

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定牦牛肉中多种抗生素残留

李增明^{a,b}, 解玉龙^{*a,c}, 马春光^b

(青海民族大学 a.化学化工学院, b.西宁市疾病预防控制中心,

c.青海省纳米材料与技术重点实验室, 青海 西宁 810007)

摘要:建立了用氨基化多壁碳纳米管和 C18 作为净化剂,用超高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定牦牛肉中四环素类、喹诺酮类和磺胺类等 31 种抗生素残留的方法,牦牛肉经过均质,然后用 2 mL (0.1 mol/L) Na₂EDTA-McIlvaine 试剂和 8 mL 乙腈超声提取,离心提取上清液后用 QuEChERS (氨基化多壁碳纳米管和 C18 作为净化剂) 法净化,浓缩定容后用 Waters ACQUITY UPLCTM BEH C18 柱分离,电喷雾正离子模式 (ESI⁺) 电离,多反应离子监测 (MRM) 采集信号,外标法定量。研究表明:31 种抗生素残留在 1~200 μg/kg 的线性范围内有良好线性关系 ($r>0.995\ 0$)。方法的检出限和定量限分别为 0.06~0.77 和 0.18~2.31 μg/kg。空白加标样品在 20、100 和 200 μg/kg 3 个浓度水平时,31 种兽药残留平均回收率为 63%~126%,相对标准偏差为 0.69%~11.5% ($n=6$),方法快捷简单,方法重现性好、准确度高,适合对牦牛肉中残留的 31 种抗生素进行分析检测。

关键词: 抗生素残留; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱; 牦牛肉; 净化剂

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2024) 06-0099-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0832

Determination of Veterinary Drug Residues in Yak Meat by QuEChERS-Ultra High Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Li Zeng-ming^{a,b}, XIE Yu-long^{*a,c}, MA Chun-guang^b (a.School of Chemistry and Chemical Engineering, b.Xining Center for Disease Control and Prevention, c.Key Laboratory of Nanomaterials and Technology in Qinghai Province, Qinghai Minzu University, Xining 810007, China)

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS) method was established for the simultaneous and rapid determination of 31 kinds of antibiotics residues of tetracycline, quinolone and sulfonamides in yak meat by using amination multi-wall carbon nanotubes and C18 as purification agent. Then, 2 mL (0.1 mol/L) Na₂EDTA-McIlvaine reagent and 8 mL acetonitrile were ultrasonically extracted, the supernatant was centrifuged and purified by QuEChERS (amination multi-wall carbon nanotubes and C18 as purification agent) method. After concentration and volume determination, the Water ACQUITY UPLCTM BEH C18 column was used for separation, electrospray positive ion mode (ESI⁺) ionization, multiple reactive ion monitoring (MRM) signals were collected and quantified by external standard method. The results showed that the residues of 31 antibiotics had a good linear relationship in the linear range of 1~200 μg/kg ($r>0.995\ 0$). The limits of detection and quantification were 0.06~0.77 and 0.18~2.31 μg/kg, respectively. The average recovery of 31 veterinary drugs was 63%~126% and the relative standard deviation was 0.69%~11.5% ($n=6$) at the concentration of 20, 100 and 200 μg/kg blank labeled samples. The method was fast and simple, with good reproducibility and high accuracy, which was suitable for the analysis and detection of 31 kinds of antibiotics in yak meat.

Key words: antibiotic residue; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass (UPLC-MS); yak meat; purification agent

牦牛生活在青藏高原的高海拔地区,是高寒地区独有的畜牧品种^[1],我国是牦牛的发源地,也是世界上牦牛数量最多的国家^[2],分布在青海、西藏、四川、甘肃等地^[2],其肉具有“肉类之

收稿日期:2023-12-24;网络首发日期:2024-03-22

基金项目:青海省应用基础研究项目 (2024-ZJ-787)。

作者简介:李增明 (1991-),男,青海西宁人,硕士生,主管理化检验技师,主要研究方向为食品检测。

通讯作者:解玉龙, E-mail: yulongxie2012@126.com。

引用本文:李增明,解玉龙,马春光.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定牦牛肉中多种抗生素残留[J].化学试剂,2024,46(6):99-106。

冠”的美称^[3],富含丰富的蛋白质和氨基酸,具有较高的食用品质和营养价值^[4]。因牦牛的栖息地生态自然环境好,污染较少,因此牦牛肉成为绝佳的“绿色健康食品”^[5]。随着当地畜牧业的发展,越来越多的人开始圈养牦牛^[6],饲养牦牛过程中为了提高出栏率,缩短饲养的周期,降低染病率,在养殖过程中大量使用抗生素,各种抗生素超标的事件层出不穷,滥用抗生素对人体健康带来显著的不良影响^[7]。

