

# LC-MS/MS快速检测牛奶及牛奶制品兽药残留

## Rapid determination of veterinary drug residues in milk by LC-MS/MS

刘青<sup>1</sup>, 张小刚<sup>1</sup>, 杨总<sup>1</sup>, 黄文杰<sup>2</sup>, 李荷香<sup>2</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Liu Qing<sup>1</sup>, Zhang Xiaogang<sup>1</sup>, Yang Zong<sup>1</sup>, Chen Qing<sup>2</sup>, Huang Wenjie<sup>2</sup>, Li Henxiang<sup>2</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCIEX Application Support Center, China

<sup>2</sup> Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd

**Keywords:** 兽药; 牛奶; 奶粉

### 引言

牛奶营养丰富, 最好的天然食物, 其富含优质蛋白质, 并含有容易消化和吸收的脂肪, 有调节胃酸、帮助消化、抑制腐败菌生长的乳糖, 还有丰富的钙和多种维生素, 是最接近完美的食品, 被人们称为“白色血液”, 深受广大消费者青睐。随着人们对食品安全的重视, 牛奶中兽药残留已逐渐成为人们关注的一个焦点。兽药残留是指给动物使用兽用药物后蓄积和贮存在细胞、组织和器官内的药物原形、代谢产物和药物杂质, 包括兽药在生态环境中的残留和兽药在动物性食品中的任何可食部分的残留。牛奶中兽药残留超标, 将严重危害人类身体健康, 因此禽、兽肉目前国家监管日趋严格。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)食品安全国家标准颁布实施。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禽、兽类产品的检测标准进行了前处理和方法学验证工作, 该方法的优势和特点。

- 方法全面:** 覆盖GB 31659.2-2022、GB 31659.3-2022、GB 31659.4-2022、GB 31659.5-2022、GB 31659.6-2022标准中所有化合物种类;
- 方法灵敏度高:** 所有化合物的灵敏度均满足以上标准的限量要求;
- 紧扣标准:** 所有牛奶即制品基质的前处理方法与标准一致, 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 31659.2-2022禽蛋、奶和奶粉中多西环素残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法2: GB 31659.3-2022奶和奶粉中头孢类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法3: GB 31659.4-2022奶及奶粉中阿维菌素类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法4: GB 31659.5-2022 牛奶中利福昔明残留量的测定液相色谱-串联质谱法

方法5: GB 31659.6-2022牛奶中氯前列醇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甲酸水溶液(5 mmol/L乙酸铵溶液), B为乙腈

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

洗脱条件: 梯度洗脱

### 1.3 质谱条件

质谱系统：SCIEX 三重四级杆质谱系统

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（阿维菌素类

300°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1. 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
445	428.1	多西环素 1	80	24	GB 31659.2-2022
445	154.1	多西环素 2	80	35	GB 31659.2-2022
347.9	157.9	头孢氨苄 1	55	13	GB 31659.3-2022
347.9	174	头孢氨苄 2	55	21	GB 31659.3-2022
350	175.9	头孢拉定 1	55	17	GB 31659.3-2022
350	157.9	头孢拉定 2	55	13	GB 31659.3-2022
455.1	323	头孢唑林 1	37	15	GB 31659.3-2022
455.1	156	头孢唑林 2	37	22	GB 31659.3-2022
646.4	143	头孢哌酮 1	70	38	GB 31659.3-2022
646.4	530.2	头孢哌酮 2	70	15	GB 31659.3-2022
362	258	头孢乙腈 1	60	13	GB 31659.3-2022
362	178	头孢乙腈 2	60	20	GB 31659.3-2022
424.1	292	头孢匹林 1	45	21	GB 31659.3-2022
424.1	152	头孢匹林 2	45	29	GB 31659.3-2022
459	152	头孢洛宁 1	55	26	GB 31659.3-2022
459	123	头孢洛宁 2	55	15	GB 31659.3-2022
529	134	头孢喹肟 1	60	19	GB 31659.3-2022
529	396	头孢喹肟 2	60	19	GB 31659.3-2022
456	166.9	头孢噻肟 1	60	28	GB 31659.3-2022
456	125	头孢噻肟 2	60	70	GB 31659.3-2022
382.1	111.8	去乙酰基头孢匹林 1	36	35	GB 31659.3-2022
382.1	152	去乙酰基头孢匹林 2	36	27	GB 31659.3-2022
890.5	305.1	阿维菌素B1a 1	95	33	GB 31659.4-2022
890.5	145	阿维菌素B1a 2	95	58	GB 31659.4-2022
892.5	569.4	2, 3-二氢阿维菌素 B1a 1	85	35	GB 31659.4-2022
892.5	307.3	2, 3-二氢阿维菌素 B1a 2	85	35	GB 31659.4-2022
916.5	331.2	多拉菌素 1	80	35	GB 31659.4-2022
916.5	593.3	多拉菌素 2	80	22	GB 31659.4-2022
914.5	186.1	乙酰氨基阿维菌素B1a 1	110	25	GB 31659.4-2022
914.5	154	乙酰氨基阿维菌素B1a 2	110	62	GB 31659.4-2022
786.2	151	利福昔明 1	60	52	GB 31659.5-2022
786.2	754.3	利福昔明 2	60	34	GB 31659.5-2022
423.1	126.8	氯前列醇 1	-120	-40	GB 31659.6-2022
423.1	189.3	氯前列醇 2	-120	-34	GB 31659.6-2023

