

LC-MS/MS 法测定禽蛋中 107 种禁用兽药残留量

LCMSMS-658

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用系统测定禽蛋中 107 种禁用兽药残留量的方法。107 种禁用兽药共分为两组，在 0.5~20 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.997 以上。在高、中、低三个基质标样浓度下，峰面积 RSD% 在 85.2%~113.8% 之间，仪器精密度良好。在 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{g/kg}$ 加标浓度下，76% 以上的化合物回收率在 50%~120% 之间。该方法灵敏度高，结果准确，适用于禽蛋中多种禁用兽药的测定。

关键词：三重四极杆质谱 禽蛋 兽药

作为禽蛋产能大国，我国禽蛋产量占全世界的 39.6%。我国禽蛋养殖产业多采用小规模、高密度的养殖方式，但生物安全控制措施难以到位，导致家禽普遍遭受多重感染、混合感染，加大了安全监督的困难。同时，某些不良养殖户存在用药不规范、多种抗生素联合使用等现象，为禽蛋产品中兽药残留埋下了安全隐患。

目前，抗菌药物的不合理滥用导致耐药性菌株的产生和药物在动物体内的蓄积，给生态环境和人体健

康带来巨大隐患。农业农村部制定的《2020 年农产品质量安全重点工作要点》中规定：深入开展专项整治，重点整治蔬菜、畜禽、禽蛋、水产品中使用禁药、停用药物及农药兽药隐性添加等突出问题。

本文使用岛津超高效液相色谱串联质谱仪，首次建立了禽蛋中 107 种禁用兽药的测定方法。本方法结果准确、灵敏度高，满足农业部 278 号和 235 号公告以及 GB 31650-2019 的限量要求，可供相关人员参考，以加强对禽蛋产品中药物残留的监控。

■ 实验部分

1.1 仪器

输 液 泵 : LC-30AD \times 2
脱 气 机 : DGU-20A_{5R}
自动进样器 : SIL-30AC
柱 温 箱 : CTO-30A

系统控制器 : CBM-20Alite
检 测 器 : LCMS-8060 三重四极杆质谱仪
色谱工作站 : LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C18-120 (2.1 mm I.D. \times 100 mm L., 1.9 μm , P/N: 227-31012-05, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流动相 (酸方法) : A 相 - 水 (0.1% 甲酸), B 相 - 乙腈

流动相 (碱方法) : A 相 - 水 (0.005% 氨水), B 相 - 乙腈

流 速 : 0.3 mL/min

进 样 体 积 : 10 μL

柱 温 : 40 $^{\circ}\text{C}$

洗 脱 方 式 : 酸、碱性两种方法皆为梯度洗脱，洗脱程序见下表 1 和表 2。

表 1 酸性方法梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.7	Pumps	Pump B Conc.	10
1.5	Pumps	Pump B Conc.	20
5.1	Pumps	Pump B Conc.	28
5.2	Pumps	Pump B Conc.	60
8.7	Pumps	Pump B Conc.	70
8.8	Pumps	Pump B Conc.	98
12.2	Pumps	Pump B Conc.	98
12.3	Pumps	Pump B Conc.	100
13.9	Pumps	Pump B Conc.	100
14.0	Pumps	Pump B Conc.	10
17.0	Controller	stop	

表 2 碱性方法梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.2	Pumps	Pump B Conc.	10
3.0	Pumps	Pump B Conc.	25
5.9	Pumps	Pump B Conc.	60
6.0	Pumps	Pump B Conc.	80
6.5	Pumps	Pump B Conc.	90
8.5	Pumps	Pump B Conc.	90
8.6	Pumps	Pump B Conc.	95
10.0	Pumps	Pump B Conc.	95
10.1	Pumps	Pump B Conc.	100
11.0	Pumps	Pump B Conc.	100
11.1	Pumps	Pump B Conc.	10
14.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI (±)

DL 温度：250°C

接口电压：+3.0 / -4.0 kV

加热块温度：400°C

雾化气：氮气 3.0 L/min

扫描模式：MRM

干燥气：氮气 10.0 L/min

MRM 参数：见表 3 和表 4

■ 样品前处理方法和标准溶液配制

2.1 样品前处理

前处理采用岛津实验器材公司的多兽残专用 SPE 快速柱（名称：SHIMSEN QVet-NM+，货号：380-

00925-12, 规格: 5 mL-5 g) 来处理鸡蛋样品。其前处理过程如下:

提取: 精密称取鸡蛋样品 5.0 g, 加入 5 g 无水硫酸钠、一颗陶瓷均质子, 手动振摇 1 min, 加入 10 mL 1% 乙酸乙腈溶液, 10000 rpm 机械振摇 5 min, 4°C 离心 5 min, 取 3 mL 上清液待净化。

净化: 将 3 mL 提取液转移至 10 mL 注射器中接 FaVEx 多兽残净化柱, 缓慢推动注射器活塞以 1 滴 / 秒的速度收集净化液。取净化液 1 mL, 加 200 μ L 水涡旋混匀, 室温下氮吹剩余溶液约至 0.2 mL, 加入 20% 甲醇水溶液定容至 0.5 mL, 超声溶解, 过 0.22 μ m PTFE 微孔滤膜, 待 LC-MS/MS 分析。

最终, 将目标化合物分为两组 (第一和第二组分别为 81 和 26 个化合物), 分别在酸性和碱性的流动相条件下建立两个独立的液质分析方法, 总共测试 107 个化合物。

表 3 MRM 优化参数 (第一组化合物)

编号	中文名	英文名	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	氨丙啉	Amprolium	243.1	150.0	33.0	-22.0	-12.0
				94.1	33.0	-22.0	-14.0
2	氟苯尼考胺	Florfenicol amine	248.1	230.1	33.0	-25.0	-12.0
				130.1	33.0	-22.0	-23.0
3	磺胺胍	Sulfaguanidine	215.1	108.1	21.0	-23.0	-21.0
				92.1	21.0	-21.0	-25.0
4	沙丁胺醇	Salbutamol	240.2	148.0	22.0	-13.0	-28.0
				222.1	22.0	-13.0	-16.0
5	羟基甲硝唑	Metronidazole-OH	188.1	126.0	-18.0	-17.0	-23.0
				123.0	-18.0	-14.0	-12.0
6	阿莫西林	Amoxicillin	366.1	114.1	19.0	-16.0	-21.0
				348.9	19.0	-16.0	-11.0
7	西马特罗	Cimaterol	220.1	143.1	17.0	-12.0	-33.0
				116.0	17.0	-25.0	-44.0
8	甲硝唑	Metronidazole	172.1	128.0	13.0	-20.0	-17.0
				82.1	13.0	-20.0	-25.0
9	羟基二甲硝咪唑	1-Methyl-5-nitro-1H-imidazole-2-methanol	158.1	140.1	-17.0	-15.0	-14.0
				94.1	-16.0	-23.0	-18.0
10	万古霉素	Vancomycin	725.7	144.2	-32.0	-16.0	-14.0
				100.1	-20.0	-39.0	-18.0
11	磺胺醋酰	Sulfacetamide	215.1	108.1	12.0	-23.0	-21.0
				92.1	12.0	-21.0	-25.0
12	氯羟吡啶	Clopidol	192.0	101.0	-17.0	-27.0	-19.0
				87.0	-18.0	-32.0	-16.0
13	洛硝达唑	Ronidazole	201.1	140.1	11.0	-22.0	-12.0
				55.1	11.0	-22.0	-23.0
14	地美硝唑	Dmetridazole	142.0	96.1	11.0	-16.0	-17.0
				81.1	11.0	-16.0	-27.0

