

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.3.08

# QuEChERS - dSPE - UPLC - MS/MS 筛查 中药材地龙中 41 种兽药残留

许晓辉<sup>1</sup>, 王小乔<sup>1\*</sup>, 党子龙<sup>2</sup>, 朱仁愿<sup>1</sup>, 张虹艳<sup>1</sup>, 李晨曦<sup>1</sup>, 潘秀丽<sup>1</sup>, 李赞<sup>1</sup>

(1. 兰州市食品药品检验检测研究院, 兰州 730050; 2. 兰州大学第一医院药剂科, 兰州 730000)

[收稿日期] 2020-10-29 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 03-0049-08 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 建立了基于超高效液相色谱串联三重四极杆质谱(UPLC-MS/MS)的动态多反应监测模式(d-MRM)快速筛查中药材地龙中7大类(喹诺酮类、磺胺类、糖皮质激素类、硝基咪唑类、抗病毒类、非甾体抗炎类、镇静安眠类)41种兽药残留的分析方法。样品采用QuEChERS提取,分散式固相萃取管(dSPE EMR-Lipid)进行净化,采用d-MRM采集模式进行定性和定量检测,外标法定量,41种兽药测定在各自线性范围呈良好的线性关系,相关系数( $R^2$ )均大于0.9917,检出限为0.1000~3.105  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为0.3184~7.532  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,3个添加水平的回收率为62.8%~112.3%,精密度的1.1%~8.9%。该方法前处理简单、重现性好、灵敏度高,适用于中药材地龙中41种兽药残留的快速筛查。

**[关键词]** QuEChERS;分散式固相萃取管;超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法;动态多反应监测模式;地龙;兽药残留;筛查

## QuEChERS - dSPE - UPLC - MS/MS for Rapid Determination of 41 Kinds of Veterinary Drug Residues in Pheretima

XU Xiao-hui<sup>1</sup>, WANG Xiao-qiao<sup>1\*</sup>, DANG Zi-long<sup>2</sup>, ZHU Ren-yuan<sup>1</sup>,  
ZAHNG Hong-yan<sup>1</sup>, LI Chen-xi<sup>1</sup>, PAN Xiu-li<sup>1</sup>, LI Yun<sup>1</sup>

(1. Lanzhou Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China;

2. Department of Pharmacy, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Corresponding author: WANG Xiao-qiao, E-mail: 378510575@qq.com

**Abstract:** A method was established for rapid screening 41 kinds of veterinary drug residues in Pheretima based on dynamic multiple reaction monitoring (d-MRM) by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS-MS) in this paper. The sample was extracted with quick, easy, cheap, effective,

基金项目: 甘肃省药品监督管理局科学技术类项目(2020GSMPA032)

作者简介: 许晓辉, 硕士, 工程师, 从事动物源性产品中兽药残留检测方面研究。

通讯作者: 王小乔。E-mail: 378510575@qq.com

rugged and safe (QuEChERS), then purified with dispersed solid phase extraction EMR - Lipid (dSPE EMR - Lipid). The d - MRM acquisition mode was used for qualitative and quantitative detection, and external standard method was used for quantitative detection. The analytes showed good linearities in corresponding concentration ranges with their correlation coefficients ( $R^2$ ) no less than 0.9917. The limit of detection were 0.1000 ~ 3.105  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the limit of quantitative were 0.3184 ~ 7.532  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the spiked recoveries for analytes at three spiked levels were in the range of 62.8% ~ 112.3%, the precision were 1.1% ~ 8.9%. The pretreatment method is simple, reproducible and sensitive, and suitable for the rapid screening of 41 kinds of veterinary drug residues in Pheretima.

**Key words:** QuEChERS; dispersed solid phase extraction; UPLC - MS/MS; d - MRM; Pheretima; veterinary drug residue; screening

