

研究报告

牛奶中多种中性与酸性药物残留的高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定

彭涛¹, 陈冬东¹, 代汉慧¹, 李晓娟¹, 李娜²,
丁双阳², 江海洋², 邓晓军³

(1 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123; 2 中国农业大学 动物医学院, 北京 100094; 3 上海出入境检验检疫局, 上海 200135)

摘要: 首次建立了牛奶中 64 种中性和酸性药物的高效液相色谱 - 串联质谱 (HPLC- MS/MS) 同时测定方法。样品中的残留药物用乙腈提取, 经正己烷液 - 液分配除脂和 HLB 固相萃取柱净化后, 以乙腈和甲酸 - 乙酸铵缓冲溶液为流动相, 梯度洗脱, 采用 HPLC- MS/MS 电喷雾正离子 (ESI⁺) 电离, 多反应监测 (MRM) 模式检测, 基质匹配外标法定量。方法的定量下限 (LOQ) 为 1~ 100 Lg/kg, 加标回收率为 54%~ 100%, 相对标准偏差小于 12%。该方法操作简便, 灵敏度、准确度、精密度均满足残留分析的要求。

关键词: 高效液相色谱 - 串联质谱; 中性和酸性药物; 牛奶; 残留

中图分类号: O657.163; O623.183 文献标识码: A 文章编号: 1004- 4957(2010)07- 0645- 07

doi: 10.13969/j.issn.1004- 4957.2010.07.1001

Simultaneous Determination of Multiple Residue of Neutral and Acidic Drugs in Milk by High Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometer Detection

PENG Tao¹, CHEN Dongdong¹, DAI Hanhui¹, LI Xiaojuan¹, LI Na²,
DING Shuangyang², JIANG Haiyang², DENG Xiaojun³

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China; 2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 3. Shanghai Entry- Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

Abstract A high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric (HPLC- MS/MS) method was firstly established for the simultaneous determination of multiple residue of 64 neutral and acidic drugs in milk. The samples were extracted with acetonitrile. The extracts were defatted with n-hexane by liquid- liquid partition, and purified by HLB solid phase extraction cartridge. Acetonitrile and formic acid- ammonium acetate buffer were used as mobile phase by gradient elution. The analysis of target compounds was carried out by HPLC- MS/MS under positive electrospray ionization (ESI⁺) and multiple reaction monitoring (MRM) mode. A matrix matched external standard was used for quantitative analysis. The limits of quantification (LOQ) of the method were between 1 Lg/kg and 100 Lg/kg. The spiked recoveries were between 54% and 100% with RSDs less than 12%. The proposed method was simple and convenient, and its sensitivity, accuracy and precision could meet the requirements of residue analysis.

Key words high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; neutral and acidic drugs; milk; residue

收稿日期: 2009- 11- 26 修回日期: 2010- 05- 15

基金项目: 国家质检总局科技项目 (2009K314); 上海市科委技术标准专项资助项目 (08DZ0505200- 2); 中国检科院科研项目 (2008K002)

第一作者: 彭涛 (1976-), 男, 重庆人, 副研究员, 博士, Tel: 13910689473, E-mail: cai_pengtao@1261.com

三聚氰胺毒奶粉事件 0 发生以后，广大消费者对乳与乳制品的安全性愈发关注，引发了产品研发和生产者对产品质量安全的深入思考，对质量安全监控技术也提出了更高的要求。有关产品质量安全的科研项目得到国家的大力支持，近期内取得很多重要成果。以乳与乳制品为例，防腐剂^[1- 2]、甜味剂^[2- 3]、增稠剂^[4]、兽药^[5- 11]、农药^[12- 13]及其他化学添加物^[14- 15]的质量安全监控技术陆续报道，光谱^[7]、色谱^[2- 3 6 8 13]以及色谱 - 质谱联用^[5 9- 12 15]等现代分析技术得到了大量应用。乳与乳制品中化学添加物和药物残留成为监控技术研究的重点。虽然，部分化学物质的残留检测方法已有报道，但多为单个或一类化合物的检测技术，缺乏跨种类、多类别的多残留同时检测技术。高效液相色谱 - 串联质谱 (HPLC- MSMS) 的逐渐完善和普及，给多类别化学物质多残留同时检测技术的建立提供了保证。本文以牛奶为研究对象，打破药物分类界限，以化学性质作为建立检测方法的依据，对牛奶中可能存在的多种中性和酸性药物 (包括肾上腺皮质激素、孕激素、雄性激素、降糖药、非甾体抗炎药等) 的同时检测和确证技术展开研究，首次建立了 5 大类共 64 种药物的高效液相色谱 - 串联质谱同时检测确证方法。

1 实验部分

111 仪器与试剂

Acquity UPLC 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Quattro Premier 质谱仪，配电喷雾离子源 (美国 Waters 公司); PT3000 型均质器 (德国 Brinkmann 公司); Shake sa3 型振荡器 (日本 Yamato 公司); Universal 32 型低温离心机 (德国 Hettich 公司); EYELA N21100VW 型旋转蒸发仪 (日本东京理化器械株式会社); MinishakerMS1 涡旋混合器 (美国 KA 公司); KQ250B 型超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 固相萃取装置 (美国 Supelco 公司)。液相色谱柱: CAPCELL PAK C₈ (100 mm @210 mm, 5 Lm, 日本资生堂公司); 固相萃取柱: OASIS HLB (150 mg/6 mL, 美国 Waters 公司), 使用前用 10 mL 乙腈平衡; 微孔滤膜: 012 Lm, 有机相 (美国 PALL 公司)。