15	2,4-二甲基苯胺	2,4-Dimethylaniline	122.1	77.1 107.1	-21.0 -21.0	-30.0 -19.0	-28.0 -19.0
16	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	251.1	156.1 108.1	10.0 10.0	-12.0 -13.0	-15.0 -23.0
17	二甲氧苄氨嘧啶	Diaveridine	261.1	245.1 123.1	-30.0 -14.0	-40.0 -12.0	-24.0 -10.0
18	氨苄西林	Ampicillin	350.1	106.1 160.1	10.0 10.0	-12.0 -14.0	-22.0 -15.0
19	磺胺噻唑	Sulfathiazole	256.0	156.0 92.0	-30.0 -30.0	-14.0 -28.0	-30.0 -17.0
20	甲氧苄啶	Trimethoprim	291.2	230.3 261.1	10.0 10.0	-15.0 -15.0	-27.0 -33.0
21	磺胺吡啶	Sulfapyridine	250.0	156.0 92.0	-30.0 -30.0	-16.0 -27.0	-29.0 -17.0
22	诺氟沙星	Norfloxacin	320.2	302.2 231.2	10.0 10.0	-14.0 -14.0	-23.0 -39.0
23	氧氟沙星	Ofloxacin	362.1	318.1 261.0	10.0 10.0	-19.0 -19.0	-20.0 -28.0
24	卡巴多	Carbadox	263.1	231.0 129.0	-16.0 -16.0	-12.0 -29.0	-24.0 -25.0
25	培氟沙星	Pefloxacin	334.1	316.1 290.2	10.0 10.0	-17.0 -17.0	-23.0 -20.0
26	环丙沙星	Ciprofloxacin	332.1	314.1 231.0	10.0 10.0	-14.0 -14.0	-22.0 -37.0
27	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	265.0	156.0 92.1	-30.0 -30.0	-17.0 -28.0	-28.0 -17.0
28	替硝唑	Tinidazole	248.2	121.3 93.1	-30.0 -30.0	-16.0 -20.0	-12.0 -17.0
29	达氟沙星	Danofloxacin	358.1	340.0 82.1	10.0 10.0	-15.0 -15.0	-24.0 -42.0
30	洛美沙星	Lomefloxacin	352.0	265.0 308.0	10.0 10.0	-11.0 -11.0	-25.0 -17.0
31	喹噁啉-2-羧酸	Quinoxaline-2-carboxylic acid	175.1	129.1 131.1	10.0 10.0	-20.0 -21.0	-18.0 -15.0
32	磺胺恶唑	Sulfamoxole	268.1	156.1 113.1	-30.0 -30.0	-15.0 -22.0	-29.0 -21.0

33	四环素	Tetracycline	445.2	410.2 427.0	-11.0 -11.0	-22.0 -16.0	-30.0 -23.0
34	恩诺沙星	Enrofloxacin	360.1	316.0 342.0	10.0 10.0	-13.0 -13.0	-20.0 -21.0
35	磺胺甲噁二唑	Sulfamethizole	271.0	156.0 108.0	-23.0 -22.0	-14.0 -23.0	-16.0 -19.0
36	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	279.1	185.9 92.1	10.0 10.0	-10.0 -10.0	-23.0 -25.0
37	3-甲基喹噁啉-2-羧酸	3-Methyl-quinoxaline-2-carboxylic Acid	189.1	145.2 143.2	-13.0 -13.0	-14.0 -17.0	-29.0 -27.0
38	磺胺二甲基异嘧啶	Sulfisomidine	279.0	156.0 186.0	-27.0 -30.0	-19.0 -17.0	-16.0 -19.0
39	杀虫脒	Chlordimeform	197.1	117.1 89.1	10.0 10.0	-13.0 -14.0	-38.0 -50.0
40	磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxypyridazine	281.0	156.0 92.0	-30.0 -30.0	-17.0 -30.0	-30.0 -17.0
41	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	281.1	156.0 108.0	10.0 10.0	-15.0 -11.0	-18.0 -26.0
42	克伦特罗	Clenbuterol	277.0	203.0 259.0	13.0 13.0	-15.0 -14.0	-26.0 -16.0
43	沙拉沙星	Sarafloxacin	386.0	368.1 299.0	13.0 13.0	-17.0 -17.0	-23.0 -28.0
44	二氟沙星	Difloxacin	400.1	356.1 299.1	13.0 13.0	-21.0 -20.0	-21.0 -29.0
45	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	281.1	156.1 108.1	13.0 13.0	-15.0 -14.0	-17.0 -26.0
46	3-羟基克百威	3-Hydroxy-Carbofuran	219.8	163.1 107.0	13.0 13.0	-11.0 -11.0	-10.0 -30.0
47	磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyrazine	285.0	156.1 108.1	-15.0 -15.0	-17.0 -26.0	-30.0 -20.0
48	磺胺氯吡嗪	Sulfacorazina	285.0	156.0 92.1	12.0 12.0	-10.0 -11.0	-15.0 -28.0
49	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	311.0	156.0 108.0	-28.0 -30.0	-26.0 -30.0	-16.0 -19.0
50	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	254.0	156.0 92.0	-30.0 -30.0	-16.0 -28.0	-29.0 -17.0

