DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260506004
引用格式: 张辰辰, 周一冉, 任雪梅, 等. 通过式净化结合高效液相色谱-串联质谱法测定小龙虾中 48 种农药及兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 91–99.
Zhang Chenchen, Zhou Yiran, Ren Xuemei, et al. Determination of 48 kinds of pesticide and veterinary drug residues in crayfish by pass-through purification coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 91–99. (in Chinese with English abstract).

通过式净化结合高效液相色谱-串联质谱法测定小龙虾中 48 种农药及兽药残留

张辰辰[1], 周一冉[1*], 任雪梅[2], 吕 峰[1], 田洪芸[3*]

(1. 济宁市食品药品检验检测研究院, 济宁 272000; 2. 青岛市食品药品检验研究院, 青岛 266071; 3. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101)

摘 要: 目的 建立通过式净化结合高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)测定小龙虾中 48 种农药及兽药残留的方法。**方法** 均质后的样品经 80%乙腈溶液提取, 采用亲水亲脂平衡复合型固相萃取柱通过式净化, 过滤膜后经 C_{18} 色谱柱分离, 电喷雾电离及多反应监测模式采集, 基质匹配外标曲线法定量。**结果** 验证结果表明, 各目标物在 1~100 ng/mL 范围内线性良好, 相关系数均不低于 0.997; 检出限与定量限分别在 0.02~0.20 μg/kg 和 0.05~0.50 μg/kg 范围内, 3 个浓度水平的 6 平行加标回收率在 70.2%~105.8%之间, 相对标准偏差不超过 3.3%, 满足痕量分析需求。采集各主产区的 36 个样本进行测定, 药物检出率为 20.8%, 阳性结果与标准方法复测结果相比一致性较高。**结论** 该方法简便快速、灵敏准确, 能有效降低小龙虾复杂基质干扰, 满足稻虾综合种养模式下小龙虾农兽药残留筛查需求, 为其质量安全控制及风险评估提供了重要技术手段。

关键词: 小龙虾; 农药残留; 兽药残留; 通过式净化; 高效液相色谱-串联质谱法
中图分类号: TS207.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)15–0091–09

Determination of 48 kinds of pesticide and veterinary drug residues in crayfish by pass-through purification coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Chen-Chen[1], ZHOU Yi-Ran[1*], REN Xue-Mei[2], LV Feng[1], TIAN Hong-Yun[3*]

(1. *Jining Institute for Food and Drug Control*, *Jining* 272000, *China*; 2. *Qingdao Institute for Food and Drug Control*, *Qingdao* 266071, *China*; 3. *Shandong Institude for Food and Drug Control*, *Ji'nan* 250101, *China*)

收稿日期: 2026-05-06
基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602300); 山东省市场监管科技创新任务计划项目(2023-1-15); 济宁市重点研发计划项目(2021JNZC046)
第一作者: 张辰辰(1987—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检验检测技术。E-mail: ws.zcc@163.com
***通信作者:** 周一冉(1987—), 男, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全检验检测与质量控制。E-mail: sfdazyr@163.com
田洪芸(1986—), 女, 硕士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全风险评估。E-mail: sdsythy@126.com

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of 48 kinds of pesticide and veterinary drug residues in crayfish by pass-through purification coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The samples were first extracted using a 80% acetonitrile solution, and then cleaned-up by hydrophilic-lipophilic column in a pass-through mode and filtered through a filter, then separated employing an C_{18} column. The mass spectrometer operated with electrospray ionization in multiple reaction monitoring mode and quantified by matrix-matched external standard curve method. **Results** The results demonstrated that all the analytes had satisfactory linearity in the range of 1–100 ng/mL with correlation coefficients (r) greater than 0.997. The limits of detection and the limits of quantitation were in the ranges of 0.02–0.20 and 0.05–0.50 μg/kg, respectively. The average recoveries at 3 spiked levels with 6 parallel determinations ranged between 70.2%–105.8%, with the relative standard deviations no more than 3.3%, which met the requirements of trace analysis. The 36 samples from major producing areas were analyzed, revealing a drug detection rate of 20.8%. The positive results showed high consistency when retested against standard methods. **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive and accurate, effectively reducing matrix interference from the complex composition of crayfish. It satisfies the screening requirements for pesticide and veterinary drug residues in crayfish under the rice-crayfish integrated farming model, providing a crucial technical tool for quality safety control and risk assessment.

KEY WORDS: crayfish; pesticide drug residue; veterinary drug residue; pass-through purification; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引 言

小龙虾(学名克氏原螯虾)作为我国发展增速突出的特色水产养殖品种，深受餐饮市场欢迎，催生并带动了养殖、加工、销售一体化完整产业链的稳步发展[1]。其中，稻虾共养模式因兼顾水稻种植与小龙虾养殖的双重经济效益，且符合生态循环农业发展理念，已在山东、湖北、江苏等省份形成规模化产业集群，成为地方农业经济的重要支柱之一[2−6]。然而，稻虾共养模式的生态关联性也为小龙虾的质量安全带来了挑战[7]。在稻田生态系统中，农户为防控田间杂草与病虫害而施用的新烟碱类、有机磷类等农药，易通过农田灌溉径流、土壤渗透等途径汇入养殖水体[8−11]；同时，大气沉降、化工及制药工厂排放、持久性农药等外源性污染途径也会导致污染物在小龙虾体内的不断富集[12−13]。此外，养殖过程中为预防细菌性疾病，可能存在磺胺类、喹诺酮类等兽药的使用行为[14−15]，若用药不规范极易引发养殖产品的兽药残留超标问题。这些农药与兽药残留不仅会影响小龙虾的品质与食用安全性，还可能通过食物链传递对人体健康构成潜在威胁，如引发过敏反应、细菌耐药性等问题，进而制约小龙虾产业的可持续发展[16−17]。

