



季宝成,杨澜瑞,韩雨,等. 动物源性食品兽药多残留检测中基质净化与液相色谱-质谱联用技术研究进展[J]. 轻工学报,2023,38(5):8-16.

Ji B C, YANG L R, HAN Y, et al. Research progress on matrix purification combined with LC-MS method for the detection of veterinary drug residues in animal-derived foods[J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(5): 8-16.

DOI: 10. 12187/2023. 05. 002

动物源性食品兽药多残留检测中基质净化与液相色谱-质谱联用技术研究进展

季宝成^{1,2,3}, 杨澜瑞^{1,2,3}, 韩雨^{1,2,3}, 白艳红^{1,2,3}, 许旭^{1,2,3}

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 河南省冷链食品安全质量安全控制重点实验室, 河南 郑州 450001;
3. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001

摘要: 对液相色谱-质谱(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS)联用技术结合不同动物源基质净化技术在兽药多残留检测的研究进展及其应用状况进行了综述,指出,液-液萃取、分散液-液微萃取、固相萃取、固相微萃取、分散固相萃取、磁性固相萃取技术在肉类、蛋类、奶类及其制品等不同动物源性食品中的应用较广泛,但仍存在一定程度的局限性,如液-液萃取基质选择性弱、分散液-液微萃取适用对象有限、固相萃取耗时较长、固相微萃取重现性差、分散固相萃取净化效率适中。未来可就构建多种类兽药残留同步净化方法、开发食品源基质特异性高效净化材料及增强基质净化过程快捷、自动化程度等方面进行深入研究,以期进一步推动 LC-MS 联用技术在动物源性食品兽药多残留检测中的应用。

关键词: 动物源食品; 兽药残留; 液相色谱-质谱联用; 基质净化技术

中图分类号: TS207. 3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2023)03-0008-09

0 引言

动物源性食品是人体各种营养元素的重要来源,是日常饮食不可或缺的部分,主要包括肉类、蛋类、奶类及其制品等^[1]。长期以来,人们对动物源性食品的需求不断提高,对其安全性的关注度也随之增加。兽药可预防、治疗动物疾病并促进其生长,在保障我国畜牧业持续高速发展方面发挥着重要作用

用^[2-4]。但研究^[5]表明,动物源性食品是人体无意中摄入抗生素等兽药残留的主要来源,兽药滥用导致的药物残留严重影响了动物源性食品的安全。长期摄入兽药残留超标的动物源性食品,不仅易对人体造成毒性作用、过敏和变态反应、三致作用等直接危害,还会造成肠道菌群失衡、细菌耐药性增强等一系列不良反应^[6]。因此,我国农业农村部、国家卫生健康委员会及国家市场监督管理总局于2019年

收稿日期:2022-08-29;修回日期:2022-10-26;出版日期:2023-10-15

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31901767,32202174);河南省重大公益专项项目(201300110100);郑州轻工业大学博士科研基金资助项目(13501050067,13501050079)

作者简介: 季宝成(1990—),男,河南省信阳市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为食品质量与安全检测。E-mail: jibaocheng@zzuli.edu.cn

通信作者: 许旭(1990—),女,河南省洛阳市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为食品质量与安全检测。E-mail: 2019049@zzuli.edu.cn

9月联合发布《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》^[7],对动物源性食品中兽药最大残留限量做了严格、详细的规定。然而,动物源性食品中兽药残留水平低,种类多,待筛查样本量大,因此发展快速、高灵敏度、高准确度、高通量的兽药多残留分析方法对于保障动物源性食品安全非常重要。

相较于电化学方法、酶联免疫分析、荧光分析法等,液相色谱-质谱(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS)联用技术具有分析速度快、灵敏度高、准确性好、筛查通量大等优点,已被广泛应用于动物源性食品兽药多残留的监测与安全控制工作^[8-9]。但动物源性食品种类多样、基质组成较复杂,易对 LC-MS 联用电喷雾离子化过程中形成的待测分子信号造成干扰,影响检测结果的准确性和灵敏度。因此,需要采用基质净化技术对待测样品进行适宜的基质净化前处理,减弱和消除基质效应。本文拟对 LC-MS 联用技术用于检测兽药多残留时待测样品前处理的基质净化技术及该技术应用于不同种类动物源性食品兽药多残留检测的研究进展进行综述,以期为 LC-MS 联用技术在食品质量与安全控制领域的广泛应用提供参考。

1 动物源性食品基质净化技术

基质净化技术是最基本的基质效应消除技术,通过对待测样品进行一定的物理、化学方法处理,将待测组分与干扰基质分离,从而达到样品净化的目的。目前,已报道的应用于动物源性食品的基质净化技术主要包括液-液萃取(Liquid-Liquid Extraction, LLE)技术、分散液-液微萃取(Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, DLLME)技术、固相萃取(Solid-Phase Extraction, SPE)技术、固相微萃取(Solid-Phase Microextraction, SPME)技术、分散固相萃取(Dispersive Solid Phase Extraction, DSPE)技术、磁性固相萃取(Magnetic-Solid Phase Extraction, M-SPE)技术等^[4,6]。

