

实验技术与方法

椰毒假单胞菌酵米面亚种选择性分离培养基的比较研究

黄伟峰¹,黄玉兰¹,杨祖顺²,张林¹,刘丽¹,李莉¹,杨小蓉¹

(1.四川省疾病预防控制中心,四川 成都 610041; 2.云南省疾病预防控制中心,云南 昆明 650034)

摘要:目的 比较4种椰毒假单胞菌酵米面亚种选择性分离培养基(马铃薯葡萄糖琼脂,PDA;改良马铃薯葡萄糖琼脂,mPDA;椰毒假单胞菌酵米面亚种分离琼脂,PCFA;银耳卵黄霉素琼脂,TYCA)的分离效果,为修订GB/T 4789.29—2003《食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验》提供技术支持。方法 接种椰毒假单胞菌酵米面亚种于4种选择性分离培养基,观察各培养基上目标菌菌落形态,计算生长率;接种10种常见致病菌和环境常见菌于4种选择性分离培养基,进行生长特异性试验;通过直接涂布和增菌划线的加标试验,验证这4种选择性分离培养基对粪便、食品和环境土壤等不同标本/样品中椰毒假单胞菌酵米面亚种的分离检出情况。结果 mPDA和PCFA能够分别抑制8种和6种致病菌的生长,且椰毒假单胞菌酵米面亚种的生长率都高于75%;在mPDA和PCFA上,目标菌与多数杂菌形态有明显区别,而在PDA和TYCA上,形态相近不易区分;在粪便、土壤和食品等不同标本/样品的直接涂布和增菌划线分离的加标试验中,mPDA和PCFA上的检出率均超过80%,明显高于PDA和TYCA。结论 mPDA和PCFA分离效果比原标准的PDA明显提高,建议在标准修订中增加此两种选择性分离培养基。

关键词:椰毒假单胞菌酵米面亚种;选择性培养;培养基;分离培养;食源性致病菌;比较

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2018)04-0391-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.04.011

Comparative study of selective culture medium of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*

HUANG Wei-feng¹, HUANG Yu-lan¹, YANG Zu-shun², ZHANG Lin¹, LIU Li¹,
LI Li¹, YANG Xiao-rong¹

(1. Sichuan Province Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China;

2. Yunnan Province Center for Disease Control and Prevention, Yunnan Kunming 650034, China)

Abstract: Objective To study and compare the separation effect of four types of selective culture media for *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*, including potato dextrose agar (PDA), modified potato dextrose agar (mPDA), *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* agar (PCFA) and tremella yolk chloramphenicol agar (TYCA), and provide technical support for the national standard GB/T 4789.29-2003. **Methods** *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* was inoculated on four types of media, the colony morphology and the growth rate were observed. Specificity test of growth status was carried out on four types of media by inoculating ten types of pathogenic bacteria and common environmental bacteria. The separation effect of four types of media was verified in different standard strain-added samples, including stool food and soil, by directly coating and enrichment streaking. **Results** The growth of 8 and 6 pathogenic bacteria could be inhibited respectively on mPDA and PCFA, and the growth rate of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* could reach above 75%. The target bacteria in mPDA and PCFA had showed apparent difference compared with most of the interfering bacteria; while the difference of their colonies was not significant in PDA medium and TYCA. In the standard strain-added experiments, both directly coating and enrichment streaking of different samples such as stool, soil and food, the detection rate of mPDA and PCFA was above 80%, and was significantly higher than that of PDA and TYCA. **Conclusion** The separation effect of mPDA and PCFA was significantly better than that of PDA, and these two selective media could be added to the revised standard.