在食品安全检测技术领域，高效液相色谱-串联质谱法具有灵敏度高、特异性强、多组分同时检测等优势[18−20]，广泛应用于水产品中药物残留的分析[21−25]。已有研究建立了鱼、虾类中多种农药或兽药的同步检测技术，为其质量安全控制提供了有效支撑[26−27]。但目前适用于小龙虾基质的同步测定多类别农药与兽药残留的高通量检测方法较为有限，面临如下困难：一方面，小龙虾肌肉组织中含有较高的蛋白质与脂肪，基质干扰效应更强，常规水产品的前处理方法难以有效去除杂质，易影响检测准确性[28−29]；另一方面，现有研究多聚焦于小龙虾中部分兽药残留的检测，无法满足农药和兽药多组分同步筛查及风险评估的需求。因此，建立灵敏、快速、准确的小龙虾中农药与兽药多残留同步检测技术，是保障小龙虾质量安全、支撑稻虾综合种养产业健康发展的迫切技术需求。本研究针对上述问题，基于改进的固相萃取净化技术建立小龙虾中 48 种磺胺类、喹诺酮类、四环素类等兽药及新烟碱类、有机磷类等农药的多残留检测方法，对于提高稻虾共养模式下的小龙虾中多种食品安全风险因子的分析效率、数据准确性并开展大规模风险评估分析具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

经调研选定湖北监利、湖北洪湖、江苏盱眙、安徽霍邱、山东鱼台稻虾共养为主的产区。本研究通过实地农贸市场采购、电商平台联系产地直采方式采购上述地区小龙虾样本 36 份，均确认产自稻虾共养模式。

甲醇、乙腈(色谱纯，美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；甲酸、乙酸铵(分析纯，上海国药集团化学试剂有限公司)；PRiME HLB 固相萃取柱(6 mL，200 mg，美国 Waters 公司)；48 种标准物质溶液(质量浓度均为 100 μg/mL，溶剂为甲醇、丙酮或乙腈，天津阿尔塔科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

TE314S 分析天平(精度 0.01 mg，德国赛多利斯公司)；

JYL-Y99 破壁机(江苏九阳科技公司); MS3 旋涡振荡器(德国 IKA 公司); TG-16 高速冷冻离心机(湖南湘仪科技公司); MV5 全自动氮吹仪(北京莱伯泰科公司); NM32LA 氮气发生器(英国毕克公司); Exion LC-Tripe Quad 3500 高效液相色谱-三重四极杆质谱仪(美国 AB Sciex 公司); Agilent Eclipse Plus C_{18} 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, 美国 Agilent 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　标准溶液配制

分别取各物质标准溶液(100 μg/mL) 100 μL, 用甲醇定容至 10 mL, 配制为 1 μg/mL 的混合标准储备液, 于–18 ℃保存, 有效期 6 个月。分别吸取标准储备液 5、10、50、100、200 μL 至离心管中, 氮吹干后加入 1 mL 基质提取液, 涡旋混匀得到质量浓度为 5、10、50、100、200 ng/mL 的基质匹配标准系列工作溶液, 现配现用。

1.3.2　样品前处理

将小龙虾样品去头去壳后, 取龙虾肉 200 g 以上, 用均质机制成均匀肉泥状, –18 ℃保存。称取均质样本 5 g 至 50 mL 离心管中, 加入 80%乙腈溶液 10 mL, 涡旋振荡 5 min, 随后超声提取 10 min。涡旋 10 s 混匀后, 在 8000 r/min 条件下离心 5 min。取上清液 6~7 mL, 加载并通过 PRiME HLB 柱; 收集流出液并取 4 mL 在 40 ℃条件下氮吹至干, 加入 20%乙腈溶液 2 mL 涡旋 30 s 溶解残渣, 过 0.22 μm 滤膜, 待分析。

1.3.3　色谱条件

流动相: 5 mmol/L 乙酸铵–0.5%甲酸-水(A), 5 mmol/L 乙酸铵–0.5%甲酸-乙腈(B); 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 柱温: 40 ℃; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1　流动相梯度洗脱程序

Table 1　Gradient elution procedure for mobile phase

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	90	10
0.5	90	10
3.0	50	50
8.0	5	95
10.5	5	95
10.6	90	10
13.0	90	10

1.3.4　质谱条件

离子源: 电喷雾电离正负离子模式; 气帘气: 30 psi; 碰撞气: 8 psi; 离子化电压: 4500 V; 离子源温度: 500 ℃; 喷雾气: 50 psi; 辅助加热气: 50 psi; 扫描模式: 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)。48 种目标物质的 MRM 质谱分析参数见表 2。

1.4　数据处理

本研究数据均采用 Analyst 1.6、SCIEX-OS-Q 工作站收集和处理, 方法验证中回收率及相对标准偏差(实验重复测定 6 次)采用 WPS Office 2023 进行数据处理与统计学分析, 统计图表采用 Origin 2021 进行绘制。

2　结果与分析

2.1　仪器分析条件的确定

为解决 48 种目标物极性差异较大的问题, 本研究综合考虑了目标物检测涉及的多个标准方法, 在此基础上确定了最优的流动相及其梯度洗脱程序。在水相和有机相中添加 0.5%的甲酸和 5 mmol/L 的乙酸铵, 结合粒径 1.8 μm、柱长 100 mm 的 C_{18} 色谱柱能够在 13 min 时间内有效分离目标物并获取理想的色谱峰型及质谱端的离子化效果, 如图 1 所示。对各目标物的质谱部分参数进行了优化, 包括母离子、子离子、去簇电压及碰撞能等, 确保最优灵敏度和稳定性。

