

鸡肉中 106 种兽药残留的分析方法

AF10182

应用及技术服务部

摘要: 本实验采用 QuEChERS 结合高效液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 建立了鸡肉中 106 种兽药的前处理方法。样品经 0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液和乙腈提取, Cleanert LipoNo 净化, LC-MS/MS 检测, Venusil MP C18 进行分离, 外标法进行定量。结果表明, 106 种兽药的回收率在 60% ~ 120% 之间, RSD 小于 20%, 能够满足检测要求。

关键词: 兽药; Cleanert LipoNo; LC-MS/MS;

样品信息

本实验共验证 106 种兽残, 其中雄激素类有 1 种, 磺酰脲类有 3 种, 糖皮质激素类有 32 种, 非甾体类有 11 种, 磺胺类有 18 种, 硝基咪唑类有 14 种, 喹诺酮类有 13 种, 大环内酯类有 4 种, 四环素类有 4 种, 头孢类 1 种, 氯霉素类有 3 种, 金刚烷胺, 吡啶类有 1 种。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

AB SCEIX API 4000⁺液相色谱串联质谱仪。

试剂材料

乙腈为色谱纯; EDTA-2Na、甲酸为分析纯;

106 种兽药混合标准工作溶液: 甲醇溶解;

0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液: 称取 3.72 g EDTA-2Na, 用水溶解定容至 100 mL;

20% 乙腈水溶液: 量取 20 mL 乙腈, 加水定容至 100 mL;

Cleanert LipoNo: MS-LN0415。

样品制备



样品提取

称取 2.5 g 已均质好的样品于 50 mL 离心管中, 先加入 2 mL 0.1 mol/L EDTA-2Na 水溶液, 涡旋 1 min, 然后再加入 8 mL 乙腈, 涡旋 1 min, 超声 15 min, 8000 rad/min 离心 5 min, 上清液待净化。

样品净化

取 3 mL 上清液加入 Cleanert LipoNo 净化管中, 振摇 1 min 后, 静置 1 min, 之后取 0.4 mL 上清液, 加 0.8 mL 水 (可根据实验情况, 确定稀释倍数), 混匀后过 0.22 μm 聚醚砜针式过滤器, 进 LC-MS/MS 分析。

基质混合标准工作溶液配制

取高浓度兽药混合标准溶液, 用空白样品基质溶液稀释成低浓度的基质混合标准工作溶液。

检测条件

色谱柱: Venusil MP C18 (3 μm , 100 \AA , 3.0 \times 50 mm)

正离子模式

流动相 A: 0.1% 甲酸水溶液;

流动相 B: 0.1% 甲酸乙腈溶液;

负离子模式

流动相 A: 水;

流动相 B: 乙腈;

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

进样量: 5 μL

梯度洗脱条件 (见表1)



表1. 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/mL/min	A%	B%
0.0	0.4	95	5
1.0	0.4	95	5
1.1	0.4	85	15
9.5	0.4	25	75
9.6	0.4	5	95
11.5	0.4	5	95
11.6	0.4	95	5
16.0	0.4	95	5

质谱条件

正离子模式

离子源: ESI+; 电喷雾电压: 5500 V; 雾化气压力: 50 psi; 气帘气压力: 10 psi; 辅助气压力: 60 psi; 离子源温度: 550℃; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

负离子模式

离子源: ESI-; 电喷雾电压: -4500 V; 雾化气压力: 50 psi; 气帘气压力: 10 psi; 辅助气压力: 60 psi; 离子源温度: 550℃; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

表2. 106种兽残质谱参数

物质名称	Q1	Q3	DP/V	CE/V
醋酸甲羟孕酮	387.1	<u>327.3</u>	96	18
	387.1	123.0	96	30
格列吡嗪	446.2	<u>321.2</u>	85	20
	446.2	103.0	85	62
瑞格列奈	453.3	<u>230.2</u>	100	38
	453.3	162.0	100	27
甲苯磺丁脲	271.1	<u>155.0</u>	72	24
	271.1	91.1	72	45



