

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

郭添荣^{1,2}, 吴文林^{1,3,4*}, 万渝平¹, 张 崧^{2*}, 彭海川², 郑漫江¹, 裴博文⁵

¹成都市食品检验研究院 成都 611130

²成都大学肉类加工四川省重点实验室 成都 610106

³中国科学院成都生物研究所 成都 610041

⁴中国科学院大学 北京 100049

⁵中国检验检疫科学研究院 北京 100176)

摘要 采用通过式固相萃取净化, 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱联用技术建立快速筛查和确证动物肝脏(猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝和鹅肝)中 45 种兽药残留的方法。样品中药物用 0.2% 甲酸-80% 乙腈水溶液提取, 离心, 固相萃取柱净化, 氮吹后复溶。采用 Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)分离, 以含 0.1% 甲酸的乙酸铵(20 mmol/L)溶液-乙腈体系作为流动相梯度洗脱, 在一级全扫描/数据依赖二级扫描监测模式下检测, 基质匹配标准曲线外标法定量。结果表明: 45 种兽药在质量浓度 1~2 000 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.9959; 检出限 0.5~20 μg/kg, 定量限 2~50 μg/kg。6 种动物肝脏在 3 个添加水平下回收率为 72.0%~112.2%, 相对标准偏差为 5.0%~10.5%。此方法前处理简单、通量高、准确可靠, 适用于动物肝脏中 45 种兽药残留的快速筛查与确证。

关键词 固相萃取净化; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 动物肝脏; 兽药残留; 快速筛查

文章编号 1009-7848(2022)07-0287-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.029

兽药在防治动物疾病和促进动物生长等方面发挥着重要作用^[1], 然而, 由兽药残留引发的食品安全问题屡见报道。欧美国家早已颁布了相关禁限令^[2], 我国也制定了如农业部第 235 号公告以及 GB31650-2019 等一系列限量标准^[3], 明确规定限制或禁止兽药用于可食动物的养殖^[4], 然而, 在利益驱使下非法滥用现象普遍存在^[5-6]。研究表明, 残留兽药超标对消费者健康、生态环境和经济贸易都有负面影响^[7]。动物肝脏中含有丰富的蛋白质和维生素, 具有补气血、健肝脾的作用^[8], 是人们日常饮食主要来源之一。动物肝脏样品基质十分复杂且内源成分结构各异, 传统单一复杂的检测方法难以满足兽药多残留监管的需要, 有必要建立一套动物肝脏中兽药多残留的快速筛查方法。

目前药物残留检测方法主要有免疫分析法^[9-10]、高效液相色谱法^[11-12]、液相色谱-串联质谱法^[13-15]等。其中, 免疫分析法受活性酶种类限制且假阳性高而逐渐被取代。高效液相色谱法仅能分离几种特定的物质, 且抗干扰能力不高, 应用受限。液相色谱-串联质谱法虽为主流检测方法, 但受分析模式和分辨率限制, 难以实现对复杂样品的高通量多目标分析^[16-17]。超高效液相色谱-高分辨质谱联用法将液相色谱与高分辨质谱有机结合, 面对复杂基质可实现无标准品对照情况下对化合物多目标快速筛查^[18-19]。兽药痕量分析过程中的样品前处理方法主要有固相萃取、基质固相分散萃取以及加速溶剂萃取和 QuEChERS 等^[20]方法, 其中基于通过式固相萃取技术, 在保证良好净化效果的基础上, 可免去活化与平衡等步骤, 直接上机测试, 适合于大规模样品检测的快速净化, 现研究报道多应用于肉类食品与保健品中兽药残留的筛查研究^[21-22], 而用于动物肝脏中兽药残留的筛查还未见报道。

本文将固相萃取(PriME HLB)净化与超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(Ultra performance liquid chromatography -

收稿日期: 2021-07-18

基金项目: 国家市场监督管理总局技术保障专项(2021YJ009); 国家现代农业产业技术体系四川创新团队项目(sccxt-d-2022-15); 四川省科技计划应用基础研究项目(21YYJC0962); 成都市技术创新研发项目(2021-YF05-00811-SN)

作者简介: 郭添荣(1992—), 男, 硕士, 工程师

通信作者: 吴文林 E-mail: wwl2008802@gmail.com

张 崧 E-mail: zhangyin@cdu.edu.cn

quadrupole-Orbitrap high resolution mass spectrometry, UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 结合, 旨在筛查 6 种大宗动物肝脏中 45 种兽药残留, 为大批量动物肝脏样品中兽药残留的快速筛查与确证提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器与设备

动物肝脏 54 批次(猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝和鹅肝各 9 批次), 购自当地农贸市场和生鲜超市。

乙腈、甲醇(质谱级), 美国 Thermo Scientific 公司; 甲酸、乙酸铵(质谱级), 美国 Sigma Aldrich 公司; 陶瓷均质子(100/μk), 美国 Agilent 公司; Oasis® PRiME HLB 固相萃取柱, 美国 waters 公司; 超纯水(电阻率为 18.2 MΩ/cm, 25 °C), 美国 Millipore 公司; 45 种兽药标准品(红霉素、吉他霉素、林可霉素、泰乐菌素、替米考星、泰万菌素、竹桃霉素、多拉菌素、伊维菌素、罗红霉素、金霉素、强力霉素、四环素、土霉素、差向土霉素、差向金霉素、去甲基金霉素、氨苄西林、苯唑西林、氯唑西林、双氯西林、青霉素、阿莫西林、氯丙嗪、异丙嗪、乙酰丙嗪、赛拉嗪、特拉唑嗪、哌唑嗪、头孢匹啉、头孢喹肟、头孢噻吩、头孢噻唑、头孢唑啉、氟虫腓、氟虫腓砒、氟虫腓亚砒、氟甲腓、苯乙醇胺 A、金刚烷胺、金刚乙胺、氟苯尼考胺、可乐定、安普乐定、替扎尼定, 纯度均 ≥95.0%), 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司。

Vanquish UHPLC-Q Exactive Plus 高分辨质谱系统, 美国 Thermo Fisher 公司; 浓缩氮吹仪, 美国 Biotage Caliper Zymark 公司; ME203 型电子天平, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司; Milli-Q 超纯水系统, 美国 Millipore 公司; 3K15 高速冷冻离心机, 美国 SigmaAldrich 公司; ORTEX3 漩涡混匀器、T18 basic 均质机, 德国 IKA 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 准确称取 2.00 g(精确至 0.01 g) 匀浆试样, 置于 50 mL 聚丙烯(PP)离心管中, 加入 80% 乙腈水溶液(含 0.2% 甲酸) 10 mL, 静置 15 min 后加入两粒陶瓷均质子, 快速剧烈振荡并旋涡振荡 30 min (2 000 r/min), 使样品充分散开,

