

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.04.09

# 高效液相色谱 - 串联质谱法检测牛组织和奶中咪多卡残留的研究

白玉惠, 孙红洋, 张 骊, 朱馨乐, 沈 昕, 黄耀凌\*

(中国兽医药品监察所(农业农村部兽药评审中心)国家兽药残留基准实验室, 北京 100081)

[收稿日期] 2023-08-29 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2024)04-0069-07 [中图分类号] S857.84

**[摘要]** 建立了一种检测牛组织和牛奶中咪多卡残留检测的高效液相色谱 - 串联质谱法。牛组织(肌肉、肝脏、肾脏、脂肪)和奶在 NaAc 缓冲体系中酶解, 经 HCl 溶液提取, WCX 固相萃取柱净化, 以 0.3% 甲酸水溶液(含 20 mM 甲酸铵)和 0.3% 甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱, 在 HILIC 色谱柱上分离, 在电喷雾正离子(ESI<sup>+</sup>)模式下, 用多反应监测(MRM)模式检测, 同位素内标法定量。结果表明: 咪多卡在 2.5 ~ 1000 ng/mL 的浓度范围内呈现良好线性关系, 相关系数( $R^2$ )大于 0.99; 咪多卡在牛组织和奶中的检测限均为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限均为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 咪多卡在牛组织和奶中 20 ~ 4000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  添加浓度水平上的回收率在 70.9% ~ 109% 范围内; 批内 RSD 在 0.55% ~ 9.59% 之间, 批间 RSD 在 2.21% ~ 12.1% 之间。该方法具有灵敏度高、定量准确, 重复性好等特点, 可以满足牛组织和奶中咪多卡残留检测的要求。

**[关键词]** 牛组织; 牛奶; 咪多卡; 残留; 高效液相色谱 - 串联质谱法

## Detection of Imidocarb Residues in Cattle Tissues and Milk by High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

BAI Yu-hui, SUN Hong-yang, ZHANG Li, ZHU Xin-le, SHEN Xin, HUANG Yao-ling\*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: HUANG Yao-ling, E-mail: huangyl41@126.com

**Abstract:** A high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry method was established for the determination of imidocarb residues in cattle tissues (muscle, liver, kidney, fat) and milk. Imidocarb was enzymolyzed in sodium acetate buffer, and extracted with HCl solution. Then the sample solutions were purified with WCX SPE column. The mobile phase were formic acid solution (20 mM ammonium formate) and acetonitrile (0.3% formic acid), and the samples were separated by HILIC column. The residues was analyzed by positive ion

基金项目: 2020 年农业行业标准和国家标准制修订项目(SCB-2007)

作者简介: 白玉惠, 博士, 从事兽药残留检测及管理、食源性病原菌防控技术研究工作。

通讯作者: 黄耀凌。E-mail: huangyl41@126.com

electrospray ionization (ESI<sup>+</sup>) applying the detection mode of MRM and quantified by isotopic internal standard. Good linearities of the calibration curves were obtained with the range of 2.5 ~ 1000 ng/mL, the correlation coefficient  $R^2 > 0.99$ . The limit of detection of imidocarb was 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limit of quantification of imidocarb was 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The recoveries of imidocarb residues were 70.9% ~ 109%, for cattle tissues (muscle, liver, kidney, fat) and milk at the concentrations of 20 ~ 4000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The intra - batch variation coefficients were 0.55% ~ 9.59%, and inter - batch variation coefficients were 2.21% ~ 12.1%. With high sensitivity, good accuracy and repeatability, the method can be applied for the determination of imidocarb residues in cattle tissues and milk.

