

LC-MS/MS快速检测蜂蜜及蜂蜜产品类兽药残留

Rapid detection of veterinary drug residues in honey and honey products by LC-MS / MS

刘青¹, 张小刚¹, 杨总¹, 黄文杰², 李荷香², 刘冰洁¹, 郭立海¹

Liu Qing¹, Zhang Xiaogang¹, Yang Zong¹, Chen Qing², Huang Wenjie², Li Henxiang², Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX Application Support Center;

² China Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd

Keywords: 头孢类药物; 蜂蜜; 蜂产品

引言

蜂蜜是由蜜蜂采集花蜜而来, 富含人体必需的各类营养物质如葡萄糖、果糖、氨基酸、酶类、矿物质和抗氧化物质等, 是重要的天然食品。蜂王浆是由工蜂的舌腺和上颚腺分泌的混合物, 具有非常好的保健和药用价值。然而, 实际生产中蜜蜂容易受到细菌、真菌、病毒和外来寄生螨类的侵袭而引起病害。控制和治理这些疾病通常的方法是直接饲喂兽药或者在蜂巢中喷洒, 因此可能导致蜂蜜和蜂王浆等蜂产品中的兽药残留问题, 对消费者造成潜在威胁。在这样的背景下, 农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局公告2019年第114号, 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》(GB 31650-2019, 代替农业部公告第235号中的相应部分)及9项兽药残留检测方法食品安全国家标准颁布实施。本文采用高效液相色谱串联质谱建立了对于新颁布实施的蜂蜜类产品的检测标准进行了前处理和方法学验证工作, 该方法的优势和特点:

1. **方法灵敏度高:** 所有化合物灵敏度足以满足GB 31657.3-2022标准的限量要求;
2. **紧扣标准:** 前处理方法与以上标准要求保持一致, 方法实用性强;

1 实验方法

1.1 样品前处理

1.1.2 提取

蜂蜜

取试料5 g (准确至 ± 0.05 g), 于50 mL离心管中, 加0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液25 mL, 溶解样品, 混匀后用2.5 mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至8.5, 备用。

蜂王浆和蜂王浆冻干粉

取蜂王浆2.5 g (准确至 ± 0.02 g)或蜂王浆冻干粉1.0g (准确至 ± 0.01 g), 于50 mL离心管中, 加0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液25 mL, 混匀, 调节pH值至8.5, 以6 000 r/min离心5 min, 取上清液, 备用。

1.1.3 净化

取固相萃取柱, 依次用甲醇5 mL、0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液10 mL活化, 取备用液, 过柱, 待液面到达柱床表面时再依次用磷酸盐缓冲溶液3 mL和水2 mL淋洗, 弃去全部流出液。用乙腈3 mL洗脱, 收集洗脱液于10 mL离心管中, 洗脱液在40°C水浴中氮气吹干, 加0.1%甲酸溶液-甲醇1.0 mL溶解, 过0.22 μ m滤膜, 供液相色谱-串联质谱测定

1.2 液相色谱条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ 系统

色谱柱: Phenomenex C18 (100 \times 2.1 mm, 1.7 μ m)

流动相: A为0.1%甲酸水溶液, B为乙腈

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

洗脱程序: 梯度洗脱

1.3 质谱条件

质谱系统：SCIEX 三重四级杆质谱系统

扫描模式：多反应监测MRM；

离子源：ESI源；

喷雾电压（IS）：5500V； 离子源温度（TEM）：550 °C；

气帘气（CUR）：35 psi； 碰撞气（CAD）：Medium；

雾化气（GS1）：55 psi； 辅助雾化气（GS2）：55psi；

MRM离子对见（表1）

2 实验结果与讨论

2.1 色谱条件优化

实验详细优化了色谱条件，比较了不同品牌、不同型号的色谱柱以及流动相，不仅所有的化合物得到很好的分离，同时保证所有的化合物有着尖锐的峰形，竟而有效地避开基质干扰，优化后的色谱梯度能够很好的将各个化合物分开，让定量结果更加准确。

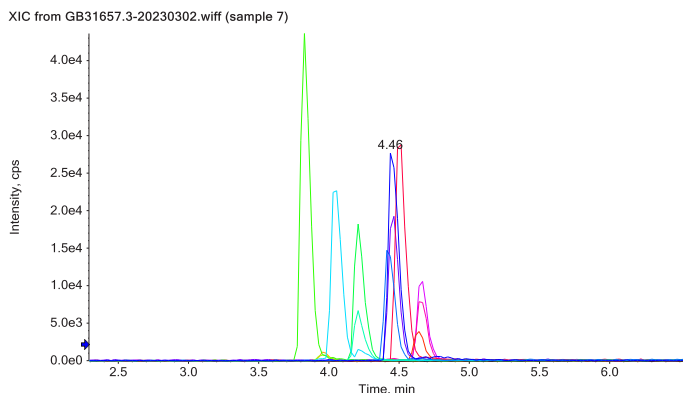


图1. 蜂蜜和蜂王浆中头孢菌素类提取提取离子流图（GB 31657.2-2021）

2.2 方法考察了重复性、线性等

实验分别按照前述前处理方法，选取适用的蜂蜜空白基质添加1倍和10倍地定量两个浓度，每个浓度重复6次，进行同步加标回收试验，准确度在86.51%-117.91%之间（n=6），相对标准偏差小于2.31%（表2），实验结果表明该方法具有较好的准确度以及良好的稳定性。基质加标曲线相关系数均大于 $r > 0.995$ （图3），表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

