22	275.4>239.2/109.1	15.42/25.31	93.6	7.61	95.7	9.81	93.4	6.05

续表 2

药物名称	保留时间/min	离子对(m/z)	碰撞能/V	添加水平					
				2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
				回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
醋酸甲地孕酮	17.33	385.5>325.2/267.2	12.46/17.13	96.3	6.43	96.5	8.62	97.8	10.85
泼尼松	14.20	359.4>313.2/295.2	10.77/12.22	87.3	5.79	98.1	7.78	88.1	8.32
泼尼松龙	14.83	361.4>343.2/325.2	8.88/9.04	65.8	6.55	72.7	5.82	77.5	9.68
皮质醇	14.85	363.4>327.2/309.2	14.18/15.57	67.8	7.81	77.4	6.76	83.7	7.58
甲泼尼龙	15.87	375.4>357.2/339.2	8.92/8.75	65.4	5.85	62.2	3.87	79.8	5.57
地塞米松	15.59	393.4>373.3/355.2	7.36/10.31	80.3	5.56	83.7	5.02	86.1	7.63
倍他米松	15.60	393.9>374.2/356.2	7.95/11.07	70.2	7.59	76.5	7.34	86.5	7.51
可的松	14.83	361.8>344.2/326.2	9.55/9.84	84.3	7.05	91.7	5.13	92.8	8.42
氟地塞米松	15.42	411.4>253.2/391.2	14.97/7.95	65.5	7.17	75.7	7.62	81.5	7.16
曲安奈德	15.76	435.5>415.3/397.3	8.33/12.79	96.2	9.38	95.6	9.46	96.8	9.06
磺胺醋酰	3.86	215.0>155.9/108.0	14.36/22.43	86.8	7.49	86.7	5.25	81.9	6.32
磺胺甲噁二唑	8.64	271.3>156.0/108.0	12.50/21.01	80.6	10.05	82.7	5.84	87.5	8.35
磺胺二甲异噁唑	8.54	268.3>156.0/108.0	14.22/22.23	79.8	4.65	83.7	9.13	85.7	7.16
磺胺氯吡嗪	11.37	285.7>157.0/108.0	14.14/23.24	76.2	6.58	76.1	7.34	80.2	3.38
磺胺氯哒嗪	9.43	285.7>156.0/108.0	14.35/23.24	89.3	9.58	86.2	6.72	86.4	7.65
磺胺嘧啶	5.80	251.2>156.0/108.0	14.06/21.85	96.3	7.69	97.4	8.15	103.2	8.33
磺胺甲基异噁唑	9.68	254.2>156.0/108.0	14.60/22.85	80.3	8.11	88.3	7.06	91.6	8.62
磺胺噻唑	6.77	256.3>156.0/108.0	13.30/21.26	82.6	7.64	78.1	9.76	81.5	7.61
磺胺间甲氧嘧啶	9.10	281.3>156.0/108.0	15.87/23.96	76.5	8.15	74.6	2.85	82.6	7.26
磺胺甲基嘧啶	7.55	265.3>172.1/108.0	15.32/23.49	89.3	7.71	90.3	9.33	101.2	9.18
磺胺邻二甲氧嘧啶	11.81	311.3>156.0/108.0	17.81/25.18	80.2	6.69	83.2	7.47	81.2	5.44
磺胺吡啶	7.19	250.3>156.0/108.0	15.03/22.69	82.5	7.81	92.5	8.56	92.8	5.34
磺胺对甲氧嘧啶	8.40	281.3>156.0/108.0	15.91/24.04	92.3	7.64	93.8	7.35	88.4	6.55
磺胺甲氧哒嗪	9.86	281.3>156.0/108.0	15.74/23.87	81.3	7.45	77.5	4.63	81.6	8.37
磺胺二甲嘧啶	6.36	279.3>156.0/124.0	18.35/20.80	87.5	4.06	96.8	7.85	91.6	6.49
磺胺苯吡唑	11.22	315.3>156.0/158.0	19.48/27.20	66.8	9.56	79.7	7.68	81.8	8.59
磺胺间二甲氧嘧啶	10.12	311.3>156.0/108.0	17.59/24.97	77.9	6.64	94.6	6.75	97.8	2.65
磺胺脒	3.90	215.2>156.0/108.0	11.70/19.66	90.3	5.26	94.5	6.37	96.7	6.07
磺胺二甲异嘧啶	8.79	279.3>186.1/156.0	15.28/18.31	90.2	7.46	87.1	4.41	85.2	8.02
磺胺恶唑	10.22	268.3>156.0/108.0	14.22/22.23	86.5	9.59	93.7	6.76	98.6	6.18
磺胺苯酰	10.06	277.3>156.0/108.0	10.98/20.54	69.3	7.58	76.9	7.81	82.8	9.69
磺胺噻恶唑	12.18	301.3>156.0/108.0	15.07/23.45	72.6	7.87	88.7	5.51	86.3	7.54
磺胺硝苯	14.03	336.3>156.0/108.0	11.15/9.77	78.9	6.35	85.1	2.07	88.1	7.48
甲氧苄啶	8.82	291.3>230.1/108.0	22.23/24.12	90.3	7.22	95.6	6.34	92.7	6.52
金刚烷胺	5.65	152.1>93.1/135.1	29.31/18.48	85.9	5.36	88.9	5.39	94.2	6.13
尼卡巴嗪	5.99	300.9>136.9/106.9	18.21/32.00	78.9	7.13	89.3	4.26	93.6	7.28
土霉素	6.79	461.0>426.2/443.3	18.65/12.29	88.9	6.16	91.5	6.37	97.5	8.39
四环素	7.19	445.1>410.2/427.3	18.95/12.16	79.8	6.35	90.6	8.22	96.1	4.59
金霉素	8.31	479.0>444.2/462.1	19.79/17.77	77.5	5.98	94.5	9.22	95.1	5.99
强力霉素	11.55	445.0>410.1/428.2	21.76/18.65	79.6	6.91	97.3	3.27	94.8	7.69