Key words: *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*; selective culture; culture medium; isolated culture; foodborne pathogenic bacteria; compare

收稿日期:2018-02-24

作者简介:黄伟峰 男 主管技师 研究方向为微生物检验 E-mail:hyc0608@163.com

通信作者:杨小蓉 女 主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail:yangyangxr@163.com

椰毒假单胞菌酵米面亚种 (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*), 由中国预防医学科学院卫生研究所于1977年对多起酵米面引起的食物中毒研究中分离^[1], 初命名为酵米面黄杆菌^[2], 其临床症状一般表现为头晕、乏力、腹胀、呕吐, 乃至昏迷, 且病死率高达40%~100%^[3]。病因多为酵米面^[4]和变质银耳^[5]等食品污染了该菌, 引起食物中毒和死亡的主要原因是其产生的米酵菌酸^[6]。

目前, 椰毒假单胞菌酵米面亚种分离鉴定标准采用的分离培养基马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)选择性不强, 样品经过增菌或者直接划线接种在培养基, 杂菌多, 干扰大, 目标菌落特征不明显, 检出率低。为提高检出率, 国内研究人员研制出多种特异性较强的分离培养基, 如王淑真等^[7]的银耳卵黄培养基、何树森等^[8]的椰毒假单胞菌酵米面亚种分离琼脂(PCFA)。本研究改进并验证这些选择性分离培养基的分离效果, 为修订GB/T 4789.29—2003《食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验》^[9]提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株

目标菌为3株椰毒假单胞菌酵米面亚种, 试验对照菌为10株常见致病菌和环境常见菌, 见表1。

表1 试验菌株信息

Table 1 Information of experimental strains

菌株编号	菌株名称	菌株来源
CICC 10574	椰毒假单胞菌酵米面亚种	云南省疾病预防控制中心
YN201201	椰毒假单胞菌酵米面亚种	云南省疾病预防控制中心(疫情分离株)
YN201402	椰毒假单胞菌酵米面亚种	云南省疾病预防控制中心(疫情分离株)
ATCC 10031	肺炎克雷伯菌	本实验室保存
ATCC 29213	金黄色葡萄球菌	本实验室保存
ATCC 11778	蜡样芽胞杆菌	本实验室保存
CMCC 50746	肠炎沙门菌	本实验室保存
CMCC 45103	产气肠杆菌	本实验室保存
ATCC 25931	宋内志贺菌	本实验室保存
ATCC 25922	大肠埃希菌	本实验室保存
ATCC 23355	阴沟肠杆菌	本实验室保存
ATCC 43864	弗氏柠檬酸菌	本实验室保存
ATCC 10104	铜绿假单胞菌	本实验室保存

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK II Compact 全自动生化测定仪(法国Biomerieux), 显微镜(日本Nikon), 恒温培养箱, 生物安全柜, 水浴锅, 高压灭菌锅, 电陶炉等。

血琼脂平板(郑州安图), 革兰染液、氧化酶、API 20NE 生化鉴定试剂盒及配套试剂、VITEK II Compact GN 卡均购自法国Biomerieux, 脑心浸液肉汤(英国OXOID), 龙胆紫、氯霉素、硫酸多粘菌素B、林可霉素均购自北京索莱宝科技有限公司。

PDA、GVC 增菌液按照GB/T 4789.29—2003^[9]配制; 改良马铃薯葡萄糖琼脂(mPDA)在PDA基础上, 每100 ml PDA 中加入1 mg/ml 的龙胆紫溶液1 ml、2 mg/ml 的氯霉素溶液1 ml; PCFA 参考何树森等^[8]配方; 银耳卵黄氯霉素琼脂(TYCA)参考王淑真等^[7]配方。

1.2 方法

1.2.1 目标菌在4种选择性分离培养基上的菌落特征

取菌株YN201201、YN201402及CICC 10574直接划线接种于4种选择性分离培养基(PDA、mPDA、PCFA、TYCA), 36℃培养48 h, 观察特征菌落形态。

1.2.2 生长率试验

取菌株YN201201、YN201402及CICC 10574的18~24 h 培养物, 用无菌生理盐水配制1麦氏浊度(MCF)菌悬液, 10倍倍比稀释, 取 10^{-5} 和 10^{-6} 稀释液各0.1 ml, 分别接种至血琼脂平板和4种选择性分离培养基, 36℃培养48 h 计数, 以血琼脂平板为对照培养基, 计算各种培养基的生长率。

1.2.3 特异性试验

取10种对照菌株的18~24 h 培养菌液, 按照GB 4789.28—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》^[10]接种至4种选择性分离培养基进行特异性试验。

