

# 基于硅烷化三聚氰胺海绵的改良 QuEChERS结合UPLC-MS/MS快速 测定猪肉中49种抗生素多残留

季宝成<sup>1,2,3</sup>, 侯铸琛<sup>1</sup>, 任承雨<sup>1</sup>, 许旭<sup>1,2,3</sup>, 杨贻轲<sup>1</sup>, 王洪云<sup>1</sup>, 吕佳<sup>1</sup>, 白艳红<sup>1,2,3,\*</sup>  
(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:** 采用十八烷基三氯硅烷 (octadecyltrichlorosilane, OTS) 与 *N*-[3-(三甲氧基硅基)丙基]乙二胺 (*N*-[3-(trimethoxysilyl)propyl]ethylenediamine, ATS) 改性三聚氰胺海绵 (melamine sponge, MeS) 制备得到2种新型弹性多孔硅烷化MeS (OTS@MeS和ATS@MeS) 净化材料, 将其用于改良QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 基质净化过程, 通过溶液自发浸润和物理挤压过程即可快速、高效分离干扰基质, 结合超高效液相色谱-串联质谱技术建立了同时测定猪肉中49种抗生素多残留的分析方法。样品用1.0%乙酸-乙腈溶液提取并用2.0 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl盐析, 离心后取1 mL上清液复配使用OTS@MeS与ATS@MeS净化, 随后使用Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>色谱柱, 以甲醇溶液和含有0.1%甲酸、5 mmol/L乙酸铵的甲醇-水溶液 (5:95, V/V) 为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾电离源、正离子多反应监测模式进行定性定量分析。结果表明: 49种抗生素的相关系数均大于0.999, 基质效应为-13.5%~10.9%, 检出限在0.1~10 μg/kg之间, 定量限在0.3~30.3 μg/kg之间; 利用该方法在低、中、高3个加标水平下进行回收率实验, 回收率范围为65.0%~112.7%, 日内和日间相对标准偏差分别为0.3%~11.8%和2.4%~18.4%。该方法样品前处理过程简单、快捷、灵敏度高、准确性好, 可用于猪肉中49种抗生素多残留的高效快速检测。

**关键词:** 硅烷化三聚氰胺海绵; 超高效液相色谱-串联质谱法; 猪肉; 抗生素

## Simultaneous Determination of 49 Antibiotics Residues in Pork by a Modified QuEChERS Method Based on Silanized Melamine Sponge Coupled with Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Ji Baocheng<sup>1,2,3</sup>, HOU Zhuchen<sup>1</sup>, REN Chengyu<sup>1</sup>, XU Xu<sup>1,2,3</sup>, YANG Yike<sup>1</sup>, WANG Hongyun<sup>1</sup>, LÜ Jia<sup>1</sup>, BAI Yanhong<sup>1,2,3,\*</sup>  
(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;  
2. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001, China;  
3. Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Two new types of elastic porous silanized melamine sponges (MeS) were prepared by silylation reaction using octadecyltrichlorosilane (OTS) and *N*-[3-(trimethoxysilyl)propyl]ethylenediamine (ATS), which were respectively designated as OTS@MeS and ATS@MeS. The silanized sponges were used to develop a modified quick, easy, check, effective, rugged, and safe (QuEChERS) method that can quickly and efficiently separate interfering matrices from the extract through spontaneous solution infiltration and physical extrusion. In this study, an analytical method using the modified QuEChERS procedure combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established for the simultaneous determination of 49 antibiotic residues in pork. Samples were extracted with 10 mL of

收稿日期: 2023-03-31

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31901767; 32202174); 河南省重大公益专项 (201300110100);  
2022年河南省重点研发与推广专项科技攻关项目 (232102321118);

郑州轻工业大学博士科研基金资助项目 (13501050079); 郑州轻工业大学星空众创空间创新培育项目 (2023ZCKJ205)

第一作者简介: 季宝成 (1990—) (ORCID: 0009-0001-7086-0300), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品安全检测。

E-mail: jibaocheng@zzuli.edu.cn

\*通信作者简介: 白艳红 (1975—) (ORCID: 0000-0002-2074-0351), 女, 教授, 博士, 研究方向为肉品加工与质量安全控制。

E-mail: baiyanhong212@163.com

acetonitrile containing 0.1% acetic acid, and then salted out with 2.0 g of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and 0.5 g of NaCl. After centrifugation, a 1 mL aliquot of the supernatant was cleaned up with a mixture of OTS@MeS and ATS@MeS. The chromatographic separation was conducted on an Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  column with gradient elution using a mobile phase comprised of methanol and aqueous solution (methanol/water, 5:95, *V/V*) containing 0.1% formic acid and 5 mmol/L ammonium acetate. The qualitative and quantitative detection were performed by multiple-reaction monitoring (MRM) using an electrospray ionization source in the positive ion mode. The results showed that the correlation coefficients for all analytes were greater than 0.999. The matrix effects (ME) were in the range of -13.5%–10.9%. The limits of detection (LOQ) and quantitation (LOQ) were 0.1–10.0 and 0.3–33.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. The recoveries at three spiked levels ranged from 65.0% to 112.7%, with intra- and interday relative standard deviations (RSDs) of 0.3%–11.8% and 2.4%–18.4%, respectively. The developed method was simple, rapid, highly sensitive and accurate, and could be used for the efficient and rapid determination of the 49 antibiotics residues in pork.

**Keywords:** silanized melamine sponge; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pork; antibiotics  
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230331-317

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 02-0290-09

引文格式:

季宝成, 侯铸琛, 任承雨, 等. 基于硅烷化三聚氰胺海绵的改良QuEChERS结合UPLC-MS/MS快速测定猪肉中49种抗生素多残留[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 290-298. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230331-317. <http://www.spkx.net.cn>

Ji Baocheng, HOU Zhuchen, REN Chengyu, et al. Simultaneous determination of 49 antibiotics residues in pork by a modified QuEChERS method based on silanized melamine sponge coupled with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2024, 45(2): 290-298. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230331-317. <http://www.spkx.net.cn>

抗生素是用于预防和治疗牲畜疾病, 或通过加速牲畜生长而提高经济效益的药物, 已经被广泛用于畜牧业<sup>[1]</sup>。目前自然界中大约存在200多种抗生素, 根据其不同的化学结构和功能主要可分为氨基糖苷类、林可酰胺类、大环内酯类、多肽类、 $\beta$ -内酰胺类、喹诺酮类、磺胺类、四环素类、氯霉素类等<sup>[2]</sup>, 由于磺胺类和四环素类抗生素成本较低、效果较好而成为我国养殖领域使用最多的抗生素。抗生素的滥用会产生耐药菌株, 成为影响养殖产业可持续发展的安全隐患<sup>[3]</sup>。此外, 抗生素滥用导致动物组织和动物源性食品中药物残留会对消费者的健康构成潜在危害<sup>[4-6]</sup>。

近年来已经在猪肉中检测到多种抗生素残留<sup>[7-9]</sup>。为了确保食品安全和人类健康, 包括中国、欧美在内的许多国家和组织均对猪肉中的抗生素最大残留限量 (maximum residue limits, MRLs) 有明确规定<sup>[10-11]</sup>。目前, 抗生素残留的检测方法主要有酶联免疫分析法<sup>[12]</sup>、薄层色谱法<sup>[13]</sup>、液相色谱法<sup>[14]</sup>及液相色谱质谱联用法<sup>[15-17]</sup>等。其中, 液相色谱质谱联用法具有高灵敏度、高精度、高通量的特点<sup>[18-20]</sup>, 逐渐发展成为抗生素多残留的主要确证技术。