QuEChERS 前处理是在分散固相萃取技术基础上发展起来的一种新型前处理方法^[8],具有经济环保、快速简单、安全可靠等优点^[9]。随着技术的发展,改良后的 QuEChERS 法广泛应用于农药和兽药残留的分析与检测^[10]。由于样品中基质的干扰因素与目标化合物物理化学性质各异,合理地选用和开发不同的基质吸附剂是重点研究对象。

目前在农药和兽药残留检测中较为成熟的基质净化剂主要有 C18^[11]、PSA^[12]、NH₃^[13]和碳纳米材料^[14]等。其中,碳纳米管及其复合材料因其优异的吸附性能和较高的比表面积被广泛应用于农药残留及兽药残留的净化过程^[15]。碳纳米管有多壁碳纳米管和单壁碳纳米管,其中氨基化多壁碳纳米管具有特殊的性质^[16],大量微小的空腔管道状结构,展现出强大的吸附性能^[17]。利用氨基化多壁碳纳米管预处理加快了样品制备过程,可实现高通量分析,已广泛应用于残留分析领域^[18]。

本文采用超高效液相色谱串联质谱法对牦牛肉中的 4 种四环素类抗生素、12 种喹诺酮类抗生素、15 种磺胺类抗生素进行测定。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

XEVO-TQS Cronos 型超高效液相色谱-质谱联用仪(美国 Waters 公司);DCY 型氮吹仪(北京安博科技有限公司);120S 型电子天平(德国 Sartorius 公司);KQ-800KDE 型数控高功率超声波清洗器(昆山仪器超声有限公司);5910R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);VORTEX3 型漩涡振荡仪(德国 IKA 公司);0.22 μm 微孔滤膜(安捷伦科技有限公司);5 mL 无菌注射器(圣光医用制品股份有限公司)。

四环素类、喹诺酮类、磺胺类标准品(上海安

谱标准品技术服务公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国默克公司);无水硫酸钠、无水硫酸镁、氯化钠、柠檬酸、磷酸氢二钠、Na₂EDTA·2H₂O(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);氨基化多壁碳纳米管(纯度 99%,直径 8~20 nm,管长 5~20 nm,广州宏武新材料科技有限公司);甲酸(色谱纯)、PSA 粉、C18、NH₃ 吸附剂(北京迪马科技有限公司);超纯水(美国 Millipore 公司)。

牦牛肉来自实验室日常检测样本。

1.2 方法

1.2.1 基质匹配标准曲线的制备

100 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准储备溶液制备:分别精确称取 1 mg 31 种目标化合物,在 10 mL 棕色容量瓶中用甲醇定容至刻度线,摇匀即可。

1 000 $\mu\text{g/L}$ 混合标准中间液制备:准确吸取 1 mL(100 $\mu\text{g/mL}$)标准储备溶液,在 100 mL 棕色容量瓶中用甲醇定容至刻度线,摇匀即可。

200 $\mu\text{g/L}$ 混合标准使用液制备:准确吸取 2 mL(1 000 $\mu\text{g/L}$)混合标准中间液在 10 mL 棕色容量瓶中用初始流动相定容至刻度线,摇匀即可。

空白基质制备:将 1 份未含目标化合物的样品提取净化后制得。

初始流动相:95% A(0.1%甲酸水)+5% B(含 0.1%甲酸的 V(甲醇):V(乙腈)=2:8)。

空白基质标准系列配制:准确吸取 5、50、100、250、400、500、750 和 1 000 μL (200 $\mu\text{g/L}$)混合标准使用液于 1 mL 进样小瓶中,把 1 mL 提取后的空白基质分别加入到进样小瓶中,然后在 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下氮气吹干,加 1 mL 初始流动相,涡旋溶解震荡混匀后即得到 1、10、20、50、80、100 和 200 $\mu\text{g/L}$ 的空白基质标准溶液。

1.2.2 样品的制备及提取

称取 2.0 g 经过匀浆后的牦牛肉样品于 50 mL 离心管中,然后加入 2 mL(0.1 mol/L) Na₂EDTA-McIlvaine 试剂,涡旋 30 s,加入 8 mL 乙腈,加入 4 g 无水硫酸钠和 1 g 氯化钠,迅速涡旋 5 min,超声 20 min(温度不超过 40 $^{\circ}\text{C}$),速率 5 000 r/min,温度低于 5 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,按以上步骤重复提取一次合并上清液,待净化。

1.2.3 样品的净化

氨基化多壁碳纳米管对四环素类和喹诺酮类有吸附,因此分两组净化,A1 组:四环素类和喹诺酮类,移取 5 mL 上清液于 15 mL 含 200 mg C18、150 mg 无水硫酸钠的离心管中,涡旋 10 min,超