烯丙孕素、己酸孕酮、安宫黄体酮、19²羟基雄甾-21²烯-20¹⁷二酮、达那唑、甲睾酮、氯睾酮、丙酸睾丸素、4²雄烯二酮、格列本脲、格列美脲、格列吡嗪、妥拉磺脲、甲苯磺丁脲、那格列奈、瑞格列奈、倍氯米松、二乙酸二氟拉松、醋酸氟氢可的松、氟米松、氟轻松、醋酸氟轻松、氟氢缩松、氟替卡松丙酸酯、甲基泼尼松龙、脱氢皮醇、脱氢可的松、安西奈德、曲安奈德、地塞米松、氢化可的松、去羟米松、甲基泼尼松、氟泼尼松、糠酸莫美他松、帕拉米松乙酸酯、天然辣椒素、塞来西布、替诺昔康、依托考昔、伐地考昔、吡罗昔康、美洛昔康、萘丁美酮、苯基丁氮酮、尼氟酸、奥沙普秦、氟芬那酸、酮咯酸、双水杨酸酯、依托度酸、吡罗洛芬、甲氯芬那酸、佐美酸、舒林酸、托美汀、酮洛芬、萘普生、氟尼辛、卡洛芬、吡罗美辛、双氯芬酸、甲芬那酸、托芬那酸，纯度均不低于 98%，均购自 Sigma 公司。标准品储备液用乙腈配制，4℃ 避光保存。乙腈和正己烷为色谱纯; 甲酸为优级纯; 其他试剂均为分析纯; 水为去离子水; 氮气、氩气纯度大于 99.999%。

112 仪器条件

11211 色谱条件 流速: 012 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 LL; 流动相: A 为 01% 甲酸水溶液 (含 015 mmol/L 乙酸铵), B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~ 3 min 79% A; 3~ 8 min 79%~ 40% A; 8~ 9 min 40% A; 9~ 11 min 40%~ 10% A; 11~ 16 min 10% A; 16~ 16101 min 10%~ 79% A; 16101~ 20 min 79% A。

11212 质谱条件 电离方式: ESI+; 毛细管电压: 314 kV; 离子源温度: 120 e; 去溶剂温度: 350 e; 锥孔气: 氮气, 流速 100 L/h; 去溶剂气: 氮气, 流速 600 L/h; 碰撞气: 氩气, 气压 2140 @10⁻⁶ Pa; 监测模式: 多反应监测 (MRM), 锥孔电压 (CV)、碰撞能量 (CE) 等参数见表 1, 驻留时间 011 s。

113 样品处理

称取约 10 g 牛奶于 50 mL 塑料离心管中，加入约 10 g 无水硫酸钠吸去水分，再加入 20 mL 乙腈，以 10 000 r/min 均质 1 min，再振摇 10 min 后，以 10 000 r/min 离心 10 min，收集上清液于分液漏斗中。残渣用 20 mL 乙腈重复提取 1 次，合并上清液。向分液漏斗中加入 20 mL 用乙腈饱和后的正己烷，振摇 5 min，静置 10 min，弃去正己烷层，再加入 20 mL 用乙腈饱和后的正己烷，重复分配 1 次。乙腈

层注入 HLB 固相萃取柱中，收集流出液，再用 5 mL 乙腈洗涤 HLB 柱，合并流出液。

流出液于 40℃ 水浴中减压浓缩至近干，残留物用 1 mL 乙腈溶解，涡旋混合 1 min，再超声波水浴助溶 1 min 后，转移至 10 mL 刻度试管中。残留物再用 1 mL 流动相 A 重复溶解，合并溶解液。加入 2 mL 乙腈饱和后的正己烷混摇 30 s 后静置，取下层液体，用流动相 A 定容至 2 mL，10 000 r/min 离心 5 min，经 0.12 μm 微孔滤膜过滤后，待测。

11.4 基质匹配标准曲线

称取不含待测物的牛奶，按照 11.3.0 操作，得到空白基质溶液。用空白基质溶液稀释标准溶液成合适浓度的混合基质标准工作溶液，现用现配。经 11.2.0 仪器条件测定后，以质量浓度对峰面积作图，得到基质匹配标准曲线。