**Key words:** cattle tissues; milk; imidocarb; residues; high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry method

咪多卡(Imidocarb, 化学式  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}$ ) 又称双脒苯脒、咪唑苯脒, 是苯氨基类衍生物之一。化学名为 N,N'-二[3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)苯基]脒, 属于均二苯基脒衍生物, 是动物专用抗原虫化学药物, 对家畜梨形虫病、无浆体病及附红细胞体病等有很好的预防效果和治疗作用<sup>[1-3]</sup>。作为新型抗梨形虫药物, 是美国药典唯一收录的应用于梨形虫病的治疗药物, 临床上一般用其二丙酸盐或二盐酸盐。目前, 该药已广泛应用于世界各地, 为国际公认的最佳抗梨形虫药物, 2022 年, 二丙酸咪多卡获得我国二类新兽药证书。在动物体内, 该药的主要蓄积器官是肝脏与肾脏, 心脏与肌肉次之, 脑残留量也很高, 可能产生一定的神经毒性。我国农业农村部于 2019 年 9 月发布的 GB 31650 - 2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定咪多卡在牛各组织中最大残留限量为脂肪和牛奶 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肌肉 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾脏 1500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝脏 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[4]</sup>。当前, 国内外关于咪多卡残留量分析方法主要是采用分光光度法<sup>[5-6]</sup>和高效液相色谱法<sup>[7-10]</sup>, 处理方法较为复杂, 检测限较高。本文旨在建立一种牛可食性组织及牛奶中咪多卡的高效液相色谱 - 串联质谱测定方法, 灵敏度高, 重复性好, 以满足该药物在牛可食性组织和牛奶中的残留检测要求。

## 1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent InfinityII/6470 Triple Quad 质谱仪(美国安捷伦公司); 分析天平和天平(德国梅特勒

- 托利多公司); Biofuge Strators 高速冷冻离心机(德国 Thermo 公司); SIR4 涡旋混合器(IKA 公司); 固相萃取装置(Waters 公司); 氮吹仪(广州得泰仪器科技有限公司); 振荡器(北京踏锦科技有限公司)。

1.2 药品和试剂 咪多卡(Imidocarb,  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}$ , CAS:27885 - 92 - 3), 购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 含量  $\geq 88.54\%$ ; 氘代咪多卡(Imidocarb -  $\text{D}_8$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{D}_8\text{N}_6\text{O}$ , CAS: -), 购自 Bepure 公司, 含量  $\geq 95.8\%$ 。甲酸(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、甲酸铵(色谱纯), 美国 Fisher 公司;  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶, 购自 Merck 公司。氢氧化钠(分析纯)、乙酸(分析纯)、乙酸钠(分析纯)氨水(分析纯), 盐酸(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; WCX Polymer 固相萃取柱(60 mg/3 mL), 美国 Agilent 公司; 所用水为超纯水。

1.3 标准溶液配制 精密称取咪多卡标准品约 10 mg, 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 1 mg/mL 的咪多卡标准储备液, -18  $^{\circ}\text{C}$  以下避光保存, 有效期 6 个月; 精密称取氘代咪多卡标准品约 1 mg, 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 0.1 mg/mL 的氘代咪多卡标准贮备液, -18  $^{\circ}\text{C}$  以下避光保存, 有效期 6 个月。精密量取 1 mg/mL 的咪多卡标准储备液 100  $\mu\text{L}$ , 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 配制成浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的咪多卡标准工作液, 现用现配; 精密量取 0.1 mg/mL 的氘代咪多卡标准储备液 100  $\mu\text{L}$ , 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并

稀释至刻度,配制成浓度为 $1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的氘代咪多卡标准工作液,现用现配。

#### 1.4 样品前处理

1.4.1 样品的提取 分别称取牛组织和奶 $2\ (\pm 0.02)\ \text{g}$ 于 $50\ \text{mL}$ 离心管中,加氘代咪多卡标准工作液 $40\ \mu\text{L}$ ,加 $0.2\ \text{M}$  NaAc 缓冲溶液 $5\ \text{mL}$ , $\beta$ -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶 $20\ \mu\text{L}$ 混匀, $37\ ^\circ\text{C}$ 下,振荡孵育 $16\ \text{h}$ 。放置室温,加 $1\ \text{M}$  HCl 溶液 $5\ \text{mL}$ ,涡旋 $3\ \text{min}$ 后, $8000\ \text{r}/\text{min}$ ,离心 $5\ \text{min}$ (脂肪 $4\ ^\circ\text{C}$ ),残渣再加 $1\ \text{M}$  HCl 溶液 $5\ \text{mL}$ ,振荡 $10\ \text{min}$ 后, $8000\ \text{r}/\text{min}$ ,离心 $5\ \text{min}$ ,合并上一次上清液,用 NaOH 溶液调节 pH 至 $7.8\sim 8.8$ ,用水稀释至 $20\ \text{mL}$ 刻度,混匀备用。

