

改进的 QuEChERS 结合超高效液相色谱—串联质谱法同时测定水产品中 19 种兽药残留

Modified QuEChERS method combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of 19 quinolones and sulfonamides in aquatic products

孙娟¹ 杨静¹ 赵春晖² 沈媛¹ 李英¹ 方芳¹

SUN Juan¹ YANG Jing¹ ZHAO Chun-hui² SHEN Yuan¹ LI Ying¹ FANG Fang¹

(1. 北京市农产品质量安全中心, 北京 102629; 2. 北京市水产技术推广站, 北京 100176)

(1. Beijing Agricultural Product Quality and Safety Center, Beijing 102629, China;

2. Aquatic Product Technology Promotion of Beijing, Beijing 100176, China)

摘要:目的:实现水产品中 19 种磺胺、喹诺酮类兽药同步检测。方法:利用 1.0% 甲酸乙腈溶液作为提取液,超声 1 min 对样品中目标分析物进行提取,采用 QuEChERS 多功能针式过滤器净化样品,样品净化与过滤除杂同步进行,采用超高效液相色谱结合三重四极杆质谱进行检测。结果:19 种磺胺、喹诺酮类兽药的检出限为 0.5~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,与国家标准方法相比,检测灵敏度有所提高。添加回收率为 81.0%~113.0%,相对标准偏差(RSD)为 0.2%~11.7%。结论:该方法通过超声辅助萃取、QuEChERS 多功能针式过滤器提高样品前处理效率,具有方法检测灵敏度高、准确度高、重现性良好等优点,适用于大批量水产品样品中磺胺、喹诺酮类兽药日常监测。

关键词:超高效液相色谱—串联质谱; QuEChERS; 水产品; 磺胺; 喹诺酮

Abstract: Objective: A simultaneous determination method was established for detecting 19 kinds of quinolones and sulfonamides in aquatic products simultaneously, by using QuEChERS combined with UPLC-MS/MS. **Methods:** Samples were extracted with 1.0% formic acid acetonitrile solution, ultrasonic for 1 min, and purified by QuEChERS multi-function needle filter. The sample purification and filtering were performed simultaneously.

基金项目:北京市财政项目(编号:11000022T000000444148)

作者简介:孙娟,女,北京市农产品质量安全中心工程师,硕士。

通信作者:方芳(1972—),女,北京市农产品质量安全中心正高级工程师。E-mail:fangfang0525@139.com

李英(1984—),男,北京市农产品质量安全中心高级工程师,硕士。E-mail:blueplanet007@163.com

收稿日期:2022-12-09 **改回日期:**2023-04-28

The Mass spectrometry was conducted by using positive (ESI+) electrospray ionization and multi-reactions monitoring (MRM) models, with external standard method. **Results:** The detection limit of 19 kinds of sulfonamides and quinolones is from 0.5 to 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Compared with the national standard method, the detection sensitivity is improved. The added recoveries were from 81.0% to 113.0%, and the relative standard deviation (RSD) were from 0.2% to 11.7%. **Conclusion:** This method assisted ultrasonic extraction and QuEChERS, enhanced the efficiency of measuring quinolones and sulfonamides in aquatic products. It is a simple, rapid, sensitivity, accurate method, which provides an efficient technical means for daily monitoring of sulfonamides and quinolones in large quantities of aquatic product samples.

Keywords: UPLC-MS/MS; QuEChERS; aquatic products; quinolones; sulfonamides

磺胺类(Sulfonamides, SAs)药物和喹诺酮类(Quinolones, QNs)药物是水产品养殖过程中使用最为普遍的两类药物,因具有抗菌谱广、高效、低毒、价格低廉等优势,被大规模应用于水产品疾病防治。然而, SAs 和 QNs 药物滥用或不合理使用容易诱导耐药性,造成药物在动物体内积蓄残留,对人体产生不良影响^[1]。目前,世界各国及权威组织机构针对食品中磺胺类和喹诺酮类药物均制定了最大残留限量值(MRLs)。例如,国际食品法典委员会、欧盟以及中国规定食品中的磺胺总量不得超过 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。美国 FDA 曾在 2005 年就宣布禁止销售和使用恩诺沙星用于治疗水产品中细菌感染^[2]。中国于 2020 年禁止在食品动物中使用培氟沙星、洛美沙星、诺氟沙星、氧氟沙星 4 种抗生素类药物。

目前兽药检测方法主要包括酶联免疫法^[3]、高效液相色谱法^[4-5]、胶体金免疫层析法^[6]、液相色谱串联质谱法^[7-9]等,其中,液相色谱串联质谱法因其灵敏度高、准确度高等优点而备受青睐。由于食品中兽药残留浓度水平较低,通常在 $10^{-9} \sim 10^{-6}$ 级别,加之食品基质复杂,因此以净化和富集为目的的样品前处理步骤十分必要。