1.1 LLE 技术

LLE 技术通过向样品溶液中加入与其互不相溶的溶剂,利用待测组分与干扰基质在溶剂中溶解度的不同,达到分离和净化的目的,已较广泛地应用于

动物源性食品的基质净化前处理^[10]。H. N. Jung 等^[11]使用乙酸-乙腈溶液($V(\text{乙酸}):V(\text{乙腈})=1:99$)作为提取液,采用乙腈饱和正己烷脱脂,结合高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)技术同时检测鳗鱼、比目鱼和虾中氯生太尔、氯硝柳胺、硝碘腈酚等 12 种驱虫药,发现该技术在 $5\sim50\text{ }\mu\text{g/kg}$ 范围内线性关系良好,基质效应适中($-99.47\%\sim51.98\%$),回收率介于 $61.58\%\sim119.37\%$ 之间(相对标准差 $\leq19.05\%$),检出限和定量限分别为 $0.3\sim1.6\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $1.0\sim5.0\text{ }\mu\text{g/kg}$,具有较好的准确性和较高的灵敏度。虽然 LLE 技术对实验条件和仪器要求不高,简单易行,但该技术通常需要消耗大量的有机溶剂,基质净化能力和净化选择性均相对较弱,特别是基质组成较复杂的动物源性食品,其净化前处理过程中需要反复进行溶剂萃取,易造成环境污染及出现危害实验人员身体健康等问题。

1.2 DLLME 技术

DLLME 技术使用分散剂提升了萃取剂在水相中的分散度,增加了水相与萃取剂的接触面积,可加速目标化合物在样品溶液与萃取剂之间的溶质传递进程^[12]。L. Vera-Candioti 等^[13]分别使用 $250\text{ }\mu\text{L}$ 二氯甲烷和 $1250\text{ }\mu\text{L}$ 乙腈作为萃取剂和分散剂,用于萃取猪血中维布沙星、二氟沙星、恩诺沙星等 9 种喹诺酮类药物。研究发现,溶液 pH 环境能够显著影响喹诺酮类药物分子的萃取效率,当在 $500\text{ }\mu\text{L}$ 猪血中添加 $40\text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 0.2 mol/L 的 HCl 溶液时(pH 值为 6.8),可获得最佳的萃取效果。J. J. Gao 等^[14]使用新型 1-丁基-3-甲基咪唑-3-羧酸盐($[\text{C}_4\text{MIM}][\text{NPA}]$)和传统 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐($[\text{C}_2\text{MIM}][\text{BF}_4]$)这 2 种离子液体作为混合分散溶剂,开发了可用于牛奶和鸡蛋中四环素类抗生素(TCs)残留的 DLLME 检测技术。研究发现, $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{NPA}]$ 在水溶液中呈强酸性,既可起到 pH 调节剂的作用,还可提供非极性环境,进而提高对 TCs 的回收率。作为一种新型的样品前处理技术, DLLME 技术在样品分离和富集方面具有操作简单、耗时少、成本低、试剂消耗少、回收率和富集效率高等优点,且与后期检测具有良好的相容性,近年来在动物源性食品兽药残留检测中呈现良好的应用前

景,但该技术的选择性较差,且主要应用于液态食品检测中,适用范围有限。

1.3 SPE 技术

SPE 技术主要基于待测组分和干扰基质在固相萃取剂上作用力的不同,实现净化的目的,具有净化效果好、适用性广、特异性强、分析结果准确等优点^[15]。常用的固相萃取剂有硅胶、氧化铝、十八烷基键合硅胶(C18)、环己基填料等,操作步骤包括平衡、加样、净化和洗脱 4 个部分,目前已成功应用于各种动物源性食品的基质净化。P. Y. Liu 等^[16]先分别使用甲酸-乙酸乙酯溶液($V(\text{甲酸}):V(\text{乙酸乙酯})=2:98$)和丙酮对猪肉中的磺胺类药物进行两步萃取,然后采用 Oasis MCX 混合阳离子固相萃取柱对样品进行净化,最后结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)技术检测猪肉中 11 种常见磺胺类药物。研究发现,待测药物在 $20\sim 400\text{ }\mu\text{g/kg}$ 范围内均表现出良好的线性关系,检出限和定量限分别为 $0.1\sim 1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $0.2\sim 3.0\text{ }\mu\text{g/kg}$,且在 $50\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $150\text{ }\mu\text{g/kg}$ 加标水平下,其回收率均处于 $79.3\%\sim 105.5\%$ 之间。SPE 技术在动物源性食品前处理领域中应用广泛,能够快速、简便、高效地去除各类食品中的干扰基质,达到分离和富集待测组分的目的,可有效解决传统 LLE 技术所需样品量大、易乳化、提取体积不准确等问题^[17]。此外,SPE 技术已实现了操作自动化,越来越广泛地应用于大批量食品安全筛查分析工作中。

1.4 SPME 技术

SPME 技术利用待测物在基质与萃取相之间的非均相平衡,使待测组分扩散吸附到石英纤维表面的固定相涂层上,待吸附平衡后,再与色谱进样装置联用,或解吸后再进样,集萃取、富集和解析于一体,具有高效、便捷和高通量的优点,在动物源性食品基质净化领域应用广泛^[18]。A. Khaled 等^[19]开发了一种 SPME 全自动高通量检测技术,用于检测鸡肉和牛肉组织中驱虫剂、镇静剂、喹诺酮类、兴奋剂等 100 余种兽药。与 LLE 技术和 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)技术相比,SPME 技术净化效果较好,仅 2 种兽药呈现显著的基质效应,而使用 LLE 技术和 QuEChERS 技术分别

