

液相色谱串联质谱法同时测定凡纳滨对虾中的 27种抗寄生虫药物残留

Determination of 27 antiparasitic drug residues in *Penaeus vannamei* by
liquid chromatography-tandem mass spectrometry simultaneously

张丽芳^{1,2} 马瑞欣³ 郑百芹^{1,2} 宋旺^{1,2} 周鑫^{1,2}

ZHANG Lifang^{1,2} MA Ruixin³ ZHENG Baiqin^{1,2} SONG Wang^{1,2} ZHOU Xin^{1,2}

(1. 唐山市食品药品综合检验检测中心, 河北 唐山 063000; 2. 农业农村部农产品品质评价与
营养健康重点实验室, 河北 唐山 063000; 3. 河北省水产技术推广总站, 河北 石家庄 050000)

(1. Tangshan Food and Drug Comprehensive Testing Center, Tangshan, Hebei 063000, China;
2. Key Laboratory of Quality Evaluation and Nutrition Health of Agro-Products, Ministry of
Agriculture and Rural Affairs, Tangshan, Hebei 063000, China; 3. Hebei Fisheries Technology
Extension Center, Shijiazhang, Hebei 050000, China)

摘要:目的:规范凡纳滨对虾抗寄生虫药物的使用。方法:用80%乙腈水溶液提取凡纳滨对虾样品中的抗寄生虫药物,经C₁₈和中性氧化铝粉净化后,超高效液相色谱—串联质谱分析。药物经Thermo Hypersil Gold aQ色谱柱分离,0.1%甲酸—乙腈和10 mmol/L 甲酸铵溶液(含0.1%甲酸)分别作为有机相和水相进行梯度洗脱,采用电喷雾离子源正负离子同步扫描,多反应监测模式,基质匹配标准溶液外标法定量分析。结果:27种抗寄生虫药物在一定浓度范围内皮尔森相关系数(r)大于0.974 1,线性关系良好;检出限为0.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为2~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;空白样品在5,10,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个添加水平下的方法加标回收率($n=6$)为61.90%~118.54%,批内变异系数($n=6$)为0.57%~12.56%,批间变异系数($n=3$)为1.29%~16.47%。结论:该方法选择性好,回收率、精密度高,测定周期短,可满足实验室的检测需要。

关键词:凡纳滨对虾;抗寄生虫药物;超高效液相色谱—串联质谱法;基质效应

Abstract: Objective: An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was established for the

simultaneous determination of 27 antiparasitic drug residues in *Litopenaeus vannamei*. **Methods:** The solution was used to extract antiparasitic drugs in the samples of *L. vannamei*. The supernatant after centrifugation was purified by C₁₈ and neutral alumina powder. The sample solution was analyzed by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and applied to the instrument workstation to perform data analysis. A Thermo Hypersil Gold aQ column was used as the separation column, and 0.1% formic acid acetonitrile and 10 mmol/L ammonium formate solution (containing 0.1% formic acid) were invoked as the organic phase and the aqueous phase for gradient elution, respectively. The electrospray ion source was used for positive and negative ion synchronous scanning and multiple reaction monitoring modes. The ion abundance ratio was qualitative, and the matrix-matched reference solution external standard method was employed for quantitative analysis. The results showed that the Pearson correlation coefficient (r) of 27 antiparasitic drugs was greater than 0.974 1 in a certain concentration range, and the linear relationship was good. **Results:** The detection limit was 0.5 ~ 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the quantification limit was 2 ~ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; The recoveries ($n=6$) of the method spiked at the low, medium and high concentration levels of the samples were 61.90% ~ 118.54%, the intra-assay coefficient of variation ($n=6$) was 0.57% ~ 12.56%, and the inter-assay coefficient of variation ($n=3$) was 1.29% ~ 16.47%. **Conclusion:** The method has good selectivity, high method recovery rate, high precision, and short measurement period, provides a robust and efficient method for the determination of

基金项目:河北省重点研发计划项目(编号:20327505D);唐山市人才资助项目(编号:A202110013);河北省高端人才项目

作者简介:张丽芳,女,唐山市食品药品综合检验检测中心高级工程师,硕士。

通信作者:周鑫(1982—),男,唐山市食品药品综合检验检测中心正高级兽医师,硕士。E-mail: 122750039@qq.com

收稿日期:2023-02-08 **改回日期:**2023-07-10

antiparasitic drugs in the laboratory, and meets the testing needs of the laboratory.

