

# 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

Simultaneous determination of 45 kinds of antibiotics in aquatic vegetables by high-performance liquid chromatography-triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry

张今君 夏慧丽 高海波 张芳芳

ZHANG Jin-jun XIA Hui-li GAO Hai-bo ZHANG Fang-fang

(台州市食品检验检测中心, 浙江台州 318000)

(Taizhou Food Inspection Centre, Taizhou, Zhejiang 318000, China)

**摘要:**目的:建立超高效液相色谱—三重四极杆复合线性离子阱质谱法同时测定水生蔬菜中多种抗生素类化合物。方法:样品以含0.1%甲酸的乙腈溶液为溶剂,加入N-丙基乙二胺(PSA)、无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 和 $\text{C}_{18}$ 净化处理,质谱采用分时段多反应检测—信息关联—增强子离子(SMRM-IDA-EPI)扫描模式及谱库检索技术,通过对化合物保留时间、离子对及EPI谱库检索对比,外标法定量。结果:45种抗生素在1.0~100.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ 质量浓度范围内线性关系良好( $R^2 > 0.99$ ),检出限为0.3~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为1.0~3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,在3个浓度添加水平下,45种抗生素的回收率为60.4%~121.7%,相对标准偏差为0.9%~10.2%。结论:该方法快速简便、定性能力强,适用于水生蔬菜中45种抗生素类化合物的筛查确证和定量检测。**关键词:**三重四极杆复合线性离子阱质谱;筛查确证;抗生素;水生蔬菜

**Abstract: Objective:** This study aimed to establish a rapid screening and confirmation method for the 45 kinds of antibiotics, including quinolones, sulfonamides, nitroimidazoles and macrolides in aquatic vegetable, by ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry (UPLC-Q-Trap-MS). **Methods:** The sample was extracted with acetonitrile containing 0.1% formic acid, then cleaned up with primary secondary amine (PSA), anhydrous magnesium sulfate ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and  $\text{C}_{18}$ . The analytes were detected by UPLC-Q-Trap-MS in the multiple-reaction monitoring with information

dependent acquisition of enhanced product ion (SMRM-IDA-EPI) mode, followed by matching retrieval of a multiple antibiotic database. The 45 kinds of antibiotics were confirmed by retention times and ion pairs through database searching using the EPI library and quantified by external standard method. **Results:** All the antibiotics showed good linearity with correlation coefficients above 0.99 when the concentration falls in the range 1.0~100.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ . The limits of detection (LOD) were in the range of 0.3~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limits of quantitation (LOQ) were in the range of 1.0~3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The average recoveries for 45 antibiotics at three spiked levels ranged from 60.4% to 121.7%, with relative standard deviations (RSD) of 0.9%~10.2%. **Conclusion:** The method is rapid, simple and qualitative, and is suitable for the screening, confirmation and quantitative detection of the 45 kinds of antibiotics residues in aquatic vegetable.

**Keywords:** triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry; screening and confirmation; antibiotics; aquatic vegetable

水生蔬菜是一类在淡水中栽培的可供食用的维管束植物,是中国区域性特色明显的优势农产品,属于区域性栽培,全球性消费的蔬菜,被称为“中国特菜”<sup>[1]</sup>。

抗生素作为一种广谱杀菌剂被广泛应用于人类医疗和动物养殖,抗生素在动物体内不会被完全吸收代谢,大部分以母体或代谢物的形式随粪便排出,进入土壤或水体环境,进而被农作物吸收积累,带来抗生素污染<sup>[2-5]</sup>。当前关于动物源性食品中抗生素污染问题已被广泛关注<sup>[6-8]</sup>,有关植物源性食品中抗生素污染问题的研究也有相关报道<sup>[9-10]</sup>,但对于水生蔬菜中喹诺酮类、磺胺类、硝基咪唑类、大环内酯类等抗生素的多残留分析却少有研究涉及。因此建立一种简便快速、定量定性准确的水

**基金项目:**国家市场监督管理总局科技计划项目(编号:2020MK047)  
**作者简介:**张今君,女,台州市食品检验检测中心工程师。  
**通信作者:**夏慧丽(1978—),女,台州市食品检验检测中心正高级工程师,博士。E-mail:64463403@qq.com  
**收稿日期:**2022-02-21 **改回日期:**2022-07-16

生蔬菜中抗生素残留检测方法对评估水生蔬菜中抗生素含量水平、污染特征具有重要的理论指导和现实意义。

有关蔬菜中抗生素的检测方法主要是高效液相色谱法<sup>[11-12]</sup>和液相色谱串联质谱法<sup>[13-15]</sup>。高效液相色谱法分析效率高,定量准确,但在定性上存在局限性,不适用于多种化合物的同时检测;液相色谱串联质谱法具有高选择性、高灵敏度的特点,被广泛应用于抗生素残留检测中。三重四极杆复合线性离子阱质谱(Q-TRAP/MS)技术具有多反应监测—信息关联采集—增强子离子扫描(SMRM-IDA-EPI)模式,一次进样能同时获得MRM数据及高灵敏度的二级碎片全谱信息。SMRM模式锁定目标化合物保留时间分段扫描,有利于改善色谱峰形,提高定量准确性;EPI模式在常规液相色谱—三重四极杆质谱利用保留时间、离子比进行定性的基础上,对可疑色谱峰通过标准谱库检索进一步确证,定性能力更强。研究拟在传统液相色谱串联三重四极杆质谱基础上,采用三重四极杆复合线性离子阱质谱(Q-TRAP/MS)技术,建立水生蔬菜中45种抗生素药物残留检测的筛查确证和定量方法,以期实现对水生蔬菜中多种抗生素残留的同时测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