2.2　样品前处理的优化

2.2.1　净化方式的选择

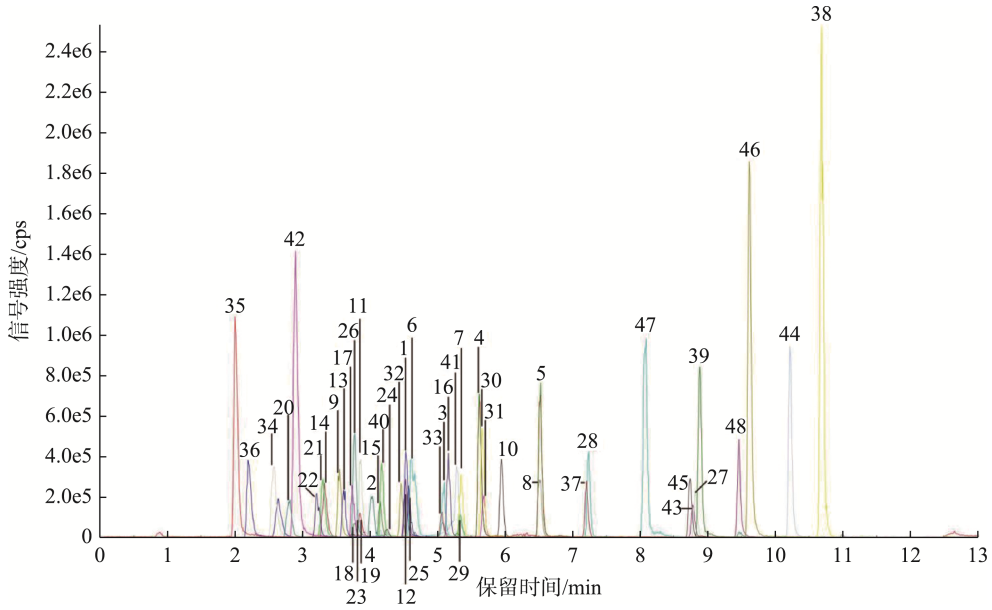
小龙虾肉组织中蛋白质含量较高, 同时含有部分磷脂、虾油等脂质成分及内源性小分子物质[28]。因此, 需要选择合适的净化措施以尽可能去除基质干扰物, 降低基质效应影响, 保证各目标物回收率及分析效率, 并保护四极杆等精密仪器部件。目前, 动物源性基质的药物残留分析常采用固相萃取(solid phase extraction, SPE)法, 其中亲水亲脂平衡(hidrophilic-lipophilic balance, HLB)固相萃取柱已应用于水产品中磺胺类、喹诺酮类及四环素类等药物分析标准方法, 但存在操作烦琐、多残留适用性不足等问题[29]。近年来, 基于干扰物吸附及高通量处理的分散及通过式净化技术得到了广泛研究及应用, 如 PRiME HLB 柱[23,28]、Captiva EMR-Lipid 柱[30]、QuEChERS 净化管[22,25,27]等, 简化了实验操作并对绝大多数中等极性目标药物具有较好的分析效果。本研究采用上述 3 种净化技术及目标物保留型 HLB 固相萃取柱对小龙虾基质中 48 种药物进行加标回收测试, 加标浓度为 10 ng/g, 各类药物的回收率分布如图 2~5 所示。采用 HLB 柱净化时, 磺胺类、喹诺酮类及硝基咪唑类等药物加标回收率在 85.4%~103.4%之间, 但新烟碱类和有机磷类等农药的适配性较差, 多种目标农药回收率低于 70%, 同时该方法所用试剂种类多且操作烦琐。采用 EMR-Lipid 柱处理样品时时, 目标物整体回收效果不佳, 其中硝基咪唑、四环素类药物加标回收率仅为 53.5%~77.2%, 农药回收率在 63.5%~83.3%范围内, 难以满足分析需求。采用由 C_{18} 200 mg、N-丙基乙二胺 100 mg 及无水硫酸镁 500 mg 组成的 QuEChERS 净化体系时, 多种农药

表 2 目标物信息、保留时间及质谱分析监测参数

Table 2 Analyte information, retention times and mass spectrometric monitoring parameters

序号	目标物类别	目标物名称	保留时间/min	母离子(*m*/z)	子离子(*m*/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
1	磺胺类	磺胺二甲嘧啶	4.55	279.0	186.0*/92.0	60	25/42
2		磺胺甲基嘧啶	4.05	265.0	156.0*/92.0	72	22/40
3		磺胺甲噁唑	5.06	254.0	156.0*/92.0	60	22/38
4		磺胺间二甲氧嘧啶	5.59	311.1	156.0*/92.0	75	28/45
5		磺胺邻二甲氧嘧啶	6.55	311.0	156.0*/92.0	75	28/45
6		磺胺间甲氧嘧啶	4.62	281.0	156.0*/92.0	75	25/40
7		磺胺氯哒嗪	5.37	285.2	156.0*/92.0	70	23/38
8		磺胺喹噁啉	6.52	301.0	156.0*/108.0	70	23/38
9		磺胺噻唑	3.56	256.0	156.0*/92.0	63	22/35
10		磺胺二甲异噁唑	5.96	268.0	156.0*/92.0	72	20/38
11		磺胺甲噻二唑	3.91	271.2	156.0*/92.0	70	20/35
12		磺胺嘧啶	4.54	251.0	156.0*/92.0	60	23/35
13		甲氧苄啶	3.67	291.0	261.0*/230.0	98	36/35
14	喹诺酮类	环丙沙星	3.35	332.1	314.0*/230.9	90	28/52
15		恩诺沙星	4.21	360.0	316.0*/245.0	90	27/38
16		氧氟沙星	5.09	362.0	318.0*/261.0	90	27/39
17		诺氟沙星	3.81	320.0	302.0*/276.0	90	31/25
18		培氟沙星	3.83	334.0	290.0*/223.0	35	28/36
19		沙拉沙星	3.9	386.0	342.0*/299.0	115	27/40
20	硝基咪唑类	甲硝唑	2.82	172.0	127.9*/81.9	50	20/34
21		地美硝唑	3.32	142.0	96.0*/81.0	60	24/36
22		洛硝达唑	3.23	201.0	139.9*/54.9	60	24/36
23	四环素类	四环素	3.88	445.1	410.0*/427.1	90	30/23
24		金霉素	4.25	479.1	444.1*/462.1	82	31/21
25		土霉素	4.58	461.1	426.1*/443.2	79	26/21
26		多西环素	3.84	445.2	428.1*/410.1	91	25/33
27	镇定剂类	地西泮	8.83	285.0	154.0*/193.1	36	29/65
28		氯丙嗪	7.26	319.0	86.0*/246.0	60	35/35
29	新烟碱类	吡虫啉	5.35	256.0	209.0*/175.1	80	22/25
30		啶虫脒	5.62	223.1	126.0*/90.0	80	30/45
31		呋虫胺	5.65	203.1	129.0*/87.0	60	18/22
32		噻虫嗪	4.47	292.0	211.0*/181.0	35	16/30
33		噻虫胺	5.05	250.0	169.0*/131.5	45	25/20
34	有机磷类	毒死蜱	2.61	350.0	198.0*/96.8	75	28/45
35		乙酰甲胺磷	2.03	184.0	143.0*/125.0	60	14/25
36		氧乐果	2.23	214.0	109.0*/183.0	60	36/16
37		敌敌畏	7.22	221.0	109.0*/127.0	70	23/27
38		三唑磷	10.74	314.1	162.0*/119.0	80	24/50
39		水胺硫磷	8.91	231.0	121.0*/109.0	100	26/38
40	其他农药	克百威	4.23	222.1	165.0*/123.0	70	16/35
41		3-羟基克百威	5.17	238.1	163.1*/181.1	70	16/35
42		多菌灵	2.92	192.1	160.0*/132.0	90	25/40
43		甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	8.78	886.5	158.1*/126.1	110	60/70
44		噻嗪酮	10.25	306.2	201.1*/116.1	60	17/22
45		氯虫苯甲酰胺	8.75	484.0	453.0*/286.0	45	25/19
46		腈苯唑	9.65	337.1	125.0*/70.0	100	44/45
47		噻唑啉	8.09	284.1	104.0*/228.0	65	30/15
48		吡唑醚菌酯	9.48	338.1	194.0*/163.0	100	18/30

