

LC-MS/MS快速检测畜禽类兽药残留

Rapidly detection of veterinary drug residues in livestock and poultry 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, China

² Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd

Keywords: 兽药、动物源性食品

引言

我国是世界上最大的畜、禽肉生产和消费大国，畜、禽肉的质量安全关系到消费者的身体健康。与此同时畜、禽药的危害日益严重，导致了毒理作用、动物源细菌耐药性、诱导变态反应以及环境污染等危害，因此禽、兽肉目前国家监管日趋严格。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)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禽、兽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。

- 方法全面:** 覆盖了2022版本的系列标准GB 31658.19-2022、GB 31658.20-2022、GB 31658.22-2022、GB 31658.23-2022、GB 31658.24-2022、GB 31658.25-2022所有的化合物种类；
- 方法灵敏度高:** 畜、禽类基质中所有的化合物灵敏度足以满足以上标准的限量要求；
- 紧扣标准:** 所有畜、禽类前处理方法与标准保持一致，满足检验需求，实用性强；

1 实验方法

1.1 样品前处理

本实验的前处理方法全部按照标准的要求进行；

方法1: GB 31658.19-2022动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

方法2: GB 31658.20-2022动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

方法3: GB 31658.21-2022动物性食品中左旋咪唑残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法4: GB 31658.22-2022动物性食品中 β -受体激动剂残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法5: GB 31658.23-2022动物性食品中硝基咪唑类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法6: GB 31658.24-2022动物性食品中赛杜霉素残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法7: GB 31658.25-2022动物性食品中10种利尿药残留量的测定液相色谱-串联质谱法

1.2 液相色谱条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ 系统

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

流动相: A为0.1%甲酸(5 mmol/L乙酸铵溶液), 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

(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)。

扫描模式：多反应监测MRM；离子源：ESI源；喷雾电压 (IS)：5500/-4500 V；离子源温度 (TEM)：550 °C；气帘气

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 |
|----------|----------|---------|---------|----------|------------------|
| 290.2 | 124.1 | 阿托品 1 | 40 | 24 | GB 31658.19-2022 |
| 290.1 | 93.1 | 阿托品 2 | 100 | 43 | GB 31658.19-2022 |
| 304.2 | 138.1 | 东莨菪碱 1 | 110 | 30 | GB 31658.19-2022 |
| 304.2 | 103 | 东莨菪碱 2 | 110 | 52 | GB 31658.19-2022 |
| 306.1 | 140.1 | 山莨菪碱 1 | 110 | 32 | GB 31658.19-2022 |
| 306.1 | 122.1 | 山莨菪碱 2 | 110 | 35 | GB 31658.19-2022 |
| 235.1 | 85.9 | 利多卡因 1 | 71 | 27 | GB 31658.19-2022 |
| 235.1 | 99 | 利多卡因 2 | 71 | 31 | GB 31658.19-2022 |
| 237.2 | 100.2 | 普鲁卡因 1 | 50 | 22 | GB 31658.19-2022 |
| 237.2 | 164.2 | 普鲁卡因 2 | 50 | 23 | GB 31658.19-2022 |
| 321 | 152.1 | 氯霉素 1 | -75 | -24 | GB 31658.20-2022 |
| 321 | 256.9 | 氯霉素 2 | -75 | -17 | GB 31658.20-2022 |
| 353.9 | 289.9 | 甲矾霉素 1 | -75 | -18 | GB 31658.20-2022 |
| 353.9 | 184.9 | 甲矾霉素 2 | -75 | -28 | GB 31658.20-2022 |
| 356 | 119 | 氟苯尼考 1 | -80 | -23 | GB 31658.20-2022 |
| 356 | 184.9 | 氟苯尼考 2 | -80 | -12 | GB 31658.20-2022 |
| 356 | 219.2 | 氟苯尼考 3 | -70 | -16 | GB 31658.20-2022 |
| 248.2 | 230.1 | 氟苯尼考胺 1 | 50 | 16 | GB 31658.20-2022 |
| 248.2 | 130.1 | 氟苯尼考胺 2 | 50 | 30 | GB 31658.20-2022 |
| 205.1 | 178 | 左旋咪唑 1 | 100 | 31 | GB 31658.21-2022 |
| 205.1 | 123 | 左旋咪唑 2 | 100 | 38 | GB 31658.21-2022 |
| 368.2 | 294.3 | 班布特罗 1 | 100 | 26 | GB 31658.22-2022 |
| 368.2 | 72.2 | 班布特罗 2 | 100 | 37 | GB 31658.22-2022 |
| 367 | 293 | 溴布特罗 1 | 90 | 24 | GB 31658.22-2022 |
| 367 | 349.2 | 溴布特罗 2 | 90 | 17 | GB 31658.22-2022 |
| 367 | 212 | 溴布特罗 3 | 50 | 39 | GB 31658.22-2022 |
| 220 | 202 | 西马特罗 1 | 65 | 13 | GB 31658.22-2022 |
| 220 | 160 | 西马特罗 2 | 65 | 22 | GB 31658.22-2022 |
| 234 | 160.1 | 西布特罗 1 | 70 | 21 | GB 31658.22-2022 |
| 234 | 143 | 西布特罗 2 | 70 | 34 | GB 31658.22-2022 |
| 234 | 216 | 西布特罗 3 | 50 | 12 | GB 31658.22-2022 |
| 277 | 203 | 克仑特罗 1 | 65 | 21 | GB 31658.22-2022 |
| 277 | 168.1 | 克仑特罗 2 | 65 | 38 | GB 31658.22-2022 |
| 277 | 259 | 克仑特罗 3 | 45 | 15 | GB 31658.22-2022 |