Keywords: *Penaeus vannamei*; antiparasitic drug; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; matrix effect

抗寄生虫药物属于兽药,种类繁多,且作用机制各不相同,往往根据感染寄生虫的类别或动物种类用药^[1-3],但不科学不规范的药物施用方式会带来一些负面作用,如土壤、水文等环境中药物残留的积累和迁移^[4-5],寄生虫、微生物等生物体产生耐药性^[6-7],药物残留随食物链由食用性动物产品转移到人体^[8]等。为此,一些国际组织和国家纷纷制定了食品中兽药残留限量,并不断更新和增补相关内容。中国制定的 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》标准规定了 267 种(类)兽药在畜禽产品、水产品、蜂产品中的 2 191 项残留限量及使用要求,依据药物的安全性及其对食品安全的影响程度将兽药(包括部分化学物质)进行了分类,但仍有一些常见的抗寄生虫药物种类不在标准名录之中,需要进一步完善和修订。

目前在抗寄生虫药物残留研究中,较多集中在畜禽等陆地动物源性食品中,且药物种类比较单一,而水产品中抗寄生虫药物残留研究的报道相对较少。研究人员对水产品和环境中的兽药^[9-11]、农药(包括抗菌剂)^[12]等药物做过相应的监测和评估,而以不同类型的抗寄生虫药物作为药物残留研究对象的报道并不多见,但是抗寄生虫药物作为畜禽养殖常用药物通过环境迁移到水产养殖系统中并在水产动物中富集应予以重视。

由于凡纳滨对虾养殖场很多为非工厂化封闭养殖,养殖过程中可能通过排污、降水等形式受到附近周围畜牧养殖场用药污染和其他形式的药物迁移,出于风险监控和排查的考虑需对凡纳滨对虾进行抗寄生虫药物残留的测定。研究拟选取 27 种抗寄生虫药物作为凡纳滨对虾的药物监测对象,使用 QuEChERS 对样品进行提取和净化,超高效液相串联质谱定性定量分析,建立实验室对凡纳滨对虾中抗寄生虫药物残留测定方法,并对市场上销售的凡纳滨对虾进行测定。

1 材料与方法

1.1 试验试剂与耗材

甲醇、乙腈、甲酸:色谱纯,美国 Thermo Fisher 公司;

甲酸铵:色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

氯化钠:分析纯,福晨(天津)化学试剂有限公司;

C₁₈ 粉、乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)粉、中性氧化铝粉(Al₂O₃):北京迪马科技有限公司;

0.22 μm 滤膜:北京迪马科技有限公司;

抗寄生虫药物液态标准品溶液(化合物名称见表 1):天津阿尔塔科技有限公司;

试验用水为超纯水。

1.2 仪器与设备

液相色谱串联质谱仪:Triple Quad 5500+型(配 ESI 离子源),美国 AB SCIEX 公司;

离心机:SORVALL LYNX 4000 型,美国 Thermo Fisher 公司;

电子天平:BT 25 S 型,德国 Sartorius 公司;

氮吹仪:EFAA-DC24-RT 型,安谱实验科技股份有限公司;

多位涡旋仪:KN-026S 型,北京科德诺思技术有限公司。

1.3 标准溶液配制

吸取适量体积的 27 种抗寄生虫药物标准品溶液于容量瓶中,甲醇稀释并定容,得到混合标准溶液,−20 °C 保存。

1.4 样品前处理

称取匀浆处理的虾肉样品 2 g(精确至 0.01 g),先后加入 1 g 氯化钠和 10 mL 80% 乙腈水溶液,充分涡旋混合,超声波提取 10 min,于 4 °C 下 6 000 r/min 离心 5 min,准确吸取上层有机清液 2 mL,加入 C₁₈ 和中性 Al₂O₃ 粉末各 100 mg,涡旋 1 min 充分吸附,取上清液过 0.22 μm 滤膜,待上机测定。

1.5 基质效应

配制溶剂稀释标准曲线系列梯度和空白基质提取液稀释标准曲线系列梯度,分别进样上机测定并进行线性回归分析,得到溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线,按式(1)计算基质效应(matrix effect, ME)。

$$M_E = \frac{k_m}{k} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

M_E ——基质效应数值;

k_m ——基质匹配标准曲线斜率;

k ——溶剂标准曲线斜率。

1.6 仪器分析条件

1.6.1 液相色谱条件 色谱柱:Thermo Hypersil Gold aQ (100×2.1 mm, 1.9 μm);柱温:40 °C;进样量:2 μL;流速:0.4 mL/min。流动相:A, 10 mmol/L 甲酸铵(含 0.1% 甲酸)溶液;B, 0.1% 甲酸—乙腈。采用梯度洗脱:0.0~1.0 min, 95% A, 1.0~5.0 min, 95%~5% A, 5.0~8.0 min, 5% A, 8.0~8.1 min, 5%~95% A, 8.1~11.0 min, 95% A。

1.6.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描模

式:正负离子同步扫描模式;监测方式:多反应监测(MRM);喷雾电压(IS):正扫描 5 000 V,负扫描-4 000 V;离子源温度 550 ℃;气帘气(CUR):172 368.9 Pa;雾化气(GS1):344 737.9 Pa;辅助气(GS2):344 737.9 Pa;碰撞气:7 模拟单位。化合物离子对信息和相应其他质谱信息见表 1。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