QuEChERS 是通过有机溶剂提取目标分析物,然后利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用,吸附杂质从而达到除杂净化的目的。与特异性样品前处理方法相比,QuEChERS 在农产品中多类别目标分析物同步检测中具有不可比拟的优势。但是,对于某些与基质相互作用较强的目标分析物,仅通过传统的有机溶剂提取难以将目标分析物高效提取出来,造成提取时间长、回收率差、重现性不佳等问题,可以利用超声波等外加能量辅助萃取^[10]。另外,QuEChERS 多功能针式过滤器可将净化、离心、过滤等步骤整合为一步,提高样品前处理效率,在大批量样品质量安全监测中具有良好的应用前景。

研究拟采用 QuEChERS 多功能针式过滤器,并且利用超声辅助萃取,构建改进的 QuEChERS 方法,进一步结合超高效液相色谱串联质谱技术,以期实现水产品中 19 种磺胺、氟喹诺酮类药物同步检测分析。

1 试验部分

1.1 材料

1.1.1 试验材料

水产品:北京市郊区渔场及水产市场,样品经过清洗、去鳞后,用高速组织搅拌机均质后作为检测样品待用。

1.1.2 药品与试剂

甲醇、乙腈、甲酸:色谱纯,美国 Fisher 公司;

恩诺沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、洛美沙星、氟罗沙星、培氟沙星、环丙沙星、磺胺噻唑、磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺氯噻唑、磺胺间二甲氧嘧啶 19 种标准品及氘代诺氟沙星、氘代环丙沙星、氘代恩诺沙星、氘代磺胺邻二甲氧嘧啶、氘代磺胺间二甲氧嘧啶 5 种内标标准品:纯度 $\geq 99\%$,国家标物中心;

QuEChERS 萃取包:4 g 无水硫酸镁,1 g 氯化钠,1 g 柠檬酸钠二水合物,0.5 g 柠檬酸二钠盐倍半水合物,安捷伦科技(中国)有限公司;

试验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规定。

1.1.3 仪器设备

超高效液相色谱串联质谱仪:XEVO TQ-XS 型,美国沃特世科技有限公司;

电子天平:ME204E 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

台式高速冷冻离心机:Sorvall ST16R 型,美国赛默飞世尔科技有限公司。

氮吹仪:N-EVAP 112 型,上海力创科学仪器有限公司;

多功能针式过滤器:F-QuEChERS-EN3101 型,天津阿尔塔科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制

(1) 标准储备液($100 \mu\text{g/mL}$)配制:取 19 种磺胺喹诺酮类药物标准品各适量(相当于各活性成分 10 mg),精密称量,分别加甲醇适量溶解并定容至 100 mL 容量瓶中,配制成浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液,避光 -18°C 储存,保存期为 6 个月。

(2) 混合工作液配制:移取 19 种标准储备液,用甲醇稀释,配制成 $200 \mu\text{g/L}$ 混合中间稀释液,将所配溶液于 4°C 避光冷藏保存。使用时要将标准溶液恢复至室温。

1.2.2 样品提取 称取 5.00 g 均质样品于 50 mL 离心管中,加入 $200 \mu\text{g/L}$ 内标混合物,静置 10 min,加入 15 mL 0.1% 甲酸乙腈溶液,超声提取 1 min。加入 QuEChERS 提取包,振荡 3 min,8 000 r/min 离心 5 min,取 5 mL 滤液置于 20 mL 离心管中,放置于 45°C 水浴中,氮吹至近干,加入 20% 甲醇水溶液复溶,涡旋混匀,将溶液流经多功能针式过滤器,采用 2 mL 棕色样品瓶收集流出液,待下一步超高效液相色谱串联质谱仪(UPLC-MS/MS)测定。

1.2.3 液相色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱($2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}, 1.7 \mu\text{m}$);流动相梯度洗脱条件详见表 1;流动相:A 为甲醇,B 为 0.1% 甲酸水溶液,柱温 35°C ;流速 0.3 mL/min ;进样量 $5.0 \mu\text{L}$ 。

1.2.4 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),多反应监测正离子扫描模式(MRM);脱溶剂气温度 500°C ;脱溶剂气流量 1000 L/h ;碰撞气流速 0.18 mL/min ,锥孔气流速 150 L/h ;离子源温度 550°C ;其他采集参数见表 2。

1.2.5 标准工作曲线制作 取 5 种内标混合溶液 $200 \mu\text{L}$,适量磺胺喹诺酮类化合物混合中间标准工作液,

表 1 流动相梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution of program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)
0.0	5	95	0.3
1.0	25	75	0.3
7.0	25	75	0.3
7.1	5	95	0.3
8.0	5	95	0.3

表 2 19 种药物及 5 种内标物的 UPLC-MS/MS 质谱测定参数[†]

Table 2 UPLC-MS/MS acquisition parameters for 19 kinds of vet drugs and 5 kinds of internal standards

