

同位素稀释-固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱技术 同时测定畜禽肉中四类兽药残留

曹 慧^{1,2}, 陈小珍¹, 朱 岩², 李祖光³, 汪丽娜³, 张晓波³

(1. 浙江省质量检测科学研究院, 浙江 杭州 310013;

2. 浙江大学化学系, 浙江 杭州 310028; 3. 浙江工业大学化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310014)

摘要:建立了畜禽肉中喹诺酮类、磺胺类、硝基咪唑类和青霉素类兽药的同位素稀释-固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱分析方法。样品经 $V(\text{Na}_2\text{EDTA-Mcllvaine}) : V(\text{乙腈}) = 7 : 3$ 的混合溶液提取, 氮吹后经 MCX 小柱净化, Waters C18 色谱柱分离, 以乙腈和 0.1% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾-正离子多反应监测模式, 内标法定量。在 5~200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 质量浓度范围内, 4 类药物的相关系数均大于 0.99, 该方法的检出限在 0.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 定量限在 2.0~6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。添加 10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个浓度水平, 4 类药物的平均回收率在 70.0%~130.9% 之间, 日内和日间相对标准偏差在 1.03%~9.86% 之间。将该技术应用于实际样品的测试, 并采用液相色谱-离子阱-飞行时间质谱对阳性样品进行确证分析, 通过多级质谱的精确质量数测定实现目标化合物的准确定性分析。该方法简单、快速、准确, 适用于畜禽肉中多类兽药残留的快速检测和确证。

关键词:同位素稀释; 固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS); 兽药; 残留

中图分类号:O 657.63 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-2997(2013)04-0202-13

doi:10.7538/zpzb.2013.34.04.0202

Determination of Four Species of Drugs in Meat by Solid Phase Extraction and UPLC-MS/MS with Isotopes Dilution

CAO Hui^{1,2}, CHEN Xiao-zhen¹, ZHU Yan², LI Zu-guang³, WANG Li-na³, ZHANG Xiao-bo³

(1. Zhejiang Test Academy of Quality and Technical Supervision, Hangzhou 310013, China;

2. Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China;

3. College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: The four species of drugs residues in meat were determined by solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) with isotopes dilution. This method enabled the comprehensive screening for more than 50 drugs including quinolones, sulfonamides, nitroimidazoles and penicillin. The sam-

收稿日期: 2012-12-28; 修回日期: 2013-03-21

基金项目: 浙江省科技厅分析测试科技计划项目(2011C37072); 浙江省质量技术监督系统科研计划项目(20110203)资助

作者简介: 曹 慧(1980~), 女(汉族), 浙江湖州人, 高级工程师, 从事色谱和质谱检测与科研工作。E-mail: ch_zj_cn@163.com

通信作者: 陈小珍(1960~), 女(汉族), 浙江杭州人, 教授级高级工程师, 从事食品检测与研究工作。E-mail: cxz730@163.com

ples were extracted with the mixed solution of Na_2EDTA - McIlvaine and acetonitrile, which volume ratio was 7 : 3, a step for clean-up and preconcentration of the analytes by MCX solid phase extraction cartridge. The target analytes were separated by Waters C18 column with gradient elution using acetonitrile and 0.1% formate in water as mobile phases. The analytes were detected by positive electrospray ionization with multiple reaction monitoring (MRM). Internal standard method was used to determine the results. In the linear range of 5—200 $\mu\text{g}/\text{L}$ for each drugs, the correlation coefficient is greater than 0.99 for each antibiotics. The limit of detection (LOD) is 0.5—2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limit of quantitation (LOQ) is 2.0—6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The mean recoveries at the three spiked levels of 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ are 70.0%—130.9%. The relative standard deviation (RSD) of intra-day and inter-day are 1.03%—9.86%. The proposed method was successfully applied to the analysis of real samples and trace of sulfamethazine and sulfadimoxine were detected in three samples. Identification of the positive samples is based on accurate mass measurement by liquid chromatography-ion trap-time of flight tandem mass spectrometry. The method simplify, sensitivity and good precision, wich can be suitable for determination and confirmation of drugs residues in meat.

Key words: isotopes dilution; solid phase extraction; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-MS/MS); drugs; residues

兽药在防治细菌等微生物感染性疾病方面起着不可替代的重要作用,主要应用于畜牧业生产、禽类饲养以及渔业养殖。磺胺类、喹诺酮类、硝基咪唑类和青霉素类兽药是常用的抗病菌、抗原虫和抗寄生虫药物,在畜禽养殖业上发挥着重要作用^[1]。但不合理使用和滥用兽药以及不遵守休药期等原因致使动物源性食品中兽药残留日趋严重,其产生的危害不容忽视。

目前,关于兽药残留的检测方法主要有微生物法、免疫法^[2]、液相色谱法^[3-5]、液相色谱-串联质谱法^[6-9]和飞行时间质谱法^[10-11],且集中于单一类型兽药的分析^[12],多组分兽药残留的报道很少。由于动物疾病多是混合感染,在临床治疗时往往采用两种或多种不同种类的药物进行联合用药,因此,兽药多残留同时检测是近年研究的新方法^[13-16],也是未来的发展趋势。

微生物法和免疫法具有操作简单、快速的优点,但容易产生假阳性。液相色谱法具有分离速度快、分析效率高等优点,由于基质干扰的存在难于准确定性和定量分析。超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)是将液相色谱的高分离效能与质谱的高选择性、高灵敏度及丰富的结构信息相结合的分析方法,以其操作简便、准确度高、灵敏度高、选择性强等特点成为兽药残留检测的筛查方法^[17-22]。目前,由于兽药在多组分

化合物残留和复杂基质条件下进行检测,超高效液相色谱-串联质谱技术的多反应监测模式仍受分辨率和测量精度所限,不可避免产生“假阳性”现象。飞行时间质谱凭借其质量测量精度高的优点,已成为阳性定性确证的有效手段。

本试验采用同位素稀释-固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱技术同时测定畜禽肉中磺胺类、喹诺酮类、硝基咪唑类和青霉素类4类兽药残留,并对实际样品进行检测,对筛查出的阳性样品采用液相色谱-离子阱-飞行时间质谱做进一步的确证,避免“假阳性”的发生,以期定性和定量数据更加准确可靠。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

Acquity™超高效液相色谱仪和 Xevo™ TQ-MS质谱仪:美国 Waters 公司产品,配有电喷雾电离接口(ESI)及 Masslynx 数据处理系统;液相色谱-离子阱-飞行时间串联质谱:日本 Shimadzu 公司产品;Milli-Q 超纯水器:美国 Millipore 公司产品;高速离心机:美国 Thermo 公司产品;氮气吹干仪:天津市恒奥科技有限公司产品;涡旋混合器:太仓市华利达实验设备有限公司产品;固相萃取装置:美国 Waters 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

甲醇、乙腈(色谱纯):德国 Merck 公司产品;甲酸(色谱纯):美国 Tedia 公司产品;乙二胺四乙酸二钠盐、磷酸氢二钠、柠檬酸(分析纯):国药集团化学试剂有限公司产品;水为 Milli-Q 系统纯化水。