1.4.2 样品的净化 固相萃取柱依次用甲醇 $3\ \text{mL}$ 和水 $3\ \text{mL}$ 活化后,取备用液 $5\ \text{mL}$ 过柱,加 $5\%$ 氨水和淋洗液( $50\%$ 甲醇水溶液)各 $3\ \text{mL}$ 淋洗,用洗脱液(含 $4\%$ 甲酸的甲醇溶液) $2\ \text{mL}$ 洗脱,收集洗

脱液,过滤膜后供液相色谱-串联质谱仪测定。

#### 1.5 仪器条件

1.5.1 色谱条件 色谱柱:InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z( $3.0\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}$ ,粒径 $2.7\ \mu\text{m}$ );流动相:A相为 $0.3\%$ 甲酸水溶液(含 $20\ \text{mM}$ 甲酸铵),B相为 $0.3\%$ 甲酸乙腈溶液;流动相梯度: $0\sim 1.5\ \text{min}$ 保持 $98\% \text{B}$ ; $1.5\sim 2\ \text{min}$ , $98\% \text{B}$ 线性变化到 $50\% \text{B}$ ; $2\sim 4\ \text{min}$ 保持 $50\% \text{B}$ ; $4\sim 6\ \text{min}$ 保持 $98\% \text{B}$ ;流速: $0.4\ \text{mL}/\text{min}$ ;进样量: $1\ \mu\text{L}$ ;柱温: $40\ ^\circ\text{C}$ 。

1.5.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源;扫描方式:正离子扫描;检测方式:多反应离子监测(MRM);毛细管电压: $2500\ \text{V}$ ;e)干燥气温度: $150\ ^\circ\text{C}$ ;雾化气压力: $30\ \text{psi}$ ;鞘气温度: $350\ ^\circ\text{C}$ ;干燥气流速: $14\ \text{L}/\text{min}$ ;鞘气流速: $11\ \text{L}/\text{min}$ 。

待测药物定性、定量离子对和对应的碎片电压、碰撞能量参考值见表1。

表1 咪多卡及同位素内标 MRM 参数

Tab 1 Mass parameters of imidocarb and its isotopic internal standard

	定性离子对 ( $m/z$ )	定量离子对 ( $m/z$ )	碎片电压	碰撞能
咪多卡	349.2 > 188.1	349.2 > 188.1	166	35
	349.1 > 162.1		166	30
氘代咪多卡	357.1 > 192.2	357.1 > 192.2	166	35

1.6 标准曲线的制备 精密量取咪多卡标准工作液和氘代咪多卡标准工作液适量,用洗脱液(含 $4\%$ 甲酸的甲醇溶液)稀释成含咪多卡药物浓度分别为 $2.5$ 、 $5$ 、 $15$ 、 $50$ 、 $100$ 、 $300$ 和 $1000\ \text{ng}/\text{mL}$ 的标准溶液,氘代咪多卡内标溶液浓度均为 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ ,上机测定。以咪多卡的峰面积与内标峰面积比值为纵坐标,对应的标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程及相关系数。

1.7 方法灵敏度确定 在空白牛肌肉、脂肪、肝、肾和牛奶中添加一定量的咪多卡标准溶液和内标,经前处理后测定,观察药物特征离子质量色谱峰信噪比(S/N)和对应药物浓度,以 $S/N > 3$ (按 $\text{PtP}$ 算)作为方法的检测限,以 $S/N > 10$ 作为方法的定量限。

