

## 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查 牛奶中的农药和兽药残留

高馥蝶<sup>1,2</sup>, 赵妍<sup>3</sup>, 邵兵<sup>1,2\*</sup>, 张晶<sup>1,2</sup>

(1. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院, 北京 100069; 2. 北京市疾病预防控制中心, 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013; 3. 南京市产品质量监督检验院, 江苏 南京 210028)

**摘要:** 利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术建立了牛奶中42种农药和兽药残留的快速检测方法。目标药物包括常用的13种农药和29种兽药,采用QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)方法进行样品前处理。牛奶样品经含1%甲酸的乙腈溶液提取,同时加入无水硫酸钠和氯化钾盐析,提取液经C18填料净化后直接测定。目标药物经ACQUITY UPLC™ BEH C18柱分离,以乙腈和0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,采用正离子全信息串联质谱扫描模式(MS<sup>E</sup>)进行检测。结果表明,牛奶中42种农药和兽药的定量限(LOQ, S/N=10)为1~100 μg/kg; 3个加标水平的平均回收率为68.2%~129.1%,相对标准偏差为2.8%~30.8%。该方法快速简便、灵敏度较高,可用于牛奶中42种农兽药的快速筛查。

**关键词:** 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; QuEChERS; 农药残留; 兽药残留; 牛奶

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2012)06-0560-08

## Determination of residues of pesticides and veterinary drugs in milk by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry

GAO Fudie<sup>1,2</sup>, ZHAO Yan<sup>3</sup>, SHAO Bing<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2</sup>

(1. School of Public Health and Family Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Centers for Diseases Control and Prevention, Beijing 100013, China;

3. Nanjing Institute of Supervision and Testing on Product Quality, Nanjing 210028, China)

**Abstract:** An analytical method was established for the simultaneous determination of 42 pesticides and veterinary drugs in milk by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). The target compounds are the commonly used drugs including 13 pesticides and 29 veterinary drugs. The QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) method was used for sample preparation. The analytes in milk samples were extracted with acetonitrile containing 1.0% (v/v) formic acid, and were salted out by adding anhydrous sodium sulfate and potassium chloride. After that, the extract solution was purified by dispersive solid phase extraction with C18 sorbent. In the chromatographic analysis of 42 target compounds were separated on an ACQUITY UPLC™ BEH C18 column with the gradient elution using the mobile phases of acetonitrile and water containing 0.1% formic acid. MS<sup>E</sup> (where E represents collision energy) acquisition under positive ion mode was performed to obtain accurate relative molecular masses and fragment ions. As a result, the limits of quantification (LOQ, S/N=10) of the target compounds were from 1 μg/kg to 100 μg/kg in milk. The average recoveries of the 42 analytes spiked at three concentration levels were ranged from 68.2% to 129.1% with the relative standard deviations of 2.8%

\* 通讯联系人: 邵兵 研究员 研究方向为食品安全. E-mail: shaobingch@sina.com.

基金项目 “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAK10B06)和北京市卫生局青年基金项目.

收稿日期: 2012-02-14

-30.8%。This method can be applied to the analysis of the 42 pesticides and veterinary drugs in milk due to its fastness, simplicity and relatively high sensitivity.

**Key words:** ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS); QuEChERS; pesticide residues; veterinary drug residues; milk

农药和兽药在防治农作物病虫害和防控动物疾病方面起到了不可替代的作用,为粮食、果蔬和肉类食品的增产做出了重大贡献。然而,农兽药的滥用也在人体健康、生态环境和经济贸易等方面造成了不良影响。近年来,药物残留问题日益受到世界各国及地区的重视,限用和禁用的农兽药种类越来越多,限量标准越来越严格<sup>[1]</sup>。

目前国内外已有很多关于动物源性食品中农兽药残留的分析研究。检测方法主要包括高效液相色谱法(HPLC)<sup>[2]</sup>、高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)<sup>[3-5]</sup>、气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[6,7]</sup>。其中,HPLC灵敏度低,选择性和特异性较差;GC-MS不适于难挥发、强极性和易热解化合物的检测。高效液相色谱-串联四极杆质谱法是动物源性食品中农兽药检测常用的手段之一,具有较好的灵敏度、选择性和特异性<sup>[8]</sup>。随着质谱技术的发展,高分辨质谱越来越受到人们的关注。与低分辨的串联四极杆质谱相比,高分辨质谱扫描速度快、可进行精确质量测定。在食品分析方面,储晓刚等<sup>[9]</sup>应用高效液相色谱-飞行时间质谱(HPLC-TOF-MS)同时检测了大豆中的77种除草剂和杀虫剂。赵延胜等<sup>[10]</sup>利用液相色谱-四极杆飞行时间质谱(LC-Q/TOF-MS)的精确质量数定性,实现了奶酪中29种禁用和限用合成色素的检测。国外也有研究者将超高效液相色谱(UPLC)-TOF-MS用于猪肉、牛奶等动物性食品中多种兽药的同时筛查<sup>[11,12]</sup>。尽管如此,高分辨质谱在食品安全检测领域的应用依然相对较少。

