

王文湘, 闫超群, 华成云, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪组织中泰地罗新残留[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(6): 32-38.

高效液相色谱-串联质谱法测定猪组织中泰地罗新残留

王文湘¹, 闫超群¹, 华成云¹, 李国基¹, 王 波¹, 顾 欣²,
曹 莹², 黄士新², 黄显会¹

(1 华南农业大学 兽医学院/广东省兽药研制与安全评价重点实验室, 广东 广州 510642;
2 上海市动物疫病预防控制中心, 上海 201103)

摘要:【目的】建立适用于猪组织中泰地罗新残留检测的高效液相色谱-串联质谱法。【方法】猪组织(肌肉、肝脏、肾脏和皮脂)样品经 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液提取, 上清液采用 HLB 固相萃取柱浓缩净化, Phenomenex Luna Omega C18 色谱柱梯度洗脱, 采用电喷雾正离子扫描和多反应监测 (MRM) 模式对泰地罗新进行分析, 采用基质匹配法对泰地罗新含量进行标准校正。【结果】泰地罗新添加剂量在肌肉中 25~2 400 ng·g⁻¹、肝脏中 25~2 500 ng·g⁻¹、肾脏中 25~2 000 ng·g⁻¹ 和皮脂中 25~1 600 ng·g⁻¹ 的范围内, 与特征离子峰面积呈良好的线性关系 ($r^2 \geq 0.99$)。猪组织添加泰地罗新样品中肌肉、肝脏、肾脏和皮脂的检测限均为 10 ng·g⁻¹, 定量限均为 25 ng·g⁻¹。对猪组织在定量限、1/2MRL、MRL、2MRL 这 4 个剂量下进行泰地罗新的添加回收试验, 各组织中的批内平均回收率为 85.6%~105.0%, 批内回收率相对标准偏差 2.3%~9.5%, 批间回收率相对标准偏差 4.7%~7.6%。【结论】该方法简单易行, 灵敏度高且特异性强, 可用于猪组织中泰地罗新残留量的分析测定。

关键词: 猪组织; 高效液相色谱-串联质谱; 泰地罗新; 残留
中图分类号: S859.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2018)06-0032-07

Determination of tildipirosin residues in swine tissues by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Wenxiang¹, YAN Chaoqun¹, HUA Chengyun¹, LI Guoji¹, WANG Bo¹, GU Xin²,
CAO Ying², HUANG Shixin², HUANG Xianhui¹

(1 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University/Guangdong Provincial Key Laboratory for Veterinary Pharmaceutics Development and Safety Evaluation, Guangzhou 510642, China;
2 Shanghai Animal Disease Prevention and Control Center, Shanghai 201103, China)

Abstract: 【Objective】To establish a reliable HPLC-MS/MS (High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry) method suitable for determining tildipirosin residues in swine tissues. 【Method】Swine tissue samples, including muscle, liver, kidney and skin-fat were extracted with 0.1 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ buffer solution. The supernatant fluids were enriched and purified using HLB solid-phase extraction column, and gradually eluted by Phenomenex Luna Omega C18 liquid chromatography column. The analytes were then detected using triple-quadrupole mass spectrometry in positive electrospray ionization and multiple reaction monitoring (MRM) mode. The matrix-matched method was used to calibrate tildipirosin content. 【Result】Tildipirosin contents presented good linear relationships ($r^2>0.99$) with characteristic peak area in

the ranges of 25–2 400 ng·g⁻¹ in muscle, 25–2 500 ng·g⁻¹ in liver, 25–2 000 ng·g⁻¹ in kidney and 25–1 600 ng·g⁻¹ in skin-fat. All the limits of detection and quantitation in muscle, liver, kidney and skin-fat samples added tildipirosin were 10 and 25 ng·g⁻¹, respectively. The recovery experiments of tildipirosin in swine tissues were setted in four dosage levels, including limit of quantitation, 1/2 maximum residue limit (MRL), MRL and 2MRL, and the mean intra-batch recoveries of tildipirosin in all analytes ranged from 85.6% to 105.0%. The relative standard deviations of intra-batch and inter-batch recoveries were in the ranges of 2.3%–9.5% and 4.7%–7.6%, respectively. 【Conclusion】 The established method is simple, practicable, and with high sensitivity and specificity. It can be applied to determine tildipirosin residues in swine tissues.