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 色谱条件优化

本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，使得所有的化合物有较好的分离、尖锐的峰形，同时有效的避开基质干扰，让定量结果更加准确。

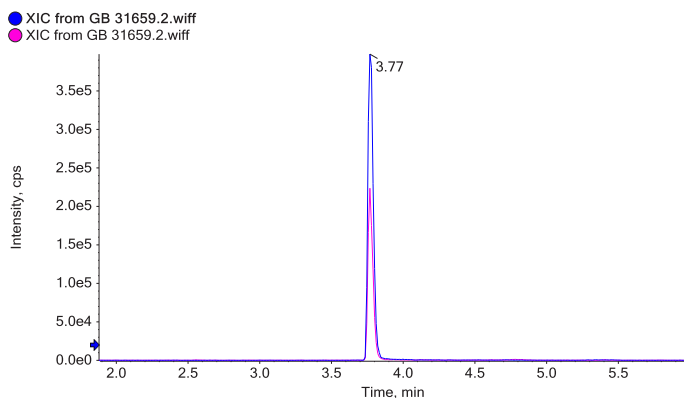


图1. 牛奶中多西环素提取离子流图(GB 31659.2-2022)

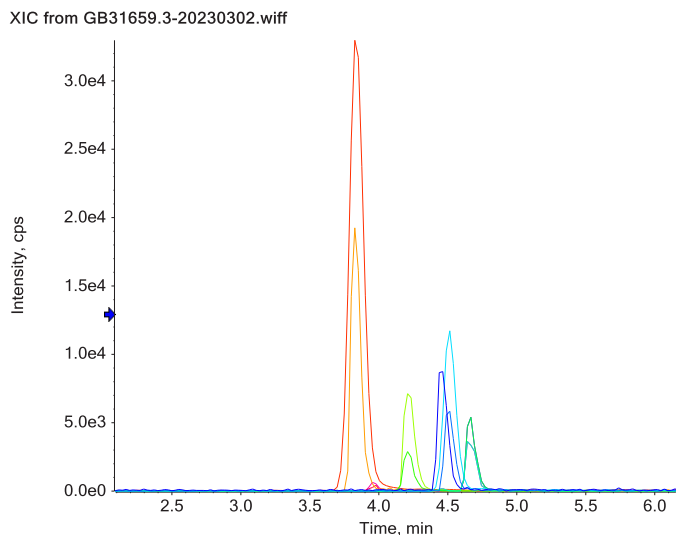


图2. 牛奶中头孢菌素类化合物提取离子流图 (GB 31659.3-2022)

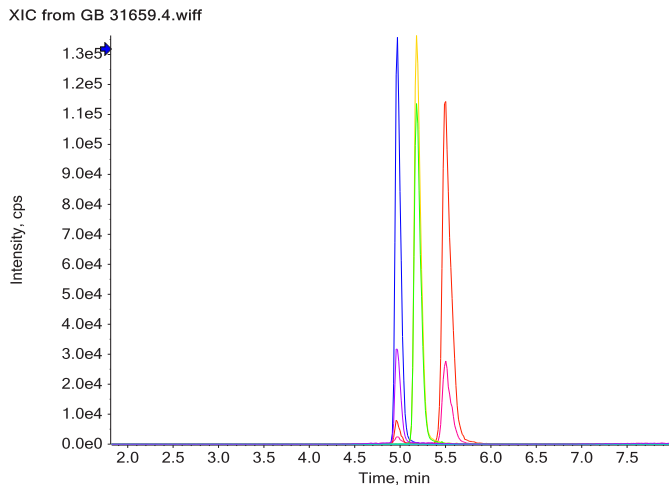


图3. 牛奶中阿维菌素类提取离子流图 (GB 31659.4-2022)

