

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 4种酰胺醇类抗生素残留

仲伶俐, 雷欣宇, 李曦, 赵珊, 秦琳, 黄世群, 郑幸果*

(四川省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 成都 610066)

摘要: **目的** 建立一种超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中酰胺醇类抗生素氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考及代谢物氟苯尼考胺残留的方法。**方法** 水产样品经乙腈提取, 正己烷除脂后, 在 Capcell Pak ADME (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) 色谱柱上分离, 采用多反应监测模式, 以氯霉素-D5 和氟苯尼考胺-D3 为内标进行定量测定。**结果** 氯霉素在 0.5~25.0 ng/mL 范围内线性关系良好($r>0.999$), 甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺在 5.0~250.0 ng/mL 范围内线性关系良好($r>0.998$)。方法检出限为 0.1~1.0 μg/kg, 定量限为 0.2~2.0 μg/kg。当氯霉素添加水平为 0.2、1.0 和 10.0 μg/kg 时, 回收率为 82.5%~104.0%, 相对标准偏差在 2.2%~11.8%之间; 当甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺添加水平为 2.0、10.0 和 100.0 μg/kg 时, 回收率为 80.9%~102.0%, 相对标准偏差在 0.8%~8.4%之间。**结论** 该方法快速简单、准确、成本低, 适用于水产品中 4 种酰胺醇类抗生素残留的检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 水产品; 酰胺醇类; 代谢物

Simultaneous determination of 4 kinds of amidol antibiotics residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHONG Ling-Li, LEI Xin-Yu, LI Xi, ZHAO Shan, QIN Lin,
HUANG Shi-Qun, ZHENG Xing-Guo*

(Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The aquatic samples were extracted with acetonitrile, degreased with n-hexane, and separated on a Capcell Pak ADME (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) chromatographic column, the multi-reaction monitoring mode was adopted for the quantitative determination with chloramphenicol-D5 and florfenicol amine-D3 as internal standards. **Results** The linear relationship of chloramphenicol was good in the range of 0.5–25.0 ng/mL ($r>0.999$), and that of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine were good in the

基金项目: 四川省科技计划项目(2019YJ0611)

Fund: Supported by the Sichuan Science and Technology Program (2019YJ0611)

*通信作者: 郑幸果, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测。E-mail: 525776517@qq.com

*Corresponding author: ZHENG Xing-Guo, Master, Assistant Professor, Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, NO.20, Jingjiusi Street, Jinjiang District, Chengdu 610066, China. E-mail: 525776517@qq.com

range of 5.0–250.0 ng/mL ($r > 0.998$). The limits of detection were 0.1–1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limits of quantitative were 0.2–2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recoveries were 82.5%–104.0% and the relative standard deviations were 2.2%–11.8% when chloramphenicol was added at 0.2, 1.0, and 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively; when the addition levels of thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine were 2.0, 10.0, and 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recoveries were 80.9%–102.0%, and the relative standard deviations were 0.8%–8.4%. **Conclusion** This method is rapid, simple, accurate and low in cost, and is suitable for the determination of the residues of 4 kinds of amidol antibiotics residues in aquatic products.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; aquatic products; amidol antibiotics; metabolite

0 引言

酰胺醇类药物又称氯霉素类抗生素,是一类在兽医临床上用于治疗畜禽以及水产动物细菌性疾病的广谱抗生素,主要包括氯霉素(chloramphenicol, CAP)、甲砒霉素(thiamphenicol, TAP)、氟苯尼考(flорfenicol, FF)。因CAP会导致不可逆性再生障碍性贫血等危害,已被很多国家禁用于食源性动物^[1-2],TAP和FF逐渐成为CAP的替代品^[2-3]。FF在动物体内有多种代谢产物,但大部分以FF和氟苯尼考胺(flорfenicol amine, FFA)的形式存在,因此部分国家规定FF的标志残留物为FF和FFA之和^[2,4]。GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定TAP在鱼中最高残留限量(maximum residue limit, MRL)为50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,FF(以FF和FFA之和计)在鱼中MRL为1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

国内外关于酰胺醇类抗生素的检测方法报道较多,主要包括气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[2,5]、高效液相色谱-紫外法^[6-7]、高效液相色谱-荧光法^[3,8-9]、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[1,10-13]、酶联免疫法^[14]等,但大多报道只检测2种或3种酰胺醇类药物。LC-MS/MS法以灵敏度高、准确度好的优势成为目前测定酰胺醇类药物残留的主流方法,但将代谢物FFA与CAP、TAP和FF同时测定的报道并不多,涉及产品也较少,有禽肉和禽蛋^[1]、牛、马和猪的肝脏^[10]、鸡蛋、鸡肉和猪肉^[12]。邵会等^[2]建立了GC-MS法同时测定水产品中CAP、TAP、FF和FFA多残留的方法,但需要衍生化操作,烦琐耗时。因此,有必要建立一种简单快速的同时测定水产品中CAP、TAP、FF及其代谢物FFA残留的超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)。