45种抗生素标准品:纯度90.0%~99.9%,德国Dr. Ehrenstorfer公司和美国Sigma公司;

无水硫酸钠( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )、N-丙基乙二胺(PSA)、十八烷基键合硅胶( $\text{C}_{18}$ ):吸附剂,上海安谱实验科技股份有限公司;

甲酸、甲醇、乙腈:色谱纯,美国Merck公司;

氯化钠:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

高效液相色谱—三重四极杆线性离子阱质谱联用系统:QTRAP 4500型,美国Sciex公司;

涡旋振荡器:Multi Reax M10087型,德国Heidolph公司;

冷冻离心机:Allegra X-30R型,美国贝克曼库尔特公司;

离心机:Microfuge 20型,美国贝克曼库尔特公司;

超声仪:2150 TH型,上海安谱实验科技股份有限公司;

电子天平:ME204型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制 准确称取标准品各10.0 mg置于10 mL容量瓶中,硝唑类、磺胺类、大环内酯类化合物

用甲醇溶解并定容,喹诺酮类化合物加甲酸0.2 mL,用甲醇溶解并定容,配制成质量浓度为1 mg/mL标准储备液,−18 °C保存。临用时,根据需要用空白基质溶液配制混合标准工作溶液。

1.2.2 样品处理 称取粉碎均匀的样品10.00 g,置于50 mL具塞离心管中,加入20 mL含0.1%甲酸的乙腈溶液,涡旋振荡15 min,加入4 g氯化钠,涡旋混合1 min,5 000 r/min离心5 min,移取上层乙腈溶液1 mL置于装有无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  50 mg、PSA 20 mg、 $\text{C}_{18}$  20 mg的净化管中,涡旋2 min,5 000 r/min离心5 min,取上清液经0.22  $\mu\text{m}$ 有机滤膜过滤后上机测试。

1.2.3 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH  $\text{C}_{18}$ 柱(100 mm×2.1 mm,1.7  $\mu\text{m}$ );流速200  $\mu\text{L}/\text{min}$ ;柱温35 °C;进样体积5  $\mu\text{L}$ ;流动相A为含0.1%甲酸的水溶液,B为甲醇。梯度洗脱程序:0.0~1.0 min,95% A;1.0~1.5 min,95%~85% A;1.5~6.0 min,85%~45% A;6.0~8.0 min,45%~2% A;8.0~10.0 min,2% A;10.0~10.1 min,2%~95% A;10.1~12.0 min,95% A。

1.2.4 质谱条件 电喷雾离子源(ESI源);扫描方式:SMRM-IDA-EPI,正离子扫描( $\text{ESI}^+$ );电喷雾电压(IS)5 500 V;离子源温度(TEM)550 °C;气帘气压力(CUR)241 kPa;雾化气压力(GS1)345 kPa;辅助气压力(GS2)345 kPa,各化合物定量离子、定性离子对其碰撞能量等参数见表1。

1.2.5 EPI谱库建立和检索 45种抗生素标准品在高、中、低3种碰撞能量下进行EPI扫描,建立EPI谱库,实际样品在同一条件下获取EPI二级谱图,进行谱库筛查匹配。谱库比对结果中,Fit值(匹配值)表示可疑样品谱图与标准品谱图对比相似度值;RevFit(反匹配值)表示可疑样品谱图与标准谱图对比相似度值;Purity值(纯度值)是综合正反匹配得出的结果,Purity值越高,说明该化合物可能性越大,Purity值 $\geq 60\%$ 时,可判定可疑样品为阳性检出。

### 1.3 数据处理

谱图在MultiQuant 3.0.2软件上处理,可疑样品通过EPI谱库匹配进行定性确证,外标法计算各组分含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理条件优化

2.1.1 提取溶剂的选择 目前磺胺类、喹诺酮类、硝基咪唑类、大环内酯类化合物的提取溶剂主要有乙腈水溶液<sup>[16]</sup>、甲酸乙腈溶液<sup>[14,17]</sup>、McIlvaine缓冲溶液与乙腈的混合液<sup>[13,18]</sup>、碱性乙腈溶液<sup>[19-20]</sup>等。以茈白为代表性基质,考察了纯乙腈、含0.1%甲酸的乙腈溶液、含0.5%甲酸的乙腈溶液、含1.0%甲酸的乙腈溶液、含0.1%甲酸的McIlvaine缓冲盐乙腈溶液、含0.5%氨水的McIlvaine缓

