

LC-MS/MS快速检测水产类农兽药残留

Rapid determination of agricultural and veterinary drug residues in aquatic products by LC-MS / MS

刘青¹, 张小刚¹, 杨总¹, 黄文杰², 李荷香², 刘冰洁¹, 郭立海¹

Liu Qing¹, Zhang Xiaogang¹, Yang Zong¹, Chen Qing², Huang Wenjie², Li Henxiang², Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX Application Support Center, China

² Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd

Keywords: 兽药; 水产品; 激素类; 甲苯咪唑

引言

随着经济快速增长以及生活水平提高,消费者对食品质量安全的关注度日益上升。作为主要食物之一的鱼、虾等水产品的质量安全问题也受到人民群众的广泛关注和政府部门的高度重视。水产养殖业的现代化、集约化、规模化发展,使得各类药物、添加剂、改良剂、微生物制剂等产品在水产养殖业中被广泛应用,有效降低了水产的发病率、死亡率,降低了养殖成本。但是这些药物或制剂的使用是否符合规范,是否会导致水产品药物残留积累或水体土壤污染等问题值得探究。在这样的背景下,农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局公告2019年第114号,《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》(GB 31650-2019,代替农业部公告第235号中的相应部分)国家标准颁布实施。本文采用高效液相色谱串联质谱建立了对于新颁布实施的水产类产品的兽药检测标准进行了前处理和方法学验证工作,该方案的优势和特点。

- 1. 方法全面:** 覆盖2021版本所有水产类系列标准GB 31656.14-2022、GB 31656.15-2022中的化合物种类;
- 2. 方法灵敏度高:** 水产类基质中所有化合物的灵敏度均满足以上标准的限量要求;
- 3. 紧扣标准:** 所有水产类基质的前处理方法均与标准保持一致,满足检验需求,实用性强;

1 实验方法

1.1 样品前处理

本实验的前处理方法全部按照标准的要求进行;

方法1: GB 31656.14-2022 水产品中27种性激素残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法2: GB 31656.15-2022水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定液相色谱-串联质谱法

1.2 液相色谱条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ 系统

色谱柱: Phenomenex C18 (100×2.1 mm, 1.7 μm)

流动相: A为0.1%的甲酸(5 mmol/L乙酸铵溶液), B为甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

洗脱程序: 梯度洗脱

1.3 质谱条件

质谱系统: SCIEX 三重四级杆系统

扫描模式: 多反应监测MRM; 离子源: ESI源; 喷雾电压(IS): 5500/-4500 V; 离子源温度(TEM): 550 °C; 气帘气(CUR): 35 psi; 碰撞气(CAD): Medium; 雾化气(GS1): 55 psi; 辅助雾化气(GS2): 55psi; MRM离子对见(表1)。