本研究旨在建立一种UPLC-MS/MS法同时测定水产品中酰胺醇类抗生素CAP、TAP、FF及代谢物FFA的方法,采用能够在反相模式下对强极性化合物进行分析的金刚烷基填料色谱柱进行分离,样品不需要经过复杂的固相萃取净化,即可达到对目标物、尤其是易产生杂质干扰的强极性代谢产物FFA的快速、准确分析,为更全面、高效

和准确地监测水产品中酰胺醇类药物残留提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

标准物质CAP、TAP、FF(纯度均为99%以上)、CAP-D5(100 mg/L)(德国Dr. Ehrenstorfer公司);FFA(纯度99.3%,德国Witega公司);FFA-D3(纯度99.6%,北京曼哈格生物科技有限公司);无水硫酸钠(分析纯,成都恒瑞达化玻仪器公司);氨水(分析纯,四川西陇化工有限公司);甲酸、乙酸乙酯、乙腈、正己烷(色谱纯)、甲酸铵(质谱纯)(上海安谱科技股份有限公司);甲醇(质谱纯,美国Fisher Chemical公司);实验用水均为优普超纯水系统制备。

1.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC I-Class/Xevo TQ-XS液相色谱-串联质谱仪(配电喷雾离子源,美国Waters公司);AutoEVA-20Plus全自动氮吹浓缩仪(睿科集团股份有限公司);Neofuge 18R高速冷冻离心机(力康生物医疗科技控股有限公司);WH-3微型涡旋混合仪(上海楚定分析仪器有限公司);Multi Reax多管涡旋混合仪(德国Heidolph公司);DT-1002A电子天平(广州禄源化玻仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

分别准确称取适量CAP、TAP、FF和FFA标准物质用甲醇配制成200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的单标标准储备溶液。分别准确吸取一定量CAP、TAP、FF和FFA的标准储备溶液,用甲醇稀释成质量浓度为1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (CAP)和10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (TAP、FF和FFA)的混合标准中间溶液,于4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。使用前根据需要稀释为适当浓度的混合标准工作溶液。CAP-D5和FFA-D3分别用甲醇配制成质量浓度为10.0和100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的内标标准溶液,再用甲醇配制成CAP-D5为100.0 ng/mL和FFA-D3为1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合内标标准工作溶液。

取一定量的混合标准工作溶液和混合内标标准工作溶液,用空白基质溶液稀释配制成CAP质量浓度为0.5、1.0、2.5、10.0、25.0 ng/mL, TAP、FF、FFA质量浓度为

5.0、10.0、25.0、100.0、250.0 ng/mL 的系列混合基质标准溶液, 含 CAP-D5 内标 2.5 ng/mL(作为 CAP、TAP、FF 内标), 含 FFA-D3 内标 25.0 ng/mL(作为 FFA 内标)。

1.3.2 样品采集与制备

鱼、虾样品来自四川各地水产市场, 鱼去头、骨、内脏, 取肌肉等可食部分, 切块至 4 cm 以下, 放入研磨仪绞碎并混合均匀成鱼糜; 对虾去头去壳, 取可食部分放入研磨仪绞碎并混合均匀成肉糜。

1.3.3 样品提取和净化

准确称取鱼、虾水产品 5.00 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入混合内标标准工作溶液 50 μ L, 涡旋混匀, 加入提取液(①10 mL 乙酸乙酯, 0.5 mL 氨水; ②10 mL 乙腈), 再加入 5 g 无水硫酸钠, 立即摇匀使样品在提取液中分散, 于多管涡旋混合仪上以 2000 r/min 涡旋振荡 10 min, 取出并于离心机 5000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 50 mL 玻璃试管中, 剩余残渣用提取液(①10 mL 乙酸乙酯, 0.5 mL 氨水; ②10 mL 乙腈)重复提取一次, 合并上清液于玻璃试管中, 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干, 用 2 mL 10% 甲醇-水溶液(V:V)溶解残渣, 转移至 5 mL 离心管中, 加入 2 mL 正己烷, 涡旋混匀, 5000 r/min 离心 5 min, 取下层液体过 0.22 μ m 滤膜, 待 UPLC-MS/MS 测定。