在前处理技术方面,食品中农兽药残留分析常用方法多为液液萃取、固相萃取等,操作较为繁重、耗时。QuEChERS(Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged and Safe的简称)方法是近几年发展起来的快速前处理法,可以方便、经济、快速地从食品基质中将目标化合物提取出来<sup>[13]</sup>。但是,目前该方法主要用于果蔬中农药残留的分析,在动物性食品检测中的应用较为有限<sup>[14-16]</sup>。

三聚氰胺事件以来,乳制品安全受到了消费者的广泛关注,药物残留是其中最重要的一个方面。本文应用QuEChERS方法结合高分辨的液相色谱-

四极杆-飞行时间质谱技术,建立了牛奶中42种农药和兽药残留的同时快速检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

ACQUITY™超高效液相色谱仪;SYNAPT™四极杆-飞行时间质谱仪(Q-TOF,美国Waters公司);Milli-Q超纯水器(美国Millipore公司);低温离心机(美国贝克曼库尔特公司);Vortex-Genie 2涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司)。

乙腈(HPLC级,迪马科技有限公司);甲酸(纯度99%,美国Acros公司);无水硫酸钠、氯化钾和乙二胺四乙酸二钠(Na<sub>2</sub>EDTA)均为国产分析纯试剂;Discovery®DSC-48填料(美国Supelco公司)。

新生霉素(novobiocin,纯度95.5%)、头孢泊肟酯(cefepodoxime proxetil,纯度99%)、土霉素(oxy-tetracycline,纯度92.4%)、金霉素(chlorotetracycline,纯度95%)、四环素(tetracycline,纯度98.7%)、红霉素(erythromycin,纯度83.8%)、伊维菌素(ivermectin,纯度96%)、磺胺甲基嘧啶(sulfamerazine,纯度99.5%)、磺胺二甲嘧啶(sulfadimidine,纯度99.7%)、磺胺甲氧哒嗪(sulfamethoxypyridazine,纯度99.1%)、磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole,纯度99%)、磺胺二甲氧哒嗪(sulfadimethoxine,纯度99.9%)、磺胺喹噁啉(sulfaquinolone,纯度98.6%)、甲氧苄啶(trimethoprim,纯度99%)、氨苯砞(dapsone,纯度99%)、氧氟沙星(ofloxacin,纯度99%)、达氟沙星(danofloxacin,纯度98.4%)、环丙沙星(ciprofloxacin,纯度99.0%)、恩氟沙星(enrofloxacin,纯度99.9%)、沙拉沙星(sarafloxacin,纯度99.3%)、奥索利酸(oxolinic acid,纯度99%)、萘啶酸(nalidixic acid)、氟甲喹(flumequine,纯度98%)、克伦特罗(clenbuterol,纯度98.5%)、卡唑心安(carazolol,纯度99%)、敌菌净(diaveridine,纯度99%)、孔雀石绿(malachite green,纯度99.1%)、群勃龙(trenbolone,纯度99%)、醋酸氯地孕酮(chlormadinone acetate,纯度98.4%)、杀虫脒(chlordimeform,纯度99%)、克百威(carbofuran,纯度99.4%)、扑草净(prometryn,

纯度 98.5%)、扑灭津(propazine, 纯度 99%)、咪唑菌酮(fenamidon, 纯度 99.2%)、敌草胺(naproamide, 纯度 99.2%)、灭锈胺(mepronil, 纯度 99%)、吡菌磷(pyrazophos, 纯度 98.6%)、哌草磷(piperophos, 纯度 98.5%)、哌草丹(dimepiperate, 纯度 99%)、吡丙醚(pyriproxyfen, 纯度 99.3%)、螺螨酯(spirodiclofen, 纯度 98%)、苜蓿菊酯(bioresmethrin, 纯度 99%) 标准品均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。

## 1.2 标准溶液配制

分别称取 10.0 mg 上述标准品, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容配制成 1.0 g/L 的标准储备液, 转入棕色样品瓶中,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。实验中用甲醇稀释上述标准储备液, 配制成不同浓度的混合标准使用液, 于  $4^{\circ}\text{C}$  保存。

## 1.3 样品预处理

称取 2.0 g 牛奶样品于 50 mL 塑料离心管内, 加入 10 mL 含 1.0% (v/v) 甲酸的乙腈溶液和 0.1 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 振荡 1 min, 再加入 4.0 g 无水硫酸钠和 1.0 g 氯化钾, 涡旋混匀 15 s, 超声 15 min, 以 9000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用。另取一 15 mL 离心管, 加入 900 mg 无水硫酸钠, 150 mg Discovery<sup>®</sup> DSC-18 吸附剂, 移入前述上清液 6 mL, 振荡 1 min, 9000 r/min 离心 5 min, 取上清液 1 mL 用于测定。

称取 2.0 g 牛奶空白样品, 每份样品按上述萃取过程进行处理, 所得基质提取液用于稀释标准储备溶液及样品溶液。

## 1.4 色谱-质谱条件

### 1.4.1 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 柱温:  $40^{\circ}\text{C}$ ; 流动相: A 相为乙腈, B 相为 0.1% (v/v) 甲酸水溶液; 流速: 0.4 mL/min。梯度洗脱程序: 0 ~ 2 min 3% A; 2.0 ~ 14.0 min 由 3% A 线性升至 100% A, 保持 1 min, 然后回到初始流动相保持 2.5 min, 准备下一次进样。进样体积 5  $\mu\text{L}$ 。