声 20 min,以 4 000 r/min 离心 15 min,准确移取 5 mL 上清液,在 40 ℃ 水浴条件下氮气吹干。A2 组:磺胺类,移取 5 mL 上清液于 15 mL 含 150 mg 无水硫酸镁、100 mg 氨基化多壁碳纳米管的离心管中,涡旋 10 min,超声 20 min,以 4 000 r/min 离心 15 min,准确移取 5 mL 上清液,在 40 ℃ 水浴中用氮气吹干。两组样品分别用 0.5 mL 初始流动相超声溶解,过 0.22 μm 滤膜后在超高相液相色谱串联质谱仪上机测定。

1.2.4 色谱及质谱条件

1.2.4.1 色谱条件

色谱柱:Waters ACQUITY UPLCTM BEH C18 柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流速:0.3 mL/min;柱温:30 ℃;进样体积:10 μL;流动相:A:0.1%甲酸水,B:含 0.1%甲酸的 V(甲醇):V(乙腈)=2:8 梯度洗脱,梯度列表见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Tab.1 Mobile phase gradient elution procedure		
时间/min	A 相/%	B 相/%
0	95	5
2.0	85	15
5.0	60	40
7.0	5	95
7.1	95	5
9.0	95	5

1.2.4.2 质谱条件

离子化模式:电喷雾正离子模式(ESI⁺);质谱扫描方式:多反应离子检测(MRM);毛细管电压:2.0 kV;离子源温度:150 ℃;脱溶剂气温度:450 ℃;脱溶剂气流量:800 L/Hr;其他质谱参数见表 2。

表 2 31 种抗生素残留药物主要参考质谱参数

Tab.2 Main reference mass spectrum parameters of 31 residual antibiotics					
序号	化合物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/V	锥孔电压/V
1	四环素	445.1	428.3 410.3	15 15	20
2	金霉素	479.1	444.2 462.2	20 25	25
3	土霉素	461.1	426.3 443.2	15 10	25
4	多西环素	445.1	428.2 410.2	15 15	25
5	培氟沙星	320.1	302.2 233.2	10 10	10

续表

序号	化合物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/V	锥孔电压/V
6	环丙沙星	332.1	314.2 245.2	20 25	30
7	洛美沙星	352.1	265.2 308.3	20 15	30
8	恩诺沙星	360.2	316.3 342.3	20 15	35
9	达氟沙星	358.2	96.05 340.3	15 15	35
10	氧氟沙星	362.1	261.2 318.3	20 15	20
11	氟甲喹	262.0	202.0 244.0	15 25	20
12	诺氟沙星	332.1	231.2 203.2	30 35	30
13	二氟沙星	400.2	356.2 299.2	20 25	20
14	磺胺甲噁唑	254.0	92.0 108.0	25 25	20
15	磺胺二甲嘧啶	279.0	124.0 186.1	25 15	20
16	磺胺甲基嘧啶	265.0	156.0 92.0	15 30	20
17	磺胺间二甲氧嘧啶	311.0	156.0 92.0	20 30	20
18	磺胺间甲氧嘧啶	281.0	156.0 92.0	15 30	20
19	依诺沙星	321.1	303.2 234.0	15 20	20
20	麻保沙星	363.1	72.0 320.0	20 10	20
21	沙拉沙星	386.2	342.2 299.1	15 25	30
22	磺胺甲噻二唑	271.0	92.0 156.0	30 10	25
23	磺胺二甲异噁唑	268.0	92.0 156.0	25 10	25
24	磺胺苯吡唑	315.0	158.0 92.0	25 30	25
25	磺胺氯哒嗪	285.0	156.0 92.0	10 30	25
26	磺胺甲氧哒嗪	281.0	156.0 92.0	10 30	25
27	苯酰磺胺	277.0	108.0 156.0	20 10	25
28	磺胺噻唑	256.0	92.0 156.0	20 10	25

续表

序号	化合物名称	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞 能量/V	锥孔 电压/V
29	磺胺吡啶	250.0	156.0 108.0	10 25	25
30	磺胺对甲氧嘧啶	281.0	92.0 156.0	30 15	20
31	磺胺嘧啶	251.0	92.0 156.0	25 15	15