1.3.4 色谱条件

色谱柱为 Capcell Pak ADME 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.7 μ m); 流速: 0.4 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 2 μ L; 流动相 B 为甲醇, 流动相 A 为 0.05% 甲酸-2.5 mmol/L 甲酸铵溶液, 梯度洗脱: 0~1.5 min, 98% A; 1.5~2.0 min, 98%~50% A; 2.0~3.0 min, 50%~30% A; 3.0~4.5 min, 30%~10% A; 4.5~4.6 min, 10%~98% A, 4.6~6.0 min, 98% A。

1.3.5 质谱条件

电喷雾电离(electrospray ionization, ESI); 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描; 细管电压:

3.0 kV, 离子源温度: 150 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气(N_2)温度: 300 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气流速: 800 L/h, 锥孔气流速: 150 L/h, 碰撞气流速(Ar): 1.5 L/h。4 种酰胺醇类抗生素的 MRM 参数见表 1。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 质谱条件的优化

CAP、TAP、FF、CAP-D5 在 ESI 负离子模式下进行母离子全扫描, 得到相应的[M-H]⁻准分子离子峰。FFA、FFA-D3 在 ESI 正离子模式下进行母离子全扫描, 得到[M+H]⁺准分子离子峰。对其进行子离子扫描和质谱参数优化, 最后选取离子丰度强、杂质干扰小的子离子作为定性离子, 其中丰度值较大、稳定性较好的子离子作为定量离子。采用 MRM 模式对酰胺醇类抗生素进行分析, 各化合物 MRM 质谱参数见表 1。

2.1.2 色谱柱的选择

文献报道同时测定畜禽产品及禽蛋中 CAP、TAP、FF 及代谢物 FFA 的方法一般采用 C_{18} 色谱柱分离^[1,10,12]。但 FFA 极性较强, 在 C_{18} 色谱柱上保留极弱, 易受杂质干扰^[5]。本研究采用 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱分析水产品中酰胺醇类药物及代谢物, 同样发现 FFA 保留差, 难以与基质共流出杂质分离。采用对极性化合物具有更好保留的 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱, FFA 保留虽有增强, 但仍不能与共流出杂质较好地分离, 需要更高要求的样品净化以达到准确分析。刘正才等^[15]采用 HILIC 亲水作用色谱柱分析水产品中 FFA, 获得了较好的分离, FFA 保留时间大于 2 min, 但该方法未能同时测定其他酰胺醇类药物。本研究选用了兼具非常强的表面极性和一定疏水性的 Capcell Pak ADME 金刚烷基色谱柱, 样品不需要经过复杂的固相萃取净化, 即可达到对 CAP、TAP、FF 及其代谢物 FFA 的快速分离。

表 1 酰胺醇类药物的 MRM 质谱参数
Table 1 MRM mass spectral parameters of amide alcohols

化合物	保留时间/min	扫描模式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
CAP	3.43	ESI(-)	321.12	151.9*	8	18
				257.0	8	10
TAP	2.89	ESI(-)	354.01	184.92*	6	20
				289.97	6	12
FF	3.09	ESI(-)	356.0	185.0*	8	18
				336.0	8	8
FFA	2.26	ESI(+)	247.95	130.2*	8	16
				230.0	8	12
CAP-D5	3.42	ESI(-)	326.0	157.0	8	16
FFA-D3	2.25	ESI(+)	250.95	233.0	30	14

注: *为定量离子。

2.1.3 流动相的选择

考虑到乙腈洗脱能力强,不利于极性药物 FFA 的保留,且大部分化合物为负离子模式,首先选用水-甲醇为流动相梯度洗脱,此时负离子模式化合物峰形和灵敏度都较好,但 FFA 和 FFA-D3 峰形差,且保留不稳定。水相中加入 5 mmol/L 甲酸铵后,FFA 和 FFA-D3 保留增强,色谱峰变窄,但峰形略有拖尾。继续向水相中加入 0.1% 甲酸,FFA 和 FFA-D3 能得到对称且尖锐的离子色谱峰。为了兼顾正负离子模式目标物,方法采用 0.05% 甲酸-2.5 mmol/L 甲酸铵溶液为流动相,此条件下各目标物均得到较好的峰形和响应值,且保留稳定。因此,最终确定以甲醇和 0.05% 甲酸-2.5 mmol/L 甲酸铵溶液为流动相梯度洗脱,在此条件下,CAP、TAP、FF 和 FFA 在 Capcell Pak ADME 色谱柱上能够短时间内实现色谱分离,尤其是在易受杂质干