采用正负同时扫描的模式对 27 种抗寄生虫药物进行监测,在寻求化合物离子对信息阶段,为得到响应信号强的化合物特征峰,扫描了 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M-H]^-$ 等多种母离子带电形式。结果表明,

正扫描模式下阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素 3 种药物母离子 $[M+NH_4]^+$ 信号相应强度要明显高于母离子 $[M+H]^+$ 的形式(见图 1),说明 3 种物质对 NH_4^+ 的亲合力相比 H^+ 更强,或者是形成的带电荷粒子更稳定,与刘永涛等^[1,13]的研究结果一致。因此,选择 $[M+NH_4]^+$ 作为阿维菌素类药物的母离子;其他化合物在正扫描模式下选择 $[M+H]^+$ 作为母离子。确定地克珠利等 6 种化合物更适合于负扫描模式进行监测,母离子带电形式为 $[M-H]^-$ 。此外,在对地克珠利进行母离子选择确认时,因其特殊的化合物结构和多氯特性,选择了两个母离子分别对应两个子离子的离子对形式,如表 1 所示,同样满足对该物质的准确定性的要求^[14]。

表 1 化合物离子对信息及其对应质谱参数[†]

Table 1 The selected ion transitions and MS/MS parameters

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能 量/eV	化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能 量/eV
阿维菌素 B1a	890.5	567.2 *	81	25	盐霉素	773.5	431.2 *	135	70
		305.2	81	37			265.2	135	70
伊维菌素	892.5	307.2 *	81	37	马度米星铵	939.5	877.4 *	80	45
		569.2	81	25			895.5	80	65
多拉菌素	916.6	331.1 *	80	35	奥苯达唑	250.1	218.1 *	100	25
		592.9	80	25			176.0	100	35
阿苯达唑	266.0	234.0 *	101	29	环丙氨嗪	167.1	125.0 *	60	24
		190.9	101	45			108.0	60	30
氟苯达唑	314.1	282.0 *	90	32	常山酮	414.0	100.1 *	95	36
		123.0	90	48			120.2	95	29
甲苯咪唑	296.3	264.1 *	100	32	乙胺嗪	200.2	100.3 *	66	23
		77.1	100	76			127.3	66	21
芬苯达唑	300.2	268.0 *	100	30	三氮脒	283.1	119.1 *	60	27
		158.9	100	46			254.1	60	15
奥芬达唑	316.2	159.0 *	70	43	地克珠利	404.9	334.0 *	−50	−25
		191.1	70	27			406.9	336.0	−50
帕苯达唑	248.1	216.1 *	106	29	尼卡巴嗪	301.1	137.1 *	−70	−25
		173.0	106	45			107.2	−70	−50
噻苯达唑	202.1	175.0 *	85	40	硝碘酚腈	288.8	126.7 *	−65	−38
		131.0	85	50			161.8	−65	−38
三氯苯达唑	359.0	343.8 *	100	35	氯羟柳胺	398.0	175.9 *	−65	−36
		199.1	100	55			201.6	−65	−30
甲硝唑	172.2	127.9 *	50	20	氯氰碘柳胺	661.0	344.7 *	−110	−50
		82.0	50	37			314.9	−110	−50
地美硝唑	142.2	96.0 *	65	21	碘醚柳胺	623.9	126.8 *	−110	−70
		81.0	65	36			334.7	−110	−50
莫能菌素	693.4	461.3 *	80	70					
		479.3	80	70					

[†] * 表示定量离子。

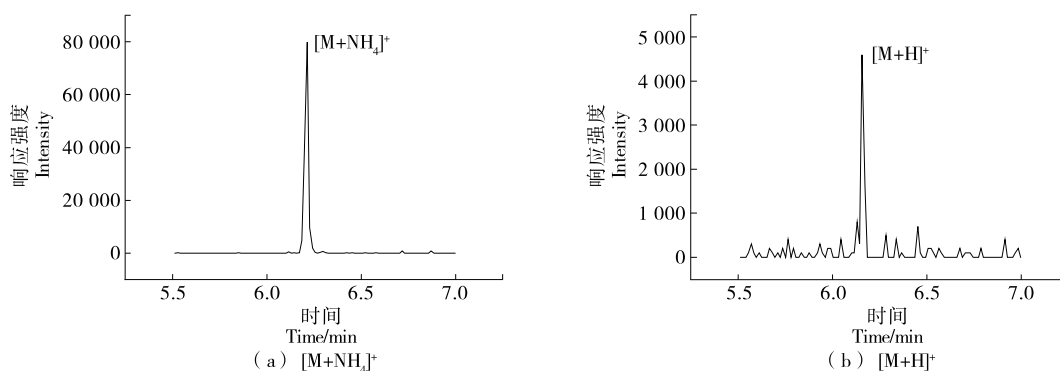


图1 不同母离子选择下多拉菌素的多反应监测响应强度比较

Figure 1 Comparison of MRM response intensities of doramectin under different precursor ion

