

水产品中大环内酯类兽残检测方案——QuEChERS-UPLC-MS/MS 法

大环内酯类抗生素作为兽药中重要的一员，对革兰氏阳性菌、部分革兰氏阴性菌和支原体都有很强的抗菌活性，被用作预防疾病和促进生长的饲料添加剂，广泛应用于畜牧和水产养殖。本方法以 QuEChERS 为净化手段，选择对虾、扇贝和草鱼三种基质，对鱼、虾、贝等代表性水产品进行高、低两种水平加标验证，回收率满足 70%~110%，RSD < 10%，符合使用要求，可供客户选择。

一、样品提取

准确称取粉碎均匀的水产类样品 2 g 于干净离心管中，加入 2 mL 水，涡旋 1 min，加入 10 mL 1% 乙酸乙腈溶液，涡旋 1 min，倒入兽残提取包 (COQ050050H) 涡旋混匀后超声提取 10 min，5000 r/min 离心 2 min，待净化。

二、样品净化

取 6 mL 上清液于净化管 (货号: COQ015604)，2500 r/min 涡旋 2 min，8000 r/min 离心 5 min，取上清液 5 mL，氮吹近干后用 0.1% 甲酸水: 甲醇 =9:1 溶液定容至 1 mL，上机。

三、基质标准曲线溶液的制备

选同类型空白肉类样品，按上述前处理方法进行操作，取净化后的上清液加入适量的标液后与样品一同氮吹复溶，配制成为上机浓度分别为 2 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、500 μg/L 的标准曲线。

四、仪器条件

色谱条件

仪器: UPLC-MS/MS (Thermo Fisher TSQ Endura)

色谱柱: Commsil® BEH T-C18 (2.1 mm×100 mm, 3 μm)

流动相: A: 水 (0.1% 甲酸)

B: 甲醇

洗脱方式: 梯度洗脱, 见表 1

流速: 0.3 mL/min

柱温: 35°C

进样量: 10 μL

表 1 梯度洗脱程序

时间 /min	A/%	B/%
0.00	98	2
0.25	98	2
2.00	70	30
4.00	70	30
4.20	30	70
6.20	30	70
6.50	2	98
7.80	2	98
8.00	98	2
10.00	98	2

质谱条件

离子源: HESI

电喷雾电压: 3500 V

鞘气压力: 40 arb

辅气压力: 2 arb

离子传输管: 380 °C

辅气温度: 350 °C

表 2 组分名称、保留时间及特征离子一览表 (* 为定量离子)

序号	名称	保留时间 /min	母离子	子离子
1	林可霉素	2.89	407.3	126.1*, 359.2
2	替米考星	5.44	869.7	132.1, 174.1*
3	克林霉素	5.51	425.2	126.2*, 377.2
4	竹桃霉素	5.52	688.5	158.1, 544.4*
5	吉他霉素	5.55	772.5	109.1*, 215.1
6	泰乐菌素	5.55	916.4	145.1, 174.2*
7	红霉素	5.56	734.6	158.1, 576.4*
8	螺旋霉素	5.57	843.6	142.1, 174.1*
9	交沙霉素	5.59	828.6	109.1, 174.1*