表 1 化合物的质谱参数<sup>†</sup>

Table 1 The mass spectrum parameters of compound

序号	化合物名称	保留时间/min	母离子( $m/z$ )	子离子( $m/z$ )	去簇电压/V	碰撞能量/V
1	磺胺二甲异噁唑	6.68	268.1	156.1*, 108.0	60	19,31
2	磺胺二甲异噁唑	5.91	279.1	156.1*, 124.1	80	27,30
3	磺胺噻唑	4.87	256.1	156.1*, 108.1	56	21,34
4	磺胺吡啶	5.08	250.0	156.1*, 184.1	65	24,23
5	磺胺甲氧哒嗪	6.05	281.1	156.1*, 215.1	75	24,25
6	磺胺间甲氧嘧啶	6.53	281.1	156.1*, 215.1	72	24,25
7	磺胺甲噁唑	6.43	254.1	156.1*, 108.1	60	22,33
8	磺胺甲噁二唑	5.81	271.1	156.1*, 108.1	20	20,33
9	磺胺二甲基噻唑	4.61	279.1	156.1*, 124.1	81	27,30
10	磺胺对甲氧嘧啶	5.72	281.1	156.1*, 215.1	74	24,26
11	磺胺甲基嘧啶	5.29	265.1	156.1*, 172.1	69	23,22
12	磺胺胍	1.70	215.1	156.1*, 108.1	20	20,30
13	磺胺邻二甲氧嘧啶	6.67	311.1	156.1*, 108.1	83	28,40
14	磺胺间二甲氧嘧啶	7.53	311.1	156.1*, 108.1	83	28,40
15	磺胺嘧啶	4.57	251.1	156.1*, 108.1	60	22,30
16	磺胺氯哒嗪	6.32	285.1	156.1*, 108.1	20	22,36
17	磺胺喹噁啉	7.73	301.1	156.1*, 108.1	68	22,28
18	氟罗沙星	5.55	370.2	326.1*, 269.1	94	27,38
19	依诺沙星	5.75	321.2	303.1*, 234.1	87	27,31
20	达氟沙星	6.05	358.2	340.2*, 283.2	90	32,34
21	奥比沙星	6.25	396.2	295.2*, 352.1	100	34,26
22	双氟沙星	6.29	400.0	356.0*, 299.2	100	29,43
23	沙拉沙星	6.45	386.0	342.0*, 299.1	102	27,39
24	司帕沙星	6.84	393.0	349.2*, 292.2	115	30,35
25	噁喹酸	7.71	262.0	244.1*, 216.2	60	22,41
26	氟甲喹	8.64	262.0	202.1*, 244.1	70	43,30
27	氧氟沙星	5.72	362.2	318.0*, 261.1	85	28,39
28	诺氟沙星	5.87	320.2	233.1*, 276.1	85	35,25
29	洛美沙星	6.19	352.2	265.1*, 308.1	85	34,25
30	培氟沙星	5.72	334.2	290.2*, 233.2	80	26,38
31	恩诺沙星	6.03	360.2	316.2*, 245.1	105	27,25
32	环丙沙星	5.99	332.2	231.0*, 288.2	36	50,20
33	异丙硝唑	7.28	170.0	109.2*, 124.0	55	34,25
34	洛硝哒唑	4.60	201.0	140.0*, 110.2	45	16,25
35	5-硝基苯并咪唑	5.74	164.0	118.1*, 91.0	56	30,48
36	甲硝唑	4.41	172.2	128.0*, 82.2	48	20,34
37	羟基甲硝唑	3.72	188.1	126.1*, 123.1	55	22,18
38	地美硝唑	4.76	142.1	96.1*, 81.0	60	22,34
39	氯甲硝咪唑	5.39	161.9	115.8*, 145.1	54	26,25
40	羟甲基甲硝咪唑	4.20	158.0	140.0*, 55.1	52	16,24
41	罗红霉素	8.91	837.6	679.5*, 158.1	50	30,37
42	泰乐菌素	8.55	916.6	174.0*, 772.5	42	50,47
43	替米考星	7.88	435.6	695.3*, 174.1	70	23,33
44	红霉素	8.64	734.3	158.2*, 576.3	27	41,30
45	克拉霉素	8.88	748.5	158.0*, 590.3	38	38,29

† \* 为定量离子。

冲盐乙腈溶液6种溶剂对45种化合物提取的影响,添加质量浓度20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结果显示以纯乙腈和0.5%氨水McIlvaine缓冲盐乙腈为提取液时,诺氟沙星、洛美沙星、依诺沙星等多个喹诺酮类化合物的回收率低于60%;4种酸性乙腈提取液中,44种目标化合物的回收率变化趋势基本一致,红霉素化合物仅在0.1%甲酸乙腈中回收率高于60%,具体结果见图1。因此选用0.1%甲酸乙腈作提取溶剂。

**2.1.2 净化条件优化** 蔬菜中含有的有机酸、糖类、维生素、脂肪等物质会干扰目标物分析,同时会造成质谱污染,试验选取PSA去除有机酸、糖类和脂类, $\text{C}_{18}$ 去除脂类对样品进行净化。以茭白为基质,在20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下,考察填料加入量对45种抗生素回收率的影响。结果显示,PSA、 $\text{C}_{18}$ 两种吸附剂加入量为10~60 mg时,各目标化合物回收率均在63.5%~117.2%。试验还比较了无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 和无水 $\text{MgSO}_4$ 对回收率的影响,发现在PSA和 $\text{C}_{18}$ 中添加无水 $\text{MgSO}_4$ 时,喹诺酮类化合物回收率只有7.5%~35.3%,这是由于喹诺酮中羧基和酮羰基与Mg离子形成螯合物被吸附导致的;在PSA和 $\text{C}_{18}$ 中添加无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 时,各目标化合物回收率变化不明显,综合考虑回收率及除杂效果,确定PSA、 $\text{C}_{18}$ 及无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 的加入量分别为20,20,50 mg。

## 2.2 色谱条件优化

流动相选择时考虑分离及离子化效率,磺胺类、喹诺酮类为酸碱两性物质,流动相中加入甲酸能促进电离,改善峰形,因此试验选择含0.1%甲酸的水溶液为水相。试验继续考察甲醇和乙腈为有机相对45种化合物分离

