

- 鼠生物学检测法的建立[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3): 446-451.
- [5] 刘晓玉, 徐静, 黄莲芝, 等. 腹泻性贝类毒素及检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4096-4102.
- [6] 卢士英, 张代辉, 周玉, 等. 大田软海绵酸液相色谱串联质谱检测方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(9): 1537-1539.
- [7] 姚建华, 谭志军, 周德庆, 等. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中的原多甲藻酸贝类毒素[J]. 色谱, 2010, 28(4): 363-367.
- [8] 母清林, 方杰, 万汉兴, 等. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中腹泻性贝类毒素[J]. 分析化学, 2011, 39(1): 111-114.
- [9] KROCK B, TILLMANN U, JOHN U, et al. LC-MS-MS aboard ship: tandem mass spectrometry in the search for phycotoxins and novel toxigenic plankton from the North Sea[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 392(5): 797-803.
- [10] CHRISTIAN B, LUCKAS B. Determination of marine biotoxins relevant for regulations: from the mouse bioassay to coupled LC-MS methods[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 391(1): 117-134.
- [11] MARR J C, HU T, PLEASANCE S, et al. Detection of new 7-O-acetyl derivatives of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Toxicon, 1992, 30(12): 1621-1630.

## 实验技术与方法

# 兽药残留八联检测盘在调查肉类兽药残留中的应用

曹德康<sup>1</sup>, 苏建忠<sup>1</sup>, 张瑛<sup>1</sup>, 黄甜<sup>2</sup>, 吴智坚<sup>2</sup>, 张杰<sup>2</sup>, 赵林萍<sup>2</sup>, 秦璐<sup>1</sup>

(1. 武警后勤部疾病预防控制中心, 北京 102613;

2. 郑州中道生物技术有限公司, 河南 郑州 450000)

**摘要:**目的 比对国标方法, 评估自主研制兽药残留八联检测盘结果的可靠性, 为新产品的应用提供依据。方法 随机采取北京市大兴区市场上销售的猪、牛、羊的肌肉样品, 应用兽药残留八联检测盘测定是否含有兽药残留, 对检测出的阳性样品再用其相应的国标方法进行复检。结果 共检测了176份样品, 有21份样品中含有兽药残留, 检出率为11.9%。其中11份样品含禁用药物克伦特罗、沙丁胺醇、氯霉素、培氟沙星和诺氟沙星, 剩余10份样品中的恩诺沙星和磺胺类药物在残留限量范围内。结论 市场上的肉类中仍有部分兽药残留。

**关键词:** 肉类; 兽药残留; 八联检测盘; 胶体金免疫层析; 应用; 可靠性; 比较

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2017)06-0694-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.06.012

## Application of the detection plate in the investigation of veterinary drug residues in the meat food

CAO De-kang<sup>1</sup>, SU Jian-zhong<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, HUANG Tian<sup>2</sup>, WU Zhi-jian<sup>2</sup>,  
ZHANG Jie<sup>2</sup>, ZHAO Lin-ping<sup>2</sup>, QIN Lu<sup>1</sup>

(1. Center for Diseases Control and Prevention of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 102613, China; 2. Zhengzhou Zhongdao Biotechnology Co., Ltd, Henan Zhengzhou 450000, China)

**Abstract: Objective** To compare the reliability of octuplet veterinary drug residue detection plate with the national standard method, and to provide the basis for the application of new products. **Methods** The samples of pork, beef, lamb were collected randomly from the markets in Daxing District. Samples were tested by the detection plate, for veterinary drugs residues. The positive samples were confirmed by the corresponding GB method. **Results** Twenty-one samples were detected veterinary drug residues among 176 samples, with the positive rate of 11.9%. Among them, 11 samples contained banned drugs, which were clenbuterol, salbutamol, chloramphenicol, pefloxacin and norfloxacin, and the remaining 10 samples had norfloxacin and sulfonamides, which were within the standard limits. **Conclusion** There were still some veterinary drugs in the meat on the markets.