9 500 r/min 高速离心 5 min, 取上清液待净化。取 5 mL 准确量取的上清液过 6 mL 200 mg 的 Oasis® PRiME HLB 固相萃取柱, 取 2 mL 流出液在氮气下吹干至 1 mL, 初始流动相定容, 过 0.22 μm 有机滤膜后上机。

1.2.2 仪器条件 UHPLC 条件: Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)。柱温: 25 °C。流速: 0.5 mL/min。流动相 A 为 0.1% 甲酸-乙酸铵(20 mmol/L) 水溶液, 流动相 B 为乙腈。进样量: 10 μL。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 液相色谱流动相梯度洗脱程序

Table 1 Liquid chromatography mobile phase gradient elution procedure

时间/min	流速/ mL·min ⁻¹	流动相组成	
		A(0.1%甲酸-20 mmol/L 乙酸铵 水溶液)	B(乙腈)
0	0.5	98	2
0.5	0.5	98	2
1.8	0.5	85	15
3.5	0.5	80	20
6	0.5	75	25
7	0.5	70	30
11	0.5	65	35
13.5	0.5	45	55
16	0.5	15	85
20	0.5	0	100
25	0.5	0	100
25.1	0.5	98	2

HRMS 条件: 加热电喷雾离子源; 一级全扫描/数据依赖二级扫描模式(Full MS/dd-MS²); 喷雾电压: 3.5 kV(+), -3.0 kV(-); 离子传输管和加热器温度: 325 °C 和 450 °C; 鞘气和辅助气(N₂)流速: 35 arb 和 10 arb; 采集范围: 100~1 000 m/z; 分辨率: 75 000(Full MS)、17 500(dd-MS²); C-Trap 中离子数最大容量(AGC target): 3×10⁶(Full MS)、2×10⁵(dd-MS²); C-Trap 中最大注入时间: 100 ms(Full MS)、50 ms(dd-MS²)。

1.2.3 数据库的建立与应用 基于 TraceFinder 4.1 和 mzVault 软件搭建数据库。基于 TraceFinder 4.1 软件, 在收集化合物基本信息的基础上, 利

用仪器分析获取各化合物的质谱信息 (见表 2), 得到可供快速筛查的 Database。母离子经不同

碰撞能量裂解后, 基于 mzVault 软件搭建 HCD 碎片离子谱图匹配确证的谱图库。

表 2 45 种兽药化合物的质谱指纹信息表

Table 2 Fingerprint information table of 45 veterinary drug compounds by color mass spectrometry

化合物名称	CAS 号	分子式	提取质 量数	碎片离子	保留 时间/min
红霉素	59319-72-1	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	734.4685	158.1176, 127.0754, 116.0706, 83.0491	10.39
吉他霉素	1392-21-8	C ₄₀ H ₆₇ NO ₁₄	786.4634	558.3279, 402.2505, 229.1436, 174.1126, 109.0653, 83.0499	13.79
林可霉素	154-21-2	C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S	407.221	389.2101, 359.2173, 126.1276	4.17
泰乐菌素	1401-69-0	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	916.5264	174.1123, 145.0858, 132.1018, 101.0596, 83.0490	11.33
替米考星	108050-54-0	C ₄₆ H ₈₀ N ₂ O ₁₃	869.5733	696.4670, 174.1123, 132.1017, 116.0704, 88.0755	8.69
泰万菌素	63428-13-7	C ₅₇ H ₉₃ NO ₂₅	1 042.5945	814.4590, 229.1436, 174.1127	14.73
竹桃霉素	7060-74-4	C ₃₅ H ₆₁ NO ₁₂	688.4267	644.3477, 189.0789, 158.1181, 110.0721, 72.0816	9.61
多拉菌素	117704-25-3	C ₅₀ H ₇₄ O ₁₄	899.5151	113.05971, 145.08592, 314.22382, 245.11722, 219.17434, 177.12739	18.79
伊维菌素	70288-86-7	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	897.4971	753.4182, 609.3397, 449.2509	19.50
罗红霉素	80214-83-1	C ₄₁ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	837.5319	679.4381, 158.1176, 116.1074, 98.0970, 83.0498	13.80
金霉素	57-62-5	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	479.1216	462.0948, 444.0843, 371.0316, 154.0498, 98.0600	8.06
强力霉素	564-25-0	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	445.1605	428.1340, 410.1233, 339.0862, 321.0756, 154.0498	8.56
四环素	60-54-8	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	445.1605	428.1336, 410.1229, 154.0497	5.87
土霉素	79-57-2	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉	461.1555	426.1179, 381.0601, 365.0652, 337.0702, 201.0544, 154.0497	5.26
差向土霉素	14206-58-7	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉	461.1555	426.1184, 381.0606, 337.0701, 283.0602, 201.0549, 154.0502, 98.0607	5.10
差向金霉素	14297-93-9	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	479.1216	462.0949, 366.1100, 197.0005, 98.0608	6.94
去甲基金霉素	127-33-3	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₂ O ₈	465.1059	430.0707, 289.0265, 198.9972, 70.0660	6.75
氟苄西林	7177-48-2	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	350.1169	192.0475, 174.0548, 160.0425, 106.0650	4.63
苯唑西林	66-79-5	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	402.1118	243.0762, 172.0755, 160.0425, 144.0443, 114.0371	14.30
氯唑西林	61-72-3	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₅ S	436.0729	277.0371, 206.0365, 178.0052, 160.0425, 114.0371	14.90
双氯西林	3116-76-5	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₅ S	470.0339	310.9981, 239.9975, 211.9662, 160.0426, 114.0371	15.60
青霉素	113-98-4	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	335.106	189.0692, 176.0706, 160.0427, 114.0372, 91.0542	5.29
阿莫西林	26787-78-0	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	366.1118	208.0439, 134.0602, 114.0013	4.00
氯丙嗪	50-53-3	C ₁₇ H ₁₉ ClN ₂ S	319.103	274.0446, 246.0134, 239.0759, 85.0969, 58.0658	13.81
异丙嗪	60-87-7	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ S	285.142	240.0837, 198.0369, 86.0968, 84.0813, 71.0735	11.47
乙酰丙嗪	61-00-7	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ OS	327.1526	282.0947, 254.0636, 222.0912, 86.0971, 58.0659	11.36
赛拉嗪	7361-61-7	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S	221.1107	164.0527, 147.0916, 111.02639, 90.0378	6.81
特拉唑嗪	63590-64-7	C ₁₉ H ₂₅ N ₅ O ₄	388.1979	290.1610, 247.1189, 221.1034, 231.0877	6.51
哌唑嗪	19237-84-4	C ₁₉ H ₂₁ N ₅ O ₄	384.1666	247.1187, 231.0875, 95.0133	7.70
头孢匹啉	24356-60-3	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₆ S ₂	424.0632	320.0520, 292.0574, 181.0432, 152.0167, 124.0220	3.86
头孢噻肟	84957-30-2	C ₂₃ H ₂₄ N ₆ O ₅ S ₂	529.1322	134.09643, 167.02736, 324.05834	3.86

(续表 2)