### 1.4.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源, 正离子模式 (ESI<sup>+</sup>); 离子源温度:  $110^{\circ}\text{C}$ ; 毛细管电压: 3.1 kV; 脱溶剂气温度:  $400^{\circ}\text{C}$ ; 脱溶剂气(氮气)流量: 700 L/h; 锥孔电压: 35 V; 锥孔吹扫气: 50 L/h。采用全信息串联质谱扫描 (MS<sup>E</sup>) 模式, 采集范围:  $m/z$  50 ~ 1000。为保证质量数精度, 以亮氨酸脑啡肽(质量浓度 50  $\mu\text{g/L}$ ,  $m/z$  556.2771) 进行实时校准。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱-质谱分析

本工作根据国内外农药、兽药使用和残留量的相关标准, 选取禁用的或有残留限量规定的药物或其同系物进行测定。最终确定了 42 种常用药物(包括 13 种农药和 29 种兽药), 这些化合物的相对分子质量和理化性质均有所差异。将 42 种目标化合物配制成质量浓度为 2 mg/L 的混合标准溶液。应用超高效液相色谱仪进行色谱分离, Q-TOF 进行质谱信息采集, 设 3 个通道 (Function)。Function 1 和 Function 2 分别为低碰撞能量和高碰撞能量通道。Function 3 为校正通道, 以亮氨酸脑啡肽实时进样以校正外界环境对质量数的偏移。图 1 给出了

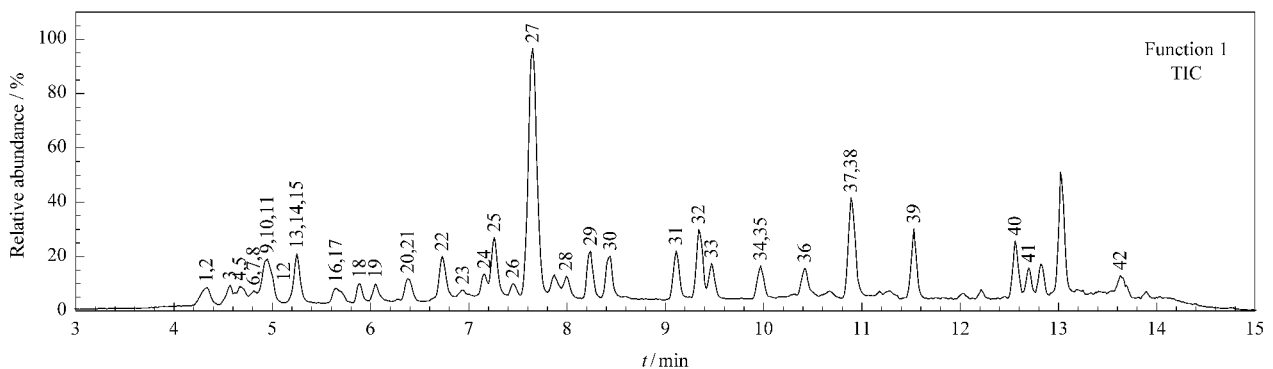


图 1 低碰撞能量下牛奶基质中添加 42 种农药、兽药混合标准液的总离子流 (TIC) 色谱图  
Fig. 1 Total ion current (TIC) chromatogram of the 42 pesticide and veterinary drug standards in milk matrix at the low collision energy

1. sulfamerazine; 2. diaveridine; 3. trimethoprim; 4. ofloxacin; 5. oxytetracycline; 6. sulfadimidine; 7. danofloxacin; 8. ciprofloxacin; 9. sulfamethoxypyridazine; 10. tetracycline; 11. enrofloxacin; 12. chlordimeform; 13. dapson; 14. clenbuterol; 15. sarafloxacin; 16. sulfamethoxazole; 17. chlorotetracycline; 18. carazolol; 19. oxolinic acid; 20. sulfadimethoxine; 21. sulfaquinolaxine; 22. erythromycin; 23. nalidixic acid; 24. flumequine; 25. carbofuran; 26. trenbolone; 27. prometryn; 28. cefpodoxime proxetil; 29. malachite green; 30. propazine; 31. fenamidone; 32. napropamide; 33. mepronil; 34. novobiocin; 35. chlormadinone acetate; 36. pyrazophos; 37. piperophos; 38. dimepiperate; 39. pyriproxyfen; 40. spirodiclofen; 41. bioresmethrin; 42. ivermectin.