表1. 离子对信息 (续)

| 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 |
|----------|----------|----------------------|---------|----------|------------------|
| 319 | 301 | 克仑赛罗 1 | 50 | 17 | GB 31658.22-2022 |
| 319 | 203 | 克仑赛罗 2 | 50 | 26 | GB 31658.22-2022 |
| 291.01 | 203 | 克仑潘特 1 | 50 | 22 | GB 31658.22-2022 |
| 291.01 | 132 | 克仑潘特 2 | 50 | 40 | GB 31658.22-2022 |
| 214 | 154.1 | 氯丙那林 1 | 85 | 23 | GB 31658.22-2022 |
| 214 | 118 | 氯丙那林 2 | 85 | 34 | GB 31658.22-2022 |
| 214.1 | 196.1 | 氯丙那林 3 | 26 | 15 | GB 31658.22-2022 |
| 325 | 237 | 马贲特罗 1 | 50 | 24 | GB 31658.22-2022 |
| 325 | 217 | 马贲特罗 2 | 50 | 34 | GB 31658.22-2022 |
| 302.2 | 164.1 | 莱克多巴胺 1 | 80 | 23 | GB 31658.22-2022 |
| 302.2 | 107.1 | 莱克多巴胺 2 | 80 | 51 | GB 31658.22-2022 |
| 302.2 | 284.2 | 莱克多巴胺 3 | 50 | 17 | GB 31658.22-2022 |
| 288.1 | 121.1 | 利托君 1 | 45 | 29 | GB 31658.22-2022 |
| 288.1 | 150.1 | 利托君 2 | 45 | 25 | GB 31658.22-2022 |
| 240.2 | 148.1 | 沙丁胺醇 1 | 68 | 24 | GB 31658.22-2022 |
| 240.2 | 222.3 | 沙丁胺醇 2 | 68 | 14 | GB 31658.22-2022 |
| 226.2 | 152 | 特布他林 1 | 70 | 21 | GB 31658.22-2022 |
| 226.2 | 107.1 | 特布他林 2 | 70 | 36 | GB 31658.22-2022 |
| 226.2 | 125.1 | 特布他林 3 | 36 | 33 | GB 31658.22-2022 |
| 228 | 154 | 妥布特罗 1 | 85 | 21 | GB 31658.22-2022 |
| 228 | 118.1 | 妥布特罗 2 | 85 | 36 | GB 31658.22-2022 |
| 228.1 | 172.1 | 妥布特罗 3 | 33 | 16 | GB 31658.22-2022 |
| 262.1 | 244.2 | 齐帕特罗 1 | 80 | 17 | GB 31658.22-2022 |
| 262.1 | 185 | 齐帕特罗 2 | 80 | 32 | GB 31658.22-2022 |
| 263.1 | 203.0 | 盐酸克伦普罗 1 | 40 | 24 | GB 31658.22-2022 |
| 263.1 | 245.1 | 盐酸克伦普罗 2 | 40 | 15 | GB 31658.22-2022 |
| 188.2 | 123 | 羟基甲硝唑 1 | 50 | 19 | GB 31658.23-2022 |
| 188.2 | 126.1 | 羟基甲硝唑 2 | 50 | 23 | GB 31658.23-2022 |
| 158.1 | 140.1 | 羟甲基甲硝咪唑 1 | 70 | 17 | GB 31658.23-2022 |
| 158.2 | 55 | 羟甲基甲硝咪唑 2 | 70 | 25 | GB 31658.23-2022 |
| 142.2 | 96 | 地美硝唑 1 | 65 | 21 | GB 31658.23-2022 |
| 142.2 | 81 | 地美硝唑 2 | 65 | 36 | GB 31658.23-2022 |
| 172.2 | 127.9 | 甲硝唑 1 | 50 | 20 | GB 31658.23-2022 |
| 172.2 | 82 | 甲硝唑 2 | 50 | 37 | GB 31658.23-2022 |
| 895.5 | 833.7 | 赛杜霉素 1 | 100 | 45 | GB 31658.24-2022 |
| 895.5 | 851.7 | 赛杜霉素 2 | 100 | 45 | GB 31658.24-2023 |
| 221 | 82.9 | 乙酰唑胺 1 | -40 | -22 | GB 31658.25-2022 |
| 221 | 58 | 乙酰唑胺 2 | -40 | -18 | GB 31658.25-2022 |
| 284.1 | 205 | 4-氨基-6-氯苯-1,3-二磺酰胺 1 | -100 | -28 | GB 31658.25-2022 |

