

中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2025)03-0071-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.03.016



超高效液相色谱-串联质谱法测定蛇毒及蛇毒血凝酶制剂中38种药物残留

唐娜,王建山,宋莉,田美虹,王嫦鹤[△]

(陕西省食品药品检验研究院,陕西 西安 710065)

摘要:目的 建立测定蛇毒及蛇毒血凝酶制剂中38种药物残留量的超高效液相色谱-串联质谱法。方法 采用电喷雾正/负离子和多反应监测模式扫描,以0.1%甲酸-0.5 mmol/L乙酸铵水溶液-乙腈为流动相(梯度洗脱),采用Waters Cortecs T₃色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm)进行分离。结果 38种药物在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好($r > 0.994, n = 6$);精密度、稳定性试验结果的RSD均小于4.00%($n = 6$);低、中、高质量浓度的加样回收率分别为78.34%~90.52%、83.61%~105.33%、88.21%~108.50%,RSD分别为2.51%~7.33%、0.84%~5.73%、1.21%~4.94%($n = 3$)。采用该方法检测了4批蛇毒血凝酶制剂和3种蛇毒中38种药物的残留情况,结果均未检出大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类抗菌药物,符合相关要求,但在1批蛇毒中检出了17.2 ng/g氯霉素类抗菌药物氟甲砜霉素残留。结论 该方法操作简便、重复性好、结果准确,适用于蛇毒及蛇毒血凝酶制剂中38种药物残留量的检测,可为蛇毒血凝酶类产品的质量控制在提供参考。

关键词:超高效液相色谱-串联质谱法;蛇毒;蛇毒血凝酶制剂;药物残留

Determination of 38 Kinds of Drug Residues in Venin and Hemocoagulase Preparations by UPLC-MS/MS

TANG Na, WANG Jianshan, SONG Li, TIAN Meihong, WANG Changhe

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi, China 710065)

Abstract: Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the determination of drug residues in venin and hemocoagulase preparations. **Methods** The electrospray positive/negative ion and multi reaction monitoring mode were adopted for scanning. 0.1% formic acid-0.5 mmol/L ammonium acetate aqueous solution-acetonitrile was used as mobile phase (gradient elution), and Waters Cortecs T₃ chromatographic column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm) was used for separation. **Results** A total of 38 drugs showed good linear relationship with peak area within their respective mass concentration ranges ($r > 0.994, n = 6$). The recovery rates of low-, medium-, and high-quality concentrations were in the ranges of 78.34% - 90.52%, 83.61% - 105.33%, and 88.21% - 108.50%, with RSDs of 2.51% - 7.33%, 0.84% - 5.73%, and 1.21% - 4.94% ($n = 3$), respectively. This method was used to detect the residues of 38 drugs in four batches of hemocoagulase preparations and three types of venin. The results showed that no macrolides, sulfonamides, or quinolone antibiotics were detected, which could meet the relevant requirements. However, 17.2 ng/g of chloramphenicol antibiotics (florfenicol) residue was detected in one batch of venin. **Conclusion** This method is simple, sensitive, reproducible, and accurate, which is suitable for the determination of 38 kinds of drug residues in venin and hemocoagulase preparations, and can provide a reference for the quality control of hemocoagulase preparations.

Key words: UPLC-MS/MS; venin; hemocoagulase preparations; drug residues

蛇毒血凝酶类药物是以蝮蛇蛇毒为原料制备的止血药,主要活性成分为蛇毒类凝血酶,可发挥凝血作用^[1-3]。蛇毒类凝血酶制剂为动物源蛋白酶类止血药,有毒性低、起效快、药效持久等特点,近年来临床应用较广泛^[4-7]。抗菌药物不仅可预防和治疗动物疾病,还可作为饲料添加剂以促进动物生长,我国每年生产的抗菌药物有近一半用于畜牧养殖业^[8-10]。磺胺类和喹诺酮类抗菌药物是医药卫生和动物养殖业的常用药物^[11],同样适用于蛇病的预防和治疗。由于饲养蛇的场

地有限,饲养的蛇多数聚集在一个空间内,为了预防和治疗某种蛇病,可能会在蛇的食饵中加入适量蛇用药物,不仅能预防蛇类疾病,还能改善蛇类的新陈代谢,促进生长,提高蛇的成活率。抗菌药物进入动物体后,一部分药物原形及其代谢产物会在动物体内残留,而残留抗菌药物通过食物或药物摄入进入人体后将对人类健康造成严重威胁^[12-16]。目前,抗菌药物等药物残留的检测方法主要有微生物检测法、分子印迹法、酶联免疫吸附试验法、高效液相色谱法、高效液相色谱-串