磺胺二甲异噁啉钠(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺醋酐(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺嘧啶(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺噻唑(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺吡啶(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺甲基噁啉(纯度 $\geq 99.2\%$),甲氧苄胺噁啉(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺恶唑(纯度 $\geq 98.5\%$),磺胺二甲噁啉(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺甲噻二唑(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺对甲氧噁啉(纯度 $\geq 98.0\%$),磺胺甲氧哒嗪(纯度 $\geq 99.2\%$),磺胺-6-甲氧噁啉钠(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺氯哒嗪(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺邻二甲氧噁啉(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺甲基异恶唑(纯度 $\geq 99.0\%$),磺胺二甲异恶唑(纯度 $\geq 98.0\%$),苯甲酰磺胺(纯度 $\geq 98.8\%$),磺胺间二甲氧噁啉(纯度 $\geq 99.5\%$),磺胺喹恶啉(纯度 $\geq 98.0\%$),磺胺苯吡唑(纯度 $\geq 99.0\%$),恩诺沙星(纯度 $\geq 98.5\%$),环丙沙星盐酸盐(纯度 $\geq 95.0\%$),诺氟沙星(纯度 $\geq 99.0\%$),氧氟沙星(纯度 $\geq 99.3\%$),氟甲喹(纯度 $\geq 99.4\%$),恶喹酸(纯度 $\geq 98.0\%$),双氟沙星盐酸盐(纯度 $\geq 99.0\%$),沙拉沙星盐酸盐(纯度 $\geq 95.5\%$),司帕沙星(纯度 $\geq 99.9\%$),氟罗沙星(纯度 $\geq 99.0\%$),马波沙星(纯度 $\geq 99.8\%$),伊诺沙星(纯度 $\geq 99.0\%$),奥比沙星(纯度 $\geq 99.7\%$),吡哌酸(纯度 $\geq 99.0\%$),培氟沙星二水甲磺酸盐(纯度 $\geq 99.0\%$),洛美沙星盐酸盐(纯度 $\geq 98.0\%$),萘啶酸(纯度 $\geq 99.5\%$),甲硝唑(纯度 $\geq 99.5\%$),二甲硝基咪唑(纯度 $\geq 99.0\%$),羟基二甲硝基咪唑(纯度 $\geq 99.0\%$),洛硝哒唑(纯度 $\geq 99.0\%$),异丙硝唑(纯度 $\geq 99.0\%$),羟基异丙硝唑(纯度 $\geq 99.0\%$),羟基甲硝唑(纯度 $\geq 99.5\%$),青霉素 G 钠盐(纯度 $\geq 99.7\%$),青霉素 V 钾盐(纯度 $\geq 99.0\%$),氨苄西林(纯度 $\geq 99.5\%$),哌拉西林钠盐(纯度 $\geq 95.0\%$),苯唑西林(纯度 $\geq 99.8\%$),萘夫西林钠(纯度 $\geq 86.0\%$),氯唑西林钠水合物(纯度 $\geq 99.0\%$),双氯西林(纯度 $\geq 97.0\%$),恩诺沙星-D₅ 盐酸盐(纯度 $\geq 97.0\%$),磺胺间二甲氧噁啉-D₆(纯度 $\geq 99.5\%$),青霉素 G-D₇ 钠盐(纯度 $\geq 99.7\%$),羟基二甲硝基咪唑-D₃(纯度 \geq

99.0%),二甲硝基咪唑-D₃(纯度 $\geq 99.0\%$),羟基异丙硝唑-D₃(纯度 $\geq 99.5\%$):以上各标准品购于德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司。

标准溶液的配制:分别准确称取 10 mg 上述标准品(需折算标准品纯度)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容,配制成 1 g/L 储备液,密封储存于 -18 °C 冰箱中。分别吸取 50 μ L 配制好的标准溶液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容,配制成 5 mg/L 混合标准溶液,用时稀释成一系列浓度的标准溶液,待测。

内标溶液的配制:方法同标准溶液的配制。其中磺胺类药物、喹诺酮类药物、青霉素类药物、甲硝唑羟基甲硝唑和二甲硝基咪唑、羟基二甲硝基咪唑和洛硝哒唑、异丙硝唑和羟基异丙硝唑分别以磺胺间二甲氧噁啉-D₆、恩诺沙星-D₅、青霉素 G-D₇、二甲硝基咪唑-D₃、羟基二甲硝基咪唑-D₃、羟基异丙硝唑-D₃ 为内标化合物。

Na₂EDTA-McIlvaine 溶液的配制:将 1 000 mL 0.1 mol/L 柠檬酸溶液和 625 mL 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液混合,调节 pH 至 4.0,配制成 McIlvaine 溶液;称取 60.5 g Na₂EDTA 于 1 625 mL McIlvaine 溶液中,混合均匀。

1.3 试验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 柱(2.1 mm \times 100 mm \times 1.7 μ m);柱温:35 °C;样品温度:25 °C;进样体积:5 μ L;流速:0.2 mL/min;流动相:乙腈(A),0.1%甲酸水溶液(B);梯度洗脱程序:0~5 min、90%B,5~9 min、90%~60%B,9~13 min、60%B,13~15 min、60%~10%B,15~16 min、10%B,16~17 min、10%~90%B,17~20 min、90%B。

1.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正离子模式扫描,多反应监测(MRM),毛细管电压 2.80 kV,离子源温度 150 °C,脱溶剂气温度 500 °C,脱溶剂气流量 1 000 L/h。

1.4 前处理方法

1.4.1 提取 称取(2 \pm 0.02) g 匀浆试样于 50 mL 离心管中,准确加入 10 μ L 内标混合溶液,避光放置 2 min,加入 10 mL V(Na₂EDTA-McIlvaine):V(乙腈)=7:3 的混合提取液,涡旋 1 min,超声提取 10 min,以 12 000 r/min 离心 10 min 后,取出上清液;再加入 10 mL V(Na₂EDTA-McIlvaine):V(乙腈)=7:3 的

混合提取液,重复上述操作,合并提取液,在40℃下氮吹减少6 mL左右,待净化。

1.4.2 净化 分别用3 mL甲醇、水和Na₂EDTA-McIlvaine缓冲液活化MCX(60 mg/3 mL)柱,将上述提取液上样,用3 mL水淋洗,抽至近干后,分别用3.0 mL甲醇和5%氨水甲醇溶液洗脱,于45℃下氮吹至干,再加入1 mL V(乙腈):V(水)=1:9的溶液溶解,涡旋混合1 min,过0.22 μm微孔滤膜后,UPLC-MS/MS分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

本试验选用Waters Acquity UPLC BEH C18(2.1 mm×100 mm×1.7 μm)色谱柱分离4类兽药,此色谱柱对各化合物具有较强的保留,各色谱峰峰形较好,并可以得到有效的分离,减少了杂质的干扰。

分别选择甲醇和乙腈作为强洗脱流动相。试验证明:当甲醇作为流动相时,离子化受到不同程度的抑制,峰形变宽,丰度明显降低,灵敏度下降,而乙腈的离子化效率明显优于甲醇,故采用乙腈作为强洗脱流动相。在流动相中加入甲酸能增加各种化合物在ESI+模式下的离子化效率,改善各化合物的峰形。本试验分别配制0.05%、0.1%和0.2%甲酸水溶液作为流动相,结果表明,0.1%甲酸水溶液体系能提供最佳的离子化条件,峰面积信号最强,灵敏度最高。