**Key words:** Meat product; veterinary drug residues; eight-link detection plate; colloidal gold immunochromatographic;

收稿日期: 2017-09-22

基金项目: 武警后勤部卫生局科研课题 (WJWSB2015-01)

作者简介: 曹德康 男 主任医师 研究方向为军事预防医学及环境监测 E-mail: wjsz@139.com

通信作者: 苏建忠 男 主治医师 研究方向为卫生监督及环境监测 E-mail: wjsz@139.com

application; reliability; comparison

在畜牧养殖生产过程中,兽药在预防动物疾病、促进动物生长、改善动物产品质量和提高饲料利用率方面起到重要作用,从而被广泛使用,但伴随出现了兽药在动物组织中残留超标的问题<sup>[1]</sup>。随着“瘦肉精”、“有抗奶”等动物性食品安全事件报道的增多,兽药残留逐渐引起政府和人们的普遍关注<sup>[2]</sup>。兽药残留不仅可以直接对人体产生急、慢性毒性作用,引起细菌耐药性的增加,而且还可以通过环境和食物链的作用,对环境和人类健康构成严重威胁<sup>[3]</sup>。虽然我国在控制动物性食品中的兽药残留方面已取得了一定的效果,但兽药残留引起的食品安全问题依然存在<sup>[4]</sup>。兽药残留八联检测盘是应用竞争抑制胶体金免疫层析的方法而研制出的,可以同时检测4种 $\beta$ -兴奋剂类和10种抗菌类药物的残留,在大范围初步调查中可以节省时间,因此应用兽药残留八联检测盘对北京市大兴区市售的猪、牛、羊肌肉样品进行了两大类药物(14种)的残留检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

随机采取北京市大兴区6个大型超市、5个农贸市场和14个零售小摊位上销售的猪、牛、羊肌肉样品,猪肉87份、牛肉48份、羊肉41份,共176份样品。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

Agilent 6890-5973 气相色谱-质谱联用仪、Agilent 6410 高效液相色谱-串联四级杆质谱联用仪(配有电喷雾电离源)均购自美国 Agilent,高速冷冻离心机、涡旋振荡器、分体式电热锅、固相萃取装置(美国 Supelco)、旋转蒸发器、氮吹仪、手提式高速分散器、兽药残留八联检测盘(自主研制)。

此次试验共检测14种药物残留:盐酸克伦特罗(Cle, DRE-C11668550)、莱克多巴胺(Rac, DRE-C16805000)、沙丁胺醇(Sal, SB05-201-2008)、苯乙胺 A (PHA, CDDM-A1108010-10mg)、培氟沙星(PEF, SB05-274-2012)、氧氟沙星(OFX, SB05-102-2008)、恩诺沙星(ENR, SB05-205-2008)、诺氟沙星(NOR, DRE-C15648000)、磺胺二甲嘧啶(SM2, SB05-079-2008)、磺胺间甲氧嘧啶(SMM, BW9618-100)、磺胺对甲氧嘧啶(SMD, H0301107)、磺胺嘧啶(SD, SB05-103-2008)、氯霉素(CAP, SB05-093-2008)、链霉素(STR, SB05-235-2008),均购自国家

标准物质网。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 检测方法

样品前处理:取待检的肉类肌肉样品,去除脂肪后匀浆,准确称取(5.0±0.1)g的样品置于50 ml离心管中,加入2.5 ml 纯净水,振荡碎肉成糊状;再加入5.0 ml 样品提取液,涡旋2 min,室温5 000 r/min离心5 min;移取2.5 ml 上层澄清液体至50 ml 烧杯中,沸水浴加热直至烧杯内的液体完全挥发;取出烧杯,冷却后向其中加入0.75 ml 样品复溶液,轻晃烧杯30 s 将烧杯底部残留物质溶解为待测液。

检测:取出八联检测盘(图1),平放于桌面上,用一次性吸管吸取待测液至吸管的刻度线5处(约0.6 ml),垂直滴加待测液至检测盘的加样孔(中央)内,静置5~8 min,按图2判定结果。



注:八联检测盘中央为加样孔,周围是兽药残留物检测结果的观察孔;盘中各检测项分别为1. Sal,2. Rac,3. Cle,4. PHA,5. 喹诺酮类(QNs),6. 磺胺类(SAs),7. CAP,8. STR

图1 八联检测盘示意图

Figure 1 Schematic diagram of the eight-link detection plate



注:阴性:可视窗内,检测线(T)及对照线(C)均显色;阳性:可视窗内,只有C显色,T不显色;无效:可视窗内,C和T都不显色,或仅T显色

图2 八联盘结果判定

Figure 2 Results of evaluation of the eight-link detection plate

#### 1.2.2 八联检测盘成品质量参数<sup>[5]</sup>

检出限:八联检测盘的检测限见下表1。

特异性:与肉类食品中常见其他抗生素和瘦肉精(青霉素、阿莫西林、庆大霉素、四环素、红霉素、氟苯尼考、西马特罗、特布他林、马布特罗等)无交叉反应,特异性高。

表1 八联检测盘的检测限

检测的药物类别	药物名称	检出限/(ng/g)
$\beta$ -兴奋剂类	Sal	15
	Rac	10
	Cle	10
	PHA	15
	PEF	12
QNs 抗菌药物	OFX	12
	ENR	8
	NOR	8
	SM2	15
SAs 抗菌药物	SMM	5
	SMD	5
	SD	15
氯霉素类抗菌药物	CAP	1
氨基糖苷类抗菌药物	STR	80

