

牛奶中兽药残留检测实用手册

◎ 熊 琳 阎 萍 主编



中国农业科学技术出版社

牛奶中兽药残留检测实用手册

◎ 熊 琳 阎 萍 主编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

牛奶中兽药残留检测实用手册 / 熊琳, 阎萍主编. —北京:
中国农业科学技术出版社, 2018. 6

ISBN 978-7-5116-3730-7

I. ①牛… II. ①熊…②阎… III. ①牛奶-兽用药-农药
残留-残留量测定-手册 IV. ①TQ450.2-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 123450 号

责任编辑 贺可香

责任校对 马广洋

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106638(编辑室) (010)82109702(发行部)
(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106650

网 址 <http://www.castp.cn>

经销者 各地新华书店

印刷者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 880 mm×1 230 mm 1/32

印 张 7.125

字 数 220 千字

版 次 2018 年 6 月第 1 版 2018 年 6 月第 1 次印刷

定 价 36.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

《牛奶中兽药残留检测实用手册》

编 委 会

主 编：熊 琳 阎 萍

副 主 编：郭 宪 裴 杰 褚 敏 郭志廷
焦增华

参编人员：梁春年 丁学智 包鹏甲 付国瑞
李维红 杨晓玲 吴晓云 高雅琴
郭天芬 杨亚军 李润林 王 慧

前 言

“民以食为天”，食品安全关系到我们每个人的切身利益。随着人民生活水平的不断提高，人们日常膳食结构发生了重大变化，植物性食品在人们日常饮食中所占的比例逐渐变小，而对牛奶的消费需求不断增长，与此同时曝光出的牛奶质量安全问题也越来越多，对涉及的广大民众特别是婴幼儿的身心健康造成了严重的危害，其中兽药残留是严重影响牛奶质量安全问题的主要因素。在奶牛养殖的过程中，不合理用药和非法用药都会造成牛奶中兽药残留，人体摄入含有兽药残留的牛奶，会引起急慢性中毒、过敏反应、细菌耐药性、致畸作用、致突变和致癌作用等严重后果。为了保证民众饮食安全必须加强对牛奶中兽药残留的监控，建立各种高效、快捷和简便的牛奶中兽药残留检测方法，提前发现问题，解决问题，保证广大民众身心健康。本书简明扼要地介绍了牛奶中兽药残留的危害、常见兽药的特性以及常见兽药的检测方法，通俗易懂，便于推广和普及。

本书包括四章。第一章介绍了牛奶质量安全的重要性，包括牛奶的营养价值和牛奶中兽药残留现状。第二章介绍了畜牧业中兽药的使用情况和兽药残留的危害性。第三章介绍了牛奶中兽药残留检测方法的发展，各种主要方法的特点及应用。第四章介绍了牛奶中常见兽药残留的检测方法实例。这些实例都是国家标准里面规定的方法，具有很高的灵敏度和准确度，可以对实际牛奶样品中常见的兽药残留进行检测。

本书在编写的过程中，得到中国农业科学院科技创新工程（CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-01）和现代农业（肉牛牦牛）产业技术体系（CARS-37）资助，在此表示衷心感谢！同时引用了诸多专家和学者的研究成果和资料，在此也表示衷心感谢！由于编者水平有限，错误之处在所难免，不当之处还请广大读者批评指正！