51	多西环素	Doxycycline	445.1	321.1 154.2	12.0 12.0	-20.0 -20.0	-33.0 -26.0
52	脱氧卡巴氧	N,N'-desoxycarbadox	231.2	199.2 143.2	-15.0 -12.0	-12.0 -21.0	-21.0 -15.0
53	替米考星	Tilmicosin	869.5	174.1 696.5	-28.0 -28.0	-50.0 -40.0	-20.0 -28.0
54	磺胺二甲基 异噁唑	Sulfisoxazole	268.0	156.0 92.0	-30.0 -30.0	-13.0 -27.0	-16.0 -17.0
55	噁唑酸	Oxolinic acid	262.1	244.1 216.2	11.0 11.0	-24.0 -26.0	-10.0 -29.0
56	红霉素	Erythromycin	734.3	158.1 576.3	-34.0 -32.0	-30.0 -21.0	-16.0 -20.0
57	泰乐菌素	Tylosin	916.4	174.0 101.0	12.0 12.0	-20.0 -20.0	-53.0 -48.0
58	磺胺苯酰	Sulfabenzamide	277.1	156.1 108.1	-15.0 -15.0	-13.0 -23.0	-29.0 -20.0
59	硝呋烯腙	Difurazone	361.2	222.1 302.1	-16.0 -17.0	-18.0 -20.0	-15.0 -20.0
60	乙氧酰胺苯甲 酯	Ethopabate	238.1	136.0 164.0	12.0 12.0	-10.0 -11.0	-36.0 -19.0
61	磺胺间二甲氧 嘧啶	Sulfadimethoxine	311.0	156.0 108.0	-28.0 -30.0	-26.0 -30.0	-16.0 -19.0
62	磺胺喹恶林	Sulfaquinoxaline	301.2	155.9 108.0	12.0 12.0	-16.0 -16.0	-17.0 -25.0
63	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	315.1	158.1 156.1	-30.0 -30.0	-28.0 -21.0	-30.0 -30.0
64	4-邻氯甲苯胺	4-chloro-2-methylaniline	142.1	107.1 89.1	-30.0 -30.0	-18.0 -28.0	-20.0 -16.0
65	吉他霉素	Kitasamycin	772.4	109.1 174.1	12.0 12.0	-26.0 -26.0	-40.0 -31.0
66	氯丙嗪	Chlorpromazine	319.0	86.1 214.0	12.0 12.0	-10.0 -10.0	-34.0 -41.0
67	氟甲喹	Flumequine	262.1	202.0 126.0	12.0 12.0	-10.0 -10.0	-25.0 -50.0
68	克百威	Carbofuran	222.0	165.1 123.0	12.0 12.0	-24.0 -11.0	-19.0 -36.0

69	氯苯胍	Robenidine	334.0	154.9	-11.0	-22.0	-16.0
				177.9	-14.0	-23.0	-19.0
70	安眠酮	Methaqualone	251.1	132.1	12.0	-20.0	-29.0
				91.1	12.0	-20.0	-45.0
71	孔雀石绿	Malachite Green	329.2	313.0	12.0	-12.0	-47.0
				208.1	12.0	-12.0	-35.0
72	地西洋	DiaZepatn	285.0	193.0	12.0	-11.0	-45.0
				154.0	12.0	-11.0	-40.0
73	乙酸甲地孕酮	Megestrol acetate	385.1	267.2	-23.0	-20.0	-20.0
				325.2	-23.0	-15.0	-25.0
74	醋酸美伦孕酮	Melengestrol Acetate	397.2	279.0	55.0	-21.0	-22.0
				337.4	55.0	-21.0	-18.0
75	盐霉素	Salinomycin	773.4	431.1	197.0	-20.0	-51.0
				413.1	197.0	-22.0	-50.0
76	马杜霉素	Maduramicin	939.6	877.4	130.0	-22.0	-31.0
				895.4	130.0	-22.0	-51.0
77	乙酰磺胺对硝基苯	Sulfanitran	334.1	136.0	15.0	29.0	22.0
				270.0	15.0	24.0	26.0
78	氟虫腓	Fipronil	434.9	329.9	53.0	13.0	17.0
				250.0	53.0	16.0	27.0
79	氟甲腓	Fipronil Desulfinyl	387.0	351.0	53.0	19.0	20.0
				282.0	53.0	19.0	31.0
80	氟虫腓砒	Fipronil-sulfone	450.9	281.9	53.0	17.0	38.0
				246.0	53.0	23.0	37.0
81	氟虫腓亚砒	Fipronil-sulde	418.9	262.0	53.0	12.0	28.0
				382.9	53.0	12.0	13.0

表 4 MRM 优化参数 (第二组化合物)

编号	中文名	英文名	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	青霉素G	Penicillin G	334.9	160.0	-29.0	-13.0	-16.0
				176.0	-29.0	-15.0	-11.0
2	苯唑西林	Oxacillin	402.0	160.0	15.0	-14.0	-15.0
				243.0	15.0	-14.0	-15.0
3	氯唑西林	Cloxacillin	436.0	159.9	15.0	-12.0	-15.0
				277.0	15.0	-12.0	-15.0
4	呋喃唑酮	Furazollidone	226.1	121.9	15.0	-23.0	-21.0
				66.9	15.0	-23.0	-25.0

5	氨苯砜	Dapsone	249.0	156.0 108.0	15.0 15.0	-13.0 -27.0	-19.0 -30.0
6	N-乙酰氨苯砜	N-acetyl Dapsone	291.0	155.9 198.0	15.0 15.0	-10.0 -10.0	-16.0 -15.0
7	呋喃它酮	Furaltatone	325.0	100.1 281.0	15.0 15.0	-12.0 -12.0	-18.0 -18.0
8	群勃龙	Trenbolone	271.1	253.0 199.0	15.0 15.0	-10.0 -10.0	-27.0 -38.0
9	甲基睾酮	Methyltestosterone	303.1	109.1 97.0	15.0 15.0	-27.0 -26.0	-27.0 -27.0
10	丙酸睾酮	Testosterone propionate	345.2	109.1 271.1	15.0 15.0	-10.0 -13.0	-27.0 -17.0
11	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone acetate	387.2	327.0 122.9	15.0 15.0	-11.0 -11.0	-15.0 -30.0
12	呋喃苯烯酸钠	Sodium nifurstylenate	258.0	214.1 114.0	15.0 15.0	13.0 13.0	13.0 21.0
13	甲砒霉素	Thiamphenicol	354.0	185.1 290.1	15.0 15.0	17.0 18.0	21.0 13.0
14	五氯酚酸钠	Sodium pentachlorophenoxid	262.8	262.8 266.9	15.0 15.0	22.0 25.0	9.0 10.0
15	氟苯尼考	Florfenicol	355.8	335.9 184.9	15.0 15.0	18.0 18.0	11.0 20.0
16	氯霉素	Chloramphenicol	321.0	152.1 257.1	15.0 15.0	15.0 12.0	18.0 12.0
17	地克珠利	Diclazuril	406.9	336.0 334.0	15.0 15.0	20.0 19.0	20.0 20.0
18	α -玉米赤霉烯醇	α -Zearalenol	319.1	275.2 301.3	15.0 15.0	15.0 15.0	22.0 22.0
19	α -玉米赤霉醇	α -Zearalanol	321.1	277.2 303.2	15.0 15.0	15.0 11.0	23.0 22.0
20	β -玉米赤霉烯醇	β -Zearalenol	319.1	275.2 301.2	15.0 15.0	14.0 15.0	22.0 22.0
21	β -玉米赤霉醇	β -Zearalanol	321.1	277.3 303.2	15.0 15.0	15.0 16.0	22.0 23.0
22	雌二醇	Estradiol	271.1	145.1 183.0	15.0 15.0	25.0 12.0	39.0 41.0