表1. 离子对信息 (续)

| 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 |
|----------|----------|----------------------|---------|----------|------------------|
| 284.1 | 169 | 4-氨基-6-氯苯-1,3-二磺酰胺 2 | -100 | -30 | GB 31658.25-2022 |
| 294 | 214 | 氯噻嗪 1 | -105 | -39 | GB 31658.25-2022 |
| 294 | 179 | 氯噻嗪 2 | -105 | -55 | GB 31658.25-2022 |
| 296 | 205 | 氢氯噻嗪 1 | -130 | -30 | GB 31658.25-2022 |
| 296 | 269 | 氢氯噻嗪 2 | -130 | -27 | GB 31658.25-2022 |
| 337 | 146 | 氯噻酮 1 | -100 | -24 | GB 31658.25-2022 |
| 337 | 190 | 氯噻酮 2 | -100 | -21 | GB 31658.25-2022 |
| 329 | 285 | 呋塞米 1 | -40 | -19 | GB 31658.25-2022 |
| 329 | 205 | 呋塞米 2 | -40 | -29 | GB 31658.25-2022 |
| 420 | 289 | 卞氟噻嗪 1 | -150 | -32 | GB 31658.25-2022 |
| 420 | 328 | 卞氟噻嗪 2 | -150 | -38 | GB 31658.25-2022 |
| 254.1 | 168.1 | 氨苯蝶啶 1 | 130 | 42 | GB 31658.25-2022 |
| 254.1 | 237 | 氨苯蝶啶 2 | 130 | 35 | GB 31658.25-2022 |
| 341 | 187.1 | 螺内酯 1 | 130 | 30 | GB 31658.25-2022 |
| 341 | 107.1 | 螺内酯 2 | 130 | 35 | GB 31658.25-2022 |
| 341 | 187 | 坎利酮 1 | 130 | 30 | GB 31658.25-2022 |
| 341 | 107.1 | 坎利酮 2 | 130 | 35 | GB 31658.25-2022 |