编 者

2018 年 3 月

目 录

第一章 牛奶质量安全的重要性	(1)
第一节 牛奶营养成分	(1)
第二节 牛奶中兽药残留概况	(6)
第二章 畜牧业中兽药的使用情况	(32)
第一节 奶牛养殖过程中常见疾病	(32)
第二节 奶牛疾病治疗用药的基本原则	(37)
第三节 牛奶中兽药残留的来源	(40)
第四节 牛奶中兽药残留的危害性	(42)
第三章 牛奶中兽药残留检测方法	(46)
第一节 牛奶中兽药残留样品前处理方法	(46)
第二节 高效液相色谱法	(59)
第三节 液质联用法	(67)
第四节 酶联免疫法	(71)
第五节 胶体金免疫法	(75)
第六节 毛细管电泳分析法	(79)
第七节 化学免疫发光分析法	(81)
第四章 常见兽药检测方法实例	(83)
第一节 牛奶中青霉素类药物残留检测 高效液相色谱法	(83)
第二节 牛奶中 β -内酰胺类抗生素残留物 液相色谱串联质谱法	(87)
第三节 牛奶中青霉素残留的检测 酶联免疫吸附	

	测定法	(94)
第四节	牛奶中头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁、头孢唑肟 残留量的测定液相色谱—串联质谱法	(97)
第五节	牛奶中大环内酯类抗生素残留检测方法 微生物 抑制法	(103)
第六节	牛奶中四环素类兽药残留测定 高效液相色 谱法	(107)
第七节	牛奶中氨基糖苷类抗生素残留检测 高效液 相色谱法	(112)
第八节	牛奶中甲砒霉素残留量的测定 高效液相色 谱法	(117)
第九节	牛奶中氯霉素残留量的测定 高效液相色谱— 串联质谱法	(121)
第十节	牛奶中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(126)
第十一节	牛奶中聚醚类抗生素残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(131)
第十二节	牛奶中泰乐菌素残留的测定 酶联免疫法 ...	(137)
第十三节	牛奶中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(140)
第十四节	牛奶中 8 种镇定剂残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(145)
第十五节	牛奶中玉米赤霉醇、玉米赤霉酮、己烯雌酚、 己烷雌酚、双烯雌酚残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(153)
第十六节	牛奶中呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因和 呋喃唑酮代谢物残留量的测定 液相色谱— 串联质谱法	(160)
第十七节	牛奶中 β -兴奋剂残留量的测定 液相色谱—	

	串联质谱法	(168)
第十八节	牛奶中苯并咪唑类兽药残留测定 液相色谱— 串联质谱法	(176)
第十九节	牛奶中甲硝唑、洛硝哒唑、二甲硝唑及其代谢 物残留量的测定液相色谱—串联质谱法	(183)
第二十节	牛奶中糖皮质激素类药物残留检测 液相色 谱—串联质谱法	(190)
第二十一节	牛奶中有机磷农药残留量的测定 气相色 谱法	(196)
第二十二节	牛奶中 α -群勃龙、 β -群勃龙、19-乙烯去 甲睾酮和 epi-19-乙烯去甲睾酮残留量的 测定 液相色谱—串联质谱法	(199)
第二十三节	牛奶中 17 β -雌二醇、雌三醇、炔雌醇多残留 7 的测定 气相色谱—质谱法	(206)
参考文献		(212)

第一章 牛奶质量安全的重要性

第一节 牛奶营养成分

牛奶是最古老的天然饮料之一，被誉为“白色血液”，对人体的重要性可想而知。牛奶顾名思义是从奶牛身上所挤出来。在不同的国家，牛奶也分有不同的等级。目前，最普遍的是全脂、低脂及脱脂牛奶。目前，市面上牛奶的添加物也相当多，如高钙低脂牛奶，其中就增添了钙质。牛奶中含有丰富的钙、磷、铁、锌、铜、锰、钼等矿物质。最难得的是，牛奶是人体钙的最佳来源，而且钙磷比例非常适当，利于钙的吸收。牛奶的化学成分种类复杂，至少有 100 多种，主要有水、脂肪、磷脂、蛋白质、乳糖、无机盐等。其主要化学成分含量如下：水分 87.5%；脂肪 3.5%~4.2%；蛋白质 2.8%~3.4%；乳糖 4.6%~4.8%；无机盐 0.7%左右。