1.2.4 模拟试验

1.2.4.1 加标直接涂布接种

取菌株YN201201、YN201402及CICC 10574的18~24 h 培养物, 制备1 MCF 菌悬液, 梯度稀释。取1 g 粪便加入9 ml 生理盐水, 分别加入3种菌悬液的 10^{-4} 和 10^{-5} 两个稀释度各1 ml; 取5 g 土壤加入45 ml 生理盐水, 分别加入3种菌悬液的 10^{-4} 和 10^{-5} 两个稀释度各5 ml; 取25 g 食品加入225 ml 生理盐水, 分别加入3种菌悬液的 10^{-3} 和 10^{-4} 两个稀释度各1 ml。

将以上模拟样品/标本混匀, 各取0.1 ml 直接涂布于4种选择性分离培养基, 36℃培养48 h, 观察各培养基上菌落生长情况。

1.2.4.2 加标增菌后划线接种

取菌株YN201201、YN201402及CICC 10574的18~24 h 培养物, 制备1 MCF 菌悬液, 梯度稀释。取1 g 粪便加入9 ml GVC 增菌液, 分别加入3种菌

悬液的 10^{-6} 稀释度各 1 ml;取 5 g 土壤加入 45 ml GVC 增菌液,分别加入 3 种菌悬液的 10^{-6} 稀释度各 5 ml;取 25 g 食品加入 225 ml GVC 增菌液,分别加入 3 种菌悬液的 10^{-5} 稀释度各 1 ml。

将以上模拟样品/标本混匀,于 36 °C 培养 48 h,用接种环直接划线于 4 种选择性分离培养基,再于 36 °C 培养 48 h,观察各培养基上菌落生长情况。

1.2.5 生化鉴定

每个平板各挑取 5 个可疑菌落(不到 5 个全

部挑取),先进行革兰染色和氧化酶试验,结果均为阴性的菌株用 API 20NE 和 VITEK II Compact 进行鉴定。

2 结果

2.1 菌落生长特性

3 株椰毒假单胞菌酵米面亚种菌株,在 4 种选择性分离培养基上 36 °C 培养 48 h 后的菌落形态见表 2。

表 2 椰毒假单胞菌酵米面亚种在不同选择性分离培养基上的菌落特征

Table 2 Colony characteristic of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* on different selective culture media

培养基	菌落特征
mPDA	菌落 1~2 mm,深紫色,光滑、湿润、边缘整齐,培养 48 h 后,中心有凸起呈草帽状
PCFA	菌落 0.5~1 mm,灰白色,光滑、湿润、边缘整齐
PDA	菌落 1~2 mm,灰白或乳白色,光滑、湿润、边缘整齐,培养 48 h 后,中心有凸起呈草帽状,菌落周围有黄绿色素扩散到基质中
TYCA	菌落 2~3 mm,表面光滑、湿润,培养 48 h 后,菌落周围形成乳白色混浊环,斜射日光下可见菌落及周围培养基表面呈彩虹现象

2.2 生长率试验

椰毒假单胞菌酵米面亚种在 PDA、mPDA、PCFA、TYCA 上的生长率均大于 75%,分别为 100%、86%、84% 和 91%。

2.3 特异性试验

10 种常见环境干扰菌和肠道致病菌在 4 种选择性分离培养基上的生长情况见表 3。10 种菌均能在 PDA 上生长;除阴沟肠杆菌和铜绿假单胞菌外,其他 8 种菌均不能在 mPDA 上生长;除阴沟肠杆菌和铜绿假单胞菌外,产气肠杆菌、弗氏柠檬酸菌在 PCFA 和 TYCA 上也能少量生长,而其他 6 种菌均被抑制。mPDA 和 PCFA 上培养 48 h 后目标菌与大多数干扰菌株形态有明显区别,而 PDA 和 TYCA 上目标菌与干扰菌株形态不易区分。

表 3 各选择性分离培养基特异性生长试验

Table 3 Specificity test of growth status on different selective culture media

菌株	PDA	mPDA	PCFA	TYCA
肺炎克雷伯菌	+	-	-	-
金黄色葡萄球菌	+	-	-	-
蜡样芽胞杆菌	+	-	-	-
肠炎沙门菌	+	-	-	-
产气肠杆菌	+	-	+	+
宋内志贺菌	+	-	-	-
大肠埃希菌	+	-	-	-
阴沟肠杆菌	+	+	+	+
弗氏柠檬酸菌	+	-	+	+
铜绿假单胞菌	+	+	+	+