2.2 质谱条件的优化

在电喷雾质谱、正离子监测模式下,分别对毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量和选择离子等进行了充分的优化,选取经碰撞后所得丰度较高的2个子离子作为定量和定性离子,并确定其最佳碰撞能量的电压值。所选择的母离子、子离子和碰撞能量等参数列于表1。

表1 四类兽药的质谱分析条件

Table 1 The conditions of ESI-MS/MS analysis four species of drugs

化合物	保留时间/min	监测离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
磺胺二甲异噁啉	2.90	279.10/186.00*, 279.10/156.00	28	17, 20
磺胺醋酰	3.06	215.00/155.95*, 215.00/107.90	20	10, 20
磺胺嘧啶	3.44	251.10/156.00*, 251.10/107.90	20	16, 22
磺胺噻唑	4.23	256.10/156.00*, 256.10/107.90	26	15, 24
磺胺吡啶	4.38	250.10/156.00*, 250.10/184.10	25	16, 18
磺胺甲基噁啉	4.89	265.10/156.00*, 265.10/172.00	25	20, 16
甲氧苄胺嘧啶	6.50	291.14/229.94*, 291.14/260.90	26	22, 26
磺胺恶唑	6.81	268.00/155.80*, 268.00/112.80	23	14, 18
磺胺二甲噁啉	6.84	279.10/186.00*, 279.10/156.00	28	17, 20
磺胺对甲氧噁啉	7.57	281.10/156.00*, 281.10/215.15	28	18, 22
磺胺甲噻二唑	7.69	271.00/156.00*, 271.00/107.90	22	14, 24
磺胺甲氧哒嗪	7.73	281.10/156.00*, 281.10/215.15	28	18, 22
磺胺-6-甲氧噁啉	8.51	281.10/156.00*, 281.10/215.15	28	18, 22
磺胺氯哒嗪	8.70	285.00/156.00*, 285.00/107.95	22	15, 24
磺胺邻二甲氧噁啉	9.05	311.10/156.00*, 311.10/107.90	30	20, 28
磺胺甲基异恶唑	9.18	254.10/156.00*, 254.10/107.90	25	16, 24
磺胺二甲异恶唑	9.52	268.00/155.80*, 268.00/112.80	23	14, 18
苯甲酰磺胺	9.90	277.30/156.00*, 277.30/107.70	30	12, 20
磺胺间二甲氧噁啉	10.06	311.10/156.00*, 311.10/107.90	30	20, 28
磺胺噻恶啉	10.12	301.10/155.80*, 301.10/91.80	25	18, 28
磺胺苯吡唑	10.22	315.10/156.00*, 315.10/160.10	34	20, 24

续表

化合物	保留时间/min	监测离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
吡哌酸	4.07	304.00/217.00*, 304.00/189.00	30	22, 32
马波沙星	6.77	363.00/72.00*, 363.00/345.00	28	22, 20
伊诺沙星	7.11	321.00/303.00*, 321.00/234.00	30	20, 22
氟罗沙星	7.46	370.00/326.00*, 370.00/269.00	33	20, 28
诺氟沙星	7.53	320.00/302.00*, 320.00/276.00	30	20, 17
氧氟沙星	7.55	362.00/261.00*, 362.00/318.00	30	26, 20
培氟沙星	7.67	334.00/290.00*, 334.00/233.00	32	18, 25
环丙沙星	7.73	332.00/288.00*, 332.00/231.00	32	18, 30
洛美沙星	7.98	352.00/308.00*, 352.00/334.00	30	18, 18
恩诺沙星	8.12	360.00/316.00*, 360.00/245.00	30	20, 27
奥比沙星	8.29	396.00/295.00*, 396.00/352.00	32	25, 18
沙拉沙星	8.62	386.00/299.00*, 386.00/368.00	32	28, 22
双氟沙星	8.70	400.00/299.00*, 400.00/382.00	33	28, 23
司帕沙星	8.72	393.00/292.00*, 393.00/375.00	35	25, 20
恶唑酸	9.65	262.00/244.00*, 262.00/216.00	25	20, 30
萘啶酸	10.82	233.00/215.00*, 233.00/187.00	22	15, 25
氟甲唑	11.11	262.00/202.00*, 262.00/244.00	25	32, 18
羟基甲硝唑	2.11	188.00/122.80*, 188.00/125.70	22	12, 18
甲硝唑	2.56	172.00/127.80*, 172.00/81.90	22	15, 28
羟基二甲硝基咪唑	2.69	158.00/139.80*, 158.00/55.00	18	12, 18
二甲硝基咪唑	3.26	142.00/95.80*, 142.00/80.80	25	15, 21
洛硝哒唑	3.36	201.00/139.70*, 201.00/54.90	15	11, 20
羟基异丙硝唑	8.97	173.00/126.80*, 173.00/111.90	30	18, 25
异丙硝唑	9.04	170.00/123.80*, 170.00/108.70	28	18, 25
氨苄西林	6.43	350.08/105.94*, 350.08/159.94	20	15, 15
青霉素 V	8.69	351.07/113.81*, 351.07/159.92	20	20, 8
青霉素 G	10.62	335.08/159.86*, 335.08/175.91	20	10, 10
哌拉西林	10.70	518.07/142.92*, 518.07/159.94	20	12, 15
苯唑西林	11.79	402.08/159.85*, 402.08/242.81	20	12, 12
氯唑西林	12.76	436.04/276.85*, 436.04/160.01	20	15, 15
双氯西林	12.86	470.00/159.98*, 470.00/310.78	20	15, 15
萘夫西林	13.44	415.10/198.96*, 415.10/170.90	20	15, 15
恩诺沙星-D ₅	8.33	365.20/321.00	28	20
磺胺间二甲氧嘧啶-D ₆	10.37	317.10/162.12	25	20
青霉素 G-D ₇	10.75	342.20/160.00	20	14
羟基二甲硝基咪唑-D ₃	2.64	161.00/143.00	22	12
二甲硝基咪唑-D ₃	3.18	145.00/99.00	22	15
羟基异丙硝唑-D ₃	7.66	189.00/171.00	20	13

注: * 为定量离子对

2.3 萃取溶剂的选择

由于4类药物的酸碱性各异, pKa值范围较宽, 多易溶于乙腈、甲醇等极性溶剂, 试验分别比较了甲醇、乙腈、Na₂EDTA-McIlvaine-乙腈和Na₂EDTA-McIlvaine-甲醇复合提取液的提取效果。由于乙腈具有较强的去除蛋白质的能力, 且对于多数药物具有较好的提取效率, 因此, 乙腈的萃取效果优于甲醇。在乙腈中加入Na₂EDTA-McIlvaine溶液, 可以提高部分偏酸性化合物和水溶性化合物的提取效率, 当V(Na₂EDTA-McIlvaine):V(乙腈)=7:3时, 各类药物具有较好的提取效率, 因此, 采用V(Na₂EDTA-McIlvaine):V(乙腈)=7:3混合提取液作为本试验的提取溶剂。