表 3 不同地区鸡肉中兽药残留监测结果

Table 3 Monitoring results of veterinary drug residues in livestock and poultry meat and its by-products in different regions

样品类别	样品数	兽药残留		问题样品	
		检出数	检出率/%	问题数	问题率/%
长沙	230	9	3.91	4	1.74
株洲	65	2	3.08	0	0
湘潭	65	2	3.08	0	0
衡阳	15	1	6.67	0	0
邵阳	15	1	6.67	1	6.67
常德	15	0	0	0	0
益阳	15	1	6.67	0	0
娄底	15	1	6.67	0	0
郴州	15	1	6.67	0	0
永州	15	0	0	0	0
怀化	15	0	0	0	0
张家界	15	0	0	0	0
岳阳	30	0	0	0	0
湘西	15	1	6.67	1	6.67
合计	540	19	3.52	6	1.11

品进行检验论证。结果表明:所建方法前处理操作简单、快速、灵敏度高、准确度高。将该方法应用于实际样品检测中,成功检测出鸡肉中违禁兽药。该方法快速准确,方法可靠,适用于鸡肉中 80 种兽药残留常规检测及日常监督检查检测工作中。

参考文献

- [1] 中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱—质谱质谱法: GB/T 21312—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
Standardization Administration of China. Analysis of fourteen quinolones in food of animal origin by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry: GB/T 21312—2007[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.
- [2] 中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测方法 液相色谱—质谱质谱法: GB/T 21313—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
Standardization Administration of China. Analysis of β -agonists in foods of animal origin by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry: GB/T 21313—2007[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.
- [3] 中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 高效液相色谱—质谱质谱法: GB/T 21316—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
Standardization Administration of China. Determination of residues