化合物	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	驻留时间/s	锥孔电压/V	碰撞能/V
恩诺沙星	2.67	360.202	316.267(Q)	0.003	24	18
			245.169(q)	0.003	24	24
环丙沙星	2.60	332.202	288.182(Q)	0.003	38	18
			245.175(q)	0.003	38	24
诺氟沙星	2.48	320.138	276.226(Q)	0.003	38	16
			233.144(q)	0.003	38	24
洛美沙星	2.86	352.096	308.031(Q)	0.003	8	16
			264.987(q)	0.003	8	22
氧氟沙星	2.34	362.096	318.035(Q)	0.025	34	18
			261.014(q)	0.025	34	26
培氟沙星	2.35	334.096	316.035(Q)	0.025	22	18
			290.026(q)	0.025	22	16
氟罗沙星	2.20	370.096	326.032(Q)	0.025	30	20
			269.014(q)	0.025	30	26
磺胺噻唑	1.85	256.011	156.026(Q)	0.003	18	14
			108.086(q)	0.003	18	22
磺胺嘧啶	1.77	251.074	156.030(Q)	0.003	32	16
			108.088(q)	0.003	32	22
磺胺甲基嘧啶	2.29	265.074	172.043(Q)	0.003	38	14
			156.039(q)	0.003	38	16
磺胺二甲嘧啶	2.29	279.074	156.041(Q)	0.003	38	16
			186.035(q)	0.003	38	18
磺胺甲噁唑	2.84	254.087	156.037(Q)	0.003	34	14
			108.089(q)	0.003	34	22
磺胺二甲异噁唑	3.23	268.074	156.018(Q)	0.003	24	12
			108.086(q)	0.003	24	24
磺胺邻二甲氧嘧啶	3.07	311.074	156.024(Q)	0.003	14	14
			108.087(q)	0.003	14	24
磺胺喹噁啉	6.69	301.074	156.028(Q)	0.003	40	16
			108.088(q)	0.003	40	26
磺胺间甲氧嘧啶	2.93	281.160	156.032(Q)	0.003	38	16
			186.035(q)	0.003	38	18
磺胺甲噻二唑	2.29	271.096	156.037(Q)	0.003	34	14
			108.089(q)	0.003	34	22
磺胺氯哒嗪	2.68	285.096	156.043(Q)	0.003	14	14
			108.102(q)	0.003	14	24
磺胺间二甲氧嘧啶	5.68	311.096	156.105(Q)	0.003	2	18
			108.101(q)	0.003	2	24
氘代恩诺沙星	2.66	365.202	321.245	0.003	40	18
氘代环丙沙星	2.58	340.202	322.240	0.003	38	22
氘代诺氟沙星	2.47	325.202	307.190	0.003	40	18
氘代磺胺邻二甲氧嘧啶	3.04	314.138	108.086	0.003	40	20
氘代磺胺间二甲氧嘧啶	5.47	317.138	156.027	0.003	44	28

[†] Q:定量离子;q:定性离子。

在空白基质中加入不同梯度质量浓度为 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液, 按 1.2.1 方法进行处理。以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准工作曲线。

1.2.6 回收率和精密度试验 选取空白水产品样品, 分别加入不同体积的 19 种磺胺喹诺酮类化合物混合标准工作液, 添加量分别为 10, 50, 100 $\mu\text{g/kg}$, 旋涡混合均匀, 放置 30 min 后, 上机分析测定, 每个水平测定 6 次。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱优化

分别选取 HSS T3 柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm), CORTECS UPLC (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.6 μm) 和 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μm) 3 种不同规格的色谱柱进行 19 种磺胺喹诺酮类化合物的分离比较。结果表明, ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μm) 作为 19 种混合化合物的分离色谱柱时, 分离度和峰型较好, 无分叉及拖尾现象, 且能够在 8.0 min 内完成所有目标物及内标物的分离。因此, 选择 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μm) 作为分析色谱柱。

2.2 流动相种类和比例优化

2.2.1 流动相种类优化 分别考察了甲醇—水、乙腈—水、甲醇—0.1% 甲酸水溶液、乙腈—0.1% 甲酸水溶液作为流动相。结果表明, 在水中添加 0.1% 甲酸溶液, 可以有助于磺胺、喹诺酮类化合物有效电离, 与基质干扰物分离, 提高分子离子峰的响应, 19 种磺胺喹诺酮类化合物均具有较好的质谱信号, 峰形无拖尾且对称。因此, 选择甲醇—0.1% 甲酸水溶液作为最终流动相。

2.2.2 流动相比例优化 由于 19 种磺胺喹诺酮类化合物化学性质存在较大差异, 采用等度洗脱在短时间内难以获得基线分离, 故采用梯度洗脱进行分离。试验时从高到低逐渐调整甲醇的初始比例, 结果表明, 甲醇初始比例越大, 出峰时间越快, 特别是喹诺酮类化合物在 1.0 min 内便出峰, 而且对 19 种磺胺喹诺酮类化合物较难达到分离效果, 特别是磺胺类化合物峰型出现重叠现象; 甲醇的初始比例太小, 目标化合物出峰时间太长, 峰形增宽, 灵敏度下降。综上, 确定最终梯度洗脱程序见表 1, 在此梯度洗脱下获得的 19 种磺胺喹诺酮类化合物和 5 种内标物的多反应监测色谱图见图 1。

2.2.3 样品提取溶剂的选择 由于磺胺喹诺酮类药物酸碱两性的性质, 在酸性提取环境下更易被萃取, 而乙腈是极性溶剂, 以其作为提取溶剂时可避免从组织中提取出过多的脂肪, 同时具有很好的蛋白沉积效果。因此, 采用纯乙腈和酸化乙腈 (1% 甲酸) 两种提取溶剂试验, 结果发现, 采用纯乙腈提取, 7 种喹诺酮类药物中只有恩诺沙星