有 42% 和 30% 的兽药呈现显著的基质效应。C. Y. Peng 等^[20]通过使用管内固相微萃取(in-tube SPME)技术富集猪肉中的莱克多巴胺,发现该技术对莱克多巴胺具有良好的选择性,可作为食品中痕量莱克多巴胺的检测方法。微萃取涂层部分是 SPME 技术的核心组成,其吸附性能、薄厚程度、耐溶剂性能、热稳定性等都是直接影响兽药分子萃取过程选择性及灵敏度的重要因素。加强对 SPME 涂层材料的研究,是实现目标分析物高倍富集、促进 SPME 技术发展的重要途径。

1.5 DSPE 技术

DSPE 技术可灵活地选用不同种类和配比的净化材料,将其分散于样品提取液中,通过选择性吸附干扰基质且不影响目标物质,从而达到净化的目的^[21]。M. Nemati 等^[22]开发了一种基于深度共晶溶剂的新型悬浮 DSPE 技术,并成功用于检测巴氏杀菌和未经巴氏杀菌牛奶样品中四环素类兽药的残留。研究发现,回收率为 $80\%\sim 91\%$,相对标准差 $\leq 9.8\%$,有较低的检出限($0.1\sim 0.3\text{ }\mu\text{g/kg}$)和定量限($0.6\sim 1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$)。此外,作为一种典型的 DSPE 技术,QuEChERS 技术利用传统的 LLE 技术提取目标物后再进行盐析,随后利用吸附剂填料与干扰基质的相互作用以达到除杂净化的目的,具有操作简单、回收率高、检测结果准确、应用范围广等优点^[23]。与 SPE 技术相比,QuEChERS 技术的吸附剂可直接添加到溶液中,不仅省去了萃取柱填装、平衡等过程,还增大了干扰基质与吸附剂之间的接触面积。目前,用于 QuEChERS 技术的净化材料主要包括 N-丙基乙二胺键合硅胶(PSA)、C18、石墨化炭黑(GCB)等,可用于去除基质中的蛋白质、脂质、色素等杂质,但总体基质净化效果适中。若将 QuEChERS 技术与其他净化或萃取技术相结合,尽管会增加操作的复杂性,但在一定程度上能提高其选择性、灵敏度及对复杂样品的基质净化能力。

1.6 M-SPE 技术

M-SPE 技术是以磁性或可磁化材料作为吸附基底的一种萃取技术^[24]。磁性吸附剂被直接分散到样品溶液中用于萃取目标物质,随后在外部磁场的作用下实现目标物与干扰基质的分离。与 SPE

技术相比,M-SPE 技术操作简便、重现性好,不需要繁琐的活化、上样、除杂、洗脱等流程,且无萃取柱堵塞之虞,具有良好的应用前景^[25]。H. Wang 等^[26]利用 IRMOF-3 包覆 $\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ 合成磁性固相萃取剂,结合 UPLC-MS/MS 技术成功应用于河水、养殖水和鱼肉中 10 种喹诺酮类药物的检测。研究发现,该方法具有较低的检出限($0.005\sim 0.010\text{ }\mu\text{g/kg}$)和定量限($0.100\sim 0.200\text{ }\mu\text{g/kg}$),加标回收率均在 $80.8\%\sim 112.0\%$ 之间,且具有较高的灵敏度和较好的准确性,适用于食品和环境样品中痕量喹诺酮类药物的检测。M-SPE 技术可避免使用大量有机溶剂,减少样品处理过程对环境的污染及对分析人员的伤害,但其萃取效果也会受到吸附剂种类、萃取时间长短、pH 值等因素的影响。因此,开发萃取效果好、适用范围广的吸附剂并实现其自动化、高通量是 M-SPE 技术未来发展的重要方向。

2 LC-MS 联用技术在动物源性食品兽药多残留检测中的应用

2.1 肉类及其制品中兽药多残留检测

在畜禽养殖过程中,兽药滥用现象时有发生,畜禽肉兽药残留问题不容忽视。L. M. Zhao 等^[27]利用 LC-MS 联用技术检测猪肌肉、牛肌肉、牛肝、牛肾和鸡肝中的兽药残留,方法学考查表明,90%以上的兽药回收率在 $60\%\sim 120\%$ 之间,且具有良好的重现性(相对标准差 $< 20\%$)。郭添荣等^[28]利用 Oasis® PRiME HLB 固相萃取柱与超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)联用技术检测猪肝、牛肝、羊肝、鸡肝、鸭肝、鹅肝等动物肝脏中的 45 种兽药残留,该方法在 $1\sim 2000\text{ }\mu\text{g/L}$ 范围内,所检测兽药均呈现良好的线性关系,相关系数 R^2 均大于 0.996,样品前处理过程简单、筛查通量高、结果准确。以上研究均表明,LC-MS 联用技术在畜禽动物肌肉组织及其内脏兽药残留分析中具有良好的适用性。

此外,LC-MS 联用技术还可用于检测水产品中的多种兽药残留^[29-31]。H. Park 等^[32]建立了一种可用于同时检测不同畜禽产品(牛肉、猪肉等)及水产品(扁鱼、鳗鱼和虾)中 94 种兽药多残留(包括酰胺