牛奶基质提取液中 42 种目标化合物在低碰撞能量下的总离子流图。以扑草净(相对分子质量为 241.1361)为例 图 2b1 是在低碰撞能量( Function 1, 4 V) 下获得的质谱信息  $m/z$  242.1428 对应  $[M+H]^+$  即母离子; 图 2b2 是高碰撞能量( Function 2, 10~35 V) 下的质谱图, 由此可以得到碎片离子信息  $m/z$  200.0973 和  $m/z$  158.0547 分别为母离

子失去一个和两个异丙基的碎片离子。收集 42 种物质的保留时间和质谱信息(见表 1), 建成文本数据库, 通过 Waters 质谱 Masslynx 软件的 Chromlynx 模块分别对低碰撞能量和高碰撞能量下的质谱图与质谱库进行对比, 同时结合保留时间、母离子和碎片离子精确质量数、同位素丰度模型进行确证以保证结果可信。母离子用于定量分析。

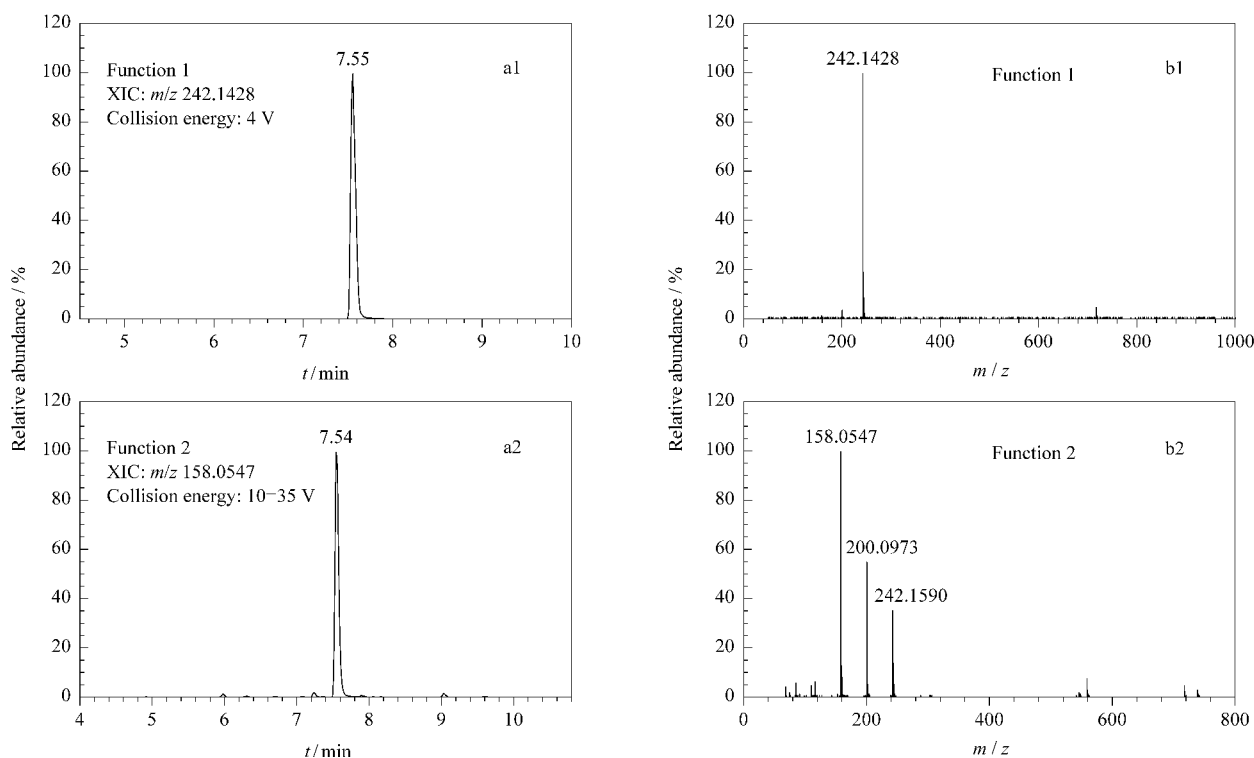


图 2 扑草净在两个通道中的(a1, a2) 提取离子色谱图和(b1, b2) 质谱扫描图  
 Fig. 2 (a1, a2) Extracted ion chromatograms and (b1, b2) their mass spectra of prometryn in two functions

表 1 目标药物的保留时间和质谱采集参数  
 Table 1 Retention times and MS parameters for the analysis of target compounds

Compound	Retention time/min	Parent ion ( $m/z$ )	Fragment ion ( $m/z$ )
Novobiocin (新生霉素)	9.87	613.2401	189.0927, 218.1037, 133.0310
Cefpodoxime proxetil (头孢泊肟酯)	7.79	558.1328	410.0579, 241.0406
Oxytetracycline (土霉素)	4.68	461.1517	426.1161, 337.0714, 201.0555
Chlorotetracycline (金霉素)	5.65	479.1143	444.0862, 462.0970, 154.0552
Tetracycline (四环素)	6.57	445.1595	410.1259, 392.1150
Erythromycin (红霉素)	6.68	734.4720	567.3740, 158.1194, 558.3651
Ivermectin (伊维菌素)	13.56	897.4976*	307.2298, 551.3371
Sulfamerazine (磺胺甲基嘧啶)	4.27	265.0785	172.0190, 108.0467
Sulfadimidine (磺胺二甲嘧啶)	4.77	279.0883	186.0347, 124.0881, 156.0142
Sulfamethoxypyridazine (磺胺甲氧吡嗪)	4.90	281.0690	126.0680, 108.0458
Sulfamethoxazole (磺胺甲噁唑)	5.59	254.0601	108.0462, 92.0508
Sulfamethoxine (磺胺二甲氧吡嗪)	6.31	311.0812	156.0780, 108.0458, 92.0507
Sulfaquinoxaline (磺胺喹噁啉)	6.39	301.0760	108.0457
Trimethoprim (甲氧苄啶)	4.56	291.1463	230.1173, 261.1005, 275.1160
Dapsone (氨苯砜)	5.16	249.0699	108.0412, 156.0109
Ofloxacin (氧氟沙星)	4.65	362.1478	318.1605, 261.1045, 344.1418
Danofloxacin (达氟沙星)	4.81	358.1552	340.1468, 314.1681, 283.1277
Ciprofloxacin (环丙沙星)	4.70	332.1418	314.1280, 288.1499
Enrofloxacin (恩氟沙星)	4.92	360.1715	342.1613, 316.1809, 245.1096