有效的样品前处理方法能够提高样品的检测率和方法的灵敏度。QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 法因简单、高效、成本低等特点, 已经广泛用于抗生素多残留检测领域<sup>[21-24]</sup>, QuEChERS法中

常用的净化材料包括 $N$ -丙基乙二胺 (primary secondary amine, PSA)、十八烷基键合硅胶 ( $\text{C}_{18}$ )、石墨化炭黑 (graphitized carbon black, GCB) 及碳纳米管 (carbon nanotubes, CNTs) 等<sup>[25-27]</sup>, 能够实现对大部分动物源性食品中抗生素多残留的检测。QuEChERS前处理技术对操作人员要求低、步骤简单, 但其基质净化过程主要通过限速、耗时的涡流和离心过程实现, 且部分吸附剂存在材料团聚、分散性不足等问题<sup>[28-30]</sup>。

三聚氰胺海绵 (melamine sponge, MeS) 是由甲醛、三聚氰胺与亚硫酸氢钠共聚而成, 内部为三维多孔网状结构, 不仅孔隙率高、比表面积大, 而且其微孔表面具有丰富的仲胺基, 能通过修饰不同官能团作为不同功能化材料开发的活化位点<sup>[31-34]</sup>。此外, MeS理化性质稳定均一、成本低廉, 且能在各种有机溶剂中保持良好的弹性和机械性能, 在吸附与净化方面显示出较大的开发和应用潜力。本课题组前期将其用于牛奶中抗生素多残留净化, 研究结果表明其在牛奶基质净化中具有良好的吸附性能<sup>[35]</sup>。目前, 在食品分析领域中基于MeS及其功能化改性材料的抗生素多残留基质净化方法还鲜有报道。

本研究基于硅烷化MeS结合超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS), 建立猪肉中同时检测49种抗生素的分析方法, 以期为动物源食品中抗生素多残留的快速分析及食品安全监管提供技术支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

猪肉 河南郑州各大型超市及农贸市场。

甲醇、乙腈(均为色谱纯) 美国赛默飞公司; 乙酸铵、甲酸(均为色谱纯)、分散固相萃取吸附剂(dispersive solid phase extraction, d-SPE)(PSA、C<sub>18</sub>和GCB) 上海安谱实验科技股份有限公司; 乙酸(色谱纯)、十八烷基三氯硅烷(octadecyltrichlorosilane, OTS)、N-[3-(三甲氧基硅基)丙基]乙二胺(N-[3-(trimethoxysilyl)propyl]ethylenediamine, ATS) 上海麦克林生化科技有限公司; 氯化钠(NaCl)、硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>)、硫酸钠(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、乙二胺四乙酸二钠(Na<sub>2</sub>EDTA)(均为分析纯) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; QUICLEARF-QuEACHERS-AOAC MFF 3202多功能针型过滤器(50 mg PSA、50 mg C<sub>18</sub>和150 mg MgSO<sub>4</sub>) 天津阿尔塔科学有限公司; MeS 科林美高新材料有限公司; 49种抗生素标准品: 磺胺胍(sulfaguanidine, SGD)、磺胺嘧啶(sulfadiazine, SD)、磺胺噻唑(sulfathiazole, STA)、磺胺吡啶(sulfapyridine, SPD)、磺胺二甲基异噁唑(sulfisoxazole, SSX)、磺胺氯吡嗪(sulfachloropyridazine, SCP)、磺胺氯吡嗪(sulfachloropyrazine, SPZ)、氨苯砞(dapsone, DAP)、磺胺喹噁啉(sulfaquinolone, SQZ)、磺胺二甲氧嘧啶(sulfadimethoxine, SDM)、磺胺甲基嘧啶(sulfamerazine, SM1)、磺胺二甲基嘧啶(sulfamethazine, SM2)、磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole, SMZ)、甲氧苄定(trimethoprim, TMP)、磺胺邻二甲氧嘧啶(sulfadoxine, SDX)、磺胺二甲基异嘧啶(sulfisomidine, SID)、磺胺甲噻二唑(sulfamethizole, STZ)、磺胺对甲氧嘧啶(sulfameter, SMT)、磺胺苯酰胺(sulfabenzamide, SBZ)、磺胺苯吡唑(sulfaphenazole, SPP)、琥珀酰磺胺噻唑(succinylsulfathiazole, SST)、磺胺间甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine, SMM)、磺胺甲氧吡嗪(sulfamethoxypridazine, SMP)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)、氧氟沙星(ofloxacin, OFL)、沙拉沙星(sarafloxacin, SAR)、奥比沙星(orbifloxacin, ORB)、诺氟沙星(norfloxacin, NOR)、萘啶酸(nalidixic acid, NA)、二氟沙星(difloxacin, DIF)、麻保沙星(marbofloxacin, MAR)、洛美沙星(lomefloxacin, LOM)、氟甲喹(flumequine, FLU)、吡哌酸(pipemidic acid, PIP)、培氟沙星(pefloxacin, PEF)、氟罗沙星(fleroxacin, FLE)、

依诺沙星(enoxacin, ENO)、西诺沙星(cinoxacin, CIN)、司帕沙星(sparfloxacin, SPA)、噁唑酸(oxolinic acid, OXA)、交沙霉素(josamycin, JOS)、泰勒菌素(tylosin, TYL)、柱晶白霉素(kitasamycin, KIT)、洛硝哒唑(ronidazole, RON)、甲硝唑(metronidazole, MET)、二甲硝咪唑(dimetridazole, DMZ)、克林霉素(clindamycin, CLR)、双氯青霉素(dicloxacillin, DIC) 美国o2si公司。

### 1.2 仪器与设备

1290 Infinity II UPLC超高效液相色谱仪 美国Agilent公司; QTRAP 5500质谱仪 美国AB SCIEX公司; JSM-7001F冷场发射扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM) 日本JEOL公司; 3K15高速冷冻离心机 德国Sigma公司; ZGDCY-12干式氮吹仪 上海梓桂仪器有限公司; Vortex-Genie2多功能旋涡混合器 美国Scientific Industries公司; SB-4200DT超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司; ME204分析天平 瑞士Mettler Toledo公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 硅烷化MeS的制备与表征

硅烷化MeS采用两步溶胶-凝胶法制备<sup>[36]</sup>。将MeS剪裁成底部直径为9 mm、高为3 mm的微型圆柱体,分别浸入含有不同种类硅烷试剂(OTS、ATS, 10 mg/g)的甲苯溶液中振荡30 min。将收集的海绵用甲苯洗涤数次,并置于120 °C干燥1 h。将得到的硅烷化海绵分别表示为OTS@MeS和ATS@MeS。

将得到的OTS@MeS和ATS@MeS样品剪切成薄片,铺展在导电胶片上,喷金条件: 20 mA, 40 s。用SEM观察不同放大倍数下的改性海绵微观结构。

#### 1.3.2 液相色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样量: 2.0 μL; 流动相A为含有0.1%甲酸和5 mmol/L乙酸铵的甲醇-水溶液(5:95, V/V), 流动相B为甲醇。流动相梯度洗脱程序: 0~4 min, 95%~55% A、5%~45% B; 4~10 min, 55%~10% A、45%~90% B; 10~11 min, 10% A、90% B; 11~11.1 min, 10%~95% A、90%~5% B; 11.1~13.1 min, 95% A、5% B。