注: *表示定量离子。



注：目标物名称见表 2，下图同。

图 1　标准溶液的各种目标物定量离子叠加色谱图(50 ng/mL)

Fig.1　Overlaid chromatograms of quantitative ions for various target analytes in standard solution (50 ng/mL)

组分具有良好的净化效果和回收率表现，但镇定剂类、喹诺酮类及四环素类药物部分回收率低于 70%且精密度不理想。相较而言，采用 PRiME HLB 柱净化时，整体回收率在 70.5%~103.9%范围内，除个别农药的回收率略低外，大多数药物具有较理想的回收率及精密度，适合多残留分析需求。究其原因，不同净化填料作用机制与吸附选择性存在明显差异，单一净化材料适配范围有限，难以同步实现极性、弱极性和中等极性农兽药的高效除杂净化，进而造成部分目标物吸附损失偏大且回收率偏低。综上考虑，选择了回收率及稳定性整体较为优异的 PRiME HLB 柱对样品提取液进行净化。

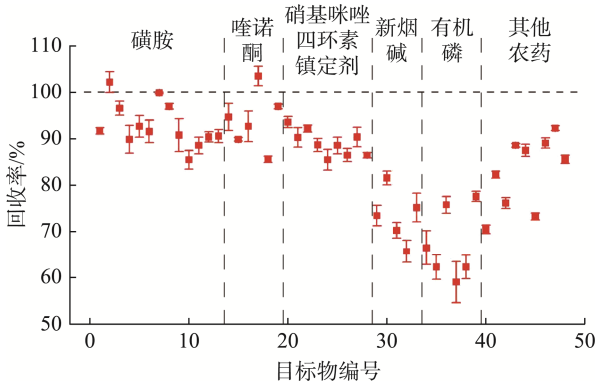


图 2　采用 HLB 柱净化对各目标物回收率的影响(n=3)

Fig.2　Effects of purification using HLB columns on the recoveries of target analytes (n=3)

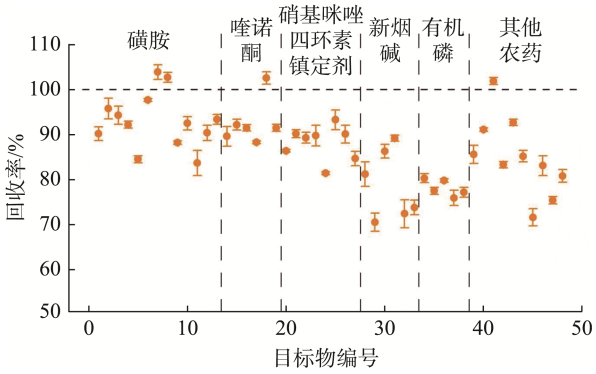


图 3　采用 PRiME HLB 柱净化对各目标物回收率的影响(n=3)

Fig.3　Effects of purification using PRiME HLB columns on the recoveries of target analytes (n=3)

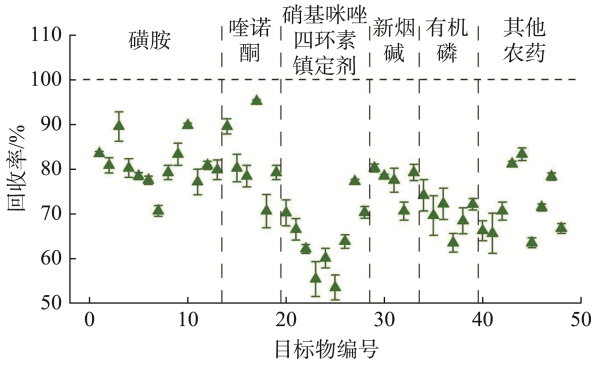


图 4　采用 EMR-Lipid 柱净化对各目标物回收率的影响(n=3)

Fig.4　Effects of purification using EMR-Lipid columns on the recoveries of target analytes (n=3)

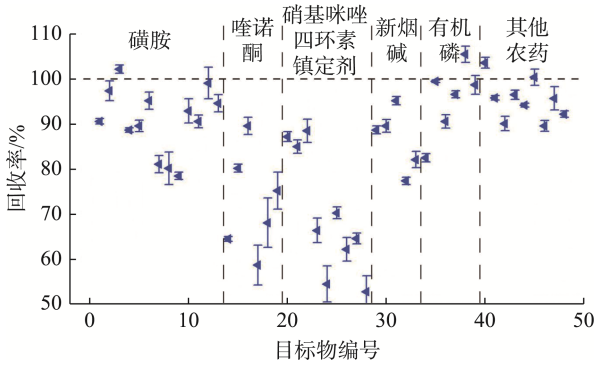


图 5 采用 QuEChERS 净化管净化对各目标物回收率的影响(n=3)
Fig.5 Effects of purification using QuEChERS clean up tube on the recoveries of target analytes (n=3)