注: + 表示生长; - 表示不生长

2.4 模拟试验

2.4.1 加标直接涂布接种

食品样品在 mPDA 和 PCFA 上的总菌落数不多,杂菌少,且目标菌和杂菌菌落形态差别明显,分

别为 1 mm 左右的蓝色菌落和 0.5~1 mm 的白色菌落,容易区分。在 TYCA 上,总菌落数和杂菌均较多,目标菌有一圈白色晕环,易与杂菌区分。在 PDA 上,总菌落数和杂菌均较多,目标菌为 1 mm 左右的白色菌落,与多数杂菌区别明显。

粪便标本在 mPDA 和 PCFA 上的生长情况同食品样品相似,但在 mPDA 上的部分蓝色疑似菌落经鉴定为非目标菌。在 PDA 和 TYCA 上,杂菌较多,且与目标菌落形态相近,排除氧化酶阳性的疑似菌落,经鉴定多为大肠埃希菌、不动杆菌等常见肠道细菌。

土壤样品在 PDA 和 TYCA 上有大量霉菌,且杂菌较多,形态多样,疑似菌少。在 PCFA 平板上也有霉菌生长,杂菌多,但菌落大,易与疑似菌菌落区分。在 mPDA 平板上无霉菌生长,杂菌少,且易与疑似菌菌落区分。

不同样品/标本的目标菌在不同选择性分离培养基上的检出情况见表 4,目标菌在 mPDA 和 PCFA 平板上的检出率分别为 83.33% (15/18) 和 88.89% (16/18),明显高于 PDA (27.78%, 5/18) 和 TYCA (44.44%, 8/18)。

2.4.2 加标增菌后划线接种

样品/标本经过增菌后,目标菌在 4 种选择性分离培养基上的菌落形态同直接涂布于培养基上目标菌的菌落形态相似,但菌落稍小。杂菌的菌落形态种类较直接涂布变少,但杂菌数量增加,尤其在 PDA 和 TYCA 平板上,且杂菌和目标菌形态相近,导致目标菌检出率不高。而在 mPDA 和 PCFA 平板上,目标菌的形态比较容易与杂菌区别。不同样品/标本的目标菌增菌划线于不同选择性分离培养基上的检出情况见表 5,目标菌在 mPDA 和 PCFA

表4 各种样品/标本直接涂布在不同选择性分离培养基上的检出情况

Table 4 Detection of various samples directly coating on different selective culture media

样品/标本类型	菌株编号	接种浓度	培养基名称			
			PDA	mPDA	PCFA	TYCA
粪便	YN201201	10 ⁻⁴	-	+	+	-
		10 ⁻⁵	-	-	+	-
	YN201402	10 ⁻⁴	-	+	+	-
		10 ⁻⁵	-	+	+	-
	CICC 10574	10 ⁻⁴	-	+	+	-
		10 ⁻⁵	-	+	+	-
土壤	YN201201	10 ⁻⁴	-	-	+	-
		10 ⁻⁵	-	-	+	-
	YN201402	10 ⁻⁴	-	+	-	-
		10 ⁻⁵	-	+	-	-
	CICC 10574	10 ⁻⁴	+	+	+	+
		10 ⁻⁵	-	+	+	+
食品	YN201201	10 ⁻³	-	+	+	+
		10 ⁻⁴	-	+	+	+
	YN201402	10 ⁻³	+	+	+	+
		10 ⁻⁴	+	+	+	+
	CICC 10574	10 ⁻³	+	+	+	+
		10 ⁻⁴	+	+	+	+

注: + 表示检出; - 表示未检出

表5 各种样品/标本增菌后划线不同选择性分离培养基上的检出情况

Table 5 Detection of various samples enrichment streaked on different selective culture media