中药材分为植物源性中药材和动物源性中药材,动物源性中药材是指动物整体、器官、生理或病理产物等供药用的部分。《中国药典》2020 年版收录了 55 种动物源性中药材,常见的有麝香、牛黄、地龙、海螵蛸、鹿角等<sup>[1-3]</sup>。然而,多数动物源性中药材大多数是以农户为单位人工养殖,在养殖过程中,缺乏对中药材外源性风险因子的认识,使用抗菌剂、抗生素和激素等兽药用于动物疾病防治、促进生长发育和提高饲料转化率。不合理使用兽药使药物在动物体内难以排泄,逐渐积累,患者通过服用中药材致使兽药转移到体内,对人体器官造成危害,严重威胁到身体健康和生命安全。目前,动物源性产品兽药残留已成为全球关注的焦点,为保护公众健康,大多数国家和地区对动物源性产品中兽药残留进行监管,并发布了相关法规制度。我国农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局在 2019 年联合发布了《GB 31650 - 2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》<sup>[4]</sup>,该标准规定了动物源性食品中兽药残留的最大限值,但不涉及动物源性中药材;US FDA 于 2015 年 6 月通过兽药饲料指令颁布了管控微生物药物使用的法规<sup>[5]</sup>;欧盟颁布了法规 2014/0247 (COD),旨在达成影响评估所确定的目标,并解决抗生素耐药性带来的公共健康风险问题<sup>[6]</sup>。从国家监管部门对动物源性食品中兽药残留的市场监管抽检结果来看,兽药残留仍是影响动物源性食品质量安全的重要风险因子<sup>[7]</sup>,因此,对于与动物源性食品来

源相似的动物源性中药材,同样存在兽药残留问题。近年来,多类别多残留分析方法因为可以扩大检测范围并提高实验室效率而在检测中越来越受青睐<sup>[8-10]</sup>,因此,本文建立了一种超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法测定地龙中多类别多组分兽药残留的方法,根据化合物质谱响应、峰型以及加标回收率,淘汰不出峰、响应低及加标回收率不理想的兽药,最终筛选出适合本方法良好测定的 7 大类 41 种兽药,测定项目涉及到磺胺类、喹诺酮类、硝基咪唑类、抗病毒类、糖皮质激素类、甾体抗炎类和镇静安眠类。

## 1 材料与方法

1.1 仪器 1290 - 6460 超高效液相色谱 - 质谱联用仪;配有电喷雾离子源(美国安捷伦有限公司);分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g(梅特勒);真空泵(天津市津腾实验设备有限公司);移液器:20  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、1 mL(德国 Eppendorf 公司);涡旋混合器(美国 Scientific);离心机(德国 Eppendorf 公司);超声波清洗器(宁波新芝有限公司);容量瓶(天玻仪器有限公司)。

1.2 试剂 超纯水(美国 Millipore 公司);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司),甲酸、乙酸铵(色谱纯,东京化成工业株式会社);dSPE EMR - Lipid 净化管(美国安捷伦公司);氯化钠(国药集团化学试剂有限公司);硫酸钠(国药集团化学试剂有限公司);乙二胺四乙酸二钠(国药集团化学试剂有限公司);磷酸氢二钠(国药集团化学试剂有限公司);

柠檬酸(国药集团化学试剂有限公司)。对照品, 恩诺沙星、地美硝唑、磺胺甲恶唑、磺胺氯哒嗪、磺胺喹沙啉、磺胺甲基嘧啶、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、金刚烷胺均购于 Dr. Ehrenstorfer GmbH, 环丙沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、培氟沙星、洛美沙星、地塞米松、可的松、曲安奈德、氟米松、甲硝唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺嘧啶、甲氧苄啶、保泰松、吡

美辛、吡罗昔康、氨基比林、三唑仑、硝西泮、劳拉西泮、马来酸咪达唑仑、阿普唑仑、氯硝西泮、艾司唑仑、奥沙西泮、地西泮均购自中国食品药品检定研究院, 洛硝哒唑、羟甲基甲硝唑、羟甲基甲硝咪唑购自 WITEGA, 沙拉沙星、磺胺间甲氧嘧啶均购自 Bepure, 金刚乙胺购自 TRC, 具体信息见表 1。供试样品购买于中药材市场和药店。