表 1 64 种药物的多反应监测条件

Table 1 Multiple reaction monitoring(MRM) conditions of 64 drugs

Compound	Mother ion m/z	Daughter ion m/z	CV U/V	CE E/eV	t/min
Tenoxicam (替诺昔康)	338	163 9 94 7	22 22	14 16	41 89
Prednisolone(脱氢皮醇)	361 1	343 1 2*, 146 8	15 15	9 22	61 10
Hydrocortisone(氢化可的松)	363 1	327 1 2, 120 8*	28 28	16 25	61 23
19H ydroxy-24-Androstene-23-17-2ione(19-羟雄甾-24-烯-23, 17-二酮)	303 2	267 1 2*, 255 2	30 30	14 15	61 33
Dexamethasone(地塞米松)	393	373*, 169 8	14 14	8 11	71 19
Flumethasone(氟米松)	411 2	253 1 2*, 120 9	18 18	15 30	71 34
Triamcinolone acetate(曲安奈德)	435 1	415 1*, 397 1	16 16	10 14	71 63
Ketorolac(酮咯酸)	256 1	104 8*, 77	25 25	18 35	71 77
Sulindac(舒林酸)	357	232 9*, 339 9	35 35	43 20	71 91
Fluocinolone acetate(氟轻松)	453 2	413 1 2, 120 9*	19 19	11 14	71 97
Glipizide(格列吡嗪)	446 2	321 1 2*, 102 8	18 18	13 40	81 17
Tolmetin(托美汀)	257 7	118 4, 90 4	23 23	18 37	81 46
Valdecoxib(伐地考昔)	315	235 220*	30 30	14 20	81 59
Repaglinide(瑞格列奈)	453 3	230 1 2*, 161 9	32 32	25 18	81 82
Naproxen(萘普生)	230 9	184 7*, 169 8	25 25	13 25	81 88
Meloxicam(美洛昔康)	352	114 8*, 140 8	27 27	20 20	91 15
Etoricoxib(依托度酸)	288 1	270 1 1, 171 9*	13 13	13 14	91 24
4-Androstene-23-17-2ione(4-雄烯-23, 17-二酮)	287 1	269 1 2, 96 8*	30 30	15 21	91 40
Altrenogest(烯丙孕素)	311 1	269 1 1, 227 1*	30 30	15 25	91 77
Fluocinonide(醋酸氟轻松)	495 1	475 1*, 455 1	15 15	11 13	91 97
Carprofen(卡洛芬)	273 8	227 8*, 129 7	30 30	18 30	101 03
Chlorthalidone(氯噻酮)	323 1	305 1 2, 143 8*	22 22	15 28	101 07
Indomethacin(吲哚美辛)	357 9	138 5*, 110 4	27 27	20 50	101 56
Diclofenac(双氯芬酸)	295 6	214 6*, 249 6	20 20	19 12	101 65
Glimepiride(格列美脲)	491 2	352 126*	18 18	13 25	101 74
Celecoxib(塞来西布)	382	362*, 300	39 50	30 26	111 11
Phenylbutazone(苯基丁氮酮)	308 9	119 5*, 187 6	28 28	18 16	111 16
Mometasone furoate(糠酸莫美他松)	521 1	503 1*, 391 1	17 17	10 16	111 35
Danazol(达那唑)	338 1	147 9*, 119 1	35 35	20 30	111 49
Mefenamic acid(甲芬那酸)	241 9	223 8*, 179 9	22 22	15 37	111 53
Tolfenamic acid(托芬那酸)	261 9	243 9*, 208 8	22 22	13 25	111 81
Testosterone propionate(丙酸睾酮)	345 2	271 1 2, 108 8*	28 28	15 28	121 98
Etoricoxib(依托考昔)	359	280*, 244	38 38	30 48	51 08
Dehydrocortisone(脱氢可的松)	359 1	341 1 2*, 146 8	35 35	43 20	61 21
Fluprednisolone(氟泼尼松)	379 1	341 1 2*, 323 1	18 18	10 10	61 23
Methylprednisolone(甲基泼尼松)	375 2	357 1 3*, 339 2	16 16	9 9	61 98
Meprednisolone(甲基泼尼松)	373 1	355 1*, 337 2	19 19	11 12	71 23
Beclomethasone(倍氯米松)	409 2	391 1 2*, 279 2	18 18	9 18	71 52
Piroxicam(吡罗昔康)	331 9	94 5*, 120 5	26 26	19 26	71 77
Indoprofen(吲哚洛芬)	282 2	236*, 218	30 30	20 28	71 89
Fludrocortisone(氟氢缩松)	437 3	180 9 90 8*	33 33	35 55	71 93
Desoximetasone(去羟米松)	377 1	357 1*, 339 2	14 14	10 12	81 10
Fludrocortisone acetate(醋酸氟氢可的松)	423 2	239 1*, 181	35 35	23 28	81 32
Tolbutamide(甲苯磺丁脲)	271	171 8 154 8*	20 20	12 18	81 52

(续表 1)

