

猪肉中多种兽药残留的同时测定

SGLC-LC/MS-003

摘要：建立了猪肉中多种兽药残留同时测定的方法。采用岛津 SHIMSEN QuEChERS 产品对猪肉等动物源性食品进行净化，Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离，串联质谱检测分析。对空白样品 10.0 µg/kg 和 50.0 µg/kg 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 3 份样品考察回收率和 RSD，结果显示，10.0 µg/kg 加标浓度的加标回收率为 34.97%-119.98%，RSD 为 0.49%-13.31%；50.0 µg/kg 加标浓度的加标回收率为 35.69%-115.16%，RSD 为 0.20%-10.71%，回收率高，重现性好。该方法适用于猪肉等样品中的磺胺类、喹诺酮类、四环素类、硝唑类、β-内酰胺类、氯霉素类、激素类、大环内酯类等 55 种兽药残留的同时测定。

关键词：QuEChERS 多兽残 动物源性食品 LC-MS/MS

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-30A 与 LCMS-8050 联用系统；

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100×2.1 mm, 2 µm; P/N: 227-30001-04)；

SHIMSEN QuEChERS 多兽残专用提取包 (QuEChERS Extract Tubes for Vet Drugs In Foods; P/N: 380-00155)；

SHIMSEN QuEChERS 多兽残专用净化包 (QuEChERS Dispersive Tubes for Vet Drugs In Foods; P/N: 380-00112)；

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 分析条件

UHPLC 条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100×2.1 mm, 2 µm; P/N: 227-30001-04)

流速：0.3 mL/min

进样量：1 µL

柱温：40 °C

流动相: A: 0.1%甲酸水 B: 乙腈

梯度洗脱程序如下:

时间 (min)	0	3	8	11	12	17
A (%)	90	80	65	5	90	90
B (%)	10	20	35	95	10	10

质谱条件

离子化模式: ESI, 正负离子同时扫描

扫描模式: 多反应监测(MRM)

碰撞气: 氩气

加热气: 氮气 10 L/min

雾化气: 氮气 3 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

接口温度: 300 °C

DL 温度: 250 °C

加热模块温度: 400 °C

延迟时间: 1 ms

各化合物 MRM 参数见下表

序号	兽药名称	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias	CE	Q3 Pre Bias
1	甲硝唑	172.1	82.3	-12	-24	-30
		172.1	128.3	-20	-15	-10
2	磺胺二甲异嘧啶	279.0	124.3	-10	-20	-10
		279.0	186.2	-10	-16	-17
3	地美硝唑	142.1	96.3	-17	-18	-21
		142.1	95.3	-17	-23	-30
4	磺胺嘧啶	251.0	65.3	-12	-44	-24
		251.0	156.2	-16	-15	-30
5	磺胺噻唑	256.0	156.2	-13	-14	-13
		256.0	92.3	-13	-25	-19
6	磺胺吡啶	250.0	92.2	-12	-27	-16
		250.0	65.3	-13	-45	-25
7	氟罗沙星	369.9	326.3	-18	-19	-29
		369.9	269.2	-18	-27	-23
8	甲氧苄啶	291.0	230.3	-15	-24	-21
		291.0	123.3	-11	-24	-10
9	伊诺沙星	321.0	303.2	-12	-20	-29
		321.0	232.1	-12	-35	-21
10	磺胺甲基嘧啶	265.0	92.3	-10	-28	-19
		265.0	65.3	-10	-47	-27
11	诺氟沙星	320.0	302.2	-12	-21	-12
		320.0	282.3	-17	-29	-27