Key words: swine tissue; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; tildipirosin; residue

大环内酯类抗生素是临床常用的治疗动物呼吸道疾病的药物, 如泰乐菌素、替米考星、泰万菌素和加米霉素等, 该类药物的作用机制均是通过与敏感菌的核糖体 50S 亚基结合, 抑制肽链的合成和延长, 从而影响细菌蛋白质的合成^[1]。泰地罗新是新型的动物专用 16 环内酯类抗生素, 属于半合成的泰乐菌素衍生物, 结构式见图 1。泰地罗新一般用于预防和治疗猪和牛呼吸道系统疾病, 具有给药后生物利用度高, 残留量低, 用量少, 消除半衰期长和一次给药等特点^[2-4]。2011 年欧盟兽用药品委员会批准了 Intervet 公司以泰地罗新为主要成分的无菌注射液 (商品名为 Zuprevo) 的市场许可申请, 随后美国也相继批准上市。

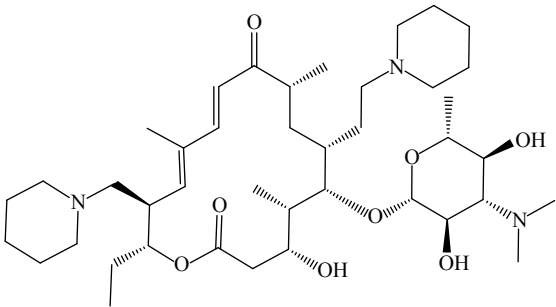


图 1 泰地罗新的结构式

Fig. 1 Chemical structure of tildipirosin

大环内酯类抗生素常见的检测方法有微生物法、二极管阵列检测 (Diode array detector, DAD) 法^[5-7]、紫外检测法^[5]、荧光检测 (Fluorescence detector, FLD) 法^[8]、电化学检测 (Electron capture detector, ECD) 法^[9]、分子印迹法^[10-11]、免疫金色谱法^[12]、气相质谱联用 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 法^[13]以及液相质谱联用 (Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 法^[14-16]。目前国内外最常用的是 LC-MS/MS 法, 该法选择性强, 灵敏度高。针对泰地罗新检测方法的研究还相对较少, 欧洲药品管理局规定泰地罗新在猪组织中

的最高残留限量 (Maximum residue limit, MRL) 分别为: 肌肉 1 200 ng·g⁻¹, 肝脏 5 000 ng·g⁻¹, 肾脏 10 000 ng·g⁻¹, 皮脂 800 ng·g⁻¹, 注射部位 7 500 ng·g⁻¹。本研究采用高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 法分析猪组织 (肌肉、肝脏、肾脏和皮脂) 中泰地罗新残留, 并进行了方法学评价。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC-20A 型高效液相色谱仪 (岛津, 日本); API4000 MS/MS 电喷雾-串联四级杆质谱仪 (AB SCIEX, 美国), 配 Analyst 4.1.5 软件; AUX 120 型电子分析天平 (岛津, 日本); Mach 1.6R 冷冻型离心机 (Thermo, 美国); Milli-Q 纯水机 (Millipore, 美国)。

泰地罗新对照品纯度 (w) 为 99.1%, 购自上海同仁药业股份有限公司; 超纯水由 Milli-Q 超纯水仪制取; HLB 固相萃取柱: 500 mg, 6 mL (CNW 公司); 乙腈、甲醇和甲酸均为色谱纯; 磷酸二氢钾和正己烷均为国产分析纯; 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液配制方法: 准确称取 13.61 g 磷酸二氢钾, 加水溶解, 定容至 1 000 mL, 用磷酸调 pH 至 2.5。

1.2 标准工作液的配制

泰地罗新标准储备液 (1 g·L⁻¹) 的配制: 准确称取 10 mg 泰地罗新标准品于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 配成 1 g·L⁻¹ 的标准储备液, -20 °C 冰箱贮存备用, 有效期 6 个月。