化合物名称	CAS 号	分子式	提取质量数	碎片离子	保留时间/min
头孢噻唑	80370-57-6	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₇ S ₃	524.0363	396.0430, 324.0580, 285.0108, 241.0387, 210.0204, 126.0120	9.69
头孢氨苄	15686-71-2	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₄ S	348.1013	332.1063, 304.1114, 243.0434, 199.0536, 158.0270, 119.0491, 56.0131	4.77
头孢唑啉	25953-19-9	C ₁₄ H ₁₄ N ₈ O ₄ S ₃	455.0373	156.0112, 153.0480, 132.9888, 112.0214, 100.0504	6.70
氟虫腈	120068-37-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	434.9314	329.9584, 249.9577, 183.0169, 57.9755	17.13
氟虫腈砒	120068-36-2	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ O ₂ S	450.9263	414.9486, 281.9917, 243.9887, 218.0091, 82.9607	17.47
氟虫腈亚砒	120067-83-6	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ S	418.9365	68.9958, 416.9653	17.52
氟甲腈	205650-65-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄	386.9644	68.9958, 353.0034	17.28
苯乙醇胺 A	134746-81-3	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	345.1809	327.1701, 161.0830, 150.0916, 118.0655, 91.0549	10.84
金刚烷胺	768-94-5	C ₁₀ H ₁₇ N	152.1434	135.1171	5.04
金刚乙胺	1501-84-4	C ₁₂ H ₂₁ N	180.1747	163.1482, 121.1016, 107.0860, 93.0705, 81.0706, 67.0550	8.17
氟苯尼考胺	108656-33-3	C ₁₀ H ₁₄ FNO ₃ S	248.0751	230.0647, 182.9853, 130.0650	3.20
可乐定	4205-91-8	C ₉ H ₉ Cl ₂ N ₃	230.0246	212.99808, 186.9820, 171.9709	4.70
安普乐定	73218-79-8	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₄	245.0355	209.0588, 174.0900	4.20
替扎尼定	64461-82-1	C ₉ H ₈ ClN ₅ S	254.0262	209.9893, 69.04472	4.50

1.2.4 基质效应的计算 将 45 种兽药化合物标准品制备为标准溶液, 根据甲醇纯溶剂和基质溶液中同一物质的标准曲线斜率之比, 对化合物的基质效应进行评价。基质效应(ME%)计算公式如下:

$$ME\% = \left(\frac{\text{空白基质标准曲线的斜率}}{\text{溶液标准曲线斜率}} \right) \times 100 \quad (1)$$

评价依据: 1) 80% ≤ ME% ≤ 120%, 基质效应可忽略; 2) ME% < 80% 或 ME% > 120%, 存在基质效应。

2 结果与分析

2.1 优化的前处理条件

2.1.1 提取溶剂及提取次数 考察了 6 种常见提取剂对 6 种动物肝脏基质中 45 种兽药的提取效果, 见图 1a。乙酸乙酯和纯乙腈共提物较多且纯乙腈更容易导致样品结块; 乙腈水溶液提取效率明显高于乙酸乙酯和纯乙腈, 这可能与乙腈水溶液具有较好的蛋白沉淀作用有关; 80% 体积分数的乙腈水溶液提取效果率高于 90% 体积分数的, 可

能是由于高浓度乙腈下目标化合物被大量变性蛋白质包裹而不易被解离提取; 而在 80% 体积分数的乙腈水溶液中添加 0.2% 甲酸的提取效率高于 1.0% 甲酸, 可能是高浓度甲酸降低了样品溶解性, 影响离子化效率。最终选择 0.2% 甲酸-80% 乙腈水溶液为提取溶剂。

肝脏样品为固体基质, 与提取溶液不混溶。在选取提取溶剂的基础上分 3 次提取, 以 6 种肝脏基质中 45 种兽药的平均回收率为提取效果评价依据, 考察提取次数对兽药提取效果的影响。结果发现, 在提取 1 次、2 次和 3 次情况下, 样品中药物的平均回收率无显著性差异, 可能是因为用 0.2% 甲酸-80% 乙腈水溶液提取 1 次已实现对药物的完全提取。从工作效率和成本等方面综合考虑, 最终选择 1 次提取。

2.1.2 固相萃取柱及填料量 动物肝脏基质十分复杂, 样品经提取后仍存在杂质, 需净化处理。分别考察 C₁₈、Oasis HLB、Oasis PRiME HLB 和 Captiva EMR Lipid 4 种萃取柱对 6 类基质中 45 种兽药的分净化效果。由图 2a 可知, 采用 C₁₈

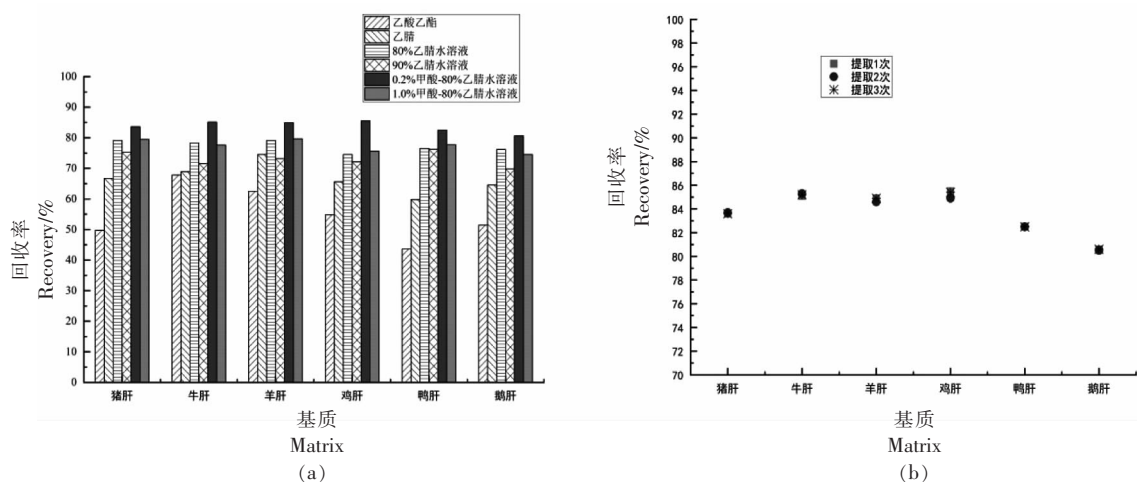


图 1 不同提取溶剂(a)及提取次数(b)对 45 种兽药回收率的影响

Fig.1 Effects of different extraction solvents (a) and extraction times (b) on the recovery rates of 45 veterinary drugs

时,6 类肝脏产品中 45 种兽药的平均回收率最低,可能是由于传统 C₁₈ 吸附剂难以同时兼顾所有兽药性质,Oasis® PRIME HLB 的净化效果均明显优于 Oasis® HLB 和 Captiva EMR Lipid,表明 Oasis® PRIME HLB 能够更好地吸附样品中的磷脂和蛋白质等杂质.PRIME HLB 为多兽残专用且适用于高分辨质谱的萃取柱,该柱可免去活化与平衡步骤,净化效果显著,适合大规模样品的快速净化处理。