表 1 (续)  
Table 1 (Continued)

Compound	Retention time/min	Parent ion ( $m/z$ )	Fragment ion ( $m/z$ )
Sarafloxacin (沙拉沙星)	5.23	386.1300	299.0999, 342.1416
Oxolinic acid (奥索利酸)	5.96	262.0721	244.0620, 216.0305
Nalidixic acid (萘啶酸)	6.85	233.0930	187.0514, 215.0816, 159.0567
Flumequine (氟甲喹)	7.08	262.0887	244.0772, 202.0309
Clenbuterol (克伦特罗)	5.22	277.0879	132.0699, 203.0143, 168.0468
Carazolol (唑啉心安)	5.82	299.1764	222.0929, 194.0986, 116.1086
Diaveridine (敌菌净)	4.30	261.1357	245.1040, 123.0685, 217.1094
Malachite green (孔雀石绿)	8.23	329.2005	313.1588, 208.1099
Trenbolone (群勃龙)	7.38	271.1715	253.1599, 199.1139, 227.1447
Chlormadinone acetate (醋酸氯地孕酮)	9.88	405.1823	309.1860, 267.1770, 301.1387
Chlordimeform (杀虫脒)	4.93	197.0864	117.0587, 84.9555
Carbofuran (克百威)	7.21	222.1132	123.0424, 165.0891, 244.0961
Prometryn (扑草净)	7.52	242.1438	158.0572, 200.1001
Propazine (扑灭津)	8.38	230.1181	146.0238, 188.0654, 104.0019
Fenamidone (咪唑菌酮)	9.03	312.1171	236.1147, 134.0724
Napropamide (敌草胺)	9.28	272.1656	171.0792, 128.0629, 153.0705
Mepronil (灭锈胺)	9.41	270.1503	119.0496, 91.0546, 228.0987
Pyrazophos (吡菌磷)	10.33	374.0937	222.0871, 194.0571, 238.0641
Piperophos (哌草磷)	10.80	354.1323	142.9394, 196.0768, 170.9322
Dimepiperate (哌草丹)	10.90	286.1245	184.0114, 146.0643
Pyriproxyfen (吡丙醚)	11.44	322.1445	185.0597, 129.0710, 119.0504
Spirodiclofen (螺螨酯)	12.47	433.0949	295.0292
Bioresmethrin (茚虫菊酯)	12.60	339.1953	128.0642, 143.0881, 171.0825

\* The parent ion of ivermectin is  $[M + Na]^+$ , and the others are  $[M + H]^+$ .

## 2.2 前处理条件的选择

传统 QuEChERS 方法常用的提取液为乙腈,脱水用的盐类为无水硫酸镁和氯化钾。本实验中使用乙腈为提取溶剂时,大多数目标化合物的回收率在 50.2% 与 96.5% 之间,而 3 种四环素类抗生素的回收率均较低,土霉素、金霉素和四环素的回收率分别为 1.8%、7.8% 和 18.1%。这可能与该类物质易与牛奶中钙、镁离子螯合形成难溶的盐类有关。为了抑制此类化合物与阳离子的螯合,改善其回收率,在不影响其他目标物回收率的前提下,使用加入  $Na_2EDTA$  的酸性乙腈(含 1% 甲酸)作为提取液;此外,用无水硫酸钠替换无水硫酸镁作为吸水剂,以减少提取液中的镁离子,确保  $Na_2EDTA$  发挥作用。经实验证明,以 10 mL 含 1% 甲酸的乙腈为提取液,并加入 0.1 g  $Na_2EDTA$  后,土霉素、金霉素和四环素的回收率分别为 88.1%、108.9% 和 79.3%,其他化合物的回收率在 78.8% 与 111.5% 之间。

对于牛奶样品来说,去除脂肪和蛋白质的干扰是最重要的。PSA 是一种在高纯硅胶基质上键合 *N*-丙基乙二胺的极性吸附剂,用于去除极性基质,如糖类、脂肪酸和亲脂性色素。C18 对非极性的组分有很强的吸附作用,适合于从非极性到中等极性化合物的吸附。经实验比较,PSA 吸附剂对大多数目标化合物的净化效果较好,而极性较大的四环素、

土霉素、金霉素 3 种四环素类化合物回收率较低,推测这与 PSA 对四环素类抗生素的吸附有关,这种吸附可能是氢键作用的结果,且受基质含水量、pH 值等因素影响<sup>[17]</sup>。与 PSA 相比,C18 吸附剂对包括四环素类化合物在内的所有目标化合物均有较好的回收率,且基质抑制改善明显,故选用 C18 吸附剂进行净化。