扰的 FFA 与极性共流出杂质的分离上表现良好,如图 1 所示。

2.2 提取溶剂的选择

乙腈或乙酸乙酯对 CAP、TAP 和 FF 的提取效率较高^[12,16]。GB/T 20756—2006《可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》和一些文献报道采用含一定氨水的乙酸乙酯作为提取液提取水产品中的 CAP、TAP 和 FF^[6,17]。乙腈不仅可避免过多脂肪的提取,同时又可沉淀蛋白,适用于水产品中大多数偏极性兽药的提取^[18],GB/T 22338—2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》和一些文献报道也采用乙腈提取水产品中的 CAP、TAP 和 FF^[13,16,18-19]。有研究者将 FF 代谢物 FFA 与 CAP、TAP、

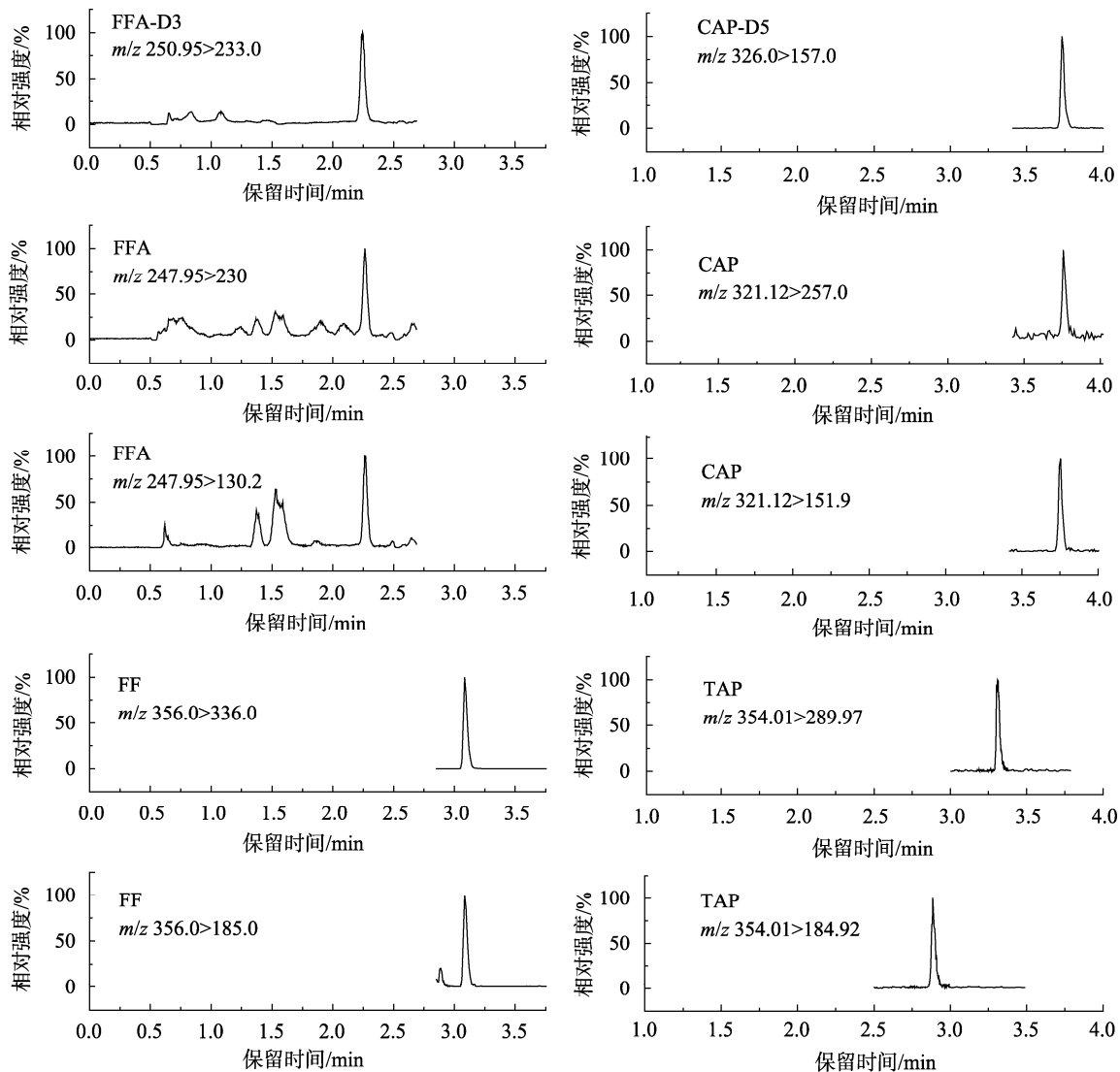


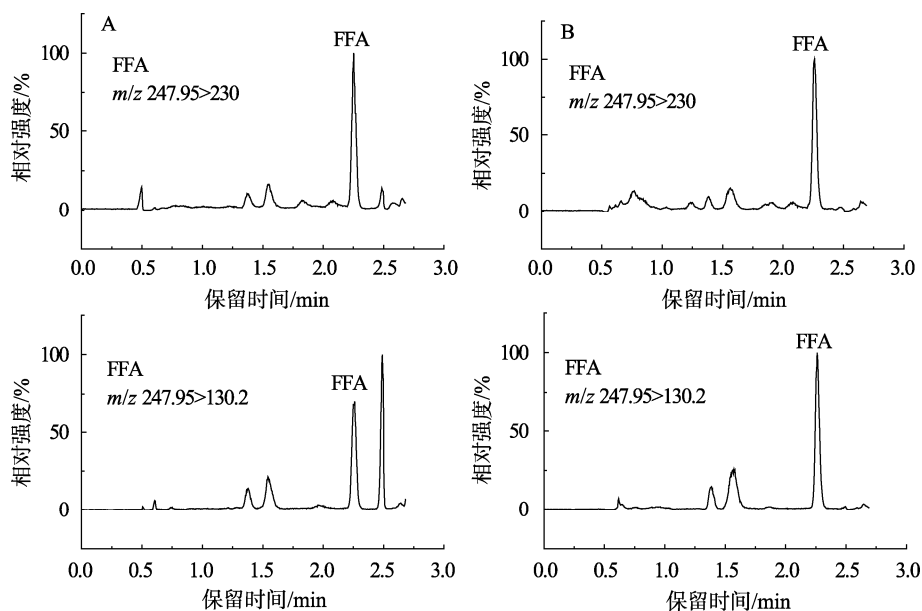
图1 空白鳊鱼 0.2 μg/kg CAP, 2 μg/kg TAP、FF 和 FFA 加标样品离子色谱图

Fig.1 Ion chromatograms of blank bighead carp spiked with 0.2 μg/kg CAP, 2 μg/kg TAP, FF and FFA

FF 同时进行提取和测定也取得了较好的结果^[1,10,12], 但都采用了固相萃取法(solid phase extraction, SPE)净化样品, 以减少 FFA 在 C₁₈ 柱上保留较弱导致的杂质干扰。由于正己烷除脂净化操作简单、快速, 不少研究者采用正己烷除脂代替 SPE 净化水产样品测定 FFA^[6,9,15]。