

- [5] 宋继霞,杨正慧,陈乐群. 食品中邻苯二甲酸酯类塑化剂的测定及迁移研究进展[J]. 化学分析计量, 2013, 22(1): 100-102.
- [6] 郑和辉,赵立文,刘玉敏,等. 饮用水中邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(5): 377-378.
- [7] 蔡智鸣,史馨,张前龙,等. GC-MS 测定人血清中酞酸酯类环境污染物的[J]. 理化检验:化学分册, 2006, 42(2): 115-119.
- [8] 吴惠勤,朱志鑫,黄晓兰,等. 不同类别食品中 21 种邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定及其分布情况研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1079-1087.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 21911—2008 食品中邻苯二甲酸酯的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 9685—2008 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

实验技术与方法

荧光免疫层析法快速测定牛奶中头孢氨苄残留量

胡佳丽^{1,2}, 于东升³, 刘小雷¹, 云彩麟¹, 李莉², 刘彩虹², 张帆², 陈艳², 邹明强²

(1. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010059; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123;
3. 内蒙古精神卫生中心, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:目的 采用荧光免疫层析法结合现场检测仪建立牛奶中头孢氨苄残留的快速定量检测方法。方法 利用反向微乳技术合成稀土铕荧光纳米颗粒,与头孢氨苄单克隆抗体结合制备荧光检测探针,以头孢氨苄卵清蛋白全抗原和羊抗小鼠抗体分别作为检测线和质控线制备免疫层析试纸条,结合现场检测仪建立牛奶中头孢氨苄残留的快速定量检测方法。结果 试验结果表明,该方法对头孢氨苄的检测限为 0.16 ng/ml,半数抑制浓度(IC_{50})为 0.6 ng/ml,线性范围为 0.16~5 ng/ml,标准添加回收率为 100%~115%之间,与头孢菌素类及青霉素等其他 12 种抗生素的交叉反应率均 < 0.01%,与 ELISA 方法比较,测定结果相关性良好。结论 本试验所建立的荧光免疫层析法快速检测牛奶中头孢氨苄残留,具有简便、快速、灵敏、直观的优点,可用于抗生素残留的筛查,极具推广和应用价值。

关键词: 头孢氨苄; 荧光免疫层析法; 稀土铕纳米颗粒; 快速定量检测; 兽药残留; 牛奶; 抗菌素

中图分类号: R155.5; R155.5⁺7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-8456(2014)04-0362-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.04.015

Rapid detection of cefalexin residues in milk by fluorescent immunochromatography assay

HU Jia-li, YU Dong-sheng, LIU Xiao-lei, YUN Cai-lin, LI Li, LIU Cai-hong,
ZHANG Fan, CHEN Yan, ZOU Ming-qiang

(Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Hohhot 010059, China)

Abstract: Objective The cefalexin residues in milk was rapidly and quantitatively detected by fluorescent immunochromatography assay and strip reader. **Methods** The europium nanoparticles were synthesized by RP-microemulsion technology. The Eu nanoparticles conjugated with cefalexin monoclonal antibody was used as a fluorescent label. The cefalexin-ovalbumin and goat anti-mouse IgG was respectively used as the test line and control line on the fluorescent strip. A rapid and quantitative fluorescent immunochromatography assay for detection of cefalexin residues in milk was established equipped with a strip reader. **Results** The fluorescent immunochromatography assay had a good correlation with ELISA, with the detection limit of 0.16 ng/mL, and the IC_{50} value was 0.6 ng/ml. The linear detection range was 0.16-5 ng/ml. The recoveries of spiked milk were between 100%-115%, and the cross-reaction rate of the antibody with 12 kinds of antibiotics including cephalosporins and penicillin was less than 0.01%. **Conclusion** It was easy, rapid, and sensitive for the detection, and had the potential to be a powerful tool for screening other antibiotics residues in milk and milk products.