2.2 液相条件优化

2.2.1 色谱柱的选择 选取 Waters BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、Thermo Hypersil Gold aQ (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 和 phenomenex Kinetex F5 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm) 3 种长度相同的色谱柱, 在相同的条件下对目标化合物的分离情况进行考察。由图 2 可知, Thermo Hypersil Gold aQ 在物质分离程度和峰高的表现优于其他两种, 与刘开等^[15]在色谱柱上的选择不同, 可能是由于化合物种类和数量以及所用的洗脱流动相不同所导致。研究选取 Thermo Hypersil Gold aQ 色谱柱作为分离用色谱柱, 并进行后续试验。

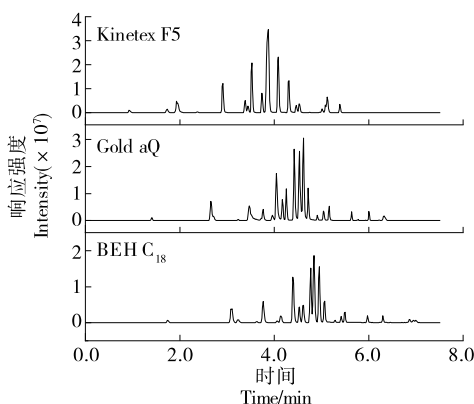


图2 化合物在不同色谱柱上的分离情况

Figure 2 Separation of compounds on different columns

2.2.2 流动相的选择 选取甲醇、乙腈、0.1% 甲酸—乙腈作为有机相分别与作为水相流动相的水、0.1% 甲酸水溶液、2 mmol/L 甲酸铵溶液、2 mmol/L 甲酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸)、10 mmol/L 甲酸铵溶液、10 mmol/L 甲酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸) 进行组合比较。作为有机相的甲醇和乙腈, 乙腈更能够将极性较弱的化合物从色谱柱中洗脱下来, 而酸化流动相溶液可以促进咪唑类等药物的离子化程度^[16], 与此同时, 流动相中加入甲酸并未抑制负扫描化合物的离子化, 响应信号未见明显的降低。待测化

合物中包含有阿维菌素类药物, 在母离子选择上选取 $[M+NH_4]^+$ 的母离子形式, 流动相中加入铵盐可以增强该类物质的离子化水平, 并且可以改善色谱峰型。流动相中适宜的酸度和离子强度对于提高检测灵敏度能起到积极作用^[14], 研究结合多种化合物性质和实际洗脱效果, 最终选择 0.1% 甲酸—乙腈和 10 mmol/L 甲酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸) 分别作为有机相和水相, 采用梯度洗脱的形式对化合物进行分离。

2.3 前处理条件优化

2.3.1 提取试剂优化 选取甲醇、乙腈、80% 乙腈水溶液、0.2% 甲酸—乙腈对虾肉中的抗寄生虫药物进行提取。通过试验回收率对 4 种提取试剂进行考察, 结果见图 3。由图 3 可知, 以甲醇作为抗寄生虫药物残留的提取试剂时, 虽然其中位值回收率最接近 100%, 但是各种药物的提取效果呈现出分散的态势, 而且回收率大于 120% 或低于 60% 的药物较多; 以 0.2% 甲酸—乙腈作为提取试剂, 药物的回收率均低于 100%, 整体回收率过低, 并且有 9 种药物的回收率低于 60%; 以 80% 乙腈水溶液作为提取试剂时, 各药物回收率比较集中, 主要分布在 80%~100%。因此, 选取 80% 乙腈水溶液作为提取试剂。

2.3.2 净化条件优化 C₁₈、GCB (graphitic carbon)、PSA、Al₂O₃ 粉等是最常用的吸附剂^[4]。PSA 可以利用活

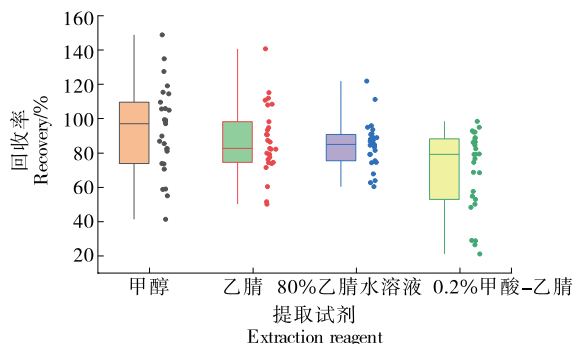


图3 提取试剂对回收率的影响

Figure 3 The effect of different extraction solvents on recovery

性基上的氨基去除基质样品中的糖、脂肪酸、有机酸、脂类、极性色素和金属离子, C_{18} 对样品中的脂肪和非极性成分具有良好的吸附作用; 氧化铝可以吸附脂肪酸等物质。试验比较了 C_{18} 、PSA 和 Al_2O_3 粉对提取液的净化效果。通过比较不同的吸附剂、吸附剂用量以及吸附剂的配伍应用, 可以得出 C_{18} 100 mg + Al_2O_3 100 mg 联合应用吸附杂质的效果最佳, 结果见图 4。