#### 1.3.3 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 电离模式: ESI<sup>+</sup>; 离子扫描模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 雾化气流速: 3.0 L/min; 干燥气流速: 10.0 L/min; 加热气流速: 10.0 L/min; 脱溶剂温度: 250 °C; 接口温度: 300 °C; 加热气温度: 400 °C。

### 1.3.4 标准溶液的配制

49种抗生素标准品储备液：分别准确称取49种抗生素标准品，用乙腈溶解并定容，配制成1 mg/mL标准储备溶液，于-18℃冰箱保存。精密量取各化合物标准品储备液0.5 mL置于100 mL容量瓶中，用乙腈稀释，配制成5 μg/mL的混合标准中间液，于4℃冰箱冷藏保存。在实验过程中根据需要精确吸取适量标准溶液，用初始流动相稀释成所需质量浓度。

### 1.3.5 样品前处理

准确称取2.5 g充分均质的样品于50 mL离心管中，加入1 mL水，涡旋混合0.5 min后，加入10 mL 1.0%乙酸-乙腈溶液，涡旋混合2 min；然后依次加入2.0 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl，立即涡旋2 min，在4℃、8 000 r/min离心10 min。将OTS@MeS和ATS@MeS (2:2, *n/n*) 预先装入2.5 mL注射筒中，然后取1 mL上清液于注射筒中，通过拉动、按压注射器柱塞进行基质净化，净化液用等量甲醇-水溶液 (50:50, *V/V*) 稀释后，用0.22 μm滤膜过滤，供UPLC-MS/MS检测。

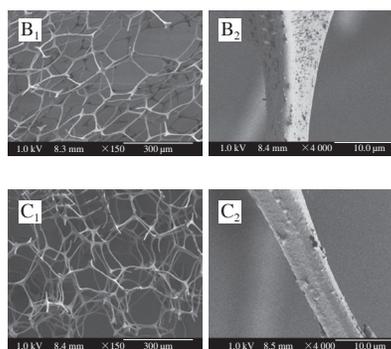
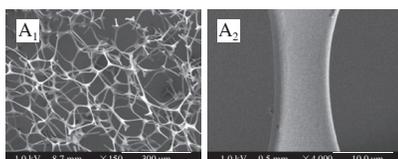
### 1.4 数据处理

所有数据均采用Analyst 1.6.3软件采集，用MultiQuant™ 3.0软件建立标准曲线、计算结果；图表绘制采用Microsoft Excel 2013软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 硅烷化MeS的表征

如图1所示，采用不同硅烷化试剂对海绵改性后，其微观形貌发生显著变化。MeS由纤维骨架相互交织而成，整体呈多孔网络结构，硅烷化改性前其表面较光滑平整。相比之下，MeS通过OTS和ATS烷化改性，硅烷化试剂在海绵表面发生共聚反应，海绵纤维骨架表面微观形貌变得粗糙，所制备得到的OTS@MeS和ATS@MeS表面聚合物分别呈绒毛状和泥状。此外，采用移液枪滴加5 μL超纯水至上述不同海绵表面观察其亲疏水性变化，发现微液滴能够缓慢浸润未改性MeS，而在OTS@MeS和ATS@MeS表面均形成了良好的球形液滴且难以进入海绵内部。改性后海绵表面疏水性发生改变，水滴在改性海绵界面上不能被亲水吸附，因此在水的表面张力作用下形成球形液滴。以上实验结果均表明成功制备的两种硅烷化海绵具有与原始海绵不同的理化性质。



A. MeS; B. OTS@MeS; C. ATS@MeS。下标1、2分别为×150、×4 000。

图1 未修饰MeS与硅烷化改性MeS的SEM图

Fig. 1 SEM images of raw and silylated MeS

### 2.2 质谱条件的优化

通过直接注射质量浓度为0.1 μg/mL的单标溶液，快速优化MRM参数。分别将各标准溶液在全扫描模式下依次注入质谱中进行检测。结果发现所有化合物在正离子 (ESI<sup>+</sup>) 模式下，均能得到质子化分子离子[M+H]<sup>+</sup>。虽然少数药物还能得到[M+Na]<sup>+</sup>，但其[M+H]<sup>+</sup>强度更高且能产生更稳定的碎片离子，因此，在ESI<sup>+</sup>模式下选择[M+H]<sup>+</sup>作为各种抗生素的母离子，将得到的母离子进行二级质谱扫描，选择强度最高的2个子离子分别作为定量离子和定性离子，优化后MRM参数如表1所示。

表1 49种抗生素的质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of 49 antibiotics

抗生素	保留时间/min	定量离子对	去簇电压/V	碰撞电压/V	定性离子对	去簇电压/V	碰撞电压/V
SGD	1.4	215.0/156.2	101	18	215.0/108.2	94	28
SD	3.3	251.0/156.1	108	23	251.0/92.0	108	30
STA	3.4	256.1/156.2	100	20	256.1/108.1	76	30
SPD	3.6	250.0/156.0	76	22	250.0/108.2	77	31
SSX	4.9	268.1/156.0	56	18	268.1/113.1	56	21
SCP	4.6	285.0/156.0	54	21	285.0/92.0	57	44
SPZ	5.6	285.0/108.1	59	40	285.0/92.0	57	44
DAP	4.0	249.1/156.1	148	19	249.1/108.1	144	28
SQZ	6.0	301.2/108.2	40	35	301.2/92.1	40	48
SDM	5.8	311.1/156.1	72	25	311.1/108.1	78	36
SM1	3.8	265.0/156.1	59	23	265.0/108.1	59	34
SM2	3.3	279.2/186.1	69	23	279.2/124.1	89	30
SMZ	4.8	254.0/156.1	49	22	254.0/108.1	49	31
TMP	3.9	291.1/230.1	68	31	291.1/123.2	64	31
SDX	4.8	311.1/156.1	72	25	311.1/108.1	78	36
SID	4.2	279.2/186.1	69	23	279.2/124.1	89	30
STZ	4.1	271.1/156.1	45	19	271.1/108.1	43	38
SMT	4.2	281.1/156.1	45	23	281.1/92.1	55	39
SBZ	5.2	277.2/156.2	31	15	277.2/92.0	29	39
SPP	5.4	315.1/156.1	55	27	315.1/108.1	77	44
SST	3.0	356.0/256.1	127	24	356.0/192.0	120	46
SMM	4.3	281.1/156.1	45	23	281.1/108.0	55	34
SMP	4.9	281.1/156.1	45	23	281.1/92.1	55	38
CIP	4.5	332.1/314.2	161	26	332.1/288.2	140	23
ENR	4.6	360.1/316.3	165	25	360.1/245.2	155	35
OFL	4.2	362.2/318.2	144	24	362.2/261.1	154	35

