

# LC-MS/MS快速检测水产类农兽药残留

## Rapid determination of agricultural and veterinary drug residues in aquatic products by LC-MS / MS

刘青<sup>1</sup>, 陈情<sup>2</sup>, 黄文杰<sup>2</sup>, 李荷香<sup>2</sup>, 杨总<sup>1</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Liu Qing<sup>1</sup>, Chen Qing<sup>2</sup>, Huang Wenjie<sup>2</sup>, Li Henxiang<sup>2</sup>, Yang Zong<sup>1</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

SCIEX Application Support Center, China<sup>1</sup>

Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd<sup>2</sup>

**Keywords:** Veterinary drug; Aquatic products

### 引言

随着经济快速增长以及生活水平提高,消费者对食品质量安全的关注度日益上升。作为主要食物之一的鱼、虾等水产品的质量安全问题也受到人民群众的广泛关注和政府部门的高度重视。水产养殖业的现代化、集约化、规模化发展,使得各类药物、添加剂、改良剂、微生物制剂等产品在水产养殖业中被广泛应用,有效降低了水产品的发病率、死亡率,降低了养殖成本。但是这些药物或制剂的使用是否符合规范,是否会导致水产品药物残留积累或水体土壤污染等问题值得探究。在这样的背景下,农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局公告2019年第114号,《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》(GB 31650-2019,代替农业部公告第235号中的相应部分)国家标准颁布实施。本文采用高效液相色谱串联质谱建立了对于新颁布实施的水产类产品的兽药检测标准进行了前处理和方法学验证工作,该方案的优势和特点。

- 方法全面:** 覆盖2021版本所有水产类系列标准GB 31656.3-2021、GB 31656.4-2021、GB 31656.5-2021、GB 31656.7-2021、GB 31656.8-2021、GB 31656.9-2021、GB 31656.10-2021、GB 31656.11-2021、GB 31656.12-2021、GB 31656.13-2021中的化合物种类;
- 方法灵敏度高:** 水产类基质中所有化合物的灵敏度均满足以上标准的限量要求;
- 紧扣标准:** 所有水产类基质的前处理方法均与标准保持一致,满足检验需求,实用性强;

### 1 实验方法

#### 1.1 样品前处理

本实验的前处理方法全部按照标准的要求进行;

方法1: GB 31656.3-2021水产品中喹诺酮类残留量的测定

方法2: GB 31656.4-2021 水产品中氯丙嗪残留量的测定

方法3: GB 31656.5-2021水产品中安眠酮残留量的测定

方法4: GB 31656.7-2021水产品中氯硝柳胺残留量的测定

方法5: GB 31656.8-2021水产品中有机磷类药物残留量的测定

方法6: GB 31656.9-2021水产品中二甲戊灵残留量的测定

方法7: GB 31656.10-2021水产品中四聚乙醛残留量的测定

方法8: GB 31656.11-2021水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定

方法9: GB 31656.12-2021水产品中青霉素类药物多残留的测定

方法10: GB 31656.13-2021水产品中硝基咪唑类代谢物多残留的测定

#### 1.2 液相色谱条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ 系统

色谱柱: Phenomenex C18 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)

流动相: A为0.1%的甲酸(5 mmol/L乙酸铵溶液), B为甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

洗脱程序: 梯度洗脱

### 1.3 质谱条件

质谱系统：SCIEX 三重四级杆质谱系统

扫描模式：多反应监测MRM；离子源：ESI源；喷雾电压（IS）：5500/-4500 V；离子源温度（TEM）：550 °C；气帘气（CUR）：35 psi；碰撞气（CAD）：Medium；雾化气（GS1）：55 psi；辅助雾化气（GS2）：55psi；MRM离子对见（表1）。

