

兽药残留检测技术研究进展

高洁, 苗虹*

(国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘要: 近年来, 动物源性食品中的兽药残留问题引起了世界范围内的广泛关注。发展快速、简易、高灵敏度、高通量的兽药残留检测技术已成为迫切需要。本文分别对兽药残留分析的前处理技术和测定技术进行了较全面的综述, 对各种检测技术的检测原理、操作步骤及各自的优缺点进行了比较分析, 并对兽药残留检测技术在未来的发展方向作了进一步的展望。

关键词: 兽药残留; 检测技术; 研究进展

Recent development of analytical methods for veterinary drug residues

GAO Jie, MIAO Hong*

(China National Center of Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

ABSTRACT: In recent years, the problem of veterinary drug residues in animal derived food has drawn wide attention in the world. It is imperative to develop rapid, simple, highly sensitive, and high-throughput analytical methods for veterinary drug residues. A comprehensive review was presented here on the sample pretreatment and determination methods of veterinary drug residues. The principles, operation procedures, advantages and disadvantages of various analytical technologies were analyzed and compared. Possible future directions in the analytical methods used for veterinary drug residues were also outlined.

KEY WORDS: veterinary drug residues; analytical methods; recent development

兽药残留是指食用动物在应用兽药(包括药物添加剂)后, 蓄积或储存在细胞、组织或器官内, 或进入泌乳动物的乳或产蛋家禽的蛋中的药物原型及其有毒理学意义的代谢物和药物杂质。近年来, 随着兽药的种类和使用范围的剧增, 加之人们对食品安全问题及自身健康的日益关注, 动物性食品中的兽药残留问题已成为国内外学者广泛关注的热点。事实上, 常规用于预防 and 治疗的兽药用量相当有限, 只要人们懂得科学合理膳食, 不过量食用动物性食品, 一般情况下兽药残量不会对人体健康产生急性危害, 多

为慢性毒性和“三致”作用。而一些养殖者由于经济利益的驱动, 无视国家有关规定, 过量使用或滥用兽药、或不遵守休药期规定, 甚至使用违禁兽药等, 则会严重危害人类健康。同时, 兽药残留除了直接危害人体健康外, 还会导致微生物耐药性、生态环境毒性等一系列危害^[1,2]。兽药残留相关的食品安全问题的频发, 也使其成为国际贸易中的非关税性贸易壁垒, 引起了国际社会和各国政府的高度重视, 纷纷采取措施对兽药残留进行严格监控。因此, 发展快速、简易、高灵敏、高通量的兽药残留检测技术已成为当前

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAK10B06)

Fund: Supported by the National Science & Technology Pillar Program (2011BAK10B06)

*通讯作者: 苗虹, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全理化检测与研究。E-mail: miaohong0827@163.com

*Corresponding author: MIAO Hong, Professor, Chinese Center for Food Safety Risk Assessment, No.7 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. E-mail: miaohong0827@163.com

的迫切需要。近年来各国学者不断进行检测方法的创新和改进,为监控体系的建立和完善提供先进的技术保障。本文对目前已报道的兽药残留前处理技术和测定技术研究进展进行简要综述。

1 样品前处理技术

由于兽药残留种类繁多、在样品中残留水平低、基质复杂、干扰物质多等,使样品前处理技术,即分离纯化技术成为兽药残留分析的重点和难点。目前,兽药残留的样品前处理方法主要有液液萃取、固相萃取、固相微萃取、免疫亲和色谱、分子印迹、超临界流体萃取、基质固相分散技术、微波辅助萃取、凝胶渗透色谱、超声波辅助提取等。

1.1 液液萃取

液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)是利用待测物在两种互不相溶(或微溶)的溶剂中分配系数的不同而达到分离纯化的目的,是兽药残留分析中一种常用的前处理技术。Cai等^[3]将肉类样品用乙腈除蛋白,正己烷脱脂后,加乙酸乙酯液液萃取,利用超高效液相色谱串联质谱技术对肉中的24种磺胺类药物残留进行了测定。Rübensam等^[4]运用液液萃取结合低温纯化技术作为前处理技术,测定了牛奶中大环内酯类抗生素,得到了良好的回收率。液液萃取对实验条件和仪器要求不高,但操作繁琐、有机溶剂消耗大,污染严重,逐渐被一些新的前处理方法所取代。