2.2.2 提取溶液的优化

对于农产品中药物多残留的分析来说，提取溶剂既要兼顾目标物较广的极性范围，又要考虑到与样品间的混匀及提取效果，因此选择农兽药多残留分析常用的乙腈作为有机相[31]。本研究的 PRiME HLB 净化环节所需上样液应为高比例有机相，但考虑到 48 种目标物具有较广的极性范围，且小龙虾可食组织样本在纯有机溶剂中极易变性凝固结团导致无法充分分散提取，因此需添加部分水。本研究采用加标回收测试法对提取溶液中水的添加量进行了考察优化，加标浓度为 10 ng/g，各大类药物的平均回收率对比见图 6。三大类兽药平均回收率随水相比例升高逐步下降，超过 40%以后下降显著难以满足分析需求；新烟碱类和有机磷类农药回收率随水相比例的增加小幅提升，但其他类农药回收率随着水相比例增加显著下降。同时发现 20%水相比例已显著改善了纯乙腈提取时产生的固液难以均质混合的问题，因此将提取溶剂确定为乙腈:水=80:20 (V:V)。

2.2.3 基质效应考察

对方法的基质效应影响进行了考察。参考相关文献斜率比法[32]，计算基质标准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率比：小于 0.8 为显著抑制，0.8~0.9 为轻微抑制，0.9~1.1 可忽略基质效应影响，1.1~1.2 为轻微增强，大于 1.2 为显著增强。测试结果表明，48 种药物的基质效应值在 0.59~1.33 范围内，显著影响的药物有 13 种，主要为镇定剂类、四环素类及其他农药类药物；磺胺类、喹诺酮类及新烟碱类药物的基质效应值多在 0.8~1.2 范围内。因此，需采用阴性基质提取液配制标准系列溶液，以降低基质效应对分析的影响。

2.3 方法学验证

本研究开展了方法学验证，考察各目标物的标准曲线及范围、检出限及定量限、精密度及准确度等指标，如表 3 所示。采用阴性小龙虾基质匹配标准系列溶液进行考察，各目标物在 1~100 ng/mL 范围内具有良好线性，校准曲线相关系数均不低于 0.997；参考相关规范要求，结合信噪比(S/N)法确定各目标物检出限和定量限，分别在 0.02~0.20 μg/kg 和 0.05~0.50 μg/kg 范围内，满足痕量分析需求。

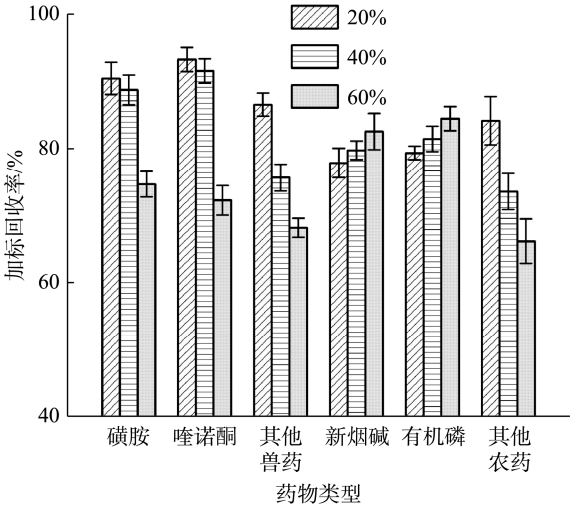


图 6 提取液中水相比例对各目标物回收率的影响(n=6)
Fig.6 Effects of aquerous phase proportion in extract on the recoveries of target analytes (n=6)

采用阴性基质加标回收法，加标浓度分别为 0.5(定量限水平)、5.0 和 50.0 μg/kg，以加标回收率考察准确度，以 6 次平行测定结果 RSD 考察精密度，如表 3 所示。各类目标物的加标回收率在 70.2%~105.8%范围内，RSD 均不超过 3.3%，满足 GB/T 27404—2025《实验室质量控制规范食品理化检测》要求。

2.4 实际样品测定

本研究选取湖北、江苏、安徽等主产区采集的稻虾共养模式小龙虾样本 36 份，采用本研究建立的方法开展实际样品测定，以评估方法的实用性。实际样本检测阳性结果汇总于表 4 中。36 份样本中有 13 份检出了相关农兽药残留，样本阳性率为 36.1%；检出药物残留涉及 10 种目标物，检出率为 20.8%，其中恩诺沙星、环丙沙星、氧氟沙星、吡虫啉及噻虫嗪在多个样本中检出。对检测出的 16 项阳性结果进行研究比对，其中 9 个阳性结果低于对应的标准方法中规定的定量限，表明本方法相比与现有标准方法具有较高的灵敏度，适应痕量分析及风险监测的需求。对剩余 7 个阳性结果采用标准方法复测，相对相差在 1.1%~9.6%范围内，表明本方法具有较高准确度，为样本筛查及定量确证提供技术支撑。

表 3　各目标物方法验证数据(n=6)

Table 3　Method validation datas for each target analyte (n=6)