2.4 基质效应

在应用液相色谱串联质谱特别是配有电喷雾离子源 (ESI) 对待测物进行分析时, 进液中的杂质可能对分析物产生干扰, 产生基质效应, 严重影响方法的精密度、准确度, 所以要对基质效应进行分析和评估^[17]。基质效应消除或补偿的办法很多, 常用基质匹配标准溶液校准方法^[18]。研究涉及 27 种抗寄生虫药物在凡纳滨对虾基质中的定性定量分析测定, 药物种类较多, 且基质中的蛋白、脂肪等杂质容易产生基质抑制或增强效应^[19]。由

图 5 可知, 马度米星胺和环丙氨嗪显示出基质增强效应, 数值达到 148.4% 和 128.8%, 而其余 25 种化合物显示出基质抑制效应, 除硝碘酚腈外均小于 80%。基质、前处理方法、化合物浓度都是影响基质效应的因素, 为了抵消或补偿基质效应带来的影响, 采取空白基质标液对线性关系、回收率、精密度等进行考察和实际样品测定。

2.5 线性范围、检出限和定量限

用空白样品提取液对 27 种抗寄生虫药物标准溶液进行稀释, 配制成 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 50, 100, 200 ng/mL 标准曲线系列并上机分析。以质量浓度为横坐标, 化合物定量离子峰面积为纵坐标进行线性回归拟合, 得到回归方程和相应的皮尔森相关系数 r ^[20]。方法检出限 (limit of detection, LOD) 和定量限 (limit of quantitation, LOQ) 分别以 3 倍和 10 倍信噪比结合前处理过程中的稀释倍数以及称样质量进行计算, 结果见表 2。

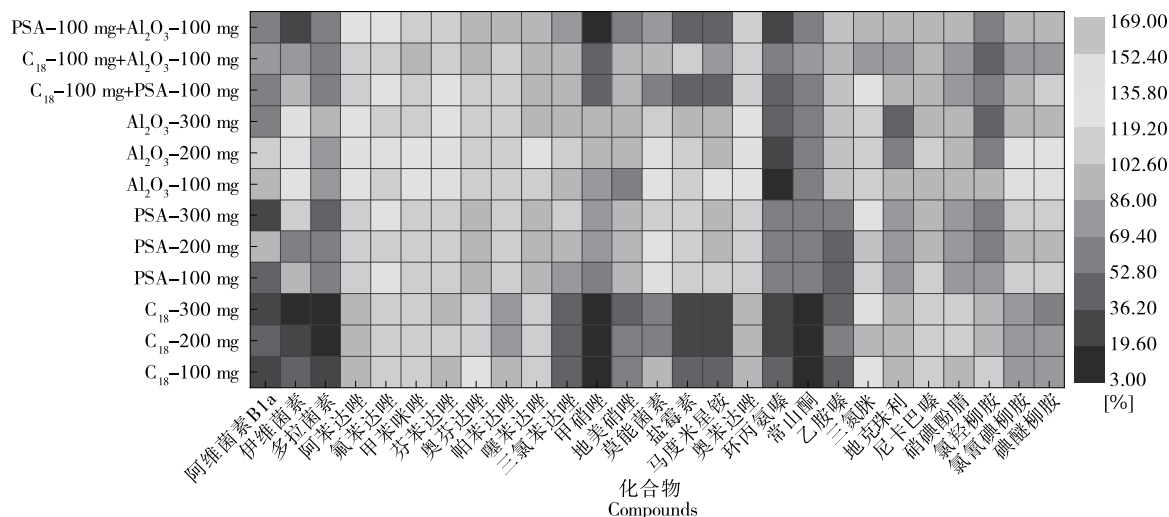


图 4 吸附剂对药物提取回收率的影响

Figure 4 The effect of different adsorbents on the recovery

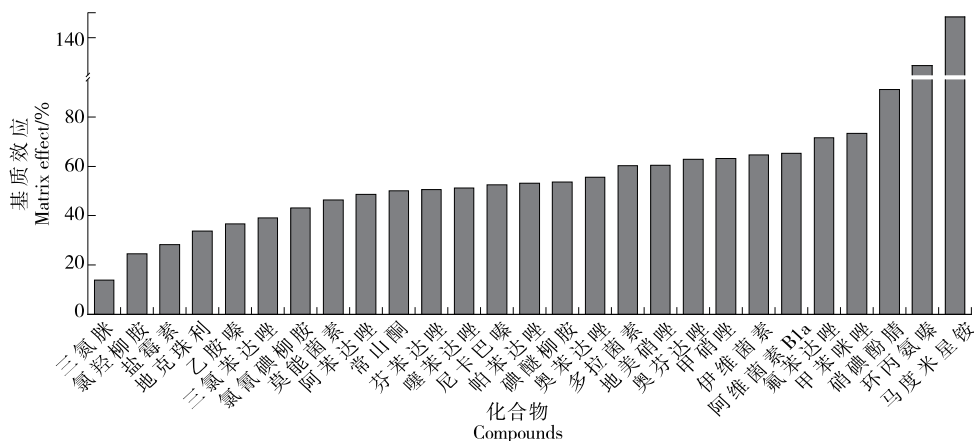


图 5 虾肉中 27 种抗寄生虫药物的基质效应

Figure 5 Matrix effects of 27 antiparasitic drugs in *Penaeus vannamei*

表 2 抗寄生虫药物的线性范围、回归方程、相关系数以及检出限和定量限

Table 2 Linear range, regression equation, correlation coefficient, detection limit and quantification limit of antiparasitic drugs