1.2 固相萃取

固相萃取(solid phase extraction, SPE)是目前兽药残留检测中最为常用的一种样品前处理技术。它是利用固体吸附剂将样品中目标化合物吸附,使其与样品基质及干扰化合物分离,再用洗脱液洗脱下来从而达到分离和富集的目的。固相萃取技术由于具有操作简单快速、消耗有机溶剂少、样品回收率高、易于自动化等优点,在样品前处理中得到广泛应用。目前,固相萃取技术已可用在磺胺类、四环素类、阿维菌素类、氯霉素类、喹诺酮类、激素类、 β -受体激动剂等多类兽药残留的定量分析中。Bailac等^[5]采用固相萃取结合液相色谱方法测定了鸡肉组织中的喹诺酮类药物。他们对比了 Oasis HLB, Oasis MAX, SDB-RPS 三种不同填料固相萃取柱的萃取效率,最终得出 SDB-RPS 填料的固相萃取柱的萃

取效果最好。Sun等^[6]也利用固相萃取技术测定了肉中7种硝基咪唑类药物的残留量。

1.3 固相微萃取

固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)技术是20世纪90年代兴起的一项新颖的样品净化富集技术,属于非溶剂型选择性萃取法。它基于目标化合物在基体与石英纤维固定相涂层间的非均相平衡,实现对目标化合物的有效萃取和富集。固相微萃取技术与液液萃取和固相萃取相比,具有融取样、萃取、浓缩和进样为一体,操作简便,选择性好,不需有机溶剂等优点,得到了迅速的发展,在兽药残留分析领域也得到了广泛的应用。Lu等^[7]利用固相微萃取和液相色谱质谱联用技术对肉中8种磺胺类药物进行了测定。Zheng等^[8]发展了一种利用聚合物整体柱固相微萃取结合液相色谱/四极杆-飞行时间质谱(QTOF)快速定量测定和确证动物性食品中7种喹诺酮类药物的方法。

1.4 基质固相分散

基质固相分散(matrix solid-phase dispersion, MSPD)是Barker等^[9]于1989年提出的一种快速样品处理技术,它能直接用于从固态、半固态和粘稠基质样品中提取待测化合物。其基本操作是将固相萃取材料与样品一起研磨,制成半固态填料装柱,然后用不同的溶剂进行淋洗和洗脱。MSPD处理样品耗时短、步骤少、溶剂和样品用量少,使其迅速在兽药残留分析领域得到广泛应用和发展。García-Mayor等^[10]用MSPD结合液相色谱法分析了羊奶样品中7种大环内酯类抗生素。他们摸索最佳MSPD条件,最终选取已洗涤的海砂作为分散剂,用正己烷作脱脂溶剂,用甲醇/乙酸乙酯(50:50, v/v)混合溶剂作洗脱剂。Yang等^[11]采用MSPD和石墨化碳黑(GCB)固相萃取小柱净化鸡蛋样品,然后用UPLC-MS/MS测定了鸡蛋中8种孕激素的含量。

1.5 超临界流体萃取

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)是以超临界状态下的流体为萃取溶剂分离混合物的过程。由于超临界流体兼具气体的高渗透能力和液体的高溶解能力,可代替传统的有毒、易燃、易挥发的有机溶剂,有效地分离混合物。利用SFE可对目标化合物进行连续萃取,提高萃取效率,同时可通过

调节温度、压力和添加适当极性调节剂选择性萃取目标化合物。CO₂是最常用的超临界流体,可用于进行非极性和中等极性物质的提取,也通过加入适当的添加剂有效地萃取极性物质,应用广泛。Danaher 等^[12]用 SFE 净化动物肝脏中爱谱利诺菌素、莫西菌素、阿维菌素、多拉菌素和伊维菌素等药物,他们将肝脏样品与硅藻土混合后,将其放入装有碱性氧化铝的管中,在 100 °C、300 bar 压力下用 CO₂ 进行萃取,目标化合物被吸附在碱性氧化铝上,最后用甲醇/乙酸乙酯洗脱下来。Jimenez-Carmona 等^[13]则采用离子对-超临界流体萃取结合液相色谱对饲料、奶和肝脏中的克伦特罗进行了测定。