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的选择和优化

2.1.1 提取剂的选择

本研究中涉及的 31 种抗生素包含四环素类、喹诺酮类、磺胺类等化合物,种类多,化学性质和结构差异较大。乙腈是一种常用的提取试剂,对于目标化合物有较高的提取效率^[19],由于四环素类目标化合物在乙腈中的溶解效率比较差,用乙腈提取后其回收率均小于 15%^[20]。通常在酸性条件下用 Na₂EDTA-McIlvaine^[21] 试剂提取喹诺酮类化合物和四环素类化合物提取效率将会升高^[22]。经过多次的实验后发现乙腈与 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液以一定的比例混合后,提取效率升高。在本实验中对提取试剂缓冲溶液和乙腈的比例的不同和回收率进行了对比,结果发现 $V(0.1 \text{ mol/L Na}_2\text{EDTA-McIlvaine 试剂}):V(\text{乙腈}) = 1:16$ 时,四环素类化合物的回收率 <40%;在 $V(\text{缓冲溶液}):V(\text{乙腈}) = 2:16$ 时,四环素类化合物的回收率能提高到 85% 以上;缓冲溶液和乙腈的体积比升高到 3:16 和 4:16 时,四环素类化合物回收率和 2:16 时无明显差别。加入的 Na₂EDTA-McIlvaine 试剂过多,对后续净化过程中的除水工作增加困难,导致目标化合物的回收率减少,因此本研究选择 16 mL 乙腈和 2 mL (0.1 mol/L) Na₂EDTA-McIlvaine 试剂混合溶液作为提取剂。

2.1.2 除水剂的选择

本实验中使用的除水剂分别为无水硫酸镁、无水硫酸钠、氯化钠。四环素类化合物容易与金属阳离子 Mg²⁺ 结合而形成配合物^[23],因此,在检测四环素类化合物时,不采用无水硫酸镁进行除水。氯化钠能分层去除水分^[24],四环素类化合物易溶于水,导致回收率降低。在振荡混合后无水硫酸钠用量小于 6 g 时,出现分层现象,四环素类

化合物、喹诺酮类化合物等水溶性化合物的回收率有所降低。当无水硫酸钠的用量减少时,分层较为明显,目标化合物回收率降低,无水硫酸钠用量增加时,目标化合物回收率升高。当无水硫酸钠用量为 8 g 时,可脱除约 75% 的水分。再增加无水硫酸钠的用量,目标化合物的回收率无明显变化。第一步除水后,离心所得上清液各取 5 mL 分两组净化,A1 组净化四环素类化合物和喹诺酮类化合物,用 150 mg 无水硫酸钠即可除去大部分的水。A2 组净化磺胺类化合物,用 150 mg 无水硫酸镁可基本去除全部的水分。

2.1.3 净化剂的选择

本研究对比了氨基化多壁碳纳米管、PSA、C18 和 NH₃ 这 4 种净化剂对 31 种目标化合物的净化效果。通过前处理步骤获得待净化的提取液,用该溶液配制 40 μg/L 的标准溶液,各取 5 mL,分别加入 25、50、100、150、200 和 300 mg 上述净化剂,净化后取样进行液相色谱-串联质谱检测。NH₃ 净化剂有较好的净化效果,但是同时会在磺胺类药物中引入新的干扰峰,对目标化合物的定性产生影响,因此可以排除。氨基化多壁碳纳米管加入 50 mg 时,四环素类和喹诺酮类化合物回收率均 <50%,加入 100 mg 时四环素类和喹诺酮类回收率仅为 10%~25%,磺胺类平均回收率高达 85%,C18 能够吸附脂肪等强疏水性干扰物,研究表明 C18 加入量为 50 mg 时磺胺类药物的回收率仅为 10%~30%,加入量为 100 mg 时,四环素类和喹诺酮类平均回收率为 75%,加入 200 mg 时四环素类和喹诺酮类平均回收率为 84%,PSA 粉能够去除一些极性干扰物质^[25],加入量为 100 mg 时即对 3 类化合物有明显的吸附作用,吸附剂为 100 mg 时的平均提取回收率如图 1 所示。