每 100g 牛奶所含营养素如下：热量（225.72kJ）、蛋白质（3.00g）、脂肪（3.20g）、碳水化合物（3.40g）、维生素 A（24.00 μ g）、硫胺素（0.03mg）、核黄素（0.14mg）、尼克酸（0.10mg）、维生素 C（1.00mg）、维生素 E（0.21mg）、钙（104.00mg）、磷（73.00mg）、钠（37.20mg）、镁（11.00mg）、铁（0.30mg）、锌（0.42mg）、硒（1.94 μ g）、铜（0.02mg）、锰（0.03mg）、钾（109.00mg）、胆固醇（15.00mg）。

一、蛋白质和氨基酸

牛奶中蛋白质主要由酪蛋白（casein）和乳清蛋白（lactoal-

bumin) 两大部分组成。前者为牛奶在 20°C ，pH 值 4.6 条件下沉淀所得的蛋白质，余下溶解于乳清的蛋白质均称为乳清蛋白。乳清蛋白则包括 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白、血清白蛋白和免疫球蛋白及其他微量蛋白，如含铜、锌-超氧化物歧化酶等。除血清白蛋白、免疫球蛋白来自血液外，所有酪蛋白和乳清蛋白均为乳腺中的乳分泌细胞合成产物。随着大部分牛乳蛋白的氨基酸序列测定，已发现了许多牛乳蛋白的变异型。

组成人体蛋白质的氨基酸有 20 种，其中有 8 种是人体本身不能合成的（婴儿为 9 种，比成人多的是组氨酸），这些氨基酸称为必需氨基酸。我们进食的蛋白质中如果包含了所有的必需氨基酸，这种蛋白质称为全蛋白。牛奶中的蛋白质便是全蛋白。

二、矿物质

牛奶中的无机盐也称矿物质。牛奶中含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Fe^{3+} 等阳离子和 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^{-} 等阴离子，此外还有微量元素 I、Cu、Zn、Mn 等。大自然中的钙是以化合态存在的，只有被动、植物吸收后形成具有生物活性的钙，才能更好地被人体所吸收利用。牛奶中含有丰富的活性钙，是人类最好的钙源之一，1L 新鲜牛奶所含活性钙约 1 250mg，居众多食物之首，约为大米的 101 倍、瘦牛肉的 75 倍、瘦猪肉的 110 倍，而且牛奶中的乳糖能促进人体肠壁对钙的吸收，吸收率高达 98%，从而调节体内钙的代谢，维持血清钙浓度，增进骨骼的钙化。吸收好对于补钙是尤其关键的。故“牛奶能补钙”这一说法是有其科学道理的。

三、喝牛奶的益处

据国内外牛奶营养专家多年研究证实，每天喝一杯牛奶对人体有以下 13 种好处：

(1) 牛奶中的钾可使动脉血管在高压时保持稳定，减少中风危险；

- (2) 牛奶可阻止人体吸收食物中有毒的金属铅和镉;
- (3) 牛奶可增强免疫系统功能, 阻止肿瘤细胞增长;
- (4) 牛奶中的铁、铜和卵磷脂能大大提高大脑的工作效率;
- (5) 牛奶中的钙能增强骨骼和牙齿、减少骨骼疾病发生;
- (6) 牛奶中的铁、铜和维生素 A 有美容作用;
- (7) 牛奶中的酪氨酸能促进激素——血清素的大量增长;
- (8) 牛奶中的镁能使心脏耐疲劳;
- (9) 牛奶中的锌能使伤口更快愈合;
- (10) 牛奶中的维生素 A 能提高视力;
- (11) 喝牛奶能预防动脉硬化;
- (12) 牛奶含钙高, 吸收好;
- (13) 睡前喝牛奶可帮助睡眠。

四、我国牛奶产业的概况

根据《2013—2017 年中国原奶行业投资策略分析》统计, 我国虽已成为全球第三大原奶生产国, 但人均原奶占有量与世界平均水平相比仍有较大差距, 人均乳品消费量更是远未饱和。2011 年, 我国原奶人均占有量约 28.4kg/年, 仅为全球平均水平的 1/4。即使与饮食习惯相近的日本、韩国对比, 人均原奶占有量仍分别有 106%、33% 的增长空间, 主要原因在于我国人均乳品消费量偏低。