和响应的影响,结果表明,在1.2.3梯度条件下,乙腈作有机相时磺胺间甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪3种同分异构体不能分开,而甲醇作为有机相时,45种化合物具有良好峰形和较高响应;4组9个同分异构体均能达到基线分离,分离情况见图2。因此,选择甲醇—0.1%甲酸水溶液作为流动相。

## 2.3 质谱条件优化

**2.3.1 质谱参数优化** 正离子模式下,将100 ng/mL各化合物标准工作液经针泵以7  $\mu\text{L}/\text{min}$ 流速进入离子源进行参数优化,45种化合物在Q1全扫模式下均获得较高的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 准分子离子峰。子离子模式对准分子离子进行二级质谱扫描,从碎裂的离子中选取两个特征离子作为定量和定性离子。通过MRM扫描优化DP和CE值,使定量与定性离子响应最大,优化后45种化合物的质谱参数见表1。

**2.3.2 SMRM-IDA-EPI扫描模式的选择** 采用峰面积进行定量计算时通常需要每个色谱峰采集12个点,同时测定45种化合物,同一时间段监测的离子数量较多,每个离子通道可能因为驻留时间较短无法采集到足够点数导致峰形失真,影响峰面积定量。为提高定量结果准确度和精密度,在梯度洗脱条件下,根据每个峰的保留时间,设定MRM检测窗口时间60 s,进行分段扫描,SMRM可扫描模式满足色谱峰采集点数。同时,SMRM作为IDA的预扫描,触发EPI扫描,二级碎片在离子阱中富集可获得高灵敏度的二级碎片全谱信息,样品在常规三重四级杆比较离子比的基础上进一步与EPI建立的标准谱库进行筛查确证,提高定性准确性。