泼尼松	359.2	<u>147.2</u>	80	35
	359.2	341.2	80	15
可的松	361.2	<u>163.2</u>	80	34
	361.2	121.1	80	47
氢化可的松	363.2	<u>121.1</u>	80	31
	363.2	105.0	80	68
甲基泼尼松龙	375.2	<u>339.2</u>	66	14
	375.2	161.2	66	28
氟米龙	377.2	279.3	80	22
	377.2	<u>321.3</u>	80	18
倍他米松	393.2	<u>355.2</u>	80	15
	393.2	337.3	80	19
曲安西龙	395.2	<u>357.2</u>	80	17
	395.2	225.1	80	26
醋酸泼尼松	401.2	124.1	80	53
	401.2	<u>147.2</u>	80	40
醋酸可的松	403.2	<u>163.2</u>	80	34
	403.2	343.2	80	25
醋酸氢化可的松	405.3	309.2	80	25
	405.3	<u>327.2</u>	80	24
倍氯米松	409.2	<u>391.2</u>	80	15
	409.2	279.3	80	29
氟米松	411.3	<u>253.2</u>	80	22
	411.3	121.0	80	50
甲基泼尼松龙醋酸酯	417.2	253.2	80	28
	417.2	<u>161.1</u>	80	28
醋酸氟米龙	419.3	<u>279.2</u>	80	20



	419.3	321.2	80	19
醋酸氟氢可的松	423.2	<u>239.2</u>	80	34
	423.2	343.2	80	31
布地奈德	431.2	<u>413.2</u>	80	15
	431.2	147.1	80	42
氢化可的松丁酸酯	433.3	<u>327.2</u>	80	22
	433.3	309.2	80	23
曲安奈德	435.2	<u>415.2</u>	80	15
	435.2	397.2	80	15
氟氢缩松	437.3	<u>361.2</u>	80	24
	437.3	285.2	80	29
地夫可特	442.3	124.1	80	65
	442.3	<u>142.1</u>	80	45
氢化可的松戊酸酯	447.3	<u>345.3</u>	80	19
	447.3	121.1	80	39
醋酸曲安奈德	477.2	<u>339.2</u>	80	22
	477.2	321.2	80	23
二氟拉松双醋酸酯	495.2	<u>317.2</u>	80	20
	495.2	279.2	80	23
安西奈德	503.2	<u>339.2</u>	80	24
	503.2	321.2	80	25
醋酸曲安西龙双	479.2	<u>441.2</u>	81	14
	479.2	147.0	81	48
泼尼松龙	361.2	343.2	80	14
	361.2	<u>147.2</u>	80	34
地塞米松	393.2	<u>373.4</u>	80	15
	393.2	355.2	80	15



醋酸泼尼松龙	403.2	147.1	80	35
	403.2	<u>385.2</u>	80	14
醋酸地塞米松	435.3	<u>415.2</u>	80	15
	435.3	337.0	80	17
倍他米松戊酸酯	477.2	<u>355.3</u>	80	18
	477.2	279.3	80	24
醋酸倍他米松	435.3	397.2	80	15
	435.3	<u>415.2</u>	80	15
氟轻松醋酸酯	495.2	<u>337.2</u>	80	24
	495.2	121.1	80	60
替诺昔康	338.2	<u>121.1</u>	80	26
	338.2	78.0	80	80
茚酮苯丙酸	282.2	<u>236.0</u>	85	28
	282.2	218.0	85	43
双水杨酸酯	259.2	<u>120.0</u>	50	22
	259.2	119.0	50	22
酮基布洛芬	255.2	<u>209.1</u>	66	20
	255.2	76.9	66	60
美洛昔康	352.1	<u>115.0</u>	50	24
	352.1	141.0	50	26
氟尼辛	297.1	<u>279.1</u>	45	32
	297.1	264.0	45	45
双氯芬酸	296.2	<u>215.0</u>	32	26
	296.2	250.1	32	19
吡罗昔康	332.2	<u>95.1</u>	50	23
	332.2	164.0	50	24
舒林酸	357.2	<u>233.0</u>	80	65