化合物	线性范围/ (ng · mL ⁻¹)	回归方程	相关系数 <i>r</i>	检出限/ (μg · kg ⁻¹)	定量限/ (μg · kg ⁻¹)
阿维菌素 B1a	1~200	$y=2\,460.02x+29\,131.9$	0.998 9	2.0	5
伊维菌素	1~200	$y=1\,010.04x+49\,299.3$	0.986 3	2.0	5
多拉菌素	1~200	$y=955.34x+13\,400.26$	0.982 4	2.0	5
阿苯达唑	1~200	$y=783\,063x+2\,160\,170$	0.995 0	0.5	2
氟苯达唑	1~200	$y=352\,834x+1\,669\,450$	0.997 9	0.5	2
甲苯咪唑	1~200	$y=428\,870x+591\,010$	0.997 7	0.5	2
芬苯达唑	1~200	$y=789\,873x+1\,143\,950$	0.994 1	0.5	2
奥芬达唑	1~200	$y=148\,687x-79\,731.3$	0.999 1	0.5	2
帕苯达唑	1~200	$y=1\,069\,970x+4\,194\,970$	0.996 2	0.5	2
噻苯达唑	1~200	$y=252\,555x+247\,225$	0.999 7	0.5	2
三氯苯达唑	1~200	$y=243\,251x+50\,918$	0.998 2	0.5	2
甲硝唑	1~200	$y=33\,577.9x-118\,448$	0.998 0	0.5	2
地美硝唑	1~200	$y=71\,419.4x-380\,99.8$	0.999 4	0.5	2
莫能菌素	1~200	$y=35\,727.6x+267\,476$	0.992 5	0.5	2
盐霉素	1~200	$y=20\,264.13x+504\,782$	0.997 4	0.5	2
马度米星铵	1~200	$y=14\,890.93x+314\,745$	0.995 6	0.5	2
奥苯达唑	1~200	$y=498\,981x+1\,052\,790$	0.997 7	0.5	2
环丙氨嗪	1~200	$y=4\,824.94x+4\,387.25$	0.996 1	2.0	5
常山酮	1~200	$y=84\,228.5x-369\,588$	0.974 0	0.5	2
乙胺嗪	1~200	$y=22\,739.61x+47\,187$	0.997 1	0.5	2
三氮脒	1~200	$y=5\,315.43x-13\,055.76$	0.998 9	2.0	5
地克珠利	1~200	$y=33\,399.9x-22\,938.05$	0.999 4	0.5	2
尼卡巴嗪	1~200	$y=547\,432x+1\,010\,950$	0.986 7	0.5	2
硝碘酚腈	1~200	$y=169\,745x+358\,962$	0.985 0	0.5	2
氯羟柳胺	1~200	$y=58\,011.0x+561\,157$	0.993 9	0.5	2
氯氰碘柳胺	1~200	$y=97\,961.7x+1\,022\,130$	0.975 7	0.5	2
碘醚柳胺	1~200	$y=233\,440x+2\,143\,520$	0.992 0	0.5	2

2.6 回收率和重复性

称取凡纳滨对虾空白样品 2 g(精确至 0.01 g)并进行标准溶液(1.3)空白基质添加(如表 3 所示),制备成低、中、高(5,10,50 μg/kg)3 个水平的凡纳滨对虾阳性添加样品,每个添加水平进行 6 次平行试验。阳性添加样品在处理前静置 0.5 h,然后按照 1.4 进行提取、净化,上机分析后计算方法加标回收率和批内变异系数;重复 3 d,以计算和分析批间变异系数,见表 3。结果表明,方法回收率为 61.90%~118.54%,批内变异系数为 0.57%~12.56%,批间变异系数为 1.29%~16.47%。

2.7 实际样品测定

应用该方法对市场中购买的凡纳滨对虾样品进行抗寄生虫药物残留检测。共测定凡纳滨对虾样品 56 批,其

中 1 批样品有阿苯达唑检出,1 批样品有地克珠利检出,但均未达到该方法的定量限。阿苯达唑和地克珠利的检出,说明已经有抗寄生虫药物渗透、污染到了南美白对虾等水产品养殖环境中并在水产品中存在药物存留的情况,数值虽然未达到该方法的定量限值,但也不应该忽视这一现实问题。这可能不是常规药物施用而导致的药物在饲养动物体内的药物残留问题,可能涉及到了畜产水产养殖、药物迁移、养殖废弃物处置等系列问题,应予以关注。