续表1

抗生素	保留时间/min	定量离子对	去簇电压/V	碰撞电压/V	定性离子对	去簇电压/V	碰撞电压/V
SAR	4.9	386.2/342.2	160	25	386.2/299.1	140	36
ORB	4.7	396.2/352.2	145	24	396.2/295.1	170	31
NOR	4.3	320.2/302.1	160	30	320.2/276.2	70	23
NA	7.2	233.2/187.1	89	33	233.2/215.2	89	20
DIF	4.8	400.1/356.2	195	26	400.1/299.1	174	35
MAR	4	363.2/772.2	136	25	363.2/345.1	206	28
LOM	4.6	352.1/265.2	188	31	352.1/308.1	188	23
FLU	7.4	262.1/244.1	60	23	262.1/202.2	43	43
PIP	7.2	277.8/212.6	70	31	277.8/131.7	58	39
PEF	4.2	334.1/316.0	165	26	334.1/290.2	157	25
FLE	4.1	370.1/326.2	165	25	370.1/269.1	166	36
ENO	4.3	321.0/303.2	175	27	321.0/234.1	123	30
CIN	5.9	263.1/188.9	30	37	263.1/217.3	30	30
SPA	5.3	393.2/349.2	171	22	393.2/292.1	177	38
OXA	6.2	262.1/244.1	60	23	262.1/216.1	64	39
JOS	8.4	828.5/174.2	7	57	828.5/229.0	21	40
TYL	7.6	916.6/174.0	8	47	916.6/772.4	9	42
KIT	7.7	772.5/174.1	9	39	772.5/109.2	18	39
RON	1.7	201.1/140.2	46	16	201.1/55.0	48	27
MET	3.4	172.0/128.2	91	18	172.0/82.1	72	32
DMZ	3.8	142.1/96.0	84	22	142.1/81.1	72	33
CLR	4.2	185.3/134.1	87	20	185.3/112.3	78	35
DIC	4.4	234.2/144.6	64	31	234.2/123.4	60	35

### 2.3 提取条件的优化

适宜的提取条件是利用UPLC-MS/MS实现准确、灵敏检测多类抗生素的重要前提。本实验分别对比和考察了以下4种不同提取条件对回收率结果的影响：1) 1 mL 0.5 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA溶液和10 mL乙腈溶液，脱水剂为2.0 g无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl；2) 1 mL纯水和10 mL乙腈溶液，脱水剂为2.0 g无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl；3) 1 mL 0.5 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA溶液和10 mL乙腈，脱水剂为2.0 g无水MgSO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl；4) 1 mL纯水和10 mL乙腈溶液，脱水剂为2.0 g无水MgSO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl。如图2所示，通过对4种提取条件下目标化合物的回收率分布统计结果进行比较发现，组合2回收率处于80%~120%的目标物数量最多且回收率小于60%的化合物数量最少，因此选择组合2用于进一步提取条件的优化。

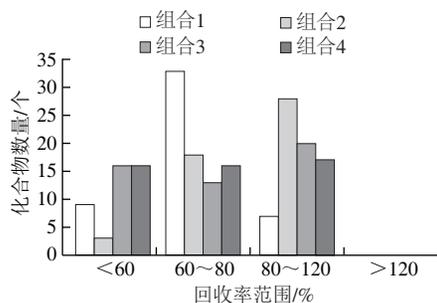


图2 提取条件对回收率的影响

Fig. 2 Effect of extraction condition on the recoveries of analytes

由于部分抗生素属于两性化合物，提取溶液的pH值可能会影响目标物的存在状态及其提取效率。本实验比较了乙腈中不同乙酸添加量(0%、0.5%、1%、3%和5%，体积分数)对抗生素回收率分布的影响。如图3所示，在提取溶剂中添加乙酸能够明显提高化合物的回收率，且当乙酸添加量为1%时，抗生素回收率处于80%~120%理想区间的数目最多。当持续提高乙酸添加量至1%以上时，回收率在80%~120%范围内的化合物数量逐渐减少。此外，过高的乙酸添加量会致使猪肉样品在提取过程中出现结块团聚现象而不利于抗生素的充分提取以及实验结果的重现，这可能与猪肉中蛋白质在较低pH值环境下会发生变性有关。

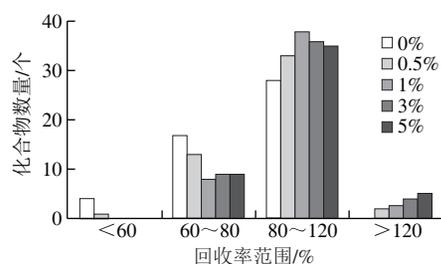


图3 提取溶剂中乙酸的含量对回收率的影响

Fig. 3 Effect of acetic acid content on the recoveries of analytes

因此，综合上述两部分实验结果，研究最终选择1 mL纯水和10 mL 1%乙酸-乙腈溶液作为提取溶剂，并用2.0 g无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.5 g NaCl作为脱水剂。

### 2.4 净化条件的优化

#### 2.4.1 硅烷化海绵配比优化

OTS@MeS和ATS@MeS存在较大的理化性质差异，其基质净化能力不同。基于此，研究考察2种不同硅烷化海绵不同配比对基质净化效果的影响。以1 mL提取液为净化对象，将不同数目的硅烷化海绵微柱预先装入2.5 mL注射器中，通过抽拉注射器塞杆辅助完成对体积样品溶液的“自发浸润-物理挤压”基质分离过程。当使用1个或2个海绵微柱时，浸入海绵内部微孔的溶液体积均不足50%。当填充过多海绵微柱时( $n \geq 5$ )，顶部的海绵难以被提取液浸润。同时放置4个海绵微柱时，1 mL提取液能够完全被吸入海绵微孔内。因此，在后续净化过程中，均选取海绵微柱数目为4。研究比较OTS@MeS与ATS@MeS不同用量比(4:0、3:1、2:2、1:3、0:4,  $n/n$ )对回收率分布的影响，并与未改性MeS进行对比。结果如图4所示，MeS经硅烷化改性后能显著提高化合物的回收率，且OTS@MeS和ATS@MeS比例为2:2和0:4时，回收率在80%~120%的化合物数量最多。研究表明净化吸附剂C<sub>18</sub>和PSA的使用可以有效降低猪肉样品中磷脂含量，C<sub>18</sub>的除脂效果优于PSA，且对磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇和磷脂酰丝氨酸的去除效果好于磷脂酰胆碱，而联合使用C<sub>18</sub>和PSA吸附剂能增加弱基质效

应 (matrix effect, ME) ( $\pm 20\%$ ) 的化合物数量<sup>[37]</sup>。据此推测上述实验结果与C<sub>18</sub>和PSA两种吸附剂不同的基质净化选择性相关。综合考虑基质净化选择性及回收率结果, 选择OTS@MeS和ATS@MeS配比为2:2用于后续猪肉提取液基质净化。

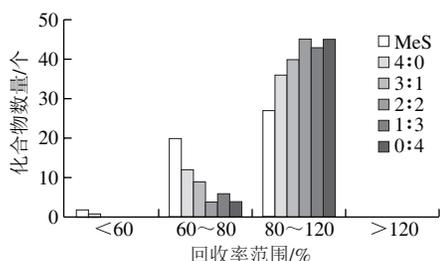


图4 不同MeS及其用量对比对回收率分布的影响

Fig. 4 Effect of MeS and mixtures of OTS@MeS and ATS@MeS in different proportions on the recoveries of analytes

### 2.4.2 动静态净化模式对比

MeS良好的机械性能和弹性可支持动态净化和静态净化2种模式。动态净化是通过反复快速抽拉注射器塞杆加速基质在提取液混合扩散, 以达到高效吸附基质的目的, 属于动力学行为; 而静态净化则是将提取液吸收到注射器内后, 通过稳态的自由扩散方式达到基质吸附的目的, 属热力学行为。本实验比较了6种净化方式对回收率结果的影响: 1) 动态吸附1次(1 cycle); 2) 动态吸附3次(3 cycle); 3) 动态吸附5次(5 cycle); 4) 静态吸附1 min(1 min); 5) 静态吸附5 min(5 min); 6) 静态吸附10 min(10 min)。如图5所示, 动静态净化模式下目标化合物的回收率分布总体差异较小, 除SMP外所有抗生素回收率均处于60%~120%之间, 且动态吸附1次处于80%~120%范围内化合物数量较多。分析比较6种净化方式相应平均回收率(依次为89.0%、87.9%、88.6%、88.3%、84.8%和85.8%)可知, 较长时间的静态净化(5 min和10 min)会降低所监测抗生素的总体回收率。综合考虑回收率结果和净化速率, 最终选择快速动态吸附1次作为基质净化模式。

