

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.04.13

氯霉素类检测前处理方法和残留现状探讨 ——以湖南某市畜禽肉为例

李洪权¹, 周 熙¹, 宋忠祥², 付浩华², 陈珉珉¹, 唐小鹏^{1*}

(1. 株洲市食品药品检验所, 湖南株洲 412000; 2. 湖南唐人神肉制品有限公司, 湖南株洲 412002)

[收稿日期] 2019-09-17 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 04-0077-09 [中图分类号] S859.84

[摘 要] 确定畜禽肉氯霉素类残留量测定方法中最佳前处理方法, 初步得出氯霉素类残留现状。基于已报道方法进行前处理方法比较; 用新建立的 UPLC-MS/MS 方法对不同品种、月份和区域样本进行含量测定; 借助 Excel 2010 和 SPSS 18.0 对测定结果进行整理和两两比较分析。前处理方法比较研究中, 最佳提取溶剂为乙腈, 且无需过柱净化; 检测结果中, 氯霉素为未检出, 氟苯尼考检出率为 16.1%, 且 63.3% 的样品检出值为 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 残留现状分析中, 3、4、5 月, 猪肉和鸡肉, 东区 and 西区残留最为严重。新复极差法分析显示两两间比较并无显著性差异 ($P>0.05$)。本实验方法简便可靠, 可用于畜禽肌肉组织中氯霉素类残留量的检测, 残留现状分析对监督者具有指导作用。

[关键词] 畜禽肉; 氯霉素类; 前处理方法

Discussion of Determination Pretreatment Method and Residues of Chloramphenicols—Taking Livestock and Poultry Meat Collected from a City in Hunan Province as Examples

LI Hong-quan¹, ZHOU Xi¹, SONG Zhong-xiang², FU Hao-hua², CHEN Min-min¹, TANG Xiao-peng^{1*}

(1. Zhuzhou Institute for Food and Drug Control, Zhuzhou, Hunan 412000, China;

2. The Hunan Tang Ren Shen Meat Product Limited Company, Zhuzhou, Hunan 412002, China)

Corresponding author: TANG Xiao-peng, E-mail: 3300241837@qq.com

Abstract: To determine the best pretreatment method for determination of chloramphenicols and obtain the rule of residues in muscle tissue of livestock and poultry. The best pretreatment method was obtained based on the comparison of published methods. The newly established UPLC-MS/MS method was used to test the content of chloramphenicols in samples which were classified based on different form included varieties, months and regions. The results were sored out and compared with each other by Excel 2010 and SPSS 18.0. As a result, the best

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2016YFD0401500); 中式传统肉制品绿色制造关键技术与装备研发及示范

作者简介: 李洪权, 初级药师, 从事食品药品质量安全及检测研究。

通讯作者: 唐小鹏。E-mail: 3300241837@qq.com

extraction solvent was acetonitrile, and the column purification was not necessary. The determination results showed that chloramphenicol did not have been detected with the detection rate of 16.1% of the florfenicol, and the detection value of the florfenicol in 63.3% samples was between 0.1 μg/kg and 1.0 μg/kg. Analysis of the situation of residues showed that the degree of residual of the pork and chicken, eastern and west district and the month included March, April and May were the highest. There was no significant difference ($P > 0.05$) among these results based on the analysis result of Duncan'S. At last, this method was simple and reliable, and could be used for the detection of chloramphenicol's residues in muscular tissue of livestock and poultry. Moreover, analysis of the situation of residues showed a strong guiding effect for the regulator.

Key words: livestock and poultry; chloramphenicol; pretreatment method

由于畜禽易发生群体细菌性疾病^[1],因此,为降低发病率,氯霉素类药物被不合理使用的频率也相应增加^[2-3]。但是由于氯霉素可引发再生障碍性贫血^[4];氟苯尼考则本身作为兽药,不用于对人疾病的治疗。我国农业部 193/235 号公告因此而把氯霉素列为畜禽禁用药物,并限定氟苯尼考最高残留量^[5-6]。目前畜禽肉中氯霉素类残留检测方法已报道多种^[7],但被纳入国标(GB)作为法定方法的仅有气相色谱-串联质谱法和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[8-9],而后者常作为检测者的首选方式。本实验组在长期使用后者方法的同时参考多篇文献^[10-15],整理发现,这些方法的前处理步骤可归纳为乙腈/碱化乙酸乙酯提取,正己烷去油脂,浓缩液固相萃取小柱净化三步法。但又有所争议,主要包含两点:提取溶剂的选择,乙腈和碱化乙酸乙酯哪种更好,是否需要经过固相萃取柱净化处理。畜禽群体细菌性疾病的发病还有地域^[16]、季节^[17-18]等差异,养殖户也可能存在针对性用药。这些畜禽肉中氯霉素类药物残留是否相