1.6 分子印迹

分子印迹(molecular imprinting, MI)技术在兽药残留分析领域是一个较新的发展方向。它的主要原理是使模板分子(印迹分子)与聚合物单体键合,通过聚合作用而被记忆下来,当除去模板分子后,聚合物中就形成了与模板分子空间构型相匹配的空穴,这样的空穴将对模板分子及其类似物具有高度的选择识别性。分子印迹聚合物(MIP)制备简单,能反复使用,稳定性好,因此可用作 SPE 填料或 SPME 涂层以及分子印迹薄膜来分离富集复杂基质中的痕量分析物,广泛用于兽药残留的分析。Quesada-Molina 等^[14]合成了头孢菌素(头孢氨苄和头孢匹林)分子印迹聚合物,并将其作为固相萃取填料,用于牛奶中头孢菌素的分析。Shi 等^[15]用分子印迹固相萃取技术联合液相色谱测定了乳制品和肉类样品中的痕量 17 β -雌二醇。Hu 等^[16]则将分子印迹与固相微萃取技术联用,对鱼和虾类样品中 4 种雌激素进行了定量分析。

1.7 免疫亲和色谱

免疫亲和色谱(immunoaffinity chromatography, IAC),是以抗原抗体的特异性、可逆性免疫结合反应为基础的柱色谱技术。其原理是将抗体与惰性基质偶联制成固定相,装柱。当待测液流经 IAC 柱时,目标化合物(抗原)与相应抗体选择性结合,杂质则流出 IAC 柱,最后用洗脱液洗脱抗原。该前处理方法对待测物具有高度的选择性和特异性,特别适用于复杂样品基质中痕量组分的净化和富集。Moretti 等^[17]建立了在线免疫亲和净化、高效液相色谱测定牛奶和猪肌肉组织中氯霉素的方法。Luo 等^[18]利用免疫亲和色谱净化技术建立了同时测定猪肌肉中甲砒霉素、氟苯

尼考和氟苯尼考胺的高效液相色谱方法。Lawrence 等^[19]则将免疫亲和色谱净化技术应用于牛肝和肌肉组织中克伦特罗的测定。

1.8 液体加压萃取

加压液体萃取(pressurized liquid extraction, PLE),又称为加速溶剂萃取(ASE)是在较高的温度和压力下用有机溶剂萃取固体或半固体的样品前处理方法。它通过升高温度和增加压力来提高物质溶解度和溶质扩散效率,以达到提高萃取效率的目的。与其他溶剂萃取技术相比,PLE 具有快速、有机溶剂用量少、自动化程度高、基体影响小、系统密闭减少溶剂挥发对人体危害等优点。Yu 等^[20]采用 PLE 结合 LC 及 LC-MS/MS 定量测定并定性确证了动物源性食品中的 18 种磺胺类药物残留。Carretero 等^[21]建立了 PLE 结合 LC-MS/MS 的多残留检测方法,用于分析肉类样品中的 31 种抗菌类药物,包括 β -内酰胺类、林可酰胺类、大环内酯类、喹诺酮类、磺胺类、四环素类、硝基咪唑类和甲氧苄啶。

1.9 凝胶渗透色谱

凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)是基于体积排阻的分离原理,利用样品中各组分分子大小的不同,进而在凝胶中滞留时间的不同而达到分离目的。由于其步骤简单、操作方便、回收率较高等优点,也被应用于兽药残留的分析。Kaklamanos 等^[22]利用凝胶渗透色谱技术结合 LC-APCI-MS/MS 对动物肾脏脂肪中醋酸甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、美仑孕酮醋酸酯进行了测定。谢维平等^[23]建立了凝胶渗透色谱净化结合高效液相色谱测定鱼肉中己烯雌酚、雌二醇、炔雌醇、炔诺酮和炔诺孕酮等 5 种激素类药物残留的分析方法。

2 测定技术

兽药残留分析由于具有待测物质浓度低,浓度差异大、样品基质复杂,干扰物质多,兽药残留种类及代谢产物多样等特点,要求其测定技术应具有灵敏度高、线性范围宽、特异性强、高通量等特点。目前,对于种类繁多的兽药残留,测定方法的种类也多种多样,根据原理的不同,主要可分为生物学方法和理化方法两大类。

2.1 生物学方法

生物学方法包括免疫分析方法和微生物学分析方法^[2]。

2.1.1 免疫分析法

免疫分析法(immunoassays, IAs)是以抗原与抗体的特异性、可逆性结合反应为基础的分析方法,是一类重要的快速筛选方法。由于兽药的分子量通常较小,一般不具备免疫原性,不能刺激动物机体产生免疫应答,故只能以半抗原形式与分子量大的载体形成人工抗原。以人工抗原免疫动物,使动物产生对该兽药具有特异性的活性物质(即抗体)。将制备好的抗体与待测物(抗原)进行体外反应,进而测定待测物的含量。IAs有很高的选择性、前处理简单、灵敏度高,故在快速筛选大批量样品中的兽药残留方面有很好的应用前景。目前,根据标记物及检测体系的不同,IAs可分为酶免疫测定法、荧光免疫测定法、胶体金免疫测定法、流动注射免疫分析、免疫传感器等。