表1. 离子对信息

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
320.1	276.1	Norfloxacin 1	80	26	31656.3
320.1	233.1	Norfloxacin 2	80	35	31656.3
320.1	302	Norfloxacin 3	41	27	31656.3
360.1	316.1	Enrofloxacin 1	80	28	31656.3
360.1	245.1	Enrofloxacin 2	80	36	31656.3
360.2	342	Enrofloxacin 3	41	27	31656.3
332.1	288.1	Ciprofloxacin 1	80	25	31656.3
332.1	245.1	Ciprofloxacin 2	80	33	31656.3
332.1	314	Ciprofloxacin 3	46	25	31656.3
262	244.1	Oxolinic acid 1	70	26	31656.3
262	216.1	Oxolinic acid 2	70	40	31656.3
262.1	160	Oxolinic acid 3	26	47	31656.3
262.1	244.1	Flumequin 1	77	23	31656.3
262.1	202.1	Flumequin 2	77	42	31656.3
262.1	174	Flumequin 3	26	49	31656.3
362.2	318.1	Ofloxacin 1	80	26	31656.3
362.2	261.1	Ofloxacin 2	80	38	31656.3
319	58	Chlorpromazine 1	66	67	31656.4
319	86.1	Chlorpromazine 2	66	23	31656.4
251.1	91.1	methaqualone 1	131	45	31656.5
251.1	132.1	methaqualone 2	131	35	31656.5
324.7	170.9	Niclosamide 1	-80	-35	31656.7
324.7	288.9	Niclosamide 2	-80	-25	31656.7
299.1	129	Phoxim 1	67	16	31656.8
299.1	77	Phoxim 2	67	46	31656.8

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
279.1	169	Fenthion 1	78	23	31656.8
279.1	247	Fenthion 2	78	18	31656.8
274	109	Trichlorfon 1	32	25	31656.8
274	88	Trichlorfon 2	31	21	31656.8
221	109	Dichlorvos 1	70	23	31656.8
221	127	Dichlorvos 2	70	25	31656.8
305	169	Diazinon 1	80	27	31656.8
305	153	Diazinon 2	80	28	31656.8
325	183	Azamethiphos 1	26	21	31656.8
325	112	Azamethiphos 2	26	51	31656.8
331	127	Malathion 1	64	17	31656.8
331	99	Malathion 2	64	31	31656.8
240	156.1	Propetamphos-Deisopropyl 1	55	11	31656.8
240	138.1	Propetamphos-Deisopropyl 2	55	21	31656.8
363	227	Coumaphos 1	100	36	31656.8
362.9	307	Coumaphos 2	100	25	31656.8
282.1	212	Pendimethalin 1	45	15	31656.9
282.1	194	Pendimethalin 2	45	25	31656.9
194.2	62.2	Metaldehyde 1	80	20	31656.10
194.2	106.2	Metaldehyde 2	80	23	31656.10
445.1	410.2	Tetracycline 1	80	24	31656.11
445.1	427.1	Tetracycline 2	80	19	31656.11
461.2	426.2	Oxytetracycline 1	80	25	31656.11
461.2	443.2	Oxytetracycline 2	80	17	31656.11
479.1	462	Chlortetracycline 1	80	24	31656.11
479.1	444	Chlortetracycline 2	80	28	31656.11
445	428.1	Doxycycline 1	80	24	31656.11
445	154.1	Doxycycline 2	80	35	31656.11
366.2	349.1	amoxicillin 1	46	13	31656.12
366.2	114.1	amoxicillin 2	46	30	31656.12
366.3	208.3	amoxicillin 3	120	17.5	31656.12
350.3	192.1	ampicillin 1	55	23	31656.12

表1. 离子对信息 (续)

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
350.3	106.1	ampicillin 2	55	26	31656.12
350.3	160.2	ampicillin 3	120	16	31656.12
351.2	160.1	penicillin V 1	55	16	31656.12
351.2	192	penicillin V 2	55	16	31656.12
335.2	160.1	penicillin G 1	60	18	31656.12
335.2	176.2	penicillin G 2	60	18	31656.12
402.2	160.1	oxacillin 1	60	18	31656.12
402.2	243.1	oxacillin 2	60	18	31656.12
436.2	160.1	cloxacillin 1	60	18	31656.12
436.2	277.1	cloxacillin 2	60	18	31656.12
470.1	160.1	dicloxacillin 1	60	21	31656.12
470.1	311.1	dicloxacillin 2	60	21	31656.12
415.2	199.1	nafcillin 1	64	20	31656.12
415.2	256.1	nafcillin 2	64	51	31656.12
518	160	Piperacillin 1	60	15	31656.12
518	143	Piperacillin 2	60	20	31656.12
462	246	Azlocillin 1	60	17	31656.12
462	218	Azlocillin 2	60	26	31656.12
381	222	Methicillin 1	40	21	31656.12
381	165	Methicillin 2	40	25	31656.12
209.2	166.2	2-NB-SEM 1	80	14	31656.13
209.2	192.1	2-NB-SEM 2	80	16	31656.13
236.1	133.9	2-NB-AOZ 1	80	17	31656.13
236.1	103.9	2-NB-AOZ 2	80	31	31656.13
249.2	134.1	2-NB-AHD 1	80	17	31656.13
249.2	104.1	2-NB-AHD 2	80	27	31656.13
335.2	291.1	2-NB-AMAZ 1	80	17	31656.13
335.2	262.2	2-NB-AMAZ 2	80	23	31656.13