试验同步考察了 Oasis PRIME HLB 填料用量 (1 mL 30 mg;3 mL 60 mg;3 mL 150 mg;6 mL 200 mg;6 mL 500 mg)对目标物的吸附净化效果。由图 2b 可知,当填料由 1 mL 30 mg 增到 3 mL 200 mg 时,6 类动物肝脏的萃取效率迅速提高;当填料量为 6 mL 200 mg 和 6 mL 500 mg 时,两者对猪肝、牛肝和羊肝中药物的吸附净化效果相当,而前者对其它 3 类禽类肝脏基质的吸附效果均最好。最佳填料量为 6 mL 200 mg。

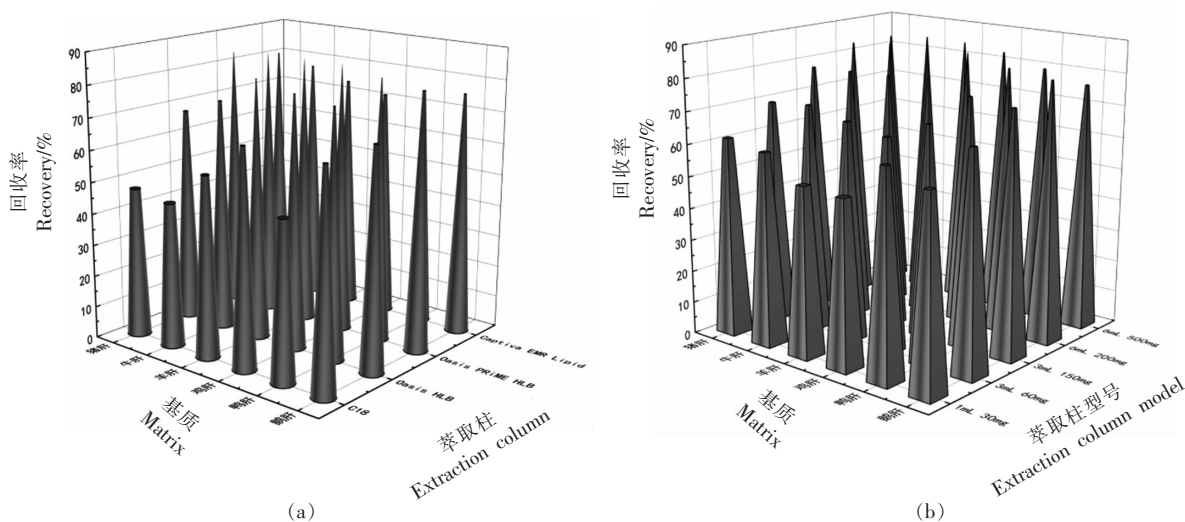


图 2 不同萃取柱(a)及填料量(b)对 45 种兽药回收率的影响

Fig.2 Effects of extraction column (a) and packing amount (b) on recovery of 45 veterinary drugs

2.1.3 针式滤膜 针式滤膜可将提取与净化后的测试液中悬浮的颗粒物质充分过滤。以过滤后的样品与未过滤样品中化合物峰面积的比值作为评价依据,对 0.22 μm 聚四氟乙烯(A)、0.22 μm 尼龙滤膜(B)和 0.22 μm 聚醚砜(C)3种滤膜的净化效果,结果发现,样品溶液经3种材料的针式滤膜过滤后,均有大量化合物被检出,其中采用 0.22 μm 聚四氟乙烯的检出化合物最多,说明其滤膜过滤净化效果最好。3种滤膜过滤效果依次为 0.22 μm 聚四氟乙烯>0.22 μm 尼龙滤膜>0.22 μm 聚醚砜。为了最大程度减小兽药损失,最终选用聚四氟乙烯材质滤膜(0.22 μm)过滤。

2.2 优化的UHPLC条件

2.2.1 色谱柱 考察了 Thermo Accucore Q C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 2.6 μm)、Agilent Eclipse plus C₁₈ (3.0 mm×150 mm, 1.8 μm)以及 Waters Acquity BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)3种主流色谱柱对45种化合物的分离效果。结果发现,相当部分的兽药在 Thermo Accucore Q C₁₈ 色谱柱上出现峰型拖尾现象,Agilent Eclipse plus C₁₈ 色谱柱虽对大部分兽药能有效分离,但部分大环内酯类药物存在峰型尖锐度较差的现象。而 Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱能较好地保留45种化合物,峰型尖锐对称且无明显拖尾现象,这可能与该色谱柱独特的键合与极性基团端基封尾技术确保高兼容的保留性能有关。最终选择 Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱。

2.2.2 流动相体系及梯度洗脱程序 流动相体系直接影响分析物的保留时间和峰型,由于45种药物均易溶于乙腈,因此分别选取乙腈-水、乙腈-5 mmol/L 乙酸铵、0.1%甲酸-乙腈-5 mmol/L (20 mmol/L)乙酸铵等4种流动相组合进行质谱分析。结果发现,乙腈-水作为流动相时,各组分的峰型较差且正离子响应较低;乙腈-5 mmol/L 乙酸铵所获色谱峰型明显优于乙腈-水,部分四环素和青霉素类药物峰型较差。当乙酸铵浓度增至 20 mmol/L 时,峰型均得到明显改善,继续向乙腈-20 mmol/L 乙酸铵溶液中添加 0.1%甲酸,此时各待测物峰型均达到最佳,表明适量加入甲酸有利于改善峰型。本试验流动相体系:乙腈-20 mmol/L 乙酸铵(0.1%甲酸)水溶液。

采用梯度洗脱以实现完好分离。首先将初始流动相设置为 98%,使极性大的物质先出峰,随后降低乙腈的起始浓度并保持浓度缓慢增加,以分散各组分的出峰时间,确保流动相的极性在一个合适的范围变化。随着极性的变化,以高浓度乙腈保持一段时间,使不同极性范围的化合物依次出峰,避免色谱峰重叠,然后将乙腈浓度降至初始浓度水平并保持平衡。综合考虑色谱峰的峰型、灵敏度、出峰时间等因素,梯度洗脱程序设置见表1。