对应的也存在规律,值得探讨。因此,实验组拟开展两大争议点比较研究,并对不同月份、种类以及区域的样品进行测定和残留规律分析。

1 仪器与试药

1.1 仪器 离心机(ST16R,赛默飞世尔科技有限公司),旋转蒸发仪(RE-2000B,上海亚荣生化仪器厂),电子天平(XSE 205DV,梅特勒托利多仪器有限公司),三重四级杆质谱(QTRAP 4500,上海爱博才思分析仪器有限公司)。

1.2 标准品和试剂 氯霉素标准品(纯度99.8%,批号 130555-201203)、氟苯尼考标准品(纯度99.0%,批号 C13665000)、氯霉素-D₅标准品(纯度99.0%,批号 50804AC)均从 Dr. Ehrenstorfer 公司采购。乙腈、甲醇和正己烷(色谱纯,霍尼韦尔有限公司)。

1.3 样品 畜禽肉均从养殖基地、农贸市场以及大型连锁超市采集并置于-18℃冰箱冷冻储存,涉及的畜禽种类包括猪、牛、鸡、鸭(表1)。

表 1 畜禽肉样品信息

Tab 1 The information of livestock and poultry samples

样品名称	采集月份	采集地区
鸡肉	3月2批次,4月22批次,5月42批次,6月39批次,7月19批次,8、9、10月各4批次,11月13批次,12月19批次,合计168批次	北区2批次,东区67批次,南区55批次,西区40批次,县区4批次
鸭肉	3月4批次,4月18批次,5月17批次,6月11批次,7月9批次,8月3批次,9月3批次,10月4批次,11月8批次,12月7批次,合计84批次	北区5批次,东区33批次,南区21批次,西区13批次,县区12批次
猪肉	3月18批次,4月23批次,5月4批次,7月4批次,8月7批次,9月7批次,10月1批次,11月1批次,12月3批次,合计62批次	北区6批次,东区20批次,南区10批次,西区14批次,县区12批次
牛肉	3月15批次,4月6批次,5月3批次,6月10批次,7月9批次,8月3批次,9月6批次,10月6批次,合计58批次	北区5批次,东区8批次,南区26批次,西区5批次,县区14批次

2 方法与结果^[8-9]

2.1 LC-MS/MS 方法建立 色谱: Welch Xtimate C18 色谱柱(2.1 mm×150 mm,5 μm),流动相:水-乙腈(45:55),流速:0.5 mL/min。柱温:30℃,进样量:5 μL。

质谱:电喷雾电离源(ESI),负离子扫描,多反应监测(multiple reaction monitoring,MRM),离子源温度:550℃,电喷雾电压:-4500 V,气帘气:35.0 psi,离子源气 1:55 psi,离子源气 2:55 psi,碰撞气:氩气。其他质谱参数见表 2。

表 2 氯霉素类化合物质谱优化参数

Tab 2 The optimized mass parameters of chloramphenicols				
化合物名称	离子对(<i>m/z</i>) (母离子/子离子)	碰撞 能量/V	去簇 电压/V	保留 时间/min
氯霉素	320.9/151.9*	-22	-66	5.12
	320.9/256.9	-16	-66	
氟苯尼考	356.0/336.0*	-12	-69	5.14
	356.0/185.0	-22	-71	
氯霉素-D ₅	326.1/157.0*	-21	-67	5.09
	326.1/262.0	-15	-70	

2.2 样品制备方法比较

2.2.1 制备方法一 提取:称取试样 2.5 g(精密称定),置于 50 mL 离心管中,加入 2.0 ng 氯霉素-D₅和 5 mL 碱化乙酸乙酯,匀浆 1 min,涡旋 5 min,超声 30 min,离心(7000 r/min)5 min。提取 2 次,合并上清液至另一 50 mL 离心管,氮气吹干,3 mL 丙酮-正己烷溶解残渣。净化:用 3 mL 丙酮-正己烷淋洗 LC-Si 硅胶小柱,弃去淋洗液,将上述残渣溶解溶液转移到固相萃取小柱上,弃去流出液,用 5 mL 丙酮-正己烷洗脱,收集洗脱液于心形瓶中,40℃水浴旋转蒸发至近干,氮气吹干,用 1 mL 水定容,加入 1 mL 乙腈饱和正己烷,涡旋 1 min,离心(7000 r/min)5 min。吸取水层液过 0.22 μm 滤膜至进样瓶,待测定。