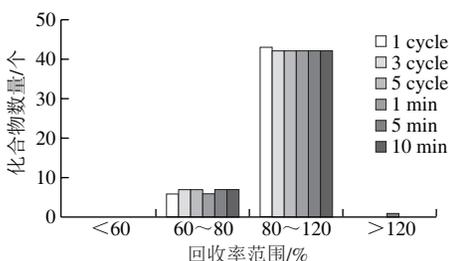


图5 不同净化模式下吸附次数和静置时间对回收率的影响

Fig. 5 Effect of number of adsorption times and standing time on the recoveries of analytes in different purification modes

## 2.5 方法验证

### 2.5.1 线性范围、ME、检出限 (limit of detection, LOD) 及定量限 (limit of quantitation, LOQ)

在1~400  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内配制49种抗生素的混合标准溶液, 以目标物质量浓度为横坐标, 定量离子对峰面积为纵坐标分别绘制标准曲线。如表2所示, 49种抗生素的线性相关系数均大于0.999, 说明本实验建立的方法具有良好的线性关系, 能够满足定量分析的要求。分别以3倍信噪比和10倍信噪比计算目标物的LOD和LOQ, 49种抗生素的LOD为0.1~10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQ为0.3~30.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表2 49种抗生素的线性方程、相关性数、ME、LOD和LOQ及MRL

Table 2 Calibration curve equations, correlation coefficients, matrix effects, LODs and LOQs for 49 antibiotics

抗生素	线性方程	相关系数	ME/%	LOD/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	MRLs/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )			
						中国	欧盟	美国	日本
SGD	$y=6144.03x-194.5$	0.9996	-4.7	4.0	13.3	100*	100*	—	不得检出
SD	$y=12433.3x+23.401$	0.9993	-3.1	0.2	0.7	100*	100*	—	100
STA	$y=9975.72x-224.6$	0.9994	0.1	1.0	3.6	100*	100*	—	100
SPD	$y=18973.1x-198.7$	0.9997	-9.6	0.4	1.3	100*	100*	—	不得检出
SSX	$y=18857.1x-3753.2$	0.9991	-2.7	4.0	13.3	100*	100*	—	—
SCP	$y=12837.2x+573.01$	0.9991	-0.5	4.2	11.9	100*	100*	—	50
SPZ	$y=3823.47x-55.48$	0.9995	2.5	2.0	6.7	100*	100*	—	—
DAP	$y=52167.6x-221.3$	0.9993	-2.7	0.2	0.6	不得检出	不得检出	—	—
SQZ	$y=13553.2x-337.1$	0.9995	2.9	1.0	3.3	100*	100*	—	100
SDM	$y=46370x-102.3$	0.9996	-9.3	0.2	0.7	100*	100*	—	—
SM1	$y=18163.0x+282.41$	0.9992	-4.0	0.4	1.3	100*	100*	—	不得检出
SM2	$y=21343.3x-485.5$	0.9996	-2.1	0.4	1.3	100*	—	100	—
SMZ	$y=16896.8x-139.5$	0.9994	-2.1	1.0	3.3	100*	100*	—	20
TMP	$y=79269.3x-1916.1$	0.9993	-5.9	2.0	6.7	50	50	—	100
SDX	$y=71442.1x-282.6$	0.9991	-6.9	0.1	0.4	100*	100*	—	100
SID	$y=36252.9x+1086.1$	0.9992	-5.5	0.2	0.7	100*	100*	—	—
STZ	$y=17203.4x+2946.8$	0.9998	-7.4	1.0	3.2	100*	100*	—	—
SMT	$y=18207.7x-284.1$	0.9995	-3.1	1.0	3.4	100*	100*	—	—
SBZ	$y=16564.2x-169.7$	0.9997	-0.6	1.0	3.1	100*	100*	—	—
SPP	$y=11780.9x-19.16$	0.9993	-6.2	1.0	3.3	100*	100*	—	—
SST	$y=3625.45x-266.0$	0.9992	-6.7	2.0	6.7	100*	100*	—	—
SMM	$y=13295.9x+454.60$	0.9994	-1.1	1.0	3.3	100*	100*	—	20
SMP	$y=30571.4x-297.3$	0.9993	-13.5	0.4	1.3	100*	100*	—	不得检出
CIP	$y=42959.6x+403.12$	0.9997	1.50	0.4	1.5	100	—	—	—
ENR	$y=53049.8x+2195.3$	0.9993	1.00	0.4	1.3	100	—	—	50
OFL	$y=87227.7x+298.34$	1.0000	0.20	0.4	1.4	—	—	—	—
SAR	$y=21111.1x-235.0$	0.9995	-0.4	0.4	1.3	—	—	—	不得检出
ORB	$y=67655.8x-234.3$	0.9991	-2.3	0.2	0.7	—	—	—	20
NOR	$y=36997.1x-420.0$	0.9994	4.1	0.4	1.3	—	—	—	20
NA	$y=96914.5x+819.86$	0.9991	-6.2	0.2	0.7	—	—	—	—
DIF	$y=33270.7x-209.1$	0.9995	-1.6	1.0	3.3	400	400	—	20
MAR	$y=36547.9x+343.79$	0.9993	-1.0	0.1	0.4	—	150	—	50
LOM	$y=38718.9x+191.01$	0.9996	-1.8	0.2	0.7	—	—	—	5
FLU	$y=97767.2x+763.99$	0.9992	5.1	1.0	3.3	500	200	—	500
PIP	$y=31829.9x-1779.0$	0.9992	10.9	2.0	6.7	—	—	—	—
PEF	$y=64504.1x+93.593$	0.9994	-5.0	1.0	3.3	—	—	—	—
FLE	$y=59248.1x-433.5$	0.9996	0.5	0.4	1.3	—	—	—	—

续表2

抗生素	线性方程	相关系数	ME/%	LOD/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	MRLs/ ( $\mu\text{g/kg}$ )			
						中国	欧盟	美国	日本
ENO	$y=72.540.7x-1.317.0$	0.9997	3.1	1.0	3.1	—	—	—	—
CIN	$y=43.241.2x-532.5$	0.9992	-5.6	1.0	3.1	—	—	—	—
SPA	$y=30.860.8x-68.86$	0.9993	-4.1	1.0	3.3	—	—	—	—
OXA	$y=150.822x-4.861.0$	0.9992	-10.5	1.0	3.6	100	100	—	20
JOS	$y=89.963x+94.795$	0.9994	-0.8	0.1	0.3	—	—	—	不得检出
TYL	$y=16.509.8x-15.84$	0.9996	0.2	0.2	0.7	100	100	200	100
KIT	$y=15.252.3x-59.46$	0.9993	-0.9	0.4	1.3	200	—	—	不得检出
RON	$y=15.179.9x-319.2$	0.9992	-6.7	1.0	3.3	不得检出	不得检出	—	—
MET	$y=12.546.7x+1.397.0$	0.9994	-4.7	2.0	6.7	不得检出	不得检出	—	—
DMZ	$y=8.676.23x-2.401.2$	0.9992	-1.9	10.0	30.3	不得检出	不得检出	—	—
CLR	$y=41.067.3x+410.30$	0.9993	-3.3	0.2	0.7	—	—	—	—
DIC	$y=4.821.68x-37.60$	0.9995	2.6	1.0	3.3	—	300	—	300