## 1.2.3 阴性样品加标试验

取经过标准方法检测为全阴性的猪肉、牛肉和羊肉,绞碎后匀浆,每种样品分装88份,每份(5.0±0.1)g。其中2份各加入100  $\mu$ l的磷酸盐缓冲液(PBS)溶液作为空白对照(加标浓度0 ng/g),2份各加入100  $\mu$ l按检出限的浓度添加的所有检测物质标准品(SAs中的SM2和QNs的PEF),其余样品分别加入100  $\mu$ l八联检测盘检测物质的不同浓度的标准品(标准品加标浓度见表2),每个浓度做2个平行,混匀后,按1.2.1检测方法进行样品处理及检测。

表2 阴性样品中标准品的加标浓度

Table 2 Concentration of the standard in the negative sample

药物名称	加标浓度/(ng/g)		
	检出限以下	检出限	检出限以上
Sal	10	15	20
Rac	5	10	15
Cle	5	10	15
PHA	10	15	20
CAP	0.5	1.0	2.0
STR	60	80	100
QNs 4种	4	8	12
	8	12	16
SAs 4种	3	5	10
	10	15	20

## 1.2.4 阳性样品的复检

具体操作参照阳性种类相对应的标准检测方法进行复检<sup>[6-10]</sup>,对于无标准检测方法的PHA则按照相应的文献<sup>[11]</sup>进行复检。

表3 八联检测盘检测样品结果

Table 3 Sample test results of the eight-link detection plate

样品类别	样品份数	检测结果	阳性率/%
猪肉	87	7份QNs阳性、4份SAs阳性、其余76份为阴性	12.60(11/87)
牛肉	48	3份Cle阳性、2份Sal阳性、1份CAP阳性、其余42份为阴性	12.50(6/48)
羊肉	41	1份Cle阳性、2份Sal阳性、1份QNs阳性、其余37份为阴性	9.76(4/41)

## 2 结果

## 2.1 阴性样品加标试验结果

空白对照为阴性,猪肉、牛肉和羊肉所有的加标样品在检出限以下时为阴性、检出限时为阳性、检出限以上时也为阳性,且所有检测物质的标准品(SAs中的SM2和QNs的PEF)按检出限的浓度添加到一份样品中的结果也为阳性。这充分说明八联检测盘的检测结果是可以信赖的,八联检测盘是可以用来初步调查市场上肉类兽药残留的情况的。

## 2.2 样品检测结果

用八联检测盘对采集的176份样品进行检测,结果见表3,并用标准检测方法对检出的阳性样品进行了定量复检,结果见表4。检出含有兽药残留的样品均是单一一种兽药,87份猪肉样品均未检出 $\beta$ -兴奋剂类药物,但检出7份QNs和4份SAs,QNs中停止使用的NOR和PEF超标,ENR和SAs在限用范围内,即有2份猪肉产品不合格;48份牛肉样品中两大类药物均有检出,禁用的 $\beta$ -兴奋剂类药物3份Cle和2份Sal超标,1份禁用的抗菌药物CAP超标,即检出的6份牛肉均为不合格产品;41份羊肉样品中两大类药物也均有检出,有1份Cle和2份Sal超标,1份QNs中的ENR在限用范围内,即3份羊肉为不合格产品。176份样品的兽药残留总阳性数为21份,总阳性率为11.9%,猪、牛、羊肉类食品中差不多有同等程度的兽药残留,阳性样品中有11份为不合格产品。

采集的176份样品中,从6个大型超市采集样品共50份,均未检出兽药残留;从5个农贸批发市场采集样品共60份,检出阳性样品9份,阳性率为15.0%;从14个零售小摊位采集样品共66份,检出阳性样品12份,阳性率18.2%。由此可知大型超市的肉类比农贸批发市场和零售小摊位的质量要好,食用相对安全。