1.8 方法准确度及精密度的测定 采用标准添加法,在空白样品中添加咪多卡标准溶液进行准确度和精密度试验,添加浓度分别为方法定量限、低、中(和高)三个(或四个)浓度的咪多卡标准工作液,氘代咪多卡内标溶液的添加浓度均为 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ 。各浓度进行 $5$ 个样品平行试验,重复 $3$ 次,计算每种组织和牛奶中的咪多卡的平均回收率和批内、批间相对标准偏差。

## 2 结果与分析

2.1 标准曲线 取标准溶液配制浓度为 $2.5$ 、 $5$ 、 $15$ 、 $50$ 、 $100$ 、 $300$ 、 $1000\ \mu\text{g}/\text{L}$ 咪多卡标准工作溶液,氘代咪多卡内标溶液浓度均为 $20\ \mu\text{g}/\text{L}$ ,供高效液相色谱-串联质谱仪测定。在上述确定的仪器条件下,按浓度由低到高依次进样,各浓度需要

进样三针,按所得咪多卡的峰面积与内标峰面积比值平均值与对应的溶液浓度( $\mu\text{g/L}$ )做标准曲线,线性回归方程及相关系数( $R^2$ )见表 2。咪多卡在 2.5 ~ 1000  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内,峰面积之比与浓度呈良好的线性关系, $R^2$ 为 0.9989。

表 2 咪多卡标准曲线的回归方程和相关系数

Tab 2 Regression equations and correlation coefficients of Imidocarb

线性范围/ $(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	回归方程	相关系数( $R^2$ )
2.5 ~ 1000	$y = 0.3897x - 0.7981$	0.9989

2.2 方法灵敏度 在空白牛肌肉、脂肪、肝、肾和牛奶中添加一定量的咪多卡标准溶液和内标,样品经前处理后,用 HPLC - MS/MS 进行测定,当检测样品中色谱峰的信噪比大于等于 3 时,添加咪多卡的浓度即为检出限,样品中咪多卡的峰的信噪比大于等于 10 时,添加咪多卡的浓度即为定量限。按 1.9 项中所述方法进行处理,依据咪多卡特征离子质量色谱峰信噪比  $S/N > 3$  和  $S/N > 10$  分别为方法

的检测限和定量限,得出该分析方法对牛肌肉、脂肪、肝、肾牛奶的检测限( $S/N > 3$ )为 10  $\mu\text{g/kg}$ ;定量限( $S/N > 10$ )分别为 20  $\mu\text{g/kg}$ ,结果如表 3 所示。空白牛肝脏、空白牛奶和及其空白添加咪多卡(20  $\mu\text{g/kg}$ )的特征离子质量色谱图见图 1 ~ 图 2。需要指出的是,10  $\mu\text{g/kg}$  及 20  $\mu\text{g/kg}$  咪多卡对应的信噪比范围为 96.5 ~ 553.3,远大于对于检测限和定量限的最低要求,但是考虑到咪多卡在牛组织及奶中的最大残留限量较高(脂肪和牛奶 50  $\mu\text{g/kg}$ ,肌肉 300  $\mu\text{g/kg}$ ,肾脏 1500  $\mu\text{g/kg}$ ,肝脏 2000  $\mu\text{g/kg}$ )<sup>[4]</sup>,因此将本方法的检测限和定量限作出上述规定,以适合牛组织及牛奶中咪多卡残留检测需要。

表 3 牛组织和奶中的咪多卡信噪比

Tab 3 SNR of imidocarb in cattle tissues and milk

		离子对	肌肉	肝	肾	脂肪	奶
检测限	咪多卡	349.2 > 188.1	206.1	126.2	221.7	287.5	395.1
	内标	357.1 > 192.2	628.1	756.3	562.9	485.6	565.2
定量限	咪多卡	349.2 > 188.1	120.8	96.5	285.8	553.3	430.9
	内标	357.1 > 192.2	956.4	453.0	530.9	1041.9	9850.8