表 1 对照品信息

Tab 1 Information of standard substances

编号	功效分类	名称	批号	纯度/%	编号	功效分类	名称	批号	纯度/%
1		环丙沙星	130451-201203	84.2	22		磺胺邻二甲氧嘧啶	G151421	99.1
2		恩诺沙星	G132181	99.9	23		磺胺间二甲氧嘧啶	G122608	99.5
3		氧氟沙星	130454-201206	99.5	24	磺胺类	磺胺二甲嘧啶	100411-200501	100.0
4	喹诺酮类	诺氟沙星	130450-201206	99.5	25		甲氧苄啶	100031-201606	99.8
5		培氟沙星	130459-201402	71.3	26		磺胺嘧啶	100026-201404	99.7
6		沙拉沙星	91564	97.0	27	抗病毒类	金刚烷胺	C10146000	99.4
7		洛美沙星	130452-201603	90.4	28		金刚乙胺	7-7AH-54-1	98.0
8		地塞米松	100129-201105	99.7	29		保泰松	100481-200601	99.9
9	糖皮质激素类	可的松	101128-201001	97.2	30	非甾体	吡罗昔康	100258-200904	100.0
10		曲安奈德	100055-201103	98.8	31	抗炎类	氨基比林	100503-201302	99.9
11		氟米松	51006-201301	99.8	32		三唑仑	17123-201203	99.6
12		甲硝唑	100191-201808	99.9	33		硝西泮	171217-201403	99.9
13	硝基咪唑类	地美硝唑	G151828	99.4	34		劳拉西泮	171253-201102	99.2
14		洛硝哒唑	6141488	99.1	35		马来酸咪达唑仑	171250-201002	99.9
15		羟甲基甲硝唑	292420	99.4	36	镇静 安眠类	阿普唑仑	171218-201305	99.5
16	羟甲基甲硝咪唑	282133	100.0	37	氯硝西泮		171227-201407	99.9	
17		磺胺甲恶唑	G150000	99.5	38		艾司唑仑	171219-201003	99.7
18		磺胺氯哒嗪	G119228	99.1	39		奥沙西泮	171229-201505	99.8
19	磺胺类	磺胺间甲氧嘧啶	97864	99.1	40		地西泮	171225-200903	99.9
20		磺胺喹沙啉	G159519	98.9	41				
21		磺胺甲基嘧啶	G982705	99.1					

1.3 溶液制备

1.3.1 EDTA 缓冲液制备 柠檬酸 8.4 g, 磷酸氢二钠 7.1 g, 乙二胺四乙酸二钠 19.5 g, 溶于 650 mL 水中, 超声溶解, 即得。

1.3.2 对照溶液制备 标准储备溶液: 精密称取 41 种兽药残留对照品 10.0 mg, 分别置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈溶解, 并定容至刻度, 配制成浓度为 1 mg/mL 的储备液, 置 4 °C 冷藏备用。混合

标准中间溶液: 分别准确吸取上述标准储备溶液 0.025 mL 至 25 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈稀释, 并定容至刻度, 配制成浓度为 1 μg/mL 的混合标准中间液, 置 4 °C 冷藏备用。混合标准使用溶液: 准确移取上述混合标准中间溶液 1.00 mL 置于 10 mL 棕色容量瓶, 用乙腈稀释, 并定容至刻度, 配制成浓度为 100 ng/mL 的混合标准使用溶液。

1.3.3 阴性样品溶液的制备 取空白样品按照

“1.4.1 供试样品前处理方法”步骤同法制成空白基质样品溶液。

1.4 实验方法

1.4.1 供试样品前处理方法 提取:准确称取干燥的供试样品 1.00 g 于 50 mL 离心管中,加入 3 mL EDTA 缓冲液和陶瓷均质子,涡旋 1 min,准确加入 10 mL 乙腈,涡旋 1 min,超声提取 5 min,加入 1 g 氯化钠和 4 g 硫酸钠,充分涡旋 2 min,5000 r/min 离心 10 min,取上清液待净化。净化:准确吸取提

取步骤所得上清液 2.00 mL 于 dSPE EMR - Lipid 净化管中,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 10 min,取上层清液过 0.22 μm 滤膜至进样瓶中,上液质联用仪测定。

1.4.2 色谱条件 色谱柱:ACQUITY BEH C18 柱 (1.7 μm,2.1 μm × 100 mm);流速:0.3 mL/min;柱温:35 °C;进样量:2 μL;流动相:A 为含 0.1% 甲酸 -2 mmol/L 乙酸铵的水溶液,B 为含 0.1% 甲酸的乙腈溶液,梯度洗脱程序见表 2。

表 2 梯度洗脱程序  
Tab 2 The procedure of gradient elution

时间/min	0.00	1.00	2.00	3.00	4.50	8.00	9.00	10.00
流动相 A/%	85	85	70	60	10	10	15	15
流动相 B/%	15	15	30	40	90	90	85	85

1.4.3 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正离子模式,动态多反应监测(d - MRM),雾化气 N<sub>2</sub>,干燥气流速 8 L/min,喷雾电压 500 V,气流温度 325 °C,毛