基于 Capcell Pak ADME 色谱柱对极性化合物良好的保留和分离能力, 本研究选用正己烷除脂净化, 分别考察了乙酸乙酯-氨水、乙腈 2 种提取溶剂下对目标物回收率的影响, 结果发现 2 种溶剂提取酰胺醇类抗生素及代谢物均能获得较好的回收率,

采用乙酸乙酯提取虽浓缩速度较乙腈快, 但浓缩后油脂较多, 说明乙酸乙酯提取出较多的脂类。

本研究同时考察了乙酸乙酯-氨水、乙腈 2 种溶剂提取下共流出杂质对目标物分析的影响, 发现 2 种溶剂提取下 CAP、TAP 和 FF 基本无杂质干扰, 而 FFA 由于极性较大, 分析时易受基质中共流出杂质干扰, 从图 2 可以看出, 乙酸乙酯提取时 FFA 定量离子对 m/z 247.95>130.2 目标峰后有较大的共流出杂质峰。综合考虑, 确定用乙腈作提取溶剂。



注: A. 乙酸乙酯提取; B. 乙腈提取。

图 2 不同提取溶剂下 FFA 的离子色谱图

Fig.2 Ion chromatograms of FFA under different extraction solvents

2.3 基质效应

水产品中蛋白质和脂肪等基质成分不可避免会对待测物的测定产生基质效应影响。本研究采用文献方法^[12]比较了乙腈和乙酸乙酯 2 种提取溶剂下的基质效应影响(以鳙鱼和对虾为例), 结果如图 3 所示, 目标化合物在 2 种溶剂提取下均表现为基质抑制作用, 但差异较小。整体看基质对 CAP、TAP 和 FF 抑制不明显, 而对 FFA 抑制较强, 可能由于 FFA 极性较强, 提取的样品基质中也存在较多的极性内源成分, 较大地抑制了 FFA 的离子化效率。因此, 实际检测时需采用基质匹配标准溶液进行定量分析, 另一方面可通过调整色谱条件使待测物与快速流出的强极性基质成分分开^[20]。