	357.2	340.0	80	28
托麦汀	258.2	<u>119.1</u>	60	24
	258.2	91.0	60	51
吡哌美辛	358.2	<u>139.0</u>	60	27
	358.2	111.0	60	70
磺胺嘧啶	251.1	<u>156.0</u>	40	22
	251.1	92.0	40	38
磺胺噻唑	256.0	<u>156.0</u>	40	22
	256.0	108.0	40	32
磺胺吡啶	250.1	<u>156.1</u>	40	23
	250.1	108.0	40	32
磺胺甲基嘧啶	265.2	<u>156.1</u>	82	25
	265.2	172.1	82	25
磺胺二甲基嘧啶	279.1	<u>186.1</u>	60	23
	279.1	156.0	60	27
磺胺间甲氧嘧啶	281.1	<u>156.0</u>	75	25
	281.1	126.1	75	30
磺胺甲噻二唑	271.0	<u>156.1</u>	65	21
	271.0	108.0	65	36
磺胺对甲氧嘧啶	281.1	<u>156.1</u>	70	25
	281.1	108.1	70	35
磺胺氯哒嗪	285.1	<u>156.0</u>	65	22
	285.1	108.1	65	37
磺胺甲氧哒嗪	281.0	<u>156.0</u>	75	25
	281.0	126.1	75	27
磺胺邻二甲氧嘧啶	311.1	<u>156.1</u>	70	30
	311.1	108.2	70	37



	311.1	<u>156.1</u>	70	28
磺胺间二甲氧嘧啶	311.1	218.0	70	28
	254.1	<u>156.0</u>	65	22
磺胺甲基异噁唑	254.1	108.0	65	36
	268.1	<u>156.1</u>	82	22
磺胺二甲异噁唑	268.1	113.2	82	25
	277.1	<u>156.0</u>	60	19
苯甲酰磺胺	277.1	108.0	60	32
	301.1	<u>156.0</u>	80	24
磺胺噻恶啉	301.1	108.0	80	36
	215.0	<u>156.0</u>	52	17
磺胺醋纤	215.0	108.0	52	29
	315.0	<u>156.0</u>	90	27
磺胺苯吡唑	315.0	108.0	90	40
	188.2	<u>123.0</u>	50	19
羟基甲硝唑	188.2	126.0	50	23
	172.2	<u>127.9</u>	50	20
甲硝唑	172.2	82.0	50	37
	142.2	96.0	65	21
二甲硝咪唑	142.2	<u>81.0</u>	65	36
	201.2	<u>140.0</u>	50	15
罗硝唑	201.2	55.0	50	27
	162.2	<u>115.9</u>	75	23
氯甲硝咪唑	162.2	144.9	75	23
	164.2	<u>118.0</u>	80	27
苯硝咪唑	164.2	90.9	80	46
	170.3	<u>124.0</u>	50	25
异丙硝唑				



	170.3	109.0	50	33
阿苯哒唑亚砷	282.1	<u>240.0</u>	70	19
	282.1	208.0	70	34
氟苯咪唑	314.1	<u>282.0</u>	90	32
	314.1	123.0	90	48
奥芬达唑	316.2	<u>159.0</u>	70	43
	316.2	191.1	70	27
甲苯咪唑	296.3	<u>264.1</u>	100	32
	296.3	77.1	100	76
噻苯哒唑	202.2	<u>175.0</u>	60	37
	202.2	130.9	60	48
替硝唑	248.2	<u>121.2</u>	80	21
	248.2	93.0	80	25
奥硝唑	220.0	<u>128.0</u>	70	23
	220.0	82.0	70	43
恩诺沙星	360.0	<u>316.1</u>	80	25
	360.0	245.1	80	35
诺氟沙星	320.1	<u>276.1</u>	80	26
	320.1	233.1	80	35
培氟沙星	334.1	<u>316.1</u>	80	27
	334.1	290.2	80	25
环丙沙星	332.1	<u>288.1</u>	80	25
	332.1	245.1	80	33
氧氟沙星	362.2	<u>318.1</u>	80	26
	362.2	261.1	80	38
沙拉沙星	386.0	<u>342.3</u>	80	25
	386.0	299.0	80	38



洛美沙星	352.0	<u>265.0</u>	80	33
	352.0	308.1	80	28
萘啶酸	233.0	<u>215.0</u>	68	18
	233.0	187.0	68	34
恶喹酸	262.0	<u>244.1</u>	70	26
	262.0	261.1	70	40
氟甲喹	262.1	<u>244.1</u>	77	23
	262.1	202.1	77	42
双氟沙星	400.1	<u>356.1</u>	80	28
	400.1	299.1	80	41
司帕沙星	393.0	<u>349.2</u>	80	30
	393.0	292.0	80	38
氟罗沙星	370.0	<u>326.1</u>	80	27
	370.0	269.2	80	35
红霉素	734.6	<u>158.1</u>	73	45
	734.6	576.5	73	18
克林霉素	425.3	<u>126.1</u>	50	32
	425.3	377.1	50	27
罗红霉素	837.6	<u>679.5</u>	50	30
	837.6	158.1	50	27
替米考星	869.5	<u>696.5</u>	100	52
	869.5	174.2	100	52
头孢噻呋	524.4	<u>241.2</u>	55	25
	524.4	210.2	55	25
四环素	445.1	<u>410.2</u>	80	24
	445.1	427.1	80	19
盐酸土霉素	461.2	<u>426.2</u>	80	25