23	玉米赤霉烯酮	Zearalenone	317.1	131.1	15.0	16.0	31.0
				175.3	15.0	16.0	25.0
24	玉米赤霉酮	Zearlanone	319.1	275.2	15.0	15.0	22.0
				205.1	15.0	14.0	24.0
25	己烯雌酚	Diethylstilbestrol	267.1	237.0	15.0	15.0	29.0
				251.0	15.0	15.0	26.0
26	己二烯雌酚	Dienestrol	265.2	93.1	20.0	25.0	17.0
				249.1	20.0	25.0	28.0

2.2 标准溶液的配制

标准储备混合溶液：分别精确称取各组分标准品 10 mg 至 10 mL 容量瓶中，加乙腈溶解并定容至刻度（部分标准品需要加入少量甲酸、水或加碱促进溶解），得到 1 mg/mL 标准储备液。

混标溶液：将各储备溶液稀释混合，获得 2 mg/L 的混标溶液。

基质匹配校准曲线溶液：根据以上前处理方法获得鸡蛋蛋白基质溶液，由此空白基质溶液逐级稀释混标溶液，分别获得以下各浓度校准溶液：0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/L}$ 。

■ 结果与讨论

3.1 标准样品的 MRM 色谱图

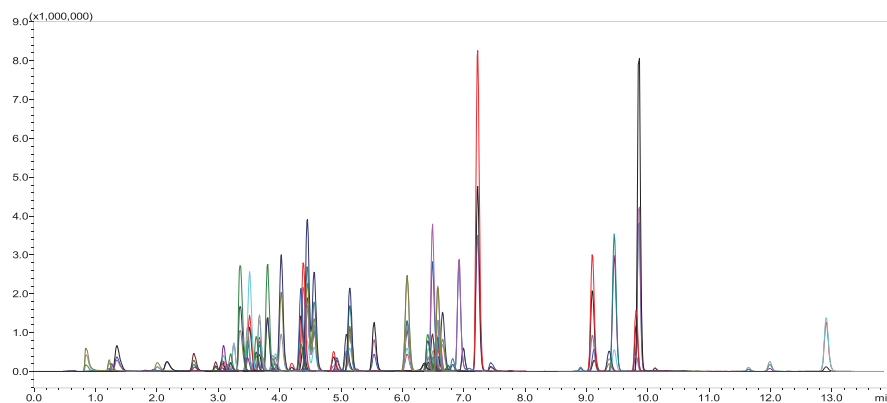


图 1 第一组兽残化合物基质加标 MRM 色谱图 (5 $\mu\text{g/L}$)

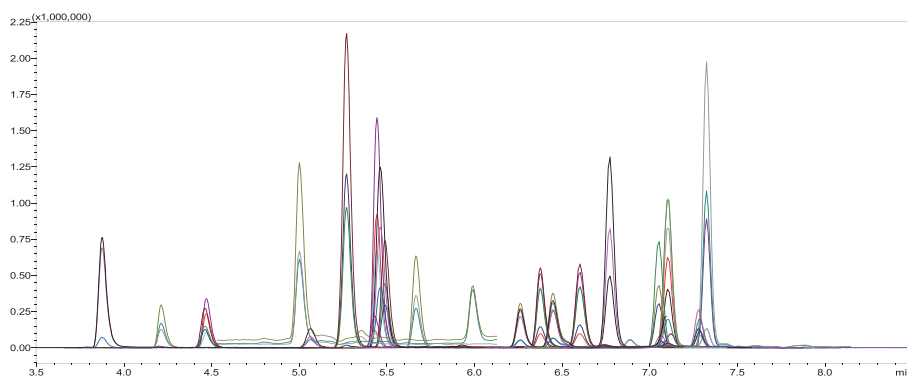


图 2 第二组兽残化合物基质加标 MRM 色谱图 (5 $\mu\text{g/L}$)

3.2 线性范围与检测限

取空白样品，按 2.1 前处理方法得到空白基质提取溶液。再按 2.2 标准溶液配制方法，得到基质匹配混合标准系列溶液，外标法制作标准曲线。107 种化合物线性相关性系数均大于 0.997。各浓度点准确度在 85.2%~113.8% 之间。以下是部分化合物的标准曲线图。