- of sulfonamides in foodstuffs of animal origin—LC-MS/MS: GB/T 21316—2007[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.
- [4] 中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱—质谱质谱法与高效液相色谱法: GB/T 21317—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
Standardization Administration of China. Determination of tetracyclines residues in food of animal origin—LC-MS/MS method and HPLC method: GB/T 21317—2007[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.
 - [5] 张秋云, 杨洪生, 谭秀慧, 等. 液相色谱—串联质谱测定水产品中 15 种苯二氮卓类镇静剂的药物残留[J]. 食品与机械, 2022, 38(11): 60-67.
ZHANG Q Y, YANG H S, TAN X H, et al. Determination of residues of 15 kinds of benzodiazepine sedatives in aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 60-67.
 - [6] MELEKHIN A O, TOLMACHEVA V V, GONCHAROV N O, et al. Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hypercrosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132866.
 - [7] 张今君, 夏慧丽, 高海波, 等. 液相色谱—串联三重四极杆复合线性离子阱质谱法测定水生蔬菜中 45 种抗生素[J]. 食品与机械, 2022, 38(11): 68-75.
ZHANG J J, XIA H L, GAO H B, et al. Determination of 45 antibiotics in aquatic vegetables by liquid chromatography tandem triple quadrupole composite linear ion trap mass spectrometry[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 68-75.
 - [8] SANTOYO-GARCIA J H, WALLS L E, NOWROUZI B, et al. In situ solid-liquid extraction enhances recovery of taxadiene from engineered *Saccharomyces cerevisiae* cell factories[J]. Separation and Purification Technology, 2022, 290: 120880.
 - [9] WEI D, GUO M. Simultaneous determination of 76 pesticide residues in the traditional Chinese medicine by magnetic hydrophilic-lipophilic-balanced materials assisted matrix solid phase dispersion extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(4): 313-322.
 - [10] CHU C, LIAN L, GAO W, et al. An efficient matrix solid-phase dispersion extraction combined with online preconcentration by electrokinetic supercharging in capillary electrophoresis for the sensitive determination of two alkaloids in complicated samples matrix[J]. Microchemical Journal: Devoted to the Application of Microtechniques in all Branches of Science, 2022, 178: 107314.
 - [11] YE S B, HUANG Y, LIN D Y. QuEChERS sample pre-processing with UPLC-MS/MS: A method for detecting 19 quinolone-based veterinary drugs in goat's milk [J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131466.

(下转第 80 页)