2.2.2 制备方法二 提取:称取试样 2.5 g(精密称定),置于 50 mL 离心管中,加入 2.0 ng 氯霉素-D₅和 5 mL 乙腈,匀浆 1 min,涡旋 5 min,超声 30 min,离心(7000 r/min)5 min。提取 2 次,合并上清

液至另一 50 mL 离心管,加入 10 mL 乙腈饱和正己烷,涡旋 5 min,离心 5 min,弃去上层液,下层液转移至 15 mL 离心管中,氮气吹干,3 mL 丙酮-正己烷溶解残渣。净化:同 2.2.1 项中净化步骤。

2.2.3 制备方法三 省去 2.2.2 项中固相萃取柱净化步骤,改为“氮气吹干,用 1 mL 水定容,加入 1 mL 乙腈饱和正己烷,涡旋 1 min,离心(7000 r/min)5 min。吸取水层液过 0.22 μm 滤膜至进样瓶,待测定”。

2.3 标准溶液和标准曲线的制备 标准溶液:分别精密称取一定质量氯霉素和氟苯尼考,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含氯霉素 13 μg 和氟苯尼考 20 μg 的混合标准溶液。并逐级稀释成含氯霉素-D₅1.0 ng 的浓度分别为 0.13,0.65,1.30,6.50,13.00,26.00 ng/mL 氯霉素和浓度分别为 0.20,1.00,2.00,10.00,20.00,40.00 ng/mL 氟苯尼考混合标准溶液。

标准曲线:将各个浓度的溶液进样 5 μL 进行 LC-MS/MS 分析。以氯霉素和氯霉素-D₅质量浓度比值为横坐标,质量峰面积比值为纵坐标,计算标准曲线,得氯霉素方程为 $Y = 2.77177X + 5.11 \times e^{-3}$, $R = 0.99956$,线性范围为 0.13~26.00 ng/mL;同法得氟苯尼考方程为 $Y = 1.27634X + 8.4405 \times e^{-4}$, $R = 0.99968$,线性范围为 0.20~40.00 ng/mL。

2.4 方法学验证^[19]

2.4.1 精密度试验 取同一对照品溶液,按 2.1 项色谱质谱条件进行测定,重复 5 次测定氯霉素和氟苯尼考峰面积,两者峰面积 RSD(相对标准偏差)分别为 0.21%、0.27%,均小于 2%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取对照品溶液及供试品溶液,于室温分别放置 0,2,4,8,10,16,20,24 h,按 2.1 项色谱质谱条件进行氯霉素和氟苯尼考峰面积测定,对照品中两者峰面积 RSD 分别为 0.77%、0.90%,供试品两者峰面积 RSD 分别为 0.66%、0.96%,均小于 2%,表明对照品及供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 精密称取同一批畜禽肉样品

6 份,按 2.2 项中比较后最佳前处理方法处理并按 2.1 项方法进行氯霉素和氟苯尼考峰面积测定,并分别计算 *RSD*。重复性试验:氯霉素和氟苯尼考峰面积 *RSD* 分别为 1.12%、1.03%,表明本实验方法重复性良好。

2.4.4 加标回收 分别精密称取同一批次的畜禽

表 3 畜禽肉中氯霉素类添加回收试验结果 (n=6)

Tab 3 The recovery of chloramphenicol from livestock and poultry meat (n=6)											
序号	取样量 /g	氯霉素					氟苯尼考				
		加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	平均回 收率/%	<i>RSD</i> /%	加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	平均回 收率/%	<i>RSD</i> /%
1	2.5	1.3	1.2584	96.80	95.15	1.31	2.0	1.9068	95.34	94.69	1.50
2	2.5	1.3	1.2155	93.50			2.0	1.9308	96.54		
3	2.5	1.3	1.2390	95.31			2.0	1.8846	94.23		
4	2.5	1.3	1.2300	94.62			2.0	1.8468	92.34		
5	2.5	1.3	1.2268	94.37			2.0	1.8872	94.36		
6	2.5	1.3	1.2523	96.33			2.0	1.9068	95.34		

2.4.5 检出限和定量限 根据限量要求,对畜禽肉加标回收试验,当添加氯霉素为某一浓度,定量离子信噪比 $S/N=3\pm0.3$,此时检出量为检出限;当添加氯霉素为某一浓度,定量离子信噪比 $S/N=10\pm1$,此时检出量为定量限。同法测定氟苯尼考检出限和定量限。结果表明,当添加氯霉素浓度为 $0.065\text{ }\mu\text{g/kg}$ 时,定量离子信噪比 $S/N=3.2$,当添加浓度为 $0.2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 时,定量离子信噪比 $S/N=10.2$,得氯霉素的检出限和定量限分别为 0.065 和