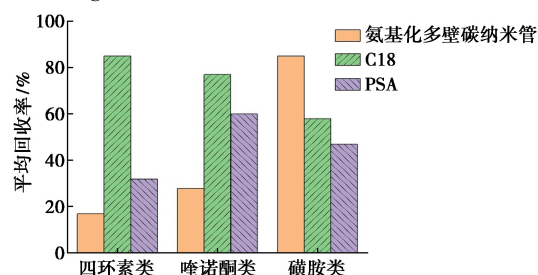
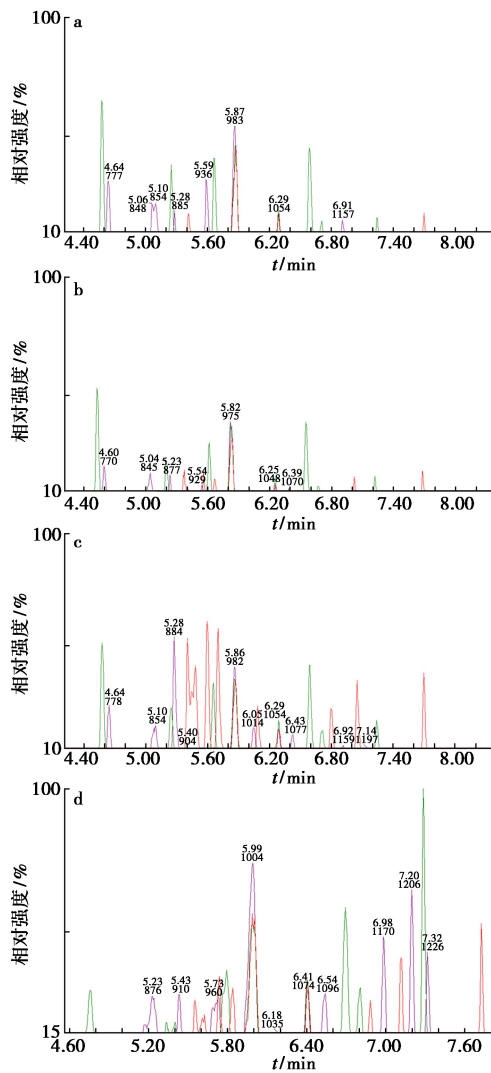


图 1 3 种净化剂平均提取回收率

Fig.1 Average extraction recovery of 3 kinds of adsorbents

综上所述,可以分组进行净化,A1 组:200 mg 的 C18+150 mg 无水硫酸钠净化,A2 组:100 mg

氨基化碳纳米管+150 mg 无水硫酸镁净化,各净化剂净化总离子流图如图 2 所示。



a.PSA 粉净化总离子流图;b.200 mg C18 净化总离子流图;
c.100 mg 氨基化碳纳米管净化总离子流图;
d.分组净化合并后总离子流图

图 2 不同净化试剂总离子流图

Fig.2 Total ion flow diagram of different purification reagents

2.2 方法确认

2.2.1 线性关系及检出限

采用样品空白基质和标准工作液进行标准曲线的制作。以目标化合物定量离子的峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标绘制空白基质曲线,得到线性回归方程。所有目标化合物相关系数 $r>0.9950$,表明目标化合物在相应的浓度范围内线性关系良好。31 种抗生素的检出限为 $0.06\sim0.77\text{ }\mu\text{g/kg}$,定量限为 $0.18\sim2.31\text{ }\mu\text{g/kg}$ (表 3)。

表 3 31 种目标化合物线性关系、检出限及定量限

Tab.3 Linear relationships,detection limits and quantitative limits of 31 target compounds

序号	抗生素名称	线性回归方程	相关系数 (<i>r</i>)	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
1	四环素	$y=199.532x+1959.61$	0.999 6	0.53	1.60
2	金霉素	$y=56.5841x-35.371$	0.999 3	0.53	1.58
3	土霉素	$y=137.464x+164.985$	0.998 3	0.37	1.12
4	多西环素	$y=235.237x+1150.99$	0.999 2	0.45	1.36
5	培氟沙星	$y=141.584x+311.883$	0.998 7	0.24	0.72
6	环丙沙星	$y=93.6484x+108.127$	0.996 3	0.70	2.09
7	洛美沙星	$y=329.817x+2290.45$	0.997 4	0.17	0.51
8	恩诺沙星	$y=198.4x+2987.97$	0.997 8	0.66	1.97
9	达氟沙星	$y=128.936x+349.911$	0.998 4	0.43	1.30
10	氧氟沙星	$y=354.29x+2442.47$	0.996 1	0.52	1.55
11	氟甲喹	$y=419.619x+1795.67$	0.996 5	0.24	0.72
12	诺氟沙星	$y=255.65x-169.385$	0.997 6	0.32	0.97
13	二氟沙星	$y=100.03x+1247.44$	0.996 7	0.52	1.55
14	磺胺甲噁唑	$y=362.265x+5600.4$	0.996 3	0.18	0.54
15	磺胺二甲嘧啶	$y=675.785x+239.296$	0.997 4	0.16	0.47
16	磺胺甲基嘧啶	$y=358.753x+47.004$	0.997 1	0.36	1.07
17	磺胺间二甲氧嘧啶	$y=850.035x+310.86$	0.998 3	0.08	0.25
18	磺胺间甲氧嘧啶	$y=916.864x+659.178$	0.996 5	0.11	0.33
19	依诺沙星	$y=168.172x-28.6865$	0.998 1	0.52	1.55
20	麻保沙星	$y=545.184x+2106.7$	0.997 2	0.29	0.88
21	沙拉沙星	$y=149.433x+937.447$	0.999 3	0.34	1.03
22	磺胺甲噻二唑	$y=277.862x+184.279$	0.996 0	0.14	0.41
23	磺胺二甲异噁唑	$y=483.882x+101.792$	0.998 4	0.06	0.19
24	磺胺苯吡唑	$y=391.784x+225.999$	0.997 8	0.09	0.26
25	磺胺氯哒嗪	$y=442.306x-150.996$	0.996 4	0.07	0.21
26	磺胺甲氧哒嗪	$y=879.36x+84.6367$	0.998 4	0.23	0.70
27	苯酰磺胺	$y=730.934x+256.819$	0.998 0	0.40	1.19
28	磺胺噻唑	$y=305.426x-59.4893$	0.997 0	0.77	2.30
29	磺胺吡啶	$y=398.752x-80.8133$	0.998 4	0.77	2.31
30	磺胺对甲氧嘧啶	$y=1009.35x+339.909$	0.999 6	0.06	0.18
31	磺胺嘧啶	$y=319.414x+94.5187$	0.995 5	0.44	1.31