## 3 讨论

通过对采集肉类样品的检测发现,八联检测盘检测阳性结果与标准检测方法复检结果一致,说明八联检测盘的检测结果是可信的,此种检测可以作为一种现场快速检测的初筛方法。

表4 阳性样品标准检测方法复检结果

Table 4 Re-test results of the standard test method for positive samples

阳性兽药 残留种类	标准检测方法	检测结果/(ng/g)		
		猪肉	牛肉	羊肉
Cle	气相色谱-质谱法 <sup>[6]</sup>	—	Cle 14、Cle 17、Cle 21	Cle 16
Sal	气相色谱-质谱法 <sup>[6]</sup>	—	Sal 18、Sal 21	Sal 17、Sal 25
QNs	液相色谱-串联质谱法 <sup>[8]</sup>	ENR 9、ENR 11、ENR 15、ENR 13、ENR 17、NOR 12、PEF 19	—	ENR 11
SAs	液相色谱-质谱/质谱法 <sup>[9]</sup>	SD 21、SMD 8、SD 26、SM2 18	—	—
CAP	气相色谱-质谱法 <sup>[7]</sup>	—	CAP 3	—

注: NOR 12 表示标准检测方法检出 NOR 含量为 12 ng/g, 其他检测结果同 NOR 12; —表示未检出

根据我国农业部 235 号<sup>[12]</sup> 和 2292 号公告<sup>[13]</sup>:  $\beta$ -兴奋剂类药物、CAP、QNs 中的 PEF、OFX、NOR 均是禁止用于所有食品动物的兽药, 在动物源性食品中不得检出。然而此次  $\beta$ -兴奋剂类药物 Cle 和 Sal 在牛、羊肉中均有检出, 总检出率为 4.55% (8/176), 占牛肉样品的 10.4% (5/48), 占羊肉样品的 7.32% (3/41); CAP 只在牛肉中检出 1 份, 占牛肉样品的 2.08%; NOR、PEF 只在猪肉样品中各占一份。所以, 检出禁用药物的样品为不合格产品, 违反国家的规定, 需要相关部门严格执法、加大监管力度, 净化食品市场。其余 ENR 和 SAs 检出样品在国家规定残留限量范围内, 属于合格产品。检出药物的均是从农贸批发市场和零售小摊位采集的样品, 两者比较, 零售小摊位检出率较高, 而大型超市样品均无阳性样品检出, 由此可以看出大型超市的肉类相对安全, 这与大型超市肉类来源明确、质量监控相对严格有关。另外, 从试验结果看,  $\beta$ -兴奋剂类药物的使用“重灾区”已由猪肉转向牛、羊肉, 近期食品监督管理部门也将牛、羊肉的  $\beta$ -兴奋剂类药物残留作为重点检测项目, 八联检测盘作为肉类兽药残留多项检测的初筛手段, 具有较好地应用前景。

本次对大兴区的 176 份样品进行检测, 兽药残留为 11.9%, 其中 11 份肉类为不合格产品, 反映出目前市场上的肉类仍有兽药残留, 且有违禁药物仍在使用, 应引起重视, 因此, 相关部门应进一步加强对农贸批发市场和零售小摊位的肉类监测, 规范销售市场, 促进畜牧业健康发展的同时, 为消费者提供安全、放心的肉类食品。

## 参考文献

[1] 何方洋. 兽药残留检测技术研究[J]. 北京工商大学学报,

2012, 30(1): 17-19.

- [2] 胡滨, 陈一资, 朱雅冬. 兽药残留对动物性食品的危害及原因分析[J]. 中国动物检疫, 2009, 6(3): 21-23.
- [3] 李冰, 李剑勇, 周绪正, 等. 动物性食品中兽药残留分析检测技术研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2012, 44(5): 82-86.
- [4] 侯为道, 傅小鲁. 动物性食品中兽药残留的监测与控制[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(2): 241-244.
- [5] 曹德康, 苏建忠, 初晨, 等. 胶体金免疫层析法同时检测肉类食品中八种兽药残留物[J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(3): 213-217.
- [6] 浙江省质量技术监督局. 动物组织中特布他林、克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺残留量的测定: DB33/T 624—2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [7] 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. 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定: GB/T 22338—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [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. 动物源产品中喹诺酮类残留量的测定 液相色谱-串联质谱法: GB/T 20366—2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [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. 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法: GB/T 21316—2007 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [10] 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. 动物源性食品中链霉素残留量测定方法 酶联免疫法: GB/T 21330—2007 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [11] 张林田, 林文, 陆奕娜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品 4 种  $\beta$ -受体激动剂[J]. 检验检疫学刊, 2013, 23(6): 44-49.
- [12] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号 [A/OL]. (2002-12-24) [2017-09-08]. [http://www.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304\\_1028649.htm](http://www.moa.gov.cn/zwl/m/nybz/200803/t20080304_1028649.htm).
- [13] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 2292 号 [A/OL]. (2015-09-01) [2017-09-08]. [http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201509/t20150907\\_4819267.htm](http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201509/t20150907_4819267.htm).