泰地罗新标准工作液的配制: 准确吸取泰地罗新储备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 稀释成 0.1 g·L⁻¹ 的工作液, 再依次稀释至 500、200、100、50、20、10、5、2 μg·L⁻¹ 的标准工作液, -20 °C 冰箱贮存备用, 有效期 6 个月。

1.3 HPLC-MS/MS 条件

1.3.1 HPLC 条件 色谱柱: Phenomenex Luna Omega C18, 2.1 mm×50 mm×1.6 μm。流动相: A 相

为乙腈, B 相为 φ 为 0.1% 的甲酸水溶液。梯度洗脱程序: 0~0.7 min, 100% B; 0.8~3.5 min, 90% A, 10% B; 3.6~5.0 min, 100% B。流速: $0.25\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温: $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量: $5\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.3.2 MS/MS 条件 质谱扫描模式: 多反应检测 (Multiple reaction monitoring, MRM), 电喷雾离子源正离子扫描, 电喷雾电压: 5.5 kV , 雾化气压: 60 psi , 辅助气压: 50 psi , 气帘气压: 25 psi , 离子源温度: $650\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。泰地罗新 MRM 参数: 母离子 m/z 为 734.6 , 子离子 m/z 为 98.1 、 174.4 , 其中 $m/z\ 734.6/98.1$ 是定量离子对; 去簇电压: 144 V ; 射入电压: 10 V ; 碰撞室电压: 12 V ; 碰撞能量: $75\text{ V}/53\text{ V}$ 。

1.4 样品前处理

称取待检测组织 (2.00 ± 0.02) g 于 50 mL 离心管中, 加适量泰地罗新标准工作液, 涡旋 30 s , 静置 20 min , 加入 $15\text{ mL}\ 0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾提取液, 涡旋 30 s , 振摇 10 min , 40 kHz 超声 10 min , 离心 10 min ($10\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$), 收集上清液。残渣用 $15\text{ mL}\ 0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾提取液重复提取 1 次, 合并上清液, 加入 5 mL 正己烷, 涡旋 1 min , 离心 10 min ($6\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$), 弃上层正己烷层, 备用。

采用 HLB 固相萃取柱对上述提取液进行净化, 萃取柱预先依次用 6 mL 甲醇和 6 mL 纯水活化, 取 15 mL 提取液上柱, 确保溶液缓慢流过 HLB 柱 (必要时可采用真空泵), 然后用 5 mL 纯水洗涤, 8 mL 甲醇洗脱。净化后的提取液于室温下用氮气吹至 2 mL , 加入 3 mL 纯水定容至 5 mL , 涡旋 1 min , 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 供 HPLC-MS/MS 测定。

空白肝脏、肾脏组织按上述方法前处理后得到空白基质, 分别用空白基质对肝脏 $2\ 500$ 、 $5\ 000$ 、 $10\ 000\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 添加剂量样品进行 4 倍稀释, 对肾脏 $5\ 000$ 、 $10\ 000$ 、 $20\ 000$ 添加剂量样品进行 10 倍稀释, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 供 HPLC-MS/MS 测定。

1.5 标准曲线的制备

取 7 份空白肌肉、肝脏、肾脏和皮脂样品, 按照“1.4”样品前处理方法处理, 分别用所得空白猪组织样品溶液将泰地罗新工作液稀释, 具体为肌肉 480 、 240 、 120 、 48 、 24 、 12 、 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 肝脏 500 、 200 、 100 、 50 、 20 、 10 、 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 肾脏 400 、 200 、 100 、 40 、 20 、 10 、 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 皮脂 320 、 160 、 80 、 32 、 16 、 8 、 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。按照“1.3”确定的 HPLC-MS/MS 条件进行分析, 以测得的泰地罗新特征离子峰面积为纵坐标, 对应的剂量为横坐标, 绘制标准曲线, 求得线性回归方程和相关系数 (r^2)。

1.6 回收率与精密度

肌肉、肝脏、肾脏和皮脂样品分别在定量限、 $1/2\text{MRL}$ 、 MRL 和 2MRL 4 个剂量进行添加回收试验。欧洲药品管理局规定猪肌肉、肝脏、肾脏和皮脂的 MRL 分别为 $1\ 200$ 、 $5\ 000$ 、 $10\ 000$ 和 $800\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在 (2.00 ± 0.02) g 空白猪组织中加入适量对应质量分数的泰地罗新标准工作液, 制备空白加标样品。按“1.4”样品前处理方法处理, 按“1.3”HPLC-MS/MS 条件检测。以外标法定量, 计算求得 4 个剂量的回收率。每个处理设 3 批样品, 每批样品做 6 次重复。