第一作者:唐娜,女,博士,副主任药师,研究方向为药物质量控制,(电子信箱)tnlb2000@126.com。

[△]通信作者:王嫦鹤,女,博士,主任药师,研究方向为药物质量控制,(电子信箱)45928950@qq.com。

联质谱法等^[17-22]。其中灵敏度和准确度更高、分析速度更快的液质联用法被广泛应用于药物的多种残留成分检测与分析^[23]。本研究中建立了测定蛇毒及蛇毒血凝酶制剂中38种药物残留量的超高效液相色谱-串联质谱法,对大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类、氯霉素类等抗菌药物残留进行了筛查,为蛇毒血凝酶类产品的药物残留测定提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

QTRAP5500型超高效液相色谱-串联质谱仪(上海SCIEX分析仪器贸易有限公司);XPE205型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);超纯水机(美国Millipore公司);H/T16MM型台式高速离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);F-040型超声波清洗机(深圳市福洋超声波清洗设备有限公司,功率为450 W,频率为40 kHz)。

1.2 试剂

甲酸(英国Macklin公司,批号为C12863111);甲醇(批号为P22L306524),乙腈(批号为P23B066125),均购自美国J. T. Baker公司;对照品信息见表1;3种蛇毒(蝰蛇毒、尖吻蝮蛇毒、白眉蛇毒,各1批,编号为Z1-Z3);蛇毒血凝酶制剂(4批,编号为S1-S4)。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Waters Cortecs T₃柱(100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm);流动相A为0.1%甲酸-0.5 mmol/L乙酸铵水溶液,B为乙腈,梯度洗脱(0~0.5 min时5%B, 0.5~2 min时5%B → 60%B, 2~9 min时60%B → 95%B, 9~10 min时95%B, 10~10.1 min时95%B → 5%B, 10.1~14 min时5%B);流速为0.2 mL/min;柱温为40 °C;进样量为5 μL。

质谱条件:电喷雾离子源正/负离子模式,多反应监测(MRM)扫描模式;离子源接口电压为5 500/-4 500 V;离子源温度为550 °C;气帘气压力为35 psi;辅助加热气压力为55 psi;雾化气压力为55 psi。38种药物的总离子流图见图1,质谱参数见表2。