- surfaces[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2015, 86: 32-37.
- [14] 王萍, 朱渊, 乔勇升, 等. 包装饮用水中铜绿假单胞菌 4 种鉴定方法的比较[J]. *生物加工过程*, 2020, 18(3): 397-402, 408.
WANG P, ZHU Y, QIAO Y S, et al. Comparison of four methods for identification of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water[J]. *Bioprocessing*, 2020, 18(3): 397-402, 408.
- [15] 慕妮, 何薛纯, 樊青青, 等. 包装饮用水中铜绿假单胞菌检测方法的比较分析[J]. *生物化工*, 2021, 7(6): 151-155.
MU N, HE X C, FAN Q Q, et al. Comparative analysis of detection methods for *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water [J]. *Biochemistry*, 2021, 7(6): 151-155.
- [16] 冯秀娟, 高俊峰, 董川. 核酸等温环介导荧光检测法检测包装饮用水中的铜绿假单胞菌[J]. *食品科技*, 2023, 48(1): 310-314.
FENG X J, GAO J F, DONG C. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water by nucleic acid isothermal ring mediated fluorescence detection [J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(1): 310-314.
- [17] GHOSH R, NAGAVARDHINI A, SENGUPTA A, et al. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris-wilt* pathogen of chickpea[J]. *BMC Res Notes*, 2015, 8(1): 40.
- [18] 吴春明, 李洪涛, 覃慧敏, 等. 建立 SYBR Green 实时 RT-PCR 定量方法检测铜绿假单胞菌 MexAB-OprM mRNA 水平[J]. *中华医院感染学杂志*, 2007(11): 1 349-1 352.
WU C M, LI H T, QIN H M, et al. A SYBR Green real-time RT-PCR method was established for the determination of *Pseudomonas aeruginosa* MexAB-levels of OprM mRNA [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2007(11): 1 349-1 352.
- [19] 黄河, 易晓明, 王铁军, 等. 一种铜绿假单胞菌核酸荧光 PCR 检测试剂盒及检测方法: CN106520984A[P]. 2017-03-22.
HUANG H, YI X M, WANG T J, et al. A fluorescence PCR detection kit and detection method for *Pseudomonas aeruginosa* nucleic acid: CN106520984A[P]. 2017-03-22.
- [20] 徐璇, 钟礼立, 张兵, 等. 荧光实时定量 PCR 检测铜绿假单胞菌方法建立及价值[J]. *中国医师杂志*, 2006(12): 1 614-1 617.
XU X, ZHONG L L, ZHANG B, et al. Establishment and value of fluorescence real-time quantitative PCR method for detection of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Chinese Journal of Medical Sciences*, 2006(12): 1 614-1 617.
- [21] 钟杰. 包装饮用水中铜绿假单胞菌检测[J]. *造纸装备及材料*, 2020, 49(3): 227-234.
ZHONG J. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water [J]. *Paper Equipment & Materials*, 2020, 49(3): 227-234.
- [22] 杨曼琼. 荧光实时定量 PCR 检测铜绿假单胞菌 *oprI* 基因方法的建立及运用[D]. 长沙: 中南大学, 2007: 1-22.
YANG M Q. Establishment and application of fluorescence real-time quantitative PCR method for detecting *Pseudomonas aeruginosa oprI* gene [D]. Changsha: Central South University, 2007: 1-22.
- [23] 韩娜, 彭贤慧, 张婷婷, 等. 一种新的定量 16S rRNA 基因扩增子测序方法[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(12): 2 548-2 555.
HAN N, PENG X H, ZHANG T T, et al. A novel method for quantitative 16S rRNA gene amplicon sequencing [J]. *Chinese Journal of Bioengineering*, 2020, 36(12): 2 548-2 555.
- [24] ZHANG J Y, DING X, GUAN R, et al. Evaluation of different 16S rRNA gene V regions for exploring bacterial diversity in a eutrophic freshwater lake[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 618: 1 254-1 267.
- [25] CHAKRAVORTY S, HELB D, BURDAY M, et al. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria[J]. *J Microbiol Methods*, 2007, 69(2): 330-339.

(上接第 54 页)

- [12] 黄小波, 刘维平. 基于 QuEChERS 的 UHPLC-MS/MS 同时检测鸡蛋中 19 种农药残留量[J]. *食品与机械*, 2021, 37(10): 56-60.
HUANG X B, LIU W P. Simultaneous determination of 19 pesticide residues in eggs by UHPLC-MS/MS Based on QuEChERS[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(10): 56-60.
- [13] 周碧青, 张金彪. 高效液相色谱法快速测定蜂王浆中四环素类抗生素残留[J]. *福建分析测试*, 2015, 24(4): 10-13.
ZHOU B Q, ZHANG J B. Rapid determination of tetracycline antibiotic residues in royal jelly by HPLC[J]. *Fujian Analytical Testing*, 2015, 24(4): 10-13.
- [14] 唐小兰, 魏仲珊, 王亮亮, 等. 鲜冻水产品中违禁兽药残留高效液相色谱—串联质谱法比较与改进研究[J]. *现代食品*, 2015(17): 35-42.
TANG X L, WEI Z S, WANG L L, et al. Comparison and improvement of HPLC tandem mass spectrometry for prohibited veterinary drug residues in fresh frozen aquatic products [J]. *Modern Food*, 2015(17): 35-42.
- [15] 闫顺华, 王亚丽, 夏依拉·艾尼. 液相色谱—质谱/质谱法测定猪肉中 4 种磺胺类药物残留量的不确定度评定[J]. *食品与机械*, 2021, 37(7): 69-75, 86.
YAN S H, WANG Y L, XIAYILA A. Evaluation of uncertainty in the determination of four sulfonamides residues in pork by liquid chromatography mass spectrometry/mass spectrometry[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(7): 69-75, 86.
- [16] ZHANG L, JIA Q, LIAO G, et al. Multi-residue determination of 244 chemical contaminants in chicken eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry after effective lipid clean-up[J]. *Agriculture*, 2022, 12(6): 869.