2 结果与分析

2.1 质谱参数确定

分别采用电喷雾离子源正离子与负离子扫描, 用蠕动泵将泰地罗新标准工作液以 $10\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度注入离子源中, 结果显示正离子模式下泰地罗新响应值更高, 并得到 $[\text{M}+\text{H}]^{+}(m/z\ 734.6)$ 和 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}(m/z\ 368.2)$ 准分子离子峰, 对比发现 $[\text{M}+\text{H}]^{+}(m/z\ 734.6)$ 具有更高的响应值。进行二级质谱扫描, 对去簇电压、碰撞能量等参数进行调整优化, 选择响应值高, 峰形无干扰的特征子离子, 最终以 $m/z\ 98.1$ 作为泰地罗新定量离子, 以 $m/z\ 174.4$ 作为定性离子。泰地罗新的二级质谱图见图 2。

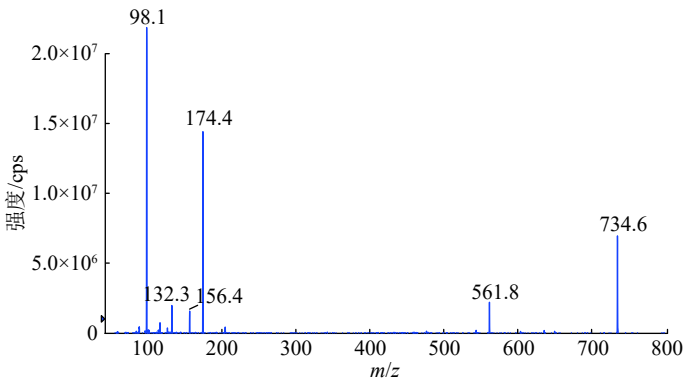


图 2 泰地罗新的二级质谱图

Fig. 2 Tandem mass spectrometry of tildipirosin

2.2 方法的特异性

分析猪肌肉、肝脏、肾脏和皮脂样品时, 特征离子质量色谱图中目标化合物的保留时间处没有杂

质干扰, 表明该方法有较好的特异性。空白肌肉样品及添加 25 ng·g⁻¹ 泰地罗新的肌肉样品特征离子质量色谱图见图 3。

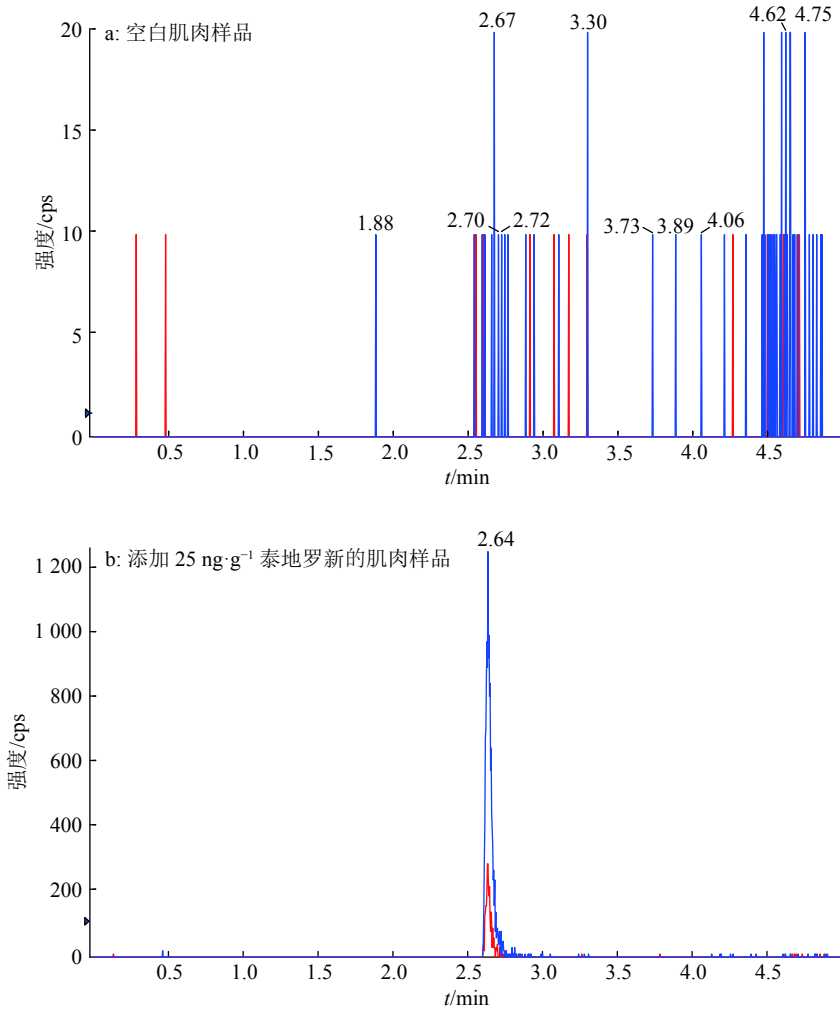


图 3 空白肌肉样品及添加 25 ng·g⁻¹ 泰地罗新的肌肉样品的多反应检测谱图

Fig. 3 Multiple reaction monitoring chromatograms of blank muscle sample and muscle sample added 25 ng·g⁻¹ tildipirosin

2.3 检测限与定量限

以 3 倍信噪比为方法的检测限, 测得肌肉、肝脏、肾脏和皮脂中泰地罗新的检测限均为 10 ng·g⁻¹, 以 10 倍信噪比为方法的定量限, 测得 4 种组织中泰地罗新的定量限均为 25 ng·g⁻¹。

2.4 标准曲线与线性范围