2.3 优化的HRMS条件

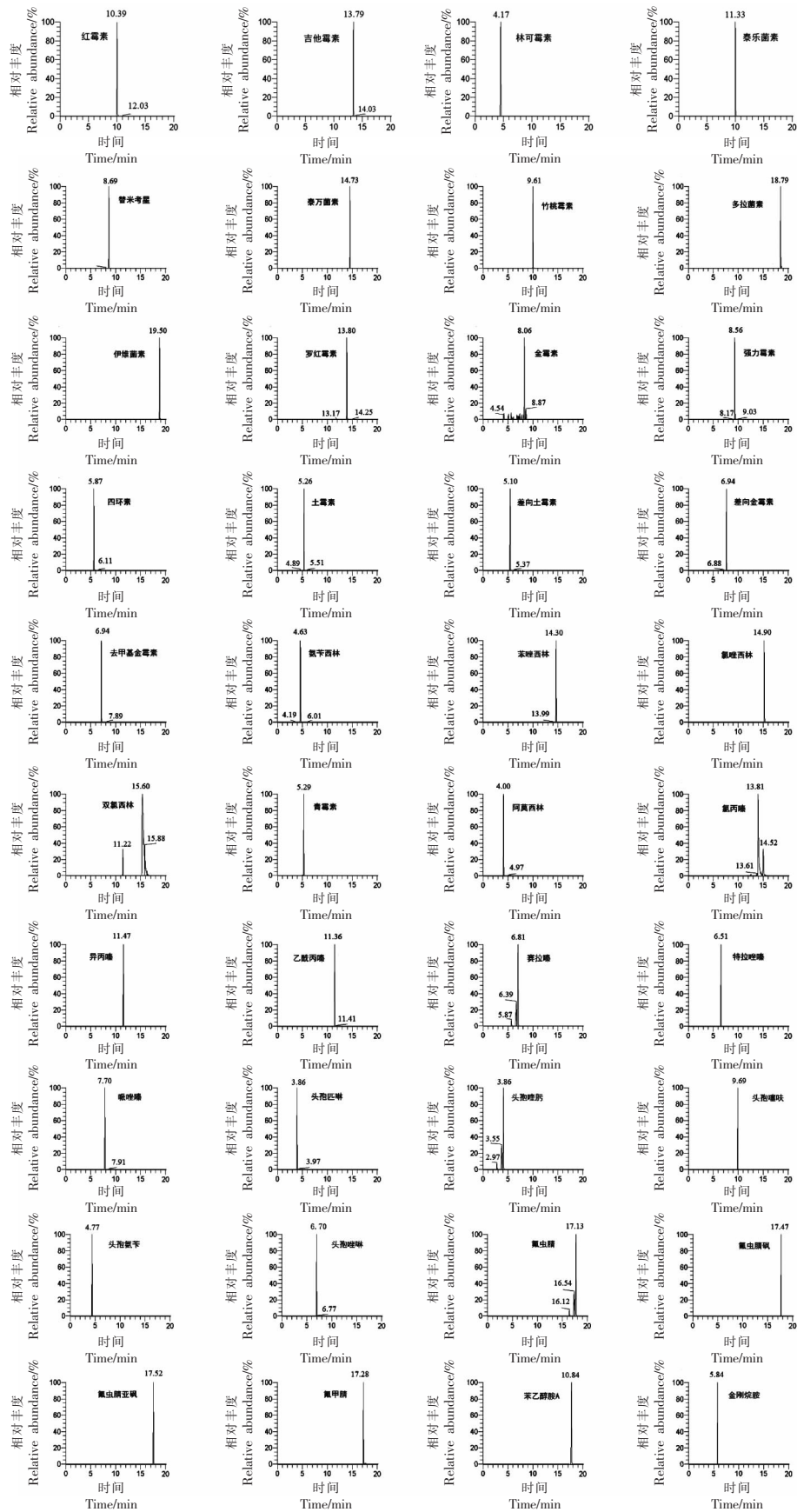
45种化合物在 HESI 电离源下产生多种准分子离子峰,采用全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²)模式对45种药物混合标准溶液进行正负离子扫描,得到一级全扫描质谱图。以各化合物的精确质量数提取色谱图,此条件下45种化合物的精确质量相对偏差均小于 1 ppm,满足试验需求。同时,在多种分辨率考察中发现,当一级全扫描质量分辨率为 75 000,数据依赖二级扫描质量分辨率为 17 500 时,所有待测物与样品基质中的干扰物均实现基线分离,响应值得到明显提高,表明在此分辨率条件下样品中的基质干扰得到有效消减。图3为45种药物提取的离子色谱图。

2.4 基质效应评价结果

动物肝脏基质十分复杂,存在基质抑制或增强效应的可能性。按照基质效应计算方法,对猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝和鹅肝等6种样品开展基质效应评价。结果表明,猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝和鹅肝均存在基质效应。其中,猪肝和鸡肝表现为强基质效应的药物占比较高。为降低基质效应,获得更加准确的检测结果,在定量环节通过基质匹配标准曲线来消除或减弱基质效应的影响。

2.5 方法的线性关系、检出限和定量限

将6种动物肝脏空白提取液配成45种化合物的标准工作液,在优化的分析条件下测定。以目标化合物色谱峰面积(y)及其对应组分浓度(x)绘制标准曲线,计算获得待测物质的线性回归方程及其相关系数(r)。分别以3倍信噪比($S/N=3$)和10倍信噪比($S/N=10$)计算方法的检出限(Limit of detection, LOD)和定量限(Limit of quantitation, LOQ)。结果表明,当质量浓度为 1~2 000 $\mu\text{g/L}$ 时,45种化合物展现出良好的线性关系,所对应的相



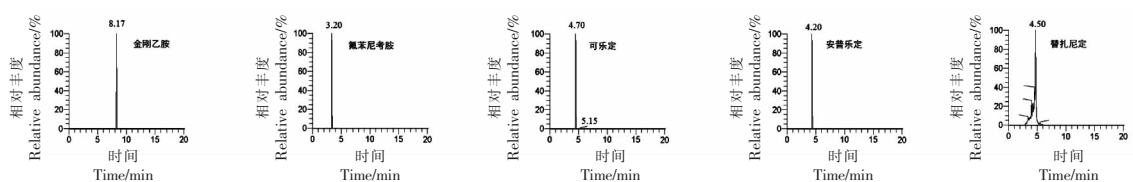


图3 45种兽药化合物提取的离子色谱图

Fig.3 Extraction ion chromatograms of 45 veterinary drug compounds

关系系数 r 均大于 0.9959。方法的检出限和定量限依次为 $0.5\sim 20\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $2\sim 50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ，均满足试验需求。表 3 列出猪肝典型样品中 45 种药物的线性关系、检出限和定量限。

表 3 猪肝中 45 种兽药的线性关系、检出限和定量限

Table 3 Linear relationships, limits of detection and limits of quantification of 45 veterinary drugs in pig liver