出峰正常, 其余 6 种均未出峰, 说明纯乙腈对于喹诺酮类药物提取效果不佳。而采用 1% 甲酸乙腈提取时, 磺胺喹诺酮类药物出峰均正常, 且回收率均达到 80% 以上。加入甲酸能够提高喹诺酮类药物的提取效果, 其原因可能是甲酸能够破坏鱼肉中蛋白质、氨基酸等基质与喹诺酮类药物之间的氢键作用力, 从而使更多的喹诺酮类药物从基质中释放出来。另外, 在提取液中加入甲酸使得喹诺酮类药物中的叔胺基团质子化而带正电荷, 从而有利于提高正离子扫描模式下喹诺酮类药物的信号响应。因此, 选择 1% 甲酸乙腈作为提取溶剂。

2.2.4 样品提取方式的选择 样品提取的实质是将目标分析物从样品基质转移到提取溶剂中的过程, 如果目标分析物在两相之间的传质速度慢, 不仅容易造成样品前处理耗时, 而且还会严重影响检测结果的稳定性和重现性。利用超声波、微波、电场等外加能量能够有效提高目标分析物的传质速率^[11]。由于超声波具有操作安全, 廉价易得等优点, 因此研究选择采用超声波辅助萃取, 将样品在室温下超声 1 min, 使得 12 种磺胺类药物和 7 种喹诺酮类药物回收率全部达到 90%, 超声时间过短, 不利于充分提取, 造成回收率不佳。

2.2.5 样品净化方式的选择 样品中脂肪、蛋白质、氨基酸等基质干扰物严重影响检测分析的准确度和灵敏度, 因此, 选择 QuEChERS 多功能针式过滤器对水产品提取浓缩液进行净化, QuEChERS 多功能针式过滤器通过简单的过滤操作完成净化, 省去离心操作, 并且能够实现净化与过膜除杂一体化同步进行, 简化了样品前处理步骤, 缩短了样品前处理时间。

2.3 方法学验证

2.3.1 线性范围及检出限 分别配制 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{g/L}$, 进样分析表明, 19 种磺胺喹诺酮类化合物在正离子模式下均呈良好的线性关系, 线性范围为 5 ~ 200 $\mu\text{g/kg}$, 相关系数 (r) 均不低于 0.996 (表 3)。

将 19 种磺胺喹诺酮类化合物配制成不同浓度的混合标准溶液, 分别取空白狭鳕鱼样品作为基质, 添加 19 种磺胺喹诺酮类化合物混合标准溶液, 按照样品预处理方法处理, 分析测定后, 按照 3 倍信噪比 (S/N) 可得最低检出限 (LOD), 按 10 倍信噪比 (S/N) 可得最低定量限 (LOQ), 结果如表 3 所示。结果表明, 19 种磺胺喹诺酮类化合物的最低检出限为 0.5 ~ 1.0 $\mu\text{g/kg}$, 最低定量限为 1.5 ~ 3.0 $\mu\text{g/kg}$, 除氟罗沙星国家未规定限量值, 其余 18 种磺胺喹诺酮类药物均低于 GB 31650—2019 及 GB 31650.1—2022 中规定的限量值。

2.3.2 回收率及精密度 分别称取狭鳕鱼和鲤鱼的空白样品 5.0 g, 针对 19 种磺胺喹诺酮类化合物进行低、中、高 3 个水平的添加回收试验, 结果见表 4。在添加量为 10,