	461.2	443.2	80	17
金霉素	479.1	462.0	80	24
	479.1	<u>444.0</u>	80	28
多西环素	445.0	<u>428.1</u>	80	24
	445.0	154.1	80	35
氯羟吡啶	192.2	<u>100.9</u>	80	35
	192.2	86.9	80	42
金刚烷胺	152.1	<u>135.0</u>	70	25
	152.1	93.0	70	38
氯霉素	321.0	<u>152.1</u>	-75	-24
	321.0	256.9	-75	-17
甲矾霉素	353.9	<u>289.9</u>	-75	-18
	353.9	184.9	-75	-28
氟苯尼考	356.0	<u>119.0</u>	-80	-23
	356.0	184.9	-80	-12

注：“下划线”为定量离子。

结果与讨论

由表 3 可知，采用 QuEChERS 方法结合液相色谱串联质谱的方法检测鸡肉中 106 种兽残，加标回收率在 60% ~ 120% 之间，能够满足检测要求。由图可知，用 Venusil MP C18 色谱柱检测多兽残，峰形良好，且保留时间稳定。

表 3. 鸡肉中 106 种兽残加标回收实验结果(n=3)

物质名称	添加水平/mg/kg	保留时间/min	平均回收率/%	RSD/%
醋酸甲羟孕酮	0.01	11.50	64.6	18.0
格列吡嗪	0.01	8.88	99.8	11.8
瑞格列奈	0.01	12.45	78.1	12.6
甲苯磺丁脲	0.01	9.06	90.4	7.6
泼尼松	0.01	7.22	92.6	11.5



可的松	0.01	7.37	88.6	8.5
氢化可的松	0.01	7.22	86.0	11.5
甲基泼尼松龙	0.01	7.73	96.9	7.6
氟米龙	0.01	8.80	82.2	9.3
倍他米松	0.01	7.91	101.2	11.7
曲安西龙	0.01	5.87	86.3	5.6
醋酸泼尼松	0.01	8.95	74.0	18.0
醋酸可的松	0.01	9.10	92.4	12.3
醋酸氢化可的松	0.01	8.80	74.7	6.2
倍氯米松	0.01	8.13	93.9	16.0
氟米松	0.01	8.04	96.4	13.9
甲基泼尼松龙醋酸酯	0.01	9.25	79.0	10.8
醋酸氟米龙	0.01	9.70	82.8	10.2
醋酸氟氢可的松	0.01	8.87	92.0	8.1
布地奈德	0.01	9.45	82.4	5.7
氢化可的松丁酸酯	0.01	9.47	72.7	10.8
曲安奈德	0.01	8.27	89.3	10.0
氟氢缩松	0.01	8.55	79.0	1.3
地夫可特	0.01	8.72	78.4	9.3
氢化可的松戊酸酯	0.01	10.10	76.6	7.6
醋酸曲安奈德	0.01	10.20	72.9	5.6
二氟拉松双醋酸酯	0.01	10.30	108.3	6.1
安西奈德	0.01	11.10	106.1	17.3
醋酸曲安西龙双	0.01	8.57	71.1	2.9
泼尼松龙	0.01	7.07	94.5	10.4
地塞米松	0.01	7.88	92.9	7.6
醋酸泼尼松龙	0.01	8.59	77.2	8.3