2.4 净化条件的选择

净化效果对基质效应具有较大的影响, 为了获得较好的净化效果, 本试验选用Waters公司的MAX、MCX、WAX、WCX和HLB5种类型固相萃取小柱分别考察净化效果和保留行为, 由于MCX固相萃取柱的pKa适用范围为2~10, 药物的pKa值范围较宽, 本试验采用酸性提取液萃取, 促使药物电离, 使其吸附到固相萃取柱上, 加大化合物的保留, 因此, MCX固相萃取小柱对各种药物具有较好的吸附作用, 净化效果较

好。本试验比较了1%、3%和5%不同浓度氨水-甲醇溶液的洗脱效果, 结果发现, 采用甲醇和5%氨水-甲醇依次洗脱方式可将固相萃取柱上的药物全部洗脱。

2.5 方法学验证

2.5.1 线性范围、检出限和定量限 配制浓度分别为5、10、50、100、200 μg/L的系列标准溶液, 以各分析物的峰面积(y)为纵坐标, 质量浓度(x)为横坐标绘制标准曲线, 线性回归方程及相关系数列于表2。结果表明: 各种药物在浓度为5~200 μg/L范围内有良好的线性关系, 相关系数r均在0.99以上。以3倍信噪比(S/N=3)计算方法的最低检出限, 以10倍信噪比(S/N=10)计算方法的最低定量限, 其结果列于表2。

2.5.2 精密度 在阴性猪肉样品中添加10、50、100 μg/kg 3种不同浓度水平的兽药混合标准溶液, 按1.4方法进行预处理, 平行操作3次, 结果列于表2。各种药物在3种不同浓度下的精密度(RSD)分别为1.03%~8.04%、2.56%~9.94%、1.66%~10.94%。按日内精密度的预处理方法, 每天取样1份, 连续5天, 各种药物的RSD分别为1.08%~9.86%、2.86%~10.04%、2.96%~11.04%, 重现性较好。

表2 四类兽药的线性方程、相关系数、检出限、定量限和精密度

Table 2 Linear equations, correlation coefficients, LOD, LOQ and RSD of four species of drugs

化合物	线性方程	相关系数	检出限/ (μg/kg)	定量限/ (μg/kg)	日内 精密度/%	日间 精密度/%
磺胺二甲异噻唑	$y=1\ 517.93x+27.280\ 5$	0.997 3	1.0	3.5	3.12	5.98
磺胺醋酰	$y=1\ 488.45x+366.265$	0.999 7	1.0	3.5	3.05	9.09
磺胺嘧啶	$y=1\ 061.85x+53.859\ 0$	0.998 4	1.0	3.5	3.04	5.19
磺胺噻唑	$y=1\ 891.58x-331.982$	0.999 9	1.0	3.5	2.12	3.30
磺胺吡啶	$y=2\ 891.52x+173.261$	0.999 9	0.5	2.0	2.90	4.89
磺胺甲基噻唑	$y=3\ 133.10x-180.324$	0.999 9	0.5	2.0	1.09	2.14
甲氧苄胺嘧啶	$y=2\ 701.20x+653.047$	0.999 4	0.5	2.0	3.02	8.70
磺胺恶唑	$y=1\ 571.17x-375.460$	0.999 9	1.0	3.5	5.24	8.15
磺胺二甲噻唑	$y=2\ 026.82x+299.657$	0.999 9	0.5	2.0	4.08	6.07
磺胺对甲氧嘧啶	$y=1\ 148.14x-131.118$	0.999 2	1.0	3.5	2.04	8.14
磺胺甲噻二唑	$y=2\ 856.86x-816.819$	0.999 9	0.5	2.0	3.04	7.09
磺胺甲氧哒嗪	$y=3\ 292.1x-1\ 214.45$	0.999 5	0.5	2.0	3.05	7.19
磺胺-6-甲氧嘧啶	$y=1\ 435.32x+338.570$	0.999 8	1.0	3.5	2.04	8.14
磺胺氯哒嗪	$y=2\ 028.89x+996.441$	0.998 6	0.5	2.0	1.09	5.43

续表

化合物	线性方程	相关系数	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	日内 精密度/%	日间 精密度/%
磺胺邻二甲氧嘧啶	$y=2\ 556.64x+430.364$	0.999 9	0.5	2.0	1.03	7.14
磺胺甲基异恶唑	$y=2\ 231.71x-811.987$	0.999 1	0.5	2.0	2.54	4.54
磺胺二甲异恶唑	$y=2\ 008.28x+560.121$	0.998 1	0.5	2.0	3.05	9.17
苯甲酰磺胺	$y=2\ 212.42x-458.557$	0.996 8	0.5	2.0	4.19	6.92
磺胺间二甲氧嘧啶	$y=4\ 471.44x-1\ 078.60$	0.997 3	0.5	2.0	2.07	6.14
磺胺噻恶唑	$y=1\ 077.73x-298.077$	0.999 9	1.0	3.5	4.28	5.92
磺胺苯吡唑	$y=1\ 321.55x-375.275$	0.999 8	1.0	3.5	2.09	8.32
吡哌酸	$y=1\ 660.05x-589.505$	0.999 9	1.0	3.5	1.03	7.00
马波沙星	$y=2\ 323.8x-635.205$	0.999 7	1.0	3.5	2.09	8.23
伊诺沙星	$y=1\ 612.095x-429.989$	0.999 3	1.0	3.5	3.04	9.05
氟罗沙星	$y=3\ 027.26x-967.489$	0.999 8	1.0	3.5	4.05	7.09
诺氟沙星	$y=1\ 327.152x-97.094\ 6$	0.998 6	1.0	3.5	3.52	8.02
氧氟沙星	$y=2\ 200.60x-870.815$	0.997 2	0.5	2.0	4.06	5.47
培氟沙星	$y=1\ 881.524x-212.422$	0.998 8	1.0	3.5	3.72	6.03
环丙沙星	$y=1\ 664.451x-22.715\ 0$	0.995 3	1.0	3.5	2.94	6.53
洛美沙星	$y=804.065x+317.664$	0.999 1	1.0	3.5	4.27	5.72
恩诺沙星	$y=2\ 075.25x-981.772$	0.998 1	0.5	2.0	5.03	5.82
奥比沙星	$y=1\ 304.44x+455.232$	0.999 0	1.0	3.5	4.23	5.94
沙拉沙星	$y=1\ 874.793x-160.627$	0.999 2	1.0	3.5	3.94	6.72
双氟沙星	$y=1\ 212.00x-491.423$	0.999 5	1.0	3.5	5.09	6.09
司帕沙星	$y=1\ 777.37x-68.708$	0.999 9	1.0	3.5	4.17	5.82
恶唑酸	$y=7\ 499.28x-2\ 823.07$	0.999 8	0.5	2.0	5.03	5.47
萘啶酸	$y=11\ 675.2x-47.535\ 8$	0.999 9	0.5	2.0	4.17	6.07
氟甲唑	$y=1\ 732.46x-158.130$	0.998 0	1.0	3.5	4.03	6.29
羟基甲硝唑	$y=1\ 643.54x+192.339$	0.999 6	0.5	2.0	7.09	2.08
甲硝唑	$y=1\ 884.27x-25.943\ 8$	0.999 2	0.5	2.0	8.04	3.05
羟基二甲硝基咪唑	$y=6\ 094.14x+1\ 027.25$	0.999 7	0.5	2.0	2.09	1.08
二甲硝基咪唑	$y=2\ 365.20x+157.553$	0.999 1	0.5	2.0	3.05	3.14
洛硝哒唑	$y=5\ 502.36x-731.793$	0.999 6	0.5	2.0	4.17	3.05
羟基异丙硝唑	$y=1\ 545.94x+22.490\ 6$	0.999 6	0.5	2.0	5.96	2.96
异丙硝唑	$y=2\ 166.11x-279.621$	0.999 9	0.5	2.0	6.14	2.47
氨苄西林	$y=319.314x-11.337\ 6$	0.995 9	2.0	6.5	2.26	9.86
青霉素 V	$y=815.546x-6.063\ 89$	0.998 1	2.0	6.5	1.50	8.74
青霉素 G	$y=399.058x+260.275$	0.995 5	2.0	6.5	3.37	5.90
哌拉西林	$y=423.938x+3.968\ 13$	0.999 0	2.0	6.5	1.33	4.56
苯唑西林	$y=424.512x+128.740$	0.991 1	2.0	6.5	6.30	6.89
氯唑西林	$y=332.319x+54.615\ 9$	0.998 7	2.0	6.5	5.91	9.09
双氯西林	$y=525.288x-142.350$	0.999 4	2.0	6.5	1.25	3.54
萘夫西林	$y=865.32x+276.044$	0.996 1	2.0	6.5	5.71	7.65