醇类、咪唑类、头孢菌素、大环内酯类、喹诺酮类、四环素类等)的定量方法,581 个实际样品的兽药残留分析结果发现,阳性样本检出率高达 22.5% ,其中检出率最高的兽药依次为氟甲喹、土霉素、恩诺沙星、甲氧苄啶、环丙沙星和甲苯咪唑。Q. T. Dinh 等^[31]采用 QuEChERS 技术与 UPLC-MS/MS 技术相结合的方法对鳕鱼、三文鱼、比目鱼、罗非鱼、鲱鱼、白虾和巨型虎虾中多种兽药残留(包括磺胺类、大环内酯类、林可酰胺类药物等)进行检测,结果表明,38%的受试样本至少有 1 种兽药或其代谢物被检出,其中孔雀石绿的检出率最高(13%)。此外,四环素、差向土霉素、土霉素、甲硝唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲恶唑和甲氧苄啶的最大残留量分别为 $36\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $18\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $13\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $13\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $4.8\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $4.2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $0.59\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。由以上报道可知,该方法在多种海鲜微量兽药残留分析中具有较高的应用潜力。

虽然人类对于动物蛋白的需求主要来源于驯养动物(牛、羊、猪、家禽)和水产品,但随着可食用野生动物消费市场扩大而衍生的野生动物兽药残留安全问题也备受关注^[33]。C. R. Casey 等^[33]采用乙腈-水溶液($V(\text{乙腈}):V(\text{水})=8:2$)提取样品,经 DSPE 技术净化后结合 UPLC-MS/MS 技术建立了野牛、鹿、麋鹿、兔子等野生动物中 112 种兽药残留分析方法,为野生动物食品的兽药安全控制奠定了基础。

肉制品是以畜禽肉为主要原料,经调味制作的熟肉制成品或半成品,如香肠、火腿、培根、酱卤肉、烧烤肉等。虽然肉品加工过程可能会使兽药部分降解或转化,但肉制品中潜在的兽药残留问题一直受到业界关注^[34-35]。张飞等^[34]通过乙腈-水溶液($V(\text{乙腈}):V(\text{水})=8:2$)提取结合 PRiME HLB 固相萃取柱净化,建立了卤肉中金刚烷胺、磺胺类、喹诺酮类、氯霉素类等 36 种兽药残留的 UPLC-MS/MS 检测方法。结果表明,36 种兽药在 $0.5\sim 20.0\text{ ng/mL}$ 范围内呈现良好的线性关系($R^2>0.999$),检出限和定量限分别为 $0.10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $0.20\text{ }\mu\text{g/kg}$,在中低 3 个不同加标水平($0.5\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 和 $5.0\text{ }\mu\text{g/kg}$)的回收率为 $70.8\%\sim 106.9\%$,相对标准差($n=6$) $\leq 5.3\%$ 。该方法操作简单、准确性高、回收效果和重现性好,可同时对卤肉中的 36 种兽药残

留进行检测。S. J. Lehotay 等^[35]采用 UPLC-MS/MS 技术结合基质匹配曲线方法对热狗、鲶鱼、嫩鸡肉、油炸培根和香肠中的 186 种兽药残留进行分析,发现在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标水平下,不同肉制品中 83.8%~94.6% 的兽药回收率均处于 70%~120% 之间,相对标准差<25%,可满足鱼类和即食肉基质中兽药多残留的常规监测。

鉴于肉类及其制品基质的复杂多样性和兽药分子理化性质的差异性,提取过程多采用酸化乙腈或含水乙腈溶液,以实现针对不同兽药多残留的同时萃取。但同时建立数十种乃至上百种兽药多残留的净化方法仍较困难。SPE 技术净化效果较好、基质效应低,但部分兽药残留与固相萃取材料间的吸附作用导致其回收率较低。相比之下,DSPE 技术的兽药残留兼容量高,可视为一种兽药多残留净化的理想方法,但其基质净化能力仍有待进一步提升。就现阶段基质净化技术发展而言,兽药分析通量与基质净化效率尚属一对难以调和的矛盾体,未来可在定性筛查情况下,对部分检出率高及安全风险高的兽药残留进行定量方法的研究,以建立专属性强并能准确定量的方法,实现对肉类及其制品中兽药残留的全面监管及安全风险的控制。

2.2 蛋类及其制品中兽药多残留检测

在产蛋鸡饲养过程中,兽药滥用导致的鸡蛋兽药残留问题时有发生。研究^[36]表明,将 QuEChERS 技术与 UPLC-MS/MS 技术相结合检测鸡蛋中兽药残留,具有简单、准确、低成本等优点。X. Xu 等^[37]通过制备硅烷化三聚氰胺海绵作为净化材料,结合 UPLC-MS/MS 技术实现了鸡蛋中多种兽药残留的检测,该方法检出限低(0.1~3.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$),在 2~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性良好($R^2 \geq 0.999$),适用于鸡蛋中兽药残留的高灵敏度检测。此外,C. F. Wang 等^[38]基于 LC-MS 联用技术成功开发了鸡蛋中磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、 β -内酰胺类等 7 大类兽药残留的检测方法,兽药筛查通量进一步提升。