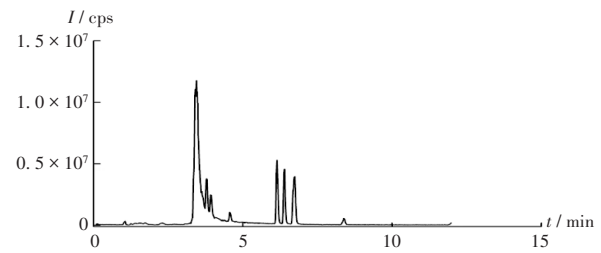


图1 总离子流图

Fig. 1 TIC chromatogram

表1 对照品信息

Tab. 1 Information of references

序号	对照品名称	生产厂家	纯度(%) / 质量浓度(μg/mL)	批号	序号	对照品名称	生产厂家	纯度(%) / 质量浓度(μg/mL)	批号
1	氟霉素	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.20	G138920	20	林可霉素	中国食品药品检定研究院	85.50	130432-201510
2	甲砜霉素	中国食品药品检定研究院	99.90	130433-201103	21	磺胺甲基噻唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.10	Lot:G982705
3	氟苯尼考/氟甲砜霉素	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.30	C13665000	22	磺胺甲噻唑	中国食品药品检定研究院	99.60	100025-201505
4	氟虫腈	天津阿尔塔有限公司	100 ^a	S057311	23	磺胺二甲噻唑	中国食品药品检定研究院	100.00	10098-200804
5	氟甲腈	天津阿尔塔有限公司	100 ^a	S057311	24	磺胺间二甲氧噻唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.40	Lot:G122608
6	氟虫腈砒	天津阿尔塔有限公司	100 ^a	S057311	25	磺胺间甲氧噻唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	97.90	Lot:1092491
7	氟虫腈亚砒	天津阿尔塔有限公司	100 ^a	S057311	26	磺胺噻唑肟	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	98.90	Lot:G131859
8	氟苯尼考胺	北京曼哈格BePure公司	99.80	C0005966	27	磺胺噻唑	中国食品药品检定研究院	99.70	100026-201404
9	盐酸土霉素	北京曼哈格BePure公司	93.40	E0024565	28	磺胺甲氧噻唑	中国食品药品检定研究院	99.80	510085-201401
10	盐酸四环素	中国食品药品检定研究院	98.40	130488-201604	29	磺胺邻二甲氧噻唑	中国食品药品检定研究院	99.20	510119-201501
11	盐酸金霉素	中国食品药品检定研究院	94.10	130489-201403	30	磺胺氯噻唑	中国食品药品检定研究院	99.60	510082-201401
12	多西环素	中国食品药品检定研究院	84.70	130485-201703	31	磺胺噻唑	中国食品药品检定研究院	100.00	510091-201401
13	恩诺沙星	中国食品药品检定研究院	100.00	510117-201501	32	磺胺二甲异噻唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.80	G141722
14	环丙沙星	中国食品药品检定研究院	100.00	130451-201203	33	磺胺甲噻二唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.30	G132677
15	沙拉沙星	北京曼哈格BePure公司	97.70	C0013492	34	甲氧苄啶	中国食品药品检定研究院	99.90	100031-201205
16	诺氟沙星	中国食品药品检定研究院	99.70	130454-202007	35	孔雀石绿	北京曼哈格BePure公司	80.00	D0009225
17	氧氟沙星	中国食品药品检定研究院	99.60	130450-201907	36	隐色孔雀石绿	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.18	G1047714
18	培氟沙星	中国食品药品检定研究院	71.30	130459-201402	37	甲硝唑	中国食品药品检定研究院	100.00	100191-200305
19	替米考星	北京曼哈格BePure公司	90.00	Lot:B0003985	38	二甲硝咪唑/地美硝唑	德国Dr. Ehrenstorfer. GmbH公司	99.46	G151828

注:^a为质量浓度。

Note:^a refers to the mass concentration.

表2 38种药物的质谱参数
Tab.2 MS parameters of 38 kinds of drugs

序号	药物	母离子(m/Z)	定量离子(m/Z)	碰撞能量(eV)	定性离子(m/Z)	碰撞能量(eV)	DP电压(V)	保留时间(min)
1	氟苯尼考胺	247.7	230.0	18	130.2	34	80	2.27
2	土霉素	461.0	443.0	15	426.1	24	80	3.39
3	四环素	445.1	410.3	25	427.0	15	80	3.41
4	金霉素	479.0	444.1	27	462.0	21	80	3.53
5	多西环素	445.1	428.2	23	154.0	35	80	3.57
6	恩诺沙星	360.3	342.3	29	316.4	26	80	3.41
7	环丙沙星	332.2	314.3	25	288.3	22	80	3.38
8	沙拉沙星	386.3	342.3	23	367.8	23	80	3.45
9	诺氟沙星	320.3	302.3	25	276.3	20	80	3.36
10	氧氟沙星	362.2	318.2	22	261.0	34	80	3.37
11	培氟沙星	334.3	316.0	25	290.0	22	80	3.37
12	替米考星	869.5	696.5	55	174.2	55	80	3.42
13	林可霉素	407.2	126.1	34	359.2	25	80	3.31
14	磺胺甲基嘧啶	265.1	156.0	21	172.2	19	80	3.58
15	磺胺甲噁唑	254.1	108.0	32	156.2	20	80	3.79
16	磺胺二甲嘧啶	279.1	186.1	22	156.1	23	80	3.65
17	磺胺间二甲氧嘧啶	311.1	156.0	27	108.1	33	80	3.80
18	磺胺间甲氧嘧啶	281.1	156.1	22	108.1	33	80	3.64
19	磺胺喹噁啉	301.1	156.1	18	108.2	29	80	3.93
20	磺胺嘧啶	251.1	156.1	17	108.3	29	80	3.49
21	磺胺甲氧哒嗪	281.1	156.2	22	108.1	32	80	3.64
22	磺胺邻二甲氧嘧啶	311.1	156.1	22	92.2	37	80	3.79
23	磺胺氯哒嗪	285.3	156.0	17	108.1	32	80	3.74
24	磺胺噻唑	256.1	156.3	17	108.1	28	80	3.46
25	磺胺二甲异噁唑	268.1	156.2	17	113.0	17	80	3.83
26	磺胺甲噻二唑	271.0	156.1	17	108.0	29	80	3.59
27	甲氧苄啶	291.1	230.1	31	261.0	35	80	3.37
28	孔雀石绿	328.8	312.8	46	208.0	44	80	4.58
29	隐色孔雀石绿	330.8	316.2	26	239.3	42	80	8.40
30	甲硝唑	172.1	128.0	20	82.0	31	80	3.39
31	地美硝唑	142.0	96.0	21	81.0	34	80	3.57
32	氯霉素	320.9	151.9	-21	256.9	-16	-80	3.80
33	甲砒霉素	353.9	289.9	-18	184.9	-28	-80	3.52
34	氟甲砒霉素	356.1	336.0	-15	184.9	-27	-80	3.78
35	氟虫腈	435.2	330.0	-18	250.0	-33	-80	6.16
36	氟甲腈	387.1	351.0	-15	282.1	-42	-80	6.40
37	氟虫腈砒	451.3	282.1	-35	244.3	-60	-80	6.70
38	氟虫腈亚砒	419.0	383.2	-16	262.4	-36	-80	6.75