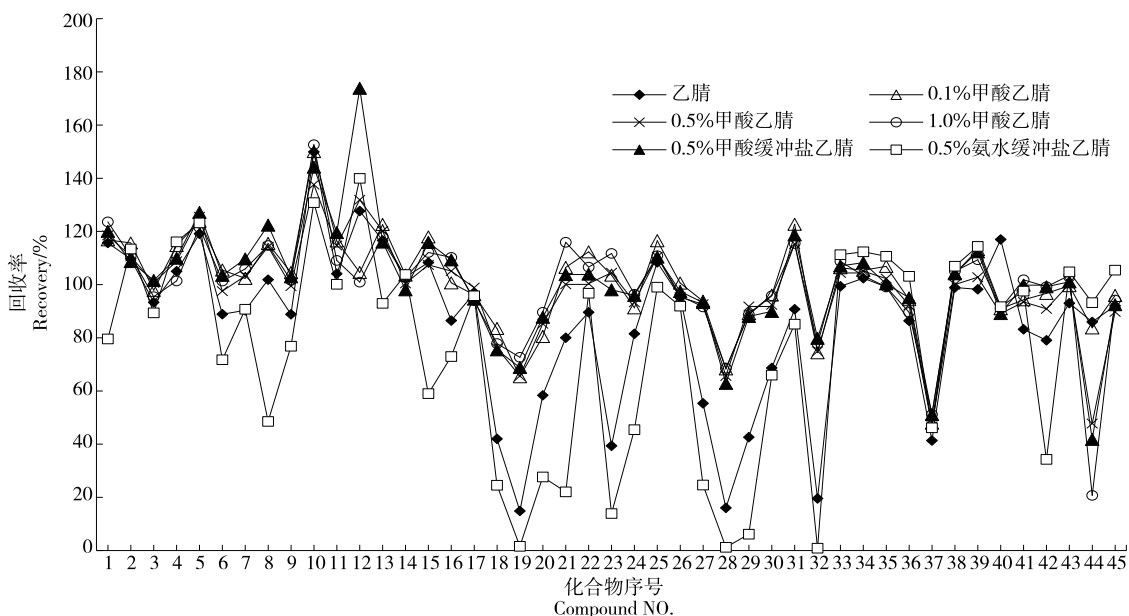


图1 45种抗生素在不同溶剂中的回收率

Figure 1 Recoveries of the 45 kinds of antibiotics in different solvents

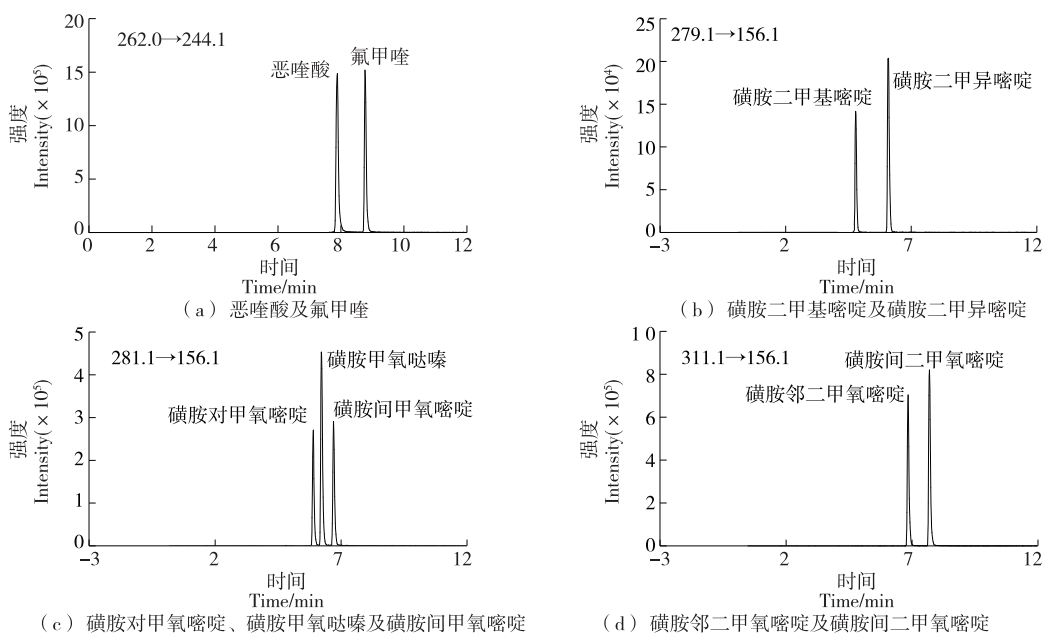


图 2 4 组同分异构体的多反应监测 MRM 色谱图

Figure 2 Multiple reaction monitoring chromatograms of 4 groups of isomers

2.4 基质效应

分别以茭白、莲藕、荸荠空白样品配制 1.0 ~ 100.0 μg/L 的基质标准溶液和溶剂标准溶液,在 1.2 仪器条件下测定,以基质标准曲线斜率对比溶剂标准曲线斜率评价基质效应。结果显示,45 种抗生素均存在不同程度的基质效应,其中磺胺二甲基嘧啶、磺胺嘧啶、依诺沙星、诺氟沙星、沙拉沙星、环丙沙星 6 种化合物存在较强基质抑制效应,基质效应为 21.3%~38.2%。为降低基质效应影响,采用基质匹配标准溶液建立标准曲线对基质效应进行校正。

2.5 方法学验证

2.5.1 检出限、定量限(LOQ)和线性范围 配制 1.0, 2.0,5.0,10.0,50.0,100.0 μg/L 一系列混合标准溶液,在 1.2 条件下测定,以各组分的峰面积对标准溶液浓度绘制标准曲线。结果表明 45 种抗生素在 1.0~100.0 μg/L 的质量浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.99,以 3 倍和 10 倍信噪比确定 45 种抗生素的检出限和定量限,检出限为 0.3~1.0 μg/kg,定量限为 1.0~3.0 μg/kg,具体

见表 2。

2.5.2 回收率及精密度 以茭白、莲藕、荸荠为基质,添加 3 个质量浓度水平(分别为定量限的 1,5,20 倍)的标准溶液进行加标回收试验,每个样品平行测定 6 次,结果表明 45 种抗生素回收率均在 60.4%~121.7%、相对标准偏差在 0.9%~10.2%,具体见表 2。

2.6 实际样品测定

用建立的方法对市场采集的莲藕、茭白、荸荠 3 个品种 270 批次水生蔬菜样品中的 45 种抗生素残留进行筛查分析。发现 5 批次茭白、2 批次荸荠、1 批次莲藕样品中筛查出含有洛美沙星、氟甲唑、双氟沙星、氧氟沙星 4 种喹诺酮类残留;3 批次茭白和 1 批次莲藕中筛查出磺胺二甲嘧啶残留;2 批次茭白分别筛查出罗红霉素和克拉霉素。以上样品中有 1 批次洛美沙星阳性可疑样品,将可疑样品 EPI 谱图与标准谱库进行匹配,结果见图 3、表 3。可疑阳性样品中洛美沙星正向匹配率为 98.554%,反相匹配率为 98.554%,平均匹配率为 98.554%,可确定该样品为阳性检出。

表 2 45 种抗生素的相关系数、检出限、定量限、回收率及相对标准偏差

Table 2 Correlated coefficient, detection limit, quantification limit, recoveries and relative standard deviations of the 45 kinds of antibiotics

序号	相关系数	检出限/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	定量限/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	茭白基质		莲藕基质		荸荠基质	
				平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
1	0.998 5	0.3	1.0	102.1~106.4	2.6~3.2	109.0~118.4	2.6~3.3	87.2~100.1	0.9~5.0
2	0.999 5	0.3	1.0	113.2~115.4	0.9~4.6	116.2~120.2	1.7~3.8	95.9~102.8	2.1~4.3