肉末,精密称取 2.5 g ,称取 6 份,每份精密加入氯霉素和氟苯尼考混标溶液(氯霉素: 0.13 mg/mL ,氟苯尼考: 0.20 mg/mL)。按 2.2 项中比较后最佳前处理方法处理并按 2.1 项方法进行测定计算回收率,并分别计算回收的 *RSD*,结果如表 3 所示。

$0.2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。同法得氟苯尼考检出限和定量限分别为 0.1 和 $0.3\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。

2.5 残留量测定和数据分析结果 对照品与供试品溶液各进样 $5\text{ }\mu\text{L}$ 进行 LC-MS/MS 分析,试验数据采用 multiquant 软件按内标峰面积法计算氯霉素和氟苯尼考的含量,如表 4 所示。采用 Excel 2010 对数据进行整理和分析,以及 SPSS 18.0 中 Duncan'S 对不同分类参数结果进行两两比较,如表 5 所示。

表 4 样本中氟苯尼考检测结果

Tab 4 Test results of florfenicol in samples									
编号	样品名称	采集月份	采集地点	检出量 /($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	编号	样品名称	采集月份	采集地点	检出量 /($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
1	鸡肉	2018/5	南区	0.0669	31	鸭肉	2018/4	东区	0.2144
2	鸡肉	2018/6	东区	0.0834	32	鸭肉	2018/4	西区	0.2540
3	鸡肉	2018/6	西区	0.0924	33	鸭肉	2018/3	东区	0.2658
4	鸡肉	2018/5	东区	0.1028	34	鸭肉	2018/7	南区	0.3698
5	鸡肉	2018/6	东区	0.1048	35	鸭肉	2018/5	东区	0.4564
6	鸡肉	2018/4	东区	0.1073	36	鸭肉	2018/7	南区	0.6017
7	鸡肉	2018/5	南区	0.1264	37	鸭肉	2017/11	南区	0.8566
8	鸡肉	2018/5	南区	0.1625	38	鸭肉	2018/3	西区	0.8768

续表									
编号	样品名称	采集月份	采集地点	检出量 /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	编号	样品名称	采集月份	采集地点	检出量 /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
9	鸡肉	2018/4	东区	0.1675	39	鸭肉	2018/4	东区	0.8860
10	鸡肉	2018/5	南区	0.1948	40	鸭肉	2018/4	东区	1.0325
11	鸡肉	2018/7	南区	0.1996	41	鸭肉	2018/3	东区	1.1038
12	鸡肉	2018/5	南区	0.2068	42	猪肉	2018/4	东区	0.0923
13	鸡肉	2018/5	东区	0.3416	43	猪肉	2018/4	东区	0.1073
14	鸡肉	2018/3	西区	0.3497	44	猪肉	2018/4	西区	0.1380
15	鸡肉	2018/7	南区	0.3759	45	猪肉	2018/4	南区	0.1550
16	鸡肉	2018/5	南区	0.9294	46	猪肉	2018/3	县区	0.1569
17	鸡肉	2017/9	东区	0.9684	47	猪肉	2018/3	东区	0.1591
18	鸡肉	2018/6	东区	1.1579	48	猪肉	2018/4	南区	0.1604
19	鸡肉	2018/3	东区	1.3011	49	猪肉	2018/4	西区	0.1620
20	鸡肉	2018/5	南区	1.7346	50	猪肉	2018/4	东区	0.1868
21	鸡肉	2018/4	东区	2.7272	51	猪肉	2017/10	东区	0.5242
22	鸡肉	2018/5	东区	3.9467	52	猪肉	2018/3	西区	0.6343
23	鸡肉	2018/4	西区	6.4849	53	猪肉	2018/3	县区	0.8529
24	鸡肉	2017/11	南区	8.3414	54	猪肉	2018/3	东区	0.8974
25	鸡肉	2018/5	东区	32.8210	55	猪肉	2018/3	东区	1.0637
26	鸡肉	2018/4	西区	38.1328	56	猪肉	2018/3	东区	1.8090
27	鸭肉	2018/6	西区	0.0706	57	猪肉	2018/3	东区	19.0294
28	鸭肉	2018/4	县区	0.0945	58	牛肉	2018/3	东区	0.1524
29	鸭肉	2018/4	县区	0.1507	59	牛肉	2017/7	县区	0.6745
30	鸭肉	2018/4	东区	0.1608	60	牛肉	2017/10	西区	15.7894