目标物名称	线性方程	相关系数	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)	平均加标回收率/% (RSD/%)		
					0.5 μg/kg	5.0 μg/kg	50.0 μg/kg
磺胺二甲嘧啶	Y=8455.1X	0.998	0.05	0.12	88.7 (1.1)	92.5 (0.8)	90.7 (0.6)
磺胺甲基嘧啶	Y=4061.0X	0.999	0.10	0.25	91.6 (1.4)	95.3 (0.9)	93.4 (0.7)
磺胺甲噁唑	Y=5035.9X	0.999	0.10	0.20	100.4 (2.5)	95.4 (0.7)	95.6 (2.0)
磺胺间二甲氧嘧啶	Y=15227.2X	0.999	0.03	0.08	88.7 (1.1)	90.4 (2.0)	92.5 (0.4)
磺胺邻二甲氧嘧啶	Y=15998.8X	0.999	0.03	0.08	88.6 (2.6)	82.3 (1.9)	83.4 (2.1)
磺胺间甲氧嘧啶	Y=9083.5X	0.998	0.05	0.12	101.6 (1.6)	99.5 (0.9)	100.8 (1.1)
磺胺氯哒嗪	Y=5975.8X	0.999	0.05	0.16	105.2 (0.9)	103.0 (1.5)	105.8 (2.1)
磺胺喹噁啉	Y=5124.4X	0.998	0.08	0.20	100.7 (3.0)	102.2 (1.2)	103.2 (0.5)
磺胺噻唑	Y=7088.5X	0.998	0.05	0.15	90.5 (2.4)	88.6 (1.8)	86.8 (1.8)
磺胺二甲异噁唑	Y=7353.1X	0.999	0.05	0.15	90.1 (0.8)	92.6 (2.5)	90.2 (1.4)
磺胺甲噻二唑	Y=7224.5X	0.999	0.05	0.15	82.2 (2.8)	80.5 (0.9)	85.6 (1.5)
磺胺嘧啶	Y=5061.7X	0.999	0.08	0.20	88.6 (2.2)	93.0 (1.4)	92.3 (1.5)
甲氧苄啶	Y=4224.6X	0.999	0.10	0.24	92.4 (1.0)	90.8 (2.2)	94.4 (1.5)
环丙沙星	Y=5603.1X	0.998	0.08	0.18	87.7 (2.2)	90.3 (0.7)	86.6 (1.9)
恩诺沙星	Y=3221.8X	0.998	0.10	0.30	93.8 (0.7)	91.9 (0.7)	91.6 (1.2)
氧氟沙星	Y=8495.4X	0.998	0.05	0.12	90.1 (2.8)	90.3 (1.2)	91.6 (2.0)
诺氟沙星	Y=4832.0X	0.999	0.10	0.22	86.6 (3.2)	90.2 (1.7)	89.8 (2.0)
培氟沙星	Y=966.4X	0.999	0.20	0.50	103.5 (1.3)	101.1 (2.2)	101.9 (1.8)
沙拉沙星	Y=2425.3X	0.999	0.10	0.35	90.2 (2.0)	88.5 (3.1)	91.4 (2.0)
甲硝唑	Y=3353.8X	0.998	0.10	0.30	82.2 (0.8)	86.8 (1.5)	86.5 (2.0)
地美硝唑	Y=5858.5X	0.998	0.06	0.18	91.1 (1.7)	90.5 (2.0)	88.6 (0.6)
洛硝达唑	Y=4306.9X	0.999	0.10	0.24	90.8 (2.2)	87.4 (1.6)	87.7 (1.1)
四环素	Y=3033.7X	0.999	0.10	0.30	88.5 (2.2)	87.1 (1.1)	90.0 (1.0)
金霉素	Y=821.9X	0.999	0.20	0.50	80.2 (2.0)	82.7 (1.5)	79.5 (2.7)
土霉素	Y=4633.7X	0.998	0.10	0.24	95.6 (1.0)	93.0 (1.1)	93.2 (0.5)
多西环素	Y=10895.0X	0.997	0.04	0.10	89.8 (2.0)	91.5 (2.4)	89.6 (0.7)
地西泮	Y=4353.9X	0.998	0.10	0.24	84.5 (0.5)	86.2 (1.8)	84.2 (2.1)
氯丙嗪	Y=7358.9X	0.999	0.05	0.15	79.8 (2.6)	81.2 (1.0)	80.5 (3.3)
吡虫啉	Y=2232.4X	0.999	0.15	0.40	70.6 (1.7)	72.2 (2.5)	70.2 (1.5)
啶虫脒	Y=9979.5X	0.997	0.04	0.10	86.0 (0.6)	88.8 (2.1)	85.0 (1.0)
呋虫胺	Y=4120.0X	0.999	0.10	0.24	90.4 (2.2)	88.0 (0.8)	89.6 (1.0)
噻虫嗪	Y=5316.5X	0.999	0.08	0.20	72.6 (2.1)	71.2 (0.8)	75.5 (1.4)
噻虫胺	Y=2025.4X	0.998	0.12	0.35	73.6 (1.2)	71.1 (3.1)	73.5 (0.5)
毒死蜱	Y=6955.4X	0.998	0.05	0.15	81.2 (0.6)	80.5 (1.1)	82.2 (0.9)
乙酰甲胺磷	Y=20430.7X	0.999	0.02	0.05	76.8 (1.1)	77.9 (0.6)	76.1 (0.3)
氧乐果	Y=7656.7X	0.999	0.05	0.15	80.5 (0.5)	82.1 (1.1)	79.4 (0.8)
敌敌畏	Y=4895.9X	0.998	0.08	0.20	78.2 (1.1)	75.0 (0.6)	76.1 (1.3)
三唑磷	Y=40132.6X	0.999	0.02	0.05	73.0 (2.5)	75.8 (0.5)	76.5 (1.1)
水胺硫磷	Y=16402.0X	0.998	0.03	0.08	86.1 (2.0)	84.2 (0.4)	85.5 (0.9)
克百威	Y=6889.5X	0.998	0.05	0.15	92.5 (0.4)	91.0 (2.1)	93.6 (0.8)
3-羟基克百威	Y=6774.3X	0.997	0.05	0.15	102.7 (1.1)	100.2 (0.6)	103.3 (0.5)
多菌灵	Y=27742.5X	0.998	0.02	0.05	80.1 (0.6)	82.2 (1.0)	82.5 (1.0)
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	Y=2838.1X	0.999	0.10	0.35	91.2 (0.9)	92.5 (2.0)	91.1 (1.2)
噻嗪酮	Y=18020.4X	0.998	0.02	0.06	85.0 (1.5)	86.2 (2.3)	85.5 (0.5)
氯虫苯甲酰胺	Y=4735.7X	0.999	0.08	0.20	71.2 (2.1)	70.3 (1.7)	71.5 (2.5)
腈苯唑	Y=35304.2X	0.999	0.02	0.05	82.8 (0.8)	84.1 (0.9)	82.8 (1.2)
噻唑啉	Y=18222.8X	0.999	0.04	0.12	76.7 (1.4)	74.2 (0.9)	74.5 (0.9)
吡唑醚菌酯	Y=8994.0X	0.998	0.04	0.12	81.1 (0.7)	80.6 (1.2)	81.8 (2.1)