2.5.3 回收率 分别在阴性猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉和鸭肉样品中添加 10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 种不同浓度水平的混合标准溶液,每个浓度做 3 个平行,按 1.4 方法进行预处理,回收率列于表 3。结果表明:各种药物的回收率在 70.0% ~ 130.9% 之间,符合兽药多残留分析的要求。

表 3 四类兽药的回收率

Table 3 The recoveries of four species of drugs

化合物	猪肉加标/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$			牛肉加标/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$			羊肉加标/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$			鸡肉加标/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$			鸭肉加标/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$		
	10	50	100	10	50	100	10	50	100	10	50	100	10	50	100
磺胺二甲异噻啉	115.7	125.2	84.8	83.3	85.3	84.0	84.9	83.2	83.5	81.6	85.8	88.6	85.9	87.9	80.2
磺胺噻唑	89.5	113.8	82.4	101.1	100.3	98.2	105.1	96.9	99.6	98.0	104.3	102.9	105.8	101.2	93.9
磺胺嘧啶	114.9	117.0	107.3	89.2	91.1	88.0	94.0	88.2	89.8	86.4	92.4	93.3	92.5	89.4	85.0
磺胺噻唑	100.2	116.9	107.4	90.5	96.3	92.4	100.5	88.8	92.0	87.8	96.4	95.7	100.0	94.6	85.9
磺胺吡啶	99.5	114.3	108.0	97.4	98.0	93.9	100.7	94.8	95.3	91.6	96.9	91.9	97.3	96.0	88.5
磺胺甲基噻啉	100.6	115.2	106.5	118.0	113.0	96.8	117.9	119.4	98.2	116.3	95.6	114.6	94.4	130.6	118.4
甲氧苄胺嘧啶	130.0	125.0	85.8	109.9	104.2	92.5	107.5	103.4	95.4	115.9	99.5	98.6	127.5	96.5	90.0
磺胺恶唑	72.5	80.9	10.2	87.2	86.8	84.9	88.2	81.7	84.3	80.6	86.8	86.7	86.1	82.3	77.4
磺胺二甲噻啉	103.9	118.2	112.3	102.6	102.6	100.3	10.4	97.7	98.8	99.4	102.6	103.5	104.2	101.1	93.1
磺胺对甲氧嘧啶	100.4	130.0	95.5	103.7	103.7	84.3	90.1	100.4	86.3	79.2	83.1	83.6	81.9	81.8	75.9
磺胺甲噻二唑	116.1	126.5	118.6	98.9	100.2	97.2	103.1	94.9	98.2	95.0	99.4	98.8	100.9	97.4	89.6
磺胺甲氧哒嗪	108.9	130.2	90.0	70.3	71.4	77.3	75.8	97.8	82.1	70.0	71.1	70.4	73.1	75.4	71.6
磺胺-6-甲氧嘧啶	94.2	125.1	87.5	127.8	102.5	130.4	106.0	134.5	108.0	130.1	105.1	127.3	102.1	124.5	108.4
磺胺氯哒嗪	90.5	102.9	95.1	123.3	98.9	109.6	112.0	130.6	107.6	105.9	100.2	82.3	87.3	74.1	102.1
磺胺邻二甲氧嘧啶	91.2	121.4	115.5	107.8	111.1	112.0	112.4	110.3	112.9	106.4	112.6	117.9	112.2	110.4	106.0
磺胺甲基恶唑	103.5	125.4	115.4	104.6	107.0	107.0	105.7	103.8	108.8	103.1	110.2	113.0	108.6	108.6	101.4
磺胺二甲异恶唑	126.1	114.4	109.0	105.2	114.7	130.5	117.8	131.3	113.2	129.9	116.1	123.4	130.9	102.1	92.2
苯甲酰磺胺	112.3	125.1	90.9	120.7	124.6	123.3	121.6	119.7	125.3	122.3	124.9	130.1	124.3	123.5	117.9
磺胺间二甲氧嘧啶	93.3	104.8	97.9	109.4	114.1	113.9	115.1	108.2	113.0	106.2	115.6	117.2	113.1	110.5	104.9
磺胺噻恶唑	88.4	12.1	110.5	115.7	118.0	120.6	117.1	113.8	116.9	101.9	117.3	119.5	108.0	112.6	107.5
磺胺苯吡唑	99.9	114.5	101.8	89.2	79.3	113.2	98.3	89.7	103.2	109.3	112.4	100.3	99.7	98.2	89.4
吡嗪酸	129.3	93.7	107.5	76.4	84.2	77.3	79.6	89.8	94.3	84.6	85.9	85.2	101.7	84.1	82.9
马波沙星	129.4	84.1	123.3	73.1	79.4	71.0	73.2	72.1	77.4	72.5	74.1	74.4	78.9	98.2	99.3
伊诺沙星	85.6	86.0	85.0	82.8	89.2	78.8	83.7	77.8	76.7	71.8	72.4	70.3	78.2	90.3	102.3
氟罗沙星	122.1	108.3	97.9	87.8	97.8	87.9	93.8	101.8	95.4	91.8	101.3	95.1	100.9	98.5	95.4
诺氟沙星	101.9	85.2	92.1	77.9	77.2	79.3	82.1	90.2	90.1	87.8	85.9	91.3	102.6	95.6	82.4
氧氟沙星	76.1	70.2	71.8	84.3	98.3	79.4	87.3	89.4	90.3	98.3	102.3	90.3	85.3	103.4	70.4
培氟沙星	130.3	72.4	79.5	97.8	78.6	89.6	98.0	102.8	110.3	97.3	90.3	87.3	99.3	104.2	102.3
环丙沙星	116.0	77.2	102.0	105.4	103.4	103.4	78.4	98.4	89.2	88.3	80.4	129.4	82.3	80.4	79.3
洛美沙星	75.6	112.1	101.1	89.4	109.4	89.4	98.4	89.2	80.4	87.1	102.3	101.2	103.2	101.1	109.2
恩诺沙星	113.5	76.5	76.6	123.3	90.3	91.2	99.2	81.2	80.4	79.3	89.2	99.3	98.1	90.2	89.1
奥比沙星	127.6	71.5	109.5	109.2	98.2	103.2	102.3	118.2	123.4	103.2	90.2	79.1	80.1	80.0	87.2
沙拉沙星	99.4	72.9	100.5	89.3	89.1	102.3	100.2	120.1	109.2	119.3	77.4	75.4	89.2	90.4	94.4
双氟沙星	87.4	75.2	76.5	90.3	87.1	92.1	80.3	84.3	87.4	88.9	90.1	98.4	99.3	102.3	103.4
司帕沙星	70.2	86.8	73.2	75.4	79.3	103.4	105.6	106.4	110.3	90.3	87.4	99.2	90.4	89.3	91.2