2.2 溶液制备

混合标准溶液:取38种对照品各适量,精密称定,用甲醇溶解并定容,即得混合标准溶液,其中土霉素、四环素、金霉素、多西环素、甲氧苄啶、氟苯尼考胺的质量浓度均为0.5 μg/mL,氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒、氟虫腈亚砒的质量浓度均为250 ng/mL,恩诺沙星、环丙沙星、沙拉沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、培氟沙星、替米

考星、林可霉素、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺噻唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺甲噻二唑、地美硝唑的质量浓度均为50 ng/mL,磺胺甲基嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉、磺胺嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、孔雀石绿、隐色孔雀石绿、甲硝唑的质量浓度均为25 ng/mL,氯霉素、甲砒霉素、氟甲砒霉素的质量浓度均为5.0 ng/mL。

样品前处理:取3种蛇毒(编号为Z1-Z3)各50 mg,精密称定,加入高纯水1 mL使溶解,再加入1 mL 1%甲酸乙腈溶液,超声提取30 min,最后加入0.2 g氯化钠,离心(转速为10 000 r/min)5 min,取上清液,即得蛇毒样品,备用。取注射用白眉蛇毒血凝酶1支,加入高纯水1 mL使溶解,再加入1 mL 1%甲酸乙腈溶液,超声提取30 min,加入0.2 g氯化钠,离心(转速为10 000 r/min)5 min,取上清液,即得注射用蛇毒血凝酶制剂。精密量取蛇毒血凝酶注射液1 mL,加入1 mL 1%甲酸乙腈溶液,超声提取30 min,再加入0.2 g氯化钠,离心(转速为10 000 r/min)5 min,取上清液,即得注射剂样品。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取2.2项下混合标准溶液适量,用1%甲酸乙腈溶液稀释,制成系列混合工作溶液,按2.1项下试验条件进样测定。以各待测成分的质量浓度(X)为横坐标、其对应峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程。结果见表3,表明38种药物在相应质量浓度范围内与峰面积线性关系良好($r > 0.994, n = 6$)。

精密度试验:精密量取线性关系考察项下中间浓度的混合工作溶液,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果38种待测成分峰面积的RSD均小于3.02%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

定量限确定:精密量取混合工作溶液适量,逐级稀释,按2.1项下试验条件进样测定,以10倍信噪比(S/N)时的质量浓度为方法定量限。结果见表3。

稳定性试验:按线性关系考察项下方法制备系列混合工作溶液,分别放置0,2,4,8,12,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果的RSD均小于3.93%($n = 6$),表明38种药物室温下放置24 h内稳定性良好。

加样回收试验:精密量取2.2项下混合标准溶液适量,制备38种药物50%,75%,100%质量浓度的标准溶液,每个质量浓度平行3份,按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果低质量浓度的回收率为78.34%~90.52%,RSD为2.51%~7.33%($n = 3$);中质量浓度的回收率为83.61%~105.33%,RSD为0.84%~5.73%($n = 3$);高质量浓度的回收率为88.21%~108.50%,RSD为1.21%~4.94%($n = 3$)。

