

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240526002

高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中地克珠利、妥曲珠利及其代谢物残留量

朱春雨^{1,2*}, 吴移山^{1,2}, 郑景娇^{1,2}

[1. 广东省湛江市质量计量监督检测所, 湛江 524003;

2. 国家海产品质量检验检测中心(湛江), 湛江 524003]

摘要: **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中地克珠利和妥曲珠利及其代谢物残留量的方法。**方法** 样品经 0.1%甲酸乙腈提取, 提取液用 50 mg N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)粉末、50 mg C₁₈粉末和 150 mg 无水硫酸镁进行净化, 以 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾负离子模式扫描, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)技术进行定性分析, 内标法定量。**结果** 地克珠利和妥曲珠利及其代谢物在 2~50 ng/mL 线性范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.99; 检出限为 0.2~3.0 µg/kg, 定量限为 0.3~6.0 µg/kg; 回收率范围为 80.4%~117.9%, 相对标准偏差为 1.0%~4.8%。采用该方法对市售的 20 批次鸡蛋样品进行检测, 未在样品中检出地克珠利和妥曲珠利及其代谢物, 同时做质控样品, 回收率等指标符合分析要求。**结论** 该方法具有快速、选择性好、重现性好等优点, 有效提高了检测质量和效率, 降低了检测成本, 并且易于实现批量化操作; 为抗球虫药物残留检测、风险评估提供了科学依据。

关键词: QuEChERS; 高效液相色谱-串联质谱法; 鸡蛋; 地克珠利; 妥曲珠利

Determination of diclazuril, toltrazuril and their metabolites in eggs by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHU Chun-Yu^{1,2*}, WU Yi-Shan^{1,2}, ZHENG Jing-Jiao^{1,2}

[1. Zhanjiang Institute of Supervision & Testing on Quality & Measure, Zhanjiang 524003, China;

2. National Seafood Quality Supervision and Testing Center (Zhanjiang), Zhanjiang 524003, China]

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of diclazuril, toltrazuril and their metabolites in eggs by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted by 0.1% formic acid acetonitrile solution and the extraction solution was purified using 50 mg primary secondary amine (PSA) powder, 50 mg C₁₈ powder, and 150 mg anhydrous magnesium sulfate. Then gradient eluted with 5 mmol/L ammonium acetate-acetonitrile as mobile phase, and scanned by electrospray negative ion mode. Multiple reaction monitoring (MRM) was used for qualitative analysis and internal standard method for quantitative analysis. **Results** Diclazuril, tuoquzhuli and their metabolites had a good linear relationship within the range of

*通信作者: 朱春雨, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 1127626682@qq.com

*Corresponding author: ZHU Chun-Yu, Master, Assistant Engineer, Zhanjiang Institute of Supervision & Test on Quality & Measure, No.8, Ruiyun South Road, Mazhang, Zhanjiang 524003, China. E-mail: 1127626682@qq.com

2–50 ng/mL, and the correlation coefficients were greater than 0.99. The limits of detection and quantitation were 0.2–3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.3–6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The recoveries ranged from 80.4% to 117.9% and the relative standard deviations were 1.0% to 4.8%. The method was used to detect 20 batches of egg samples in the market, diclazuril and toltrazuril and their metabolites were not detected in the samples. At the same time, quality control samples were taken, and the recovery rates and other indicators met the analysis requirements. **Conclusion** This method has the advantages of being fast, selective and reproducible. Meanwhile, the detection cost is reduced, and mass operation can be easily achieved. These results provide scientific basis for detection and risk assessment of coccidiostats residues.