细管电压 4000V,鞘气流速 12 L/min,鞘气温度 350 °C;质谱条件见表 3。

表 3 41 种兽药的质谱参数  
Tab 3 The main mass spectral parameters of 41 kinds of veterinary drugs

兽药名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压(V)	碰撞能量(eV)	兽药名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压(V)	碰撞能量(eV)
环丙沙星	332.1	314.1*/231.0	135	20/42	磺胺邻二甲氧嘧啶	311.1	156.0*/92.0	120	15/30
恩诺沙星	360.1	342.0/316.1*	110	15/18	磺胺间二甲氧嘧啶	311.0	156.0*/108.0	130	20/26
氧氟沙星	362.1	344.2/318.2*	130	15/15	磺胺二甲嘧啶	279.1	186.1*/156.1	120	15/16
诺氟沙星	320.0	302.0*/276.0	105	15/15	甲氧苄啶	291.1	261.0/230.0*	80	30/25
培氟沙星	334.1	316.2/290.2*	130	20/16	磺胺嘧啶	251.1	156.0*/108.0	100	10/22
沙拉沙星	386.1	368.1*/342.1	130	15/20	金刚烷胺	152.1	135.0*/93.0	70	25/39
洛美沙星	352.1	308.1/265.1*	130	10/20	金刚乙胺	180.1	163.2*/121.2	100	15/10
地塞米松	393.2	373.4/355.2*	80	15/15	保泰松	309.0	160.0*/120.0	135	20/20
可的松	361.1	163.0*/121.0	110	25/30	吡罗昔康	358.2	139.0*/111.0	60	24/70
曲安奈德	435.2	415.2/397.2*	80	15/15	吡罗昔康	332.4	121.1/95.1*	78	36/20
氟米松	411.3	253.2*/121.0	80	22/50	氨基比林	232.3	97.1/58.2*	88	40/32
甲硝唑	172.1	128.0*/82.0	90	12/26	三唑仑	343.1	314.9*/308.0	135	28/44
地美硝唑	142.1	96.0*/81.0	90	14/30	硝西洋	282.1	254.0/236.0*	135	20/24
洛硝唑啉	201.1	140.0*/55.0	90	4/18	劳拉西洋	321.1	302.9/275.0*	135	12/20
羧基甲硝唑	188.1	126.0*/123.0	90	15/10	咪达唑仑	326.1	291.0*/243.9	135	24/28
羟甲基甲硝唑	158.0	140.0/55.1*	80	16/28	阿普唑仑	309.1	281.0*/274.1	135	24/24
磺胺甲恶唑	254.1	156.0*/108.0	100	10/25	氯硝西洋	316.0	240.9/213.8*	135	30/40
磺胺氯哒嗪	285.0	156.0*/108.0	100	10/25	艾司唑仑	295.1	267.0*/192.0	135	24/20
磺胺间甲氧嘧啶	281.1	156.0*/108.00	105	15/25	奥沙西洋	287.0	241.0*/162.9	135	20/30
磺胺噻沙啉	301.1	156.0*/108.0	110	11/22	地西洋	285.1	257.1*/222.1	135	20/28
磺胺甲基嘧啶	265.1	172.0/156.0*	110	12/15					

\* 为定量离子

1.5 数据处理 采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析,采用 Excel 进行数据统计与计算。

2 结果与分析

2.1 前处理条件选择 本实验考察的兽药包括亲水性和疏水性药物,酸性、中性和碱性药物,这些药

物在适宜的浓度大部分能够在甲醇和乙腈中溶解,另一方面,流动相的有机相一般都是甲醇和乙腈,考虑到乙腈为中等极性溶剂,与大多数被测化合物极性接近,且乙腈能使蛋白质变性沉淀,因此选择乙腈作为提取溶剂。QuEChERS 萃取盐包,内含 4 g 硫酸钠和 1 g 氯化钠,通过盐析使样品中蛋白质沉淀并能去除极性干扰物。dSPE EMR - Lipid 选择性去除高脂肪基质中主要脂类组分,能够降低基质效应以增强质谱响应,同时有助于延长色谱柱使用寿命,同时无需活化、清洗和洗脱等传统 SPE 步骤,简化了净化流程,节约了时间和成本。因此本实验选择使用 QuEChERS 萃取盐包提取, dSPE EMR - Lipid 净化。