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 色谱条件优化

针对上述不同的实验的前处理, 实验详细优化了色谱条件, 比较了不同品牌、不同型号的色谱柱以及流动相, 有效的避开基质干扰, 定量结果更准确。

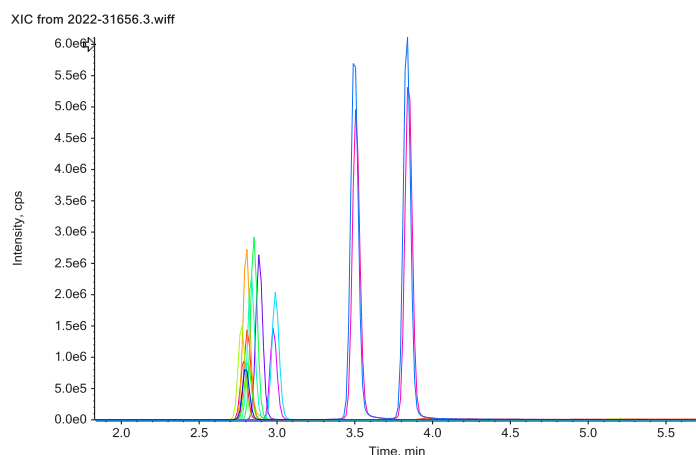


图1. 水产品中喹诺酮类残留量提取离子流图(GB 31656.3-2021)

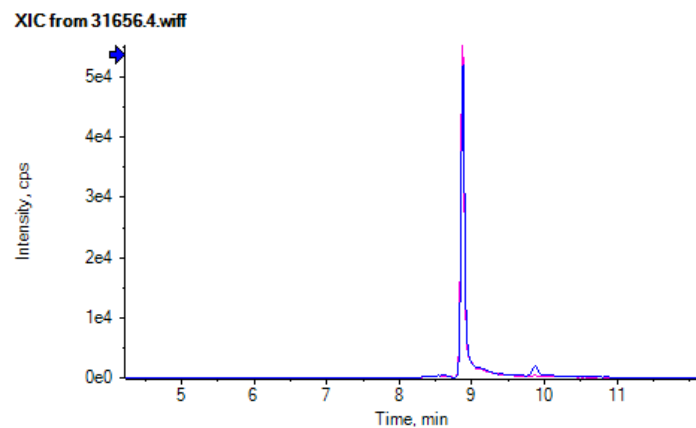


图2. 基质加标氯丙嗪提取离子流图(GB 31656.4-2021)

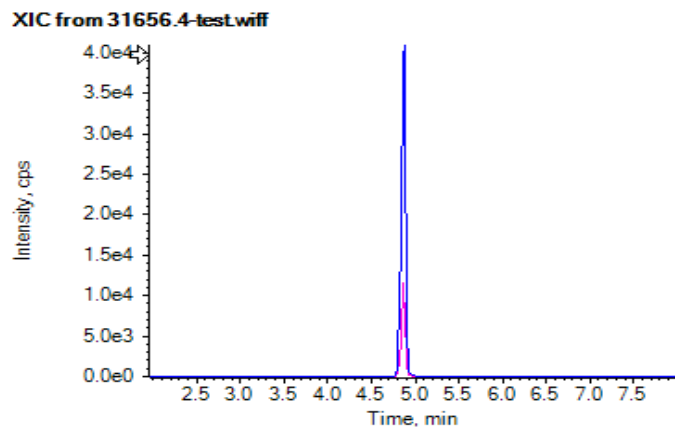


图3. 基质加标安眠酮提取离子流图(GB 31656.5-2021)