2.4 方法的线性范围、检出限与定量限

按照本研究建立的色谱条件进行测定, 以系列混合基质标准溶液质量浓度为横坐标(X , ng/mL)、以目标物与内标物的峰面积之比为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得到相关系数。通过样品加标实验确定方法检出限和定量限, 分别以信噪比大

于等于 3 和信噪比大于等于 10 对应的加标浓度作为方法检出限和定量限, 结果见表 2。CAP 在 0.5~25.0 ng/mL 范围内线性关系良好(相关系数 $r>0.999$), TAP、FF 及其代谢物 FFA 在 5.0~250.0 ng/mL 范围内线性关系良好(相关系数 $r>0.998$); 方法的最低检出限(limits of detection, LODs)为 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限(limits of quantity, LOQs)为 0.2~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

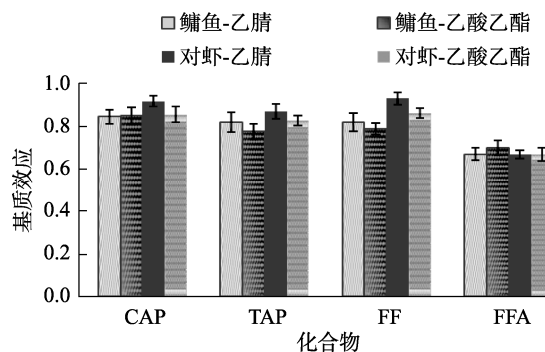


图 3 不同提取溶剂的基质效应($n=3$)

Fig.3 Matrix effects of different extraction solvents ($n=3$)

2.5 方法回收率与精密度

在空白样品中添加混合标准工作溶液,使得样品加标含量分布在低、中、高3个水平,每个添加水平设6个重复,同时作空白对照,计算平均回收率及相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs),结果见表3。CAP在

0.2、1.0、10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下,回收率为82.5%~104.0%,相对标准偏差为2.2%~11.8%;TAP、FF、FFA在2.0、10.0、100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下,回收率为80.9%~102.0%,相对标准偏差为0.8%~8.4%。方法准确度较高、重现性较好,适用于水产品中4种酰胺醇类抗生素的测定。

表2 酰胺醇类药物的回归方程、相关系数(r)、LODs和LOQs
Table 2 Regression equations, correlation coefficients (r), LODs and LOQs of amide alcohols

基质	化合物	回归方程	相关系数(r)	LODs/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	LOQs/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
草鱼	CAP	$Y=0.999842X+0.161122$	0.9991	0.1	0.2
	TAP	$Y=0.683335X+3.96543$	0.9988	0.2	0.5
	FF	$Y=3.58072X+7.07778$	0.9984	0.2	0.5
	FFA	$Y=2.22958X+5.12784$	0.9998	1.0	2.0
鳙鱼	CAP	$Y=2.03002X+0.174721$	0.9999	0.1	0.2
	TAP	$Y=1.38126X+5.48332$	0.9996	0.2	0.5
	FF	$Y=7.04723X+3.03865$	0.9997	0.2	0.5
	FFA	$Y=1.12105X+2.37733$	0.9998	1.0	2.0
对虾	CAP	$Y=1.12105X+2.37733$	0.9996	0.1	0.2
	TAP	$Y=1.66188X+1.92462$	0.9995	0.2	0.5
	FF	$Y=8.49195X-14.625$	0.9995	0.2	0.5
	FFA	$Y=1.04991X+3.50179$	0.9997	1.0	2.0

表3 酰胺醇类药物在水产品中的加标回收率和RSDs结果($n=6$)
Table 3 Recovery rates and RSDs of aminoalcohols in aquatic products ($n=6$)

化合物	加标水平/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	草鱼		鳙鱼		对虾	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
CAP	0.2	86.4	11.8	82.5	7.1	92.7	11.3
	1.0	103.0	2.9	93.3	2.2	91.4	5.2
	10.0	104.0	2.8	96.7	2.2	96.4	3.3
TAP	2.0	94.0	8.4	93.0	4.6	93.4	3.2
	10.0	99.6	5.6	95.8	2.5	94.6	4.7
	100.0	99.4	5.1	98.7	0.8	97.9	2.1
FF	2.0	90.4	3.0	97.2	2.9	80.9	2.0
	10.0	102.0	4.3	98.1	1.9	98.5	1.5
	100.0	102.0	4.9	98.6	1.0	97.7	1.9
FFA	2.0	95.7	1.7	98.6	1.6	84.8	2.2
	10.0	98.1	2.0	92.6	1.5	94.8	2.3
	100.0	97.6	1.9	90.3	1.5	92.7	1.6