续表

化合物	猪肉加标/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			牛肉加标/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			羊肉加标/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			鸡肉加标/($\mu\text{g}/\text{kg}$)			鸭肉加标/($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	10	50	100	10	50	100	10	50	100	10	50	100	10	50	100
恶唑酸	113.2	81.0	93.5	109.3	102.1	90.8	99.7	98.6	79.0	89.6	90.7	99.6	109.6	100.8	106.5
萘啉酸	112.2	98.5	113.4	103.2	101.1	89.7	78.0	109.6	120.3	130.2	99.3	89.2	91.2	95.3	98.0
氟甲唑	117.0	82.6	95.8	118.2	99.2	99.4	79.5	120.3	89.5	90.5	89.3	99.4	98.3	95.3	89.3
羟基甲硝唑	74.9	83.3	74.4	79.5	90.3	89.2	77.4	89.3	90.3	79.4	99.4	80.5	82.5	89.5	90.5
甲硝唑	103.8	110.7	129.7	98.2	94.3	90.4	110.9	101.2	99.2	102.1	98.2	93.0	101.8	103.2	110.1
羟基二甲硝基咪唑	114.8	107.5	102.2	120.3	96.1	98.1	120.9	101.2	89.3	90.3	98.3	89.3	88.3	87.1	90.2
二甲硝基咪唑	130.3	121.2	115.8	129.3	90.5	102.3	103.2	110.2	101.9	91.3	90.1	89.3	87.3	79.3	101.3
洛硝哒唑	74.0	71.3	73.7	84.3	120.3	104.2	89.0	80.7	90.7	86.9	83.0	79.0	78.6	76.4	70.1
羟基异丙硝唑	91.2	92.4	100.5	89.3	109.3	90.5	99.7	98.0	87.9	90.8	99.8	95.0	91.0	90.0	89.2
异丙硝唑	92.1	113.3	104.0	93.2	128.3	90.4	90.6	90.1	98.2	90.3	87.3	79.3	87.3	88.9	90.1
氟苄西林	86.8	128.4	102.2	87.4	90.5	89.3	76.9	101.4	90.4	90.8	90.5	98.5	90.1	104.3	90.6
青霉素 V	109.7	86.2	77.2	98.3	90.4	79.4	79.0	90.9	98.6	88.6	99.5	99.5	84.9	98.4	98.6
青霉素 G	111.6	116.9	125.3	90.4	79.3	73.5	102.3	110.3	123.1	89.4	90.3	98.6	81.5	104.5	89.5
哌拉西林	119.7	123.6	128.9	98.2	105.2	98.1	89.0	102.3	110.9	80.4	90.5	93.4	89.4	105.9	108.3
苯唑西林	123.9	119.0	129.9	97.3	90.4	98.0	104.3	109.3	109.3	90.8	89.6	89.2	99.9	80.5	90.3
氯唑西林	85.7	86.4	98.4	89.1	99.3	99.5	109.4	89.4	89.3	76.5	70.5	81.4	88.8	97.5	99.2
双氯西林	104.1	91.4	86.6	87.4	89.7	91.2	93.2	90.8	90.4	90.4	90.6	83.2	89.3	102.4	89.5
萘夫西林	113.8	102.6	87.5	88.4	90.7	95.6	110.4	109.4	103.5	109.3	89.7	82.5	74.5	90.5	101.3

2.6 实际样品测定与阳性定性确证

在本试验条件下,对日常检测的 30 例畜禽肉进行 4 类兽药筛查,发现 3 例阳性样品,其中 2 例猪肉样品含有磺胺二甲嘧啶,其检测结果分别为 $79.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $250.2 \mu\text{g}/\text{kg}$,1 例猪肉样品含有磺胺邻二甲氧嘧啶,其检测结果为 $97.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。阳性猪肉样品和标准品的多反应监测色谱图示于图 1。阳性样品与标准品的保留时间和相对丰度比相吻合。依据国家标准 GB/T 20759—2006 的前处理方法,对这 3 例阳性猪肉样品进行检测,磺胺二甲嘧啶为 $80.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $250.1 \mu\text{g}/\text{kg}$,磺胺邻二甲氧嘧啶为 $96.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。结果表明:两种方法的检测结果较吻合,说明本方法的前处理技术适用于畜禽肉中 4 类兽药残留的筛选和检测。

由于多反应监测模式存在一定的限制,为了避免三重四极杆质谱假阳性的产生,本试验采用液相色谱-离子阱-飞行时间串联质谱分别对 3 例阳性样品进行多级质谱分析,从而做进一步确证。磺胺二甲嘧啶和磺胺邻二甲氧嘧啶两种化合物在离子阱-飞行时间串联质谱上的质谱碎片与三重四极杆质谱中的母离子和子离子完全吻合,磺胺二甲嘧啶标准品和磺胺邻二甲氧嘧啶标准品的三级质谱图分别与阳性样品的三级质谱图相吻合,质量数偏差在误差范围内,说明三重四极杆质谱在一定程度上消除了基质干扰,其多级质谱图示于图 2。通过离子阱-飞行时间串联质谱的精确质量数定性,对样品做进一步的确证,可以避免假阳性的产生,保证结果的可靠性。