为了检验所建立方法的适用性,我们对不同的液奶产品(纯牛奶、原奶、酸奶、高钙奶、低脂奶和巴氏消毒奶)进行了考察,分别在基质效应和回收率两个方面做了比较。取每种样品各 2.0 g,按 1.3 节进行提取,得到 6 种牛奶的基质提取液;加入适量的标准溶液,配制成质量浓度范围为 10 ~ 500  $\mu g/L$  的基质匹配标准溶液,以 1 减去基质匹配曲线与标准曲线的斜率之比的百分数计为基质抑制率。实验结果显示,同一牛奶基质对不同化合物的基质效应有所差别,抑制率在 0 到 50% 之间;但对同一化合物而言,不同品种牛奶的基质效应无明显差异,偏差在 20% 以内,加标回收率(加标水平为 100  $\mu g/kg$ ,  $n = 6$ ) 试验也显示了类似的结果,说明该方法适用于纯牛奶、原奶、酸奶、高钙奶、低脂奶和巴氏消毒奶等多种牛奶的检测。这一点与国外相关文献吻合: Aguilera-Luiz 等<sup>[15]</sup> 利用 QuEChERS 结合 LC-MS/MS 分析建立了牛奶中 18 种兽药的分析技术,他们

通过实验比较发现方法适合于全脂奶、低脂奶和脱脂奶等不同的牛奶样品, 据此, 作者在方法确证实验中选择了低脂奶为代表。根据以上结果, 我们在下面的实验中以纯牛奶为基质进行方法学确证。

### 2.3 方法学确证

#### 2.3.1 标准曲线和定量限

取空白纯牛奶样品, 根据目标农药和兽药在质谱中响应的强弱, 加入不同浓度的混合标准系列, 按 1.3 节样品预处理方法进行提取, 测定提取液中的

目标化合物。以分子离子峰面积  $Y$  对含量  $X$  ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 作标准曲线, 42 种农药、兽药的线性范围及相关系数见表 2。用基质提取液稀释标准曲线的最低浓度, 直到获得每种农药、兽药的信噪比等于  $10(S/N = 10)$  的浓度, 确定其为该化合物的定量限 (LOQ)。如表 2 所示, 42 种目标药物的线性范围为  $1 \sim 2\,000 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 相关系数大于 0.99, LOQ 为  $1 \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ; 对于大多数有最大残留限量 (MRL) 规定的物质来说, 该方法的 LOQ 小于 MRL, 可满足快

表 2 牛奶中 42 种农药、兽药的最高残留限量、定量限、线性范围和相关系数 ( $r$ )  
Table 2 Maximum residue limits (MRL), limits of quantification (LOQ), linear ranges and correlation coefficients ( $r$ ) of the 42 analytes in milk

Compound	MRL* / ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ / ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Linear range / ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$r$
Novobiocin (新生霉素)	100	20	20 - 500	0.9973
Cefpodoxime proxetil (头孢泊肟酯)	-	10	10 - 200	0.9959
Oxytetracycline (土霉素)	100	100	100 - 2000	0.9926
Chlorotetracycline (金霉素)	100	50	50 - 1000	0.9990
Tetracycline (四环素)	100	100	100 - 2000	0.9979
Erythromycin (红霉素)	40	20	50 - 1000	0.9948
Ivermectin (伊维菌素)	10	50	50 - 1000	0.9947
Sulfamerazine (磺胺甲基嘧啶)	100	20	20 - 500	0.9965
Sulfadimidine (磺胺二甲嘧啶)	100	50	50 - 1000	0.9997
Sulfamethoxypyridazine (磺胺甲氧哒嗪)	100	50	50 - 1000	0.9995
Sulfamethoxazole (磺胺甲噁唑)	100	50	50 - 1000	0.9991
Sulfadimethoxine (磺胺二甲氧哒嗪)	100	10	10 - 200	0.9997
Sulfaquinoxaline (磺胺喹噁啉)	100	20	20 - 500	0.9997
Trimethoprim (甲氧苄啶)	0	5	5 - 150	0.9986
Dapsone (氨苯砞)	0	50	50 - 1000	0.9937
Ofloxacin (氧氟沙星)	-	10	10 - 200	0.9966
Danofloxacin (达氟沙星)	30	20	50 - 1000	0.9984
Ciprofloxacin (环丙沙星)	100	2	2 - 1000	0.9938
Enrofloxacin (恩氟沙星)	100	5	5 - 150	0.9943
Sarafloxacin (沙拉沙星)	-	10	10 - 200	0.9991
Oxolinic acid (奥索利酸)	-	10	10 - 200	0.9990
Nalidixic acid (萘啶酸)	-	50	50 - 1000	0.9986
Flumequine (氟甲喹)	50	10	10 - 200	0.9986
Clenbuterol (克伦特罗)	0	10	10 - 200	0.9939
Carazolol (唑啉心安)	-	5	10 - 200	0.9979
Diaveridine (敌菌净)	-	5	5 - 1000	0.9901
Malachite green (孔雀石绿)	0	5	5 - 150	0.9974
Trenbolone (群勃龙)	0	10	10 - 200	0.9983
Chlormadinone acetate (醋酸氯地孕酮)	-	10	10 - 200	0.9974
Chlordimeform (杀虫脒)	0	5	5 - 150	0.9995
Carbofuran (克百威)	0	10	10 - 200	0.9959
Prometryn (扑草净)	-	1	1 - 100	0.9998
Propazine (扑灭津)	-	5	5 - 150	0.9996
Fenamidon (咪唑菌酮)	-	5	5 - 150	0.9987
Napropamide (敌草胺)	-	1	1 - 100	0.9982
Mepronil (灭锈胺)	-	1	1 - 100	0.9985
Pyrazophos (吡菌磷)	-	5	5 - 150	0.9991
Piperophos (哌草磷)	-	1	1 - 100	0.9994
Dimepiperate (哌草丹)	-	20	20 - 500	0.9925
Pyriproxyfen (吡丙醚)	-	5	5 - 150	0.9991
Spirodiclofen (螺螨酯)	-	50	50 - 1000	0.9988
Bioresmethrin (苯呋菊酯)	-	20	20 - 500	0.9973