2.6 实际样品测定

利用该方法对来自四川各地水产市场的 20 个鱼、虾水产品中 CAP、TAP、FF 及代谢物 FFA 进行测定, 结果 CAP 和 TAP 在所有样品中均未检出, 1 个样品只检出代谢物 FFA, 含量为 3.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 个样品同时检出 FF 及代谢物 FFA, FF 含量(以 FF 和 FFA 之和计)为 17.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 均未超标, 且远小于其 MRL (1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

3 结论与讨论

本研究经过色谱条件的选择和优化, 提取溶剂的提取率和基质效应比较, 建立了以乙腈为提取溶剂, 正己烷净化, 以金刚烷基填料色谱柱进行分离, 超高效液相色谱-串联质谱法同时分析 CAP、TAP、FF 及强极性代谢产物 FFA 残留的方法, 并进行了方法验证。该方法不需要固相萃取净化, FFA 能够很好地与杂质分离, 方法准确度高、灵敏度高、快速简单、低成本, 为更全面和准确地监测水产品中酰胺醇类抗生素及代谢物残留提供了一个可靠的、可操作性强的方法。

参考文献

- [1] 曾勇, 董文婷, 周青, 等. 液相色谱-串联质谱法测定禽蛋和禽肉中酰胺醇类药物残留[J]. 农产品质量与安全, 2019, (3): 35-38, 48.
ZENG Y, DONG WT, ZHOU Q, *et al.* Determination of amphenicols drugs residues in poultry eggs and meat by LC-MS/MS [J]. Qual Saf Agro Prod, 2019, (3): 35-38, 48.
- [2] 邵会, 冷凯良, 周明莹, 等. 水产品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺多残留的同时测定-GC/MS 法[J]. 渔业科学进展, 2015, (3): 137-141.
SHAO H, LENG KL, ZHOU MY, *et al.* Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in aquatic products with gas chromatography/mass spectrometry [J]. Prog Fish Sci, 2015, (3): 137-141.
- [3] WANG GT, WANG B, ZHAO X, *et al.* Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in poultry meat and pork via ASE-UPLC-FLD [J]. J Food Compos Anal, 2019, 81: 19-27.
- [4] 李雅宁, 苏亚, 郭林云. 液质联用法检测禽蛋中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留[J]. 畜牧与饲料科学, 2020, 41(3): 76-79.
LI YN, SU Y, GUO LY. Determination of florfenicol and florfenicol amine residues in poultry eggs by UPLC-MS/MS [J]. Anim Husb Feed Sci, 2020, 41(3): 76-79.
- [5] 张丽萍, 孟蕾, 张盼盼, 等. 鸡、猪组织中甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(9): 33-40.
ZHANG LP, MENG L, ZHANG PP, *et al.* Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and swine tissues by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Vet Drug, 2020, 54(9): 33-40.
- [6] 陶昕晨, 黄和, 李志清, 等. 水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考的 HPLC-UV 法测定[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 80-83.
TAO XC, HUANG H, LI ZQ, *et al.* Determination of residues of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in fishery products by HPLC-UV [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(20): 80-83.
- [7] 马文瑾, 徐向月, 毛倩, 等. 土壤中氟苯尼考及氟苯尼考胺高效液相色谱检测方法的研究[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(8): 26-33.
MA WJ, XU XY, MAO Q, *et al.* Determination of florfenicol and florfenicol amine in soil by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Vet Drug, 2020, 54(8): 26-33.
- [8] 刁志祥, 张培杨, 王旭堂, 等. 加速溶剂萃取/超高效液相色谱-荧光法检测猪肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(9): 2753-2759.
DIAO ZX, ZHANG PY, WANG XT, *et al.* Determination of florfenicol and florfenicol amine residues in pork by accelerated solvent extraction/ultra-high performance liquid chromatography-fluorescence [J]. Chin Anim Husb Vet Med, 2019, 46(9): 2753-2759.
- [9] 刘永涛, 艾晓辉, 李荣, 等. 水产品中氟苯尼考和氟苯尼考胺的高效液相色谱荧光法同时测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(3): 316-318.
LIU YT, AI XH, LI R, *et al.* Simultaneous determination of residues of florfenicol and florfenicol amine in fishery products by HPLC with fluorescence detection [J]. J Instrum Anal, 2008, 27(3): 316-318.
- [10] FEDENIUK RW, MIZUNO M, NEISER C, *et al.* Development of LC-MS/MS methodology for the detection/determination and confirmation of chloramphenicol, chloramphenicol 3-O- β -D-glucuronide, florfenicol, florfenicol amine and thiamphenicol residues in bovine, equine and porcine liver [J]. J Chromatogr B, 2015, 991: 68-78.
- [11] 李文杰, 陈涛, 倪建秀, 等. 超高效液相色谱-串联质谱同位素内标法测定水产品中氟苯尼考及其代谢物残留量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(21): 7927-7934.
LI WJ, CHEN T, NI JX, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of florfenicol and its metabolite in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with isotope-labelled internal standards [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(21): 7927-7934.
- [12] 陈涛, 倪建秀, 陈桂芳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱检测鸡蛋、鸡肉和猪肉中酰胺醇类药物残留[J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(6): 66-75.
CHEN T, NI JX, CHEN GF, *et al.* Simultaneous determination of amphenicol residues in eggs, chicken and pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anim Husb Vet Med, 2020, 52(6): 66-75.
- [13] 李丽春, 刘书贵, 尹怡, 等. QuEChRS 结合 UPLC-MS/MS 法测定水产品中酰胺醇类抗生素残留及基质效应[J]. 中国渔业质量与标准, 2018, 8(6): 32-39.
LI LC, LIU SG, YIN Y, *et al.* The amphenicols residues analysis in aquatic products and their matrix effects by QuEChERS method and UPLC-MS/MS [J]. Chin Fish Qual Stand, 2018, 8(6): 32-39.
- [14] 皮江一, 胡家勇, 汪薇, 等. 禽蛋中氟苯尼考代谢物快速检测方法的建立[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 255-260.
PI JY, HU JY, WANG W, *et al.* Rapid detection of florfenicol metabolites in poultry eggs [J]. Food Sci, 2021, 42(12): 255-260.
- [15] 刘正才, 张琼, 杨方, 等. 亲水作用色谱-电喷雾串联质谱法测定水产品中的氟苯尼考胺的残留量[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 198-201.
LIU ZC, ZHANG Q, YANG F, *et al.* Determination of florfenicol amine