肌肉、肝脏、肾脏和皮脂中泰地罗新添加剂量分别在 25~2 400、25~2 500、25~2 000 和 25~1 600 ng·g⁻¹ 范围内, 特征离子峰面积与对应添加剂量的线性关系良好, $r^2 \geq 0.99$ 。肌肉、肝脏、肾脏和皮脂中泰地罗新残留检测的基质匹配标准曲线见表 1。

2.5 回收率与精密度

肌肉中泰地罗新添加剂量在 25~2 400 ng·g⁻¹ 范围内, 批内平均回收率 93.3%~101.0%, 批内回收率相对标准偏差 4.3%~9.5%, 批间回收率相对标准偏

表 1 猪组织中泰地罗新检测的基质匹配标准曲线

Table 1 The matrix-matched standard curves of tildipirosin detected in swine tissues

组织样品	w(泰地罗新) ¹⁾ / (ng·g ⁻¹)	标准曲线方程 ²⁾	r ²
肌肉	25~2 400	y=109x+120	0.995 5
肝脏	25~2 500	y=124x-201	0.998 7
肾脏	25~2 000	y=55.1x+133	0.997 3
皮脂	25~1 600	y=50.8x+214	0.997 5

1) 猪组织中泰地罗新的添加剂量范围; 2) x: 猪组织中泰地罗新的添加剂量, y: 泰地罗新特征离子峰面积

差 6.1%~7.4%。肝脏中泰地罗新添加剂量在 25~10 000 ng·g⁻¹ 范围内, 批内平均回收率 93.3%~101.0%, 批内回收率相对标准偏差 2.3%~8.0%, 批间回收率相对标准偏差 5.3%~7.1%。肾脏中泰地罗新添加

剂量在 25~20 000 ng·g⁻¹ 范围内, 批内平均回收率 85.6%~101.0%, 批内回收率相对标准偏差 2.5%~8.9%, 批间回收率相对标准偏差 4.7%~6.4%。油脂中泰地罗新添加剂量在 25~1 600 ng·g⁻¹ 范围内, 批内平均回收率 90.7%~105.0%, 批内回收率相对标准偏差 3.2%~9.0%, 批间相对标准偏差 5.2%~7.6%。具体回收率结果见表 2。

表 2 猪组织中添加泰地罗新样品回收率及相对标准偏差
Table 2 Recoveries and relative standard deviations of swine tissue samples added tildipirosin