表2. 离子对信息

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
265.2	249	己二烯雌酚 1	-115	-11	GB 31656.14-2022	329.3	81.1	康力龙 1	140	65	GB 31656.14-2022
265.2	235.1	己二烯雌酚 2	-115	-11	GB 31656.14-2022	329.4	121.2	康力龙 2	140	50	GB 31656.14-2022
267.1	251.1	己烯雌酚 1	-100	-20	GB 31656.14-2022	315.2	97.1	孕酮 1	80	32	GB 31656.14-2022
267.1	237.1	己烯雌酚 2	-100	-25	GB 31656.14-2022	315.2	109.1	孕酮 2	80	36	GB 31656.14-2022
268.9	133.9	己烷雌酚 1	-86	-23	GB 31656.14-2022	313.2	91.0	左炔诺孕酮 1	60	65	GB 31656.14-2022
268.9	118.9	己烷雌酚 2	-86	-52	GB 31656.14-2022	313.2	245.2	左炔诺孕酮 2	60	25	GB 31656.14-2022
269.1	183.1	雌酮 1	-120	-50	GB 31656.14-2022	275.2	109.1	诺龙 1	80	37	GB 31656.14-2022
269	144.9	雌酮 2	-130	-10	GB 31656.14-2022	275.2	257.2	诺龙 2	80	24	GB 31656.14-2022
270.9	182.9	雌二醇 1	-106	-57	GB 31656.14-2022	407.2	105.2	苯丙酸诺龙 1	80	36	GB 31656.14-2022
270.9	145.0	雌二醇 2	-106	-55	GB 31656.14-2022	407.2	257.2	苯丙酸诺龙 2	80	25	GB 31656.14-2022
286.9	170.9	雌三醇 1	-120	-51	GB 31656.14-2022	289.2	97.2	睾酮 1	60	27	GB 31656.14-2022
286.9	144.8	雌三醇 2	-128	-55	GB 31656.14-2022	289.2	109.1	睾酮 2	60	32	GB 31656.14-2022
295	144.8	炔雌醇 1	-130	-53	GB 31656.14-2022	287.1	121	勃地酮 1	85	25	GB 31656.14-2022
295	268.8	炔雌醇 2	-130	-43	GB 31656.14-2022	287.1	135	勃地酮 2	85	19	GB 31656.14-2022
377.1	104.9	苯甲酸雌二醇 1	97	23	GB 31656.14-2022	271	253.1	群勃龙 1	90	27	GB 31656.14-2022
377.1	135.1	苯甲酸雌二醇 2	97	35	GB 31656.14-2022	271	199	群勃龙 2	90	33	GB 31656.14-2022
331.23	109	17- α 羟基孕酮 1	110	45	GB 31656.14-2022	303.2	109	甲基睾酮 1	106	30	GB 31656.14-2022
331.23	97	17- α 羟基孕酮 2	110	43	GB 31656.14-2022	303.2	97.0	甲基睾酮 2	106	28	GB 31656.14-2022
331.2	97.1	21- α 羟基孕酮 1	100	30	GB 31656.14-2022	287.1	97.1	雄烯二酮 1	110	29	GB 31656.14-2022
331.2	109	21- α 羟基孕酮 2	100	33	GB 31656.14-2022	287.1	109	雄烯二酮 2	110	33	GB 31656.14-2022
387.1	327.1	醋酸甲羟孕酮 1	96	18	GB 31656.14-2022	301.1	121.1	美雄酮 1	50	35	GB 31656.14-2022
387.1	123	醋酸甲羟孕酮 2	96	30	GB 31656.14-2022	301.1	283.1	美雄酮 2	50	17	GB 31656.14-2022
405.2	309.2	醋酸氯地孕酮 1	100	21	GB 31656.14-2022	345.2	97.0	丙酸睾酮 1	114	23	GB 31656.14-2022
405.2	345.2	醋酸氯地孕酮 2	100	17	GB 31656.14-2022	345.2	109	丙酸睾酮 2	114	29	GB 31656.14-2022
385.1	325.1	醋酸甲地孕酮 1	90	20	GB 31656.14-2022	296.2	264.1	甲苯咪唑 1	100	32	GB 31656.15-2022
385.1	267.1	醋酸甲地孕酮 2	90	26	GB 31656.14-2022	296.2	77.1	甲苯咪唑 2	100	76	GB 31656.15-2022
345.1	123.1	甲羟孕酮 1	40	35	GB 31656.14-2022	298	266	羟基甲苯咪唑 1	96	33	GB 31656.15-2022
345.1	97.1	甲羟孕酮 2	40	40	GB 31656.14-2022	298	160	羟基甲苯咪唑 2	96	47	GB 31656.15-2022
299.2	231.2	炔诺酮 1	60	27	GB 31656.14-2022	238.1	105	氨基甲苯咪唑 1	110	33	GB 31656.15-2022
299.2	109.1	炔诺酮 2	60	34	GB 31656.14-2022	238.1	77	氨基甲苯咪唑 2	110	54	GB 31656.15-2022

2 实验结果与讨论

2.1 色谱条件优化

针对上述不同的实验的前处理，实验详细优化了色谱条件，比较了不同品牌、不同型号的色谱柱以及流动相，有效的避开基质干扰，定量结果更准确。

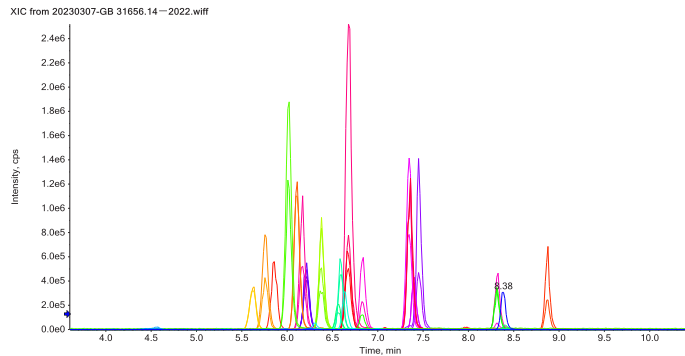


图1.水产品中激素类残留量提取离子流图(GB 31656.14-2022)

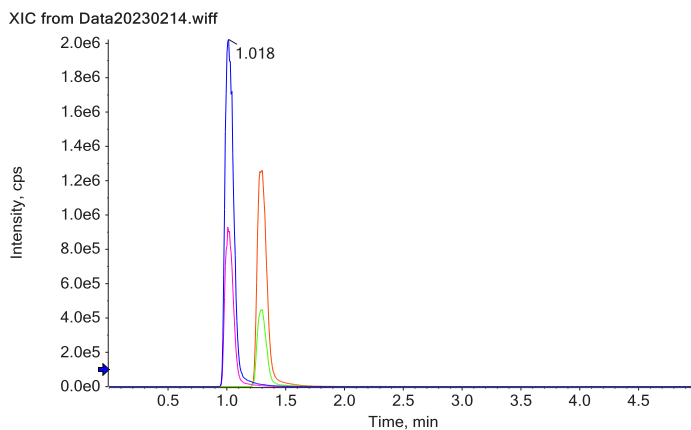


图2.基质加标甲硝咪唑类提取离子流图(GB 31656.15-2022)