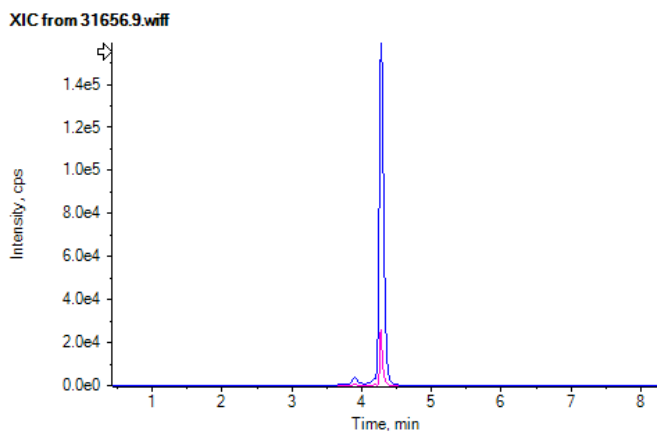


图6. 基质加标二甲戊灵提取离子流图(GB 31656.9-2021)

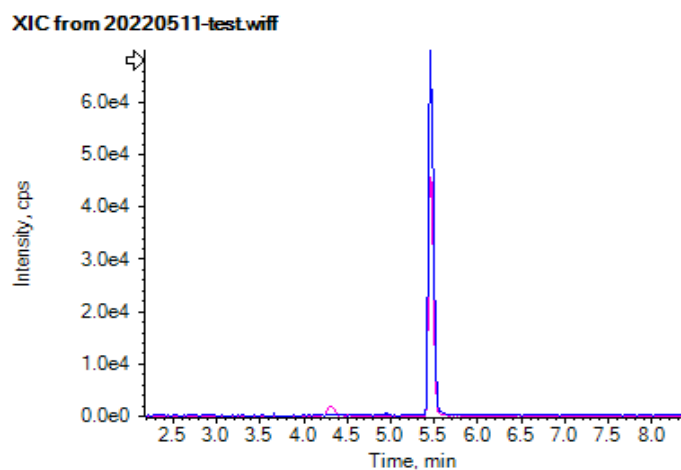


图4. 基质加标氯硝柳胺提取离子流图(GB 31656.7-2021)

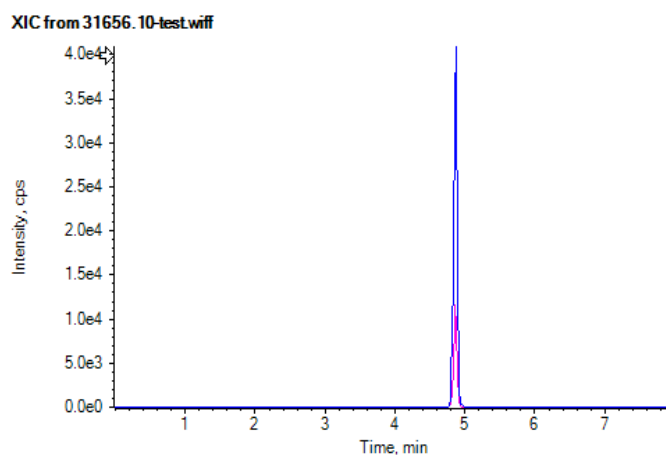


图7. 基质加标四聚乙醛提取离子流图(GB 31656.10-2021)

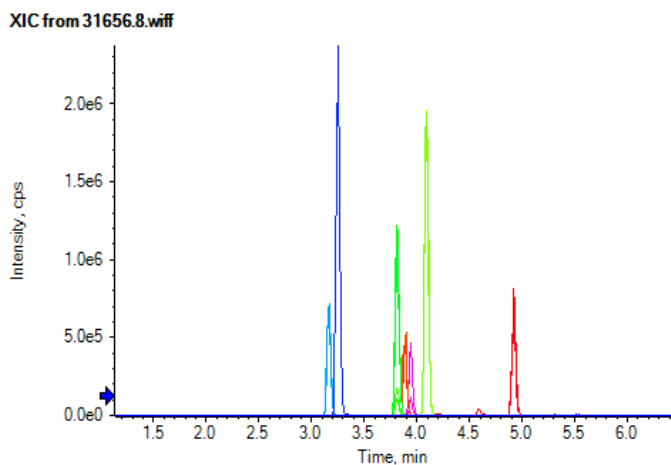


图5. 基质加标有机磷类药物提取离子流图(GB 31656.8-2021)