组织 样品	w (泰地罗新) 添加/ (ng·g ⁻¹)	批内平均回收率/%			批内回收率相对标准偏差/%			批间平均 回收率/%	批间回收率相对 标准偏差/%
		批次1	批次2	批次3	批次1	批次2	批次3		
肌肉	25	101.0	96.6	96.3	6.6	7.3	5.3	97.8	6.4
	600	93.3	100.0	97.6	8.5	4.3	8.1	97.1	7.4
	1 200	97.5	95.5	97.9	9.5	5.6	6.6	97.0	7.1
	2 400	99.0	98.5	99.6	4.7	7.9	6.3	99.1	6.1
肝脏	25	99.1	96.8	101.0	6.7	8.0	7.1	99.1	7.1
	2 500	99.9	99.1	101.0	6.4	6.8	3.1	100.0	5.4
	5 000	96.0	101.0	93.3	5.8	2.3	4.6	96.7	5.3
	10 000	96.7	100.0	93.9	5.4	2.6	6.2	96.9	5.3
肾脏	25	101.0	98.4	101.0	4.3	8.9	6.1	100.0	6.4
	5 000	92.3	96.1	97.2	6.0	4.9	2.9	95.2	5.0
	10 000	85.6	91.5	93.8	2.5	4.5	4.5	90.3	5.5
	20 000	93.3	90.0	96.1	4.9	3.3	3.7	93.1	4.7
油脂	25	100.0	105.0	102.0	6.3	4.2	4.8	102.0	5.2
	400	94.6	102.0	90.7	3.2	4.1	4.6	95.8	6.3
	800	92.3	94.4	91.1	8.2	5.9	6.5	92.6	6.7
	1 600	92.4	94.7	91.5	9.0	5.6	8.8	92.9	7.6

3 讨论与结论

3.1 色谱条件优化

为考察不同流动相配比与洗脱条件对泰地罗新出峰的影响, 分别采取了 0.1% (φ) 甲酸水溶液-乙腈和 0.1% (φ) 甲酸水溶液-甲醇的流动相配比, 考察基质匹配同等剂量下泰地罗新的峰型、峰面积与响应值。对比发现 0.1% (φ) 甲酸水溶液-乙腈条件下泰地罗新响应值更高, 且峰型良好无拖尾。相比甲醇作为流动相, 乙腈洗脱能力更强, 峰型更好。在色谱柱的选择上, 在对大环内酯类药物的研究中多采用 C8 与 C18 类反相色谱柱^[11,17]。大环内酯类药物多含有碱性叔胺结构, 在硅胶基固定相中易出现拖尾^[18], 因此本研究选用了非极性端基封尾的 Phenomenex Luna Omega C18(2.1 mm×50 mm×1.6 μm) 色谱柱, 并与 Phenomenex Kinetex F5(2.1 mm×50 mm×1.6 μm) 进行了柱效对比, 发现 Phenomenex Luna Omega C18 和 kinetex F5 对目标物质均有较好的分离效果, 保留时间稳定。考虑到成本差异, 最终选用 Phenomenex Luna Omega C18 色谱柱。

3.2 前处理方法优化

3.2.1 提取剂选择 大环内酯类生物样品的提取剂常有乙腈^[14, 19]、磷酸二氢钾溶液^[5, 20]、偏磷酸-甲醇 (体积比 7:3)^[7, 21]、磷酸二氢钾-乙腈 (体积比 3:1)^[6]、φ 为 70% 的甲醇水溶液^[22-23]、甲醇-乙腈 (体积比 1:1)^[24]和二氯甲烷^[25]等, 也有研究者使用 pH 10 的硼酸钠缓冲液-乙酸乙酯 (体积比 1:1) 进行泰拉霉素和替米考星等药物的提取^[11]。国内针对泰地罗新的特异性提取方法研究较少, 结合泰地罗新的理化性质, 本研究考察了乙腈与 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液为提取剂对泰地罗新进行提取的回收率比较试验。采用“1.4”的提取和净化程序, 在其他试验条件一致的情况下, 肌肉、肝脏和肾脏中 2 种提取液的回收率结果并无显著差异, 且均在 80% 以上, 但油脂中 2 种提取液的回收率均不高且表现不稳定, 低剂量下部分样品回收率低于 50%。可能是动物脂肪组织中复杂的内源性物质对目标物提取造成了干扰。通过调节磷酸二氢钾溶液 pH 值进行提取效果优化, 发现 0.1 mol·L⁻¹ pH 2.5 的磷酸二氢钾溶液的回收率更高且平行性较好, 结果稳定可