兽药名称	线性回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	相关系数 r	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
红霉素	$y=23446x+14567$	1~200	0.9971	1	5
吉他霉素	$y=437654x-2498$	1~200	0.9992	1	5
林可霉素	$y=34987x+56734$	1~200	0.9973	1	5
泰乐菌素	$y=45301x+980$	1~200	0.9967	1	5
替米考星	$y=66378x+23470$	1~200	0.9978	1	5
泰万菌素	$y=44571x-34798$	1~200	0.9977	1	5
竹桃霉素	$y=459032x-56792$	1~200	0.9969	1	5
多拉菌素	$y=39127x-10089$	1~200	0.9958	1	5
伊维菌素	$y=59032x+4901$	1~200	0.9968	1	5
罗红霉素	$y=54567x+279$	1~200	0.9959	1	5
金霉素	$y=39034x+2793$	5~500	0.9985	5	15
强力霉素	$y=61293x+4427$	5~500	0.9990	5	15
四环素	$y=88632x-1091$	5~500	0.9979	5	15
土霉素	$y=55342x-49031$	5~500	0.9971	5	15
差向土霉素	$y=44789x-22647$	5~500	0.9972	5	15
差向金霉素	$y=73981x-6645$	5~500	0.9974	5	15
去甲基金霉素	$y=33782x+4452$	5~500	0.9966	5	15
氟苯西林	$y=33470x+33791$	5~500	0.9965	5	15
苯唑西林	$y=399034x+2396$	5~500	0.9959	5	15
氯唑西林	$y=56732x-36781$	5~500	0.9976	5	15
双氯西林	$y=30456x+2032$	10~1 000	0.9973	10	20
青霉素	$y=6516x-5423$	1~200	0.9982	1	5
阿莫西林	$y=35492x+5472$	5~500	0.9977	5	15
氯丙嗪	$y=79201x+33678$	1~200	0.9965	0.5	2
异丙嗪	$y=83289x+58943$	1~200	0.9970	1	3
乙酰丙嗪	$y=65672x-401$	1~200	0.9978	0.5	2
赛拉嗪	$y=88340x-2236$	2~200	0.9969	2	5
特拉唑嗪	$y=50982x-1973$	2~200	0.9973	1	5
哌唑嗪	$y=27361x+55672$	5~500	0.9976	5	15
头孢匹林	$y=85236x-53720$	5~500	0.9972	5	15
头孢喹肟	$y=26152x+7782$	1~200	0.9971	1	5
头孢噻唑	$y=19170x+696$	20~2 000	0.9964	20	50
头孢氨苄	$y=29231x+38745$	2~200	0.9981	2	5
头孢唑啉	$y=47321x-3376$	1~200	0.9975	1	3
氟虫腓	$y=11534x+5209$	1~200	0.9972	1	3
氟虫腓砒	$y=10542x+19923$	2~200	0.9968	2	5

(续表 3)

兽药名称	线性回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	相关系数 r	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
氟虫腈亚砷	$y=46329x+1981$	2~200	0.9978	2	5
氟甲腈	$y=41235x-67309$	2~200	0.9973	2	5
苯乙醇胺 A	$y=45236x-39812$	1~200	0.9967	0.5	2
金刚烷胺	$y=31249x-88932$	1~200	0.9968	1	5
金刚乙胺	$y=63671x+33651$	1~200	0.9963	1	5
氟苯尼考胺	$y=47654x+2785$	20~2 000	0.9994	20	50
可乐定	$y=49831x+3490$	2~200	0.9984	2	5
安普乐定	$y=29404x+33134$	2~200	0.9979	2	5
替扎尼定	$y=11784x-26793$	2~200	0.9965	2	5

2.6 回收率和精密度

分别向 6 种动物肝脏的空白样品中添加 45 种兽药化合物的标准溶液配成阳性样品,按照已建立的前处理和仪器分析方法,在 1 倍 LOQ、5 倍 LOQ 和 10 倍 LOQ 3 个添加浓度水平下各重复测定 6 次,求解得到回收率及相对标准偏差(Relative standard deviation,RSD)。结果显示,添加水平在 1 倍 LOQ~10 倍 LOQ 时,45 种药物在猪肝中的回收率为 76.5%~103.8%,RSD 为 6.1%~9.6%;

牛肝中的回收率为 72.0%~102.5%,RSD 为 5.7%~9.6%;羊肝中的回收率为 79.8%~112.2%,RSD 为 5.0%~10.3%;鸡肝中的回收率为 72.5%~103.6%,RSD 为 6.1%~9.5%;鸭肝中的回收率为 78.5%~104.5%,RSD 为 6.2%~10.5%;鹅肝中的回收率为 83.6%~109.6%,RSD 为 5.4%~9.3%。表明本研究建立的方法准确度和精密度均满足试验需求。表 4 为两种典型(猪肝、鸡肝)样品中 45 种药物的回收率和精密度。

表 4 45 种兽药在猪肝和鸡肝中的回收率和相对标准偏差 ($n=6$)

Table 4 Recoveries and relative standard deviations of 45 veterinary drugs in pig liver and chicken liver ($n=6$)

兽药名称	1 倍 LOQ 添加水平的回收率		5 倍 LOQ 添加水平的回收率		10 倍 LOQ 添加水平的回收率	
	(RSD)/%		(RSD)/%		(RSD)/%	
	猪肝	鸡肝	猪肝	鸡肝	猪肝	鸡肝
红霉素	79.1/6.2	73.6/9.4	77.5/6.8	89.3/6.8	89.2/7.4	72.5/9.1
吉他霉素	83.2/8.5	75.6/6.3	79.4/6.8	87.4/7.9	85.4/7.5	72.9/6.8
林可霉素	78.9/9.1	78.9/6.5	79.8/8.7	88.3/8.9	86.3/7.1	82.4/6.3
泰乐菌素	76.5/6.1	89.4/6.8	92.4/8.3	87.1/9.5	89.3/7.9	92.1/8.2
替米考星	77.8/6.3	79.8/9.8	92.3/6.9	93.1/8.4	97.4/7.1	96.3/6.5
泰万菌素	79.2/9.1	87.1/7.9	103.1/9.2	76.3/7.4	92.4/6.8	95.4/6.7
竹桃霉素	81.3/9.3	82.1/7.2	100.8/6.8	93.4/6.8	96.2/6.2	89.1/7.2
多拉菌素	102.5/8.2	85.2/6.7	96.3/6.8	88.8/7.6	102.3/6.2	82.5/6.5
伊维菌素	88.2/7.4	85.4/6.9	78.9/9.2	81.2/6.8	100.3/9.1	84.2/7.2
罗红霉素	84.3/8.1	86.3/6.5	85.2/9.4	79.2/6.3	76.8/9.5	85.9/6.3
金霉素	86.2/7.1	76.3/6.9	86.4/7.2	90.4/7.6	77.9/6.8	95.6/8.3
强力霉素	99.1/7.8	73.3/9.3	85.9/9.1	89.5/9.5	79.1/6.2	99.9/6.8
四环素	96.8/8.2	73.8/6.3	86.3/6.7	99.1/6.2	101.8/6.3	101.2/6.3
土霉素	97.4/8.7	78.9/6.5	81.4/7.8	83.2/6.5	102.1/6.5	100.8/7.8
差向土霉素	78.2/9.1	79.8/6.9	88.9/7.2	78.9/9.1	92.3/6.5	96.3/7.2
差向金霉素	79.4/8.2	85.2/6.3	86.3/6.8	78.5/6.1	94.8/8.6	85.2/6.4
去甲基金霉素	79.3/7.1	86.3/6.3	82.7/7.1	77.8/7.3	77.1/6.9	87.9/8.9
氟苯西林	98.5/9.2	89.1/6.7	89.7/8.4	89.2/9.1	79.8/8.1	86.9/6.7
苯唑西林	79.1/7.5	88.2/6.3	82.4/6.9	81.3/8.3	84.5/6.3	82.3/6.4
氯唑西林	100.8/6.5	95.2/8.1	81.3/6.7	92.5/8.2	86.9/6.8	79.2/6.1
双氯西林	102.1/9.4	102.4/6.8	99.4/7.8	101.2/7.4	99.2/6.8	75.4/8.2