2.1.1.1 酶免疫测定法

酶免疫测定法(enzyme immunoassay, EIA)是在20世纪70年代发展起来、使用酶进行标记的免疫分析方法,它避免了同位素标记的放射性污染和标记物易衰变等问题,且操作方便、仪器简单,在兽药残留分析中得到很快的发展,其中应用最广的是酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)。Cooper等^[24]用ELISA法测定了猪肾中5种镇静剂氮哌醇、氮哌酮、乙酰丙嗪、氯丙嗪、丙酰二甲氨基丙吩噻嗪和 β 阻断剂卡拉洛尔含量。Jeon等^[25]用生物素-亲和素ELISA法测定了牛奶中的四环素类药物残留。Cliquet等^[26]检测了猪组织中的磺胺氯吡嗪残留。而商品化的ELISA试剂盒因其在灵敏度、稳定性、精密度等方面都达到了兽药残留检测的要求,且操作简单、成本适中,已成为国内外兽药残留快速筛选的主流技术。

2.1.1.2 荧光免疫测定法

荧光免疫测定法(fluoroimmunoassay, FIA)是使用荧光物质或潜荧光物质作为标记物的免疫分析法。采用普通光激发荧光物质,由于背景干扰较大等原因,灵敏度不高。而近年来荧光偏振免疫测定法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)、荧光淬灭免疫测定法(fluorescence quenching immunoassay, FQIA)和时间分辨荧光免疫测定法(time-resolved fluoroimmunoassay, TrFIA)的出现,大大地提高了FIA的灵敏

度,使其在兽药残留分析中得到迅速发展。Chun等^[27]采用荧光偏振免疫法测定了玉米中玉米赤霉烯酮。Bacigalupo等^[28]用时间分辨荧光免疫法测定了不同脂肪含量的牛奶样品中氨苄青霉素。

2.1.1.3 胶体金免疫测定法

胶体金免疫测定法(colloidal gold immunoassay, CGIA)是一种利用胶体金颗粒作为标记物的、简单快速的免疫分析方法。其原理是将人工合成的抗原先固定于条状纤维层析材料(试纸条)上,胶体金标记试剂(抗体或单克隆抗体)吸附在结合垫上,当样品溶液加到试纸条一端的样本垫上后,借助毛细作用在试纸条上泳动,样品中的待测物与人工合成的抗原竞争结合胶体金标记的抗体,并能以颜色直观显示检测结果。该方法灵敏度高,操作快速方便,结果易于判断。Chen等^[29]利用胶体金免疫法检测了猪组织中卡那霉素和妥布霉素。Jiang等^[30]则用该方法检测了动物组织中的19-去甲睾酮残留。

2.1.1.4 免疫传感器

免疫传感器是一种新兴的生物传感器,它将传统的免疫分析与生物传感技术相结合,特异性强、灵敏度和精确度高、检测时间短、操作简单、自动化程度高,可在兽药残留快速筛选方面发挥重要作用。其原理是传感器的生物敏感层与样品中的目标化合物之间发生抗原(抗体)对抗体(抗原)的识别作用,产生一些物理化学变化,这些变化通过不同原理的传感器转换成电信号或其他形式的信息输出并记录。Samsonova等^[31]采用光学免疫传感器测定了牛肝中的伊维菌素。Thompson等^[32]利用光学免疫传感器发展了多种动物性食品基质中硝基咪唑类药物的多残留测定方法。Karaseva等^[33]则用压电免疫传感器进行了肉、蛋、奶、蜂蜜等食品中氯霉素的检测。

2.1.2 微生物学分析法

用于兽药残留分析的微生物学方法主要包括微生物抑制法和放射受体分析法。

2.1.2.1 微生物抑制法

微生物抑制法是一种较为传统的测定抗微生物药物的分析方法,它根据抗微生物药物对微生物生理机能、代谢的抑制作用,来定性或定量分析样品中的残留量。微生物抑制法包括棉签法(又称现场拭子法)、杯碟法、纸片法等,由于它操作简便、价格低廉、不需复杂的样品前处理等优点,在动物性食品兽

药残留的初筛中得到广泛应用。但因其易受样品基质和其它药物干扰, 灵敏度和特异性较差, 其在定量分析中应用受到局限。王立平等^[34]建立了用微生物抑制法快速检测乳中舒巴坦残留的方法。王志强等^[35]采用微生物抑制纸片法快速检测了动物源性食品中 15 种抗生素残留。