Key words: Cefalexin; fluorescent immunochromatography assay; rare earth europium nanoparticles; rapid and quantitative detection; veterinary drug residue; milk; antibiotics

收稿日期: 2014-04-25

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAK26B04); 质检公益性行业科研专项(201010022)

作者简介: 胡佳丽 女 硕士生 研究方向为精神科临床药理学 E-mail: hujiali1989@126.com

通讯作者: 邹明强 男 研究员 研究方向为纳米生物及快速检测装备研究 E-mail: mingqiangz@sina.com

免疫层析技术是近些年才发展起来的一项新的诊断技术,它结合了免疫反应和色谱层析的原理,具有快速、灵敏、简单、方便等特点,问世以来便成为检验学和诊断学的研究热点。目前,在人类医学领域已广泛应用该技术进行诊断,但在食品安全检测领域的研究还处于初级阶段。为建立简便、快速的定量检测方法,免疫定量层析试纸条分析方法越来越得到研究者的追逐,其特征^[1]包括:对待检测免疫定量层析试纸条的检测区域进行全程扫描,获取该区域内所有测试点的荧光信号强度,确定所述免疫定量层析试条中的检测带、质控带及背景的荧光信号强度,扣除背景干扰后获得检测线及质控线高度,结合被检测溶液的浓度对所述免疫定量层析试纸条进行分析。

头孢氨苄(cefalexin)常用以控制奶牛乳房炎,尿道、胃肠道及呼吸道等感染。但因使用方法不当或不遵守休药期规定等原因,均可造成其在牛奶及其他奶制品中残留量超标,有时会给人类健康带来严重危害,如引发过敏反应,严重者可致休克、甚至死亡;破坏人体消化系统菌群平衡,引发二重感染;增加细菌耐药性等^[2]。针对头孢氨苄在牛奶中的残留问题,欧盟^[3]及我国农业部^[4]均明确规定其最高残留限量(MRL)为100 ng/ml。近年来,已建立的牛奶中头孢氨苄残留检测方法主要包括理化检测法,如高效液相色谱-串联质谱法^[5]等,这种方法虽然灵敏度高,但一般都检测成本比较高,同时对技术人员要求比较高;免疫分析法,如酶联免疫吸附法^[2]、胶体金免疫层析法^[6]等,这些方法虽然简单快速,但灵敏度较差。本试验采用荧光免疫分析法,即以镧系元素铕(Eu)作为发光物质来标记单克隆抗体,以检测供试品中相应抗原。首先利用反相微乳技术^[7]合成Eu-SiO₂荧光纳米颗粒^[8],将其与头孢氨苄单克隆抗体结合制备荧光检测探针,以竞争性免疫层析模式制备头孢氨苄残留荧光免疫层析试纸条,结合现场检测仪用于头孢氨苄的同步快速定量检测。操作简便、检测迅速、成本低廉,适于牛奶及其他奶制品中头孢氨苄残留量的快速定量检测,对食品安全和疾病防控等均具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

硝酸纤维素膜(NC膜:Whatman-AE 99、Millipore-HF 90、Millipore-HF 135、Millipore-HF 180)、玻璃纤维(CESP 203000)、吸水垫(CESP 223000)、喷膜机、切条机(美国Bio-Dot)、3K30型高速冷冻离心机(美国Sigma)、Costar 96孔酶标板(9018型,美国Corning)、酶标仪(德国TECAN)、辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠二

抗(HRP-IgG,美国Sigma)、TMB底物(美国Sigma)、多功能凝胶成像系统(美国Kodak);现场检测仪(JZ13Z015,中国检验检疫科学研究院),通过步进电机带动检测系统扫描试纸条待检区域,C线和T线高度表示的都是扫描后C线和T线的荧光强度,使用不同浓度的样品与T线高度经过外标法做出标准曲线,之后测定样品可根据标准曲线直接输出结果。