续表 2

序号	相关系数	检出限/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	定量限/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	茭白基质		莲藕基质		荸荠基质	
				平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
3	0.999 4	0.3	1.0	93.8~99.6	2.2~2.8	105.7~113.0	2.1~3.3	101.7~105.3	1.0~5.8
4	0.999 3	0.3	1.0	102.7~107.1	1.8~3.2	112.7~118.0	1.5~6.0	96.8~103.2	1.5~5.2
5	0.995 6	0.3	1.0	114.9~118.3	1.9~4.9	116.0~121.3	1.5~5.5	101.8~112.1	1.8~4.7
6	0.998 7	0.3	1.0	101.8~103.2	1.9~4.0	110.0~116.9	1.7~4.5	89.1~109.1	1.3~7.2
7	0.997 1	0.3	1.0	107.4~110.2	2.4~4.1	104.9~114.4	2.4~3.9	96.2~103.1	1.7~4.7
8	0.997 7	0.3	1.0	89.1~95.0	2.8~4.1	101.0~105.5	2.2~7.4	86.7~91.9	1.6~6.6
9	0.997 6	0.5	1.5	91.6~101.3	4.0~8.3	93.8~114.2	2.2~7.1	86.4~94.2	2.4~9.2
10	0.990 1	0.3	1.0	114.0~120.3	2.8~4.4	119.5~121.2	3.7~7.2	116.2~121.7	1.3~6.1
11	0.999 4	0.3	1.0	99.5~105.1	2.1~4.0	108.2~115.8	1.5~4.9	101.9~105.5	2.2~5.2
12	0.998 8	1.0	3.0	76.3~97.8	6.0~8.8	68.1~79.3	6.8~9.2	72.2~78.3	4.9~9.8
13	0.998 3	0.3	1.0	106.2~110.0	1.3~2.5	112.6~118.1	2.1~4.8	99.5~105.0	1.3~5.7
14	0.999 5	0.3	1.0	100.8~102.8	0.9~3.3	104.3~108.5	2.2~4.9	96.4~102.2	1.2~2.5
15	0.999 5	0.3	1.0	105.8~112.2	2.0~7.2	108.3~114.9	3.4~7.8	98.2~104.2	2.8~7.4
16	0.997 4	0.3	1.0	102.8~109.7	1.2~2.5	110.6~121.2	2.2~5.4	92.6~97.7	1.8~5.5
17	0.992 5	0.3	1.0	101.8~113.8	2.5~5.1	103.7~121.4	2.5~5.4	86.2~102.2	0.9~5.6
18	0.999 5	0.3	1.0	64.0~69.1	2.8~4.9	62.2~67.5	1.9~6.2	62.8~68.9	1.8~5.4
19	0.997 6	0.3	1.0	63.0~69.6	3.6~6.8	64.5~69.7	2.9~5.9	63.2~67.5	3.6~7.9
20	0.999 9	0.3	1.0	67.0~70.6	2.6~6.3	61.1~71.2	2.7~8.2	65.5~72.0	1.7~8.0
21	0.996 4	0.3	1.0	77.4~78.7	1.3~4.3	68.7~76.4	2.1~4.7	70.7~78.1	2.2~4.1
22	0.999 3	0.3	1.0	85.5~87.8	3.3~3.9	69.2~78.2	2.5~5.3	70.0~75.8	2.3~5.0
23	0.999 6	0.3	1.0	70.4~71.2	2.9~5.4	65.7~72.2	3.2~7.2	62.2~69.4	5.7~7.8
24	0.999 6	0.3	1.0	72.6~75.1	2.5~4.8	70.0~76.8	1.3~4.8	69.4~75.0	2.6~5.8
25	0.999 2	0.3	1.0	95.8~97.4	1.8~2.8	85.7~94.7	1.5~4.7	83.1~88.8	1.4~5.8
26	0.998 4	0.3	1.0	91.5~92.4	1.0~1.8	76.9~93.1	2.2~5.0	78.1~84.2	2.4~4.6
27	0.997 5	0.3	1.0	60.4~75.7	3.0~5.6	63.3~70.7	1.9~7.0	66.2~71.8	2.8~6.2
28	0.999 0	0.3	1.0	64.7~73.4	3.0~6.6	63.5~69.9	3.2~8.5	62.0~65.9	6.2~7.8
29	0.999 6	0.3	1.0	61.9~67.9	3.2~9.4	62.8~68.9	4.8~7.8	63.9~71.0	2.9~8.5
30	0.991 7	0.3	1.0	62.7~66.1	3.9~8.7	66.5~72.1	2.2~9.3	64.1~66.6	1.0~7.5
31	0.995 3	0.3	1.0	75.1~83.9	1.3~3.2	68.5~72.1	2.7~9.5	68.3~72.2	1.8~5.0
32	0.998 3	0.3	1.0	65.7~70.3	1.5~7.2	63.3~73.5	2.5~7.7	62.5~66.6	4.3~8.8
33	0.999 8	0.3	1.0	101.5~105.3	0.9~2.9	108.2~121.1	2.4~4.2	100.2~106.0	0.9~3.1
34	0.999 4	0.5	1.5	106.4~108.1	1.6~7.3	107.2~114.8	1.7~6.8	101.4~106.6	2.8~7.8
35	0.999 9	0.3	1.0	99.9~102.6	1.6~4.3	100.2~105.6	1.2~5.5	93.5~99.5	1.2~6.6
36	0.999 9	0.3	1.0	96.2~100.4	1.6~5.3	95.5~108.9	1.6~4.2	85.4~92.3	1.8~3.4
37	0.999 8	1.0	3.0	68.3~93.3	4.6~9.0	91.1~105.6	4.5~8.3	65.2~79.0	5.6~9.3
38	0.999 8	0.5	1.5	98.7~104.9	1.3~4.5	101.2~110.0	2.8~6.9	97.0~101.3	0.9~8.3
39	0.999 8	0.5	1.5	101.9~103.4	2.6~6.8	95.8~100.9	2.1~7.6	84.2~87.2	2.5~8.2
40	0.999 6	1.0	3.0	92.0~103.2	3.9~7.8	93.1~102.2	2.2~8.3	81.9~84.7	2.3~9.2
41	0.999 6	0.3	1.0	89.7~92.5	3.0~3.3	89.8~91.7	2.9~4.1	81.4~83.9	2.3~5.2
42	0.994 6	0.3	1.0	69.5~73.6	3.9~9.1	78.2~83.6	4.2~8.6	90.3~105.8	6.8~10.2
43	0.998 9	0.3	1.0	83.3~86.6	2.1~6.8	78.4~82.2	1.9~9.1	79.4~93.5	3.1~7.8
44	0.999 6	0.3	1.0	84.8~89.6	1.7~5.3	102.2~106.9	2.3~5.3	82.1~86.2	2.2~5.5
45	0.999 8	0.3	1.0	85.4~89.1	3.2~5.7	87.4~98.9	2.2~5.1	77.1~89.1	2.1~4.3