3 结论

研究建立了液相色谱串联质谱测定凡纳滨对虾中 27 种抗寄生虫药物的方法,药物经提取、净化后,于色谱

表 3 凡纳滨对虾在不同添加水平下的回收率和变异系数

Table 3 Recovery and coefficient of variation of *Penaeus vannamei* spiked in different levels

化合物	回收率(<i>n</i> =6)/%			批内变异系数(<i>n</i> =6)/%			批间变异系数 (<i>n</i> =3)/%		
	低	中	高	低	中	高	低	中	高
阿维菌素 B1a	79.57	84.15	88.82	10.28	8.51	7.92	8.82	11.93	6.60
伊维菌素	74.82	82.67	87.44	2.68	5.48	8.74	6.23	5.09	11.17
多拉菌素	80.29	80.24	83.45	8.68	7.25	6.25	8.71	7.18	8.44
阿苯达唑	95.19	97.00	96.61	1.99	5.64	3.67	12.30	12.25	10.85
氟苯达唑	69.52	89.88	99.07	6.15	6.14	1.43	8.73	4.92	10.49
甲苯咪唑	90.18	108.49	106.30	1.80	0.57	3.33	4.61	8.21	8.83
芬苯达唑	83.08	95.77	91.93	4.18	3.75	3.59	5.90	5.88	6.88
奥芬达唑	97.36	100.09	90.87	1.70	0.57	5.12	8.09	3.05	11.23
帕苯达唑	87.84	97.53	98.62	1.13	1.97	2.23	9.56	10.97	11.70
噻苯达唑	89.76	88.23	89.56	3.64	3.38	3.43	12.07	10.51	6.37
三氯苯达唑	96.03	90.52	88.97	5.18	4.78	3.62	14.50	13.19	9.93
甲硝唑	102.10	93.99	85.95	7.57	11.67	3.70	5.89	12.77	5.26
地美硝唑	82.28	86.36	83.72	4.01	2.14	1.86	13.05	5.90	1.29
莫能菌素	87.37	89.08	102.20	4.85	12.51	8.63	9.50	3.07	3.00
盐霉素	97.25	101.26	105.41	4.56	3.58	6.04	5.08	5.31	13.51
马度米星铵	83.18	86.19	83.93	9.72	5.68	4.76	6.88	13.70	7.26
奥苯达唑	88.05	101.09	91.14	2.95	0.81	1.81	12.48	12.28	12.47
环丙氨嗪	78.83	74.14	74.72	9.55	6.31	2.27	11.66	2.68	14.01
常山酮	75.51	61.90	64.38	5.93	4.54	2.87	7.17	3.05	4.14
乙胺嗪	73.69	74.57	64.65	7.79	6.41	6.92	10.33	6.38	13.93
三氮脒	85.19	85.31	88.33	6.15	6.12	2.09	6.24	4.41	2.29
地克珠利	78.30	80.70	82.65	7.93	6.34	0.57	6.13	10.16	11.23
尼卡巴嗪	93.54	98.99	96.34	7.54	5.97	1.74	10.81	9.28	8.99
硝碘酚腈	103.07	90.00	95.62	9.09	4.07	2.63	7.09	10.27	5.82
氯羟柳胺	92.31	96.62	96.51	6.38	11.01	4.89	12.34	14.86	4.94
氯氰碘柳胺	86.80	96.74	102.20	5.84	9.82	10.61	7.40	12.93	16.47
碘醚柳胺	103.57	111.44	118.54	5.32	8.88	12.56	4.42	6.98	13.43

柱进行分离,电喷雾离子源正负离子同步扫描,多反应监测模式测定。该方法前处理简单、准确度高、精密度好。试验研究的样品基质为凡纳滨对虾,后续研究将继续扩展虾类品种和药物残留数量,以期适应多样品基质种类和多药物残留的测定要求。

参考文献

[1] 刘永涛,余琳雪,王桢月,等.改良的 QuEChERS 结合高效液相色谱—串联质谱同时测定水产品中 7 种阿维菌素类药物残留[J]. 色谱, 2017, 35(12): 1 276-1 285.

LIU Y T, YU L X, WANG Z Y, et al. Simultaneous determination of seven avermectin residues in aquatic products by modified QuEChERS combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of

Chromatography, 2017, 35(12): 1 276-1 285.

[2] 邢丽红,孙伟红,孙晓杰,等.分散固相萃取净化—高效液相色谱—串联质谱法测定鱼体中地克珠利残留量[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 174-179.

XING L H, SUN W H, SUN X J, et al. Determination of diclazuril in fish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with dispersive solid phase extraction [J]. Food Science, 2016, 37(14): 174-179.

[3] 林海丹,林峰,张美金,等.高效液相色谱法同时测定动物组织中 16 种苯并咪唑类药物残留[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 231-236.