头孢氨苄标准品;羊抗小鼠IgG(美国Sigma);头孢氨苄-鸡卵清蛋白全抗原、头孢氨苄单克隆抗体均由中国检验检疫科学研究院提供,与OVA无交叉反应;稀土铕纳米颗粒(厦门大学);葡聚糖(Dex,分子量500 000);25 mmol/L碳酸盐缓冲液(CB)pH = 9.5由Na₂CO₃与NaHCO₃配制;Tris-HCl缓冲液pH = 8.0由1.0% TritonX-100、3.0% BSA、0.2 mol/L Tris及HCl配制;其他化学试剂为分析纯;纯牛奶(北京物美超市)。

1.2 荧光免疫探针的制备

参考文献[8]方法制备稀土铕纳米颗粒。取0.4 mg荧光纳米颗粒(20 mg/ml,20 μl),以等体积CB混匀,于12 000 r/min离心洗涤3次,每次4 min,悬浮于100 μl CB中,加入100 μl醛基化Dex混匀,室温避光震荡反应3~4 h,以CB洗涤、悬浮同上;加入经CB透析12 h的CEX单克隆抗体0.1 mg混匀,4℃震荡反应12 h以上。加入NaBH₃(CN)(终浓度为5 mmol/L)于4℃震荡反应2~4 h,加入等体积封闭液(50 mmol/L Tris-HCl,pH = 7.8,2% BSA,4%蔗糖)封闭12 h以上,用洗涤液(50 mmol/L Tris-HCl,pH = 7.8)离心洗涤3次,悬浮于保存液(50 mmol/L Tris-HCl,pH = 7.8,0.9% NaCl,0.2% BSA,0.05% Tween-20),置于4℃避光处储存备用。

1.3 免疫层析试纸条的制备

在支撑板上依次贴上NC膜、吸水垫、喷涂有荧光标记抗体的结合垫和已于Tris-HCl缓冲液(展开剂)中浸润并烘干的玻璃纤维,组装好免疫层析试纸条,如图1所示。于Bio-Dot XYZ 3050三维喷点平台,配合Bio-Jet Quanti 300非接触式微量喷头,将CEX-OVA和羊抗小鼠IgG分别在NC膜检测线(T线)和质控线(C线)位置上喷洒成均匀平行且粗细适中的两条线,后置于37℃控温箱烘干1 h后取出,用Bio-Dot CM 4000切条机切成4 mm宽试纸条,与干燥剂一起装入铝箔袋中密封保存备用^[9]。

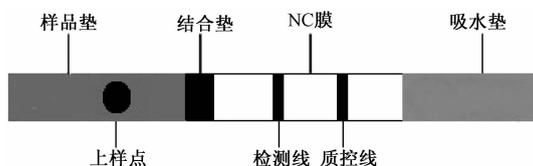


图1 免疫层析试纸条结构示意图

Figure 1 Schematic description of immunochromatographic strip

1.4 竞争性荧光免疫层析试纸条定量检测方法

取经 ELISA 试剂盒检测不含 CEX 纯牛奶,添加不同浓度 CEX,12 000 r/min 离心 10 min 作为供试品,滴加在试纸条上样点位置。供试品通过毛细作用,沿试纸条自下向上层析,先后经过样品垫、结合垫、NC 膜上 CEX-OVA (T 线) 和羊抗小鼠 IgG (C 线) 到达吸水垫。层析后,应用现场检测仪进行荧光信号强度检测。在定量检测结果中,C 线荧光信号强度 < 100,则表示试纸条无效;C 线荧光信号强度 > 100,则表示试纸条有效。按照上述方法分别进行精密度、样品回收及交叉反应率等检测。