表 5 不同品种、不同月份、不同区域检出值 Duncan'S 分析结果

Tab 5 Results of Duncan'S analysis of detected values in different varieties, months and regions

因变量			因变量			因变量		
因子	样本量	alpha = 0.05 的子集 第 1 子集(平均值)	因子	样本量	alpha = 0.05 的子集 第 1 子集(平均值)	因子	样本量	alpha = 0.05 的子集 第 1 子集(平均值)
3. 鸭肉	15	0.4930	4. 6 月	6	0.2625	4. 县区	5	0.3859
4. 猪肉	16	1.6330	5. 7 月	5	0.4099	2. 南区	15	0.9655
1. 鸡肉	26	3.8934	1. 3 月	14	2.0466	1. 东区	28	2.5666
2. 牛肉	3	5.5388	2. 4 月	18	2.8504	3. 西区	12	5.2542
			3. 5 月	12	3.4242			
P 值 > 0.05			P 值 > 0.05			P 值 > 0.05		

3 讨论与结论

3.1 前处理方法 实验前期通过比较不同研究者前处理方法差别(表 6),选择从提取溶剂的选择和

是否需经过固相萃取柱净化这两个最关键前处理因素入手,以油脂去除能力和回收率为参考指标确定了最佳提取方案。

3.1.1 提取溶剂选择 基于油脂等杂质的带入差异,比较碱化乙酸乙酯和乙腈两种提取溶剂。经 2.2 项中 2.2.1 和 2.2.2 所述前处理步骤中提取处理后,提取液直接用氮气吹干后对比,相对于乙酸乙酯,乙腈带入油脂更少,如图 1 中 a、b 所示;经 2.2 项中 2.2.1 和 2.2.2 所述前处理步骤处理后,相对于乙酸乙酯,乙腈提取残留的油脂等杂质更少,如图 2 中 c、e 所示;进一步比较经两者前处理步骤处理后回收率的差异,乙腈提取回收率高于乙酸乙酯提取(表 7)。因此,提取溶剂建议选择乙腈。

3.1.2 是否需要经固相萃取柱净化处理 结果显示,经 2.2 项中 2.2.2 和 2.2.3 所述前处理步骤处理后,两者去油效果相当,如图 2 中 d、e 所示。进一步比较两者回收率差异后,发现未经固相萃取柱净化处理的样品回收率相对过柱处理更接近 100%(表 7),这也使得检测值更接近真实值。另外,由于固相萃取技术操作繁琐,以及经丙酮-正己烷溶

液脱液^[8-9],仍然能够带入一部分油脂,净化效果相对于不经过固相萃取处理并不明显。而且,经过过柱前三步处理(乙腈提取,氮吹前后的乙腈饱和正己烷萃取)后,去除油脂能力与过柱相当。因此,建议可不经过柱净化处理。