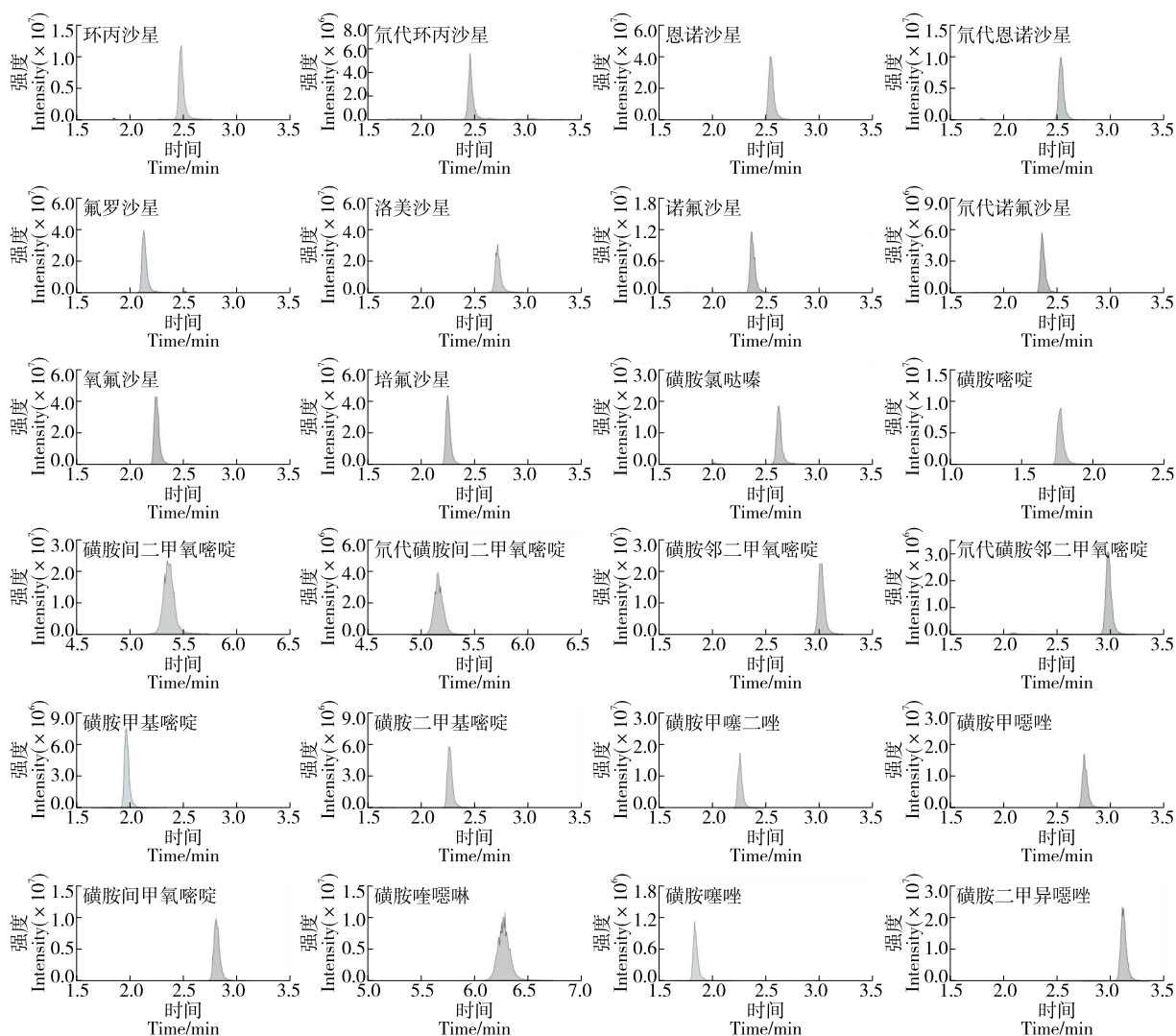


图 1 19 种化合物及内标的多反应监测 (MRM) 色谱图

Figure 1 The chromatogram of multiple reaction monitoring(MRM) of 19 kinds of compounds and internal standards

50,100 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平下,19 种磺胺喹诺酮类化合物的平均回收率为 81.0%~113.0%,相对标准偏差为 0.2%~11.7%,表明该测定方法回收率和精密度均可满足兽药残留检测要求。

2.3.3 同标准方法比对 为了验证试验建立的方法的准确性,将该方法与标准方法(农业部 1077 号公告-1-2008)进行比对试验。结果(表 5)表明,试验建立的方法同标准方法的回收率基本一致,均在标准规定范围内。虽然标准方法稳定性好,回收率高,但存在前处理复杂,需要使用旋蒸设备,后期还需清洗试剂瓶,工作量较大,不适用于做批量样品等问题。而试验建立方法最大的优点就是快速、适合批量样品测定。

2.3.4 实际样品测定 采用试验建立的改进的

QuEChERS 联用超高效液相色谱串联质谱测定方法,对北京郊区 20 家渔场共计 30 份样品(包括草鱼、鲤鱼、鲮鱼、鲫鱼)进行测定。测定结果表明,北京郊区渔场常见的水产品样品中药物残留主要为恩诺沙星和环丙沙星,其中 6 份草鱼样品和 8 份鲤鱼样品中检出恩诺沙星,含量为 5.9~204.1 $\mu\text{g/kg}$;2 份草鱼样品检出环丙沙星,含量为 0.8~2.9 $\mu\text{g/kg}$ 。说明恩诺沙星药物在水产品中有超限量使用问题。

3 结论

研究建立了改进的 QuEChERS 前处理方法结合超高效液相色谱—串联质谱同时测定水产品中 19 种磺胺、氟喹诺酮类化合物残留方法。该方法简单快速,线性范

表 3 19 种兽药的标准工作曲线、相关系数、检出限及定量限及国家规定限量值[†]

Table 3 Calibration curve, linear ranges, correlation coefficients (*r*), LODs and LOQs and national standard limit value of 19 vet drugs