2 结果与分析

2.1 竞争性荧光免疫层析条件优化

2.1.1 包被抗原浓度的影响

本试验为竞争性抑制免疫层析^[10]定量试验,利用荧光标记 CEX 单克隆抗体,以 CEX-OVA 全抗原包被 NC 膜形成 T 线,用于检测供试品中 CEX 残留量。供试品中若含一定量 CEX,在层析过程中与荧光标记 CEX 单克隆抗体结合,从而竞争性抑制此荧光标记抗体与 NC 膜 T 线位置包被的 CEX-OVA 偶联物结合,使 T 线荧光信号强度减弱;反之,若供试品中不含 CEX,当荧光抗体标记物经层析作用到达 NC 膜上包被有 CEX-OVA 偶联物的 T 线时,无 CEX 与其抑制性竞争结合 CEX 单克隆抗体,形成 CEX-OVA 与荧光标记 CEX 单克隆抗体结合物使荧光信号强度增大。

将浓度为 0.93 mg/ml 的 CEX-OVA 2 倍等比稀释作为包被抗原喷洒于 NC 膜 T 线位置制备免疫层析试纸条。以不同浓度 CEX 供试品层析后定量检测,绘制抑制率曲线:横坐标为 CEX 浓度,纵坐标为抑制率(H/H_0),其中 H_0 是不含 CEX 标准品的 T 线高度,H 为含有 CEX 标准品的 T 线高度,根据抑制率曲线可知半数抑制率^[11]。本试验采用竞争性免疫层析原理,半数抑制浓度 (IC_{50}) 越低,灵敏度越高^[12]。如图 2 所示:CEX-OVA 包被浓度越大, IC_{50} 最低,即灵敏度最高。本试验选择 0.93 mg/ml 作为 T 线包被抗原浓度。

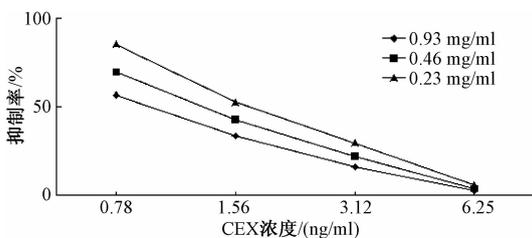


图2 CEX-OVA 浓度对免疫层析试纸条检测结果的影响

Figure 2 Effects of CEX-OVA concentration on the test results of immunochromatographic strips

2.1.2 羊抗小鼠浓度的影响

分别以不同浓度羊抗小鼠 IgG 喷洒于 NC 膜 C 线位置制备免疫层析试纸条。以不含 CEX 供试品进行竞争性荧光免疫层析定量试验:当羊抗小鼠 IgG 浓度 ≥ 0.5 mg/ml 时,C 线荧光信号强度达检测强度,可被现场检测仪识别,视为试纸条有效。因此选择羊抗小鼠 IgG 浓度为 0.5 mg/ml 作为包被二抗浓度以保证荧光免疫层析试纸条定量检测有效。

2.1.3 荧光标记单克隆抗体层析量的影响

以稀土铈纳米颗粒标记 CEX 单克隆抗体 (0.25 mg/ml) 制备免疫检测探针。将荧光标记抗体复合物稀释 100 倍后,取不同体积喷涂于玻璃纤维制备免疫层析试纸条。以不含 CEX 供试品进行竞争性荧光免疫层析定量试验:当稀释 100 倍后的荧光标记单抗体层析量 ≥ 5 μ l 时,C 线荧光信号强度达到检测强度,可被现场检测仪识别,视为试纸条有效。因此选择 5 μ l 作为玻璃纤维荧光标记单克隆抗体喷涂量,即层析量。

2.1.4 供试品上样量优化

考察不含 CEX 不同体积供试品作为上样量对层析检测结果影响。由图 3 可知:随上样量增大时,背景干扰程度降低。但是当上样量增大至 200 μ l 时,在滴加过程中发现:宽度为 4 mm 试纸条玻璃纤维无法承载全部上样量,以至供试品外溢,影响检测结果。故本试验选择供试品上样量为 150 μ l。