2.1.2.2 放射受体分析法

放射受体分析法是基于受体与配体的特异性结合的分析方法, 其中的 Charm II 测试法已成为一种商品化的药物残留快速筛选法, 广泛用于动物源性食品中四环素类、磺胺类、大环内脂类、 β -内酰胺、氨基糖苷类及氯霉素类等抗生素的分析。其原理是样品中的待测物与放射性标记的抗生素竞争结合微生物表面的特定受体, 与受体结合的标记物通过液体闪烁计数器或其它专用分析器测定。Mor 等^[36]用 Charm II 测试法对畜肉中磺胺类药物残留进行了测定并用高压液相色谱荧光检测法(HPLC-FLD)进行了确证。Al-Mazeedi 等^[37]利用 Charm II 测试法对 1517 份动物源性食品样品的四环素类药物残留进行了快速筛选, 并用 LC-MS/MS 对阳性样品和疑似阳性样品进行了确证。

2.2 理化方法

相比与生物学分析方法, 理化分析方法对样品的前处理要求较高, 但由于其具有灵敏度高、定量准确等优点, 特别是色谱技术及联用技术对于多种残留同时监测的分离分析能力, 使其仍是当今兽药残留检测的主流方法。

2.2.1 气相色谱

气相色谱(gas chromatography, GC)具有分析速度快、分离效率高, 灵敏度高、稳定性好等诸多优点, 检测限一般可达到 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级, 常用于复杂样品的痕量分析。但由于大多数兽药是极性和沸点较高的化合物, 因此用 GC 法检测前必须进行衍生化, 操作较为繁琐, 这限制了 GC 在兽药分析中的应用。Gude 等^[38]将猪肌肉、肝脏、肾脏及尿液样品先经免疫亲和色谱纯化后, 用 TMSCl 和 HMDS 作硅烷化试剂进行衍生, 最后用带电子捕获检测器(ECD)的气相色谱仪检测了样品中氯霉素残留量。

2.2.2 高压液相色谱

高压液相色谱(high pressure liquid chromatography, HPLC)与气相色谱相比, 适用于极性大、沸点高

的化合物的分离分析, 因此可直接应用于具有此特征的兽药的分析中。根据待测物性质的不同, HPLC 有多种检测器可供选择, 包括最常用的紫外检测器, 以及荧光检测器(FLD)、电化学检测器(ECD)、化学发光检测器(CLD)、二极管阵列检测器(DAD)等, 这也使 HPLC 在多类兽药的残留分析中都有很好的应用。García-Mayor 等^[39]采用 HPLC-DAD 法进行了羊奶中大环内脂类抗生素多残留检测。Stoev 等^[40]建立了测定动物源性食品中磺胺类药物残留的 HPLC-FLD 法。Li 等^[41]采用高压液相色谱电化学发光法测定了牛奶中氟喹诺酮类药物残留。

2.2.3 色谱-质谱联用

色谱-质谱联用技术将色谱的高效分离能力和质谱的高灵敏度、强大的定性能力相结合, 成为目前兽药残留分析领域中最强大的分析手段, 最有力的定性定量工具。主要包括气相色谱-质谱联用(GC-MS)和液相色谱-质谱联用(LC-MS)。GC-MS 因不适合分析沸点高、极性大、热不稳定的化合物, 进行兽药残留分析前通常需衍生化, 步骤较繁琐, 这使 GC-MS 在兽药分析中的应用大大受限, 不及 LC-MS 应用广泛。目前 LC-MS 已被报道应用在磺胺类、四环素类、大环内酯类、阿维菌素类、 β -内酰胺类、氨基糖苷类、氯霉素类、喹诺酮类、硝基咪唑类、激素类、 β -受体激动剂、苯并咪唑类、三嗪类等几乎所有种类的兽药残留分析中。Shao 等^[42]用 LC-MS/MS 对猪肝脏、肾脏和肌肉中 16 种 β -受体激动剂进行了多残留检测。Yang 等^[43]用 LC-MS/MS 同时测定了动物肌肉、肝脏及奶中 50 种甾类同化激素残留。Zhang 等^[44]则采用该方法对动物组织中的 19 种 β -阻断剂和 11 种镇静剂进行了多残留分析。