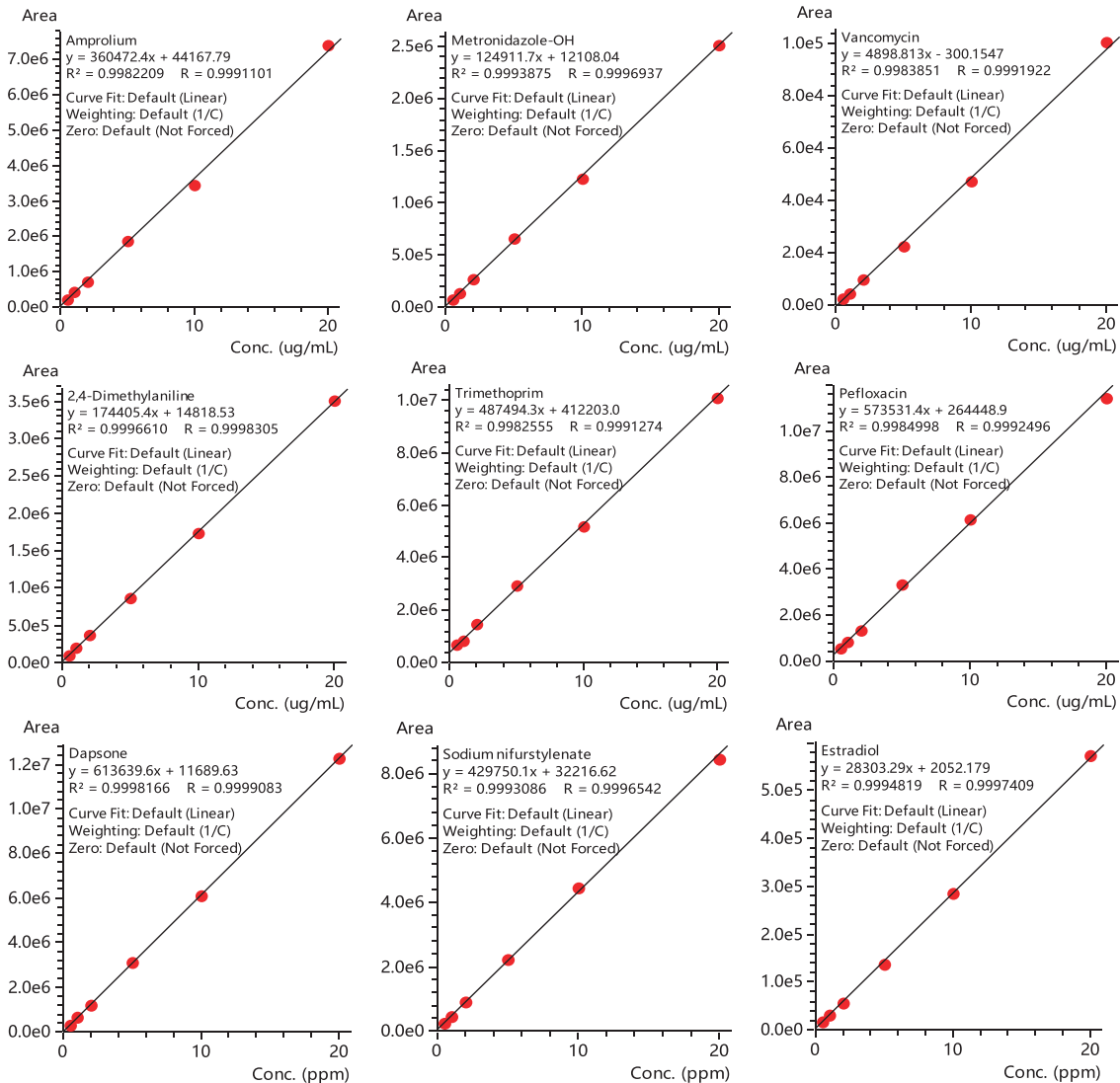


图 3 部分化合物校准曲线

表 5 81 个兽药化合物线性关系及检出限（第一组）

编号	中文名	标准曲线	相关性系数 R	线性范围 (µg/L)	准确度 (%)	检出限 (µg/L)
1	氨丙啉	$Y = (360472)X + (44167.8)$	0.9991	0.5~20	93.9~108.9	0.01
2	氟苯尼考胺	$Y = (88754.0)X + (73281.6)$	0.9997	0.5~20	95.1~104.7	0.16
3	磺胺胍	$Y = (333942)X + (102589)$	0.9991	0.5~20	87.8~111.5	0.28
4	沙丁胺醇	$Y = (15305.5)X + (12714.6)$	0.9990	1~20	97.3~106.2	0.01

5	羟基甲硝唑	$Y = (124912)X + (12108.0)$	0.9997	0.5~20	95.5~103.8	0.04
6	阿莫西林	$Y = (40660.1)X + (13630.5)$	0.9995	0.5~20	87.8~113.1	0.07
7	西马特罗	$Y = (263548)X + (61997.9)$	0.9991	0.5~20	87.8~113.1	0.03
8	甲硝唑	$Y = (266680)X + (16433.1)$	0.9999	0.5~20	92.7~105.3	0.01
9	羟基二甲硝咪唑	$Y = (98848.4)X + (25421.8)$	0.9996	0.5~20	95.2~106	0.22
10	万古霉素	$Y = (4898.81)X + (-300.155)$	0.9992	0.5~20	93.7~109	0.05
11	磺胺醋酰	$Y = (98509.7)X + (15950.8)$	0.9999	0.5~20	95.3~102.2	0.15
12	氯羟吡啶	$Y = (250653)X + (106856)$	0.9991	0.5~20	88.1~110.1	0.01
13	洛硝达唑	$Y = (160325)X + (16660.8)$	0.9996	0.5~20	90.0~105	0.03
14	地美硝唑	$Y = (111469)X + (24566.0)$	0.9997	0.5~20	95.0~104.2	0.04
15	2,4-二甲基苯胺	$Y = (174405)X + (14818.5)$	0.9998	0.5~20	92.5~106.7	0.01
16	磺胺嘧啶	$Y = (26876.1)X + (79874.7)$	0.9986	1~20	86.5~111.3	0.02
17	二甲氧苄氟嘧啶	$Y = (449321)X + (132728)$	0.9983	0.5~10	86.1~112.2	0.05
18	氟苯西林	$Y = (13729.3)X + (2269.75)$	0.9999	1~20	95.6~105.8	0.01
19	磺胺噻唑	$Y = (137944)X + (250379)$	0.9988	0.5~10	85.8~110.9	0.09
20	甲氧苄啶	$Y = (487494)X + (412203)$	0.9991	0.5~20	86.0~105.4	0.06
21	磺胺吡啶	$Y = (1080330)X + (304591)$	0.9970	0.5~10	96.4~113.6	0.01
22	诺氟沙星	$Y = (139167)X + (90873.8)$	0.9995	1~20	96.8~104.0	0.08
23	氧氟沙星	$Y = (344447)X + (93535.1)$	0.9991	0.5~20	89.0~104.9	0.01
24	卡巴多	$Y = (444475)X + (376634)$	0.9989	0.5~10	87.9~106.5	0.01
25	培氟沙星	$Y = (573531)X + (264449)$	0.9992	0.5~20	95.1~106.4	0.04
26	环丙沙星	$Y = (116527)X + (95543.8)$	0.9999	1~20	99.3~102.1	0.03
27	磺胺甲基嘧啶	$Y = (1004350)X + (215197)$	0.9991	0.5~10	92.8~105.7	0.03
28	替硝唑	$Y = (202338)X + (189512)$	0.9988	1~20	86.4~104.7	0.03
29	达氟沙星	$Y = (253711)X + (159253)$	0.9989	0.5~20	98.0~104.1	0.09
30	洛美沙星	$Y = (2779.46)X + (-1077.58)$	0.9988	1~20	90.3~104.8	0.17
31	喹噁啉-2-羧酸	$Y = (175182)X + (21687.2)$	0.9993	0.5~20	97.3~104.6	0.05
32	磺胺恶唑	$Y = (1456560)X + (420911)$	0.9995	0.5~10	98.1~103.9	0.04
33	四环素	$Y = (7419.57)X + (2981.13)$	0.9981	1~20	97.6~108.2	0.01
34	恩诺沙星	$Y = (85113.9)X + (40777.9)$	0.9992	1~20	96.7~105.1	0.01
35	磺胺甲噻二唑	$Y = (987141)X + (406034)$	0.9981	0.5~10	88.5~110.5	0.08
36	磺胺二甲嘧啶	$Y = (1582.88)X + (2037.61)$	0.9988	1~20	98.0~113.8	0.01
37	3-甲基喹噁啉-2-羧酸	$Y = (20797.3)X + (1763.64)$	0.9991	1~20	95.4~101.0	0.01
38	磺胺二甲基异嘧啶	$Y = (1336270)X + (648364)$	0.9989	1~20	97.2~103.4	0.12
39	杀虫脒	$Y = (29908.2)X + (9915.34)$	0.9990	1~20	88.4~108.1	0.17
40	磺胺甲氧哒嗪	$Y = (1390940)X + (723401)$	0.9971	1~20	89.7~108.8	0.01
41	磺胺对甲氧嘧啶	$Y = (673749)X + (540552)$	0.9979	0.5~20	91.1~108.9	0.02