近年来我国奶业的发展越来越多地表现出畜牧业固有的周期性, 受制于消费增长的放缓, 增长速度明显变慢。我国奶业的发展更多受到国内乳制品供需平衡、养殖成本变化和国际乳制品市场的影响。由于 2013 年下半年到 2014 年上半年较高的奶价和良好的养殖效益, 国内奶牛养殖积极性增加, 产业资本和金融资本持续涌入奶业, 奶牛进口量大增, 加上良好的气候条件和无疫情的影响, 2014 年我国牛奶产量增加。根据国家统计局公布数据显示, 2014 年我国牛奶(生鲜乳)产量 3 725 万 t, 比 2013 年的 3 531 万 t 增加 194 万 t, 增长 5.5%。不同省份的产奶量(表 1-1) 由于受地域和传统因素的影响

所占比例差别较大。华北和西北传统的畜牧业大省产量都比较大，而南方的一些省份所占比例较小。国家奶牛产业技术体系监测的规模牧场奶牛存栏 2014 年比 2013 年增加了 4%，生鲜乳产量增加 10%。在规模牧场奶牛存栏（全群 100 头以上）占全国存栏比例的 45%（农业部监测数据）的现状下，规模牧场生鲜乳产量的增加抵消了小规模养殖户退出带来的减产。

表 1-1 2010—2014 年我国各省份牛奶产量和所占比重

省份（万 t）	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	占全国比重（%）
内蒙古	912.2	903.1	905.2	908.2	910.2	24.31
黑龙江	508.4	528.7	552.5	543.1	559.9	14.9
河北	504.5	451.5	439.8	458.9	470.4	12.56
河南	279.1	281.9	290.9	306.6	316.1	8.44
山东	230.5	236.3	253.1	268.9	283.9	7.58
陕西	149	149.2	137.5	140.5	141.8	3.79
新疆	137.4	120.9	128.6	130.5	132.2	3.53
辽宁	101.2	110.0	121.2	124.5	124.8	3.33
宁夏	89.2	81.1	84.5	96.0	103.5	2.76
山西	68.2	72.5	73.2	74.6	80.0	2.14
四川	66.1	68.2	69.8	71.2	71.7	1.92
天津	69.8	68.3	69	69.1	67.9	1.81
北京	66.4	67.4	64.1	64.0	65.1	1.74
江苏	61.1	55.4	57.3	59.2	61.3	1.64
云南	44.7	48.4	50.4	52.4	53.7	1.43
吉林	39.7	44.5	43.5	45.2	49.1	1.31
甘肃	34.7	37.7	36.3	37.0	37.9	1.01
上海	23.3	21.2	24.7	29.1	30.2	0.81
青海	25.3	25.3	26.2	27.0	27.6	0.74
西藏	23.0	23.0	23.3	23.8	25.6	0.68

(续表)

省份 (万 t)	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	占全国比重 (%)
安徽	18.1	20.1	20.5	22.5	24.1	0.64
浙江	22.5	19.9	20.3	19.9	19.3	0.51
湖北	15.5	15.5	14.0	14.2	15.3	0.41
福建	14.5	15.2	15.4	15.5	15.0	0.40
广东	13.0	14.0	14.2	14.2	13.6	0.36
江西	11.2	11.2	11.4	11.8	12.6	0.34
广西	7.5	8.1	8.2	8.9	9.4	0.25
湖南	7.7	7.7	7.8	8.1	8.5	0.23
重庆	7.8	7.9	8.0	8.0	7.7	0.21
贵州	4.3	4.5	4.6	4.9	5.1	0.14
海南	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.01
全国	3 556.10	3 518.90	3 575.70	3 658.00	3 743.61	100.00