## 2.2 色谱质谱条件优化

**2.2.1 色谱条件优化** 本实验被分析的兽药之间化学性质各异、极性不一,因此,选择了适用于各种分析物通用的 ACQUITY BEH C18 超高效色谱柱。正离子模式下,在流动相中添加甲酸能够提高目标化合物的离子化效率,添加乙酸铵能够稳定水相和改善峰型,因此试验将乙腈、甲醇、甲酸、乙酸铵、水溶液进行组合,考察分离效果和灵敏度,选择最佳流动相体系。结果表明,在水相中加入 0.1% 甲酸和 2 mmol/L 乙酸铵可以显著改善峰型、提高灵敏度,在有机相中加入 0.1% 甲酸可以稳定保留时间,提高重复性。最终本实验采用含 0.1% 甲酸 - 2 mmol 乙酸铵的水溶液与含 0.1% 甲酸的乙腈溶液作为流动相。

**2.2.2 质谱条件优化** 由于被分析兽药种类众多,采用 MRM 采集模式,受循环时间限,有些兽药响应低,因此,本研究选择将检测兽药分别配制成单个标准溶液,直接注入质谱仪,在正离子模式下,进行 Scan 扫描,确定母离子,后进行 SIM 扫描,选取丰度比最高且相对稳定的 2 个碎片离子分别作为定性离子和定量离子,然后利用 MassHunter 采集软件,以手动和自动两种方式同时优化定性和定量离子的碰撞能量、裂解电压等参数,建立 MRM 方法,为了建立 d - MRM 方法,首先在 MRM 方法下分析混合标样,得到混合标样数据文件,将该采集

数据文件从安捷伦的 MassHunter 质谱采集工作站软件导入自动生成 d - MRM 方法,生成的 d - MRM 方法包含化合物名称、MRM 离子对、碎裂电压、碰撞能量、动态 MRM 的保留时间和保留时间增量窗口,对于软件不能自动识别保留时间及保留时间增量窗口的化合物,在安捷伦定性软件通过提取化合物的离子对手动识别。

**2.3 基质效应** 基质效应是基质中除目标物以外的其他成分对目标物分析的影响。由于其成分与目标组分在离子化过程中存在竞争,改变了目标物的电离效率,使目标物的离子响应强度降低或增强,从而影响分析结果的准确性。本文通过考察空白样品基质中标准溶液的信号强度与纯溶剂中相同浓度标准溶液信号强度的比值来评价基质效应。结果显示,大部分兽药存在不同程度的基质效应,其中氨基比林、保泰松、羟基甲硝唑、氯硝西泮、诺氟沙星、洛美沙星、硝西泮存在较强的基质抑制效应,检测响应信号比较弱,而浓度为 200 ng/mL 的四环素、土霉素、金霉素、强力霉素样品基质溶液在质谱上几乎没有响应。

**2.4 41 种兽药的总离子流图** 以 d - MRM 模式测定 41 种兽药的定性和定量离子对色谱图,共有 82 个离子监测通道。图 1 是浓度为 30 ng/mL 的混合标准品的总离子流图,各个化合物峰形对称,响应良好,定量准确可靠。

**2.5 线性关系、检出限、定量限** 取混合标准使用溶液用空白样品基质溶液稀释配制标准曲线点溶液,外标法定量,以 X 轴为浓度, Y 轴为峰面积的响应值,得到各个兽药的线性回归方程,用于计算实际样品中待测物的浓度。取阴性样品,混合标准使用溶液通过最小添加量,按“1.4.1”项下供试样品前处理方法同法处理后上机进样测试,以 3 倍信噪比计算各个被分析兽药的检出限 (LOD),以 10 倍信噪比计算各个被分析兽药的定量限 (LOQ)。41 种兽药的线性关系、检出限、定量限见表 4。结果显示,41 种兽药在各自范围内线性关系良好 ( $R^2 > 0.9917$ ),检出限范围为 0.1000 ~ 3.105  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限范围为 0.3148 ~ 7.532  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