表1. 离子对信息

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压(V)	碰撞能量(eV)	标准编号
347.9	157.9	头孢氨苄 1	55	13	GB 31659.3-2022
347.9	174	头孢氨苄 2	55	21	GB 31659.3-2022
350	175.9	头孢拉定 1	55	17	GB 31659.3-2022
350	157.9	头孢拉定 2	55	13	GB 31659.3-2022
455.1	323	头孢唑林 1	37	15	GB 31659.3-2022
455.1	156	头孢唑林 2	37	22	GB 31659.3-2022
646.4	143	头孢噻肟 1	70	38	GB 31659.3-2022
646.4	530.2	头孢噻肟 2	70	15	GB 31659.3-2022
362	258	头孢匹林 1	60	13	GB 31659.3-2022
362	178	头孢匹林 2	60	20	GB 31659.3-2022
424.1	292	头孢哌酮 1	45	21	GB 31659.3-2022
424.1	152	头孢哌酮 2	45	29	GB 31659.3-2022
459	152	头孢洛宁 1	55	26	GB 31659.3-2022
459	123	头孢洛宁 2	55	15	GB 31659.3-2022
529	134	头孢唑肟 1	60	19	GB 31659.3-2022
529	396	头孢唑肟 2	60	19	GB 31659.3-2022
456	166.9	头孢乙腈 1	60	28	GB 31659.3-2022
456	125	头孢乙腈 2	60	70	GB 31659.3-2022
382.1	111.8	去乙酰基头孢匹林 1	36	35	GB 31659.3-2022
382.1	152	去乙酰基头孢匹林 2	36	27	GB 31659.3-2022

Calibration for Cephadrine 2: $y = 395.62209x + -97.33553$ ($r = 0.99948$, $r^2 = 0.99895$) (weighting: 1 / x)

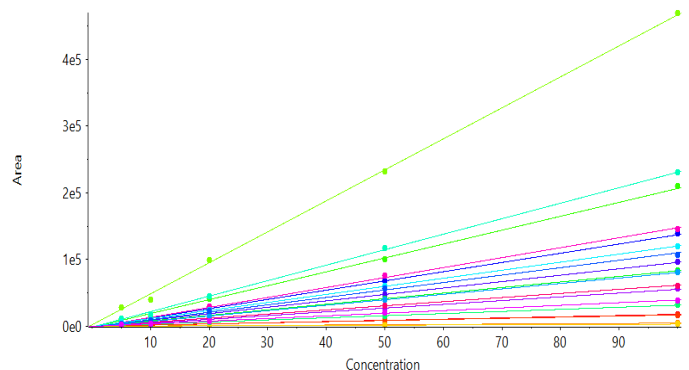


图2. 蜂蜜中头孢菌素药物线性回归曲线（GB 31657.1-2021）

表3. 回收率及重复性实验 (n=6)

化合物名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 (%)	相对标准 偏差(%)
头孢氨苄	1.0	110.03	1.23
	10.0	94.73	2.03
头孢拉定	1.0	104.17	1.26
	10.0	113.17	2.65
头孢唑林	1.0	96.35	1.43
	10.0	101.28	2.06
头孢哌酮	1.0	109.88	1.84
	10.0	86.91	1.56
头孢乙腈	1.0	106.50	1.23
	10.0	117.91	0.86
头孢匹林	1.0	93.80	1.35
	10.0	107.77	2.31
头孢洛宁	1.0	104.81	1.63
	10.0	98.81	1.54
头孢喹肟	1.0	104.34	2.01
	10.0	107.69	1.68
头孢噻肟	1.0	86.51	1.93
	10.0	113.53	1.08

3 小结

本文建立了高效液相色谱-串联三重四极杆质谱快速定量分析检测喹诺酮类和氟胺氰菊酯的检测方法。实验严格按照GB31650-2019配套相关标准进行,确保了实验结果的有效性,定量结果更准确。该方法足以满足GB 31657.3-2022蜂产品中喹诺酮类药物、氟胺氰菊酯残留量的测定要求,在蜂蜜的分析检测具有重要的参考意义。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息,请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标,也包括相关的标识、标志的所有权,归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15677-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)