42	克伦特罗	$Y = (278165)X + (131158)$	0.9986	0.5~20	91.9~108.8	0.03
43	沙拉沙星	$Y = (189990)X + (92512.8)$	0.9991	0.5~20	91.1~110.2	0.02
44	二氟沙星	$Y = (431017)X + (73953.4)$	0.9998	0.5~20	97.0~102.8	0.11
45	磺胺间甲氧嘧啶	$Y = (681189)X + (401746)$	0.9991	0.5~20	87.6~106.8	0.24
46	3-羟基克百威	$Y = (26004.8)X + (19630.5)$	0.9991	1~20	95.5~106.8	0.05
47	磺胺氯吡嗪	$Y = (562739)X + (321044)$	0.9994	0.5~20	89.8~106.6	0.16
48	磺胺氯吡嗪	$Y = (11380.4)X + (10813.6)$	0.9991	1~20	89.3~108.7	0.09
49	磺胺邻二甲氧嘧啶	$Y = (872306)X + (266850)$	0.9997	0.5~20	90.7~109.2	0.01
50	磺胺甲噁唑	$Y = (398381)X + (235712)$	0.9977	1~20	94.0~106.1	0.18
51	多西环素	$Y = (26677.3)X + (-3389.87)$	0.9996	0.5~20	91.4~111.2	0.35
52	脱氧卡巴氧	$Y = (596219)X + (239519)$	0.9985	1~20	93.2~106.0	0.01
53	替米考星	$Y = (236282)X + (-6078.33)$	0.9999	0.5~20	96.1~107.1	0.05
54	磺胺二甲基异噁唑	$Y = (284446)X + (58991.4)$	0.9985	1~20	90.0~107.1	0.06
55	噁嗪酸	$Y = (172206)X + (685128)$	0.9971	1~20	92.8~103.8	0.02
56	红霉素	$Y = (99265.6)X + (37373.2)$	0.9994	0.5~20	95.3~105.3	0.22
57	泰乐菌素	$Y = (322078)X + (15864.7)$	0.9998	0.5~20	98.2~102.0	0.06
58	磺胺苯酰	$Y = (335730)X + (132325)$	0.9973	0.5~20	85.3~108.5	0.06
59	硝咪烯胺	$Y = (52094.4)X + (3091.02)$	0.9995	0.5~20	91.6~105.6	0.04
60	乙氧酰胺苯甲酯	$Y = (6732.98)X + (4629.07)$	0.9980	1~20	95.2~103.3	0.03
61	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y = (827105)X + (314590)$	0.9970	1~20	89.5~108.9	0.10
62	磺胺噻恶林	$Y = (367148)X + (147071)$	0.9973	1~20	99.1~100.5	0.09
63	磺胺苯吡唑	$Y = (512905)X + (122056)$	0.9983	0.5~20	98.6~102.3	0.08
64	4-邻氯甲苯胺	$Y = (39212.6)X + (-145.510)$	0.9993	0.5~20	94.0~112.9	0.06
65	吉他霉素	$Y = (820698)X + (-7105.16)$	0.9995	0.5~20	95.2~106.1	0.15
66	氯丙嗪	$Y = (4067.43)X + (818.346)$	0.9992	1~20	93.5~108.8	0.02
67	氟甲喹	$Y = (5484.46)X + (5439.60)$	0.9995	1~20	95.0~104.2	0.01
68	克百威	$Y = (425016)X + (20510.3)$	0.9986	1~20	96.9~103.4	0.15
69	氯苯胍	$Y = (86180.0)X + (-16641.1)$	0.9993	0.5~20	96.5~107.7	0.06
70	安眠酮	$Y = (353622)X + (257298)$	0.9992	0.5~20	85.5~109.8	0.07
71	孔雀石绿	$Y = (118834)X + (18709.5)$	0.9995	1~20	96.3~103.6	0.05
72	地西洋	$Y = (6031.16)X + (5485.11)$	0.9991	1~20	92.4~107.7	0.05
73	乙酸甲地孕酮	$Y = (273770)X + (-21666.7)$	0.9996	0.5~20	91.1~110.7	0.11
74	醋酸美伦孕酮	$Y = (332066)X + (-20944.7)$	0.9995	0.5~20	95.4~111.5	0.10
75	盐霉素	$Y = (175111)X + (-35376.1)$	0.9991	0.5~20	92.5~111.0	0.05
76	马杜霉素	$Y = (1262520)X + (182358)$	0.9997	0.5~20	90.5~110.2	0.16
77	乙酰磺胺对硝基苯	$Y = (154288)X + (-568.874)$	0.9994	0.5~20	93.4~103.7	0.07

78	氟虫腓	$Y=(1648050)X+(171781)$	0.9996	0.5~20	93.1~105.3	0.11
79	氟甲腓	$Y=(2488330)X+(105854)$	0.9999	0.5~20	96.7~101.9	0.04
80	氟虫腓砒	$Y=(845605)X+(129942)$	0.9992	0.5~20	92.7~113.8	0.01
81	氟虫腓亚砒	$Y=(2401910)X+(468762)$	0.9997	0.5~20	96.4~102.8	0.06

表 6 26 个兽药化合物线性关系及检出限 (第二组)