(续表 4)

兽药名称	1 倍 LOQ 添加水平的回收率		5 倍 LOQ 添加水平的回收率		10 倍 LOQ 添加水平的回收率	
	(RSD)/%		(RSD)/%		(RSD)/%	
	猪肝	鸡肝	猪肝	鸡肝	猪肝	鸡肝
青霉素	78.6/7.4	103.1/9.4	97.5/6.8	84.3/9.1	99.6/8.6	81.3/9.1
阿莫西林	84.3/7.5	89.1/9.2	77.7/6.8	76.2/7.1	91.8/6.8	86.3/9.2
氯丙嗪	86.5/8.9	85.7/9.2	79.4/8.1	81.2/7.4	78.8/6.3	95.4/6.7
异丙嗪	99.7/8.2	78.9/6.4	85.2/6.9	85.4/6.5	79.2/6.7	96.7/7.3
乙酰丙嗪	92.7/9.1	89.1/6.8	89.6/8.7	89.3/6.9	76.8/6.9	100.5/6.2
赛拉嗪	99.3/8.5	79.1/8.2	79.6/8.4	90.4/6.1	89.2/8.2	98.8/7.2
特拉唑嗪	101.2/6.8	79.5/6.5	78.9/6.8	91.4/7.8	84.5/8.3	75.6/6.4
哌唑嗪	77.4/6.2	88.8/6.6	95.2/8.9	92.2/7.2	79.2/6.4	74.8/8.2
头孢匹啉	79.3/6.8	82.3/6.5	96.7/6.7	101.2/7.2	82.4/6.3	79.4/6.7
头孢噻肟	87.4/6.9	83.4/6.5	91.4/9.2	86.8/9.5	100.8/7.8	103.1/9.1
头孢噻唑	82.3/6.9	96.8/8.3	93.7/8.2	77.9/7.8	102.7/8.9	100.8/6.3
头孢氨苄	87.1/9.5	93.7/7.2	102.4/6.8	79.2/6.2	93.6/6.3	79.9/7.2
头孢唑啉	103.1/9.4	86.7/6.8	103.4/9.3	103.6/7.3	93.6/8.6	84.5/7.6
氟虫腈	96.3/6.4	101.1/6.3	100.5/6.8	100.1/6.5	95.4/8.1	86.5/6.8
氟虫腈砒	95.4/6.8	102.7/6.8	99.8/7.6	92.3/7.5	84.2/6.5	98.7/6.8
氟虫腈亚砒	96.8/7.4	96.3/6.3	95.6/6.8	91.8/8.6	86.5/7.1	76.6/8.8
氟甲腈	89.4/7.8	94.5/6.2	92.4/6.9	77.1/7.9	82.4/7.3	79.8/9.4
苯乙醇胺 A	79.2/7.8	98.7/8.1	93.6/8.1	76.8/8.1	93.4/7.1	77.9/6.4
金刚烷胺	83.4/6.8	89.2/7.5	89.2/7.1	84.5/7.3	95.6/8.2	101.8/6.5
金刚乙胺	88.8/6.6	83.5/6.8	85.2/7.2	94.5/8.3	79.1/6.4	96.3/6.8
氟苯尼考胺	89.2/6.8	78.2/6.3	86.7/8.2	79.2/7.4	78.8/6.5	88.8/9.1
可乐定	79.2/7.3	85.7/9.8	89.4/9.6	89.4/6.3	79.3/8.3	79.8/6.5
安普乐定	92.4/7.6	82.4/6.3	85.9/6.7	90.8/7.8	76.9/6.1	89.1/6.4
替扎尼定	99.5/6.5	79.9/6.5	103.8/6.9	100.2/6.8	102.7/8.4	84.1/7.5

2.7 实际样品筛查结果

在市场上随机采取 54 批次动物肝脏样品(猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝、鹅肝各 9 批次)进行检测,样品经前处理和上机测试后,利用所建数据库中色、质谱指纹识别信息与 HCD 二级特征碎片离子对样品中 45 种兽药进行多目标筛查与确证,使用基质匹配标准曲线定量。结果显示,在 1 批次猪肝中检出少量残留的金霉素(6.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$),符合国家限量标准值($\leq 100 \mu\text{g}/\text{kg}$),其余样品均未检出 45 种药物。

3 结论

在优化 PRiME HLB 前处理条件的基础上,利用高分辨质谱技术建立的电子化数据库分析目标化合物,提高了非靶向多目标精准侦测能力。首次建立了快速筛查 6 种动物肝脏复杂基质中 45

种兽药的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 方法。方法的前处理简单、通量高、准确可靠,为动物肝脏中兽药残留风险识别与隐患排查提供技术支持。

参 考 文 献

- [1] WANG W, LIU H, ZHANG Y, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective properties of alkali- and enzyme-extractable polysaccharides by *Dicthyophora indusiata*[J]. Scientific Reports, 2019, 9 (1): 231-238.
- [2] VALESE A C, MOLOGNONI L, DESOUSA N C, et al. Development, validation and different approaches for the measurement uncertainty of a multi-class veterinary drugs residues LC-MS method for feeds[J]. Journal of Chromatography B, 2017 (3): 48-59.
- [3] 农业农村部, 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局