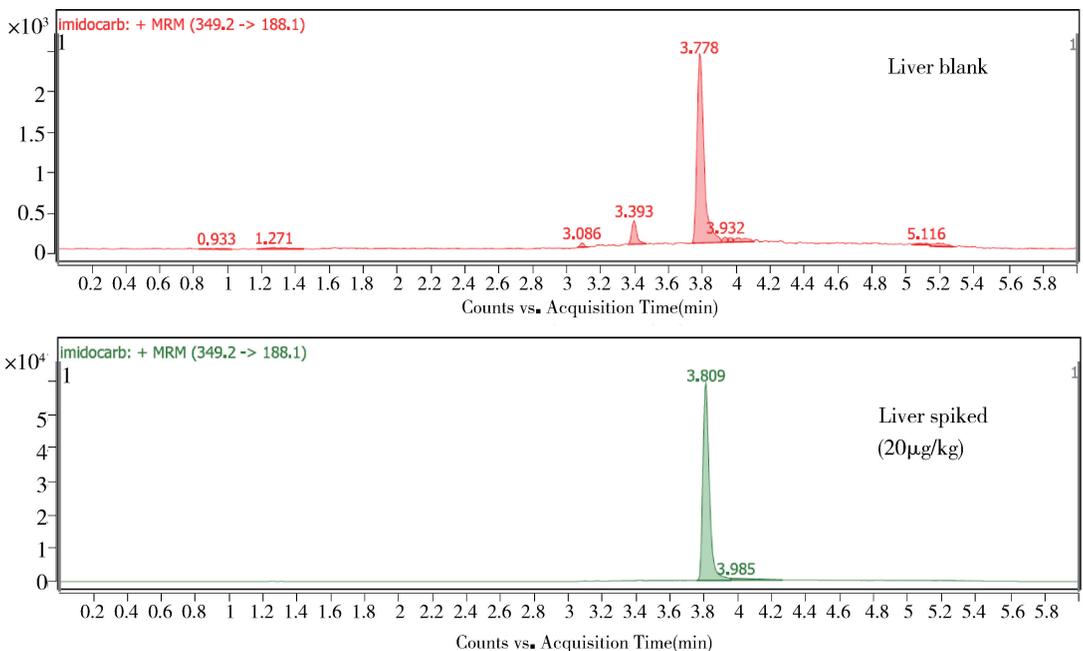


图 1 空白牛肝脏和 20  $\mu\text{g/kg}$  空白添加牛肝脏样品中咪多卡药物特征离子质量色谱图

Fig 1 Characteristic ion mass chromatogram of blank cattle liver and spiked blank cattle liver (20  $\mu\text{g/kg}$ )