LIN H D, LIN F, ZHANG M J, et al. Simultaneous HPLC determination of 16 benzimidazoles residues in animal tissue [J]. Food Science, 2011, 32(2): 231-236.

[4] GAN J, LIU H, CHEN Y, et al. One step extraction followed by

- HPLC-ESI-MS/MS for multi-residue analysis of diacylhydrazine insecticides in water, sediment, and aquatic products [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 210: 111853.
- [5] KONG C, WANG Y, HUANG Y, et al. Multiclass screening of > 200 pharmaceutical and other residues in aquatic foods by ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap mass spectrometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(22): 5 545-5 553.
- [6] CARABAJAL M, TEGLIA C M, MAINE M A, et al. Multivariate optimization of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of six antiparasite drugs in kennel effluent waters by using second-order chromatographic data [J]. *Talanta*, 2021, 224: 121929.
- [7] UCHIDA K, KONISHI Y, HARADA K, et al. Monitoring of antibiotic residues in aquatic products in urban and rural areas of vietnam[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64 (31): 6 133-6 138.
- [8] OKOCHA R C, OLATOYE I O, ADEDEJI O B. Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture[J]. *Public Health Reviews*, 2018, 39: 21.
- [9] HANNISDAL R, NOSTBAKKEN O J, HOVE H, et al. Anti-sea lice agents in Norwegian aquaculture; surveillance, treatment trends and possible implications for food safety [J]. *Aquaculture*, 2020, 521: 735044.
- [10] DA L N, HOANG A Q, HOANG T T H, et al. Antibiotic and antiparasitic residues in surface water of urban rivers in the red river delta (Hanoi, Vietnam): Concentrations, profiles, source estimation, and risk assessment[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(9): 10 622-10 632.
- [11] KANG H, LEE S, SHIN D, et al. Occurrence of veterinary drug residues in farmed fishery products in South Korea [J]. *Food Control*, 2018, 85: 57-65.
- [12] TURNIPSEED S B, STOREY J M, WU I L, et al. Extended liquid chromatography high resolution mass spectrometry screening method for veterinary drug, pesticide and human pharmaceutical residues in aquaculture fish[J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2019, 36(10): 1 501-1 514.
- [13] 吴增茹, 朱丽荔, 骆宏鹏, 等. 伊维菌素在电喷雾质谱中的行为及其机理的研究[J]. *质谱学报*, 2001(2): 1-9.
- WU Z R, ZHU L L, LUO H P, et al. Studies on the behavior and mechanisms of ivermectin in electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2001(2): 1-9.
- [14] 岳振峰, 康海宁, 陈小霞, 等. 液相色谱串联质谱法测定鸡肉中 20 种抗虫药物多残留[J]. *分析化学*, 2012, 40(8): 1 262-1 266.
- YUE Z F, KANG H N, CHEN X X, et al. Simultaneous determination of 20 coccidiostat residues in chicken by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(8): 1 262-1 266.
- [15] 刘开, 郭建博, 薛晓文, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物的残留量的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(19): 6 751-6 758.
- LIU K, GUO J B, XUE X W, et al. Determination of nitroimidazoles and their metabolites residues in foodstuffs of animal origin by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11 (19): 6 751-6 758.
- [16] 陈思敏, 吴映璇, 蓝草, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定乳制品中苯并咪唑类药物及其代谢物的残留量[J]. *理化检验: 化学分册*, 2020, 56(5): 553-564.
- CHEN S M, WU Y X, LAN C, et al. UHPLC-MS/MS determination of residual amounts of benzimidazoles and its metabolites in dairy product[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis*, 2020, 56(5): 553-564.
- [17] 刘晓云, 陈笑艳, 钟大放. 液相色谱—串联质谱生物分析方法的基质效应和对策[J]. *质谱学报*, 2017, 38(4): 388-399.
- LIU X Y, CHEN X Y, ZHONG D F. Matrix effects and countermeasure of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in bioanalysis [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2017, 38(4): 388-399.
- [18] BERNARDES A N, GODOI L A G, CAMILOTI P R, et al. Organic acids and alcohols quantification by HPLC/RID in sugarcane vinasse: Analytical method validation and matrix effect assessment[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2021, 101(3): 325-336.
- [19] 张颖. QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 测定水产品中兽药残留的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021: 21-22.
- ZHANG Y. Research and application fo QuEChERS on veterinary drug residue in animal-derived food[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2021: 21-22.
- [20] 黄胜广, 王玉方, 赵卉, 等. QuEChERS/UPLC-MS/MS 法同时测定梅花鹿鹿茸中 36 种兽药残留[J]. *质谱学报*, 2020, 41(6): 648-658.
- HUANG S G, WANG Y F, ZHAO H, et al. Determination of 36 veterinary drug residues in antler velvet of *Cervus nippon Temminck* by QuEChERS/UPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2020, 41(6): 648-658.