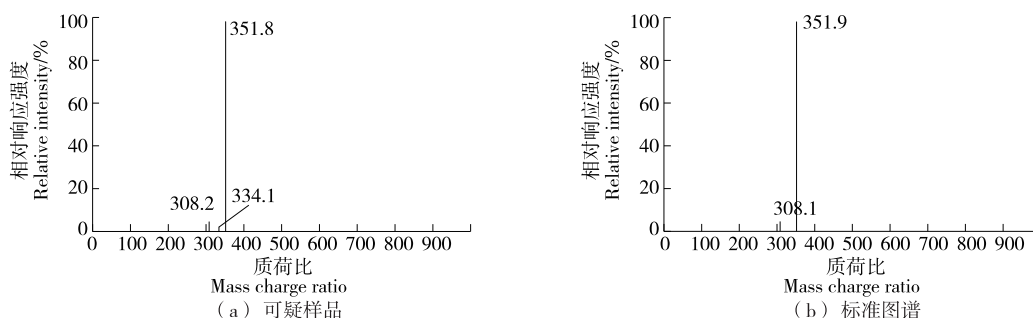


图 3 阳性可疑样品的增强子离子扫描谱图与谱库中的洛美沙星标准谱图的对比

Figure 3 Comparison of EPI spectrum of a doubtful positive sample and the library spectrum of enrofloxacin

表 3 阳性可疑样品的增强子离子扫描与谱库匹配及低匹配度筛选结果

Table 3 Results of searching for EPI chromatogram of a doubtful positive sample in the library

化合物名称	分子量/Da	Fit 值/ %	RevFit 值/ %	Purity 值/ %
洛美沙星	351.100	98.554	98.554	98.554

### 3 结论

研究建立了超高效液相色谱—三重四极杆复合线性离子阱质谱同时测定水生蔬菜中 45 种抗生素的快速筛查和确证方法。该方法一次进样同时获得准确高质量的 MRM 数据和 EPI 数据,快速简便,定性定量能力强,检测结果准确可靠,可推广应用于其他类蔬菜中抗生素药物残留的检测。方法建立的 EPI 谱库为开放式谱库,后续工作中可继续添加其他抗生素,提高抗生素筛查和确证效率。

#### 参考文献

[1] 吴曼,宗义湘,赵帮宏,等.中国水生蔬菜产业发展现状、存在问题及发展思路[J].长江蔬菜,2019(2):35-41.  
WU M, ZONG Y X, ZHAO B H, et al. Development status, problems and development ideas of aquatic vegetables industry in China [J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2019(2): 35-41.

[2] HU Y A, CHENG H F. Elevated antimicrobial residues in animal food products call for institutional changes on veterinary drug management and animal food product surveillance in China[J]. Int J Antimicrobial Agents, 2018, 51: 165-166.

[3] LI Q W, NA G S, ZHANG L X, et al. Effects of corresponding and non-corresponding contaminants on the fate of sulfonamide and quinolone resistance genes in the Laizhou Bay, China[J]. Mar Pollut Bull, 2018, 128: 475-482.

[4] 李国秀,崔利辉,刘颖沙.陕西省杨凌区蔬菜基地土壤中抗生素污染评价[J].农业工程,2021,11(7):41-46.  
LI G X, CUI L H, LIU Y S. Evaluation of antibiotic pollution in soil of vegetable base in Yangling district, Shaanxi Province[J]. Agricultural Engineering, 2021, 11(7): 41-46.

[5] HANNA N, SUN P, SUN Q, et al. Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong province in east-

ern China: Its potential for resistance development and ecological and human risk[J]. Environment International, 2018, 114: 131-142.

[6] 柏品清,邵祥龙,范丽,等.上海浦东新区市售动物源性食品中 4 种磺胺类药物残留状况调查[J].中国卫生检验杂志,2021,31(8):1 001-1 003,1 007.  
BAI P Q, SHAO X L, FAN L, et al. Investigation on 4 kinds of sulfonamides residue in commercial animal-origin foods in Pudong New Area, Shanghai[J]. Chin J Health Lab Tec, 2021, 31(8): 1 001-1 003, 1 007.

[7] ZHANG Y Y, LI H C, WU Y C, et al. Determination of eight antiviral drug residues in animal-derived food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2018, 39(2): 303-309.

[8] HOYOS O D E, CUARTAS O Y A, PENUELA M G A. Development and validation of a highly sensitive quantitative/confirmatory method for the determination of ivermectin residues in bovine tissues by UHPLC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2017, 221 (15): 891-897.

[9] SUN Y M, GUO Y J, SHI M M, et al. Effect of antibiotic type and vegetable species on antibiotic accumulation in soil-vegetable system, soil microbiota, and resistance genes[J]. Chemosphere, 2021, 263: 128 099-128 109.

[10] 周杰,安姣,董超,等.植物源性食品中抗生素残留分析方法研究进展[J].食品与机械,2019,35(4):223-229.  
ZHOU J, AN J, DONG C, et al. Progress of analytical methods for antibiotic residues in plant-derived food[J]. Food & Machinery, 2019, 35(4): 223-229.