此外,张珊等^[39]利用 QuEChERS 技术与超高效液相色谱-电喷雾-串联四级杆质谱(UPLC-ESI-MS/MS)技术相结合的方法检测鸭蛋中的大环内酯类(红霉素、替米考星、吉他霉素和泰乐霉素)和喹

诺酮类(诺氟沙星、环丙沙星、洛美沙星和恩诺沙星)兽药残留。研究发现,所检测兽药在 1~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性关系良好($R^2 > 0.99$),检出限为 0.010~0.174 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.034~0.576 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在低、中、高 3 个加标水平(5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)下的回收率均大于 70%,即该方法具有较高的灵敏度和较好的准确性。张培杨^[40]使用乙腈和 OasisR MCX $\times$ 3cc(60 mg)固相萃取小柱对样品进行提取和净化,并结合 HPLC-MS/MS 技术对不同禽蛋(鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋)中的左旋咪唑、甲苯咪唑、羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑进行检测,发现这 4 种兽药在禽蛋中的平均回收率为 85.98%~97.38%,检测限为 0.03~0.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

皮蛋、卤蛋、咸蛋、蛋黄粉等均为消费者喜爱的蛋制品。M. H. Petrarca 等^[41]通过 QuEChERS 技术与亲水作用液相色谱-四极杆飞行时间质谱(HILIC-QToF-MS)技术相结合的方法测定婴幼儿蛋制品中的 12 种磺胺类兽药(磺胺噻唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲基胍等)残留,发现该方法灵敏度高,可在较低水平(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)下实现对蛋制品中磺胺类兽药残留的高灵敏检测。

由于产蛋期诸多兽药被禁用,故对禽蛋中兽药多残留分析方法的灵敏度要求较高。相较于其他分析技术,LC-MS/MS 技术因具有高灵敏度和高选择性,在禽蛋兽药残留安全检测方面发挥着巨大作用,能够同时对禽蛋中多种潜在兽药残留进行定性定量分析,且大部分兽药残留检出限低至微克水平。相较于肉类及其制品,蛋类及其制品的基质干扰相对较弱,基于改良吸附剂的新型 QuEChERS 方法结合 LC-MS/MS 技术在不同禽蛋前处理过程中的净化效果良好,特别是在禽蛋多兽药残留同时分析中应用较广泛,已逐渐发展成为蛋类及其制品中兽药多残留监控的常用分析方法。

2.3 奶类及其制品中兽药多残留检测

兽药滥用可能导致牛奶中兽药残留并对消费者健康造成危害。B. C. Ji 等^[42]首次采用弹性多孔三聚氰胺海绵作为基质吸附剂,并结合 UPLC-MS/MS 技术实现了牛奶中多种兽药残留的检测,该方法所检测兽药的基质效应均为-20%~20%,检出限和定

量限分别为 0.1~3.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.2~6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,可用于快速检测牛奶中的兽药残留。M. R. Jadhav 等^[43]将 LC-MS/MS 技术应用于不同种类牛奶中 78 种兽药残留的定量分析,发现该方法适用于标准化牛奶、巴氏杀菌牛奶、调和牛奶和全脂奶油牛奶中兽药残留的分析。J. Li 等^[44]采用乙腈提取、正己烷脱脂并与 UPLC-MS/MS 技术相结合的方法检测牛奶中 β -内酰胺类、喹诺酮类、 β -激动剂、苯酚、糖皮质激素和硝基呋喃 6 类兽药残留,发现该方法日内精密度(1.7%~11.1%)、日间精密度(2.5%~10.4%)均良好,平均回收率为 65.9%~123.5%,相对标准差<10.8%,具有简单、经济、可靠等优点。

除牛奶外,羊奶、酸奶、奶酪等也备受人们喜爱,但其兽药残留问题仍不容忽视。高鹏飞等^[45]对多种牛奶、羊奶中兽药残留检测方法进行对比,发现 HPLC-MS/MS 和 UPLC-MS/MS 技术适用范围广、结果准确可靠且不需要衍生化反应,适用于超痕量目标物的检测分析。S. B. Ye 等^[46]利用 QuEChERS 技术与 UPLC-MS/MS 技术相结合的方法检测羊奶中 19 种喹诺酮类药物,发现这些药物的回收率在 73.4%~114.2% 范围内,定量限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且重复性好。黑真真等^[47]利用 PRIME 固相萃取柱与液相色谱-串联单四极杆质谱技术相结合的方法检测牛奶和酸奶中 33 种(咪唑类、 β -受体激动剂和大环内酯类)兽药残留,发现该方法具有快速、简便、灵敏度高、成本低等优点。曹亚飞等^[48]采用 0.1 mol/L 的 Na_2EDTA 缓冲溶液和体积分数为 5% 的醋酸乙腈作为提取溶剂,经 NaCl 和无水 Na_2SO_4 盐析及 C18 吸附剂净化后,结合 LC-MS/MS 技术成功开发了奶酪中大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类和四环素类共 50 种兽药残留的检测方法,该方法快速、简便,适用于奶酪中兽药残留的快速检测和日常监控。

奶类及其制品中蛋白质、脂肪等含量偏高,而提取液中共存的干扰基质会对兽药残留分析结果造成显著影响,其中影响最大的是前处理中沉淀蛋白及除脂过程。LC-MS 技术常与 SPE、QuEChERS 等技术相结合用于检测奶类及其制品中的兽药残留。液态奶中兽药残留萃取多采用高比例乙腈溶液,但其较高的含水量会导致青霉素、四环素、喹诺酮类等极

