

高效液相色谱法在兽药检测中的应用分析

林桃桃

山西省检验检测中心(山西省标准计量技术研究院) 山西 太原 030027

摘要: 兽药在畜禽与水产养殖中广泛应用,合理使用可防病促生长,但不合理使用会致残留,危害人体健康、破坏生态环境,故建立高效准确检测方法很重要。高效液相色谱法(HPLC)因分离和检测灵敏度高、分析速度快、适用性广,成为兽药检测核心技术之一。本文阐述其技术基础,分析典型应用场景,总结方法优化策略,剖析应用挑战并提出对策,展望前景,为规范化、精准化应用提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 兽药检测; 残留分析; 方法优化; 质量控制

引言: 畜牧业、水产业规模化发展,兽药使用量增加,合理使用关乎动物产品质量与公共卫生安全。但部分养殖主体违规用药致残留超标,通过食物链危害人体健康,还会污染环境。传统检测方法有诸多不足,无法满足现代需求。高效液相色谱法不断发展,能适应不同检测需求,广泛应用于兽药各环节。本文结合成果全面分析其应用,为检测工作优化提供参考。

1 高效液相色谱法技术基础

1.1 HPLC技术原理与核心组件

高效液相色谱法(HPLC)基于不同组分在固定相与流动相间分配系数、吸附能力等差异实现分离。样品随流动相流经固定相时,各组分被反复吸附与解吸,最终因保留时间不同而分离,再经检测器转化为电信号,经数据处理得到分析结果。其核心组件包括输液系统(高压泵、储液瓶等,可精准控制流速至0.01mL/min)、进样系统(手动/自动进样器,后者减少误差并提高重复性)、分离系统(色谱柱,如C18反相柱,性能决定分离效果)、检测系统(捕捉组分信号)及数据处理系统(生成色谱图并实现定性与定量分析)。各组件协同工作,确保检测精准高效。

1.2 常见检测器类型及其适用性

HPLC检测器种类多样,需根据兽药类型与检测需求选择。紫外-可见检测器(UV-Vis)基于组分对紫外光的吸收特性,结构简单、成本低,适用于磺胺类、喹诺酮类等含共轭双键的兽药,检测限达 $\mu\text{g/mL}$ 级。荧光检测器(FLD)灵敏度比UV-Vis高1-3个数量级,适用于氟喹诺酮类等具荧光特性或可衍生化的兽药,可降低检测下限。蒸发光散射检测器(ELSD)无需组分具紫外吸收或荧光特性,适用于糖类、甾体类等无紫外吸收的兽药,检测信号与质量相关,实现准确定量。质谱检测器(MS)兼具分离与结构鉴定功能,灵敏度极高(达ng/

mL甚至pg/mL级),适用于痕量多残留检测与未知组分筛查,广泛用于非法添加物检测^[1]。

1.3 方法开发关键参数

HPLC兽药检测方法开发需控制关键参数以确保准确性。流动相选择与配比直接影响分离效果,反相色谱中常用甲醇、乙腈等有机相与缓冲液(如磷酸盐缓冲液)混合,通过调节有机相比例、缓冲液pH值及离子强度优化保留时间与分离度,避免峰重叠。色谱柱选择需结合兽药极性与分子结构,反相柱(如C18)适用于极性较弱的兽药,正相柱适用于极性较强的兽药;粒径与柱长影响分离效率,小粒径、长柱分离效果更佳,但分析时间延长。进样量需根据检测器灵敏度与色谱柱容量调整(通常1-20 μL),避免峰展宽或灵敏度不足。柱温通过影响组分分配系数,调节分离效果与分析速度,一般控制在25-40 $^{\circ}\text{C}$,部分兽药检测需通过调节柱温改善峰形。

2 HPLC在兽药检测中的典型应用场景

2.1 兽药残留分析

兽药残留分析关乎动物产品质量安全,高效液相色谱法因高灵敏度与分离效能,成为兽药残留检测首选,在畜禽肉、蛋、奶、水产品及饲料检测中广泛应用。畜禽产品检测里,能精准检测磺胺类等常用兽药残留。如检测鸡肉磺胺二甲嘧啶残留,经样品前处理除杂后,用C18色谱柱、甲醇-磷酸盐缓冲液作流动相,紫外检测器可精准定量,检测限达0.01mg/kg,符合国家标准。水产品检测中,针对鱼虾氟喹诺酮类残留,用荧光或质谱检测器可提高灵敏度,检出痕量残留。饲料检测可查兽药添加量,防超剂量致动物产品残留超标,还能查废弃兽药非法添加,为饲料质量管控提供支撑,保障畜牧业发展。