Compound	Mother ion m/z	Daughter ion m/z	CV U/V	CE E/eV	t/min
Tolazamide(妥拉磺脲)	312	1401 9, 1141 8*	26, 26	23, 15	81.77
Ketoprofen(酮洛芬)	2551.1	1041 8*, 2091.1	30, 30	25, 16	81.85
Paramethasone acetate(帕拉米松乙酸酯)	4351.1	4171.1, 3191.1*	16, 16	9, 14	91.00
Zomepirac(佐美酸)	292	1101.8, 1381 8*	22, 22	40, 20	91.20
Methyltestosterone(甲睾酮)	303	285, 1081 8*	33, 33	15, 28	91.30
Flunixin(氟尼辛)	2971.1	2791.1*, 2641.1	35, 35	21, 34	91.69
Capsaicin(天然辣椒素)	3061.1	1211.8, 1361 8*	20, 20	40, 18	91.89
Diflurasone diacetate(二乙酸二氟拉松)	4951.1	3171.2*, 2791.2	20, 20	13, 14	91.99
Oxaprozin(奥沙普嗪)	294	2761.1, 1021 8*	28, 28	15, 28	101.05
Glibenclamide(格列本脲)	4941.1	3691.1*, 1681.1	19, 19	14, 35	101.45
Nateglinide(那格列奈)	3181.1	1651 8*, 1241.8	20, 20	11, 14	101.60
Nicotinic acid(尼古酸)	2831.2	2651.1*, 245	28, 28	19, 28	101.74
Aminoclonide(安西奈德)	5031.1	4831.2*, 3991.2	20, 20	8, 10	111.04
Nabumetone(萘丁美酮)	2281.9	1701.7*, 1271.7	23, 23	17, 38	111.11
Fluticasone propionate(氟替卡松丙酸酯)	5011.2	3131.2*, 293	18, 18	12, 16	111.27
Flufenamic acid(氟芬那酸)	2821.2	2641.1*, 1661.9	19, 19	10, 18	111.45
Meclofenamic acid(甲氯芬那酸)	296	278, 243*	18, 18	12, 25	111.52
Medroxyprogesterone 17acetate(安宫黄体酮)	3871.1	3271.2*, 2851.2	24, 24	14, 17	111.60
Hydroxyprogesterone α(己酸孕酮)	4291.3	3131.2*, 2711.2	23, 23	13, 18	121.52
Sasapyrin(双水杨酸酯)	259	1851.2, 1281 8*	17, 17	9, 14	131.17

* quantification ion

2 结果与讨论

211 串联质谱条件的优化

用流动相 A 将 64 种药物分别配成 1 mg/L 的溶液，以流动注射的方式在电喷雾 (ESI) 模式下进行一级扫描，确定分子离子。所有药物在 ESI+ 模式下均产生较强的 [M+H]⁺ 分子离子。在流动相 A 溶液环境中，部分酸性药物也在 ESI- 模式下产生 [M-H]⁻ 分子离子，但考虑到正负模式切换会损失质谱扫描时间，本文只对 ESI+ 模式展开研究。分别对药物分子离子进行二级扫描，优化 ESI+ 模式下多反应监测 (MRM) 的质谱参数，得到最佳的串联质谱条件 (见表 1)。按照残留分析确证检测的要求，每个母离子选择两个子离子进行监测，并以丰度较强的子离子为定量离子。

212 色谱条件的优化

羟基、羧基、氨基等官能基团在 64 种中性和酸性药物中普遍存在，普通色谱柱固定相表面的残存硅羟基和金属离子可通过氢键或离子交换对其产生强的吸附作用，从而产生色谱峰拖尾、保留时间不稳定等现象，并导致分离度下降。本文选用以高纯硅胶为基体并经端基封闭处理的 CAPCELL PAK C₁₈ 为色谱柱，以甲酸 - 乙酸铵缓冲溶液为水相流动相，乙腈为有机相流动相，采用梯度洗脱方式，64 种药物在 20 min 内获得良好分离且峰形对称。同时，弱酸性、挥发性的甲酸 - 乙酸铵缓冲体系确保了 ESI+ 模式下各药物的离子化效率 (质谱图略)。

213 样品处理条件的选择

21311 提取条件的选择 64 种药物包括肾上腺皮质激素、孕激素、雄性激素、降糖药和非甾体抗炎药等，属于中性或酸性药物。按照相似相溶的原理，中性药物可用有机溶剂提取，酸性药物可用碱性和酸性有机溶剂提取。为提高中性和酸性药物同时提取的回收率，分别对有机、碱性、酸性有机提取溶剂体系进行筛选，选用具有除脂和去蛋白效果的乙腈作为有机溶剂，含 1% 冰乙酸的乙腈作为酸性有机溶剂，0.1% 氨水作为碱性溶剂，分别考察其对牛奶中 64 种药物的提取效率。

结果表明，0.1% 氨水对酸性的非甾体抗炎药提取效果最好，激素效果类药物其次，但对降糖药和部分含氮非甾体抗炎药的提取效果较差；酸化乙腈对酸性的非甾体抗炎药提取效果较好，对降糖药等含氮化合物提取效果较差；乙腈则比较均衡，64 种药物的回收率为 70%~ 100%。因此，选用乙腈作为提取溶剂。