注：—标准中未规定或未提及；\*磺胺类药物限量100  $\mu\text{g/kg}$ 为食品中所有磺胺类药物残留量之和；各国或组织关于猪肌肉中兽药残留的标准引自GB 31650—2019《食品中兽药最大残留限量》、欧盟《动物源性食品中药理活性物质的分类及其最大残留量》、美国《联邦法典》第21卷第556部分、日本《农业化学品在动物产品中的限量标准及禁用药物》。

当使用UPLC-MS/MS检测时，猪肉样品中的干扰基质会对化合物产生离子增强或抑制效应，称为ME。对每种化合物在猪肉种的ME进行评估，计算公式如下：

$$\text{ME}/\% = \left( \frac{k_a}{k_b} - 1 \right) \times 100$$

式中： $k_a$ 和 $k_b$ 分别为目标化合物在基质匹配溶液和标准溶液对应线性方程的斜率。

一般而言，ME=0表示不存在ME；ME在 $\pm 20\%$ 范围内表示ME不显著；ME $< -20\%$ 和ME $> 20\%$ 则表示存在显著基质抑制或增强效应。如表2所示，经2种硅烷化海绵净化后，所考察抗生素ME均不显著（ $\leq \pm 20\%$ ）。除了SMP、PIP与OXA外，其余抗生素ME均在 $\pm 10\%$ 以内，这表明使用硅烷化MeS净化可有效消除猪肉的ME。为获得更准确的定量结果，本实验进一步采用基质匹配外标法进行定量分析。

### 2.5.2 加标回收率及精密度

分别在低中高3个加标水平（10、100、200  $\mu\text{g/kg}$ ）向空白猪肉样品中添加适量抗生素混合标准溶液，每个加标浓度均进行日内精密度实验（重复6次）和日间精密度实验（连续3 d，每天重复3次），计算方法的回收率和相对标准偏差（relative standard deviation, RSD）。考虑到部分抗生素LOQ较高（ $\geq 10 \mu\text{g/kg}$ ），SGD、SSX和SCP的低浓度加标水平选定为15  $\mu\text{g/kg}$ ，DMZ的低浓度加标水平选定为30  $\mu\text{g/kg}$ ，其他抗生素低浓度加标水平均选定为10  $\mu\text{g/kg}$ 。如表3所示，49种抗生素的加标回收率均在65.0%~112.7%范围内，日内RSD为0.3%~11.8%，日间RSD为2.4%~18.4%，均小于20%，证明该方法具有良好的准确度和精密度。

表3 49种抗生素在猪肉加标回收率及精密度

Table 3 Spiked recoveries and precision of 49 antibiotics in pork

抗生素	回收率（ $\pm$ RSD）（ $n=6$ ）			日间RSD/%
	低	中	高	
SGD	94.2 ( $\pm 5.2$ )	90.3 ( $\pm 0.6$ )	89.5 ( $\pm 1.0$ )	6.4
SD	87.7 ( $\pm 1.3$ )	89.8 ( $\pm 1.8$ )	88.8 ( $\pm 0.5$ )	5.9
STA	93.9 ( $\pm 6.0$ )	96.7 ( $\pm 2.3$ )	94.4 ( $\pm 3.3$ )	6.0
SPD	87.6 ( $\pm 3.3$ )	90.2 ( $\pm 3.6$ )	89.3 ( $\pm 0.8$ )	4.8
SSX	91.5 ( $\pm 9.2$ )	91.9 ( $\pm 3.9$ )	93.7 ( $\pm 3.8$ )	10.8
SCP	100.8 ( $\pm 1.8$ )	94.0 ( $\pm 7.2$ )	90.2 ( $\pm 1.2$ )	7.2
SPZ	100.3 ( $\pm 12.3$ )	95.4 ( $\pm 1.9$ )	93.4 ( $\pm 0.7$ )	12.3
DAP	92.5 ( $\pm 7.7$ )	95.5 ( $\pm 1.2$ )	93.6 ( $\pm 0.7$ )	7.7
SQZ	92.4 ( $\pm 7.5$ )	94.1 ( $\pm 1.6$ )	89.6 ( $\pm 0.6$ )	7.5
SDM	91.5 ( $\pm 4.9$ )	96.1 ( $\pm 0.4$ )	93.1 ( $\pm 1.1$ )	4.9
SM1	92.9 ( $\pm 6.1$ )	93.4 ( $\pm 1.3$ )	94.8 ( $\pm 3.1$ )	6.1
SM2	83.4 ( $\pm 6.1$ )	86.3 ( $\pm 0.3$ )	82.0 ( $\pm 0.4$ )	6.1
SMZ	95.1 ( $\pm 3.5$ )	95.4 ( $\pm 0.5$ )	92.7 ( $\pm 1.8$ )	5.6
TMP	84.8 ( $\pm 6.1$ )	81.6 ( $\pm 0.6$ )	81.9 ( $\pm 0.8$ )	6.1
SDX	95.4 ( $\pm 2.8$ )	95.4 ( $\pm 2.0$ )	92.7 ( $\pm 1.8$ )	2.8
SID	85.5 ( $\pm 6.6$ )	86.5 ( $\pm 9.5$ )	88.1 ( $\pm 0.9$ )	9.5
STZ	92.8 ( $\pm 1.2$ )	90.9 ( $\pm 2.5$ )	91.9 ( $\pm 3.2$ )	7.7
SMT	97.6 ( $\pm 1.8$ )	93.5 ( $\pm 2.6$ )	93.0 ( $\pm 2.4$ )	6.4
SBZ	84.9 ( $\pm 1.7$ )	88.8 ( $\pm 1.9$ )	90.0 ( $\pm 1.6$ )	7.5
SPP	98.5 ( $\pm 9.4$ )	100.3 ( $\pm 1.3$ )	97.3 ( $\pm 1.9$ )	9.4
SST	65.5 ( $\pm 8.0$ )	71.3 ( $\pm 3.0$ )	70.8 ( $\pm 2.6$ )	8.0
SMM	100.9 ( $\pm 4.3$ )	91.2 ( $\pm 2.7$ )	90.9 ( $\pm 2.7$ )	5.9
SMP	87.0 ( $\pm 4.1$ )	84.0 ( $\pm 3.2$ )	83.7 ( $\pm 2.9$ )	18.4
CIP	95.5 ( $\pm 2.4$ )	82.8 ( $\pm 1.7$ )	83.0 ( $\pm 3.2$ )	6.7
ENR	95.4 ( $\pm 4.7$ )	87.6 ( $\pm 2.9$ )	86.5 ( $\pm 1.8$ )	10.7
OFL	91.4 ( $\pm 2.7$ )	87.3 ( $\pm 1.2$ )	86.4 ( $\pm 3.5$ )	6.8
SAR	94.9 ( $\pm 4.7$ )	92.6 ( $\pm 2.3$ )	90.7 ( $\pm 2.5$ )	6.3
ORB	91.7 ( $\pm 2.8$ )	90.5 ( $\pm 3.6$ )	87.0 ( $\pm 1.6$ )	4.6
NOR	82.0 ( $\pm 5.2$ )	83.0 ( $\pm 0.8$ )	82.3 ( $\pm 3.2$ )	8.8
NA	91.5 ( $\pm 2.4$ )	92.7 ( $\pm 0.7$ )	90.5 ( $\pm 1.5$ )	2.4
DIF	89.9 ( $\pm 5.5$ )	89.5 ( $\pm 0.6$ )	89.3 ( $\pm 1.0$ )	8.5
MAR	86.3 ( $\pm 1.7$ )	84.7 ( $\pm 3.2$ )	83.2 ( $\pm 3.2$ )	13.1
LOM	83.9 ( $\pm 6.0$ )	82.3 ( $\pm 1.4$ )	81.7 ( $\pm 0.7$ )	6.0
FLU	91.0 ( $\pm 2.4$ )	89.1 ( $\pm 1.4$ )	88.4 ( $\pm 1.8$ )	2.4
PIP	65.0 ( $\pm 8.5$ )	72.5 ( $\pm 2.8$ )	71.4 ( $\pm 2.3$ )	10.2
PEF	86.3 ( $\pm 7.2$ )	87.8 ( $\pm 2.2$ )	85.4 ( $\pm 3.6$ )	8.1
FLE	85.8 ( $\pm 7.5$ )	85.8 ( $\pm 0.6$ )	83.0 ( $\pm 0.6$ )	7.5
ENO	89.2 ( $\pm 4.3$ )	79.5 ( $\pm 2.8$ )	78.4 ( $\pm 4.3$ )	5.2
CIN	85.8 ( $\pm 2.7$ )	84.6 ( $\pm 2.6$ )	83.4 ( $\pm 1.2$ )	7.1
SPA	86.6 ( $\pm 1.7$ )	89.4 ( $\pm 1.4$ )	87.9 ( $\pm 2.3$ )	4.0
OXA	85.0 ( $\pm 3.9$ )	87.1 ( $\pm 1.8$ )	85.3 ( $\pm 1.1$ )	5.6
JOS	89.5 ( $\pm 2.3$ )	89.0 ( $\pm 0.7$ )	87.8 ( $\pm 0.8$ )	2.8
TYL	72.0 ( $\pm 2.2$ )	70.8 ( $\pm 2.0$ )	72.8 ( $\pm 2.9$ )	2.9
KIT	75.9 ( $\pm 1.0$ )	73.5 ( $\pm 2.5$ )	75.6 ( $\pm 0.8$ )	5.9
RON	86.5 ( $\pm 4.5$ )	91.5 ( $\pm 1.0$ )	87.5 ( $\pm 1.5$ )	7.3
MET	90.6 ( $\pm 3.5$ )	88.1 ( $\pm 0.9$ )	86.6 ( $\pm 1.3$ )	6.2
DMZ	112.7 ( $\pm 11.8$ )	93.7 ( $\pm 2.5$ )	94.8 ( $\pm 3.7$ )	14.6
CLR	70.0 ( $\pm 1.5$ )	70.6 ( $\pm 0.8$ )	71.2 ( $\pm 1.8$ )	3.7
DIC	95.4 ( $\pm 2.4$ )	97.4 ( $\pm 1.3$ )	93.4 ( $\pm 0.7$ )	9.5