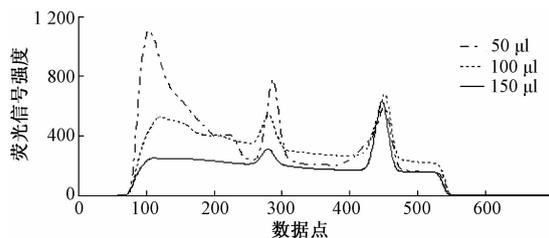


图3 供试品上样量对免疫层析试纸条检测结果的影响

Figure 3 Effects of sample volume on the test results of immunochromatographic strips

2.1.5 展开时间优化

考察了层析时间对供试品中不同浓度 CEX 层析检测结果的影响。如图 4 结果表明当层析时间到达 15 min 后,T 线高度最高,并开始缓慢下降,故本实验选择在层析 15 min 后检测。

2.2 方法学考察

2.2.1 工作曲线

取不同浓度 CEX 供试品进行免疫层析定量检测。设空白对照 0 ng/ml CEX 时的 T 线高度为 H_0 ,不同质量浓度 CEX 竞争抑制后的 T 线高度为 H,以抑制率(H/H_0)为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制 CEX 竞争性免疫抑制标准曲线。如图 5,曲线回归方程为 $y = -20.920 \ln(x) + 39.828$,相关系数

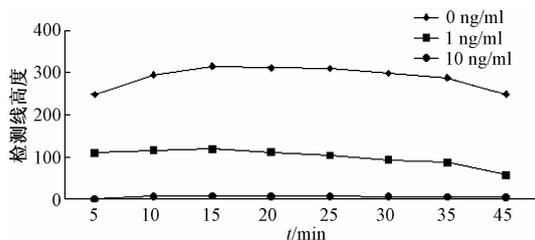


图4 层析时间对免疫层析试纸条检测结果的影响
Figure 4 Effects of immunochromatographic time on immunochromatographic strip test results

$r = 0.9993$, IC_{50} 为 0.6 ng/ml , 线性检测范围为 $0.16 \sim 5 \text{ ng/ml}$ 。

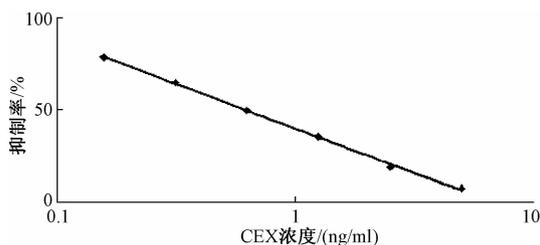


图5 CEX 荧光免疫层析标准曲线
Figure 5 Standard curve of CEX fluorescence immunochromatographic

2.2.2 精密度

取不同浓度 CEX 供试品进行免疫层析定量检测。每批 4 份、共 4 批。测得批内相对标准偏差、批间相对标准偏差均 $< 20\%$, 见表 1。

表1 批内、批间精密度
Table 1 Intra-batch and inter-batch precision

CEX 浓度 / (ng/ml)	批内平均测量浓度 / (ng/ml)	批内 RSD / %	批间平均测量浓度 / (ng/ml)	批间 RSD / %
0.16	0.16	17.73	0.15	19.65
0.31	0.30	11.68	0.33	18.44
0.62	0.63	16.72	0.62	16.21
1.25	1.25	17.04	1.30	18.86
2.50	2.74	12.01	2.50	10.99
5.00	4.73	4.01	4.59	6.35

2.2.3 头孢氨苄回收率

分别添加 CEX 于纯牛奶中,使其浓度分别为 0.16 、 1.25 及 5.00 ng/ml ,进行免疫层析定量检测,重复 4 次,计算平均回收率在 $100\% \sim 115\%$ 之间,见表 2。

表2 头孢氨苄回收率
Table 2 Recovery of standard addition

CEX 浓度 / (ng/ml)	平均测量浓度 / (ng/ml)	RSD / %	平均回收率 / %
0.16	0.18	19.70	113.6
1.25	1.40	19.17	111.5
5.00	5.05	6.858	100.9