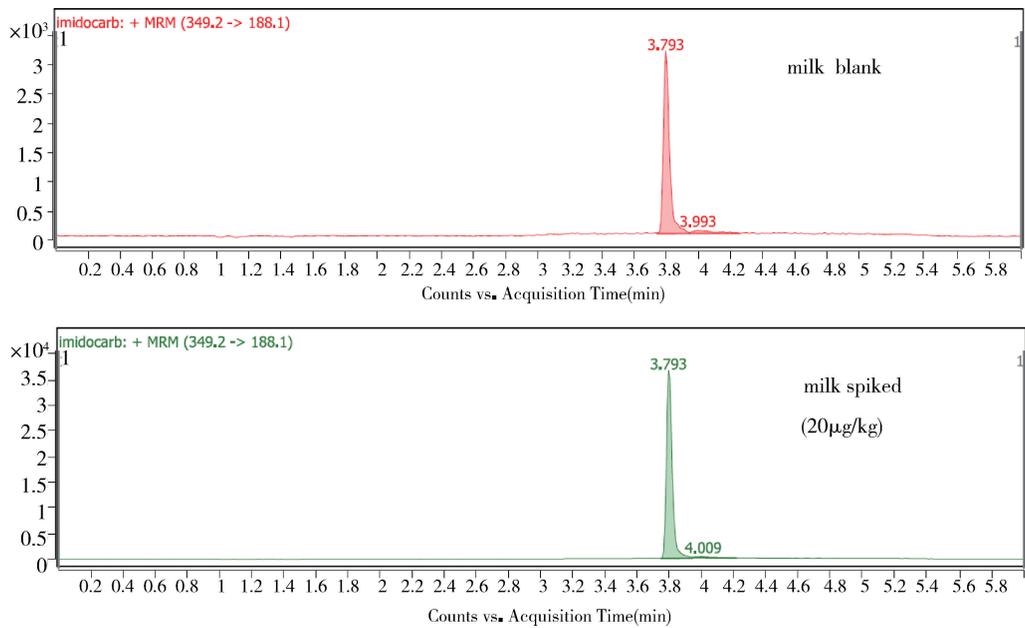


图 2 空白牛奶和 20 μg/kg 空白添加牛奶样品中咪多卡药物特征离子质量色谱图

Fig 2 Characteristic ion mass chromatogram of blank milk and spiked blank milk (20 μg/kg)

2.3 方法准确度及精密度 采用标准添加法,在空白样品中添加咪多卡标准溶液进行准确度和精密度试验,其中牛肌肉、牛肝脏、牛肾脏添加浓度分别为方法定量限、1/2MRL、MRL、2MRL,牛脂肪和

牛奶添加浓度分别为方法定量限、MRL、2MRL,各浓度进行 5 个样品平行试验,重复 3 次,计算每种组织和牛奶中的咪多卡的平均回收率和批内、批间相对标准偏差,测定结果见表 4。

表 4 空白牛组织和牛奶中咪多卡添加的回收率 (n = 5)

Tab 4 Recoveries of Imidocarb in blank cattle tissues and milk

组织	添加浓度 /(μg · kg <sup>-1</sup> )	批内 (n = 5)		批间 (n = 5)	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
牛肌肉	20	89.2, 80.4, 75.8	1.35, 8.90, 1.92	84.8	7.57
	150	100, 100, 84.1	2.93, 2.28, 2.60	94.8	8.21
	300	109, 88.3, 81.5	2.98, 1.82, 2.36	92.8	12.1
	600	106, 89.8, 80.3	0.79, 0.77, 0.79	92.1	11.3
牛肝脏	20	97.3, 75.8, 95.6	3.25, 2.17, 6.91	89.6	11.0
	750	89.7, 80.4, 86.2	5.33, 5.52, 9.32	85.4	7.57
	1500	91.1, 90.2, 87.1	3.56, 4.16, 1.11	89.5	3.47
牛肾脏	3000	92.1, 87.9, 90.1	3.57, 2.53, 1.44	90.0	3.05
	20	74.1, 74.2, 74.6	2.38, 5.42, 1.14	74.3	3.23
	1000	81.0, 86.3, 80.9	2.87, 4.38, 2.02	82.7	3.98
牛脂肪	2000	89.8, 90.9, 88.1	1.67, 0.96, 2.90	89.6	2.21
	4000	87.2, 91.3, 91.1	2.47, 2.41, 2.78	89.9	3.08
	20	73.9, 81.9, 73.4	0.65, 2.33, 2.33	76.4	4.41
牛奶	50	74.2, 91.9, 77.2	0.86, 1.15, 0.61	81.1	8.04
	100	76.7, 70.9, 89.5	0.79, 0.65, 1.27	79.0	8.11
	20	75.1, 79.8, 90.6	3.47, 0.84, 9.59	81.8	8.66
牛奶	50	72.8, 73.0, 93.7	1.47, 1.50, 1.87	79.8	10.3
	100	77.4, 71.8, 91.2	0.55, 0.67, 1.05	80.1	8.49

由表 4 可知,牛肌肉在 20、150、300、600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度添加水平下,咪多卡的回收率在 75.8% ~ 109% 之间;牛肝脏在 20、750、1500、3000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度添加水平下,咪多卡的回收率在 75.8% ~ 97.3% 之间;牛肾脏在 20、1000、2000、4000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度添加水平下,咪多卡的回收率在 74.1% ~ 91.3% 之间;牛脂肪在 20、50、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度添加水平下,咪多卡的回收率在 70.9% ~ 91.9% 之间;牛奶在 20、50、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度添加水平下,咪多卡的回收率在 71.8% ~ 93.7% 之间,批内相对标准偏差  $RSD \leq 9.59\%$ ,批间相对标准偏差  $RSD \leq 12.1\%$ 。