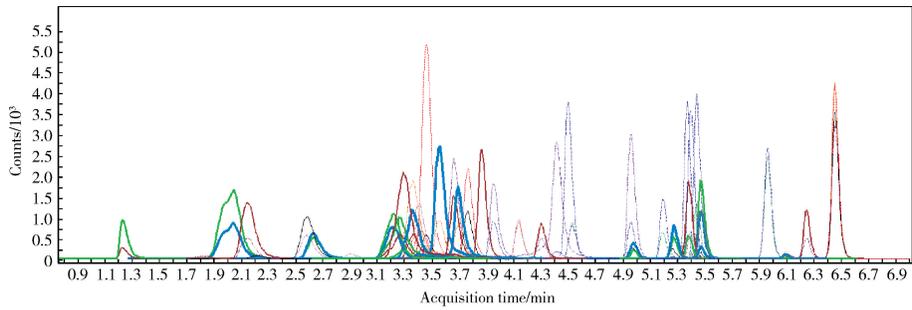


图 1 41 种兽药标准品 MRM 总离子流图

Fig 1 MRM of total ion chromatogram of 41 kinds of standards for veterinary drug

表 4 41 种兽药的线性关系、检出限、定量限、回收率及精密度 (n=3)

Tab 4 Linear relationship, LOD, LOQ, recovery and precision of 41 kinds of veterinary drugs (n=3)