化合物	标准工作曲线	相关系数 (<i>r</i>)	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	国家规定限量值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
恩诺沙星	$Y=0.288\ 509X\pm0.012\ 587\ 3$	0.999 9	0.5	1.5	恩诺沙星+环丙
环丙沙星	$Y=0.187\ 294X\pm0.038\ 247\ 5$	0.998 0	0.5	1.5	沙星总量 ≤ 100
诺氟沙星	$Y=0.239\ 112X\pm0.073\ 827\ 9$	0.996 6	0.5	1.5	2.0
洛美沙星	$Y=0.607\ 899X+0.031\ 905$	0.997 8	0.5	1.5	2.0
氧氟沙星	$Y=0.902\ 236X+0.029\ 162\ 6$	0.997 6	0.5	1.5	2.0
培氟沙星	$Y=0.790\ 724X\pm0.052\ 606\ 8$	0.998 7	0.5	1.5	2.0
氟罗沙星	$Y=0.780\ 38X+0.020\ 916\ 3$	0.998 9	0.5	1.5	—
磺胺噻唑	$Y=0.306\ 392X\pm0.056\ 008\ 7$	0.998 5	1.0	3.0	12 种磺胺总量 ≤ 100
磺胺嘧啶	$Y=0.227\ 326X\pm0.020\ 468\ 1$	0.999 7	1.0	3.0	
磺胺甲基嘧啶	$Y=0.149\ 557X\pm0.006\ 392\ 3$	0.999 4	1.0	3.0	
磺胺二甲基嘧啶	$Y=0.144\ 457X+0.010\ 165\ 1$	0.998 6	1.0	3.0	
磺胺甲噁唑	$Y=0.223\ 577X\pm0.094\ 022\ 1$	0.999 8	1.0	3.0	
磺胺二甲异噁唑	$Y=0.324\ 156X\pm0.147\ 698$	0.998 4	1.0	3.0	
磺胺邻二甲氧嘧啶	$Y=0.713\ 647X+0.007\ 490\ 8$	0.999 9	1.0	3.0	
磺胺喹噁啉	$Y=0.207\ 521X\pm0.131\ 229$	0.999 6	1.0	3.0	
磺胺间甲氧嘧啶	$Y=0.164\ 201X\pm0.025\ 445\ 1$	0.999 7	1.0	3.0	
磺胺甲噻二唑	$Y=0.308\ 104X\pm0.100\ 528$	0.998 3	1.0	3.0	
磺胺氯哒嗪	$Y=0.229\ 387X\pm0.050\ 293\ 5$	0.999 6	1.0	3.0	
磺胺间二甲氧嘧啶	$Y=0.558\ 968X\pm0.052\ 658\ 3$	0.999 8	1.0	3.0	

[†] Y 为峰面积;X 为化合物的质量浓度($\mu\text{g/L}$)。

表 4 19 种兽药的添加回收率

Table 4 Recoveries of 19 kinds of vet drugs in fish samples (*n*=3)

化合物	添加水平/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	狭鳕鱼		鲤鱼	
		回收率/%	相对标准偏差 RSD/%	回收率/%	相对标准偏差 RSD/%
恩诺沙星	10.0	107.5	1.1	108.0	1.1
	50.0	100.6	5.9	97.7	5.8
	100.0	105.3	3.6	107.5	0.2
环丙沙星	10.0	94.5	3.4	95.9	3.3
	50.0	95.3	5.7	101.2	9.9
	100.0	98.2	2.6	98.7	3.5
诺氟沙星	10.0	83.3	5.1	81.0	2.5
	50.0	105.2	6.7	102.4	8.0
	100.0	107.3	4.2	109.7	2.4
洛美沙星	10.0	88.6	11.5	94.4	2.6
	50.0	105.6	7.6	96.2	0.2
	100.0	107.5	0.9	107.6	1.3
氧氟沙星	10.0	83.1	1.8	82.9	2.6
	50.0	98.8	11.1	100.3	4.7
	100.0	103.6	3.9	103.4	5.5

续表 4

化合物	添加水平/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	狭鳕鱼		鲤鱼	
		回收率/%	相对标准偏差 RSD/%	回收率/%	相对标准偏差 RSD/%
培氟沙星	10.0	99.4	2.4	100.5	1.9
	50.0	92.5	5.9	98.5	10.2
	100.0	107.1	4.2	105.7	5.2
氟罗沙星	10.0	84.2	3.4	85.8	0.3
	50.0	97.9	11.7	100.6	6.5
	100.0	105.6	3.3	103.6	1.2
磺胺噻唑	10.0	111.8	8.6	107.7	6.4
	50.0	105.5	6.4	98.5	5.8
	100.0	109.4	6.0	106.4	5.2
磺胺嘧啶	10.0	102.7	8.2	99.4	1.9
	50.0	105.8	9.4	101.9	5.2
	100.0	106.6	4.2	104.0	1.4
磺胺甲基嘧啶	10.0	112.4	4.7	110.3	4.9
	50.0	104.3	4.8	98.6	6.9
	100.0	109.3	0.9	108.7	0.5
磺胺二甲基嘧啶	10.0	113.0	2.2	112.7	3.1
	50.0	101.0	6.8	98.0	2.8
	100.0	112.6	4.5	110.0	2.8
磺胺甲噁唑	10.0	83.3	3.3	82.5	4.2
	50.0	109.3	2.6	101.1	7.6
	100.0	98.7	3.8	97.2	3.9
磺胺二甲异噁唑	10.0	98.1	3.3	99.9	1.6
	50.0	108.4	4.8	103.8	9.3
	100.0	109.3	3.4	108.7	4.7
磺胺邻二甲氧嘧啶	10.0	102.5	6.4	99.1	3.9
	50.0	102.5	5.3	99.7	5.8
	100.0	105.0	2.7	106.0	3.0
磺胺喹噁啉	10.0	85.1	7.2	89.8	7.7
	50.0	105.3	4.2	108.1	1.6
	100.0	96.1	6.0	98.4	6.1
磺胺间甲氧嘧啶	10.0	85.4	2.9	81.4	6.8
	50.0	106.4	7.3	96.5	5.2
	100.0	97.5	3.4	95.8	2.0
磺胺甲噻二唑	10.0	99.1	5.0	97.4	5.8
	50.0	107.5	10.1	96.3	4.3
	100.0	101.0	3.5	99.0	1.1
磺胺氯哒嗪	10.0	94.9	8.7	90.3	3.2
	50.0	114.3	2.2	98.3	8.2
	100.0	100.9	0.8	100.9	1.1
磺胺间二甲氧嘧啶	10.0	108.7	1.0	109.0	1.1
	50.0	111.6	3.0	96.8	6.0
	100.0	108.8	4.0	107.4	4.8