由于牛奶中含有大量水分，混入乙腈后不宜浓缩，影响定容。通过加入无水硫酸钠吸去水分后，

再用乙腈提取，取得较好的效果，对回收率没有明显影响。

21312 净化条件的选择 相对于其他动物源产品基质，牛奶样品的主要特点是含有大量的水分、蛋白质和脂肪。水分可以通过加入无水硫酸钠吸收；蛋白质用乙腈可以基本沉淀；但脂肪等非极性杂质的存在对分析结果有着较大影响。本文利用两步净化来减小非极性杂质的干扰。首先，采用液液分配，用乙腈饱和的正己烷除去脂肪等非极性杂质；再利用基于反相原理的 HLB 固相萃取柱进一步净化。64 种药物性质差异较大，酸性药物在反相柱上保留较差，而中性药物保留较好。采用乙腈上样，收集全部流出液，再用 5 mL 乙腈洗脱，所有药物的过柱回收率均在 80% 以上。净化效果满足液相色谱 - 串联质谱法的测定要求，且有效降低了脂肪等非极性物质对色谱柱的影响。

214 方法的线性与定量下限

大气压电喷雾离子源 (ESI) 易受样品基质的影响，基质效应对离子化有非常强的抑制作用^[16]。本文采用基质匹配标准曲线外标法定量，可以有效降低基质溶液中干扰物的影响，真实反映样品中的药物含量。在优化的实验条件下，以仪器响应峰面积对药物的质量浓度作图，在一定的质量浓度范围内，64 种化合物显示了良好的线性，相关系数均在 0.993 以上。当样品中的药物残留量超过此线性范围时，可适当对溶液进行稀释。

方法的定量下限 (LOQ) 按照欧盟指令 657^[17] 的要求，采用空白添加实验确定。向不含分析物的牛奶中添加药物，按照 / 1130 步骤处理并按 / 1120 条件检测，以定性离子质量色谱图信噪比 S/N = 10 定为方法的定量下限。方法的线性范围、相关性数与定量下限见表 2。

215 方法的准确度与精密度

采用添加回收实验考察方法的准确度与精密度。为确保方法在定量下限时准确度和精密度，针对空白牛奶设定了包括定量下限在内的 3 个添加水平，每个水平进行 10 次重复实验，计算方法的加标回收率及精密度。实验结果表明，牛奶中 64 种药物的添加回收率为 54%~100%，相对标准偏差均小于 12% (见表 2)，结果满意。

表 2 牛奶中 64 种药物的线性范围、相关系数、定量下限、添加回收率与精密度 (n= 10)

Tab 2 Linear ranges correlation coefficients limit of quantifications (LOQs), recoveries and RSDs of 64 drugs in milk (n= 10)							
Compound	Linear range Q/(L g# L ⁻¹)	r	LOQ w / (L g# kg ⁻¹)	Spiked w/(L g# kg ⁻¹)	Found w _F /(L g# kg ⁻¹)	Recovery R %	RSD s _r %
Altrenogest	5~ 500	0.997	1	1, 3, 10	0.8, 21.5, 71.6	77~ 95, 74~ 88, 66~ 85	81.9, 61.7, 51.3
Hydroxyprogesterone	5~ 250	0.997	1	1, 10, 50	0.8, 81.7, 371.7	75~ 94, 73~ 96, 69~ 86	11.61, 7.41, 4.4
Medroxyprogesterone 17acetate	10~ 1 000	0.993	2	2, 10, 50	11.5, 81.4, 401.8	67~ 88, 74~ 96, 67~ 84	6.4, 6.1, 2.610
19Hydroxy-24andro-2 sten-23, 17-dione	25~ 2 500	0.999	5	5, 20, 100	41.3, 151.9, 781.6	71~ 96, 71~ 88, 71~ 89	51.1, 71.0, 51.2
Danazol	5~ 250	0.996	1	1, 10, 50	0.7, 81.5, 381.6	69~ 86, 73~ 93, 66~ 83	51.2, 61.1, 61.5
Methyltestosterone	25~ 1 000	0.999	5	5, 10, 50	31.9, 71.7, 391.3	67~ 87, 67~ 81, 77~ 88	7.9, 51.6, 41.7
Clostebol	100~ 5 000	0.999	20	20, 50, 100	151.8, 391.6, 771.8	70~ 85, 70~ 86, 66~ 88	81.3, 41.9, 41.9
Testosterone propionate	5~ 250	0.999	1	1, 10, 50	0.7, 71.6, 371.2	63~ 82, 67~ 86, 74~ 84	9.9, 51.1, 61.5
42Androstene-23, 17-dione	100~ 5 000	0.997	20	20, 50, 100	181.7, 431.5, 881.4	87~ 94, 80~ 90, 76~ 94	61.3, 71.1, 61.4
Glibenclamide	5~ 250	0.999	1	1, 10, 50	0.8, 81.8, 381.7	84~ 93, 74~ 97, 58~ 84	9.5, 41.1, 51.6
Glinapiride	5~ 250	0.999	1	1, 10, 50	0.8, 71.7, 421.9	74~ 83, 69~ 87, 76~ 94	101.3, 51.7, 51.9
Glipizide	5~ 250	0.999	1	1, 10, 50	0.7, 81.6, 421.7	57~ 80, 79~ 93, 77~ 94	4.7, 61.8, 51.1
Nateglinide	5~ 250	0.998	1	1, 10, 50	0.7, 71.4, 471.8	65~ 84, 56~ 82, 66~ 89	71.4, 41.2, 61.2
Repaglinide	5~ 500	0.999	1	1, 10, 50	0.9, 81.8, 441.2	84~ 94, 76~ 93, 83~ 97	9.8, 41.7, 41.3
Tolazamide	10~ 250	0.998	2	2, 10, 50	11.5, 71.6, 401.2	67~ 84, 62~ 84, 70~ 93	51.7, 81.2, 71.9
Tolbutamide	10~ 1 000	0.997	2	2, 10, 50	11.7, 81.4, 411.1	66~ 91, 77~ 96, 66~ 94	81.5, 51.8, 61.7
Amcinonide	5~ 500	0.997	1	1, 10, 50	0.7, 81.9, 351.7	68~ 81, 78~ 96, 66~ 76	101.1, 41.8, 51.8
Beclomethasone	25~ 250	0.999	5	5, 10, 50	31.9, 61.6, 381.4	54~ 77, 54~ 78, 58~ 79	71.2, 71.1, 51.7
Diflorasone diacetate	25~ 2 500	0.997	5	5, 20, 100	31.7, 141.5, 751.4	67~ 81, 67~ 88, 66~ 83	4.8, 61.6, 71.9
Fludrocortisone acetate	25~ 2 500	0.997	5	5, 20, 100	31.6, 151.5, 861.8	62~ 83, 66~ 89, 76~ 94	101.2, 71.8, 71.1
Flumethasone	10~ 2 000	0.998	2	2, 20, 50	11.8, 161.9, 451.8	83~ 96, 77~ 97, 84~ 96	8.9, 51.6, 71.2
Fluocinolone acetonide	25~ 1 000	0.999	5	5, 10, 50	31.9, 71.6, 381.9	68~ 86, 66~ 83, 66~ 88	51.8, 71.1, 81.1
Fluocinonide	10~ 2 000	0.997	2	2, 10, 50	11.8, 71.7, 401.7	68~ 97, 69~ 86, 66~ 88	9.8, 71.0, 71.4