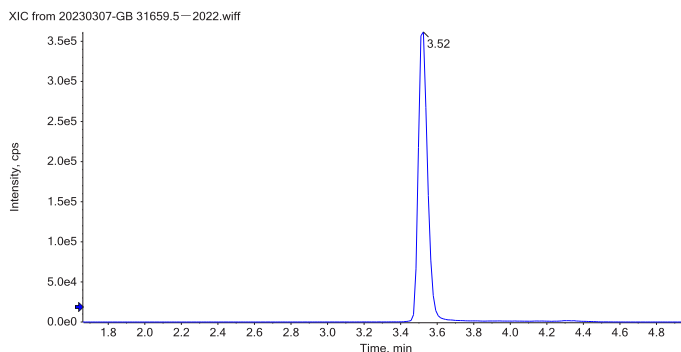


图4. 牛奶中利福昔明提取离子流图 (GB 31659.5-2022)

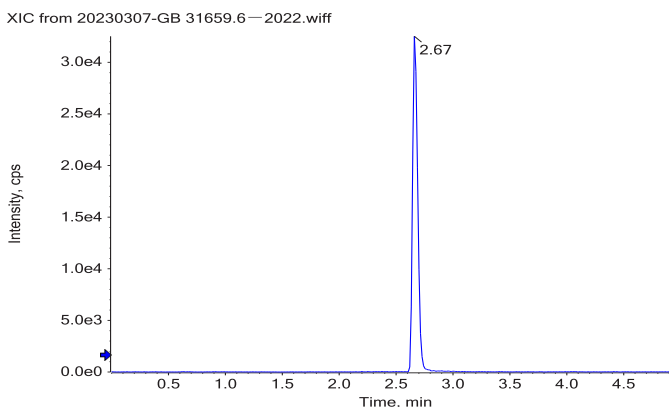


图5. 牛奶中氯前列腺醇提取离子流图 (GB 31659.6-2022)

## 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86.51%-117.69%之间（n=6），相对标准偏差小于2.65%（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6），表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

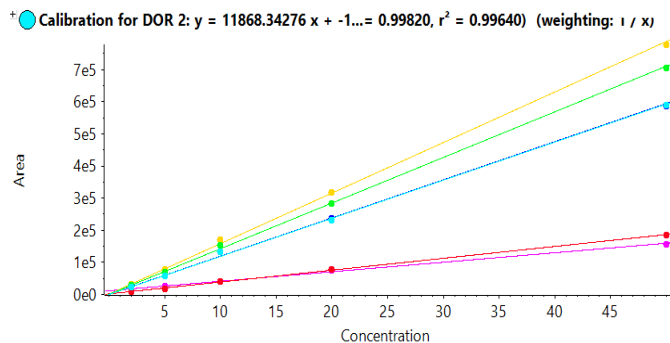


图6. 牛奶中阿维菌素类线性回归曲线（GB 31659.4-2022）

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(%)
多西环素	2	102.30	1.25
	20	100.50	2.05
头孢氨苄	1.0	110.03	1.23
	10.0	94.73	2.03
头孢拉定	1.0	104.16	1.26
	10.0	113.17	2.65
头孢唑林	1.0	96.35	1.43
	10.0	101.27	2.06
头孢哌酮	1.0	109.88	1.84
	10.0	86.91	1.56

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
头孢乙腈	1.0	106.50	1.23
	10.0	117.91	0.86
头孢匹林	1.0	93.80	1.35
	10.0	107.77	2.31
头孢洛宁	1.0	104.81	1.63
	10.0	98.81	1.54
头孢喹肟	1.0	104.34	2.01
	10.0	107.69	1.68
头孢噻肟	1.0	86.51	1.93
	10.0	113.53	1.08
去乙酰基头孢匹林	1.0	108.3	2.13
	10	89.93	1.98
阿维菌素B1a	0.5	100.56	2.12
	5.0	102.16	1.75
2, 3-二氢阿维菌素 B1a	0.5	112.76	1.45
	5.0	93.76	1.67
多拉菌素	0.5	89.66	2.11
	5.0	106.18	2.04
乙酰氨基阿维菌素B1a	0.5	98.50	1.35
	5.0	97.60	1.46
利福昔明	10	109.90	1.64
	100	107.40	1.98
氯前列醇	5	96.40	1.85
	50	115.40	1.09

## 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牛奶中两类兽药的方法。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 31659.2-2022、GB 31659.3-2022、GB 31659.4-2022、GB 31659.5-2022、GB 31659.6-2022标准的检测要求，在牛奶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-02-15650-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](http://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)