表 5 试验建立方法同国家标准方法比对结果

Table 5 Comparison of results by method used in the study with national standard method

化合物	添加水平/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	试验建立的方法		标准方法	
		回收率/%	相对标准偏差 RSD/%	回收率/%	相对标准偏差 RSD/%
恩诺沙星	50.0	100.5	4.2	98.5	4.3
环丙沙星	50.0	92.1	7.2	101.5	7.0
诺氟沙星	50.0	103.9	5.2	102.8	5.7
洛美沙星	50.0	102.9	7.2	97.7	2.6
氧氟沙星	50.0	98.0	8.1	102.5	4.9
培氟沙星	50.0	93.7	4.6	100.5	7.9
氟罗沙星	50.0	97.4	8.4	101.6	4.9
磺胺噻唑	50.0	104.1	5.2	96.4	5.5
磺胺嘧啶	50.0	104.1	7.3	100.1	9.9
磺胺甲基嘧啶	50.0	102.6	4.5	97.8	5.1
磺胺二甲基嘧啶	50.0	100.9	4.8	99.5	3.3
磺胺甲噁唑	50.0	105.1	7.2	97.5	8.5
磺胺二甲异噁唑	50.0	104.1	8.0	98.7	11.2
磺胺邻二甲氧嘧啶	50.0	100.8	4.8	98.0	5.2
磺胺喹噁啉	50.0	105.3	3.0	105.6	9.3
磺胺间甲氧嘧啶	50.0	102.5	8.5	97.3	4.0
磺胺甲噻二唑	50.0	105.8	7.7	96.7	3.1
磺胺氯哒嗪	50.0	109.1	8.4	98.6	5.8
磺胺间二甲氧嘧啶	50.0	109.4	4.1	97.6	4.4

围宽,回收率较高、检出限较低,可用于开展水产品批量样品中 19 种磺胺、喹诺酮类药物残留的快速筛查与定量检测。

参考文献

[1] 于森. 养殖业中磺胺类药物残留的危害及现状[J]. 现代畜牧科技, 2015(2): 133-135.

YU M. The current status of sulfonamide residues in the aquaculture industry [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2015(2): 133-135.

[2] FDA. FDA announces final decision about veterinary medicine[EB/OL]. (2005-07-28) [2022-11-06]. <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2005/new01212.html>.

[3] 王伟华, 韩占江, 魏新军, 等. 酶联免疫吸附法在磺胺类药物残留检测中的应用[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(6): 1 101-1 106.

WANG W H, HAN Z J, WEI X J, et al. Application of detection sulfonamides residues in Elisa [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2006, 34(6): 1 101-1 106.

[4] 陈振桂, 占春瑞, 郭平, 等. 高效液相色谱法同时测定水产品中 13 种磺胺类药物残留的研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(10): 448-451.

CHEN Z G, ZHAN C R, GUO P, et al. Study on simultaneous determination of 13 sulfonamides residues in aquatic products by HPLC[J]. Food Science, 2007, 28(10): 448-451.

[5] HU X G, YI L, ZHOU Q X, et al. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 36(9): 1 162-1 166.

[6] 韩静, 刘恩梅, 王帅, 等. 胶体金免疫层析法检测食品中的磺胺类药物残留[J]. 现代食品科技, 2011, 27(5): 603-606.

HAN J, LIU E M, WANG S, et al. Detection of sulfonamides residues in food by colloidal gold immunochromatographic method [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(5): 603-606.

[7] 李佐卿, 倪梅林, 俞雪钧, 等. 液相色谱—串联质谱法检测水产品中磺胺类和喹诺酮类药物残留 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(4): 508-510.

LI Z Q, NI M L, YU X J, et al. Determination of residual sulfas and quinolones in aquatic by HPLC-MS/MS using deuterium reagent as internal standard[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2007, 26(4): 508-510.

[8] 熊春兰, 郭平, 占春瑞, 等. 高效液相色谱—串联质谱法同时测定水产品中 8 类 38 种兽药残留[J]. 分析测试学报, 2013, 32(2): 193-198.

XIONG C L, GUO P, ZHAN C R, et al. Simultaneous determination of 8 kinds of 38 veterinary drug residues in aquatic products by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(2): 193-198.