醋酸地塞米松	0.01	8.27	88.5	8.9
倍他米松戊酸酯	0.01	10.50	98.2	3.5
醋酸倍他米松	0.01	9.47	86.1	10.9
氟轻松醋酸酯	0.01	10.20	96.9	10.9
替诺昔康	0.01	6.51	114.0	6.1
茚酮苯丙酸	0.01	8.29	98.5	4.2
双水杨酸酯	0.01	8.75	86.9	8.9
酮基布洛芬	0.01	9.04	91.9	4.6
美洛昔康	0.01	9.45	116.3	3.5
氟尼辛	0.01	9.33	98.5	4.9
双氯芬酸	0.01	10.43	116.2	13.3
吡罗昔康	0.01	8.21	94.4	7.0
舒林酸	0.01	8.37	97.6	0.8
托麦汀	0.01	8.73	95.7	6.6
吲哚美辛	0.01	10.40	118.8	19.0
磺胺嘧啶	0.02	4.54	82.7	15.6
磺胺噻唑	0.02	4.79	84.7	4.2
磺胺吡啶	0.02	4.78	86.1	6.6
磺胺甲基嘧啶	0.02	5.04	92.9	10.5
磺胺二甲嘧啶	0.02	5.42	76.4	3.6
磺胺间甲氧嘧啶	0.02	5.65	75.3	5.4
磺胺甲噻二唑	0.02	5.62	79.4	1.0
磺胺对甲氧嘧啶	0.02	5.66	82.1	3.4
磺胺氯哒嗪	0.02	6.36	72.5	1.8
磺胺甲氧哒嗪	0.02	5.66	81.3	0.7
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.02	7.43	75.0	1.8
磺胺间二甲氧嘧啶	0.02	7.43	74.7	1.4



磺胺甲基异噁唑	0.02	6.69	77.4	1.0
磺胺二甲异噁唑	0.02	6.93	74.7	2.3
苯甲酰磺胺	0.02	7.33	71.1	1.7
磺胺噻恶琳	0.02	7.42	70.4	6.7
磺胺醋纤	0.02	4.23	84.5	9.0
磺胺苯吡唑	0.02	7.56	68.1	5.0
羟基甲硝唑	0.01	2.80	98.5	11.6
甲硝唑	0.01	3.70	100.4	6.6
二甲硝咪唑	0.01	3.94	90.7	7.2
罗硝唑	0.01	4.22	103.5	9.2
氯甲硝咪唑	0.01	4.95	94.6	12.4
苯硝咪唑	0.01	4.70	96.0	8.2
异丙硝唑	0.01	6.52	82.9	2.7
阿苯哒唑亚砷	0.01	5.11	101.5	5.7
氟苯咪唑	0.01	7.65	98.2	6.0
奥芬达唑	0.01	6.11	101.5	7.3
甲苯咪唑	0.01	7.29	102.7	6.1
噻苯哒唑	0.01	4.23	98.5	6.6
替硝唑	0.01	5.10	101.4	7.2
奥硝唑	0.01	5.60	102.7	7.1
恩诺沙星	0.02	4.64	74.7	6.0
诺氟沙星	0.02	4.44	65.7	6.2
培氟沙星	0.02	4.44	98.1	5.5
环丙沙星	0.02	4.49	78.4	15.2
氧氟沙星	0.02	4.44	87.3	10.3
沙拉沙星	0.02	4.92	60.5	7.3
洛美沙星	0.02	4.54	75.1	17.5



萘啶酸	0.02	8.09	63.2	2.2
恶喹酸	0.02	8.37	60.9	2.6
氟甲喹	0.02	8.33	61.9	1.0
双氟沙星	0.02	4.94	69.2	2.1
司帕沙星	0.02	4.94	73.1	8.0
氟罗沙星	0.02	4.40	72.1	3.0
红霉素	0.02	6.08	72.1	5.3
克林霉素	0.02	5.27	71.1	4.6
罗红霉素	0.02	6.81	66.3	3.1
替米考星	0.02	5.35	102.6	13.2
头孢噻吩	0.02	6.68	71.1	2.2
四环素	0.01	4.64	85.8	8.9
盐酸土霉素	0.01	4.47	65.8	18.9
金霉素	0.01	4.47	92.7	3.6
多西环素	0.01	4.92	96.1	11.2
氯羟吡啶	0.01	4.42	74.7	19.5
金刚烷胺	0.01	4.38	78.0	12.3
氯霉素	0.01	6.69	100.2	13.3
甲砒霉素	0.01	5.11	116.1	13.9
氟苯尼考	0.01	6.49	95.3	14.5