性兽药残留的回收率较低。此外,多肽类兽药残留易与蛋白质结合,低 pH 值条件会破坏其相互作用从而提高回收率,而四环素类兽药残留在此条件下的降解风险会增大。因此,实现奶类及其制品中多兽药处理同时萃取依然存在一定的挑战性,开发普适性强、萃取效率高的兽药残留提取方法非常重要。

2.4 其他动物源性食品中兽药多残留检测

除上述肉类、蛋类、奶类及其制品外,动物源性食品还包括蜂蜜、蜂王浆、动物血制品、阿胶等。陈瑞^[49]利用 QuEChERS 技术与 UPLC-MS/MS 技术相结合的方法用于检测猪血、鸭血、羊血、血豆腐等食品中磺胺类、喹诺酮类等 39 种兽药残留,检出限和定量限分别为 0.01~0.30 mg/kg 和 0.03~0.85 mg/kg ,该方法具有方便、快速、灵敏度高等优点。张帅^[50]利用甲酸-乙腈溶液($V(\text{甲酸}):V(\text{乙腈})=0.5:99.5$)提取与 Z-sep+净化管处理相结合的方法检测阿胶样品中的兽药残留,并构建了 132 种兽药液相色谱高分辨质谱数据库,可用于阿胶中兽药多残留的快速筛查。励炯等^[51]利用所建立的 β_2 -受体激动剂残留分析方法检测了 20 个批次的阿胶,其中 3 个批次阿胶中检测出了盐酸克伦特罗。研究^[52-54]表明,QuEChERS 技术与 LC-MS/MS 技术相结合的快速检测方法已逐渐发展成为检测蜂蜜和蜂王浆中兽药残留的主要手段。

不同动物源性食品基质组成差异较大,建立准确、灵敏的动物源性食品兽药多残留 LC-MS 联用分析方法需要考虑的影响因素众多,但主要涉及以下几个环节,如样品预处理、兽药残留提取、基质净化、基质匹配校正等。因此,利用 LC-MS 联用技术进行动物源性食品兽药多残留定量分析时,需要综合考虑兽药与糖或蛋白质等的结合作用、金属离子螯合作用、盐析作用、不同食品源干扰基质组成、样品净化方法和定量校准方法选择等多因素,方能实现对动物源性食品中兽药多残留的准确、高灵敏分析。

3 总结与展望

本文综述了利用 LC-MS 联用技术检测动物源性食品兽药多残留时需采用的主要基质净化技术研究进展,以及 LC-MS 联用技术在肉类、蛋类、奶类及

其制品等不同动物源性食品中的应用现状。LC-MS联用技术具有的高灵敏度、高选择性与高通量特征使其成为动物源性食品兽药多残留检测的良好确证技术,但其关键在于开发兽药残留兼容性强、基质净化效果好的样品前处理技术。建立动物源性食品兽药多残留高通量前处理方法依然极具挑战性,需要综合考虑不同动物源性食品基质组成、基质净化方法特征、兽药分子理化性质等,且需兼顾样品预处理、兽药残留提取、基质净化、定量校准等过程。随着兽药检测范围的扩大及检测要求的提高,动物源性食品兽药残留从单种类向多种类同步净化转变将是未来食品安全监查技术的主流趋势。此外,针对不同动物源性食品基质的差异性,如何发展不同动物源基质特异性高通量净化技术将是未来 LC-MS联用技术检测动物源性食品兽药多残留的重要研究方向。动物源性食品兽药残留安全监控工作繁重、任务艰巨,简化动物源性样品的前处理步骤,建立简便快速、自动化程度高的检测方法,提高检测效率和应用水平,也将成为未来食品兽药残留安全控制的必然趋势和发展需求。

参考文献:

- [1] JIA J Z, ZHANG H X, QU J Y, et al. Immunosensor of nitrofurantoin antibiotics and their metabolites in animal-derived foods: A review [J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 813666.
- [2] ALFARIS N A, ALTAMIMI J Z, ALOTHMAN Z A, et al. Development of a sensitive liquid-liquid extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of carbaryl residues in fresh vegetables sold in Riyadh [J]. *Journal of King Saud University Science*, 2020, 32(4): 2414-2418.
- [3] MINGLE C L, DARKO G, BORQUAYE L S, et al. Veterinary drug residues in beef, chicken, and egg from Ghana [J]. *Chemistry Africa-A Journal of the Tunisian Chemical Society*, 2021, 4(2): 339-348.
- [4] LI S L, ZHANG Q Y, CHEN M D, et al. Determination of veterinary drug residues in food of animal origin: Sample preparation methods and analytical techniques [J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2020, 43(17/18): 701-724.
- [5] LAN C, YIN D, YANG Z C, et al. Determination of six macrolide antibiotics in chicken sample by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on solid phase extraction [J]. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2019, 2019: 1-13.
- [6] 张建伟, 孟蕾, 吴志明, 等. 牛奶中兽药残留检测前处理技术研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(22): 8745-8751.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. 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.
- [8] KANDA M, NAKAJIMA T, HAYASHI H, et al. Multi-residue determination of polar veterinary drugs in livestock and fishery products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Aoac International*, 2015, 98(1): 230-247.
- [9] DESMARCHELIER A, FAN K L, TIEN M M, et al. Determination of 105 antibiotic, anti-inflammatory, antiparasitic agents and tranquilizers by LC-MS/MS based on an acidic QuEChERS-like extraction [J]. *Food Additives and Contaminants Part A (Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment)*, 2018, 35(4): 646-660.
- [10] KARRAR E, AHMED I A M, MANZOOR M F, et al. Lipid-soluble vitamins from dairy products: Extraction, purification, and analytical techniques [J]. *Food Chemistry*, 2021, 373: 131436.
- [11] JUNG H N, PARK D H, YOO K H, et al. Simultaneous quantification of 12 veterinary drug residues in fishery products using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2021, 348: 129105.
- [12] WANG Q F, CHEN R J, SHATNER W, et al. State-of-the-art on the technique of dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019, 51: 369-377.
- [13] VERA-CANDIOTI L, TEGLIA C M, CAMARA M S. Dispersive liquid-liquid microextraction of quinolones in porcine blood: Optimization of extraction procedure and CE separation using experimental design [J]. *Electrophoresis*, 2016, 37(20): 2670-2677.
- [14] GAO J J, WANG H, QU J G, et al. Development and optimization of a naphthoic acid-based ionic liquid as a "non-organic solvent microextraction" for the determination of tetracycline antibiotics in milk and chicken eggs [J]. *Food Chemistry*, 2017, 215: 138-148.
- [15] JING W Q, WANG J Q, KUIPERS B, et al. Recent applications of graphene and graphene-based materials as sorbents in trace analysis [J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 137: 116212.
- [16] LIU P Y, ZHANG H, MI Z J, et al. Determination of 11 sulfonamides in pork by two-step liquid-liquid extraction-solid phase extraction purification coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(10): 1098-1104.

- [17] PLOTKA-WASYLKA J, SZCZEPANSKA N, DE LA GUARDIA M, et al. Miniaturized solid-phase extraction techniques[J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 73: 19–38.
- [18] 唐超, 刘振平, 肖琦, 等. 固相微萃取技术在农药残留检测中的应用进展[J]. *化工管理*, 2020(35): 21–22.
- [19] KHALED A, SINGH V, PAWLISZYN J. Comparison of solid-phase microextraction to solvent extraction and QuEChERS for quantitative analysis of veterinary drug residues in chicken and beef matrices[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(46): 12663–12669.
- [20] PENG C Y, ZHANG S W, WU C L, et al. In-tube solid phase microextraction and determination of ractopamine in pork muscle samples using amide group modified polysaccharide-silica hybrid monolith as sorbent prior to HPLC analysis[J]. *Food Chemistry*, 2021, 355: 129662.
- [21] 郑文慧, 叶江雷, 王秀彬, 等. 分散固相萃取法在农药残留检测中应用的进展[J]. *分析仪器*, 2011(4): 23–27.
- [22] NEMATI M, FARAJZADEH M A, AFSHAR MOGADDAM M R A. Development of a surfactant-assisted dispersive solid phase extraction using deep eutectic solvent to extract four tetracycline antibiotics residues in milk samples[J]. *Journal of Separation Science*, 2021, 44(10): 2121–2130.
- [23] CHISVERT A, CARDENAS S, LUCENA R. Dispersive micro-solid phase extraction[J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 112: 226–233.
- [24] CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, LA BARBERA G, et al. Recent applications of magnetic solid-phase extraction for sample preparation[J]. *Chromatographia*, 2019, 82(8): 1251–1274.
- [25] 吴科盛, 许恒毅, 郭亮, 等. 磁性固相萃取在检测分析中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(23): 317–320.
- [26] WANG H, ZHAO X Y, XU J W, et al. Determination of quinolones in environmental water and fish by magnetic metal organic frameworks based magnetic solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1651: 462286.
- [27] ZHAO L M, LUCAS D, LONG D, et al. Multi-class multi-residue analysis of veterinary drugs in meat using enhanced matrix removal lipid cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1549: 14–24.
- [28] 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.
- [29] 孙晓杰, 高金芳, 李兆新, 等. 通过式净化-液相色谱-串联质谱快速筛查水产品中 15 类 107 种兽药多残留的方法研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(22): 8240–8246.
- [30] JUNG H N, PARK D H, YOO K H, et al. Simultaneous quantification of 12 veterinary drug residues in fishery products using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2021, 348: 129105.
- [31] DINH Q T, MUNOZ G, VO DUY S, et al. Analysis of sulfonamides, fluoroquinolones, tetracyclines, triphenylmethane dyes and other veterinary drug residues in cultured and wild seafood sold in Montreal, Canada[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 94: 103630.
- [32] PARK H, CHOI S Y, KANG H S, et al. Multi residue determination of 96 veterinary drug residues in domestic livestock and fishery products in South Korea[J]. *Aquaculture*, 2022, 553: 738064.
- [33] CASEY C R, ANDERSEN W C, WILLIAMS N T, et al. Multiclass, multiresidue method for the quantification and confirmation of 112 veterinary drugs in game meat (bison, deer, elk, and rabbit) by rapid polarity switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(4): 1175–1186.
- [34] 张飞, 王远, 马小宁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测卤肉中 36 种兽药残留[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(13): 340–348.
- [35] LEHOTAY S J, LIGHTFIELD A R. Extract-and-inject analysis of veterinary drug residues in catfish and ready-to-eat meats by ultrahigh-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Aoac International*, 2020, 103(2): 584–606.
- [36] XU X, XU X Y, HAN M, et al. Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the simultaneous determination of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in eggs by UPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2019, 276: 419–426.
- [37] XU X, ZHAO W H, JI B C, et al. Application of silanized melamine sponges in matrix purification for rapid multi-residue analysis of veterinary drugs in eggs by UPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2022, 369: 130894.
- [38] WANG C F, LI X W, YU F G, et al. Multi-class analysis of veterinary drugs in eggs using dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2021, 334: 127598.
- [39] 张珊, 李述刚, 黄小波, 等. 基于 QuEChERS 方法的鸭蛋兽药残留快速检测方法的构建[J]. *食品工业*, 2020, 41(7): 255–258.
- [40] 张培杨. 禽肉和禽蛋中左旋咪唑、甲苯咪唑及其两种代谢物残留 HPLC-MS/MS 检测方法的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [41] PETRARCA M H, BRAGA P A D, REYES F G R, et al. Exploring miniaturized sample preparation approaches combined with LC-QToF-MS for the analysis of sulfonamide antibiotic residues in meat-and/or egg-based baby