(续表 2)

Compound	Linear range Q/(L g# L ⁻¹)	r	LOQ w / (L g# kg ⁻¹)	Spiked w /(L g# kg ⁻¹)	Found w _F /(L g# kg ⁻¹)	Recovery R %	RSD s _r %
Flud roxycortide	100~ 5 000	01 995	20	20 50 100	161 7 3719, 781 6	66~ 97, 73~ 89 71~ 87	51 7, 71 9 61 4
Flu ticason e propionate	10~ 250	01 997	2	2 10 50	11 9 814, 401 3	82~ 99, 79~ 95 75~ 90	71 2, 71 0 51 2
Me thy l predn isolon e	25~ 1 000	01 999	5	5 10 50	41 0 816, 471 6	78~ 99, 75~ 96 82~ 99	111 8, 71 1 71 1
Predn isolon e	5~ 500	01 999	1	1 10 50	01 8 819, 421 9	77~ 89, 84~ 98 81~ 92	91 9, 61 4 71 4
Dehydrocortison e	10~ 1 000	01 999	2	2 10 50	11 8 911, 411 9	83~ 96, 87~ 98 79~ 98	81 7, 61 8 71 3
Tri amcino lon e aceton ide	5~ 500	01 997	1	1 10 50	01 9 716, 401 8	88~ 99, 70~ 100 80~ 98	81 8, 71 1 61 6
Dexam ethason e	5~ 500	01 999	1	1 10 50	01 9 818, 401 6	80~ 94, 81~ 98 76~ 91	71 5, 81 1 61 8
Hydrocortison e	25~ 5 000	01 999	5	5 10 100	41 2 815, 871 6	76~ 96, 78~ 94 80~ 99	71 6, 71 4 51 7
Desoxim etason e	5~ 500	01 997	1	1 10 50	01 9 816, 401 4	81~ 96, 82~ 96 83~ 96	71 9, 61 7 61 5
Me predn ison e	25~ 1 000	01 999	5	5 10 50	31 9 813, 411 2	78~ 94, 66~ 95 86~ 96	71 9, 81 2 71 8
Flu predn isolon e	25~ 2 500	01 999	5	5 20 100	41 2 1618, 781 3	76~ 100, 68~ 90 60~ 86	71 1, 61 6 51 6
Mon etason e fluoate	25~ 2 000	01 995	5	5 10 50	31 9 814, 371 7	65~ 80, 78~ 90 70~ 90	71 2, 51 8 71 1
Param ethason e acetate	25~ 2 500	01 999	5	5 10 50	31 8 810, 401 6	71~ 86, 7~ 89 74~ 90	81 1, 61 8 71 0
Nicotin ic acid	5~ 250	01 995	1	1 10 50	01 8 713, 371 6	78~ 90, 67~ 80 70~ 82	71 4, 51 7 71 9
Oxaprozin	5~ 500	01 998	1	1 10 50	01 8 817, 441 5	80~ 94, 70~ 96 86~ 96	61 7, 61 5 71 3
Tenoxicam	10~ 2 000	01 996	2	2 10 50	11 7 716, 381 7	68~ 97, 69~ 86 84~ 96	61 2, 71 0 51 2
Capsaicin	5~ 250	01 999	1	1 10 50	01 7 814, 401 1	65~ 80, 78~ 90 80~ 96	61 3, 71 1 71 1
Flu fenam ic acid	50~ 5 000	01 997	10	10 50 100	91 1 4115, 771 1	82~ 95, 78~ 90 67~ 90	61 4, 91 9 51 4
Ketorolac	5~ 500	01 999	1	1 10 50	01 9 910, 411 9	83~ 99, 84~ 96 69~ 86	51 7, 21 6 61 9
Sasapyrine	5~ 250	01 993	1	1 10 50	01 9 911, 401 5	84~ 96, 86~ 100 68~ 90	61 6, 51 9 41 6
Celecox ib	50~ 10 000	01 999	10	10 50 150	71 5 4018, 1281 9	71~ 80, 72~ 86 72~ 86	51 9, 61 3 41 9