12	土霉素	460.9	426.2	-13	-20	-27
		460.9	443.2	-13	-14	-19
13	氧氟沙星	362.0	318.2	-13	-19	-13
		362.0	261.2	-13	-27	-25
14	替硝唑	248.1	121.3	-12	-16	-10
		248.1	128.3	-12	-21	-10
15	培氟沙星	334.0	290.3	-12	-18	-28
		334.0	316.2	-12	-21	-30
16	环丙沙星	332.0	314.2	-10	-21	-13
		332.0	231.2	-10	-36	-22
17	达氟沙星	358.0	340.2	-13	-26	-30
		358.0	82.3	-11	-46	-29
18	洛美沙星	352.0	265.2	-13	-25	-25
		352.0	308.2	-13	-18	-29
19	四环素	444.9	410.2	-16	-20	-26
		444.9	427.2	-16	-15	-28
20	磺胺二甲嘧啶	279.0	186.2	-10	-16	-17
		279.0	124.3	-10	-24	-24
21	磺胺甲噻二唑	271.0	156.2	-10	-14	-14
		271.0	92.3	-18	-28	-30
22	恩诺沙星	360.0	316.3	-13	-20	-13
		360.0	245.2	-18	-27	-23
23	磺胺甲氧哒嗪	281.0	156.2	-10	-17	-13
		281.0	92.3	-15	-30	-16
24	磺胺对甲基嘧啶	281.0	92.3	-10	-29	-15
		281.0	108.2	-10	-25	-19
25	奥比沙星	396.0	352.3	-14	-19	-15
		396.0	295.2	-14	-25	-28
26	奥硝唑	220.1	128.3	-11	-16	-10
		220.1	205.4	-21	-16	-19
27	沙拉沙星	385.9	368.2	-14	-23	-15
		385.9	299.2	-11	-28	-29
28	双氟沙星	400.0	299.1	-14	-30	-12
		400.0	356.2	-14	-20	-23
29	斯帕沙星	393.0	349.2	-14	-20	-14
		393.0	292.2	-19	-25	-28
30	磺胺氯哒嗪	285.0	156.3	-11	-15	-30
		285.0	92.3	-11	-27	-20
31	螺旋霉素	843.2	174.3	-24	-36	-14
		843.2	101.3	-24	-39	-23

32	金霉素	478.9	444.0	-23	-22	-29
		478.9	462.1	-17	-18	-20
33	磺胺甲恶唑	254.0	65.2	-13	-45	-25
		254.0	92.3	-13	-27	-19
34	磺胺邻二甲氧嘧啶	311.0	156.2	-12	-18	-13
		311.0	108.3	-12	-25	-23
35	强力霉素	445.2	428.1	-10	-19	-18
		445.2	321.1	-10	-31	-20
36	磺胺二甲异恶唑	268.0	156.2	-10	-13	-13
		268.0	65.2	-10	-47	-25
37	替米考星	869.2	696.4	-20	-44	-30
		869.2	174.3	-20	-44	-15
38	磺胺二甲基哒嗪	311.0	156.3	-12	-21	-13
		311.0	92.3	-16	-32	-19
39	磺胺奎恶啉	301.0	156.2	-11	-16	-13
		301.0	92.3	-11	-29	-18
40	红霉素	734.1	158.3	-26	-31	-13
		734.1	576.4	-20	-21	-24
41	氟甲喹	262.0	244.2	-13	-17	-23
		262.0	202.2	-13	-32	-18
42	吉它霉素	772.1	109.2	-22	-44	-28
		772.1	174.3	-22	-33	-15
43	苯唑西林	401.8	114.3	-20	-38	-28
		401.8	160.2	-29	-14	-12
44	交沙霉素	828.1	109.3	-24	-45	-27
		828.1	174.2	-24	-34	-14
45	双氯西林	469.8	160.2	-26	-14	-13
		469.8	311.0	-14	-16	-21
46	鞣酮	289.2	109.3	-11	-25	-15
		289.2	97.2	-14	-25	-26
47	奈夫西林	414.9	199.3	-12	-15	-17
		414.9	171.3	-12	-37	-15
48	黄体酮	315.2	97.2	-15	-25	-23
		315.2	109.3	-15	-27	-29
49	甲砒霉素	354.0	185.2	12	19	12
		354.0	227.2	12	13	15
50	氟苯尼考	356.0	185.2	12	18	12
		356.0	336.1	13	10	12
51	氯霉素	321.0	152.2	11	16	10
		321.0	257.2	11	12	12

52	氢化可的松	407.0	331.2	20	18	12
		407.0	297.1	20	30	11
53	地塞米松	437.0	361.3	12	18	13
		437.0	307.2	12	31	11
54	氟氢化可的松	467.0	420.8	13	11	11
		467.0	321.0	11	11	27
55	双烯雌酚	265.0	97.0	14	24	15
		265.0	93.1	13	25	27