- 管理总局. 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量: GB 31650-2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019: 30.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Health Commission State Administration for Market Regulation. National food safety standard -maximum residue limits for veterinary drugs in foods: GB 31650-2019[S]. Beijing: Standards Press of China, 2019: 30.
- [4] 李晴, 罗辉泰, 黄晓兰, 等. 四级杆飞行时间串联质谱高通量筛查鱼肉中的药物残留[J]. 分析化学, 2014, 42(10): 1478-1485.
- LI Q, LUO H T, HUANG X L, et al. High throughput screening of drug multi residues in fish by quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2014, 42(10): 1478-1485.
- [5] 熊岑, 李苑雯, 郑彦婕, 等. 静电场轨道阱质谱分析技术在食品分析中的应用进展[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 283-287.
- XIONG C, LI Y W, ZHENG Y J, et al. Progress in application of orbitrap mass spectrometry technique in food analysis[J]. Food Science, 2015, 36(13): 283-287.
- [6] 祝伟霞, 杨冀州, 李睢, 等. 液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速分析动物源性食品中多肽类药物残留[J]. 色谱, 2017, 35(2): 156-161.
- ZHU W X, YANG J Z, LI S, et al. Quick determination of polypeptide drug residues in animal-origin foods by high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(2): 156-161.
- [7] 章豪, 吴银良, 张宜文, 等. PRIME HLB 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂产品中10种头孢类药物的残留量[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 330-336.
- ZHANG H, WU Y L, ZHANG Y W, et al. Determination of ten cephalosporin residues in bee products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with PRIME HLB solid phase extraction[J]. Food Science, 2020, 41(22): 330-336.
- [8] 张文文, 梅娜娜, 铃莉妍, 等. 驴肝与猪肝、鸡肝和鹅肝之间的营养成分比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4435-4439.
- ZHANG W W, MEI N N, QIAN L Y, et al. Comparison of nutrients between donkey liver and pig liver, chicken liver and goose liver[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 9(16): 4435-4439.
- [9] MEI M, HUANG X. Determination of fluoroquinolones in environmental water and milk samples treated with stir cake sorptive extraction based on a boron-rich monolith[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(10): 1908-1918.
- [10] 张胜帮, 董士华, 刘继东, 等. 酶联免疫检测法测定水产品中残留氯霉素的研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(5): 133-136.
- ZHANG S B, DONG S H, LIU J D, et al. Studies on the determination of chlor amphenicol residues in aquatic products by the ELISA[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(5): 133-136.
- [11] OLATUNJI O S, FATOKI O S, OPEOLU B O, et al. Determination of selected steroid hormones in some surface water around animal farms in Cape Town using HPLC-DAD[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2017, 189(7): 363.
- [12] 李佩佩, 张小军, 严忠雍, 等. 超高效液相色谱串联质谱法检测水产品中四环素类药物及其差向异构体[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 275-282.
- LI P P, ZHANG X J, YAN Z Y, et al. Simultaneous determination of tetracyclines and their epimers in aquatic products by ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(7): 275-282.
- [13] AVAR P, MAASZ G, TAKACS P, et al. HPLC-MS/MS analysis of steroid hormones in environmental water samples[J]. Drug Testing and Analysis, 2016, 8(1): 123-127.
- [14] 王飞, 宓捷波, 葛含光. 超高压液相色谱-串联质谱法快速测定牛肉、牛肾中3种甾类同化激素药物残留量[J]. 质谱学报, 2019, 40(1): 83-89.
- WANG F, MI J B, GE H G, et al. Quick determination of three hormones residues in beef and kidney by HPLC-MS/MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2019, 40(1): 83-89.
- [15] 郭添荣, 万渝平, 孙利, 等. 通过式固相萃取结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查畜禽肉中108种兽药残留[J]. 分析化学,

- 2022, 50(2): 271–289.
- GUO T R, WAN Y P, SUN L, et al. Rapid screening and confirmation of 108 kinds of veterinary drug residues in livestock and poultry meat by solid phase extraction purification and liquid chromatography coupled with quadrupole/orbitrap mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(2): 271–289.
- [16] 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, 2019.
- WANG L D. Determination of veterinary drug residues in livestock and poultry products by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [17] WANG J, CHOW W, CHANG J, et al. Ultra high performance liquid chromatography electrospray ionization Q-Orbitrap mass spectrometry for the analysis of 451 pesticide residues in fruits and vegetables: Method development and validation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62 (42): 10375–10391.
- [18] 郭添荣, 叶梅, 柯欢, 等. 高分辨质谱在动物源食品兽药残留检测中的应用[J]. 食品科技, 2020, 45 (7): 371–377.
- GUO T R, YE M, KE H, et al. Application of high resolution mass spectrometry in the detection of veterinary drug residues in animal foods [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(7): 371–377.
- [19] CUI J, ZHU D, SU M, et al. Lipidomics strategy for the identification of ultra-high temperature and reconstituted milk by UPLC-Q-exactive orbitrap mass spectrometry[J]. Food Analytical Methods, 2021 (2): 1064–1073.
- [20] GONG J Y, LI J, YUAN H N, et al. Determination of four nitrofurans metabolites in gelatin Chinese medicine using dispersive solid phase extraction and pass-through solid phase extraction coupled to ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2020 (1): 1146–1155.
- [21] 郭添荣, 吴文林, 张崑, 等. 基于 UPLC-Q / Orbitrap HRMS 多目标快速筛查鱼肉中 30 种蛋白同化激素及糖皮质激素[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 321–330.
- GUO T R, WU W L, ZHANG Y, et al. Multi-objective rapid screening of 30 protein assimilation hormones and glucocorticoids in fish by ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole/orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Food Science, 2022, 43(4): 321–330.
- [22] 马俊美, 孙磊, 曹梅荣, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定猪肉中 9 种大环内酯类抗生素[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 273–279.
- MA J M, SUN L, CAO M R, et al. Determination of 9 kinds of macrolides antibiotics in pork samples by ultra performance liquid chromatography – quadrupole orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Food Science, 2020, 41(4): 273–279.

Rapid Screening of 45 Kinds of Veterinary Drugs Residues in Animal Liver Using Prime HLB Purification /UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

Guo Tianrong^{1,2}, Wu Wenlin^{1,3,4*}, Wan Yuping¹, Zhang Yin^{2*}, Peng Haichuan¹, Zheng Manjiang¹, Pei Bowen⁵

¹Chengdu Institute of Food Inspection, Chengdu 611130

²Key Laboratory of Meat Processing of Sichuan, Chengdu University, Chengdu 610106

³Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041

⁴University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

⁵Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176)

Abstract A rapid screening and identification method for 45 veterinary drug residues in animal liver (pig liver, bovine liver, sheep liver, chicken liver, duck liver and goose liver) was established by using Prime HLB solid-phase extraction (SPE) purification and UHPLC-Q-Orbitrap high resolution mass spectrometry. The drugs were extracted with 0.2% formic

acid and 80% acetonitrile aqueous solution, centrifuged, purified on Oasis Prime HLB solid phase extraction column, and redissolved after nitrogen blowing. The separation was performed on a Waters ACQUITY BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm). The mobile phase consisted of ammonium acetate (20 mmol/L) containing 0.1% formic acid and acetonitrile with gradient elution. The determination was performed in the first-stage full-scan/data-dependent two-stage scan-monitoring mode. The results showed that the linear relationships of 45 veterinary drugs were good in the concentration range of 1–2 000 μg/L, and the correlation coefficients were greater than 0.9959. The limits of detection were between 0.5 and 20 μg/kg, and the limits of quantification were between 2 and 50 μg/kg. The recoveries were 72.0%–112.2% with relative standard deviations (RSD) of 5.0%–10.5% at 3 supplemental levels. This method has the advantages of simple pretreatment, high throughput, accuracy and reliability, and is suitable for rapid screening and confirmative analysis of 45 veterinary drug residues in animal liver.

Keywords SPE purification; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; animal liver; veterinary drug residues; rapid screening