### 3 讨论

3.1 前处理条件的优化 咪多卡属于脂溶性的弱碱,易因细胞内、外液的 pH 差而以解离态集聚在细胞内。此外,该化合物能与组织细胞中的生物大分子结合,提取液不易将药物从组织中提取出,故选择先采用最常用的  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶,在 0.2 M 的乙酸钠缓冲溶液下对样品进行酶解,再通过降低 pH 值,改变化合物在溶液中极性进行提取,大大提高了样品的回收率。这种方法,比其他不使用酶解方法的实验体系<sup>[11-13]</sup>,更具有优越性。

文献报道中,咪多卡常用的提取剂有甲醇、三氯乙酸-乙腈、三氟乙酸-乙腈等<sup>[7, 11-13]</sup>。由于咪多卡为弱的有机碱,牛组织和牛奶中以咪多卡原形为残留标志物。因此为了减少有机溶剂和三氟乙酸等的使用,采用盐酸为提取液,可与该化合物形成盐,回收率较高。另外,净化过程中比较了 WCX (Agilent, 60 mg/3 mL)、HLB (Waters, 200 mg/6 mL) 和 C18 (Oasis, 500 mg/6 mL) 三种固相萃取柱的效果。采用 WCX 固相萃取柱收集滤液后不需浓缩直接过膜后检测分析,大大提高了前处理效率,且回收率最高,使得本方法更具有优越性。

3.2 基质效应考察 在化学分析中,样品中被分析物以外的组分对分析物的分析过程有显著干扰。这些影响和干扰被称为基质效应。由于本文中咪多卡检测中采用内标校准,因此试验采用待测物与内标的比值(MF, 内标归一化基质效应因子)来判

断基质效应。试验采用在组织或牛奶样品处理后空白试液中添加适量标准溶液与其对应的标准溶液上机测定响应值,计算基质效应因子。由于样品的 MF 在 1.00 ~ 1.07 之间,在 0.8 ~ 1.2 范围以内,因此本实验方法采用内标可以消除基质效应。

3.3 检测性能比较 从检测性能来看,有文献采用超高效液相色谱-串联质谱法测定咪唑苯脲残留量的定量限可达 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[13]</sup>,采用单抗试纸条测定咪多卡残留的检出限达 0.078 ng/mL<sup>[14]</sup>,但是检测范围只限于乳制品或牛奶,大大影响了应用范围。有文献和进出口标准 SN/T 4252-2015 采用液相色谱法和液相色谱-质谱/质谱法测定动物源食品中咪唑苯脲残留量,方法检测限为 25 ng/g,但是仅涉及牛羊的肉肝肾,未包括脂肪的残留检测<sup>[12, 15]</sup>。本方法能同时检测各种牛可食性组织(肌肉、肝脏、肾脏、脂肪)和牛奶中的咪多卡残留,灵敏度高,能涵盖和满足 GB 31650-2019 中对于咪多卡最大残留限量检测的要求。

### 4 结论

本文建立了一种能同时检测牛组织(肝脏、肾脏、脂肪、肌肉)和牛奶中咪多卡残留的 HPLC-MS/MS 方法,其检测限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,平均回收率范围是 75.8% ~ 109%,批内变异系数  $\leq 9.59\%$ ,批间变异系数  $\leq 12.1\%$ 。该方法具有良好的可操作性和重现性,方法灵敏度、准确度和精密度均能满足牛组织和牛奶中咪多卡残留检测的要求。

### 参考文献:

- [1] U K. European Medicines Agency. Committee for veterinary medicinal products: Imidocarb Summary Report(1): MRL/444/98-FINAL[R]. London: EMEA, 2004.
- [2] 陈声国,索勋,聂浩,等. 二丙酸咪唑苯脲对猪附红细胞体病的疗效试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 2008, 16(1): 1-6.  
Chen S G, Suo X, Nie H, et al. Effect of imidocarb dipropionate against swine eperythrozoonosis [J]. Chinese Journal of Veterinary Parasitology, 2008, 16(1): 1-6.
- [3] Ayoob A L, Hackner S G, Prittitt J. Clinical management of canine babesiosis[J]. J Vet Emer Crit Care, 2010, 20(1): 77-89.