2.2 兽药成分定性定量分析

高效液相色谱法可对兽药原料、制剂有效成分定性与定量,是兽药生产质量控制与检验的关键手段,保障

产品质量稳定有效。原料检测时,对比标准品保留时间与色谱峰形可定性,依峰面积定量判断是否符合标准。如检测青霉素类原料纯度,用反相色谱法、乙腈-水作流动相、紫外检测器,可精准测含量、除杂质干扰。制剂检测能查片剂等有效成分含量均匀度、溶出度,确保药效稳定。如检测喹诺酮类注射液,优化色谱条件可避辅料干扰定量,还能查降解产物,保障安全性,防止不合格兽药流入市场。

2.3 非法添加物筛查

在兽药生产、养殖过程中,部分主体为追求经济效益,非法添加违禁药物或未批准使用的兽药,危害动物产品安全,高效液相色谱法凭借高分离能力和高灵敏度,可实现非法添加物的快速筛查与定性定量检测。常见的非法添加物包括激素类药物(如己烯雌酚)、镇静类药物(如氯丙嗪)、抗生素类违禁药物等,此类物质残留量低、基质干扰复杂,采用HPLC结合质谱检测器,可有效提高筛查准确性和灵敏度^[2]。例如在畜禽养殖中,非法添加己烯雌酚等激素类药物可促进动物生长,但会通过食物链危害人体健康,采用HPLC-MS联用技术,可检测出动物组织中痕量的己烯雌酚残留,检测限可达pg/mL级别。在兽药制剂中,可筛查是否非法添加其他兽药成分,如在抗病毒兽药中非法添加抗生素,采用HPLC法可实现多种成分的同时分离与检测,打击非法添加行为,保障兽药使用安全。

3 HPLC 兽药检测方法的优化策略

3.1 前处理技术优化

样品前处理是兽药检测的关键环节,其目的是去除样品基质中的杂质(如蛋白质、脂肪、碳水化合物等),富集目标兽药组分,减少杂质对检测结果的干扰,提高检测准确性和灵敏度,因此前处理技术优化是HPLC检测方法优化的重点。传统前处理方法(如液-液萃取、固相萃取)操作繁琐、耗时较长,优化后可采用QuEChERS技术,该技术具有操作简单、快速、有机溶剂用量少等优势,适用于畜禽肉、水产品等复杂基质样品的前处理,通过优化提取溶剂、吸附剂种类和用量,可有效去除蛋白质、脂肪等杂质,提高目标组分的回收率。采用固相微萃取、分子印迹技术等新型前处理技术,固相微萃取无需有机溶剂,可实现目标组分的快速富集,分子印迹技术具有高选择性,可特异性吸附目标兽药,减少干扰组分的影响,进一步提高前处理效率和检测精度。

3.2 色谱条件优化

色谱条件的优化直接影响组分的分离效果和检测准

确性,是HPLC检测方法优化的核心内容,主要包括流动相、色谱柱、柱温、流速等参数的优化。流动相优化可通过调整有机相比比例、缓冲液pH值、离子强度,改善组分的保留时间和分离度,例如检测多组分兽药时,采用梯度洗脱方式,逐步调整有机相比比例,可有效避免色谱峰重叠,提高分离效率;对于极性差异较大的组分,可添加离子对试剂,改善分离效果。色谱柱优化可选择合适的色谱柱类型、粒径和柱长,小粒径色谱柱(如1.8 μ m)可提高分离效能,缩短分析时间;针对复杂基质样品,可选择高选择性色谱柱,减少杂质干扰。柱温和流速优化可通过调节柱温,改善色谱峰形,减少拖尾现象;优化流速可在保证分离效果的前提下,缩短分析周期,提高检测效率,通常流速控制在0.8-1.2mL/min。

3.3 检测技术联用

单一检测技术存在一定局限性,将高效液相色谱法与其他检测技术联用,可互补优势,提高检测灵敏度、选择性和准确性,扩大检测范围,适用于痕量多残留检测、未知组分筛查等复杂检测需求。HPLC与质谱(MS)联用是目前兽药检测中应用最广泛的联用技术,MS检测器具有高灵敏度和结构鉴定功能,可实现痕量组分的精准检测和未知非法添加物的结构鉴定,解决单一HPLC检测器灵敏度不足、无法定性未知组分的问题,例如HPLC-MS/MS联用技术,可有效检测动物产品中ng/mL级别的兽药残留,同时可快速筛查未知非法添加物^[3]。HPLC与原子吸收光谱、红外光谱等技术联用,可实现兽药中重金属、杂质组分的同步检测,进一步完善检测体系,提高检测的全面性和准确性。