实验谱图

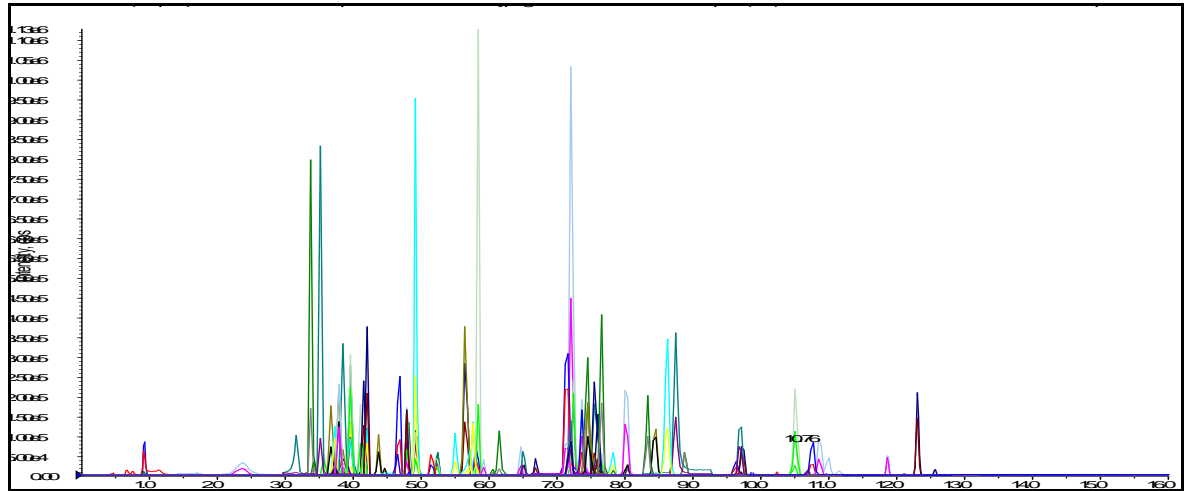


图 1.正离子模式鸡肉基质混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

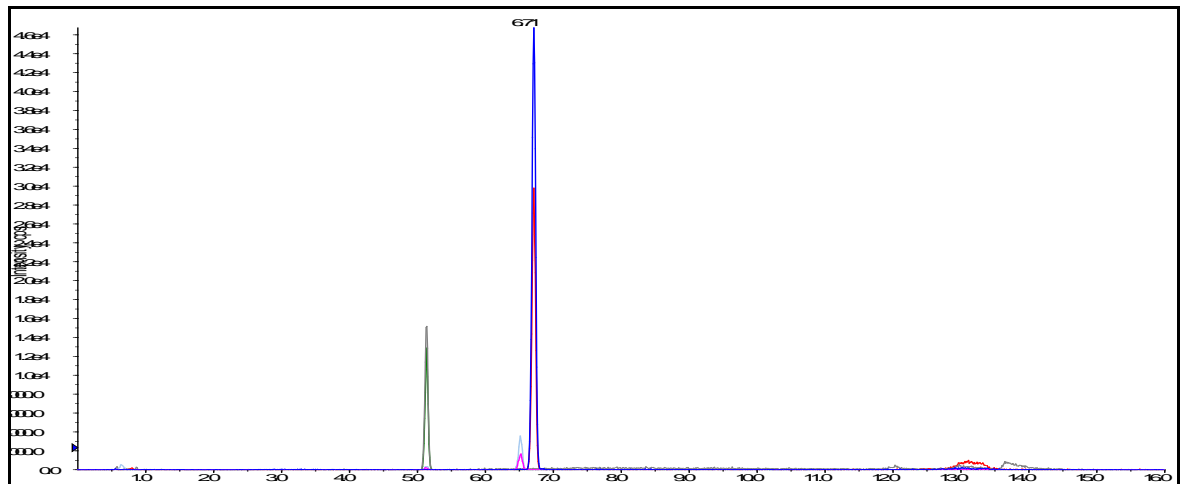


图 2.负离子模式鸡肉基质混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

结论

本实验建立了鸡肉中 106 种兽残的前处理方法，并结合 LC-MS/MS 对样品进行了检测。结果表明，对于加标量为 0.01 mg/kg 和 0.02 mg/kg 的鸡肉样品，加标回收率在 60% ~ 120%之间，满足检测要求。说明该方法适用于鸡肉中 106 种兽残的同时检测。



附：相关产品

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
QuEChERS 净化管	15 mL	50 支/包	MS-LN0415
Venusil MP C18	3 μm , 100 \AA , 3.0 \times 50 mm	1 支	VA930503-0
1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk	1109-0519
1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色 橡胶/米色 PTFE 隔垫 45° Shore A; 1.0 mm	100/pk	0915-1819
15 位氮吹仪	15 位	1 台	NV15-G
一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包	LZSQ-2ML
聚醚砜针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μm	200 个/包	AS051320