[11] 罗洁,罗可,邹小翠,等.HPLC 法测定蔬菜中 3 种喹诺酮类抗生素[J].农产品加工,2019(5):40-42,46.  
LUO J, LUO K, ZHOU X C, et al. Determination of quinolone antibiotics residues in vegetables by HPLC[J]. Farm Products Processing, 2019(5): 40-42, 46.

[12] 罗丹,张玲玲,闫正,等.固相萃取—高效液相色谱法测定蔬菜中 8 种磺胺类抗生素[J].化学分析计量,2017,26(5):50-54.  
LUO D, ZHANG L L, YAN Z, et al. Determination of eight kinds of sulfonamide antibiotics in vegetable by solidphase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2017, 26(5): 50-54.

[13] 张嘉楠,刘冰洁,王爱卿. QuEChERS 结合液相色谱—串联质

- 谱法测定蔬菜中 34 种抗生素[J]. 食品工业, 2019, 40(6): 282-286.
- ZHANG J N, LIU B J, WANG A Q. Determination of antibiotics residues in vegetables by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. The Food Industry, 2019, 40(6): 282-286.
- [14] 龚蕾, 韩智, 曹琦, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定蔬菜中 31 种抗生素[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(1): 43-49.
- GONG L, HAN Z, CAO Q, et al. Simultaneous determination of 31 kinds of antibiotics in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(1): 43-49.
- [15] 刘畅. 改良 QuEChERS/超高效液相色谱—串联质谱法同时检测蔬菜中 14 种喹诺酮类抗生素残留[J]. 分析科学学报, 2019, 35(1): 124-128.
- LIU C. Determination of quinolones in vegetables by improved QuEChERS/Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Analytical Science, 2019, 35(1): 124-128.
- [16] 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 Y L, 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]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017, 51(9): 36-42.
- [17] 方灵, 韦航, 黄彪, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法同时测定牛奶中 38 种抗生素残留[J]. 分析测试学报, 2019, 38(6): 681-686.
- FANG L, WEI H, HUANG B, et al. Simultaneous determination of 33 antidiotic residues in milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(6): 681-686.
- [18] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. 分散固相萃取/高效液相色谱—串联质谱法快速测定饲料中 87 种药物残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(9): 979-985.
- LUO H T, HUANG X L, WU H Q, et al. Dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for rapid determination of 87 kinds of drug residues in feedingstuffs[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2015, 34(9): 979-985.
- [19] 王浩, 赵丽, 杨红梅, 等. 液相色谱—串联质谱法测定牛奶中 35 种四环素类, 磺胺类, 青霉素类, 大环内酯类, 氯霉素类抗生素残留[J]. 色谱, 2015, 33(9): 995-1 001.
- WANG H, ZHAO L, YANG H M, et al. Determination of 35 antibiotic residues of tetracyclines, sulfonamides, penicillins, macrolides and amphenicols in milk bu liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(9): 995-1 001.
- [20] 陈兴连, 林涛, 刘兴勇, 等. 分散固相萃取净化—超高效液相色谱—串联质谱法同时测定鱼和虾中抗生素及三苯甲烷类兽药残留[J]. 色谱, 2019, 37(9): 946-954.
- CHEN X L, LIN T, LIU X Y, et al. Simultaneous determination of antibiotics and triphenylmethanes veterinary drug residues in fish and shrimp by dispersive solid phase extraction purification-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(9): 946-954.
- 
- (上接第 52 页)
- [7] 龚霄, 周伟, 李积华, 等. 基于静态顶空气相离子迁移谱技术的果啤种类判别[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 296-301.
- GONG X, ZHOU W, LI J H, et al. Identification of fruit beers based on static headspace-gas chromatography-ion mobility spectroscopy (SH-GC-IMS)[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 296-301.
- [8] YANG Q, TU J X, CHEN M, et al. Discrimination of fruit beer based on fingerprints by static headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2022, 80(3): 298-304.
- [9] 范威威, 林熙, 龚霄, 等. 基于顶空气相—离子迁移谱技术对不同酵母发酵的百香果果啤香气比较[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 325-332.
- FAN W W, LIN X, GONG X, et al. Aroma comparison of passion beer fermented by different yeasts based on headspace phase-ion mobility spectroscopy technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 325-332.
- [10] VIEIRA A C, PEREIRA A C, MARQUES J C, et al. Multi-target optimization of solid phase microextraction to analyse key flavour compounds in wort and beer[J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126466.
- [11] ADADI P, KOVALEVA E G, GLUKHAREVA T V, et al. Production and analysis of non-traditional beer supplemented with sea buckthorn[J]. Agronomy Research, 2017, 15(5): 1 831-1 845.
- [12] ALVES V, GONALVES J, FIGUEIRA J A, et al. Beer volatile fingerprinting at different brewing steps[J]. Food Chemistry, 2020, 326: 126856.
- [13] KISHIMOTO T, NOBA S, YAKO N, et al. Simulation of Pilsner-type beer aroma using 76 odor-active compounds[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2018, 126(3): 330-338.
- [14] VANDERHAEGEN B, NEVEN H, VERACHTERT H, et al. The chemistry of beer aging: A critical review[J]. Food Chemistry, 2006, 95(3): 357-381.
- [15] DOS SANTOS F A, SOUSA I P, FURTADO N A J C, et al. Combined OPLS-DA and decision tree as a strategy to identify antimicrobial biomarkers of volatile oils analyzed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2018, 28(6): 647-653.