取, 因此最终选用为本研究的提取液。在提取液使用量的选择上, 0.1 mol·L⁻¹ 的磷酸二氢钾溶液在同种方法下相较于单次提取, 2 次提取的回收率可普遍提高约 11%~16%, 能达到更好的提取效果。

3.2.2 净化条件的选择 对于大环内酯类生物样品的提取和净化, 主要使用 SPE 固相萃取柱, 如 C18^[26]、SCX^[7, 20]、HLB^[27-29] 和 silica SPE 小柱^[14] 等, 本文结合文献报道, 选用了 HLB 和 C18 这 2 种填料的固相萃取柱进行泰地罗新的回收率比对试验。采用“1.4”的提取方法对猪空白组织进行提取, 上清液中添加相同体积与质量浓度的泰地罗新标准工作液, 以排除前期提取过程可能造成的误差与干扰, 分别进行 2 种不同固相萃取柱净化与回收效果的对比。结果显示 HLB 柱萃取净化的样品回收率要高于 C18 约 11%~19%, 另外, C18 柱在操作时对流速要求较高, 柱床一旦干涸, 会发生相塌陷使样品无法正常保留, 降低回收率, 综合考虑最终选用 HLB 固相萃取柱作为猪组织中泰地罗新提取液的净化方法。在 3 mL 200 mg、3 mL 500 mg、6 mL 200 mg 以及 6 mL 500 mg 4 种规格的选择上, 3 mL 200 mg 的 HLB 固相萃取柱即可满足残留分析, 但在皮脂组织提取中, 存在回收率过低及过柱期间堵塞的情况, 因此最终选择 6 mL 500 mg 的规格, 完全能够满足泰地罗新残留分析的要求。

3.3 结论

本文建立了一种可靠、灵敏的适用于猪肌肉、肝脏、肾脏和皮脂组织中泰地罗新残留量检测的高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 法。样品采用磷酸二氢钾缓冲溶液提取, HLB 固相萃取柱净化, 并利用 HPLC-MS/MS 测定分析。方法简单易行, 所需材料廉价易得, 特异性好, 仪器方法检测远低于欧盟规定的泰地罗新在猪体内的 MRL 值, 灵敏度高, 易于重复, 可作为猪组织中泰地罗新残留量检测方法的参考。

参考文献:

[1] VANNUFFEL P, COCITO C. Mechanism of action of streptogramins and macrolides[J]. *Drugs*, 1996, 51(Suppl 1): 20-30.

[2] ROSE M, MENGE M, BOHLAND C, et al. Pharmacokinetics of tildipirosin in porcine plasma, lung tissue, and bronchial fluid and effects of test conditions on in vitro activity against reference strains and field isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*[J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 2013, 36(2): 140-153.

[3] TORRES F, SANTAMARIA R, JIMENEZ M, et al. Pharmacokinetics of tildipirosin in pig tonsils[J]. *J Vet* <http://xuebao.scau.edu.cn>

Pharmacol Ther, 2016, 39(2): 199-201.

[4] MENGE M, ROSE M, BOHLAND C, et al. Pharmacokinetics of tildipirosin in bovine plasma, lung tissue, and bronchial fluid (from live, nonanesthetized cattle)[J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 2012, 35(6): 550-559.

[5] LEAL C, CODONY R, COMPAÑÓ R, et al. Determination of macrolide antibiotics by liquid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2001, 910(2): 285-290.

[6] GARCÍA-MAYOR M A, GARCINUÑO R M, 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(1/2): 76-83.

[7] HORIE M, SAITO K, ISHII R, et al. Simultaneous determination of five macrolide antibiotics in meat by high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 812(1/2): 295-302.