2.2.2 回收率及精密度

在牦牛肉空白样品中分别添加 20、100 和 $200\text{ }\mu\text{g/kg}$ 水平的标准物质,分别进行 6 次平行添加回收试验,以标准曲线定量,结果见表 4,四环素类的回收率范围为 $67.0\%\sim126.0\%$,相对标准偏差范围为 $2.11\%\sim10.10\%$,喹诺酮类的回收率为 $63.0\%\sim111.0\%$,相对标准偏差范围为 $0.69\%\sim$

11.50%,磺胺类的回收率为 64.4%~111.0%,相对标准偏差范围为 1.44%~8.71%,结果表明该方法具有良好的回收率和重复性。

表 4 目标化合物加标回收率及精密度

Tab.4 Recovery rate and precision of target compounds

序号	抗生素名称	加标量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	平均 回收率/%	RSD/ %
1	四环素	20	106.0	5.52
		100	78.9	5.83
		200	80.3	4.78
2	金霉素	20	97.0	10.10
		100	70.7	6.22
		200	73.3	5.99
3	土霉素	20	126.0	8.29
		100	74.7	5.60
		200	67.0	5.09
4	多西环素	20	100.0	7.55
		100	69.6	6.82
		200	69.6	2.11
5	培氟沙星	20	100.0	9.10
		100	83.2	9.99
		200	82.8	3.14
6	环丙沙星	20	92.6	12.50
		100	70.6	6.95
		200	88.1	3.18
7	洛美沙星	20	95.9	6.00
		100	84.0	3.72
		200	88.5	1.18
8	恩诺沙星	20	82.4	10.40
		100	73.7	3.23
		200	84.0	7.22
9	达氟沙星	20	90.8	11.50
		100	88.3	8.58
		200	100.0	4.49
10	氧氟沙星	20	83.8	7.08
		50	91.3	3.57
		100	93.0	2.91
11	氟甲喹	20	87.0	10.00
		100	109.0	4.54
		200	90.0	5.63
12	诺氟沙星	20	96.4	8.40
		100	78.5	2.87
		200	88.4	3.91
13	二氟沙星	20	87.1	10.60
		100	78.1	9.82
		200	84.6	4.18
14	磺胺甲噁唑	20	111.0	5.44
		100	97.5	3.93
		200	71.3	3.71
15	磺胺二甲噁唑	20	109.0	3.47
		100	99.5	3.23
		200	66.4	2.33

续表

序号	抗生素名称	加标量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	平均 回收率/%	RSD/ %
16	磺胺甲基噁唑	20	112.0	7.84
		100	82.6	8.71
		200	64.4	4.13
17	磺胺间二甲氧噁唑	20	104.0	4.34
		100	97.4	2.40
		200	72.0	2.49
18	磺胺间甲氧噁唑	20	111.0	5.75
		100	90.9	5.15
		200	65.4	3.80
19	依诺沙星	20	98.2	9.69
		100	63.0	0.69
		200	80.4	3.03
20	麻保沙星	20	106.0	6.10
		100	86.8	6.83
		200	71.8	2.88
21	沙拉沙星	20	93.3	3.62
		100	89.2	5.16
		200	66.9	3.83
22	磺胺甲噻二唑	20	109.0	3.45
		100	76.3	8.02
		200	129	3.07
23	磺胺二甲异噁唑	20	106.0	2.58
		100	99.5	6.75
		200	75.4	3.01
24	磺胺苯吡唑	20	96.6	4.65
		100	84.2	5.55
		200	72.8	5.41
25	磺胺氯吡嗪	20	100.0	2.88
		100	73.0	6.36
		200	68.8	2.21
26	磺胺甲氧吡嗪	20	105.0	7.33
		100	78.6	3.39
		200	69.7	1.49
27	苯酰磺胺	20	107.0	3.66
		100	95.7	1.33
		200	70.3	1.47
28	磺胺噻唑	20	84.9	4.79
		100	83.7	3.00
		200	75.3	3.15
29	磺胺吡啶	20	80.3	3.60
		100	75.5	1.44
		200	75.1	8.10
30	磺胺对甲氧噁唑	20	102.0	2.47
		100	77.8	1.79
		200	73.5	3.55
31	磺胺嘧啶	20	79.4	5.78
		100	77.3	2.44
		200	77.7	1.62