2.4 基质效应分析

考虑到基质效应的影响,建立方法前必须对目标物质的基质效应进行评估,比较空白基质溶液和1%甲酸乙腈溶液的基质效应(ME)值,ME值在80%~120%范围内则为无明显基质效应。结果38种药物的ME值介于80.5%~118.7%,故可认定为基质效应不明显。

2.5 样品含量测定

取不同厂家的蛇毒(编号为Z1-Z3)和蛇毒血凝酶

表3 38种药物线性关系考察与定量限确定结果($n = 6$)

Tab.3 Results of the linear relation test and limits of quantification of 38 kinds of drugs ($n = 6$)

药物	回归方程	r	线性范围 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
氟苯尼考胺	$Y = 20\,741.400\,39 X + 2.367\,55 \times 10^5$	0.998 88	10~200	10.0
土霉素	$Y = 8\,954.343\,90 X + 2.720\,17 \times 10^5$	0.999 25	10~200	10.0
四环素	$Y = 6.473\,78 \times 10^4 X + 1.099\,84 \times 10^5$	0.998 47	10~200	10.0
金霉素	$Y = 6.416\,80 \times 10^5 X - 3.537\,68 \times 10^5$	0.995 13	10~200	10.0
多西环素	$Y = 5.834\,54 \times 10^5 X - 3.517\,64 \times 10^5$	0.995 82	10~200	10.0
恩诺沙星	$Y = 4.947\,21 \times 10^5 X + 1.154\,01 \times 10^5$	0.999 01	1~20	1.0
环丙沙星	$Y = 1.059\,36 \times 10^5 X + 4.759\,17 \times 10^4$	0.995 33	1~20	1.0
沙拉沙星	$Y = 5.339\,68 \times 10^4 X + 2.806\,64 \times 10^4$	0.997 77	1~20	1.0
诺氟沙星	$Y = 1.448\,59 \times 10^5 X + 8.793\,99 \times 10^4$	0.999 56	1~20	1.0
氧氟沙星	$Y = 6.769\,78 \times 10^4 X + 2.930\,74 \times 10^4$	0.999 29	1~20	1.0
培氟沙星	$Y = 3.938\,48 \times 10^5 X + 2.182\,11 \times 10^5$	0.999 39	1~20	1.0
替米考星	$Y = 1.070\,58 \times 10^{11} X - 1.294\,03 \times 10^3$	0.995 51	1~20	1.0
林可霉素	$Y = 2.714\,15 \times 10^5 X + 6.001\,12 \times 10^4$	0.998 92	1~20	1.0
磺胺甲基噻唑	$Y = 7.687\,46 \times 10^4 X - 5.256\,26 \times 10^3$	0.994 79	0.5~10	0.5
磺胺甲噁唑	$Y = 5.156\,99 \times 10^4 X + 1.637\,68 \times 10^4$	0.997 27	0.5~10	0.5
磺胺二甲噻唑	$Y = 1.944\,05 \times 10^5 X - 2.488\,83 \times 10^4$	0.995 77	0.5~10	0.5
磺胺间二甲氧噻唑	$Y = 4.263\,66 \times 10^5 X - 2.506\,05 \times 10^4$	0.997 13	0.5~10	0.5
磺胺间甲氧噻唑	$Y = 2.440\,86 \times 10^5 X - 2.468\,85 \times 10^3$	0.996 21	0.5~10	0.5
磺胺喹噁啉	$Y = 8.397\,48 \times 10^4 X - 1.992\,70 \times 10^3$	0.997 64	0.5~10	0.5
磺胺嘧啶	$Y = 1.969\,94 \times 10^4 X - 6.326\,90 \times 10^3$	0.995 09	0.5~10	0.5
磺胺甲氧吡嗪	$Y = 2.129\,56 \times 10^5 X + 5.186\,77 \times 10^3$	0.995 59	0.5~10	0.5
磺胺邻二甲氧噻唑	$Y = 3.683\,18 \times 10^5 X - 3.708\,25 \times 10^4$	0.995 65	1~20	1.0
磺胺氯吡嗪	$Y = 5.717\,58 \times 10^4 X - 3.866\,38 \times 10^3$	0.996 48	1~20	1.0
磺胺噻唑	$Y = 1.966\,95 \times 10^4 X - 1.254\,17 \times 10^4$	0.994 81	1~20	1.0
磺胺二甲异噁唑	$Y = 7.204\,58 \times 10^4 X - 1.175\,86 \times 10^4$	0.998 44	1~20	1.0
磺胺甲噻二唑	$Y = 4.865\,87 \times 10^4 X + 3.358\,08 \times 10^3$	0.996 45	1~20	1.0
甲氧苄啶	$Y = 1.140\,41 \times 10^5 X + 7.702\,13 \times 10^4$	0.999 45	10~200	10.0
孔雀石绿	$Y = 5.967\,41 \times 10^5 X - 1.087\,68 \times 10^4$	0.999 13	0.5~10	0.5
隐色孔雀石绿	$Y = 2.647\,60 \times 10^5 X + 1.342\,29 \times 10^4$	0.996 79	0.5~10	0.5
甲硝唑	$Y = 4.680\,31 \times 10^4 X + 9.020\,53 \times 10^3$	0.998 49	0.5~10	0.5
地美硝唑	$Y = 9.003\,52 \times 10^4 X - 1.130\,09 \times 10^3$	0.995 01	1~20	1.0
氯霉素	$Y = 7.581\,46 \times 10^4 X + 3.640\,35 \times 10^3$	0.999 30	0.1~2.0	0.1
甲砒霉素	$Y = 1.604\,34 \times 10^4 X + 9.557\,33 \times 10^3$	0.995 35	0.1~2.0	0.1
氟甲砒霉素	$Y = 2.232\,87 \times 10^5 X - 1.055\,54 \times 10^3$	0.996 47	0.1~2.0	0.1
氟虫腈	$Y = 2.746\,60 \times 10^6 X + 1.026\,00 \times 10^6$	0.995 58	5~100	5.0
氟甲腈	$Y = 3.015\,13 \times 10^5 X + 5.626\,53 \times 10^5$	0.997 95	5~100	5.0
氟虫腈砒	$Y = 1.580\,26 \times 10^6 X + 1.949\,48 \times 10^5$	0.998 97	5~100	5.0
氟虫腈亚砒	$Y = 1.336\,74 \times 10^6 X + 2.714\,30 \times 10^5$	0.997 42	5~100	5.0