KEY WORDS: QuEChERS; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; eggs; diclazuril; toltrazuril

0 引言

畜禽球虫病是由艾美耳球虫引起的急性流行病。球虫在家禽的肠道中繁殖, 导致其肠道组织损伤, 降低了禽肉和蛋生产的效率^[1-3]。地克珠利和妥曲珠利及其代谢物是重要的三嗪类抗球虫药物(图 1), 被广泛用于防治畜禽球虫病^[4-6]。地克珠利的残留标志物是其本身, 原药本身具有抗球虫活性; 妥曲珠利本身不具有抗球虫活性, 在体内磺化代谢成妥曲珠利砒和妥曲珠利亚砒后而起到防治效果^[7-9]。由于抗球虫类药物在动物体内的作用时间短且易产生耐药性, 养殖时需长时间大量使用药物才能达到预期治疗效果, 所以可能会造成药物在家禽体内残留^[10-12]。若在蛋鸡产蛋期使用抗球虫药物, 可能会导致鸡蛋中有药物残留, 超过最大残留限量, 被消费者食用后而有三致风险。农业农村部在 GB 31650.1—2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》中规定, 地克珠利和妥曲珠利在蛋中的最大残留限量为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

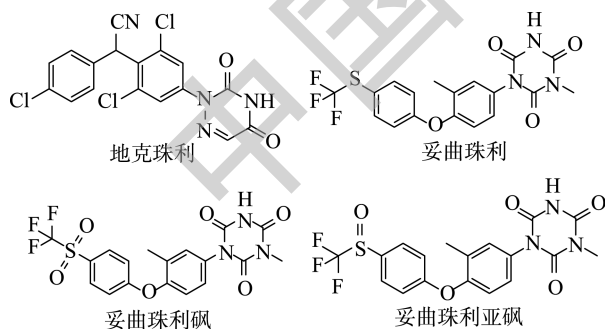


图1 三嗪类抗球虫药物的化学结构

Fig.1 Chemical structures of triazine coccidiostats

目前抗球虫药物的检测方法主要有微生物法^[13]、液相色谱法^[14-17]和液相色谱-串联质谱法等^[18-24], 其中色谱法的前处理方式主要包括凝胶渗透色谱法, 固相萃取法和 QuEChERS 等净化技术^[25-26]。BOHN 等^[13]采用细菌对动物

饲料中 6 种抗球虫药进行检测。该方法操作简单, 可批量化操作, 但在检测过程中容易受到干扰, 影响检测结果。林仙军等^[15]报道了鸡肌肉中地克珠利、妥曲珠利、妥曲珠利砒及妥曲珠利亚砒残留量的高效液相色谱测定方法, 样品经碱性氧化铝柱净化后测定, 定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法的前处理用到固相萃取柱, 操作烦琐, 且易受样品干扰, 发生竞争吸附从而影响提取效率; 高效液相色谱仪虽操作简单, 但选择性差、灵敏度不高。AI 等^[25]采用凝胶渗透色谱法从家禽组织和鸡蛋中提取地克珠利、妥曲珠利及其两种主要代谢物, 而后经液相色谱-串联质谱法测定。凝胶渗透色谱法的优点是分离范围广、灵敏度高, 缺点是净化耗时长、成本高, 并且实验中需要用到大量有机溶剂, 容易对环境造成不利影响, 对实验员的操作要求更高。木合拜尔等^[26]建立了鸡肉中地克珠利、妥曲珠利等 6 种抗球虫药物的超高效液相色谱-高分辨串联质谱法。样品需用含有 1% 三氯乙酸的乙腈-水提取, 经 N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)和中性氧化铝净化剂净化后测定。该方法中 QuEChERS 净化技术前处理过程简单, 但用到具有刺激性气味的三氯乙酸, 操作过程有一定风险。

当前抗球虫药物残留检测方法的检测对象主要以畜禽组织为主, 关于鸡蛋中抗球虫药物残留检测的报道较少。另外, 现有的标准方法前处理过程复杂, 样品净化步骤操作烦琐, 检测效率低下。本研究对样品的提取和净化方式进行了优化, 基于 QuEChERS 净化技术, 建立了鸡蛋中地克珠利、妥曲珠利及其代谢物残留量的高效液相色谱-串联质谱法, 为抗球虫药物残留检测、风险评估提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

地克珠利 [乙腈 : N,N-二甲基甲酰胺 = 4:1 (V:V), 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$]、妥曲珠利 (甲醇, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、妥曲珠利砒 (乙腈, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、妥曲珠利亚砒 (乙腈, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、妥曲