注: 相对标准偏差(relative standard derivation, RSD)。

表 4 实际样本检测阳性结果汇总
Table 4 Summary of positive detection results in real samples

目标物名称	检出频次	残留量/(μg/kg)
磺胺间甲氧嘧啶	1	2.4
环丙沙星	2	8.8~11.6
恩诺沙星	3	3.5~44.1
氧氟沙星	2	6.7~26.0
多西环素	1	5.2
地西泮	1	16.1
吡虫啉	2	5.4~39.8
呋虫胺	1	0.8
噻虫嗪	2	9.6~55.7
乙酰甲胺磷	1	1.6

3 结 论

本研究围绕稻虾共养模式下小龙虾的农药及兽药残留检测问题, 针对检测时效性及样品基质的特殊性难题建立了通过式净化结合高效液相色谱-串联质谱法的检测方法。方法以乙腈:水=80:20 (*V*:*V*)为提取溶剂, 选用 PRiME HLB 柱净化, 优化确定了最优的色谱、质谱条件, 采用基质匹配外标曲线法, 实现了对 48 种农药及兽药的同步检测。方法学验证结果表明, 各目标物在 1~100 ng/mL 范围内线性良好, 相关系数均不低于 0.997; 检出限与定量限分别在 0.02~0.20 μg/kg 和 0.05~0.50 μg/kg 范围内, 3 个浓度水平的 6 次平行加标回收率在 70.2%~105.8%之间, RSD 不超过 3.3%, 满足痕量分析需求。采用该方法对各主产区的 36 个样本进行测定, 药物检出率达 20.8%, 阳性结果与标准方法复测结果相比一致性较高。该方法高效、灵敏、准确, 为小龙虾中多类残留的快速筛查与风险评估提供了可靠技术支撑, 对保障小龙虾产业质量安全及可持续发展具有重要意义。

参考文献

[1] 王晓妍, 庞凤鸣, 吕金龙, 等. 全产业链视角下淡水渔业高质量发展路径研究: 以湖北省小龙虾产业为例[J/OL]. 淡水渔业, 2026-06-04. https://doi.org/10.13721/j.cnki.dsyy.20260604.002.
Wang Xiaoyan, Pang Fengming, Lv Jinlong, et al. Study on high-quality development path of freshwater fishery from the perspective of whole industry chain: taking crayfish industry in Hubei Province as an example [J/OL]. China Industrial Economics, 2026-06-04. https://doi.org/10.13721/j.cnki.dsyy.20260604.002.

[2] 刘庆, 朱洋洋, 田卓亚, 等. 农业组织化经营的农户增收和追赶效应: 以稻虾共作模式为例[J]. 农业现代化研究, 2026, 47(1): 161–172.
Liu Qing, Zhu Yangyang, Tian Zhuoya, et al. Farmers' income increase and catch-up effect of agricultural organization management: a case study of the rice-crayfish co-culture model [J]. Research of Agricultural Modernization, 2026, 47(1): 161–172.

[3] 卢新民, 蔡志欢, 李强, 等. "再生稻-小龙虾"共作技术[J]. 水产养殖, 2025, 46(12): 56–57.
Lu Xinmin, Cai Zhihuan, Li Qiang, et al. "Ratooning rice-crayfish" co-cropping technology [J]. Journal of Aquaculture, 2025, 46(12): 56–57.

[4] 罗兵, 孙海燕, 钱斌, 等. 太湖地区稻虾综合种养主要模式及效益分析[J]. 现代农业科技, 2025(20): 194–196.
Luo Bing, Sun Haiyan, Qian Bin, et al. Main models and benefit analysis of comprehensive breeding of rice and shrimp in Taihu Lake area [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2025(20): 194–196.

[5] 吴良洁, 陈灿, 黄璜, 等. "作物+小龙虾"不同种养模式对土壤理化性质、作物产量及经济效益的影响[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(2): 150–157.
Wu Liangjie, Chen Can, Huang Huang, et al. Effects of different cultivation modes of "crop+crayfish"on soil physicochemical properties, crop yield and economic benefits [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2025, 53(2): 150–157.

[6] 俞金礼, 林国栋. 我国稻虾共作模式研究进展[J]. 生物学教学, 2025, 50(11): 5–8.
Yu Jinli, Lin Guodong. Research progress on the rice-shrimp co-culture model in China [J]. Biology Teaching, 2025, 50(11): 5–8.

[7] 陈万明, 郝慧娟, 廖中建, 等. 稻虾养殖生态模式对产地环境及农产品质量安全风险的影响[J]. 湖南农业科学, 2019(4): 64–69.
Chen Wanming, Hao Huijuan, Liao Zhongjian, et al. Effects of ecological mode of rice-shrimp cultivation on local environment and safety of agricultural products [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2019(4): 64–69.

[8] 苌建菊, 郭印. 农药施用对稻田养殖影响研究[J]. 安徽农学通报, 2024, 30(12): 94–97.
Chang Jianju, Guo Yin. A study on the impact of pesticide application on rice field aquaculture [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2024, 30(12): 94–97.

[9] 杨秋红, 皇甫鑫, 郑瑜, 等. 湖北省稻虾养殖模式下小龙虾农药残留与风险评估[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(6): 297–306.
Yang Qiuhong, Huangfu Xin, Zheng Yu, et al. Residues and risk assessment of pesticides in integrated rice-crayfish co-culture systems in Hubei Province [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2024, 43(6): 297–306.

[10] 彭茂民, 刘丽, 陈鑫, 等. QuEChERS 法结合超高效液相色谱-串联质谱法检测克氏原螯虾中的农药残留[J]. 中南农业科技, 2026, 47(3): 55–62.
Peng Maomin, Liu Li, Chen Xin, et al. Determination of pesticide residues in *Procambarus clarkii* by QuEChERS method combined with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. South-Central Agricultural Science and Technology, 2026, 47(3): 55–62.