Etoricoxib	5~ 500	01 999	1	1 10 50	01 8 717, 361 7	73~ 86, 62~ 84 60~ 80	41 9, 61 7 51 3
Valdecoxib	25~ 5 000	01 997	5	5 20 100	31 5 1413, 791 2	70~ 80, 66~ 87 66~ 89	51 6, 51 2 71 9
Etodolac	250~ 10 000	01 999	50	50 80 150	391 5 7119, 1381 7	88~ 96, 82~ 99 86~ 96	41 9, 61 4 51 1
Indoprofen	5~ 100	01 999	1	1 10 50	01 6 716, 371 7	57~ 78, 66~ 89 63~ 82	61 5, 81 3 101 3
Meclofenam ic acid	25~ 2 500	01 997	5	5 10 50	31 8 715, 361 3	74~ 86, 68~ 90 66~ 86	61 4, 41 9 41 1
Zomepirac	5~ 250	01 999	1	1 10 50	01 7 714, 391 1	68~ 88, 70~ 90 68~ 86	51 9, 51 3 61 9
Piroxicam	5~ 250	01 998	1	1 10 50	01 7 717, 401 9	64~ 86, 66~ 86 76~ 88	71 3, 41 7 91 8
Sulindac	10~ 250	01 995	2	2 10 50	11 6 812, 381 9	78~ 90, 76~ 90 76~ 90	71 1, 71 4 41 2
Tolmetin	5~ 250	01 998	1	1 10 50	01 8 716, 381 6	78~ 88, 68~ 86 75~ 90	91 2, 51 9 41 7
Ketoprofen	5~ 250	01 996	1	1 10 50	01 8 815, 381 6	76~ 86, 76~ 95 68~ 89	41 3, 51 7 81 2
Naproxen	500~ 10 000	01 995	100	100 500, 1 000	751 3 37613, 7241 4	60~ 81, 62~ 86 62~ 80	71 9, 61 3 51 8
Meloxicam	5~ 250	01 997	1	1 15 50	01 7 1216, 341 7	64~ 86, 66~ 86 66~ 78	71 7, 61 9 41 8
Flunixin	5~ 250	01 994	1	1 5 20	01 8 318, 171 8	78~ 90, 66~ 90 66~ 80	51 8, 41 8 61 6
Carprofen	500~ 20 000	01 997	100	100 200, 1 000	791 5 15915, 7591 4	74~ 86, 76~ 86 66~ 88	91 4, 51 7 41 6
Nabumetone	50~ 1 000	01 999	10	10 20 100	81 1 1414, 751 1	74~ 87, 67~ 89 68~ 88	41 9, 61 6 51 9
Indomethacin	10~ 1 000	01 994	2	2 10 50	11 4 717, 361 6	62~ 83, 64~ 86 65~ 88	41 6, 51 9 61 3
Diclofenac	25~ 2 000	01 999	5	5 10 50	31 6 819, 451 4	63~ 87, 80~ 94 87~ 100	41 9, 41 9 61 7
Phenylbutazone	25~ 2 500	01 995	5	5 20 50	41 7 1612, 401 7	85~ 96, 67~ 88 75~ 90	51 3, 51 6 61 7
Mefenamic acid	25~ 1 000	01 998	5	2 10 50	11 7 818, 351 8	65~ 88, 79~ 98 63~ 86	41 4, 61 4 71 1
Tolfenamic acid	25~ 2 000	01 999	5	5 10 50	41 6 715, 411 3	80~ 95, 67~ 89 68~ 89	61 4, 61 9 91 4

3 结 论

本文采用高效液相色谱 - 串联质谱技术首次建立了牛奶中 5大类共 64种中性和酸性药物残留量同时检测和确证的方法。根据药物的化学特性，对跨种类药物的同时提取和净化技术进行了研究，优化了高效液相色谱分离条件和串联质谱测定条件，采用基质匹配标准曲线外标法定量，保证了准确性。方法的线性、灵敏度、准确度和精密度均满足残留分析的要求^[18]。

参考文献:

[1] 李海英, 闫斌斌, 姚新奎, 刘珩, 魏睿元, 任坤, 孔令国. 鲜奶中甲醛快速检测的方法研究 [J]. 新疆农业科学, 2009, 46(1): 208- 212

[2] 常硕, 周玉虎, 李颖. 可变波长高效液相色谱法同时测定酸乳和乳饮料中的添加剂 [J]. 中国乳品工业, 2009, 37(1): 58- 61.