\* maximum residue limit (MRL) of China.

速筛查的需要。

### 2.3.2 回收率

取空白牛奶样品,添加 3 个不同浓度水平的混合标准溶液,按 1.3 节样品预处理方法进行处理,采用 UPLC-Q-TOF 测定提取液中的目标化合物。每

个浓度水平取 6 份样品进行试验,计算平均回收率及相对标准偏差(RSD) 结果见表 3。牛奶中 42 种农药、兽药的回收率为 68.2%~129.1%,RSD 为 2.8%~30.8%,满足国际上对食品中痕量药物残留检测的需要。

表 3 牛奶中 42 种目标化合物的回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 3 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of the 42 target compounds in milk ( $n=6$ )

Compound	Spiked/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery/ %	RSD/%	Compound	Spiked/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery/ %	RSD/%
Novobiocin (新生霉素)	20	84.0	17.8	Danofloxacin (达氟沙星)	20	89.2	15.4
	40	83.2	19.3		40	97.6	11.6
	100	112.0	14.0		100	106.6	12.1
Cefpodoxime proxetil (头孢泊肟酯)	10	54.9	25.8	Ciprofloxacin (环丙沙星)	2	90.5	6.0
	20	90.7	16.5		4	94.6	17.2
	50	107.2	6.4		10	102.6	5.0
Oxytetracycline (土霉素)	100	91.2	14.2	Enrofloxacin (恩氟沙星)	5	74.3	21.1
	200	88.8	13.0		10	111.4	18.5
	500	87.1	12.7		25	103.7	10.8
Chlorotetracycline (金霉素)	50	78.5	17.1	Sarafloxacin (沙拉沙星)	10	58.0	33.8
	100	90.7	15.0		20	101.7	14.1
	250	81.3	14.1		50	104.1	16.1
Tetracycline (四环素)	100	91.4	14.5	Oxolinic acid (奥索利酸)	10	75.7	26.8
	200	97.7	12.2		20	97.2	5.3
	500	92.7	11.2		50	111.4	8.0
Erythromycin (红霉素)	20	102.4	20.3	Nalidixic acid (萘啶酸)	50	99.8	9.2
	40	90.7	20.6		100	106.5	14.9
	100	84.9	14.2		250	99.7	8.4
Ivermectin (伊维菌素)	50	68.2	30.8	Flumequine (氟甲喹)	10	76.8	13.3
	100	101.8	11.6		20	103.7	13.7
	250	90.4	10.4		50	104.0	13.6
Sulfamerazine (磺胺甲基嘧啶)	20	93.7	8.9	Clenbuterol (克伦特罗)	10	100.5	22.9
	40	103.6	8.4		20	88.5	13.3
	100	99.1	12.6		50	102.6	14.1
Sulfadimidine (磺胺二甲嘧啶)	50	101.0	8.7	Carazolol (卡唑心安)	5	88.6	20.5
	100	98.4	3.9		10	91.1	4.3
	250	101.2	9.2		25	101.0	6.9
Sulfamethoxypyridazine (磺胺甲氧吡嗪)	50	97.3	17.2	Diaveridine (敌菌净)	5	83.7	20.3
	100	98.5	12.9		10	86.4	6.2
	250	102.8	10.4		25	95.9	9.9
Sulfamethoxazole (磺胺甲噁唑)	50	89.8	17.2	Malachite green (孔雀石绿)	5	75.1	10.9
	100	94.8	7.2		10	90.0	9.3
	250	106.8	6.3		25	101.7	6.1
Sulfadimethoxine (磺胺二甲氧吡嗪)	10	82.8	20.9	Trenbolone (群勃龙)	10	83.8	19.5
	20	94.5	11.4		20	102.8	7.5
	50	98.3	13.0		50	97.3	9.3
Sulfaquinoxaline (磺胺喹噁啉)	20	98.3	19.7	Chlormadinone acetate (醋酸氯地孕酮)	10	103.4	23.3
	40	95.6	16.4		20	95.6	17.1
	100	110.6	11.7		50	101.4	12.4
Trimethoprim (甲氧苄啶)	5	76.3	19.5	Chlordimeform (杀虫脒)	5	99.4	26.9
	10	89.4	7.3		10	94.9	7.1
	25	98.3	9.1		25	102.7	8.3
Dapsone (氨苯砜)	50	92.1	13.7	Carbofuran (克百威)	10	84.6	19.9
	100	90.6	7.7		20	103.4	17.5
	250	91.0	6.6		50	111.2	15.2
Ofloxacin (氧氟沙星)	10	95.2	14.9	Prometryn (扑草净)	1	96.2	7.8
	20	89.0	10.0		2	103.9	5.6
	50	101.5	13.9		5	106.9	8.5