制剂(编号为S1-S4),按2.2项下样品前处理方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定。结果大环内酯类、磺胺类和喹诺酮类抗菌药物在4批制剂(S1-S4)和3种蛇毒(Z1-Z3)中均未检出,均符合相关要求;在

1批蛇毒中检出了17.2 ng/g 氯霉素类抗菌药物氟甲砜霉素(又名氟苯尼考)残留。

3 讨论

生化药品是指从动物或人的器官、组织、体液或分泌物中经提取、分离、纯化等制得的单一或多组分药品。蛇毒和蛇凝血酶均属生化药品。目前,动物来源的生化药品内控标准不全面,尤其应对动物来源原材料的控制,动物的健康状况直接影响最终产品的质量。现行质量标准也未对动物来源原材料的药物残留进行有效控制。

本研究中考虑到蛇凝血酶为经蛇的毒液分离纯化得到的活性成分,蛇的健康状况直接影响其蛇毒的质量,进而影响最终产品的质量。为确保用药安全,采用超高效液相色谱-串联质谱法对蛇毒及蛇凝血酶制剂中可能存在的大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类和氯霉素类抗菌药物进行了筛查,结果3种类型的蛇毒和4批蛇凝血酶制剂中均未检出大环内酯类、磺胺类药、喹诺酮类抗菌药物,1批蛇毒中检出氯霉素类抗菌药物的氟甲砜霉素(又名氟苯尼考)。提示蛇的饲养过程中存在一定药物残留风险,企业应严格把控蛇的饲养条件,以提高蛇毒及蛇凝血酶制剂的产品质量。

蛇凝血酶是具有止血作用的蛋白酶类制剂,本研究中根据蛇凝血酶制剂的特点不断试验,最终确定采用乙腈为主要提取溶剂。乙腈具有沉淀蛋白和减少基质效应的作用,且待测药物成分在乙腈中的溶解性较好;另外,通过氯化钠饱和水溶液,可使乙腈与水分层,从而提高提取效率。