2.2 方法考察了重复性、线性等

实验分别按照前述前处理方法，选取适用的禽、畜肉空白基质添加1倍和5倍地定量限两个浓度，每个浓度重复6次，准确度在77.98%-120.39%之间 (n=6)，相对标准偏差小于2.57% (表3)，实验结果表明该方法具有较好的准确度以及良好的稳定性。基质加标曲线相关系数均大于 $r > 0.995$ (图2)，表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

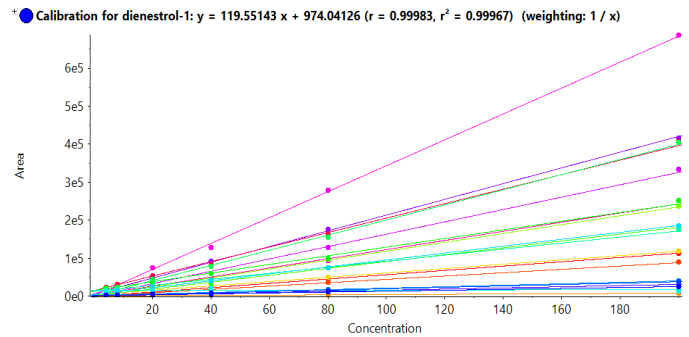


图3.水产基质激素类残留量线性回归曲线GB 31656.14-2021)

表3.回收率及重复性实验 (n=6)

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
己二烯雌酚	1.0	81.72	1.06
	10.0	88.48	1.86
己烯雌酚	1.0	81.37	2.57
	10.0	80.92	2.34
己烷雌酚	1.0	110.99	2.35
	10.0	110.70	2.24
雌酮	1.0	93.29	1.54
	10.0	113.74	1.84
雌二醇	1.0	106.22	1.54
	10.0	104.69	1.05
雌三醇	1.0	113.65	1.15
	10.0	102.52	2.43
炔雌醇	1.0	86.12	0.88
	10.0	80.81	0.99
苯甲酸雌二醇	1.0	88.99	1.33
	10.0	79.53	1.06
17-α 羟基孕酮	1.0	117.33	1.25
	10.0	82.73	2.03
21-α 羟基孕酮	1.0	118.74	0.84
	10.0	58.89	1.73
醋酸甲羟孕酮	1.0	87.87	2.36
	10.0	90.34	2.24
醋酸氯地孕酮	1.0	78.98	0.86
	10.0	106.00	1.34
醋酸甲地孕酮	1.0	89.35	1.55
	10.0	89.61	1.63
甲羟孕酮	1.0	111.27	1.57
	10.0	120.22	2.43

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均 回收率(%)	相对标准 偏差(%)
炔诺酮	1.0	141.36	1.99
	10.0	84.74	1.46
康力龙	1.0	95.80	2.02
	10.0	107.43	2.21
孕酮	1.0	92.35	1.76
	10.0	104.91	1.44
左炔诺孕酮	1.0	79.73	2.03
	10.0	109.40	1.94
诺龙	1.0	112.18	2.15
	10.0	111.92	1.46
苯丙酸诺龙	1.0	110.71	1.26
	10.0	116.46	1.04
睾酮	1.0	120.39	1.14
	10.0	96.44	1.42
勃地酮	1.0	114.13	1.29
	10.0	93.54	1.05
群勃龙	1.0	120.07	1.31
	10.0	100.18	1.25
甲基睾酮	1.0	77.98	1.75
	10.0	114.82	1.84
雄烯二酮	1.0	97.34	1.25
	10.0	102.34	1.65
美雄酮	1.0	118.32	1.08
	10.0	100.12	2.25
丙酸睾酮	1.0	99.53	1.46
	10.0	84.56	1.73
甲苯咪唑	5.0	94.76	1.85
	25.0	96.79	1.94
羟基甲苯咪唑	5.0	92.86	2.36
	25.0	95.93	1.67
氨基甲苯咪唑	5.0	102.65	1.64
	25.0	94.87	1.26

3 小结

本文建立了高效液相色谱-串联三重四极杆质谱快速定量分析检测多类农兽药的检测方法。实验严格按照GB31650-2019配套相关标准进行，确保了实验结果的有效性，定量结果更准确。该方法足以满足GB 31656.14-2022、GB 31656.15-20221定量检测要求，在水产类食品的分析检测具有重要的参考意义。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15666-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)