2 实验结果与讨论

2.1 色谱条件优化

针对不同的实验, 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, 有效的避开基质干扰, 对于峰型不佳的氟苯尼考胺进行流动相优化, 保证了良好的峰型, 定量结果更准确。

XIC from 20230307-GB 31658.19.wiff

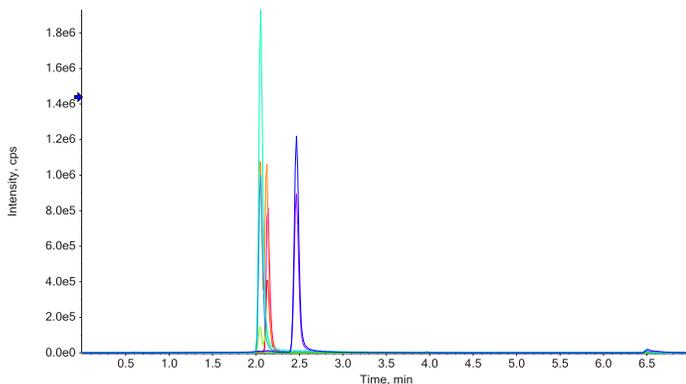


图1. 基质加标阿托品类的提取离子流图 (GB 31658.19-2022)

XIC from 20230302-31658.20-2022.wiff

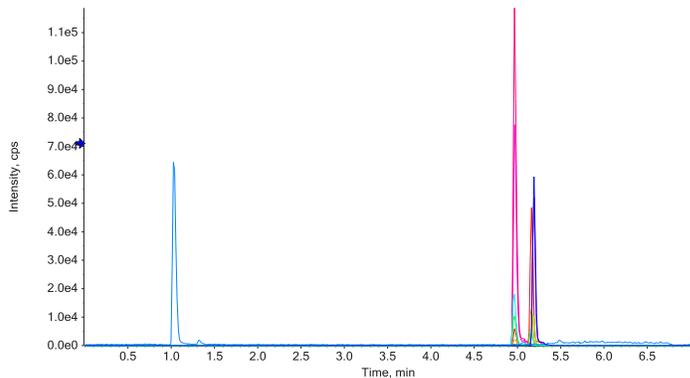


图2. 基质加标酰胺醇类药物及其代谢物提取离子流图 (GB 31659.20-2022)

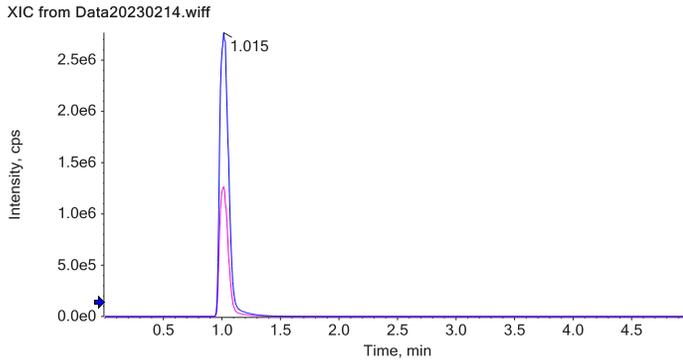


图3. 基质加标左旋咪唑残留测定提取离子流图 (GB 31658.21-2022)

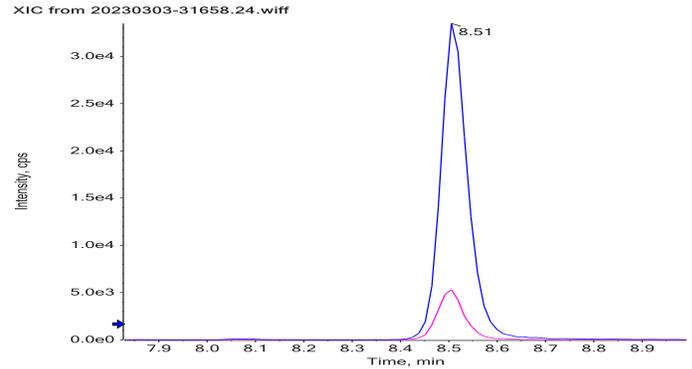


图6. 基质加标赛杜霉素提取离子流图 (GB 31658.24-2022)