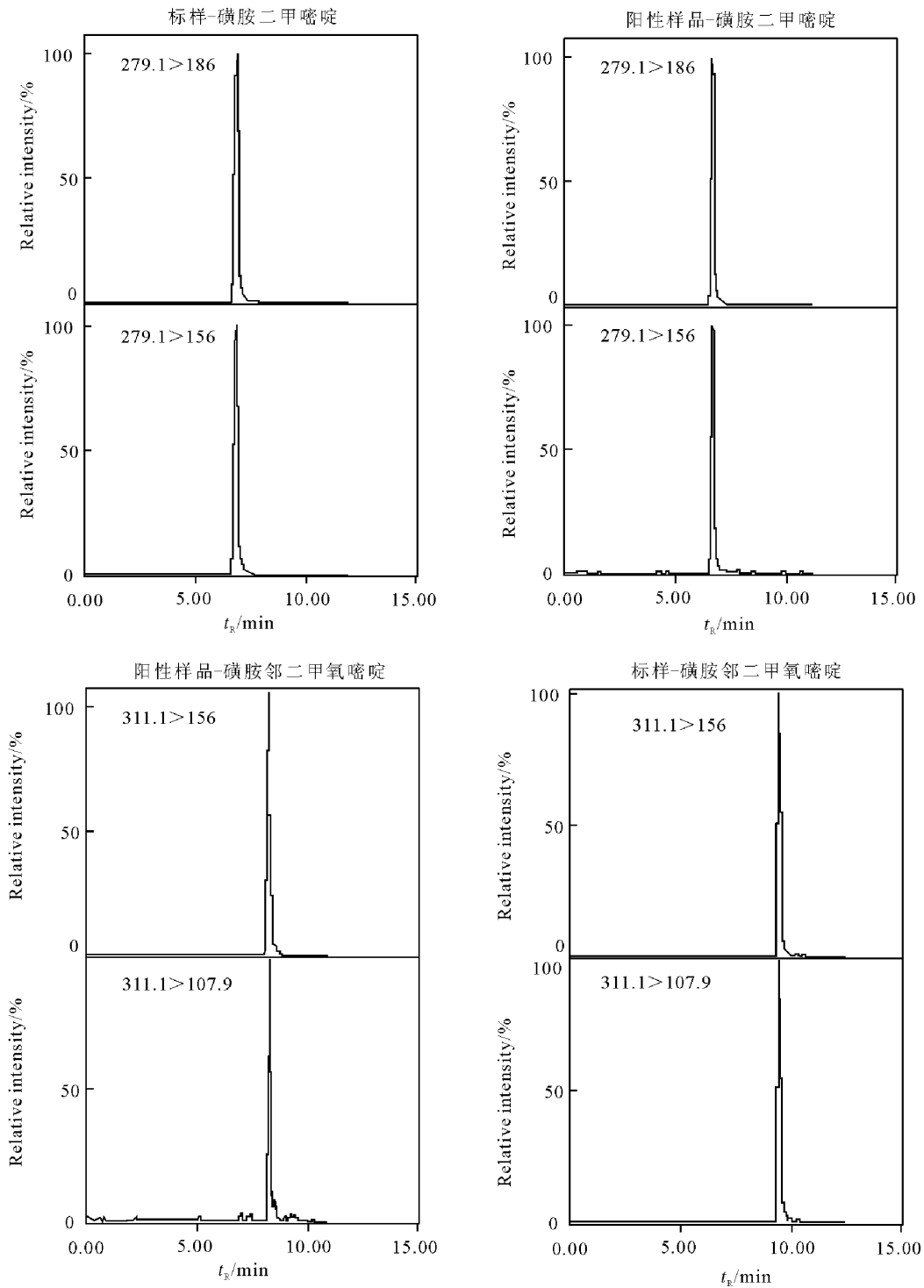


图 1 阳性猪肉样品的多反应监测色谱图

Fig. 1 MRM chromatogram of positive pork sample

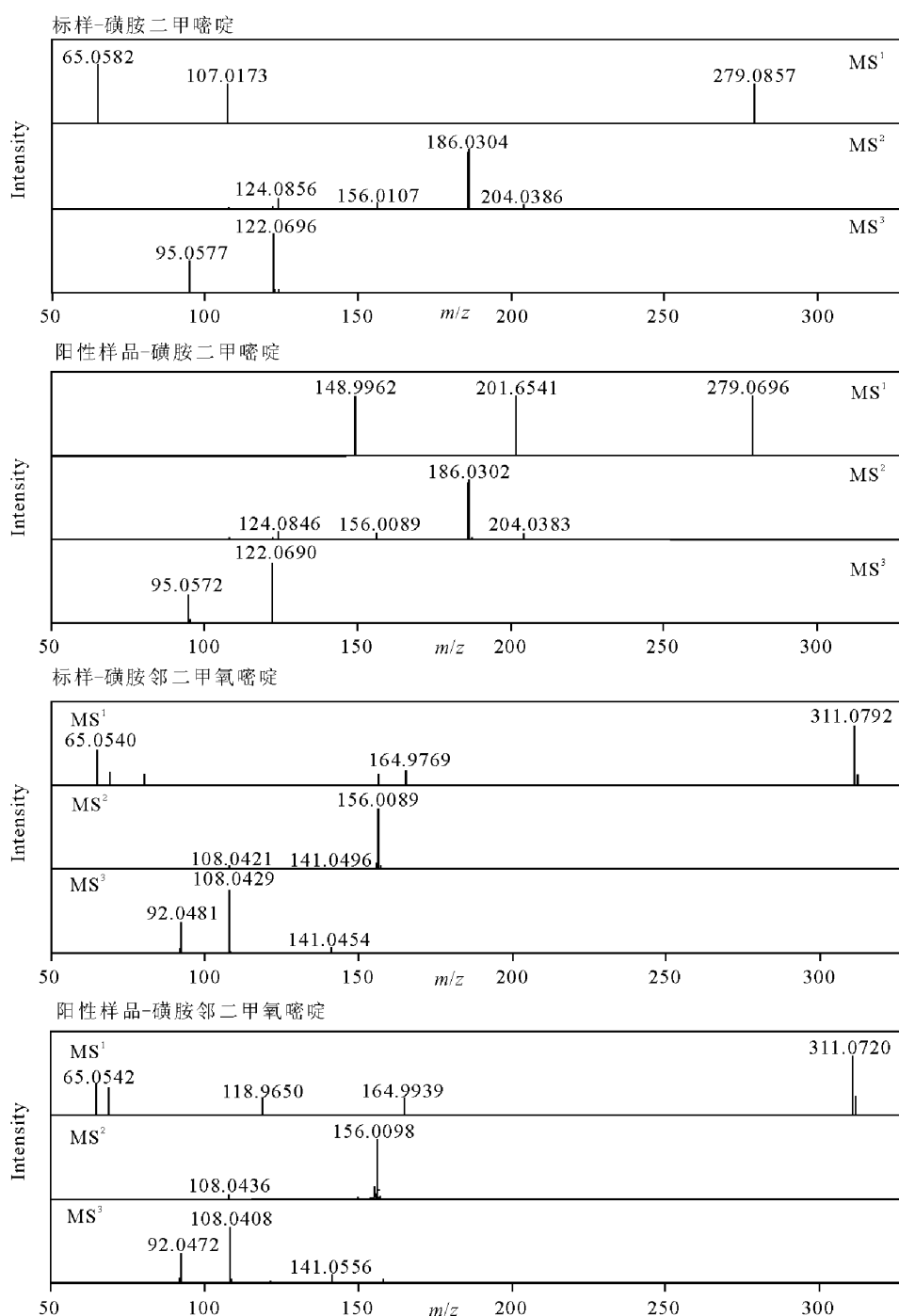


图 2 磺胺标准品和阳性猪肉样品的多级质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of standard and positive sample