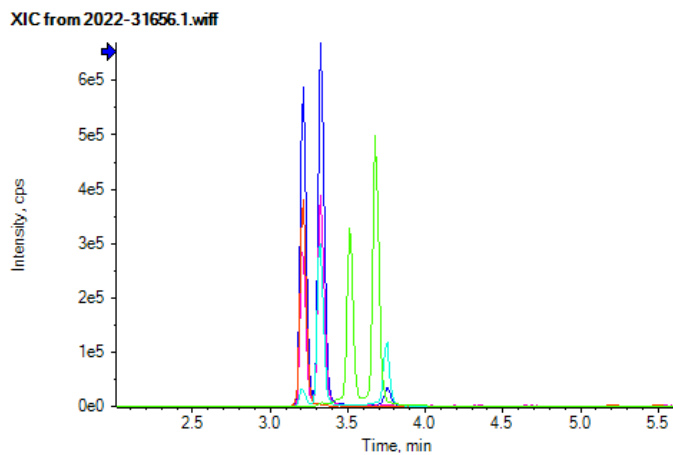


图8. 基质加标土霉素、四环素、金霉素和多西环素提取离子流图(GB 31656.11-2021)

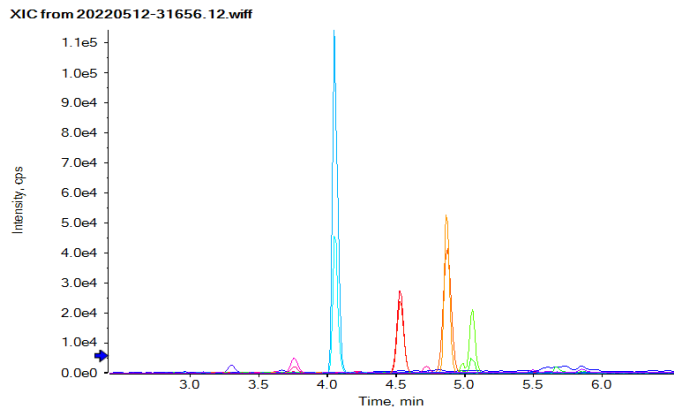


图9. 基质加标青霉素类药物提取离子流图(GB 31656.12-2021)

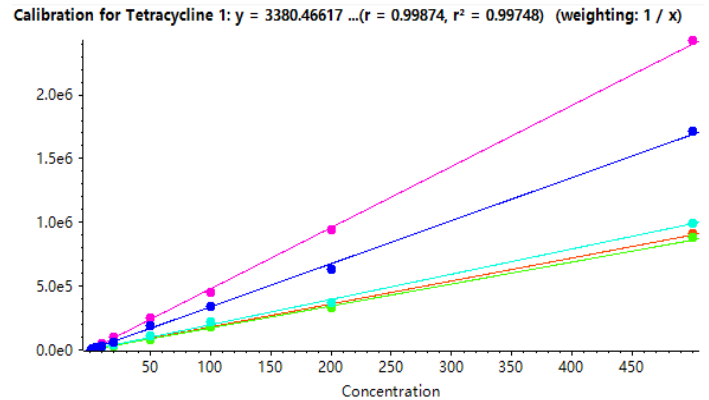


图11. 四环素基质线性回归曲线GB 31656.11-2021)

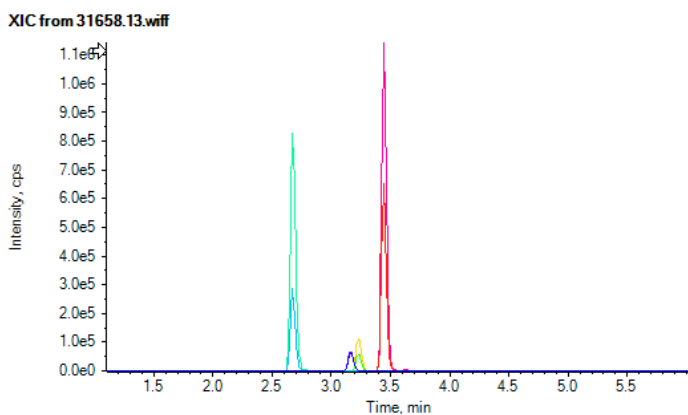


图10. 硝基呋喃类代谢物提取离子流图 (GB 31656.13-2021)

表2. 回收率及重复性实验 (n=6)