3.4 数据分析与标准化

数据分析与标准化是提高HPLC兽药检测方法重复性、可比性的重要保障,可有效减少人为误差,确保检测结果的可靠性。数据分析优化可采用先进的数据处理软件,对色谱图进行基线校正、峰识别、峰面积积分,提高数据处理的准确性和效率,同时可采用回收率、精密度、检测限、定量限等指标,评价检测方法的可行性,通过优化数据处理参数,减少干扰因素对数据结果的影响。检测方法标准化可参考国家、行业相关标准,规范检测流程、色谱条件、前处理方法等,建立统一的检测标准体系,确保不同实验室、不同检测人员的检测结果具有可比性。此外,可建立兽药检测数据库,整合不同兽药的检测参数、标准品信息、色谱图数据等,为检测工作提供参考,提高检测效率,推动HPLC兽药检测方法的规范化发展。

4 挑战与对策

4.1 主要挑战

4.1.1 复杂基质干扰（如食品、饲料中的蛋白质、脂肪）

复杂基质干扰是HPLC兽药检测的主要难题。动物产品（畜禽肉、蛋、奶）及饲料样品含大量蛋白质、脂肪、碳水化合物和色素等杂质，其理化性质与目标兽药相近，色谱分离时易共洗脱，造成色谱峰重叠、拖尾，干扰检测信号，降低准确性与灵敏度。以猪肉兽药残留检测为例，脂肪、蛋白质难以通过常规前处理彻底去除，进入色谱柱会污染柱体，缩短使用寿命，干扰目标组分分离与检测，导致结果偏差。不同基质干扰成分差异大，针对一种基质优化的方法难以适配多种样品，增加方法开发难度和工作量，限制了HPLC在复杂基质检测中的高效应用。

4.1.2 多残留同时检测的色谱峰重叠问题

HPLC多残留兽药检测常面临色谱峰重叠难题。实际检测中需同时分析多种兽药，但不同组分保留时间相近、理化性质相似，影响分离与定量，降低准确性。常用兽药种类繁多，同一类（如磺胺类、喹诺酮类）包含多种同分异构体或结构相似衍生物，相同色谱条件下保留时间差异小，难以有效分离。例如磺胺嘧啶与磺胺二甲嘧啶，结构相似，常规反相色谱下色谱峰易重叠，无法准确定量。另外，多残留检测中组分浓度差异大，高浓度组分易掩盖低浓度痕量组分，进一步增加了同时检测的难度^[4]。

4.2 对策建议

4.2.1 开发高选择性色谱柱与衍生化试剂

为应对复杂基质干扰和色谱峰重叠问题，开发高选择性色谱柱与衍生化试剂是关键。色谱柱开发上，可研制分子印迹色谱柱、手性色谱柱等专用柱。分子印迹色谱柱能特异性识别目标兽药，有效排除基质杂质及结构相似组分干扰；手性色谱柱可分离同分异构体兽药，解决色谱峰重叠难题。衍生化试剂开发方面，针对无紫外吸收或荧光特性弱的兽药，开发高选择性试剂，通过衍

生化改变其理化性质，增强紫外吸收或荧光强度，调整保留时间，避免与其他组分重叠，提高检测灵敏度与分离效果。如用丹磺酰氯作衍生化试剂，可增强甾体类兽药荧光强度，实现痕量检测。

4.2.2 推广快速筛查技术与便携式HPLC设备

为解决复杂基质干扰和提升检测效率，需推广快速筛查技术与便携式HPLC设备。快速筛查技术上，推广QuEChERS、固相微萃取等新型前处理技术，简化流程、缩短时间，结合HPLC-MS联用技术，提高筛查准确性与灵敏度，实现多兽药残留快速筛查与定量。便携式HPLC设备方面，研发体积小、操作简便、稳定性好的设备，简化检测流程，无需专业实验室条件，适用于养殖场、批发市场等现场检测，能及时发现兽药残留超标和非法添加问题，提升检测及时性 with 实效性，还能减少样品运输污染和组分变化，进一步提高检测准确性。

结束语

高效液相色谱法（HPLC）以分离与检测灵敏度高、适用性广、自动化程度高等优势，成为兽药检测核心技术，在残留分析、成分定性定量等方面作用重大，为兽药生产、动物产品监管及生态保护提供有力支撑。未来，随着科技发展，HPLC将不断优化，与新型前处理及联用技术结合更紧密，检测精度与效率进一步提升，应用范围扩大，有力推动兽药检测规范化，保障“两业”及公共、生态环境安全。

参考文献

- [1]王克然.高效液相色谱法在兽药检测中的应用分析[J].农业工程技术, 2024, 44(26):98-99,110.
- [2]肖桂萍,罗旋.高效液相色谱法在兽药检测中的应用分析[J].云南农业科技, 2024(2):62-64.
- [3]刘姝.高效液相色谱在食品农兽药残留中的检测应用[J].食品安全导刊, 2023(22): 165-167.
- [4]赵丹杨.糖皮质激素类兽药残留检测技术应用现状[J].青海畜牧兽医杂志, 2025, 55(6):39-43.