- [4] GB31650 - 2019. 食品安全国家标准 动物性食品中兽药最高残留限量[S].  
GB31650 - 2019. National standard for Food Safety, maximum residue limit of veterinary drugs in animal food[S].
- [5] 何宏轩, 张西臣, 王静敏, 等. 咪唑苯脲缓释剂在黄牛体内的药代动力学及组织残留量测定[J]. 中国兽医科技, 2000, 30 (7): 10 - 13.  
He H X, Zhang X C, Wang J M, *et al.* Imidocarb release agent pharmacokinetics and tissue residues in vivo determination of cattle [J]. Chin J Vet Sci Technol, 2000, 30 (7): 10 - 13.
- [6] 王兆学, 毕可东, 高光平, 等. 紫外系数倍率法测定盐酸咪唑苯脲缓释剂在健康奶牛中的血药浓度[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(6): 73 - 76.  
Wang Z X, Bi K D, Gao G P, *et al.* Determination of imidocarb hydrochloride sustained release drug concentration in the blood of healthy cows by ultraviolet coefficient ratio method [J]. Animal Husbandry & Vet Med, 2008, 40(6): 73 - 76.
- [7] Sedic G A, Naguib D M, Morsy F, *et al.* Validated stability indicating chromatographic methods for quantification of imidocarb dipropionate; Application for the determination of its residues in bovine meat and milk samples. Journal of AOAC international, 2020, 103(4): 980 - 988.
- [8] Wang Z J, Li X B, Su D, *et al.* Residue depletion of imidocarb in swine tissue. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57: 2324 - 2328.
- [9] 于慧敏, 黄显会, 钟家林, 等. 高效液相色谱法测定猪组织中残留的咪唑苯脲[J]. 色谱, 2011, 29(8): 750 - 754.  
Yu H M, Huang X H, Zhong J L, *et al.* Determination of imidocarb residue in swine tissues by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29 (8): 750 - 754.
- [10] 于慧敏, 黄显会, 杨刚, 等. 高效液相色谱法测定牛奶及牛可食性组织中咪唑苯脲 [J]. 华南农业大学学报, 2012, 33 (2): 239 - 243.  
Yu H M, Huang X H, Yang G, *et al.* Determination of imidocarb residues in bovine edible tissues by high - performance liquid chromatography [J]. J South China Agric Univ, 2012, 33(2): 239 - 243.
- [11] Park J A, Cho H J, Cho S M, *et al.* Determination of imidocarb in animal biosamples using simple high - performance liquid chromatography with diode - array detection. Biomedical Reports, 2014, 2: 89 - 92.
- [12] 李晓娟, 李玮, 陈冬冬, 等. 动物肌肉、内脏和牛奶中咪唑苯脲残留量的高效液相色谱测定及液相色谱 - 串联质谱确证 [J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 352 - 358.  
Li X J, Li W, Chen D D, *et al.* Determination of imidocarb residue in animal tissues and milk by HPLC and HPLC - MS/MS. Journal of food safety and quality, 2014, 5(2): 352 - 358.
- [13] 刘友华. 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定乳制品中咪唑苯脲残留量 [J]. 中国科技信息, 2017. 13: 91 - 92.  
Liu Y H. Determination of imidocarb residue in dairy products by ultra - high performance liquid chromatography [J]. China science and technology information, 2017. 13: 91 - 92.
- [14] Chen L L, Hu X F, Sun Y N, *et al.* Immuno-chromatographic assay based on high - affinity monoclonal antibody for the detection of imidocarb in milk [J]. Journal of Food Science, 2021, 86(7/9): 3413 - 3421.
- [15] SN/T 4252 - 2015. 出口动物源食品中咪唑苯脲残留量检测方法 液相色谱法和液相色谱 - 质谱/质谱法[S].  
SN/T 4252 - 2015. Determination of imidocarb residues in foodstuffs of animal origin for export - HPLC method and LC - MS/MS method[S].

(编辑: 侯向辉)