

LC-MS/MS快速检测牛奶中兽药残留

Rapid determination of veterinary drug residues in milk by LC-MS / MS

刘青¹, 陈情², 黄文杰², 李荷香², 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

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

SCIEX Application Support Center, China¹

Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd²

Keywords: Veterinary drug; Milk;

引言

牛奶营养丰富, 最好的天然食物, 其富含优质蛋白质, 并含有容易消化和吸收的脂肪, 有调节胃酸、帮助消化、抑制腐败菌生长的乳糖, 还有丰富的钙和多种维生素, 是最接近完美的食品, 被人们称为“白色血液”, 深受广大消费者青睐。随着人们对食品安全的重视, 牛奶中兽药残留已逐渐成为人们关注的一个焦点。兽药残留是指给动物使用兽用药物后蓄积和贮存在细胞、组织和器官内的药物原形、代谢产物和药物杂质, 包括兽药在生态环境中的残留和兽药在动物性食品中的任何可食部分的残留。牛奶中兽药残留超标, 将严重危害人类身体健康, 因此禽、兽肉目前国家监管日趋严格。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。

1. 方法全面: 覆盖GB 31659.1-2021、GB 31658.11-2021标准中所有化合物种类;
2. 方法灵敏度高: 所有化合物的灵敏度均满足以上标准的限量要求;
3. 紧扣标准: 所有牛奶基质的前处理方法与标准一致, 实用性强;

1 实验方法

1.1 样品前处理

方法1: 本方法适用于(GB 31659.1-2021)牛奶中赛拉嗪残留量分析检测。取试料2.0 mL, 于50 mL离心管中, 加巴氯芬-D4工作液10 μ L, 用10%盐酸溶液调节pH值至2.0以下, 旋涡混匀, 8000 r/min离心5 min, 备用。取固相萃取柱, 依次用甲醇3 mL、水3 mL活化。备用液全部过柱, 用水3 mL、甲醇3 mL依次淋洗, 抽干2 min, 用5%氨水甲醇溶液6 mL洗脱, 收集洗脱液, 于50 $^{\circ}$ C水浴氮气吹干, 用0.2%甲酸-乙腈溶液1.0 mL溶解, 滤过, 液相色谱-串联质谱测定。

方法2: 本方法适用于(GB 31658.11-2021)牛奶中阿苯达唑、阿苯达唑砷、阿苯达唑亚砷、阿苯达唑氨基砷残留量的检测。取试样2 g(准确至 ± 0.02 g), 置50 mL离心管中, 加10 mol/L氢氧化钠溶液50 μ L、0.004 g/mL焦亚硫酸钠溶液0.5 mL, 涡旋1 min, 加乙腈10 mL、乙酸乙酯5 mL, 涡旋, 振荡5 min, 10000 r/min离心5 min, 移取上清液。加无水硫酸钠5 g, 振荡5 min, 10000 r/min离心5 min, 取上清液, 40 $^{\circ}$ C氮吹至近干。残渣加正己烷5 mL, 涡旋1 min, 再加入0.2 mol/L盐酸水-乙腈溶液2 mL, 涡旋1 min, 静置分层, 弃去上层正己烷, 下层溶液备用。酸性氧化铝固相萃取柱依次用0.2 mol/L盐酸水-乙腈溶液3 mL、0.1 mol/L乙二胺四乙酸二钠溶液3 mL活化, 取备用液过柱, 收集流出液, 用0.2 mol/L盐酸水-乙腈溶液1 mL淋洗, 合并流出液, 加0.2 mol/L盐酸溶液8 mL, 混匀。再通过依次用甲醇3 mL、0.1 mol/L乙二胺四乙酸二钠溶液3 mL、水3 mL、0.2 mol/L盐酸溶液3 mL活化的混合型阳离子交换固相萃取柱, 用0.2 mol/L盐酸溶液3 mL、甲醇3 mL淋洗, 抽干1 min, 10%氯化乙腈溶液5 mL洗脱, 抽干, 收集洗脱液, 于40 $^{\circ}$ C水浴氮气吹干。用复溶液1.0 mL溶解残余物, 过尼龙微孔滤膜后, 供测定, (上机溶液应在72小时内完成测定)。

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 μm)

流动相：A为0.1%甲酸水溶液(5 mmol/L乙酸铵溶液)；

B为乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

洗脱条件：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)：5500/-4500 V；离子源温度(TEM)：550℃；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)。