2.2.4 薄层色谱

薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)是一种简便、快速的传统色谱分析方法, 它可同时测定多个样品、分析成本低, 但重现性不好、灵敏度及分辨率不及 GC 和 HPLC, 使它在兽药多残留分析中的应用受到限制。而高效薄层色谱(HPTLC)的出现使 TLC 开始复兴, 极大地提高了灵敏度、分辨率及重现性, 拓宽了其在兽药残留分析中的适用范围。Choma 等^[45]采用 TLC 测定牛奶中的氟甲喹和强力霉素。Xie 等^[46]建立了测定强力霉素、四环素和土霉素的薄层光密度扫描法。Gaugain 等^[47]则采用 HPTLC 测定了猪肉及

禽类组织中的3种硝基咪唑类药物残留。

2.2.5 毛细管电泳

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)是根据不同组分在高压电场的作用下迁移速率的不同而实现各组分分离的现代分析技术。根据分离模式不同,可分为毛细管区带电泳、毛细管凝胶电泳、毛细管等速电泳、毛细管等电聚焦、胶束电动毛细管色谱等。毛细管电泳分离效果好,分析速度快,样品用量少,但灵敏度不够高。而近年发展起来的毛细管电泳质谱联用(CE-MS)技术,大大提高了检测的灵敏度,使毛细管电泳在兽药残留分析得到更广泛的应用。Yu等^[48]采用毛细管电泳-激光诱导荧光法检测了牛奶中卡那霉素A、丁胺卡那霉素、妥布霉素残留量。Wang等^[49]采用毛细管电泳-电化学法测定了猪饲料、猪尿和猪肝中5种 β -受体激动剂。Santos等^[50]则用毛细管电泳质谱联用技术对牛奶中6种磺胺类药物残留量进行了测定。

3 展望

公众对食品安全关注度的提升,以及国际贸易对食品安全要求的日益严格,给兽药残留分析技术提出了更高的要求,也带来了发展的契机。而现代分析技术的迅速发展则为兽药残留检测方法的建立和改进提供了基本的技术保证,新的分析手段的出现及多种分析手段的互补性应用正逐步解决兽药残留分析中基质复杂、兽药种类多、含量低等诸多难点问题。目前,各国对于兽药残留监控管理不断加强,对数据的准确性要求越来越高,监测范围及样本量也越来越大,这都要求兽药残留检测技术进一步发展以满足其需要。而兽药残留检测技术的发展方向主要可概括为:(1)更高的灵敏度、更低的检出限和定量限;(2)高通量:单位时间内分析更多样品;(3)多残留:同时测定多种兽药残留;(4)更高的选择性、特异性和抗干扰能力;(5)分析仪器更自动化、微型化,前处理和测定的一体化;(6)更多联用技术的发展;(7)减少污染、实现环境友好。可见,兽药残留分析技术尚有巨大的发展空间,需要更多学者加入该领域研究,不断致力于兽药残留筛选、定量、确证三个层面分析方法的开发和应用。

参考文献

- [1] 吴永宁, 邵兵, 沈建忠. 兽药残留检测与监控技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [2] 岳振峰. 食品中兽药残留检测指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [3] Yue ZF. Detection guide of veterinary drug residues in food [M]. Beijing: Standards Press of China, 2010.
- [3] Cai Z, Zhang Y, Pan H, *et al.* Simultaneous determination of 24 sulfonamide residues in meat by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1200: 144-155.
- [4] Rübensam G, Barreto F, Hoff RB, *et al.* A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 705: 24-29.
- [5] Bailac S, Ballesteros O, Jiménez-Lozano E, *et al.* Determination of quinolones in chicken tissues by liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1029: 145-151.
- [6] Sun HW, Wang FC, Ai LF. Simultaneous determination of seven nitroimidazole residues in meat by using HPLC-UV detection with solid-phase extraction [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 857: 296-300.
- [7] Lu KH, Chen CY, Lee MR. Trace determination of sulfonamides residues in meat with a combination of solid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2007, 72: 1082-1087.
- [8] Zheng MM, Ruan GD, Feng YQ. Evaluating polymer monolith in-tube solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry for reliable quantification and confirmation of quinolone antibacterials in edible animal food [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 7510-7519.
- [9] Barker SA, Long AR, Short CR. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion [J]. *J Chromatogr A*, 1989, 475: 353-361.
- [10] García-Mayor MA, Gallego-Picó A, Garcinuño RM, *et al.* Matrix solid-phase dispersion method for the determination of macrolide antibiotics in sheep's milk [J]. *Food Chem*, 2012, 134: 553-558.
- [11] Yang Y, Shao B, Zhang J, *et al.* Analysis of eight free progestogens in eggs by matrix solid-phase dispersion extraction and very high pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 870: 241-246.
- [12] Danaher M, O'Keefe M, Glennon JD. Extraction and isolation of avermectins and milbemycins from liver samples using