3 结论

本工作建立了同位素稀释-固相萃取-串联质谱技术快速检测和确证畜禽肉中 4 类兽药多残留检测的分析方法。该方法具有灵敏度高、前处理方法简单、回收率高且稳定、准确度和精密度高等优点,适用于畜禽肉中多类兽药残留的快速检测和确证。基质效应在兽药残留分析中普

遍存在,由于本试验在前处理方法中加入了同位素内标,能有效地去除基质干扰,与国家标准方法相比,定量结果的准确性更高、分析速度更快。此外,本试验采用三重四极杆串联质谱和离子阱-飞行时间串联质谱相结合的定性分析方法,可以有效地消除由仪器检测所产生假阳性,保证了定性和定量结果的可靠性。该方法适用于畜禽肉中多类兽药残留的快速检测和确证。

参考文献:

- [1] 王 冉, 刘铁铮, 王 恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. 生态学报, 2006, 26(1): 265-270.
WANG Ran, LIU Tiezheng, WANG Tian. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology: A review [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(1): 265-270(in Chinese).
- [2] LEE H J, LEE M H, RYU P D, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for screening the plasma residues of tetracycline antibiotics in pigs[J]. Journal of veterinary medical science, 2001, 63(5): 553-556.
- [3] HERMO M P, BARRON D, BARBOSA J. Development of analytical methods for multiresidue determination of quinolones in pig muscle samples by liquid chromatography with ultraviolet detection, liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of chromatography A, 2006, 1104(1/2): 132-139.
- [4] 胡献刚, 罗 义, 周启星, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定畜牧粪便中 13 种抗生素药物残留[J]. 分析化学, 2008, 36(9): 1162-1166.
HU Xiangang, LUO Yi, ZHOU Qixing, et al. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 36(9): 1162-1166(in Chinese).
- [5] 李艳霞, 李 帷, 张雪莲, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测畜禽粪便中 14 种兽药抗生素[J]. 分析化学, 2012, 40(2): 213-217.
LI Yanxia, LI Wei, ZHANG Xuelian, et al. Simultaneous determination of fourteen veterinary antibiotics in animal manure using solid phase extraction and liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(2): 213-217 (in Chinese).
- [6] AGUILERA-LUIZ M M, MARTINEZ VIDAL J L M, ROMERO-GONZALEZ R, et al. Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of chromatography A, 2008, 1205(1/2): 10-16.
- [7] CHIAOCHAO C, KOESUKWIWAT U, YUDT-HAVORASIT S, et al. Efficient hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the multiclass analysis of veterinary drugs in chicken muscle[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 682(1/2): 117-129.
- [8] 杜振霞, 孙姝琦. 牛肉中三种喹诺酮类兽药残留的 UPLC-MS/MS 分析方法[J]. 质谱学报, 2007, 28(4): 219-223.
DU Zhenxia, SUN Shuqi. Determination of fluoroquinolones veterinary drug residues in bovine muscle by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2007, 28(4): 219-223(in Chinese).
- [9] 殷居易, 谢东华, 陈 杰, 等. SPE 净化 HPLC-APCI(+)-MS/MS 分析肉类食品中硝基咪唑类药物原药及代谢物残留量[J]. 质谱学报, 2009, 30(4): 193-200.
YIN Juyi, XIE Donghua, CHEN Jie, et al. Determination of nitroimidazoles drug residues in meat products by HPLC-APCI(+)-MS/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2009, 30(4): 193-200(in Chinese).
- [10] KAUFMANN A, BUTCHER P, MADEN K, et al. Ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry (UPLC-TOF): A novel tool for multiresidue screening of veterinary drugs in urine[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 586(1/2): 13-21.
- [11] ORTELLI D, COGNARD E, JAN P, et al. Comprehensive fast multiresidue screening of 150 veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry[J]. Journal of chromatography B, 2009, 877(23): 2363-2374.
- [12] KUKUSAMUDE C, BURAKHAM R, CHAIL-APAKUL O, et al. High performance liquid chromatography for the simultaneous analysis of penicillin residues in beef and milk using ion-paired extraction and binary water-acetonitrile mixture[J]. Talanta, 2012, 92(1): 38-44.
- [13] NIELEN M W F, LASAROMS J J P, ESSERS M L, et al. Multiresidue analysis of beta-agonists in bovine and porcine urine, feed and hair using liquid chromatography electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 391(1): 199-210.
- [14] BOGIALLI S, DI CORCIA A. Recent applications of liquid chromatography-mass spectrometry to residue analysis of antimicrobials in food of animal origin [J]. Analytical and Bioanalytical

- Chemistry, 2009, 395(4): 947-966.
- [15] FERNANDEZ-TORRES R, LOPEZ M A, CONSENTRINO MO, et al. Enzymatic-microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of selected veterinary antibiotics in fish and mussel samples[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*. 2011, 54(5): 1 146-1 156.
- [16] 侯建波, 谢文, 陈笑梅, 等. 液相色谱-串联质谱-同位素稀释法同时测定猪肉中 54 种药物残留[J]. *质谱学报*, 2012, 33(1): 42-54.
HOU Jianbo, XIE Wen, CHEN Xiaomei, et al. Simultaneous determination of 54 drugs residues in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and isotopes dilution technique [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2012, 33(1): 42-54 (in Chinese).
- [17] 郭德华, 邓晓军, 赵善贞, 等. 固相萃取-高效液相色谱/串联质谱同时检测动物源性食品中 76 种兽药残留[J]. *分析化学*, 2010, 38(3): 318-324.
GUO Dehua, DENG Xiaojun, ZHAO Shanzhen, et al. Simultaneous determination of 76 veterinary drug residues in foodstuffs of animal origin by solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(3): 318-324 (in Chinese).
- [18] 马丽丽, 郭昌胜, 胡伟, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中氟喹诺酮、四环素和磺胺类抗生素[J]. *分析化学*, 2010, 38(1): 21-26.
MA Lili, GUO Changsheng, HU Wei, et al. Simultaneous extraction and determination of eighteen fluoroquinolone, tetracycline and sulfonamide antibiotics from soils using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(1): 21-26 (in Chinese).
- [19] LEPORATI M, CAPRA P, BRIZIO P, et al. Fit-for-purpose in veterinary drug residue analysis: Development and validation of an LC-MS/MS method for the screening of thirty illicit drugs in bovine urine[J]. *Journal of Separation Science*, 2012, 35(3): 400-409.
- [20] AGUILERA-LUIZ M M, MARTINEZ VIDAL J L, ROMERO-GONZALEZ R, et al. Multiclass method for fast determination of veterinary drug residues in baby food by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(4): 2 171-2 180.
- [21] STUBBINGS G, BIGWOOD T. The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) approach [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 637(1/2): 68-78.
- [22] 张毅, 岳振峰, 蓝芳, 等. 分散固相萃取净化与液相色谱/串联质谱法测定牛奶中 8 类禁用药物残留[J]. *分析化学*, 2012, 40(5): 724-729.
ZHANG Yi, YUE Zhenfeng, LAN Fang, et al. Determination of 8 species of banned drugs in bovine milk by using quechers cleanup approach and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(5): 724-729 (in Chinese).