- foods[J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130587.
- [42] JI B C, ZHAO W H, XU X, et al. Development of a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method based on melamine sponge for multi-residue analysis of veterinary drugs in milks by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2021, 1651: 462333.
- [43] JADHAV M R, PUDALE A, RAUT P, et al. A unified approach for high-throughput quantitative analysis of the residues of multi-class veterinary drugs and pesticides in bovine milk using LC-MS/MS and GC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2019, 272: 292–305.
- [44] LI J, REN X L, DIAO Y Y, et al. Multiclass analysis of 25 veterinary drugs in milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2018, 257: 259–264.
- [45] 高鹏飞, 龚威, 汤亚云, 等. 牛、羊肉和牛、羊奶中兽药残留现状分析及检测技术研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(1): 77–85.
- [46] YE S B, HUANG Y, LIN D Y. QuEChERS sample pre-processing with UPLC-MS/MS: A method for detecting 19 quinolone-based veterinary drugs in goat's milk [J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131466.
- [47] 黑真真, 李莉, 李硕, 等. 超高效液相色谱-单四极杆质谱联用法检测奶粉与酸奶中 33 种兽药残留[J]. 食品
- 安全质量检测学报, 2019, 10(10): 3054–3064.
- [48] 曹亚飞, 康健, 常巧英, 等. QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法快速测定奶酪中多类兽药残留[J]. 色谱, 2015, 33(2): 132–139.
- [49] 陈瑞. 可食用动物血制品中兽药多残留同时检测方法研究[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2020.
- [50] 张帅. 蜂蜜、阿胶中化学性危害物检测技术研究[D]. 北京: 国际关系学院, 2020.
- [51] 励炯, 林伟杰, 王红青, 等. HPLC-MS/MS 测定动物源性中药中的 3 种 β_2 -受体激动剂残留[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(4): 501–505.
- [52] JIN Y, ZHANG J Z, ZHAO W, et al. Development and validation of a multiclass method for the quantification of veterinary drug residues in honey and royal jelly by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 1298–1307.
- [53] LEI H Y, GUO J B, LYU Z, et al. Simultaneous determination of nitroimidazoles and quinolones in honey by modified QuEChERS and LC-MS/MS analysis [J]. International Journal of Analytical Chemistry, 2018, 2018: 4271385.
- [54] ZHANG Y, LI X Q, LI H M, et al. Antibiotic residues in honey: A review on analytical methods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Trac-Trends in Analytical Chemistry, 2019, 110: 344–356.

Research progress on matrix purification combined with LC-MS method for the detection of veterinary drug residues in animal-derived foods

Ji Baocheng^{1,2,3}, YANG Lanrui^{1,2,3}, HAN Yu^{1,2,3}, BAI Yanhong^{1,2,3}, XU Xu^{1,2,3}

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Safety Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001, China;

3. Henan Collaborative Innovation Center for Food production and Safety, Zhengzhou 450001, China

Abstract: The research progress in matrix purification combined with liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method as well as their applications in determination of veterinary drugs in animal-derived foods was reviewed. Among various matrix purification methods, liquid liquid extraction (LLE), dispersed liquid liquid microextraction (DLLME), solid phase extraction (SPE), solid phase microextraction (SPME), dispersed solid phase extraction (DSPE), and magnetic solid phase extraction (MSPE) are mostly widely used in different animal derived foods such as meat, eggs, milk, and their products. However, there are still some limitations, such as weak matrix selectivity of LLE, limited applicability of DLLME, moderate purification efficiency DPSE, poor reproducibility of SPME, and time-consuming operation of SPE. In the future, the detection technology of veterinary drugs in various animal-derived foods could be further studied in terms of establishing simultaneous purification methods for various kinds of veterinary drugs, developing novel and efficient matrix-based purification materials, and enhancing convenience and automation in matrix purification process to meet the urgent needs in screening of multi-residues of veterinary drugs in animal-derived foods.

Key words: animal-derived food; veterinary drug residues; LC-MS; matrix purification technology

(责任编辑: 杨晓娟)