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
266.3	234	Albendazole 1	90	28	GB 31658.11
266.3	190.9	Albendazole 2	90	44	GB 31658.11
282.1	240	albendazole sulfoxide 1	70	19	GB 31658.11
282.1	208	albendazole sulfoxide 2	70	34	GB 31658.11
298	266	Albendazole Sulfone 1	86	29	GB 31658.11
298	159	Albendazole Sulfone 2	86	49	GB 31658.11
240.1	133.1	Albendazole-2-aminosulfone 1	110	37	GB 31658.11
240.1	198	Albendazole-2-aminosulfone 2	110	25	GB 31658.11
221.1	90	Xylazine 1	68	27	GB 31659.1
221.1	164.1	Xylazine 2	68	35	GB 31659.1

2 实验结果与讨论

2.1 色谱条件优化

本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，使得所有的化合物有较好的分离、尖锐的峰形，同时有效的避开基质干扰，让定量结果更加准确。

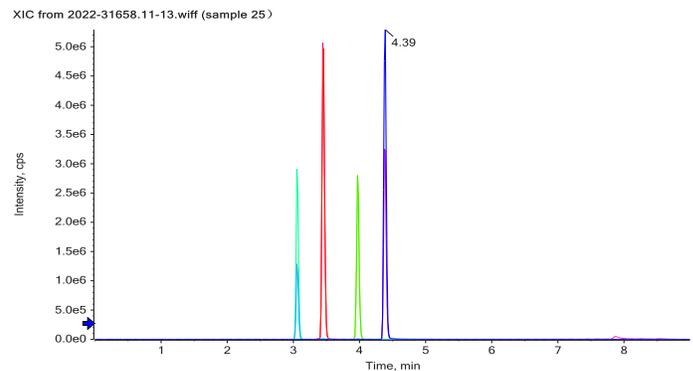


图1. 牛奶中阿苯达唑类提取离子流图(GB 31658.11-2021)

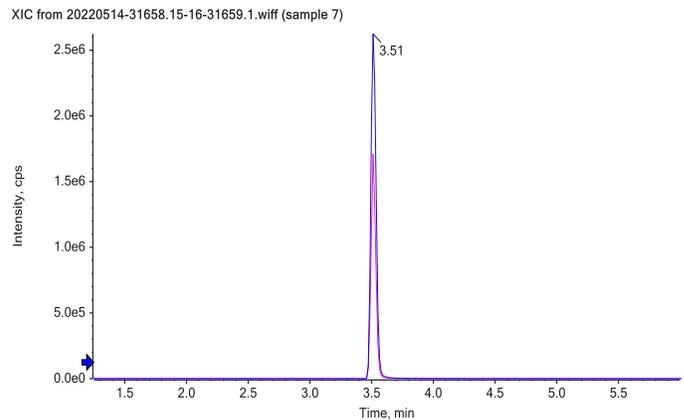


图2. 牛奶中赛拉嗪提取离子流图(GB 31659.1-2021)

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92.1%-103.76%之间(n=6)，相对标准偏差小于2.21%(表3)，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。

Calibration for Albendazole 2: $y = 5.78051e... 0.99987, r^2 = 0.99974$ (weighting: 1 / x)

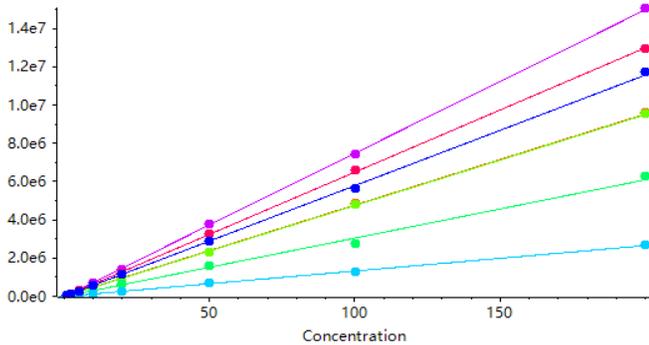


图3. 牛奶中阿苯达唑类线性回归曲线 (GB 31658.11-2021)

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 (%)
阿苯达唑	0.5	100.67	1.09
	2.5	98.92	2.02
阿苯达唑砒	0.5	97.84	1.14
	2.5	96.89	2.05
阿苯达唑亚砒	0.5	97.56	1.17
	2.5	102.23	2.21
阿苯达唑氨基砒	0.5	97.85	0.95
	2.5	103.76	1.06
赛拉嗪	0.5	98.94	1.56
	2.5	92.17	0.85

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牛奶中两类兽药的方法。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 31659.1-2021、GB 31658.11-2021标准的检测要求,在牛奶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. 或在美和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14909-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: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: SCIEX-China