1.3 样品前处理

1.3.1 样品提取

称取猪肉样品 5.0 g，加 5 mL 5% 甲酸乙腈，手动振摇 1 min，加入 SHIMSEN

QuEChERS 多兽残专用提取包（5010-050123 QuEChERS Extract Tubes for Vet Drugs In Foods 50/p），

手动振摇 1 min，10℃ 下 8000 rpm 下离心 5 min，取 1 mL 上清液待净化。流程图见下图 1。

1.3.2 样品净化

将 1 mL 提取液转移至 SHIMSEN QuEChERS 多兽残专用净化包（5010-002104 QuEChERS Dispersive Tubes for Vet Drugs In Foods 100/p）中，涡旋混合 1 min，12000 rpm 下离心 2 min，取上清液，过 0.22 μm 微孔滤膜，进 LC-MS/MS 分析。流程图见下图 1。

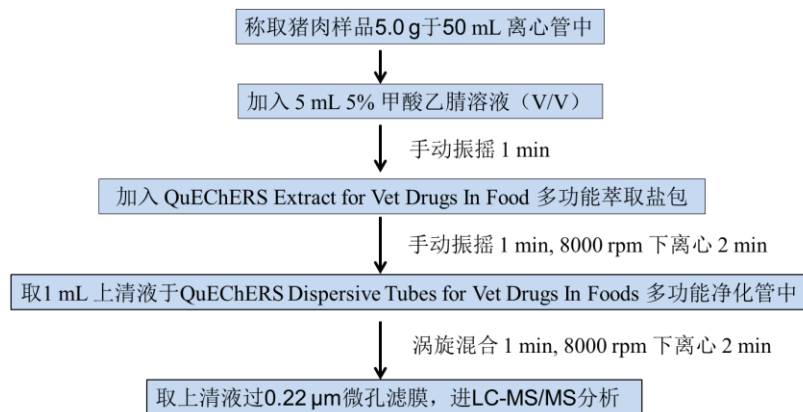
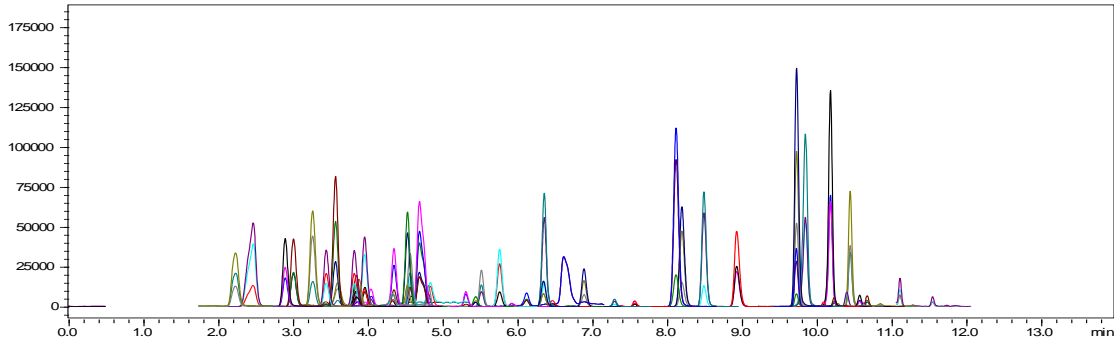


图 1 样品提取净化流程图

2. 结果及讨论

2.1 标准样品的 MRM 谱图



2.2 猪肉中多种兽药的 LC-MS/MS 检测添加回收结果

将猪肉空白样品进行 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 3 份样品考察回收率和 RSD，具体结果如下：10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的加标回收率为 34.97%-119.98%，RSD 为 0.49%-13.31%；50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的加标回收率为 35.69%-115.16%，RSD 为 0.20%-10.71%。