样品/标本类型	菌株编号	培养基名称			
		PDA	mPDA	PCFA	TYCA
粪便	YN201201	+	+	+	+
	YN201402	-	+	+	+
	CICC 10574	-	+	+	-
土壤	YN201201	-	+	+	+
	YN201402	-	+	-	-
	CICC 10574	-	+	+	-
食品	YN201201	+	+	+	+
	YN201402	+	+	+	+
	CICC 10574	-	+	+	-

注: + 表示检出; - 表示未检出

上的检出率分别为 100.00% (9/9) 和 88.89% (8/9), 明显高于 PDA (33.33%, 3/9) 和 TYCA (55.56%, 5/9)。

3 讨论

椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒具有明显的风险食品分布和地域分布, 目前已有超过 16 个省份发现由其引起的食物中毒^[11], 主要分布地区为东北、华北和西南省份的卫生条件差的农村地区。主要风险食品为家庭自制的发酵玉米面制品、变质银耳及变质淀粉类制品, 如糯米汤团、吊浆粑、小米或高粱米面制品、马铃薯粉条等, 尤其是酵米面, 制作过程中极易受到椰毒假单胞菌的污染^[12]。由于其极高的病死率^[13], 造成了极大的经

济损失和不良的社会影响, 快速准确地检出致病菌, 可以指导医生对患者进行有效地救治; 追溯到污染源, 可以避免中毒事件的发生^[14]。

同时, 随着我国居民生活水平的提高和卫生意识的提高, 椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒有逐渐减少的趋势。很多实验室多年未开展此菌检测, 缺乏相关经验, 易导致漏检, 主要有两方面原因: 其一, 此菌在 GB 4789.28—2003 规定的选择性分离培养基 PDA 上特异性不高; 其二, 由于培养时间、菌株生化反应差异等因素, 用 VITEK II 进行生化鉴定, 可能会得到洋葱伯克霍尔德菌群 (*Burkholderia cepacia* group)、泛菌属 (*Pantoea* spp.)、稻皮假单胞菌 (*Pseudomonas oryzae*) 及鲁氏不动杆菌 (*Acinetobacter lwoffii*) 的结果; 因此, 除了结合米酵菌酸测定、聚合酶链式反应 (PCR) 基因序列^[15]等方法辅助鉴定, 使用特异性高的选择性分离培养基更能有效提高检出率。

本试验通过对 4 种选择性分离培养基比对研究发现, mPDA 和 PCFA 对除椰毒假单胞菌酵米面亚种外的一些常见致病菌具有良好的抑制作用, 尤其是在 mPDA 上, 本试验采用的 10 种干扰菌株中只有 2 种能生长。在菌落形态方面, 椰毒假单胞菌酵米面亚种在 mPDA 和 PCFA 上有较明显的菌落特征, 比在 PDA 和 TYCA 上能更准确挑取到目标菌。在样品/标本的加标试验中, 无论是直接涂布还是增菌后划线分离, mPDA 和 PCFA 的检出情况明显优于 PDA 和 TYCA。mPDA 和 PCFA 无论是在抑制杂菌生长的特异性、菌落特征的独特性, 还是在检出灵敏度上都较 PDA 有明显的改善。为提高检出效率, 建议在分离椰毒假单胞菌酵米面亚种时同时使用分离效果较好的 mPDA 和 PCFA 两种选择性分离培养基。

参考文献

- [1] 酵米面中毒病因研究协作组. 酵米面中毒病因的研究——发现一种新的食物中毒菌: 酵米面黄杆菌 (*Flavobacterium farinofermentans* n. sp.) [J]. 中国医学科学学报, 1980, 2(2): 77-82.
- [2] 孟昭赫, 苏翠华, 李兆普, 等. 酵米面黄杆菌与椰毒假单胞菌的对比研究 [J]. 卫生研究, 1987, 16(6): 17-22.
- [3] 焦振泉, 刘秀梅, 杨瑞馥, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种 16S rDNA 序列测定与分析 [J]. 卫生研究, 1999, 28(4): 232-235.
- [4] 杨庆文, 国译丹, 周惠新, 等. 云南省首起唐菖蒲伯克霍尔德菌食物中毒的鉴定与分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(17): 3363-3367.
- [5] 张俊梅. 一起因食用变质银耳引起的椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒调查报告 [J]. 中国医药指南, 2015, 13(3): 286-287.
- [6] 王岗, 郭云昌, 裴晓燕. 米酵菌酸的生物合成及其机制研究进