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
诺氟沙星	5.0	92.13	1.56
	25.0	89.45	1.93
环丙沙星	5.0	92.45	2.13
	25.0	83.28	2.34
恩诺沙星	5.0	84.65	2.31
	25.0	92.36	1.24
氧氟沙星	5.0	89.23	0.98
	25.0	94.28	0.85
噁喹酸	10.0	105.35	0.64
	50.0	101.26	2.01
氟甲喹	10.0	98.36	2.18
	50.0	94.36	2.07
氯丙嗪	1.0	89.26	1.85
	5.0	93.65	1.94
安眠酮	0.5	88.94	1.83
	2.5	105.68	1.56
氯硝柳胺	0.5	90.35	1.75
	2.5	115.23	2.19
辛硫磷	10.0	90.56	1.84
	50.0	80.64	1.53
倍硫磷	20.0	102.30	2.76
	100.0	92.67	2.24
敌百虫	10.0	82.56	1.84
	50.0	83.65	1.65
敌敌畏	10.0	105.65	1.87
	50.0	106.85	1.84
二嗪磷	10.0	102.23	1.05
	50.0	99.45	1.27

## 2.2 方法考察了重复性、线性等

实验分别按照前述前处理方法，选取适用的禽、畜肉空白基质添加1倍和5倍地定量限两个浓度，每个浓度重复6次，准确度在80.25%-115.23%之间 (n=6)，相对标准偏差小于2.76% (表3)，实验结果表明该方法具有较好的准确度以及良好的稳定性。基质加标曲线相关系数均大于 $r > 0.995$  (图2)，表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

表2. 回收率及重复性实验 (n=6) (续)

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
甲基吡啶磷 (甲基吡噁磷)	10.0	108.35	0.99
	50.0	103.75	1.07
马拉硫磷	10.0	88.93	2.12
	50.0	86.54	2.51
脱异丙基 巴胺磷	10.0	89.35	1.96
	50.0	92.65	1.34
蝇毒磷	20.0	106.75	2.23
	100.0	108.35	2.14
辛硫磷	20.0	82.34	2.15
	100.0	86.53	2.51
二甲戊灵	2.0	103.24	1.26
	10.0	101.72	1.54
四聚乙醛	1.0	89.26	2.45
	5.0	84.29	2.56
四环素	10.0	105.37	2.26
	50.0	102.64	1.58
土霉素	10.0	95.35	1.67
	50.0	94.83	1.65
金霉素	10.0	86.94	1.34
	50.0	87.36	1.54
强力霉素 (多西环素)	10.0	86.46	1.45
	50.0	88.28	1.86
阿莫西林	25.0	83.18	2.21
	125.0	80.25	2.04
氨苄西林	5.0	83.26	1.97
	25.0	83.05	1.99
青霉素V	5.0	84.56	1.76
	25.0	86.46	1.87
青霉素G	5.0	82.75	2.05
	25.0	85.75	1.87
苯唑西林	5.0	82.98	1.84
	25.0	84.39	1.98

化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
氯唑西林	5.0	88.39	1.87
	25.0	85.63	1.96
双氯西林	5.0	85.75	1.85
	25.0	92.02	1.75
萘夫西林	5.0	93.06	1.65
	25.0	87.64	1.83
哌拉西林	5.0	93.02	1.63
	25.0	93.04	1.85
阿洛西林	5.0	90.34	1.47
	25.0	91.23	1.64
甲氧西林	5.0	89.04	1.43
	25.0	94.29	1.95
呋喃西林 代谢物	1.0	99.08	1.12
	5.0	87.45	1.03
呋喃唑酮 代谢物	1.0	88.76	1.25
	5.0	84.67	1.65
呋喃妥因 代谢物	1.0	84.28	1.87
	5.0	90.23	1.25
呋喃它酮 代谢物	1.0	85.89	1.05
	5.0	84.37	1.02

### 3 小结

本文建立了高效液相色谱-串联三重四极杆质谱快速定量分析检测多类农兽药的检测方法。实验严格按照GB31650-2019配套相关标准进行, 确保了实验结果的有效性, 定量结果更准确。该方法足以满足2021系列标准GB 31656.3-2021、GB 31656.4-2021、GB 31656.5-2021、GB 31656.7-2021、GB 31656.8-2021、GB 31656.9-2021、GB 31656.10-2021、GB 31656.11-2021、GB 31656.12-2021、GB 31656.13-2021定量检测要求, 在水产类食品的分析检测具有重要的参考意义。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14911-ZH-A



#### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)