综上所述,最终确定 2.2.3 制备方法三项为最佳制备方法。

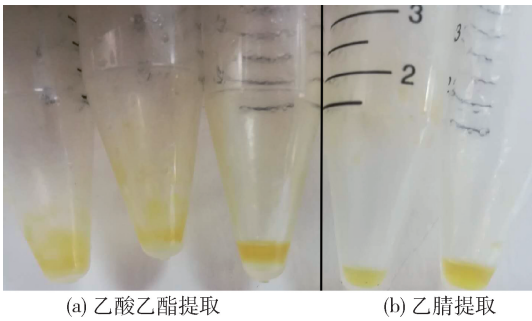


图 1 不同溶剂提取

Fig 1 Extraction with different solvents

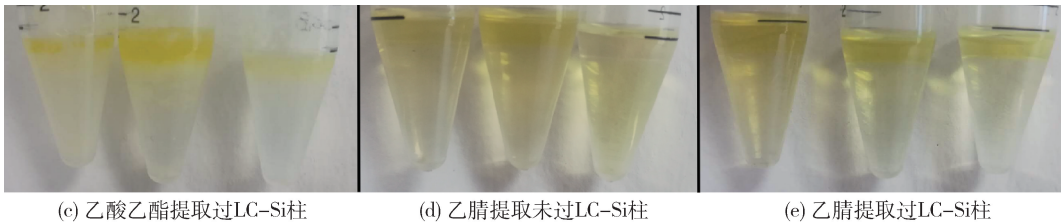


图 2 不同溶剂净化方式

Fig 2 Cleaning methods with different solvent

表 6 畜禽肉前处理报道

Tab 6 Report on pretreatment of livestock and poultry meat

乙酸乙酯(碱化)		乙腈	
作者	理由	作者	理由
潘晓东等 ^[15]	乙酸乙酯提取带入的较多脂类和其他杂质可用正己烷或者固相萃取柱去除。	刘吉成等 ^[11]	乙腈提取,加入 4% NaCl 可减少油脂的带入。
张凤清等 ^[10]	碱化乙酸乙酯提取,经正己烷去脂后无需过净化柱。	张静等 ^[14]	碱化乙酸乙酯提取易引入油脂等杂质,且回收率低 60% - 80%;乙腈提取液较干净,回收率高很多,达到 90% - 110%。
陶昕晨等 ^[12]	2% 碱性乙酸乙酯提取,浓缩定容后直接上机测定,无需固相萃取和液-液萃取脱脂。	柯庆青等 ^[13]	乙酸乙酯提取加标绝对回收率偏低。乙腈提取可减少类弱极性杂质和沉淀蛋白。

表 7 不同前处理方式回收率测定 (n = 10)

Tab 7 The recovery rates of different pretreatment methods (n = 10)

类型编号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值/%	RSD/%
氯霉素	乙腈未过柱	98.6	97.5	94.3	96.4	94.3	92.6	94.5	91.5	94.5	92.3	94.7	2.41
	乙酸乙酯过柱	90.5	85.5	88.6	87.7	84.6	89.2	82.5	84.1	86.4	81.6	86.1	3.42
	乙腈提取过柱	80.2	81.6	83.2	81.5	84.6	81.0	82.1	88.1	86.4	84.3	83.3	3.05
氟苯尼考	乙腈未过柱	98.4	94.6	92.3	94.6	95.3	91.2	97.1	92.6	95.6	94.6	94.6	2.32
	乙酸乙酯过柱	85.6	88.1	90.2	84.6	86.1	82.4	87.3	90.5	88.6	87.5	87.1	2.87
	乙腈提取过柱	70.3	75.6	84.2	83.1	86.1	84.5	88.0	84.9	87.1	85.6	82.9	6.75

3.2 检测结果

3.2.1 检出率分析 本实验对 372 批次的样品进行检验,含氯霉素样品检出 0 批次,含氟苯尼考样品检出 60 批次,检出率为 16.1%,详见表 4。

月份差异。3 月采集样品 39 批次,检出 14 批次;4 月采集样品 69 批次,检出 18 批次;5 月采集样品 66 批次,检出 12 批次;6 月采集样品 60 批次,检出 6 批次;8 月采集样品 17 批次,未检出;9 月采集样品 14 批次,检出 1 批次;10 月采集样品 15 批次,检出 2 批次;11 月采集样品 21 批次,检出 2 批次;12 月采集样品 29 批次,未检出。不同月份检出批次在总 372 批次、所有检出的 60 批次及该月采集批次中占比如图 3 所示。由图 3 可知,根据检出批次在该月中占比的检出率高低排序为 3 月 > 4 月 > 5 月 > 10 月 > 7 月 > 6 月 > 11 月 > 9 月 > 8 月 = 12 月。

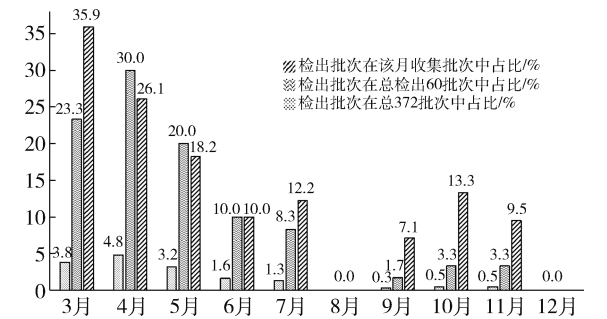


图 3 不同月份氟苯尼考检出率

Fig 3 The detection rate of florfenicol in different months

品种差异。鸡肉采集样品 168 批次,检出 26 批次;牛肉采集样品 58 批次,检出 3 批次;猪肉采集样品 62 批次,检出 16 批次;鸭肉采集样品 84 批

次,检出 15 批次。不同品种的肉在总 372 批次、检出 60 批次及本品种中占比如图 4 所示。由图 4 可知,检出批次在该品种中占比的检出率高低排序为猪肉 > 鸭肉 > 鸡肉 > 牛肉。