[8] TORANO J S, GUCHELAAR H J. Quantitative determination of the macrolide antibiotics erythromycin, roxithromycin, azithromycin and clarithromycin in human serum by high-performance liquid chromatography using pre-column derivation with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride and fluorescence detection[J]. *J Chromatogr B*, 1998, 720(1/2): 89-97.

[9] De La HUEBRA M J G, VINCENT U, VON HOLST C. Sample preparation strategy for the simultaneous determination of macrolide antibiotics in animal feedingstuffs by liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD)[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(5): 1628-1637.

[10] SONG X, ZHOU T, LI J, et al. Determination of macrolide antibiotics residues in pork using molecularly imprinted dispersive solid-phase extraction coupled with LC-MS/MS[J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(5): 1138-1148.

[11] SONG X, ZHOU T, LIU Q, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction for the determination of ten macrolide drugs residues in animal muscles by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2016, 208: 169-176.

[12] LI X, WEN K, CHEN Y, et al. Multiplex immunogold chromatographic assay for simultaneous determination of macrolide antibiotics in raw milk[J]. *Food Anal Methods*, 2015, 8(9): 2368-2375.

[13] TAKATSUKI K, USHIZAWA I, SHOJI T. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of macrolide antibiotics in beef and pork using single ion monitoring[J]. *J Chromatogr A*, 1987, 391(1): 207-217.

[14] HELLER D N, NOCHETTO C B. Development of multi-class methods for drug residues in eggs: Silica SPE cleanup and LC-MS/MS analysis of ionophore and macrolide residues[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(23): 6848-6856.

[15] WANG J, LEUNG D, BUTTERWORTH F. Determination of five macrolide antibiotic residues in eggs using li-

- quid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(6): 1857-1865.
- [16] WANG J, LEUNG D, LENZ S P. Determination of five macrolide antibiotic residues in raw milk using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(8): 2873-2880.
- [17] 王敏, 林维宣, 郭德华, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物性食品中多种大环内酯类药物[J]. *分析测试学报*, 2007, 26(5): 675-678.
- [18] 岳振峰, 陈小霞, 谢丽琪, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定动物组织中林可酰胺类和大环内酯类抗生素残留[J]. *分析化学*, 2007, 35(9): 1290-1294.
- [19] TAKEGAMI H, HORIE M, NAKAZAWA H. Determination of macrolide antibiotics in milk by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Bunseki Kagaku*, 2006, 55(9): 651-659.
- [20] CHERLET M, De BAERE S, CROUBELS S, et al. Quantitation of tylosin in swine tissues by liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 473(1/2): 167-175.
- [21] HORIE M, TAKEGAMI H, TOYA K, et al. Determination of spiramycin and tilmicosin in meat and fish by LC/MS[J]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2003, 44(3): 150-154.
- [22] GRANELLI K, BRANZELL C. Rapid multi-residue screening of antibiotics in muscle and kidney by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 586(1/2): 289-295.
- [23] WU J, QIAN Y, ZHANG C, et al. Application of graphene-based solid-phase extraction coupled with ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of macrolides in fish tissues[J]. *Food Anal Methods*, 2013, 6(5): 1448-1457.
- [24] TAO Y, YU G, CHEN D, et al. Determination of 17 macrolide antibiotics and avermectins residues in meat with accelerated solvent extraction by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 897(1): 64-71.
- [25] CHEN K Y, YANG T C, CHANG S Y. Determination of macrolide antibiotics using dispersive liquid-liquid microextraction followed by surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2012, 23(6): 1157-1160.
- [26] DICKSON L C. Performance characterization of a quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for 12 macrolide and lincosamide antibiotics in salmon, shrimp and tilapia[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 967: 203-210.
- [27] YANG S W, CHA J, CARLSON K. Quantitative determination of trace concentrations of tetracycline and sulfonamide antibiotics in surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/ion trap tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2004, 18(18): 2131-2145.
- [28] WANG J. Determination of five macrolide antibiotic residues in honey by LC-ESI-MS and LC-ESI-MS/MS[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(2): 171-181.
- [29] McCLURE E L, WONG C S. Solid phase microextraction of macrolide, trimethoprim, and sulfonamide antibiotics in wastewaters[J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1169(1/2): 53-62.

【责任编辑 李庆玲】