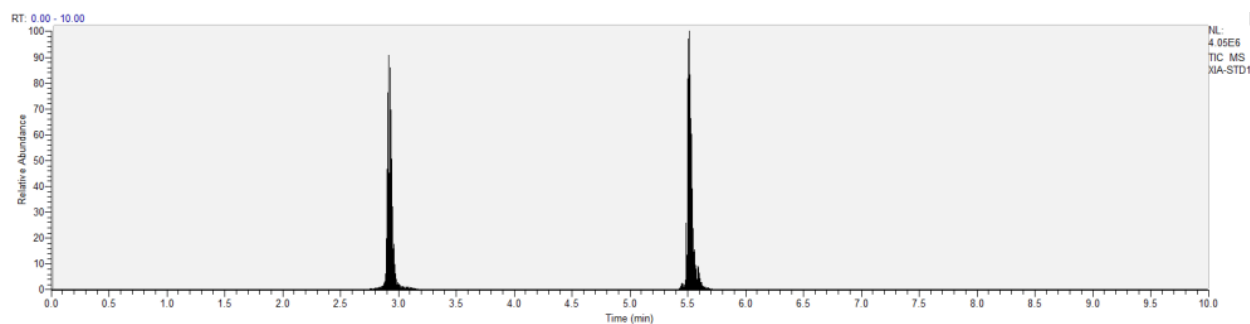


图 1 添加水平为 10 μg/kg 时对虾样品中 9 种大环内酯类总离子流图

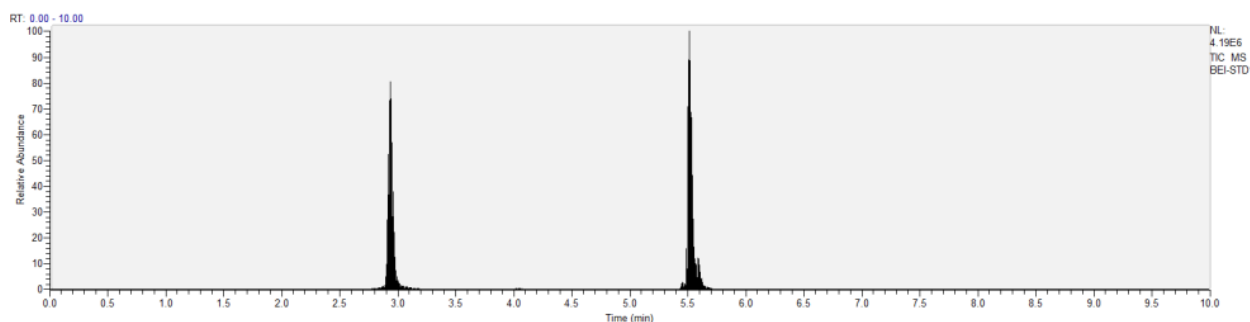


图 2 添加水平为 10 μg/kg 时扇贝样品中 9 种大环内酯类总离子流图

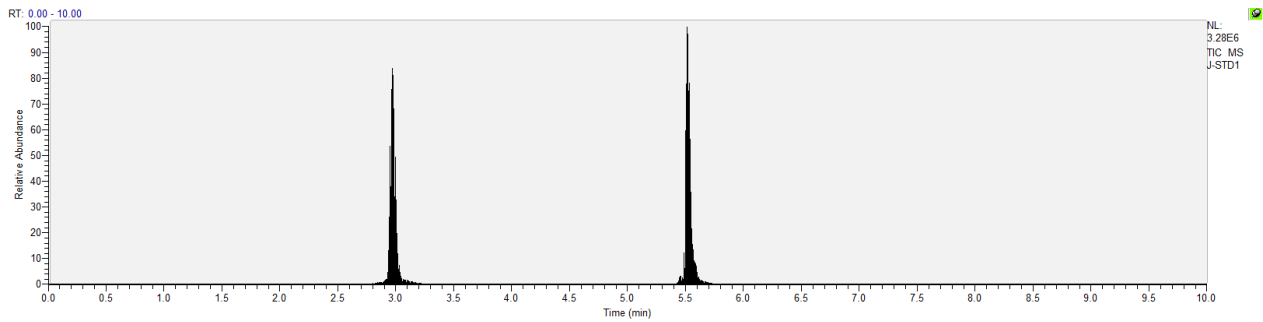


图 3 添加水平为 10 µg/kg 时草鱼样品中 9 种大环内酯类总离子流图

五、实验结果

表 3 兽残加标回收实验结果

目标物	对虾				扇贝				草鱼			
	10.0 µg/kg		50.0 µg/kg		10.0 µg/kg		50.0 µg/kg		10.0 µg/kg		50.0 µg/kg	
	回收率 (%)	RSD (%) n=3	回收率 (%)	RSD (%) n=3	回收率 (%)	RSD (%) n=3	回收率 (%)	RSD (%) n=3	回收率 (%)	RSD (%) n=3	回收率 (%)	RSD (%) n=3
林可霉素	91.3	2.21	81.5	2.49	79.3	3.32	74.6	3.85	81.2	2.95	79.8	2.85
替米考星	82.7	2.42	83.8	2.75	78.5	4.45	91.4	2.27	80.5	3.46	99.6	2.52
克林霉素	87.5	1.65	92.4	1.89	79.2	3.26	82.9	2.11	84.2	2.83	94.4	1.97
竹桃霉素	98.7	1.37	92.6	2.02	86.2	2.18	88.8	2.19	84.5	1.94	102	2.06
吉他霉素	85.3	2.05	86.2	2.37	82.8	3.27	93.6	2.66	108	4.25	88.2	2.74
泰乐菌素	79.8	2.66	92.3	2.39	88.9	3.06	94.1	2.17	102	4.02	93.4	2.97
红霉素	102	2.87	91.8	2.32	74.5	4.79	83.2	2.85	89.6	3.93	106	3.13
螺旋霉素	108	3.83	92.2	2.75	80.4	4.81	97.2	1.69	79.7	4.04	91.4	2.62
交沙霉素	92.3	2.95	91.4	2.92	82.1	3.34	96.8	2.70	99.9	3.76	98.6	2.16

订购信息

货号	描述	包装
COQ050050H	Copure® 兽残专用 QuEChERS 提取包	50 支 / 盒
COQ015604	Copure® 兽残专用 QuEChERS 净化管, 测试大环内酯类	50 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
BN24	智能水浴氮吹仪	1 台 / 箱
SF130-22-NL	Nylon 针式过滤器, 直径 13 mm, 孔径 0.22 µm, 有机系	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE / 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