区域差异。东区采集样品 128 批次,检出 28 批次;南区采集样品 112 批次,检出 15 批次;西区采集样品 72 批次,检出 12 批次;北区采集样品 18 批次,未检出;县区采集样品 42 批次,检出 5 批次。检出批次在总 372 批次、检出 60 批次及本区域中占比如图 4 所示。由图 4 可知,检出批次在该区域中占比的检出率高低排序为东区 > 西区 > 南区 > 县区 > 北区。

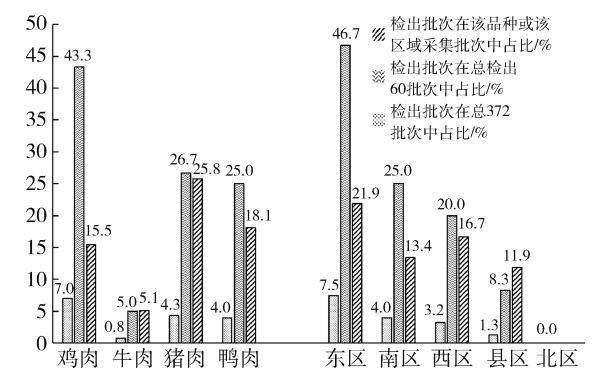


图 4 不同品种和地区氟苯尼考检出率

Fig 4 The detection rate of florfenicol test of different varieties and regional

3.2.2 检出值分析 氟苯尼考检测结果中,含量小于 0.1 μg/kg 有 7 批次,占比 11.7%;含量为 0.1 ~ 1.0 μg/kg 有 38 批次,占比 63.3%,含量大于 1.0 μg/kg 有 15 批次,占比 25%,并且有 5 批次接近或远大于 10.0 μg/kg,如表 4 所示。对检出值的不同

品种、不同月份、不同区域进行 Duncan'S 分析,结果如表 5 所示。

结果显示,不同品种的检出量平均值大小依次排序为牛肉>鸡肉>猪肉>鸭肉,且品种之间进行 Duncan'S 分析,两两比较,无显著性差异($P>0.05$)。另外,不同月份之间为 5 月>4 月>3 月>7 月>6 月,不同区域间为西区>东区>南区>县区,两两比较,均无显著性差异($P>0.05$)。

虽然两两比较在统计学上无明显差异,但是,仍然可以从表 4 和表 5 整理的数据中发现部分趋势。在不同月份比较中,3、4、5 月平均值呈递增趋势,且 5 月为 7 月的 8 倍,为 6 月的 17 倍,显示出明显差异。另外,所有检出值超过 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 的批次中,3 月占 5 批次,4 月占 4 批次,5 月占 3 批次。其他月份中,9 月检出 1 批次,10 月和 11 月检出 2 批次。总体而言,5 月残留最为严重。

不同品种中,直接从数值上看,牛肉检出值最高,为鸭肉的 10 倍以上,但是进一步分析发现,牛肉检出批次只有 3 批次,其中有 1 批次检出值高达 $15.7894\text{ }\mu\text{g/kg}$,对平均结果贡献值过大。其余的品种中,鸡肉的平均值为猪肉的 2.5 倍,为鸭肉的近 10 倍,显示出明显差异。另外,所有检出值超过 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 的批次中,鸡肉占 9 批次,比另外 3 个品种总和的 6 批次还多,说明鸡肉的检出值相对其他品种较高。

不同区域中,西区检出平均值超过东区的 2 倍,超过南区的 5 倍,超过县区的 10 倍。另外,所有超过 $1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 的批次中,东区占 10 批次,其他区占 5 批次,说明东、西两区均残留严重。

综上所述,对收集的 372 个批次的样品进行检测,氯霉素为未检出。氟苯尼考检出率中不同月份,明显 3、4、5 月份的检出率高于其他月份;不同采集地区中,东区检出率最高,超 20%;不同品种,猪肉检出率最高,超过 20%。检出值中,63.3% 的样品检出值位于 $0.1\sim 1.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ 之间。进一步对不同因素进行 SPSS - Duncan'S 分析,结果显示无显著性差异($P>0.05$)。

参考文献:

- [1] Meadows A J, Mundt C C, Keeling M J, *et al.* Disentangling the influence of livestock *vs.* farm density on livestock disease epidemics [J]. *Ecosphere*, 2018, 9(7): 2294 - 2307.
- [2] Lee H C, Chen C M, Wei J T, *et al.* Analysis of veterinary drug residue monitoring results for commercial livestock products in Taiwan between 2011 and 2015 [J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2017, 26(2): 565 - 571.
- [3] Callens B, Sarrazin S, Cargnel M, *et al.* Associations between a decreased veterinary antimicrobial use and resistance in commensal *Escherichia coli* from Belgian livestock species (2011 - 2015) [J]. *Preventive Veterinary Medicine*, 2017, 157(1): 50 - 58.
- [4] Wallerstein R O, Condit P K, Kasper C K, *et al.* Statewide Study of Chloramphenicol Therapy and Fatal Aplastic Anemia [J]. *Journal of the American Medical Association*, 1969, 208(11): 2045 - 2050.
- [5] 中华人民共和国农业部第 235 号公告. 动物性食品中兽药最高残留限量[S].
The People's Republic of China's Ministry of Agriculture. The No. 235th Announcement, the maximum residue limit of veterinary drugs in animal food[S].
- [6] 中华人民共和国农业部第 193 号公告. 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单[S].
The People's Republic of China's Ministry of Agriculture. The No. 193th Announcement, the maximum residue limit of veterinary drugs in animal food[S].
- [7] 张威, 赵晓娟, 陈海光. 食品中氯霉素残留快速检测技术研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2014, (4): 113 - 117.
Zhang W, Zhao X J, Chen H G. Research progress in fast detection techniques of chloramphenicol residues in food [J]. *Food Research And Development*, 2014, (4): 113 - 117.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 20756 - 2006 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定[S].
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 20756 - 2006 Method for the determination of chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol residues in edible animal muscles, liver and aquatic products - LC - MS - MS method[S].
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 22338 - 2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定[S].

- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China, GB/T 22338 – 2008 Determination of multi – residue of chloramphenicols in animal – original[S].
- [10] 张凤清, 王岩松, 范世华, 等. 高效液相色谱 – 串联质谱法测定动物肌肉组织中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 248 – 251.
- Zhang F Q, Wang Y S, Fan S H, *et al.* High performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol residues in animal muscles[J]. Food Science, 2010, 31(8): 248 – 251.
- [11] 刘吉成. HPLC – MS/MS 测定猪肉和猪肝中氯霉素残留量的研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 93 – 95.
- Liu J C. Determination of chloramphenicol residues in pork and pig liver by LC – MS/MS[J]. Food & Machinery, 2012, 28(4): 93 – 95.
- [12] 陶昕晨, 黄 和, 廖建萌, 等. 高效液相色谱 – 串联质谱法同时检测虾肉和猪肉中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和其代谢产物氟苯尼考胺残留[J]. 中国食品学报, 2014, 14(1): 232 – 238.
- Tao X C, Huang H, Liao J M, *et al.* Determination of chloramphenicol and metabolite fluorbenicol amine, thiamphenicol and florfenicol residues in shrimp and pork by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(1): 232 – 238.
- [13] 柯庆青, 李诗言, 周 凡, 等. 基于通过型固相萃取 – 高效液相色谱 – 串联质谱法同时测定水产品中的氯霉素和红霉素[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 241 – 246.
- Ke Q Q, Li S Y, Zhou F, *et al.* Simultaneous determination of chloramphenicol and erythromycin residues in aquatic products by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry with oasis PRiME HLB solid phase extraction clean up[J]. Food Science, 2017, 38(24): 241 – 246.
- [14] 张 静, 高玉时, 周 倩, 等. 高效液相色谱 – 电喷雾电离串联质谱法测定鸡肉、鸡蛋中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考药物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(6): 2211 – 2219.
- Zhang J, Gao Y S, Zhou Q, *et al.* Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol residues in chicken and egg by high performance liquid chromatography – electrospray ionization – tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2017, 8(6): 2211 – 2219.
- [15] 潘晓东, 吴平谷, 姜 维. 超高效液相色谱 – 串联质谱法同时测定鱼肉中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6): 572 – 574.
- Pan X D, Wu P G, Jiang W. Determination of residues of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in fish muscle by ultra – performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Food Hygiene 2014, 26(6): 572 – 574.
- [16] Delabougli A, Choisy M, Phan T D, *et al.* Economic factors influencing zoonotic disease dynamics: demand for poultry meat and seasonal transmission of avian influenza in Vietnam [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 5905 – 5919.
- [17] Wu B, Meng K, Wei L, *et al.* Seasonal fluctuations of microbial aerosol in live poultry markets and the detection of endotoxin[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 551 – 558.
- [18] Hristov A N, Degaetano A T, Rotz C A, *et al.* Climate change effects on livestock in the Northeast US and strategies for adaptation[J]. Climatic Change, 2018: 1 – 13.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 27404 – 2008, 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 27404 – 2008, Criterion on quality control of laboratories, Chemical testing of food[S].

(编辑:侯向辉)