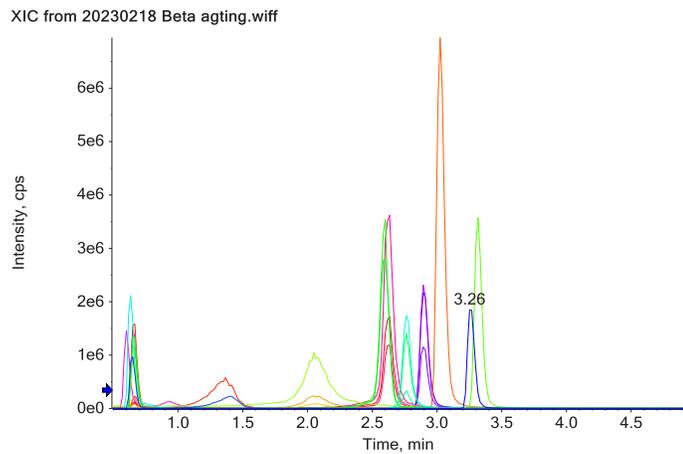


图4. 基质加标瘦肉精类的提取离子流图 (GB 31658.22-2022)

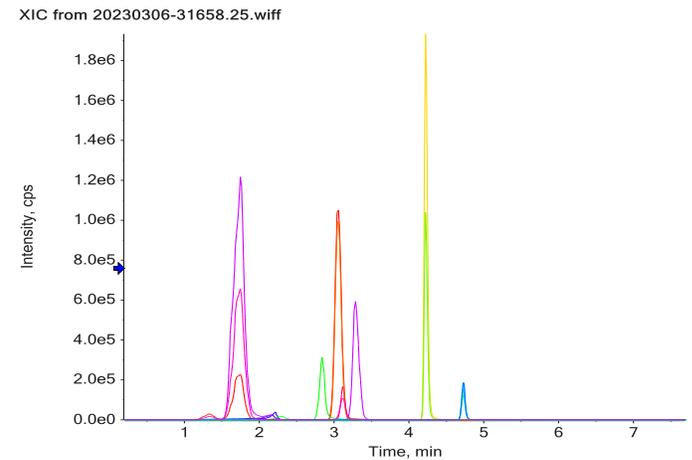


图7. 基质加标利尿剂提取离子流图 (GB 31658.25-2022)

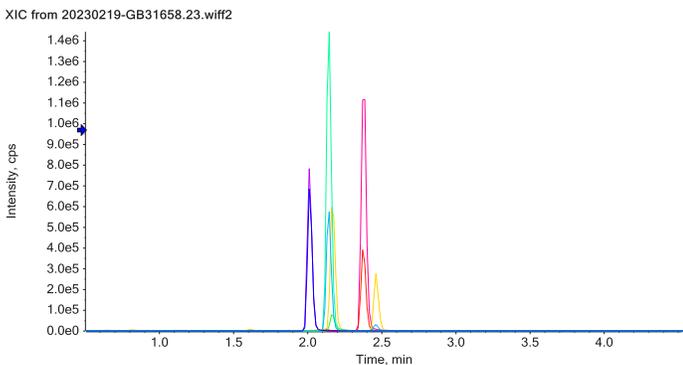


图5. 基质加标甲硝唑类残留提取离子流图 (GB 31658.23-2022)

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，选取适用的禽、畜肉空白基质添加1倍和5倍地定量限两个浓度，每个浓度重复6次，准确度在80.46%-116.70%之间 (n=6)，相对标准偏差小于2.72% (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2)，表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