- 展[J]. 卫生研究, 2012, 41(2): 341-344.
- [7] 王淑真, 杨宝兰, 王淑颖, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种新鉴别培养基的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1989, 1(3): 10-12.
- [8] 何树森, 吴乐, 骆世银, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种选择性培养基研究[J]. 中国公共卫生, 1994, 10(12): 547-548.
- [9] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化委员会. 食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验: GB/T 4789. 29—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求: GB 4789. 28—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [11] 李晓琍, 杨祖顺, 国译丹, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒的病原分离鉴定[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 36-39.
- [12] 赵怀龙, 付留杰, 唐功臣. 我国主要的食源性致病菌[J]. 医学动物防制, 2012, 28(11): 1212-1216.
- [13] 焦振泉, 曹玮, 余东敏, 等. 椰毒假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌 16S~23S rRNA 基因间区序列的比较研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(3): 197-203.
- [14] 田维丽, 周长林, 潘俊. 一起椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒调查[J]. 安徽预防医学杂志, 2010, 16(1): 63-64.
- [15] 黄庭轩, 赵梦馨, 周帼萍, 等. 利用 *recA* 基因序列分析鉴定云南酵米面中伯克霍尔德菌属分离株[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(5): 526-533.

实验技术与方法

QuEChERS-固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法快速测定鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢产物

夏义平¹, 尹啸冰², 林肖惠¹, 田阳光²

(1. 天津市疾病预防控制中心, 天津 300011; 2. 天津市河西区疾病预防控制中心, 天津 300201)

摘要:目的 建立一种 QuEChERS-固相萃取(SPE)-高效液相色谱-串联质谱快速测定鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢产物残留的方法。方法 鸡蛋和鸡肉样品经水-乙腈涡旋提取、QuEChERS 盐析, SPE 净化后, 以 XR-ODS 柱(50 mm×3.0 mm, 2.0 μm)为分析柱, 以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 以负离子喷雾模式电离, 多反应离子监测方式进行定性及定量检测。结果 在 0.5~20.0 μg/L 的线性范围内, 氟虫腈及其代谢产物的回归方程均呈良好的线性关系, $r > 0.999 2$ 。氟虫腈、氟虫腈亚砷、氟虫腈砷、氟甲腈的检出限分别为 0.2、0.05、0.05、0.05 μg/kg, 在添加水平为 0.5、2.0、10.0 μg/kg 时, 平均回收率在 84.1%~105.2% 之间, 相对标准偏差(RSD)在 1.3%~6.1% 之间。结论 该方法前处理简便快捷, 灵敏度和准确度均较高, 精密度较好, 适用于鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢产物残留的检测。

关键词: QuEChERS; 鸡蛋; 鸡肉; 氟虫腈; 高效液相色谱-串联质谱; 兽药残留; 检测方法

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2018)04-0395-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2018.04.012

Rapid determination of fipronil and its metabolites in egg and chicken by QuEChERS-solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XIA Yi-ping¹, YIN Xiao-bing², LIN Xiao-hui¹, TIAN Yang-guang²

(1. Tianjin Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China;

2. Tianjin Hexi District Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300201, China)

Abstract: Objective To develop a method for determination of fipronil and its metabolites in egg and chicken by QuEChERS-solid phase extraction (SPE) -high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

Methods Egg and chicken samples were extracted by water-acetonitrile, the organic phase were salted out by QuEChERS, then cleaned up by SPE, loaded on a shimadzu XR-ODS column (50 mm×3.0 mm, 2.0 μm). Acetonitrile-water was used as the mobile phase gradient elution with negative ion spray mode ionization and multi-reactive ion monitoring (MRM) method for qualitative and quantitative detection. **Results** The matrix-matched calibration curve of

收稿日期: 2018-02-09

作者简介: 夏义平 男 主管技师 研究方向为食品安全及应急检测 E-mail: XYP_76@163.com

通信作者: 马永民 男 主任技师 研究方向为食品安全及应急检测 E-mail: 13662055367@163.com