2.2.4 特异性

取纯牛奶加入以下 12 种抗生素标准品做交叉

反应实验,其浓度均为 $10 \mu\text{g/ml}$ 。包括头孢菌素类的头孢唑肟、头孢噻吩、头孢哌酮、头孢曲松、头孢呋辛、头孢噻吩及与同属 β -内酰胺类的青霉素,氯霉素、土霉素、庆大霉素、红霉素及合成类抗生素磺胺嘧啶。半数抑制率均 $> 0.6 \times 10^4$,以 CEX 的 IC_{50} 与这些药物的 IC_{50} 的百分比为交叉反应率^[13],交叉反应率均 $< 0.01\%$ 。说明本文建立的荧光免疫层析检测方法特异性良好。

2.2.5 ELISA 对比试验

取纯牛奶样品 30 份,加入不同浓度 CEX ($0.16 \sim 5 \text{ ng/ml}$),分别使用荧光免疫层析定量检测法和 ELISA 方法进行测定,比较结果不同。用统计产品与服务解决方案软件 (SPSS) 进行分析,结果显示:两种方法测定值的相关系数为 0.994 ,相关系数假设检验 $P = 0.000 < 0.05$,差异有统计学意义,可以认为相关性良好;差值的均数为 -0.081 ,差值的标准差为 0.194 ,统计量 $t = -2.290, P = 0.03 < 0.05$,差异有统计学意义,可认为两种方法测定结果不同,荧光免疫层析检测法测定结果较高。

3 小结

荧光免疫层析技术作为一项新兴的免疫检测技术,发展十分迅速,既保留了胶体金试纸条可现场快速检测的优点,又加入了荧光检测技术灵敏度高、同时配以相关仪器亦可成功建立定量方法。本试验利用反相微乳技术合成稀土铈纳米颗粒,与 CEX 单克隆抗体以共价键偶联结合成为荧光检测探针,结合以碳二亚胺法^[14]制备的 CEX-OVA 及羊抗小鼠 IgG 作为检测线和质控线,成功制备荧光免疫层析检测试纸条,利用现场检测仪检测试纸条荧光信号强度,建立了牛奶中头孢氨苄残留的快速定量检测方法。用于牛奶样品中头孢氨苄残留定量检测时,样品预处理简单、快速,仅需 $15 \sim 20 \text{ min}$ 即可获得检测结果,灵敏度高、特异性好,适合牛奶中头孢氨苄残留量的现场快速检测。

参考文献

- [1] 三诺生物传感股份有限公司. 一种免疫定量层析试条的分析方法及系统; 中国, CN201210584544. 8 [P]. 2013-04-24.
- [2] 卜素敏, 扈洪波, 邢仕歌, 等. ELISA 法检测牛奶中头孢氨苄残留 [J]. 食品科学, 2013, 34(20): 186-189.
- [3] Commission E. Commission regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin [B]. Official Journal of the European Communities, 2010; 15.
- [4] 中华人民共和国农业部 235 号公告. 关于发布《动物性食品中兽药最高残留限量的通知》[B], 2002-12-24.
- [5] 范志影, 刘庆生, 石冬冬, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定生鲜牛乳中四环素类和 β -内酰胺类药物残留 [J]. 饲料加工