(下转第 240 页)

- (3): 613-619.
- [39] HAM J S, JEONG S G, LEE S G, et al. Quality of irradiated plain yogurt during storage at different temperatures [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2009, 22(2): 289-295.
- [40] 王蓉蓉, 孙传范, 王婷婷, 等. 超高压杀菌机制研究进展[J]. 高压物理学报, 2012, 26(6): 700-708.
- WANG R R, SUN C F, WANG T T, et al. Researchon mechanism of ultra-high presssure sterilization[J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2012, 26(6): 700-708.
- [41] SERRA M, TRUJILLO A J, GUAMIS B, et al. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 82-91.
- [42] MACIULEVICIUS M, TAMOŠIŪNAS M, JAKŠTYS B, et al. Investigation of microbubble cavitation-induced calcein release from cells in vitro[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 2016, 42(12): 2 990-3 000.
- [43] EWE J, WAN ABDULLAH W, BHAT R, et al. Enhanced growth of lactobacilli and bioconversion of isoflavones in biotin-supplemented soymilk upon ultrasound-treatment [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2012, 19(1): 160-173.
- [44] LENTACKER I, DE COCK I, DECKERS R, et al. Understanding ultrasound induced sonoporation: Definitions and underlying mechanisms[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2014, 72: 49-64.
- [45] PITT W G, ROSS S A. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth[J]. Biotechnology Progress, 2003, 19(3): 1 038-1 044.
- [46] OJHA K S, MASON T J, O DONNELL C P, et al. Ultrasound technology for food fermentation applications [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 410-417.
- [47] NGUYEN T M P, LEE Y K, ZHOU W. Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by highintensity ultrasound[J]. International Dairy Journal, 2009, 19(6/7): 410-416.
- [48] NIELSEN H B, SONNE A, GRUNERT K G, et al. Consumer perception of the use of high-pressure processing and pulsed electric field technologies in food production[J]. Appetite, 2009, 52(1): 115-126.
- [49] LOGHAVI L, SASTRY S K, YOUSEF A E. Effect of moderate electric field frequency and growth stage on the cell membrane permeability of *Lactobacillus acidophilus* [J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(1): 85-94.
- [50] CHANOS P, WARNCKE M C, EHRMANN M A, et al. Application of mild pulsed electric fields on starter culture accelerates yogurt fermentation[J]. European Food Research and Technology, 2020, 246(3): 621-630.
- [51] TAMBURINI S, ANESI A, FERRENTINO G, et al. Supercritical CO₂ induces marked changes in membrane phospholipids composition in *Escherichia coli* K12[J]. The Journal of Membrane Biology, 2014, 247(6): 96530.
- [52] TAMBURINI S, BALLARINI A, FERRENTINO G, et al. Comparison of quantitative PCR and flow cytometry as cellular viability methods to study bacterial membrane permeabilization following supercritical CO₂ treatment[J]. Microbiology (Reading, England), 2013, 159(6): 1 056-1 066.
- [53] GARCIA-GONZALEZ L, GEERAERD A H, MAST J, et al. Membrane permeabilization and cellular death of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Saccharomyces cerevisiae* as induced by high pressure carbon dioxide treatment[J]. Food Microbiology, 2009, 27(4): 541-549.

(上接第 47 页)

- [9] 黄子敬, 王晓玲, 杨钦沾, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法同时测定畜禽肉中磺胺类、喹诺酮类、硝基咪唑类兽药残留 [J]. 分析试验室, 2014, 33(10): 1 184-1 188.
- HUAGN Z J, WANG X L, YANG Q Z, et al. Determination of sulfonamides, quinolones and nitroimidazoles in meat by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2014, 33(10): 1 184-1 188.
- [10] 许先猛, 张增帅, 郭俊花, 等. 苹果多酚提取和纯化关键技术研究进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(2): 211-213.
- XU X M, ZHANG Z S, GUO J H, et al. Research progress on the extration and purification technology of apple polyphenols [J]. Food & Machinery, 2021, 37(2): 211-213.
- [11] 张亚瑾, 焦阳. 冷冻和解冻技术在水产品中的应用研究进展 [J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 215-221.
- ZHANG Y J, JIAO Y. Research status and prospect of freezing and thawing technologies of aquatic products[J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 215-221.

(上接第 233 页)

- [55] LI S, HU Y W. Pathogenesis of uteroplacental acute atherosclerosis: An update on current research[J]. American Journal of Reproductive Immunology, 2021, 85(6): e13397.
- [56] TRESSERRA-RIMBAU A, RIMM E B, MEDINA-REMÓN A, et al. Inverse association between habitual polyphenol intake and incidence of cardiovascular events in the PREDIMED study [J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2014, 24(6): 639-647.
- [57] SUN L J, MIAO M. Dietary polyphenols modulate starch digestion and glycaemic level: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 60(4): 541-555.
- [58] BELCARO G, CESARONE M R. Prevention of progression of early subclinical atherosclerosis in women: A pilot registry[J]. Medical & Clinical Research, 2022, 7(4): 45-50.
- [59] CAO A H, WANG J, GAO H Q, et al. Beneficial clinical effects of grape seed proanthocyanidin extract on the progression of carotid atherosclerotic plaques[J]. Journal of Geriatric Cardiology: JGC, 2015, 12(4): 417-423.