表 3 (续)  
Table 3 (Continued)

Compound	Spiked/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery/ %	RSD/%	Compound	Spiked/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery/ %	RSD/%
Propazine (扑灭津)	5	77.9	3.6	Piperophos (哌草磷)	1	94.3	17.0
	10	98.8	9.4		2	105.9	6.7
	25	94.5	7.9		5	129.1	9.3
Fenamidon (咪唑菌酮)	5	80.7	21.0	Dimepiperate (哌草丹)	20	77.5	11.8
	10	99.9	11.4		40	88.2	13.7
	25	102.0	7.8		100	79.4	13.7
Napropamide (敌草胺)	1	87.6	26.9	Pyriproxyfen (吡丙醚)	5	83.3	10.0
	2	93.1	12.9		10	101.4	2.8
	5	111.6	7.5		25	99.2	6.1
Mepronil (灭锈胺)	1	104.4	9.3	Spirodiclofen (螺螨酯)	50	95.1	19.6
	2	95.4	18.6		100	100.4	32.2
	5	103.4	19.3		250	103.9	14.3
Pyrazophos (吡菌磷)	5	93.4	12.7	Bioresmethrin (生物苯呋菊酯)	20	87.6	10.4
	10	103.5	12.6		40	95.8	7.9
	25	110.8	10.7		100	98.9	10.3

## 2.4 方法应用

应用本方法对 54 件市场采集到的液奶样品进行检测,包括 17 件纯牛奶、6 件高钙奶、3 件巴氏消毒奶、6 件低脂奶、20 件调味奶和 2 件酸奶。结果发现一件纯牛奶中检出环丙沙星,含量为 102.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,一件调味奶中检出氧氟沙星,含量为 23.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。为了验证该结果,我们采用国家标准方法《GB/T 21312-2007 动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法:液相色谱-质谱/质谱法》对 2 件阳性样品进行了确证,检测结果分别为 97.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  环丙沙星和 25.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  氧氟沙星,与本文新建方法的测定结果吻合良好。下一步工作将扩大样品采集规模和种类,对可疑样品进行筛查。

## 3 结语

本文利用 QuEChERS 方法提取、净化,结合高分辨的液相色谱-质谱技术,建立了牛奶中 42 种农药、兽药的残留检测方法。本方法快速、简便、灵敏,适用于牛奶中农药、兽药的快速定性确证。

## 参考文献:

[1] Yue Z F, Zhou N Y, Ye W X. Domestic and Foreign Food Safety Evaluation Standard Practical Manual. Beijing: China Labour and Social Security Publishing House (岳振峰,周乃元,叶卫翔. 国内外食品安全限量标准实用手册. 北京: 中国劳动社会保障出版社), 2011

[2] Wu Y L, Zhao L, Liu Y J, et al. Chinese Journal of Chromatography (吴银良,赵莉,刘勇军,等. 色谱), 2007, 25(5):

728

[3] Guo D H, Deng X J, Zhao S Z, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (郭德华,邓晓军,赵善贞,等. 分析化学), 2010, 38(3): 318

[4] Ferrer C, Martínez-Bueno M J, Lozano A, et al. Talanta, 2011, 83: 1552

[5] Zheng J H, Pang G F, Fan C L, et al. Chinese Journal of Chromatography (郑军红,庞国芳,范春林,等. 色谱), 2009, 27(3): 254

[6] Kolberg D I, Prestes O D, Adaimé M B, et al. Food Chem, 2011, 125: 1436

[7] Yang X, Zhang H, Liu Y, et al. Food Chem, 2011, 127: 855

[8] Srolker A A M, Brinkman U A Th. J Chromatogr A, 2005, 1067: 15

[9] Chu X G, Yong W, Ling Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (储晓刚,雍炜,凌云,等. 色谱), 2007, 25(6): 907

[10] Zhao Y S, Yang M L, Zhang F, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵延胜,杨敏莉,张峰,等. 色谱), 2011, 29(7): 631

[11] Orтели D, Cognard E, Jan P, et al. J Chromatogr B, 2009, 877: 2363

[12] Peters R J B, Bolck Y J C, Rutgers P, et al. J Chromatogr A, 2009, 1216: 8206

[13] Wilkowska A, Biziuk M. Food Chem, 2011, 125: 803

[14] Kinsella B, Lehotay S J, Mastovska K, et al. Anal Chim Acta, 2009, 637: 196

[15] Aguilera-Luiz M M, Vidal J L M, Romero-González R, et al. J Chromatogr A, 2008, 1205: 10

[16] Whelan M, Kinsella B, Furey A, et al. J Chromatogr A, 2010, 1217: 4612

[17] Tsai W H, Huang T C, Huang J J, et al. J Chromatogr A, 2009, 1216: 2263