根据国家统计局公布的统计数据,我国大中城市人均乳制品购买量呈逐年下降的趋势,自2008年以来,我国城镇居民的人均鲜奶消费量已从17kg下降到14kg左右;与此同时,农村居民的人均乳制品消费量虽然有所增长,但增速十分缓慢,目前人均消费只有6kg左右。具体到2014年的乳品消费情况,虽然国家统计局不按月份公布乳品消费数据,但是,其公布的液态奶产量和干乳制品产量可以在很大程度反映消费数据的变化。根据国家统计局统计,2014年全国液态奶产量2 400.12万t,下降0.91%;全国干乳制品产量251.70万t,下降4.17%,从产量来看,2014年干乳制品产量实际上下降到了2006年的水平。从这两组数据的走势不难看出,国内乳品消费市场已经进入了增速放缓的平台期。究其原因,一方面是受接连不断的乳制品安全负面报道的影响,消费者信心还未得到完全恢复;另一方面是乳制品零售价格居高不下,市场奶类商品价格上涨导致需求下降,

在 2013—2014 年度所谓的“奶荒”的影响下，乳品企业基本不再生产利润微薄的袋装牛奶，加大了高端液态奶的生产比例，这种只瞄准高端，把牛奶当做奢侈品来做，而没有考虑牛奶是大众化的消费品和普通老百姓都消费得起的日常营养品，做了小部分富裕人群的市场，而忽视了 60% 以上的大众消费市场，必然影响我国乳制品消费量的进一步增加。

第二节 牛奶中兽药残留概况

一、国内外牛奶质量安全现状

“民以食为天”，食品安全关系到我们每个人的切身利益。随着人民生活水平的不断提高，人们日常膳食结构发生了重大变化，植物性食品在人们日常饮食中所占的比例逐渐变小，而对肉、蛋、奶等畜产品的消费需求不断增长，所占比例也越来越大，但与此同时暴露出来的畜产品的质量安全问题也越来越多。国内近几年来在一些地区发生的乳品安全事件对涉事的广大民众的身心健康造成了严重的危害。主要危害表现为对人体的变态反应与过敏反应、细菌耐药性、致畸作用、致突变和致癌作用，以及激素作用等方面。这些事件的发生表明动物产品质量安全问题已成为全球性的社会问题，影响广泛而深远。追究原因，这些问题主要是由于兽药、添加剂（药物添加剂和食品添加剂）和动物激素的违法或者不合理使用造成的。另外由于全球环境污染的不断持续加重，环境中存在的重金属和持续性有机污染物通过食物链进入动物产品当中，也可以造成质量安全风险隐患。在以上的风险因子当中，由于兽药残留引起的食品安全事故所占比例最大，因此受到了特别的关注和更加广泛的研究。兽药残留具有很大的不确定性和未知性，不同的国家和地区，不同的时节都有着很大的差别，并随着兽药的不断更新换代在进行着变化。

兽药残留是指用药后蓄积或存留于畜禽机体或产品中原型药物或

其代谢产物,包括与兽药有关的杂质的残留。一般以 $\mu\text{g/ml}$ 或 $\mu\text{g/kg}$ 计量。牛奶中兽药残留研究工作中,残留目标物的确定是非常重要的工作,选择有效的残留目标物是整个乳品兽药残留分析工作最关键的一环。不同地区的奶牛由于受产地的气候和环境的影响,可能导致的疾病和成长过程是不一样的,这就造成了兽药的使用也是不一样的,进一步造成的牛奶中兽药残留种类也是不一样的。另外随着医药的不断更新换代,各种新的兽药不断出现。

兽药残留主要可分为以下七大类:①抗生素类;②驱肠虫药类;③生长促进剂类;④抗原虫药类;⑤灭锥虫药类;⑥镇静剂;⑦ β -肾上腺素能受体阻断剂。为保证动物源性食品安全,维护人民身体健康,农业部制定了《食品动物禁用的兽药及其它化合物清单》,在该清单中停止经营和使用的兽药品种包括:

(1) β -兴奋剂类:克仑特罗 (CAS: 37148-27-9)、沙丁胺醇 (CAS: 18559-94-9)、西马特罗 (CAS: 54239-37-1) 及其盐、酯及制剂。

(2) 性激素类:己烯雌酚 (CAS: 56-53-1) 及其盐、酯及制剂。

(3) 具有雌激素样作用的物质:玉米赤霉醇 (CAS: 26538-44-3)、去甲雄三烯醇酮 (CAS: 10161-33-8)、醋酸甲孕酮 (CAS: 71-58-9) 及制剂。

(4) 氯霉素 (CAS: 56-75-7) 及其盐、酯及制剂。

(5) 氨苯砜 (CAS: 80-08-0) 及制剂。

(6) 硝基呋喃类:呋喃唑酮 (CAS: 67-45-8)、呋喃它酮 (CAS: 139-91-3)、呋喃苯烯酸钠 (CAS: 54992-23-3) 及制剂。

(7) 硝基化合物:硝基酚钠 (CAS: 824-78-2) 及制剂。

(8) 催眠、镇静类:安眠酮 (CAS: 72-44-6) 及制剂。

(9) 林丹 (CAS: 58-89-9) 杀虫剂。

(10) 毒杀芬 (CAS: 8001-35-2) 杀虫剂、清塘剂。

(11) 呋喃丹 (CAS: 1563-66-2) 杀虫剂。

(12) 杀虫脒 (CAS: 6164-98-3) (克死螨) 杀虫剂。

- (13) 双甲脒 (CAS: 33089-61-1) 杀虫剂。
- (14) 酒石酸锑钾 (CAS: 16039-64-8) 杀虫剂。
- (15) 锥虫肿胺 (CAS: 554-72-3) 杀虫剂。
- (16) 孔雀石绿 (CAS: 569-64-2) 抗菌、杀虫剂。
- (17) 五氯酚钠 (CAS: 131-52-2) 杀螺剂。
- (18) 各种汞制剂: 氯化亚汞 (CAS: 10112-91-1)、硝酸亚汞 (CAS: 7782-86-7)、醋酸汞 (CAS: 1600-27-7) 杀虫剂。
- (19) 性激素类: 甲基睾丸酮 (CAS: 58-18-4)、丙酸睾酮 (CAS: 57-85-2)、苯丙酸诺龙 (CAS: 62-90-8)、苯甲酸雌二醇 (CAS: 50-50-0) 及其盐、酯及制剂。
- (20) 催眠、镇静类: 氯丙嗪 (CAS: 50-53-3)、地西洋 (CAS: 439-14-5) 及其盐、酯及制剂。
- (21) 硝基咪唑类: 甲硝唑 (CAS: 443-48-1)、地美硝唑 (CAS: 551-92-8) 及其盐、酯及制剂。
- (22) 抗病毒药: 抗病毒药物被禁止兽用或慎用, 如金刚烷胺 (CAS: 768-94-5)、金刚乙胺 (CAS: 1501-84-4) 和利巴韦林 (CAS: 36791-04-5) 等。

二、牛奶中兽药残留分类

在牛奶中较容易引起兽药残留的主要有抗生素类、抗菌类 (化学药物)、抗寄生虫类和生长促进类药物。下面主要从这些方面来介绍牛奶中兽药残留。

(一) 抗生素类兽药

养殖业滥用抗生素一般来说虽然难对消费者造成直接伤害, 但它引发抗药菌高速进化, 导致超级细菌诞生。作为临床治疗用药的抗生素类, 主要是通过注射、口服、饮水等方式进入动物体内。在兽医临床上常用的大概有数十种。其主要是从微生物的培养液中提取的或者用合成、半合成方法制得。按照主体化学分子结构的不同, 主要有以下种类。