兽药名称	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围 /(ng · mL <sup>-1</sup> )	LOD /(μg · kg <sup>-1</sup> )	LOQ /(μg · kg <sup>-1</sup> )	Spiked 30.0 μg/kg		Spiked 80.0 μg/kg		Spiked 200.0 μg/kg	
						回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
环丙沙星	Y = 222.101210X - 148.311718	0.9979	1 ~ 30	1.115	2.856	76.4	5.6	78.0	3.8	80.1	3.6
恩诺沙星	Y = 271.339572X - 152.115584	0.9960	1 ~ 40	1.285	3.483	80.6	6.2	89.5	4.4	87.8	2.9
氧氟沙星	Y = 315.129697X + 92.258267	0.9977	1 ~ 40	0.6292	2.040	70.3	5.5	76.5	3.7	82.6	1.1
诺氟沙星	Y = 192.788433X - 169.683299	0.9939	1 ~ 40	0.2949	1.041	62.8	4.4	63.3	4.8	63.9	4.3
培氟沙星	Y = 220.442663X - 147.310008	0.9974	1 ~ 30	0.8660	2.598	71.9	8.3	79.2	5.5	76.1	6.9
沙拉沙星	Y = 164.042401X - 38.854568	0.9961	1 ~ 40	1.399	4.198	71.7	5.6	77.3	4.3	108.1	5.3
洛美沙星	Y = 372.513227X - 184.219388	0.9988	1 ~ 40	1.152	2.102	65.1	3.6	68.1	5.1	72.3	6.3
地塞米松	Y = 24.139587X - 18.660913	0.9976	1 ~ 40	0.3295	1.002	93.3	3.1	87.5	4.7	91.9	5.9
可的松	Y = 35.356859X + 16.245885	0.9972	1 ~ 40	0.8807	2.642	76.7	3.3	91.2	7.3	86.2	7.3
曲安奈德	Y = 143.378056X - 5.426038	0.9979	1 ~ 40	0.1034	0.3758	90.1	1.1	88.8	2.8	83.5	3.3
氟米松	Y = 66.431685X + 6.868906	0.9982	1 ~ 40	0.5535	1.660	83.3	6.9	83.7	5.8	74.8	3.0
甲硝唑	Y = 234.546811X - 111.770370	0.9952	1 ~ 40	0.6177	2.075	98.7	3.6	110.6	2.0	112.3	3.2
地美硝唑	Y = 15.531201X - 0.714181	0.9935	1 ~ 40	0.4312	1.294	72.9	5.3	81.8	4.3	77.1	2.0
洛硝哒唑	Y = 167.226030X + 21.313921	0.9988	1 ~ 40	0.2701	0.9115	81.1	4.1	86.8	6.3	83.0	3.0
羧基甲硝唑	Y = 13.002100X - 16.327817	0.9942	1 ~ 36	0.3967	1.190	61.8	5.1	65.3	4.3	70.8	3.6
羧基甲硝咪唑	Y = 17.270077X - 17.358891	0.9930	1 ~ 40	0.9069	2.580	82.4	3.6	85.7	3.5	86.5	4.9
磺胺甲恶唑	Y = 79.719546X + 25.466275	0.9966	1 ~ 40	0.3914	1.304	92.5	5.4	88.6	8.9	86.5	6.4
磺胺氯哒唑	Y = 80.362038X + 31.549213	0.9967	1 ~ 40	1.313	1.520	98.8	4.5	97.7	3.7	97.2	2.0
磺胺间甲氧嘧啶	Y = 87.881948X - 20.331096	0.9960	1 ~ 40	0.3998	1.299	82.3	4.4	77.5	2.9	75.2	7.8
磺胺噻唑啉	Y = 32.681561X + 40.923399	0.9925	1 ~ 40	1.0146	1.5064	91.4	3.7	95.4	3.1	94.1	2.8
磺胺甲基嘧啶	Y = 133.606894X - 17.885940	0.9962	1 ~ 40	0.1088	0.3626	93.1	4.1	94.3	3.5	97.9	4.7
磺胺邻二甲氧嘧啶	Y = 780.975986X - 77.096215	0.9960	1 ~ 40	0.1184	0.3850	95.8	3.0	95.2	4.1	98.1	3.6
磺胺间二甲氧嘧啶	Y = 896.985191X - 77.799608	0.9960	1 ~ 40	0.1000	0.3354	98.1	2.3	97.6	3.2	100.2	3.4
磺胺二甲嘧啶	Y = 229.819203X - 72.297449	0.9945	1 ~ 40	1.682	1.837	95.3	3.4	98.1	2.8	96.4	3.1
甲氧苄啶	Y = 159.795200X - 6.048607	0.9979	1 ~ 50	0.7310	1.251	96.3	2.1	98.0	2.2	106.8	2.5
磺胺嘧啶	Y = 91.853681X + 13.205007	0.9993	1 ~ 40	0.2402	0.8004	95.4	5.3	87.8	1.3	99.7	2.5
金刚烷胺	Y = 525.674931X + 48.449150	0.9970	1 ~ 40	0.5622	1.827	70.1	2.3	78.4	3.0	80.2	2.6
金刚乙胺	Y = 413.482379X + 77.468372	0.9977	1 ~ 36	3.105	7.532	73.5	3.9	70.6	2.8	74.1	3.3
保泰松	Y = 97.062906X - 22.447628	0.9968	1 ~ 40	0.4491	1.524	64.1	5.6	73.0	3.7	62.5	3.2
吡罗昔康	Y = 14.715776X + 10.290168	0.9941	1 ~ 40	0.2459	0.6658	78.5	5.2	90.1	2.1	94.7	1.9
吡罗昔康	Y = 152.651213X - 134.734568	0.9947	1 ~ 40	0.3507	0.8034	73.3	2.9	72.3	4.6	110.5	1.2
氨基比林	Y = 325.027335X - 167.656300	0.9956	1 ~ 50	0.2425	0.4270	62.9	3.0	64.8	2.7	67.1	3.4
三唑仑	Y = 97.993031X - 24.607054	0.9990	1 ~ 40	0.1845	0.6151	73.7	2.7	76.1	5.3	78.9	4.1
硝西泮	Y = 256.103077X + 93.148214	0.9917	1 ~ 50	0.7935	0.9961	65.7	2.6	71.0	2.9	64.0	3.7
劳拉西泮	Y = 38.417027X - 35.347276	0.9987	1 ~ 40	0.3507	0.8034	95.6	2.1	97.1	3.1	98.5	3.3
马来酸咪达唑仑	Y = 261.803989X + 72.083997	0.9970	1 ~ 40	0.1031	0.3108	94.5	4.0	92.0	6.5	94.3	1.1
阿普唑仑	Y = 316.800612X - 233.643270	0.9982	1 ~ 40	0.1259	0.3148	84.8	2.4	80.7	2.2	71.0	2.3
氯硝西泮	Y = 18.966836X + 33.715104	0.9905	1 ~ 40	0.3068	0.9836	64.7	5.2	68.3	4.1	71.7	3.7
艾司唑仑	Y = 256.065592X - 216.547933	0.9949	1 ~ 50	0.5166	1.722	93.1	3.0	94.6	2.7	97.8	2.5
奥沙西泮	Y = 57.626692X - 10.283155	0.9919	1 ~ 40	0.2868	0.9336	91.2	2.4	92.3	3.0	96.9	3.2
地西泮	Y = 186.159186X - 36.806256	0.9976	1 ~ 50	0.1538	0.4613	79.9	3.8	91.1	8.9	88.7	3.1

2.6 回收率及精密度考察 在空白地龙样品中分别添加混合标准中间溶液,低、中、高 3 个加标量分别为 30.0、80.0、200.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,每个添加水平平行制备 3 份样,每份样重复测定 3 次,经提取净化后进行测定,计算回收率和相对标准偏差(RSD)。结果显示,41 种兽药的回收率为 62.8% ~ 112.3%,精密度为 1.1% ~ 8.9%。结果表明,该方法的准确度良好,符合定量检测要求。