编号	中文名	标准曲线	相关性系数 R	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	准确度 (%)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	青霉素G	$Y=(101315)X+(4558.49)$	0.9999	0.5~20	97.5~102.3	0.08
2	苯唑西林	$Y=(73946.9)X+(3353.44)$	0.9996	0.5~20	91.3~104.9	0.11
3	氯唑西林	$Y=(63102.5)X+(4952.07)$	0.9995	0.5~10	87.1~105.0	0.07
4	呋喃唑酮	$Y=(54840.8)X+(3099.67)$	0.9994	0.5~10	91.9~105.3	0.20
5	氨苯砒	$Y=(613640)X+(11689.6)$	0.9999	0.5~20	96.3~104.2	0.16
6	N-乙酰氨苯砒	$Y=(60859.4)X+(3528.72)$	0.9996	0.5~10	87.3~104.5	0.17
7	呋喃它酮	$Y=(563770)X+(47909.1)$	0.9989	0.5~10	89.3~106.2	0.19
8	群勃龙	$Y=(519712)X+(67365.9)$	0.9987	0.5~20	87.2~110.7	0.10
9	甲基睾丸酮	$Y=(594171)X+(71842.9)$	0.9990	0.5~20	92.6~102.4	0.32
10	丙酸睾酮	$Y=(54686.8)X+(38990.4)$	0.9977	0.5~20	87.6~110.7	0.01
11	醋酸甲羟孕酮	$Y=(4436.20)X+(-751.922)$	0.9976	0.5~10	88.6~113.4	0.08
12	呋喃苯烯酸钠	$Y=(429750)X+(32216.6)$	0.9997	0.5~20	95.4~102.9	0.14
13	甲砒霉素	$Y=(94618.7)X+(13403.6)$	0.9990	0.5~20	85.2~108.1	0.07
14	五氯酚酸钠	$Y=(467345)X+(27860.6)$	0.9982	0.5~20	87.3~108.0	0.19
15	氟苯尼考	$Y=(281781)X+(15667.3)$	0.9999	0.5~20	94.6~102.6	0.11
16	氯霉素	$Y=(217376)X+(20021.0)$	0.9996	0.5~20	91.3~103.3	0.11
17	地克珠利	$Y=(405229)X+(14742.8)$	0.9996	0.5~20	91.6~105.9	0.20
18	α -玉米赤霉烯醇	$Y=(175776)X+(65969.7)$	0.9998	0.5~20	92.0~105.7	0.13
19	α -玉米赤霉醇	$Y=(261518)X+(12111.8)$	0.9999	0.5~20	96.9~102.7	0.10
20	β -玉米赤霉烯醇	$Y=(205779)X+(-58988.5)$	0.9988	0.5~20	93.8~109.0	0.08
21	β -玉米赤霉醇	$Y=(304785)X+(-225852)$	0.9999	0.5~20	95.2~103.7	0.01
22	雌二醇	$Y=(28303.3)X+(2052.18)$	0.9997	0.5~20	96.2~107.8	0.14
23	玉米赤霉烯酮	$Y=(204751)X+(-3370.23)$	0.9999	0.5~20	99.1~101.2	0.01
24	玉米赤霉酮	$Y=(424469)X+(10618.6)$	0.9998	0.5~20	93.5~106.4	0.12
25	己烯雌酚	$Y=(80630.3)X+(-1653.72)$	0.9979	0.5~20	95.0~108.5	0.06
26	己二烯雌酚	$Y=(66811.9)X+(2884.51)$	0.9992	0.5~20	93.7~104.9	0.02

3.3 精密度实验

浓度为 1、2 和 10 $\mu\text{g/L}$ 的基质标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物峰面积的相对标准偏差分别在 0.51%~8.83% 之间, 仪器精密度良好。

表7 基质中各化合物分析重复性结果 (第一组)

编号	中文名	RSD (%)			编号	中文名	RSD (%)		
		1µg/L	2µg/L	10µg/L			1µg/L	2µg/L	10µg/L
1	氯丙啉	3.08	5.45	7.61	42	克伦特罗	3.02	2.73	2.06
2	氟苯尼考胺	6.12	5.59	1.36	43	沙拉沙星	1.77	4.78	1.81
3	磺胺胍	7.77	3.25	2.16	44	二氟沙星	1.32	3.70	6.74
4	沙丁胺醇	5.69	6.79	8.09	45	磺胺间甲氧嘧啶	2.42	2.98	2.42
5	羟基甲硝唑	2.11	2.77	2.01	46	3-羟基克百威	4.42	6.19	7.93
6	阿莫西林	1.15	2.43	3.74	47	磺胺氯吡嗪	1.61	2.50	4.36
7	西马特罗	0.51	1.53	1.55	48	磺胺氯噻嗪	4.20	6.52	6.56
8	甲硝唑	2.01	2.89	1.05	49	磺胺邻二甲氧嘧啶	1.70	1.62	1.19
9	羟基二甲硝咪唑	3.22	5.45	1.42	50	磺胺甲噁唑	1.09	1.45	1.60
10	万古霉素	6.20	6.23	4.36	51	多西环素	2.47	5.78	6.54
11	磺胺醋酰	5.03	3.49	2.02	52	脱氧卡巴氧	3.70	1.91	4.77
12	氯羟吡啶	2.41	3.12	2.57	53	替米考星	2.61	5.06	2.71
13	洛硝达唑	4.17	2.22	1.08	54	磺胺二甲基异噁唑	2.86	1.95	0.95
14	地美硝唑	5.09	4.83	3.58	55	噁唑酸	2.93	2.28	1.81
15	2,4-二甲基苯胺	2.32	1.57	1.37	56	红霉素	1.77	6.30	2.79
16	磺胺嘧啶	3.36	6.87	8.60	57	泰乐菌素	3.67	2.96	1.62
17	二甲氧苄氨嘧啶	5.12	2.1	1.76	58	磺胺苯酰	3.05	2.79	1.80
18	氨苄西林	6.18	6.75	4.43	59	硝呋烯腙	3.51	4.27	3.26
19	磺胺噻唑	1.94	2.08	1.21	60	乙氧酰胺苯甲酯	6.82	6.97	5.51
20	甲氧苄啶	1.75	3.19	3.19	61	磺胺间二甲氧嘧啶	4.78	1.77	1.52
21	磺胺吡啶	0.75	2.07	2.43	62	磺胺喹恶林	4.43	2.66	2.96
22	诺氟沙星	7.76	4.27	4.84	63	磺胺苯吡唑	4.92	2.12	1.62
23	氧氟沙星	2.85	3.51	2.14	64	4-邻氯甲苯胺	5.75	5.02	3.43
24	卡巴多	2.10	3.75	3.65	65	吉他霉素	2.26	2.80	2.19
25	培氟沙星	2.29	4.39	5.22	66	氯丙嗪	4.47	5.87	8.26
26	环丙沙星	4.78	5.37	4.28	67	氟甲喹	7.47	7.94	8.38
27	磺胺甲基嘧啶	2.62	2.54	1.64	68	克百威	3.83	4.49	1.19
28	替硝唑	5.24	3.90	3.36	69	氯苯胍	7.80	7.89	8.46
29	达氟沙星	5.14	5.74	2.27	70	安眠酮	1.05	2.33	1.33
30	洛美沙星	4.38	4.02	4.46	71	孔雀石绿	5.57	4.36	7.42
31	喹噁啉-2-羧酸	5.43	5.08	2.01	72	地西洋	8.34	5.26	4.63
32	磺胺恶唑	0.70	1.90	0.83	73	乙酸甲地孕酮	1.05	1.56	2.42
33	四环素	3.41	5.45	6.60	74	醋酸美伦孕酮	1.33	2.93	2.84
34	恩诺沙星	7.34	5.70	3.53	75	盐霉素	1.05	2.54	5.28