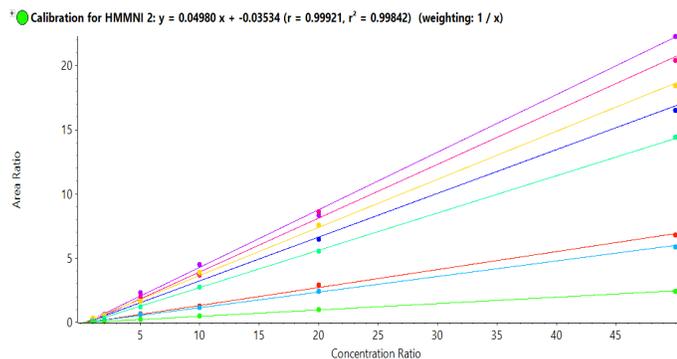


图8. 动物性食品中甲硝咪唑类线性回归曲线 (GB 31658.22-2022)

表2. 回收率及重复性实验 (n=6)

| 化合物名称 | 添加浓度 (µg/kg) | 平均回收率(%) | 相对标准偏差(%) | 标准编号 |
|-------|--------------|----------|-----------|----------|
| 阿托品 | 0.5 | 95.915 | 1.44 | 31658.19 |
| | 5 | 99.25 | 164 | 31658.19 |
| 东莨菪碱 | 0.5 | 95.915 | 1.89 | 31658.19 |
| | 5 | 99.25 | 2.17 | 31658.19 |
| 山莨菪碱 | 0.5 | 87.13 | 1.94 | 31658.19 |
| | 5 | 96.75 | 1.74 | 31658.19 |
| 利多卡因 | 0.5 | 101.42 | 1.96 | 31658.19 |
| | 5 | 97.67 | 2.31 | 31658.19 |
| 普鲁卡因 | 0.5 | 95.22 | 0.94 | 31658.19 |
| | 5 | 99.41 | 1.84 | 31658.19 |
| 氯霉素 | 0.2 | 103.70 | 1.24 | 31658.20 |
| | 2.0 | 87.43 | 1.53 | 31658.20 |
| 甲矾霉素 | 1.0 | 87.42 | 0.98 | 31658.20 |
| | 10.0 | 91.76 | 1.64 | 31658.20 |
| 氟苯尼考 | 1.0 | 91.11 | 1.37 | 31658.20 |
| | 10.0 | 88.46 | 1.28 | 31658.20 |
| 氟苯尼考胺 | 1.0 | 91.34 | 1.92 | 31658.20 |
| | 10.0 | 103.20 | 1.43 | 31658.20 |
| 左旋咪唑 | 1.0 | 91.56 | 1.56 | 31658.21 |
| | 10.0 | 105.46 | 2.17 | 31658.22 |
| 莱克多巴胺 | 0.5 | 84.56 | 1.45 | 31658.22 |
| | 5 | 87.83 | 1.56 | 31658.22 |

| 化合物名称 | 添加浓度 (µg/kg) | 平均回收率(%) | 相对标准偏差(%) | 标准编号 |
|--------|--------------|----------|-----------|----------|
| 沙丁胺醇 | 0.5 | 81.62 | 2.23 | 31658.22 |
| | 5 | 89.69 | 1.85 | 31658.22 |
| 西马特罗 | 0.5 | 96.85 | 2.02 | 31658.22 |
| | 5 | 103.34 | 1.54 | 31658.22 |
| 齐帕特罗 | 0.5 | 89.26 | 0.65 | 31658.22 |
| | 5 | 93.54 | 1.34 | 31658.22 |
| 氯丙那林 | 0.5 | 105.40 | 0.95 | 31658.22 |
| | 5 | 100.72 | 1.09 | 31658.22 |
| 特布他林 | 0.5 | 98.93 | 1.24 | 31658.22 |
| | 5 | 93..85 | 1.56 | 31658.22 |
| 西布特罗 | 0.5 | 89.45 | 1.54 | 31658.22 |
| | 5 | 86.47 | 1.83 | 31658.22 |
| 溴布特罗 | 0.5 | 86.57 | 2.14 | 31658.22 |
| | 5 | 85.67 | 1.45 | 31658.22 |
| 班布特罗 | 0.5 | 80.72 | 1.34 | 31658.22 |
| | 5 | 83.28 | 1.65 | 31658.22 |
| 盐酸克伦普罗 | 0.5 | 83.35 | 2.32 | 31658.22 |
| | 5 | 90.03 | 1.74 | 31658.22 |
| 妥布特罗 | 0.5 | 95.05 | 2.31 | 31658.22 |
| | 5 | 92.09 | 1.34 | 31658.22 |
| 利托君 | 0.5 | 97.75 | 1.42 | 31658.22 |
| | 5 | 94.75 | 1.46 | 31658.22 |
| 克仑赛罗 | 0.5 | 105.43 | 2.06 | 31658.22 |
| | 5 | 90.93 | 2.43 | 31658.22 |
| 马贲特罗 | 0.5 | 92.94 | 1.67 | 31658.22 |
| | 5 | 93.52 | 1.83 | 31658.22 |
| 克仑潘特 | 0.5 | 88.37 | 1.64 | 31658.22 |
| | 5 | 83.47 | 0.83 | 31658.22 |
| 甲硝唑 | 1.0 | 110.33 | 1.62 | 31658.23 |
| | 8.0 | 109.54 | 1.52 | 31658.23 |
| 羟基甲硝唑 | 1.0 | 109.01 | 2.01 | 31658.23 |
| | 8.0 | 99.88 | 2.19 | 31658.23 |
| 地美硝唑 | 1.0 | 102.52 | 2.62 | 31658.23 |
| | 8.0 | 84.31 | 2.03 | 31658.23 |