本研究中建立的方法操作简便、准确度高、重复性好,能有效控制生化药品蛇毒及蛇凝血酶制剂中的药物残留量,可为其质量控制提供参考。

参考文献

[1] 刘艳坡,孔毅,李谦. 蛇毒类凝血酶的研究进展[J]. 药物生物技术,2017,24(4):353-358.
[2] 傅宏义,周磊. 蛇毒类凝血酶的研究进展[J]. 中国药学杂志,2008,43(4):245-247.
[3] 咸瑞卿,杭宝建,巩丽萍,等. 基于特征肽的超高效液相色谱-串联质谱法检测矛头蝮蛇毒种属来源及类凝血酶含量[J]. 色谱,2022,40(9):810-816.
[4] 郑子恢,潘慧杰,张伟伟,等. 蛇毒类凝血酶在外科手术中止血效果的网状meta分析[J]. 临床药物治疗杂志,2023,21(10):46-51.
[5] 陈赫军,李洁,何芳,等. 3种蛇毒类凝血酶制剂在外科手术中的止血作用和经济学研究[J]. 中国医院药学杂志,2017,37(17):1735-1738.
[6] 郑颖,沈居仁,范泉水. 蛇凝血酶的比较[J]. 蛇志,2008,20(3):218-219.

[7] 颜楠,韩峰,郝晓柯. 临床常用蛇毒类凝血酶制剂对凝血指标的影响[J]. 检验医学,2019,34(2):162-164.
[8] 唐艳红,罗双群,杨梦冉,等. 动物源性食品中抗生素残留、耐药细菌的分布及耐药基因的水平传播[J]. 食品安全质量检测学报,2023,14(20):227-235.
[9] 姬书会,邱孜博. 我国畜牧业中滥用抗生素的危害和对策[J]. 中国畜禽种业,2022,18(12):59-62.
[10] 王晓茵,宋翠平,孙晓亮,等. 改良柱前荧光胺衍生化-高效液相色谱法测定猪肉中11种磺胺类药物残留[J]. 肉类研究,2022,36(2):33-38.
[11] 张楠,唐增煦,王莉莉,等. 超高效液相色谱-串联质谱筛查确证尿液中磺胺、喹诺酮与四环素抗生素[J]. 分析测试学报,2023,42(10):1343-1350.
[12] 沈可伊,邹晓霜,王军. 高效液相色谱-串联质谱测定虾肉中四种兽药残留及其热稳定性分析[J]. 食品与发酵工业,2022,48(22):263-268.
[13] 乔凤霞,孙汉文,刘广宇,等. 基质固相分散-牛奶、蜂蜜中喹诺酮的多残留分析[J]. 河北大学学报(自然科学版),2008,28(6):620-624.
[14] 季宝成,杨澜瑞,程迎新,等. 改良 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定乌鸡肉中35种兽药残留[J]. 质谱学报,2023,44(6):807-819.
[15] 剧泽佳,付雨,赵鑫宇,等. 喹诺酮类抗生素在城市典型水环境中的分配系数及其主要环境影响因子[J]. 环境科学,2022,43(9):4543-4555.
[16] 仝凯旋,常巧英,谢瑜杰,等. 一步式 QuEChERS 结合液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱同时筛查与分析生牛乳中153种兽药残留[J]. 分析测试学报,2023,42(10):1279-1290.
[17] 吴芹,王玉莲,袁宗辉. 动物源性食品中抗菌药残留的微生物学检测技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2017,44(11):3340-3350.
[18] 陈霞,杨晓霞,骆朋辉,等. 高灵敏度酶联免疫法快速检测动物源性产品中氯霉素残留的研究[J]. 中国畜牧兽医,2013,40(6):233-236.
[19] 赵广丽,张悦,孙大妮,等. 分子印迹技术用于抗生素残留检测的研究进展[J]. 化学试剂,2022,44(9):1350-1359.
[20] 李晓翠,曹国颖,刘茜,等. 高效液相色谱法测定多粘菌素 B₁ 在大鼠体内的浓度[J]. 中国临床药理学杂志,2012,28(3):200-202.
[21] 张健威,梁延鹏,覃礼堂,等. 加速溶剂萃取-固相萃取-超高效液相色谱/三重四极杆质谱法测定沉积物中10种磺胺类抗生素残留[J]. 分析科学学报,2023,39(1):54-60.
[22] 董恒涛,艾芸,李月琪,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水产养殖水体中21种磺胺类抗生素残留量[J]. 环境化学,2023,42(2):671-674.
[23] 郭文建,张慧,王桂勋,等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定废水中12种抗生素的含量[J]. 理化检验:化学分册,2022,58(4):387-394.

(收稿日期:2023-12-21;修回日期:2024-09-11)