- 与检测,2013,49(9):74-77.
- [6] 王学立. 同步检测头孢类抗生素与链霉素胶体金免疫层析法的建立[D]. 合肥:安徽农业大学,2012.
- [7] 刘树信,霍冀川,李炜罡,等. 反相微乳法制备纳米颗粒研究进展[J]. 无机盐工业,2004,36(5):7-10.
- [8] XU Y, LI Q G. Multiple fluorescent labeling of silica nanoparticles with lanthanide chelates for highly sensitive time-resolved immunofluorometric assays [J]. *Clinical Chemistry*, 2007,53(8):1505-1510.
- [9] 郭艳宏,李飞,邹明强,等. 用于检测氯霉素类残留的荧光免疫检测试纸条的研制[J]. 化学试剂,2010,32(6):496-517.
- [10] 吴巧丽,叶春生. 胶体金免疫层析技术快速检测沙丁胺醇残留[J]. 现代食品科技,2012,28(11):1595-1599.
- [11] 宋佩,孟萌,Sergei A E,等. 荧光偏振免疫分析方法快速检测沙拉沙星残留[J]. 分析化学,2012,40(8):1247-1251.
- [12] 邵景东,李鲁宁,孙秀兰,等. 正丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸离子液体介导在呕吐毒素酶联免疫检测中的应用研究[J]. 食品工业科技,2010,31(6):324-326.
- [13] 王超,李志雄,林冠峰,等. 时间分辨免疫分析法定量测定莱克多巴胺[J]. 中国食品卫生杂志,2011,23(5):438-441.
- [14] 刘庆堂,王磊,职爱民,等. 碳二亚胺法制备阿莫西林人工抗原及其鉴定[J]. 河南农业科学,2012,41(3):142-145.

实验技术与方法

凝胶渗透色谱净化系统与气相色谱-串联质谱法检测5种食品中14种有机磷和7种拟除虫菊酯类农药残留

刘国平,黄诚,薛荣旋,周日东,卢丽明

(中山市疾病预防控制中心,广东 中山 528403)

摘要:目的 建立GPC与GC-MS/MS测定5种食品中14种有机磷和7种拟除虫菊酯类农药残留的方法,初步分析GPC净化技术及MS/MS分析技术在食品农药多残留分析的优势。方法 用GPC作为样品前处理方法,处理韭菜、大白菜、辣椒、猪肉、鱼肉五种食品,用GC-MS/MS检测并进行定性、定量分析。结果 GPC与GC-MS-MS检测食品中14种有机磷和7种拟除虫菊酯类农药方法的线性相关系数 $r > 0.995$,定量限为0.002~0.034 mg/kg,对韭菜、猪肉样品按0.05、0.10、0.20 mg/kg三组水平加标测试,方法精密度RSD%为2.9~10.2%,回收率为78.6~108.3%。结论 本方法检测样品范围广、灵敏度高、定性可靠、定量准确,适合多种类食品中农药多残留分析。

关键词:凝胶渗透色谱净化系统;气相色谱-串联质谱法;农药残留;食品污染物;有机磷;拟除虫菊酯

中图分类号:R155.5;TS207.53 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)04-0366-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.04.016

Determination of 14 organophosphorus pesticides and 7 pyrethroids pesticides in five kinds of food by GPC and GC-MS/MS

LIU Guo-ping, HUANG Cheng, XUE Rong-xuan, ZHOU Ri-dong, LU Li-ming

(Zhongshan Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Zhongshan 528403, China)

Abstract: Objective To establish a method for determining 14 organophosphorus pesticides (OPs) and 7 pyrethroids pesticides (PPs) in 5 kinds of food by GPC and GC-MS/MS, and find the advantages of GPC and GC-MS/MS in analyzing pesticide residues in food. **Methods** Five kinds of food including leeks, Chinese cabbage, pepper, pork and fish were pretreated with GPC, and the samples were analyzed qualitatively and quantitatively by GC-MS/MS. **Results** The linear correlation coefficients of 14 OPs and 7 PP were above 0.995. The limit of quantification was in the range of 0.002-0.034 mg/kg. The relative standard deviation (RSD) was 2.9-10.2%, and the rates of recovery were 78.6-108.3% for leek and pork samples spiked with 0.05, 0.10 and 0.20 mg/kg of 14 OPs and 7 PP. **Conclusion** The method was widely used, highly sensitive, reliable, accurate, and suitable for analysis of pesticide residues in many kinds of food.

Key words: Gel permeation chromatography purification system; gas chromatography-tandem mass spectrometer; pesticide residue; food contaminant; organophosphorus pesticides; pyrethroids