### 2.5.3 材料对比

商业固相分散吸附剂如PSA、 $C_{18}$ 与GCB及其组合等是采用QuEChERS技术高效净化动物源食品的常用净化

剂。在同等条件下，对比分析了所开发“OTS@MeS+ATS@MeS”净化海绵组合材料与“PSA+C<sub>18</sub>”组合以及“PSA+C<sub>18</sub>+GCB”组合吸附剂的净化效果，加标回收率对比结果如图6所示。采用“OTS@MeS+ATS@MeS”净化海绵组合时加标回收率均处于60%~120%之间，且处于80%~120%区间的药物数量最多。与“PSA+C<sub>18</sub>”净化组合相比（CIP 73.1%、NOR 78.1%、PEF 77.2%、ENO 69.4%），净化海绵组合能够显著提升部分喹诺酮类药物（CIP 83.4%、NOR 84.5%、PEF 91.4%、ENO 81%）的加标回收率。“PSA+C<sub>18</sub>+GCB”组合用于基质净化时，大部分喹诺酮类兽药的回收率显著降低（<60%）。这可能是喹诺酮类药物分子中的芳香共轭平面结构与GCB材料间的强吸附作用导致的。此外，通过ME进一步考察和对比了“OTS@MeS+ATS@MeS”净化海绵组合材料与“PSA+C<sub>18</sub>”组合吸附材料的净化效果，除SMM（ME=47%）外，上述2种净化吸附剂组合ME均不显著（ME≤±20%）（图7）。相比较而言，“OTS@MeS+ATS@MeS”净化海绵组合材料对较多药物具有轻微的基质抑制效应，而“PSA+C<sub>18</sub>”组合吸附材料呈现出轻微的基质增强效应。综合而言，所开发“OTS@MeS+ATS@MeS”净化海绵材料具有同等甚至更优的基质净化效果，且基质分离过程方便快捷、无需离心等耗时环节，在猪肉抗生素多残留分析中具有较好的适用性。

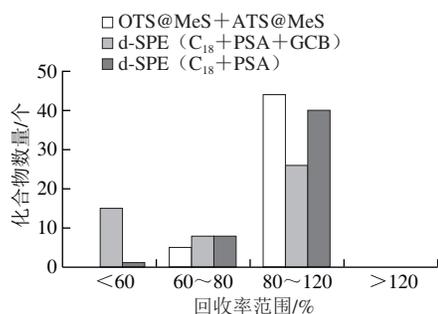


图6 不同净化材料对所监测49种抗生素药物回收率分布的影响

Fig. 6 Influence of different sorbents on the recoveries of 49 antibiotics

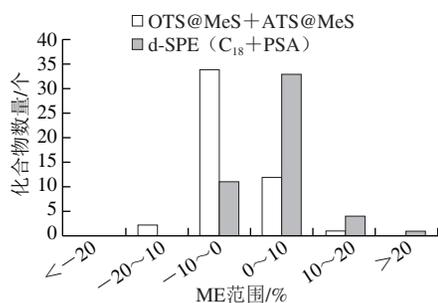


图7 不同净化材料对所监测49种抗生素药物ME的影响

Fig. 7 Influence of different sorbents on the ME of 49 antibiotics

### 2.5.4 实际样品分析结果

应用本实验建立的方法对市场购买的36份猪肉样品进行检测，结果均未检测出抗生素残留。

## 3 结论

本实验将硅烷化MeS用于猪肉抗生素多残留基质净化，通过比较不同提取条件、海绵用量配比及基质净化模式确定最佳前处理条件，建立了改良QuEChERS结合UPLC-MS/MS技术检测猪肉中49种抗生素多残留的快速分析方法。该方法用硅烷化MeS代替常规的基质净化材料，仅需简单推拉注射器即可完成样品净化，能够大大简化前处理过程，缩短样品前处理时间，实现大批量样品的快速检测。此外，该方法线性范围广、ME低、准确度和精密度良好、灵敏度高、适用范围广，可用于猪肉中49种抗生素多残留的快速定量检测。