35	磺胺甲噻二唑	2.59	2.26	1.26	76	马杜霉素	2.26	3.09	4.21
36	磺胺二甲嘧啶	6.70	7.23	5.92	77	乙酰磺胺对硝基苯	4.09	5.79	1.47
37	3-甲基喹噁啉-2-羧酸	1.55	8.69	8.83	78	氟虫腈	1.18	2.14	2.00
38	磺胺二甲基异嘧啶	7.32	2.68	1.28	79	氟甲腈	1.75	1.60	1.20
39	杀虫脒	2.29	6.30	6.97	80	氟虫腈砒	2.85	6.04	4.78
40	磺胺甲氧哒嗪	2.22	2.77	1.37	81	氟虫腈亚砒	4.77	4.00	5.15
41	磺胺对甲氧嘧啶	1.86	3.10	1.79					

表 8 基质中各化合物分析重复性结果 (第二组)

编号	中文名	RSD (%)			编号	中文名	RSD (%)		
		1 μ g/L	2 μ g/L	10 μ g/L			1 μ g/L	2 μ g/L	10 μ g/L
1	青霉素G	2.29	3.82	3.42	14	五氯酚酸钠	6.84	3.67	2.03
2	苯唑西林	2.13	2.05	0.91	15	氟苯尼考	1.41	1.65	0.88
3	氯唑西林	0.90	3.25	1.34	16	氯霉素	2.16	2.21	1.93
4	呋喃唑酮	3.20	1.97	1.93	17	地克珠利	1.16	2.14	1.67
5	氨苯砒	0.79	1.62	1.02	18	α -玉米赤霉烯醇	2.63	2.65	0.79
6	N-乙酰氨苯砒	3.96	2.63	2.49	19	α -玉米赤霉醇	1.73	1.55	0.84
7	呋喃它酮	2.86	1.01	0.47	20	β -玉米赤霉烯醇	3.73	1.90	1.78
8	群勃龙	2.18	1.25	1.31	21	β -玉米赤霉醇	2.42	2.55	1.55
9	甲基睾丸酮	3.14	2.66	2.33	22	雌二醇	7.15	3.44	3.46
10	丙酸睾酮	6.90	8.13	6.84	23	玉米赤霉烯酮	3.57	3.15	2.32
11	醋酸甲羟孕酮	6.48	7.50	5.58	24	玉米赤霉酮	4.75	2.70	1.71
12	呋喃苯烯酸钠	2.20	1.32	1.25	25	己烯雌酚	3.39	2.36	2.74
13	甲砒霉素	2.49	2.92	1.92	26	己二烯雌酚	3.28	3.43	1.80

3.4 回收率实验

对空白样品进行加标回收实验, 加标量为 0.5、1.0 和 2.0 μ g/kg, 按 2.1 提取和净化方法后, 分别用酸性和碱性分析条件进行测试, 重复实验 3 次, 计算平均加标回收率。加标回收率结果见图 4 和图 5, 结果显示, 76% 以上的化合物回收率在 50%~120% 之间, 回收率良好。

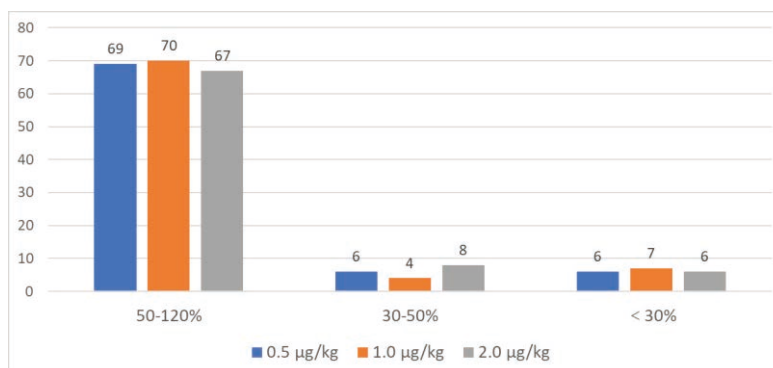


图 4 酸性方法分析 81 个化合物的加标回收率分布状况

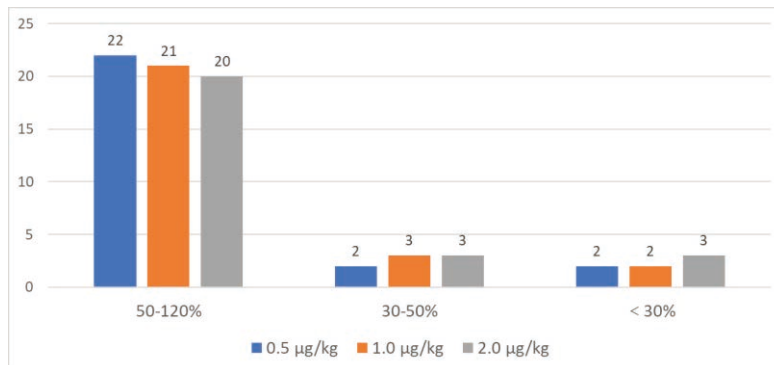


图5 碱性方法分析 26 个化合物的加标回收率分布状况

■ 结论

本文建立了使用岛津 LCMS-8060 三重四极杆液质联用仪首次测定禽蛋中 107 种禁用兽药的方法，该方法在 17 min 内即可完成所有待测物的检测。107 种兽残化合物共分为两组，在 0.5~20 µg/L 的浓度范围内线性皆良好，相关系数 r 在 0.997 以上。且精密度和回收率实验结果良好。该方法分析时间短，结果准确，灵敏度高，满足农业部 278 号和 235 号公告以及 GB 31650-2019 的限量要求，可用于禽蛋中多种禁用兽药的定量检测。

岛津应用云