- unmodified supercritical CO₂ with in-line trapping on basic alumina [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 761:115–123.
- [13] Jimenez-Carmona MM, Tena MT, Luque de Castro MD. Ion-pair-supercritical fluid extraction of clenbuterol from food samples [J]. *J Chromatogr A*, 1995, 711: 269–276.
- [14] Quesada-Molina C, Claude B, García-Campaña AM, *et al.* Convenient solid phase extraction of cephalosporins in milk using a molecularly imprinted polymer [J]. *Food Chem*, 2012, 135: 775–779.
- [15] Shi Y, Peng DD, Shi CH, *et al.* Selective determination of trace 17 β -estradiol in dairy and meat samples by molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC [J]. *Food Chem*, 2011, 126: 1916–1925.
- [16] Hu Y, Wang Y, Chen X, *et al.* A novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber coupled with high performance liquid chromatography for analysis of trace estrogens in fishery samples [J]. *Talanta*, 2010, 80: 2099–2105.
- [17] Moretti VM, van de Water C, Haagsma N. Automated high-performance liquid chromatographic determination of chloramphenicol in milk and swine muscle tissue using on-line immunoaffinity sample clean-up [J]. *J Chromatogr B*, 1992, 583: 77–82.
- [18] Luo P, Chen X, Liang C, *et al.* Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in swine muscle by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with immunoaffinity chromatography clean-up [J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878: 207–212.
- [19] Lawrence JF, Ménard C. Determination of clenbuterol in beef liver and muscle tissue using immunoaffinity chromatographic cleanup and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 696: 291–297.
- [20] Yu H, Tao Y, Chen D, *et al.* Development of a high performance liquid chromatography method and a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method with the pressurized liquid extraction for the quantification and confirmation of sulfonamides in the foods of animal origin [J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879: 2653–2662.
- [21] Carretero V, Blasco C, Picó Y. Multi-class determination of antimicrobials in meat by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1209: 162–173.
- [22] Kaklamanos G, Theodoridis G, Dabalís T. Gel permeation chromatography clean-up for the determination of gestagens in kidney fat by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and validation according to 2002/657/EC [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 8067–8071.
- [23] 谢维平, 欧阳燕玲, 黄盈煜, 等. 凝胶渗透色谱净化-高效液相色谱法测定鱼肉中的 5 种激素类药物残留[J]. *色谱*, 2010, 28(4): 388–392.
- Xie WP, Ouyang YL, Huang YY, *et al.* Determination of five hormone drug residues in fish tissue by high performance liquid chromatography with gel permeation chromatographic clean-up [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(4): 388–392.
- [24] Cooper J, Delahaut P, Fodey TL, *et al.* Development of a rapid screening test for veterinary sedatives and the beta-blocker carazolol in porcine kidney by ELISA [J]. *Analyst*, 2004, 129: 169–174.
- [25] Jeon M, Kim J, Paeng KJ, *et al.* Biotin–avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk [J]. *Microchem J*, 2008, 88: 26–31.
- [26] Cliquet P, Cox E, Haasnoot W, *et al.* Extraction procedure for sulfachloropyridazine in porcine tissues and detection in a sulfonamide-specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 494: 21–28.
- [27] Chun HS, Choi EH, Chang HJ, *et al.* A fluorescence polarization immunoassay for the detection of zearalenone in corn [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 639: 83–89.
- [28] Bacigalupo MA, Meroni G, Secundo F, *et al.* Time-resolved fluoroimmunoassay for quantitative determination of ampicillin in cow milk samples with different fat contents [J]. *Talanta*, 2008, 77: 126–130.
- [29] Chen Y, Wang Z, Wang Z, *et al.* Rapid enzyme-linked immunosorbent assay and colloidal gold immunoassay for kanamycin and tobramycin in swine tissues [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 2944–2952.
- [30] Jiang J, Wang Z, Zhang H, *et al.* Monoclonal antibody-based ELISA and colloidal gold immunoassay for detecting 19-nortestosterone residue in animal tissues [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59: 9763–9769.
- [31] Samsonova JV, Baxter GA, Crooks SRH, *et al.* Determination of ivermectin in bovine liver by optical immunobiosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2002, 17: 523–529.
- [32] Thompson CS, Traynor IM, Fodey TL, *et al.* Improved screening method for the detection of a range of nitroimidazoles in various matrices by optical biosensor [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 637: 259–264.
- [33] Karaseva NA, Ermolaeva TN. A piezoelectric immunosensor for chloramphenicol detection in food [J]. *Talanta*, 2012, 93: 44–48.
- [34] 王立平, 蔡雪凤, 侯翠艳. 微生物抑制法检测乳中舒巴坦含量的研究[J]. *食品科技*, 2010, 35(6): 304–306.
- Wang LP, Cai XF, Hou CY. Study on microbial inhibition assay of sulbactam in milk [J]. *Food Sci Technol*, 2010, 35(6): 304–306.