[3] 鲁琳, 杭义萍, 高燕红. 高效液相色谱法快速检测乳饮料中常用甜味剂 [J]. 食品科学, 2009, 30(10): 166- 168

[4] 闫斌斌, 李海英, 姚新奎, 刘珩, 马建军, 杨刚, 魏睿元. 鲜奶中芒硝快速检测方法研究 [J]. 新疆农业科学, 2008 45(6): 1192- 1195.

[5] 方忠意, 班付国, 刘素梅. 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定原料奶中苯并咪唑类药物 [J]. 中国兽药杂志, 2009 43(5): 17- 20

[6] 余辉菊, 杨晓松, 郑萍, 张梦妍. 基质固相分散 - 高效液相色谱法测定牛奶中 8 种磺胺类药物残留 [J]. 中国卫生检验杂志, 2009 19(1): 86- 89

[7] 王彩云, 相秉仁, 张伟, 王正武, 陈昌云. 近红外光谱法快速检测牛奶中氯霉素残留 [J]. 食品科学, 2009, 30 (6): 184- 187.

[8] 赵金莲, 杜兰祥, 李月娟, 许敬东. 牛乳中三种雌激素残留的 HPLC 检测法 [J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 44 (2): 153- 156

[9] 林维宣, 孙兴权, 田苗, 于灵, 肖珊珊, 李哲. 液相色谱 - 串联质谱法检测牛乳中多肽类抗生素残留量 [J]. 中国乳品工业, 2009 37(3): 46- 48

[10] 徐锦忠, 吴宗贤, 杨雯笙, 杨功俊, 陈正行, 丁涛, 沈崇钰, 吴斌, 蒋原. 液相色谱 - 电喷雾串联质谱测定蜂蜜中 8 种大环内酯类药物残留 [J]. 分析化学, 2007, 35(2): 166- 170

[11] 饶勇, 曾振灵, 杨桂香, 陈杖榴. 液相色谱 - 质谱联用检测牛奶中氟喹诺酮类药物残留的确证方法 [J]. 中国农业科学, 2007 40(5): 1033- 1041.

[12] 薄海波, 王金花, 郭春海, 秦榕, 卢小宇. 气相色谱 / 质谱法测定食品中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留 [J]. 分析化学, 2008 36(11): 1471- 1475

[13] 刘汝华. 毛细柱气相色谱法测定奶制品中的有机氯农药 [J]. 承德民族师专学报, 2009 29(2): 49- 50

[14] 乔勇升, 李兴根, 韩芷玲, 黄银波, 胡慧. 高效液相色谱对液态奶中三聚氰胺的快速测定 [J]. 分析测试学报, 2009 28(10): 1202- 1205

[15] 黄芳, 黄晓兰, 吴惠勤, 邓欣, 林晓珊, 朱志鑫. 高效液相色谱 - 质谱法对饲料及食品添加剂中三聚氰胺的测定 [J]. 分析测试学报, 2008 27(3): 313- 315.

[16] 田云, 岳振峰, 叶卫翔, 赵凤娟, 侯乐锡, 饶丽, 郑必胜. 动物组织中氨苯砒及其代谢产物残留量的液相色谱串联质谱法测定 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(1): 88- 92

[17] The Council of the European Union Council Directive 2002 / 657 / EC [S]. 2002

[18] SN / T0001- 1995 出口商品中农药、兽药残留量及生物毒素检验方法标准编写的基本规定 [S].

5 分析测试学报 6 关于 / 新仪器、新方法展示专场 0 栏目的征稿说明

随着科技的不断进步, 分析技术的进步越来越倚重分析仪器的发展和创新。为促进国内外新型分析仪器的展示与分析方法的交流, 提高我国分析技术研究实力和水平, 5 分析测试学报 6 特新开设了 / 新仪器、新方法展示专场 0 栏目。栏目征稿要求及说明如下:

- 一、征稿内容: 国内外新开发或刚投入市场的分析仪器及其实际应用介绍。具体内容包括: ¹ 仪器装置: 包括设备名称、型号, 仪器照片或仪器结构示意图, 制造厂商等; [°] 仪器原理简介; [»] 技术指标; ^¼ 应用范围; ^½ 实例与应用: 包括特征样品的前处理方法、谱图、分析参数 (准确度、精密度、检出限数据及线性范围等)。
- 二、稿件格式: 标题 3 号黑体, 公司名字小 5 号宋体, 正文 5 号宋体, 一级标题 4 号黑体, 二级标题小 4 号黑体, 表题及图题小 5 号宋体, 表内及图内文字为 6 号宋体。
- 三、字数要求: 不超过 3000 字 / 篇, 即不超过本刊 2 个版面。
- 四、收费要求: 1500 元 / 版。
- 五、该栏目文章将同时上传到本刊网站, 供广大的读者阅读, 以扩大影响。
- 六、本刊将定期对该栏目中的新仪器进行汇总、分类, 向广大作者、读者推介, 并将读者对于新仪器的相关意见反馈给仪器厂商。