### 参考文献:

- [1] PHILLIPS I, CASEWELL M, COX T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, 53(1): 28-52. DOI:10.1093/jac/dkg483.
- [2] HUTCHINGS M I, TRUMAN A W, WILKINSON B. Antibiotics: past, present and future[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 51: 72-80. DOI:10.1016/j.mib.2019.10.008.
- [3] 许琳. 正确看待养殖业中抗生素的使用[J]. *养禽与禽病防治*, 2017(7): 40.
- [4] ASHOLT N J, AMEZQUITA A, BACKHAUS T, et al. Human Health Risk Assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2013, 121(9): 993-1001. DOI:10.1289/ehp.1206316.
- [5] 李敏, 商春锋, 李凤姣. 动物源性食品中抗生素残留物质的快速检测方法[J]. *现代食品*, 2022, 28(17): 135-137. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2022.17.036.
- [6] PATYRA E, NEBOT C, CEPED A, et al. Development and validation of multi-residue and multi-class method for antibacterial substances analysis in non-target feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2018, 35: 467-478. DOI:10.1080/19440049.2017.1414961.
- [7] 侯美玲, 董宪兵, 李红丽, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时检测畜禽肉中抗生素及镇静剂类兽药残留[J]. *食品与发酵科技*, 2020, 56(3): 113-126. DOI:10.3969/j.issn.1674-506X.2020.03-022.
- [8] 裴斐, 韩萍, 王杰, 等. 基于UHPLC-Q-TOF/MS法同时检测猪肉中主要抗生素类兽药残留[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(10): 298-304. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021080169.
- [9] HUANG Z, PAN X D, HUANG B, et al. Determination of 15  $\beta$ -lactam antibiotics in pork muscle by matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD) and ultra-high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Control*, 2016, 66: 145-150. DOI:10.1016/j.foodcont.2016.01.037.
- [10] 孙星雅, 李强, 王战辉, 等. 中国与欧盟和美国禽肉、禽蛋中兽药残留限量标准的对比研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(6): 2362-2375. DOI:10.16431/j.cnki.1671-7236.2022.06.036.

- [11] Codex Alimentarius: International Food Standards. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods: CX/MRL 2-2021[S]. 2021.
- [12] 林海依. 食品中农兽药残留检测技术研究[J]. 食品安全导刊, 2023(3): 148-150. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2023.03.049.
- [13] 郑平, 邹康平, 王冬. 畜产品中兽药残留检测方法的相关研究[J]. 食品安全导刊, 2023(1): 124-126. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2023.01.064.
- [14] 滕爽, 吕青昶, 沈娟, 等. 超高效液相色谱法检测猪肉及其制品中的磺胺类和氟喹诺酮类兽药残留[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(7): 263-268. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.015918.
- [15] ZHENG Y, FAN L X, DONG Y J, et al. Determination of sulfonamide residues in livestock and poultry manure using carbon nanotube extraction combined with UPLC-MS/MS[J]. Food Analytical Methods, 2021, 14: 641-652. DOI:10.1007/s12161-020-01910-4.
- [16] 张念英, 嵇欢欢, 郭冰. 畜禽肉及鸡蛋等动物源性食品中44种多兽药残留检测超高效液相色谱-串联质谱法[J]. 农产品加工, 2021(23): 56-60. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2021.12.014.
- [17] YANG Y, LIN G P, LIU L J, et al. Rapid determination of multi-antibiotic residues in honey based on modified QuEChERS method coupled with UPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131733. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131733.
- [18] LUO P, LIU X H, KONG F, et al. Multi-residue determination of 325 pesticides in chicken eggs with EMR-Lipid clean-up by UHPLC-MS/MS and GC-MS/MS[J]. Chromatographia, 2020, 83(5): 593-599. DOI:10.1007/s10337-020-03876-10.
- [19] LU Z L Z, DENG F F, HE R, et al. A pass-through solid-phase extraction clean-up method for the determination of 11 quinolone antibiotics in chicken meat and egg samples using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Microchemical Journal, 2019, 151: 104213. DOI:10.1016/j.microc.2019.104213.
- [20] STEINER D, SULYOK M, MALACHOVA A, et al. Realizing the simultaneous liquid chromatography-tandem mass spectrometry based quantification of >1 200 biotoxins, pesticides and veterinary drugs in complex feed[J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1629: 461502. DOI:10.1016/j.chroma.2020.461502.
- [21] MOGA A, VERGARA-BARBERÁN M, LERMA-GARCÍA M J, et al. Determination of antibiotics in meat samples using analytical methodologies: a review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(2): 1681-1716. DOI:10.1111/1541-4337.12702.
- [22] ZHANG C Y, DENG Y C, ZHENG J F, et al. The application of the QuEChERS methodology in the determination of antibiotics in food: a review[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2019, 118: 517-537. DOI:10.1016/j.trac.2019.06.012.
- [23] 裴斐, 韩萍, 王杰, 等. 基于UHPLC-Q-TOF/MS法同时检测猪肉中主要抗生素类兽药残留[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 298-304. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021080169.
- [24] AJIBOLA A S, TISLER S, ZWIENER C. Simultaneous determination of multiclass antibiotics in sewage sludge based on QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Methods, 2020, 12(4): 576-586. DOI:10.1039/C9AY02188D.
- [25] 戴尽波, 沈洁, 何啸峰. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法检测禽源性食品中氟虫腈及其代谢物[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 325-332. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200103-026.
- [26] WANG P C, LEE R J, CHEN C Y, et al. Determination of cyromazine and melamine in chicken eggs using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 752: 78-86. DOI:10.1016/j.aca.2012.09.029.
- [27] LUO Y B, ZHENG H B, JIANG X Y, et al. Determination of pesticide residues in tobacco using modified QuEChERS procedure coupled to on-line gel permeation chromatography-gas chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43: 1538-1544. DOI:10.1016/S1872-2040(15)60870-2.
- [28] 冯娟娟, 孙明霞, 冯洋, 等. 石墨烯应用于样品前处理的研究进展[J]. 色谱, 2022, 40(11): 953-965.
- [29] 张恒通, 黄小华, 张钰霖, 等. 多壁碳纳米管分散剂的制备及分散性能研究[J]. 材料研究与应用, 2023, 17(1): 24-36. DOI:10.20038/j.cnki.mra.2023.000103.
- [30] 董森林. 氟硅烷液水解制备二氧化硅防团聚研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2017.
- [31] LEI Z W, ZHANG G Z, OUYANG Y, et al. Simple fabrication of multi-functional melamine sponges[J]. Materials Letters, 2017, 190: 119-122. DOI:10.1016/j.matlet.2016.12.082.
- [32] LI J Q, FENG Y, CAO M J, et al. Direct coating pen ink carbon on a carbonized melamine sponge as a flexible free-standing electrode[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2021, 60(9): 3597-3604. DOI:10.1021/ACS.IECR.0C05815.
- [33] 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. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130894.
- [34] YIN Z C, LI Y H, SONG T W, et al. An environmentally benign approach to prepare superhydrophobic magnetic melamine sponge for effective oil/water separation[J]. Separation and Purification Technology, 2020, 236: 116308. DOI:10.1016/j.seppur.2019.116308.
- [35] BAO C J, WEN H Z, 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. DOI:10.1016/j.chroma.2021.462333.
- [36] PHAM V H, DICKERSON J H. Superhydrophobic silanized melamine sponges as high efficiency oil absorbent materials[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(16): 14181-14188. DOI:10.1021/am503503m.
- [37] 张琳, 贾琪, 王昕璐, 等. 猪肉提取净化过程中脂质含量变化及其对 $\beta$ -受体激动剂残留分析的影响研究[J]. 农产品质量与安全, 2020(3): 11-17.