表2. 回收率及重复性实验 (n=6) (续)

| 化合物名称 | 添加浓度 (µg/kg) | 平均 回收率(%) | 相对标准 偏差(%) | 标准 编号 |
|------------------------|-----------------|--------------|---------------|----------|
| 羟甲基甲硝咪唑 | 1.0 | 116.70 | 1.85 | 31658.23 |
| | 8.0 | 77.30 | 1.21 | 31658.23 |
| 赛杜霉素 | 10.0 | 92.29 | 1.45 | 31658.24 |
| | 100.0 | 93.63 | 1.94 | 31658.25 |
| 乙酰唑胺 | 2.0 | 104.17 | 1.65 | 31658.25 |
| | 20.0 | 106.38 | 2.72 | 31658.25 |
| 4-氨基-6-氯苯- 1,3-二磺酰胺 | 2.0 | 103.27 | 2.24 | 31658.25 |
| | 20.0 | 103.45 | 2.25 | 31658.25 |
| 氯噻嗪 | 2.0 | 82.13 | 1.95 | 31658.25 |
| | 20.0 | 82.13 | 1.79 | 31658.25 |
| 氢氯噻嗪 | 2.0 | 82.21 | 1.89 | 31658.25 |
| | 20.0 | 80.46 | 1.99 | 31658.25 |
| 氯噻酮 | 2.0 | 82.26 | 1.78 | 31658.25 |
| | 20.0 | 104.17 | 1.92 | 31658.25 |
| 呋塞米 | 2.0 | 106.38 | 2.56 | 31658.25 |
| | 20.0 | 103.27 | 1.78 | 31658.25 |
| 卞氟噻嗪 | 2.0 | 104.45 | 1.89 | 31658.25 |
| | 20.0 | 93.26 | 1.95 | 31658.25 |
| 氨苯蝶啶 | 2.0 | 94.03 | 1.73 | 31658.25 |
| | 20.0 | 94.36 | 1.69 | 31658.25 |
| 螺内酯 | 2.0 | 94.09 | 1.35 | 31658.25 |
| | 20.0 | 93.72 | 1.39 | 31658.25 |
| 坎利酮 | 2.0 | 92.4 | 1.84 | 31658.25 |
| | 20.0 | 93.26 | 1.59 | 31658.25 |

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多类禽兽药的检测方法。实验严格按照标准进行,确保了实验结果的有效性,定量结果更准确。该方法足以满足列标准GB 31658.19-2022、GB 31658.20-2022、GB 31658.22-2022、GB 31658.23-2022、GB 31658.24-2022、GB 31658.25-2022的检测要求,在禽兽药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-02-15649-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)