[11] Li Na, Wang Aiying, Chen Aijing, et al. Simultaneous determination of 16 herbicides in *Procambarus clarkii* [J]. Food Chemistry, 2025, 484: 144438.

[12] 桑文才, 李金阳, 林嫣然, 等. 南四湖沉积物抗生素的组成特征和环境风险[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(7): 1609–1620.
Sang Wencai, Li Jinyang, Lin Yanran, et al. Composition profile and environmental risks of antibiotics in sediments of Nansi Lake [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2024, 43(7): 1609–1620.

[13] Zhou Jun, Xia Ruizhi, Landis J D, et al. Isotope evidence for rice accumulation of newly deposited and soil legacy cadmium: a three-year field study [J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(39):

17283–17294.

[14] 张大为, 朱辉, 王骏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中 105 种兽药残留[J]. 化学分析计量, 2024, 33(4): 60–66.
Zhang Dawei, Zhu Hui, Wang Jun, et al. Simultaneous detection of 105 veterinary drug residues in fish by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2024, 33(4): 60–66.

[15] 吴鸿敏, 孙栋. 近年来水产品主要药物风险因素分析及监管建议[J]. 中国渔业质量与标准, 2024, 14(6): 49–56.
Wu Hongmin, Sun Dong. Analysis of risk factors of main drugs in aquatic products in recent years and regulatory recommendations [J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2024, 14(6): 49–56.

[16] Akter L, Hasan N A, Rahman M, et al. Antimicrobial resistance in shrimp aquaculture: pathways, ecosystem risks, and policy responses [J]. Environmental Challenges, 2026, 22: 101401.

[17] 田娟, 张健敏, 刘洋洋, 等. 小龙虾的营养价值与食用安全[J]. 中国食品安全, 2024(7): 89–91.
Tian Juan, Zhang Jianmin, Liu Yangyang, et al. Nutritional value and edible safety of crayfish [J]. China Food Safety, 2024(7): 89–91.

[18] Brandi J, Siragusa G, Robotti E, et al. “Analysis of veterinary drugs and pesticides in food using liquid chromatography-mass spectrometry” [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 179: 117888.

[19] Zhu Xueting, Wang Mengru, Hou Fan, et al. Multi-residue analysis of pesticides and veterinary drugs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a modified QuEChERS method [J]. Microchemical Journal, 2025, 208: 112384.

[20] Yang Guangxin, Zhang Junyu, Tang Yunyu, et al. Development and validation of rapid screening of 192 veterinary drug residues in aquatic products using HPLC-HRMS coupled with QuEChERS [J]. Food Chemistry: X, 2024, 22: 101504.

[21] Park H, Choi S Y, Kang H S, et al. Multi residue determination of 96 veterinary drug residues in domestic livestock and fishery products in South Korea [J]. Aquaculture, 2022, 553: 738064.

[22] Sun Qianran, Liu Jun, Gou Yuan, et al. Determination of veterinary drugs in foods of animal origin by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) [J]. Journal of Chromatography A, 2025, 1744: 465726.

[23] Yang Liqiong, Sun Lei, Fan Lixin, et al. A method for the simultaneous determination of 68 veterinary drug residues in foods for special medical purposes using ultra-high-performance liquid chromatography -triple-time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 145: 107806.

[24] Wang Shouying, Yang Guangxin, Tang Yunyu, et al. Multi-residue screening of pesticides in aquatic products using high-performance liquid chromatography-tandem high-resolution mass spectrometry [J]. Foods, 2023, 12(6): 1131.

[25] Aissaoui Y, Jiménez-Skrzypek G, González-Sálamo J, et al. Determination of multiclass antibiotics in fish muscle using a QuEChERS-UHPLC-MS/MS method [J]. Foods, 2024, 13(7): 1081.

[26] Zhou Ruidong, Kong Cong, Wen Yupeng, et al. One step cleanup of 160 pesticides and veterinary drugs in aquatic products using melamine-based automatic pressure filtration purification method combined with HPLC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2024, 443: 138493.

[27] Li Shuo, Liu Yijun, Jiang Dan, et al. Simultaneous quantification of 39 pesticides and veterinary drug residues in aquaculture products using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with modified QuEChERS [J]. Food Analytical Methods, 2024, 17(6): 797–811.

[28] Guo Yage, Xie Jun, Dong Fengshou, et al. Highly-selective analytical strategy for 90 pesticides and metabolites residues in fish and shrimp samples [J]. Molecules, 2023, 28(10): 4235.

[29] 王鲁霞, 朱辉, 刘延平, 等. 水产品多兽药残留检测中前处理方法研究进展[J]. 食品安全导刊, 2023(36): 148–150.
Wang Luxia, Zhu Hui, Liu Yanping, et al. Research progress on pre-treatment methods for detecting multi-veterinary drug residues in aquatic products [J]. Journal of Food Safety Guide, 2023(36): 148–150.

[30] 王缅, 杨长军, 严旭旭, 等. EMR-Lipid-同位素稀释-LC-MS/MS 测定水产品中氨基甲酸酯类农药[J]. 农技服务, 2025, 42(11): 50–54.
Wang Mian, Yang Changjun, Yan Xuxu, et al. Determination of carbamate pesticides in aquatic products by EMR-Lipid- isotope dilution-LC-MS/MS [J]. Agricultural Technology Service, 2025, 42(11): 50–54.

[31] 张璐, 任佳琦, 花锦, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法快速筛查食源性植物提取物中 89 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(8): 46–54.
Zhang Lu, Ren Jiaqi, Hua Jin, et al. Rapid screening of 89 kinds of pesticide residues in foodborne-plant extracts by QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(8): 46–54.

[32] 商春锋, 周一冉, 胡国栋, 等. Sin-QuEChERS 净化技术结合液相色谱-串联质谱法检测大棚蔬菜中 13 种全氟烷基酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(1): 90–97.
Shang Chunfeng, Zhou Yiran, Hu Guodong, et al. Determination of 13 kinds of perfluoroalkyl acids in greenhouse vegetables by Sin-QuEChERS purification technology and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(1): 90–97.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)