- in aquatic products by hydrophilic Interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2015, 36(4): 198–201.
- [16] 吴彦蕾. 超高效液相色谱-串联质谱法快速筛查水产品中氯霉素类药物残留[J]. *食品与发酵科技*, 2020, 56(4): 98–104.
- WU YL. Rapid screening of three chloramphenicols in aquatic products by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Ferment Sci Technol*, 2020, 56(4): 98–104.
- [17] 梅光明, 陈雪昌, 张小军, 等. 水产品中3种氯霉素类药物残留的超高效液相色谱-串联质谱测定法研究[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2013, 32(3): 249–254.
- MEI GM, CHEN XC, ZHANG XJ, *et al.* Determination of 3 chloramphenicols medicine residues in aquatic products by UPLC-MS/MS [J]. *J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci Ed)*, 2013, 32(3): 249–254.
- [18] 张桂云, 杨伟强. 分散固相萃取-高效液相色谱串联质谱法测定水产品中氯霉素类药物的残留量[J]. *福建分析测试*, 2019, 28(2): 17–22.
- ZHANG GY, YANG WQ. Determination of chloramphenicols in aquatic products based on the combination of DSPE method and HPLC-MS/MS [J]. *Fujian Anal Test*, 2019, 28(2): 17–22.
- [19] 张朋杰, 张宪臣, 容裕棠, 等. QuEChERS-高效液相色谱-质谱/质谱法同时测定水产品中磺胺类和氯霉素类药物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(20): 5403–5409.
- ZHANG PJ, ZHANG XC, RONG YT, *et al.* Simultaneous determination

- of sulfonamides and chloramphenicol residues in aquatic products by QuEChERS-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(20): 5403–5409.
- [20] 王立琦, 贺利民, 曾振灵, 等. 液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J]. *质谱学报*, 2011, 32(6): 321–332.
- WANG LQ, HE LM, ZENG ZL, *et al.* Progress in matrix effect of veterinary drug residues analysis by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2011, 32(6): 321–332.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



仲伶俐, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: 17916029@qq.com



郑幸果, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测。

E-mail: 525776517@qq.com