序号	兽药名称	添加水平 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		添加水平 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	
		回收率 (%)	RSD(%)	回收率 (%)	RSD(%)
1	甲硝唑	82.09	3.96	88.58	0.90
2	磺胺二甲异嘧啶	74.53	4.65	79.34	1.32
3	地美硝唑	92.72	1.86	99.98	0.65
4	磺胺嘧啶	92.79	3.97	99.07	2.56
5	磺胺噻唑	89.75	5.68	89.28	1.21
6	磺胺吡啶	87.57	4.33	95.55	1.53
7	甲氧苄啶	79.43	6.25	85.87	1.00
8	伊诺沙星	55.53	8.41	61.50	3.35
9	诺氟沙星	51.72	8.77	60.34	4.12
10	磺胺甲基嘧啶	97.00	4.51	107.50	1.36
11	土霉素	34.97	3.02	35.69	6.73
12	氧氟沙星	74.82	3.88	85.41	3.41
13	培氟沙星	74.00	2.61	71.90	1.94
14	替硝唑	102.19	0.95	108.08	2.48
15	环丙沙星	67.62	8.07	70.69	4.55
16	达氟沙星	65.09	4.83	81.10	4.99
17	洛美沙星	76.05	4.08	78.12	2.75
18	四环素	44.76	3.99	50.52	1.67
19	磺胺二甲嘧啶	93.56	7.78	102.44	0.70
20	恩诺沙星	83.03	8.23	92.97	3.52

21	磺胺甲噻二唑	83.03	8.23	98.06	4.08
22	磺胺甲氧哒嗪	88.67	4.83	102.80	0.62
23	磺胺对甲基嘧啶	100.50	5.10	103.63	1.38
24	奥比沙星	97.70	6.05	92.98	2.33
25	奥硝唑	76.34	3.54	103.62	2.50
26	沙拉沙星	100.80	5.76	92.19	3.39
27	双氟沙星	102.52	5.77	91.39	1.28
28	斯帕沙星	83.04	3.37	94.24	1.44
29	磺胺氯哒嗪	100.14	2.94	102.96	0.27
30	螺旋霉素	116.64	9.25	93.78	5.81
31	金霉素	73.89	1.26	60.73	5.54
32	磺胺甲恶唑	101.71	2.42	107.49	1.82
33	磺胺邻二甲氧嘧啶	103.88	7.34	107.98	1.23
34	强力霉素	94.66	0.49	71.84	4.34
35	磺胺二甲异恶唑	103.76	0.88	106.09	0.68
36	替米考星	111.15	8.27	115.16	10.71
37	磺胺二甲基哒嗪	104.31	3.33	106.55	0.59
38	磺胺奎恶啉	101.03	3.95	102.71	0.84
39	红霉素	71.68	13.14	78.36	10.19
40	氟甲奎	103.82	3.54	104.83	1.56
41	吉他霉素	105.89	4.92	106.40	0.21
42	苯唑西林	119.98	6.54	100.24	8.39
43	交沙霉素	112.39	9.90	112.64	1.95
44	双氯西林	116.79	7.78	107.48	2.92
45	奈夫西林	97.36	3.53	97.09	0.20
46	黄体酮	92.06	8.56	88.78	3.98
47	甲砒霉素	66.47	13.31	97.34	1.57
48	氟苯尼考	109.01	6.57	110.82	3.69
49	氯霉素	101.68	7.13	100.75	1.69
50	氢化可的松	96.32	1.55	95.04	1.35
51	地塞米松	98.27	0.88	98.57	2.63
52	氟氢化可的松	107.62	10.04	112.22	3.72
53	双烯雌酚	108.83	4.56	96.87	1.42
54	睾酮	110.89	8.15	90.34	3.23
55	氟罗沙星	100.04	1.81	86.92	6.77

3. 结论

综上，本方案采用岛津的 SHIMSEN QuEChERS 产品对猪肉样品进行净化，Shim-pack GIST 色谱柱进行分离，采用岛津串联质谱 LCMS-8050 检测分析，建立了猪肉样品中磺胺类、喹诺酮类、四环素类、

硝唑类、 β -内酰胺类、氯霉素类、激素类、大环内酯类等 8 类兽药残留的同时检测方法，该方法操作简单、分析速度快、重现性好，适用于猪肉等动物源性食品中多兽药残留量的同时测定。