2.7 样品的测定 为验证方法的可行性,将市售的 10 批地龙样品作为测试样品,应用该方法测定样品中 7 大类 41 种兽药残留,均未检出上述被分析目标化合物。

### 3 讨论与结论

动物源性中药材富含蛋白质和脂肪,测定兽药残留时,蛋白质和脂肪去除不干净或不彻底会产生基质效应,甚至会堵塞色谱柱,因此,前处理方法的选择是此类样品测试的关键。同时,动物在养殖整个生命周期中,不仅是动物出现病患违规使用兽药,而是将兽药作为动物产品违法获取经济利益的促进剂,使用兽药时多是一种药物产生耐药性后,便换成另一种,甚至多种药物同时使用,因此,兽药残留检测只测定一类药物有可能漏检,达不到全面评价动物源性中药质量安全的目的。目前,一针进样同时测定多兽药残留是当前一个研究热点,这样可以节约成本、提高效率。本文采用 QuEChERS、dSPE 相结合的提取净化方法,建立了超高效液相色谱串联质谱法同时测定中药材地龙中 7 大类 41 种兽药残留的方法。以仪器方法为基础,结合地龙样品基质的特点,从提取方法、净化技术、色谱质谱条件等多个方面进行研究和优化,对建立的方法进行了方法学考察,结果表明,该方法各项指标均能满足分析检测的要求,与目前报道的文献和国家标准方法相比,该方法简化了复杂的前处理,实现了多类别多组分兽药残留同时测定,提高了检测效率,对动物源性中

药材中多类别多组分兽药残留分析监测、快速筛查具有参考意义。

### 参考文献:

- [1] 罗亚虹,张治军. 动物类中药材质量控制研究新进展[J]. 海峡药学,2016,28(8):55 - 57.  
Luo Y H, Zhang Z J. New progress in research on quality control of animal Chinese medicinal materials[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2016,28(8):55 - 57.
- [2] 丁晴,仇雅静,房克慧,等. 动物来源中药材、饮片质量安全现状及原因分析[J]. 中国中药杂志,2015,4(21):4309 - 4313.  
Ding Q, Qiu Y J, Fang K H, et al. Animal drugs quality status and reason analysis[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 4 (21): 4309 - 4313.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典,2020 年版[S].  
China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's republic of China,2020[S].
- [4] GB 31650 - 2019 食品安全国家标准,食品中兽药最大残留限量[S].  
GB 31650 - 2019 National food safety standard maximum residue limits for veterinary drugs in foods[S].
- [5] Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 21 CFR Parts 514 and 558, FDA - 2010 - N - 0155[Z].
- [6] Proposal for a regulation of the European parliament and of the council on veterinary medicinal products, European Commission, 2014/0257 (COD)[Z].
- [7] 胡海燕,朱明文,胡 昊. 动物源食品中兽药残留监管监测现状及其对策[J]. 中国兽药杂志,2011,45(8):38 - 42.  
Hu H Y, Zhu M W, Hu H. Status and countermeasures about control and determination of veterinary drug residues in animal derived foods[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2011, 45 (8): 38 - 42.
- [8] 班付国,胡兴娟,吴宁鹏,等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定猪肉中 66 种兽药残留的研究[J]. 中国兽药杂志,2014,48(6):40 - 51.  
Ban F G, Hu X J, Wu N P, et al. Simultaneous determination of 66 kinds of veterinary drugs in porcine muscle using ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spec-

- trometry[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2014, 48(6): 40 - 51.
- [9] 张林田, 陆奕娜, 黄学泓, 等. 通过式净化 - 高效液相色谱 - 串联质谱法测定动物源性食品中 42 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2020, 36(1): 81 - 87.
- Zhang L T, Lu Y N, Huang X H, *et al.* Determination of 42 kinds of veterinary drug residues in animal - derived products by passing purification - high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Science, 2020, 36(1): 81 - 87.
- [10] 李琴, 陶大利, 周红, 等. 超高效液相 - 串联质谱法同时测定生鲜乳中 45 种兽药残留量[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(1): 44 - 47.
- Li Q, Tao D L, Zhou H, *et al.* Simultaneous determination of 45 kinds of veterinary drug residues in fresh milk by UPLC - MS - MS[J]. China Dairy Industry, 2016, 44(1): 44 - 47.

(编辑:陈希)