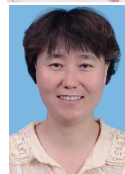
- [35] 王志强, 胡国媛, 李志勇, 等. 微生物抑制法快速检测动物源性食品多种抗生素残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(9): 1732-1734.
Wang ZQ, Hu GY, Li ZY, *et al.* Rapid determination of antibiotics residues in animal derived food by microbial inhibition method [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(9): 1732-1734.
- [36] Mor F, Kocasari FS, Ozdemir G, *et al.* Determination of sulfonamide residues in cattle meats by the Charm-II system and validation with high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Food Chem, 2012, 134: 1645-1649.
- [37] Al-Mazeedi HM, Abbas AB, Alomirah HF, *et al.* Screening for tetracycline residues in food products of animal origin in the State of Kuwait using Charm II radio-immunoassay and LC/MS/MS methods [J]. Food Addit Contam A, 2010, 27, 291-301.
- [38] Gude T, Preiss A, Rubach K. Determination of chloramphenicol in muscle, liver, kidney and urine of pigs by means of immunofluorescence chromatography and gas chromatography with electron-capture detection [J]. J Chromatogr B, 1995, 673: 197-204.
- [39] García-Mayor MA, Garcinuño RM, Fernández-Hernando P, *et al.* Liquid chromatography-UV diode-array detection method for multi-residue determination of macrolide antibiotics in sheep's milk [J]. J Chromatogr A, 2006, 1122: 76-83.
- [40] Stoev G, Michailova A. Quantitative determination of sulfonamide residues in foods of animal origin by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. J Chromatogr A, 2000, 871: 37-42.
- [41] Li Y, Zhang Z, Li J, *et al.* Simple, stable and sensitive electro-generated chemiluminescence detector for high-performance liquid chromatography and its application in direct determination of multiple fluoroquinolone residues in milk [J]. Talanta, 2011, 84: 690-695.
- [42] Shao B, Jia X, Zhang J, *et al.* Multi-residual analysis of 16 β -agonists in pig liver, kidney and muscle by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2009, 114: 1115-1121.
- [43] Yang Y, Shao B, Zhang J, *et al.* Determination of the residues of 50 anabolic hormones in muscle, milk and liver by very-high-pressure liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2009, 877: 489-496.
- [44] Zhang J, Shao B, Yin J, *et al.* Simultaneous detection of residues of β -adrenergic receptor blockers and sedatives in animal tissues by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2009, 877: 1915-1922.
- [45] Choma I, Grenda D, Malinowska I, *et al.* Determination of flumequine and doxycycline in milk by a simple thin-layer chromatographic method [J]. J Chromatogr B, 1999, 734: 7-14.
- [46] Xie HZ, Dong C, Fen YL, *et al.* Determination of doxycycline, tetracycline and oxytetracycline simultaneously by TLC-fluorescence scanning densitometry [J]. Anal Lett, 1997, 30: 79-90.
- [47] Gaugain M, Abjean JP. High-performance thin-layer chromatographic method for the fluorescence detection of three nitroimidazole residues in pork and poultry tissue [J]. J Chromatogr A, 1996, 737: 343-346.
- [48] Yu CZ, He YZ, Fu GN, *et al.* Determination of kanamycin A, amikacin and tobramycin residues in milk by capillary zone electrophoresis with post-column derivatization and laser-induced fluorescence detection [J]. J Chromatogr B, 2009, 887: 333-338.
- [49] Wang W, Zhang Y, Wang J, *et al.* Determination of β -agonists in pig feed, pig urine and pig liver using capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. Meat Sci, 2010, 85: 302-305.
- [50] Santos B, Lista A, Simonet BM, *et al.* Screening and analytical confirmation of sulfonamide residues in milk by capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. Electrophoresis, 2005, 26: 1567-1575.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



高洁, 硕士, 研究实习员, 主要研究方向为食品安全理化检测与研究。
E-mail: gaojie0407@gmail.com



苗虹, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全理化检测与研究。
E-mail: miaohong0827@163.com