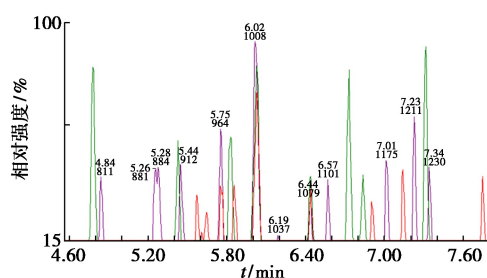
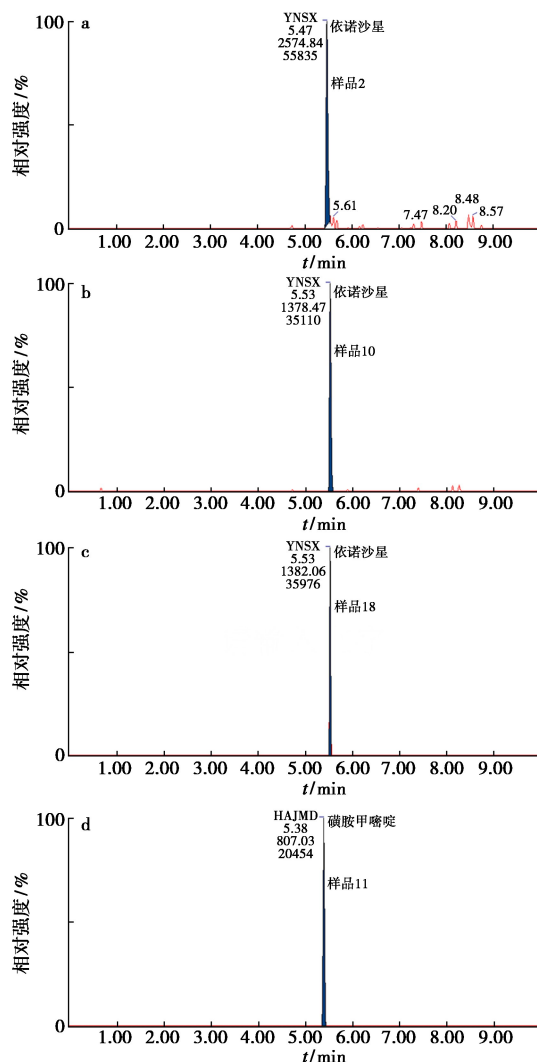


图 3 加标 20 µg/kg 样品总离子流图

Fig.3 Total ion flow of the sample labeled 20 µg/kg

2.3 实际样品的检测

本研究采集了 50 份牦牛肉作为实际样品,牦牛肉均采自于西宁市四区的各大农贸市场,同时作空白样品加标样(100 µg/kg)进行质量控制,结



a.2 号样品依诺沙星片段离子色谱图;b.10 号样品依诺沙星片段离子色谱图;c.18 号样品依诺沙星片段离子色谱图;d.11 号样品依诺沙星片段离子色谱图

图 4 阳性样品碎片离子色谱图

Fig.4 Ion chromatogram of positive sample fragments

果显示 2、10、18 号样品依诺沙星为 15.5、8.4、8.4 µg/kg,11 号样品磺胺甲噁唑 2.1 µg/kg,阳性样本碎片离子色谱图如图 4 所示,根据国标 GB 31650—2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》^[26]均小于国家限量。

3 结论

本研究建立了基于氨基化多壁碳纳米管的 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱技术测定牦牛肉中 31 种抗生素残留的方法,具有样品前处理快速简捷、检测分析结果灵敏度高,准确度高,适用于牦牛肉中多种兽药残留的检测。该方法能够满足牦牛肉中兽药残留相关安全检测要求,为动物源食品兽药残留检测提供方法参考。

参考文献:

- [1] 张强,俄广鑫,平措占堆,等.中国牦牛资源开发利用研究进展[J].动物营养学报,2023,35(12):7492-7518.
- [2] 黄纯,阎萍,梁春年.中国牦牛种业现状与发展方向[J].中国畜禽种业,2023,19(7):121-127.
- [3] 周莉.青藏高原草原畜牧业绿色发展研究[D].成都:四川大学,2022.
- [4] 加拉.西藏农牧区牦牛疫病防控对策[J].中兽医学杂志,2022,(7):37-39.
- [5] 张雪丹.青海雪多牦牛乳的营养成分及特殊功能性组分研究[D].天津:天津科技大学,2022.
- [6] 廖阳慈,李蕊蕊,索朗斯珠,等.西藏自治区牦牛生产现状和趋势分析[J].中国畜禽种业,2023,19(6):72-79.
- [7] 农业农村部.四川省兽用抗菌药使用减量化行动实施方案(2021—2025 年)[J].四川畜牧兽医,2022,49(1):56-59.
- [8] CARVALHO D M, LUIZ N P, SMGUIURA C E, et al. Pesticide residues in dry herbs used for tea preparation by UHPLC-MS/MS: Method validation and analysis[J]. J. Food Compos. Anal., 2024, 125: 85-93.
- [9] ALKA K, BHASWATI B, TRIPTI A, et al. Method development and validation for acrylamide in potato cutlet by UHPLC-MS/MS[J]. Food Control, 2023, 151: 116-128.
- [10] 赵广丽,张悦,孙大妮,等.分子印迹技术用于抗生素残留检测的研究进展[J].化学试剂,2022,44(9):1350-1359.
- [11] 杨松,刘尚可,张俊杰,等.新型介孔材料-QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法检测茶叶中 10 种农药

- 残留[J].分析化学,2021,**49**(5):830-837.
- [12] YAN D, SUPTA D, JOHN P, et al. Simultaneous detection of pesticides and pharmaceuticals in three types of bio-based fertilizers by an improved QuEChERS method coupled with UHPLC-q-TOF-MS/MS[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2023, **458**:131 992-131 992.
- [13] XIANG S Z, DAN L, LEI Z, et al. Development and optimization of a method based on QuEChERS-dSPE followed by UPLC-MS/MS for the simultaneous determination of 21 mycotoxins in nutmeg and related products[J]. *Microchem. J.*, 2021, **168**:143-151.
- [14] 许芮菡, 谢倩文, 李旭军, 等. 基于多壁碳纳米管改进 QuEChERS 法结合气相色谱-串联质谱检测茶叶中 10 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 色谱, 2022, **40**(5): 469-476.
- [15] MIN L, PENG X W, XU Z, et al. Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multi-walled carbon nanotubes as a clean-up adsorbent for the analysis of heterocyclic aromatic amines in braised sauce beef[J]. *Foods*, 2022, **12**(1):138-146.
- [16] 陈泽宇, 刘静, 蒲春生, 等. 表面活性剂分散多壁碳纳米管机理及性能评价[J]. 精细化工, 2022, **39**(2): 269-275;410.
- [17] 赵兴兴, 于水利, 王哲. 氧氟沙星在碳纳米管上的吸附机制研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(2):663-668.
- [18] HAO Z, MEI Y Z, QIAN Q C, et al. Determination of amphenicol antibiotic residues in aquaculture products by response surface methodology modified QuEChERS method combined with UPLC-MS/MS[J]. *Microchem. J.*, 2023, **190**:68-76.
- [19] 郭添荣, 吴文林, 万渝平, 等. HLB 净化/高分辨液质联用法快速筛查动物肝脏中 45 种兽药残留[J]. 中国食品学报, 2022, **22**(7):287-299.
- [20] 郭海霞, 肖桂英, 张喜庆, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 121 种兽药[J]. 色谱, 2015, **33**(12):1 242-1 250.
- [21] 杨艳梅, 李晋栋, 秦曙. QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱法同时检测土壤中的农药及抗生素残留[J]. 分析测试学报, 2023, **42**(7):808-816.
- [22] 王立丹. QuEChERS 结合超高效液相色谱-高分辨质谱法测定畜禽产品中兽药残留的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [23] 马凯, 杨昌彪, 崔姗姗, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定豆芽中 96 种药物残留[J]. 食品与发酵工业, 2023, **49**(12):251-261.
- [24] 洪妍妍, 陈海玲, 王翠玲, 等. 样品前处理 QuEChERS 法及新型吸附材料在水产品中抗生素残留分析中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, **13**(21):6 898-6 906.
- [25] 连玉晶, 周一冉, 孙欣, 等. 基于胺基功能化磁性纳米粒子改进 QuEChERS 方法结合 GC-MS/MS 检测果蔬中 7 种农药残留[J]. 食品科学, 2021, **42**(4):297-304.
- [26] 王鹤佳, 郝利华, 谷红, 等. 《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》(GB 31650—2019) 的解读[J]. 中国兽药杂志, 2021, **55**(10):64-72.