珠利-d3(甲醇, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)标准品(天津阿尔塔科技有限公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司); 无水硫酸镁、无水硫酸钠、氯化钠、乙腈(分析纯, 广东光华科技股份有限公司); 甲酸、十八烷基硅胶(C_{18} , 40~63 μm)、PSA (40~60 μm)(上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

SCIEX ExlonLC 高效液相色谱仪、AB 4500 三重四极杆质谱仪(美国 AB 公司); IKA VORTEX 2 型涡旋振荡器(德国 IKA 公司); 3-18K 型高速冷冻离心机(德国 Sartorius 公司); DMT 2500 多管漩涡混合仪(杭州米欧仪器有限公司); Shim-pack GIST C_{18} (100 mm \times 2.1 mm, 1.9 μm)(日本岛津公司); FA2104 电子天平(感量 0.1 mg, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液制备

4 种抗球虫药物混合标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确吸取 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 地克珠利标准溶液 1.0 mL, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 妥曲珠利标准溶液 1.0 mL, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 妥曲珠利砷标准溶液 1.0 mL, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 妥曲珠利亚砷标准溶液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 配制质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4 种抗球虫药物混合标准储备液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存, 有效期 1 年。

4 种抗球虫药物混合标准中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确移取 0.1 mL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4 种抗球虫药物混合标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 配制质量浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4 种抗球虫药物混合标准中间液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存, 有效期 3 个月。

妥曲珠利-d3(内标)储备溶液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确移取 1 mL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的妥曲珠利-d3 标准溶液于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 配制质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的内标储备液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存, 有效期 6 个月。

1.3.2 前处理方法

试样制备: 取有代表性的样品约 500 g, 去壳、匀浆, 装入洁净容器中, 密封, 并标明标记, 于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下冷冻避

光保存。

提取: 准确称取鸡蛋试样 5 g, 置于 50 mL 刻度离心管中, 加入 75 μL 内标(内标储备液浓度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 准确加入 15 mL 0.1% 甲酸乙腈溶液, 涡旋混匀 1 min, 振荡提取 5 min; 加入 2 g 氯化钠和 5 g 无水硫酸钠, 涡旋 1 min, 振荡提取 5 min, 以 8000 r/min 离心 5 min。上清液待净化。

净化: 准确吸取 5 mL 上清液于 10 mL 聚丙烯离心管中, 加入 50 mg PSA 粉末、50 mg C_{18} 粉末和 150 mg 无水硫酸镁, 涡旋混匀 1 min, 以 8000 r/min 离心 5 min, 上清液过 0.22 μm 滤膜, 供高效液相色谱-串联质谱仪分析。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件

梯度洗脱程序见表 1。色谱柱为 Shim-pack GIST C_{18} 柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.9 μm); 流速 0.3 mL/min; 流动相 A 为 5 mmol/L 乙酸铵溶液, 流动相 B 为乙腈; 柱温 $40\text{ }^\circ\text{C}$; 进样量 2 μL 。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	A/%	B/%
0	95.0	5.0
1	95.0	5.0
2	5.0	95.0
5	5.0	95.0
6	95.0	5.0
8	95.0	5.0

1.4.2 质谱条件

离子化模式: 电喷雾负离子扫描模式; 质谱扫描方式: 多反应监测; 离子源参数: 气帘气 40 psi, 碰撞气 9 psi, 离子化电压 -4500 V , 温度 $500\text{ }^\circ\text{C}$, 喷雾气 50 psi, 辅助加热气 50 psi; 各目标化合物的详细质谱参数见表 2。

1.5 数据处理

本研究采用 Microsoft Excel 2010 进行数据分析及绘图。

表 2 目标化合物的质谱参数

Table 2 Mass spectrum parameters of target compound

化合物名称	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
妥曲珠利亚砷	440.1>371.1	440.1>371.1	-80	-22
	440.1>383.1		-80	-12
妥曲珠利砷	456.0>456.0	456.0>456.0	-80	-10
	404.9>334.0		-80	-20
地克珠利	404.9>335.0	404.9>334.0	-80	-20
	424.0>424.0		-80	-10
妥曲珠利-d ₃	427.0>427.0	427.0>427.0	-80	-12

2 结果与分析

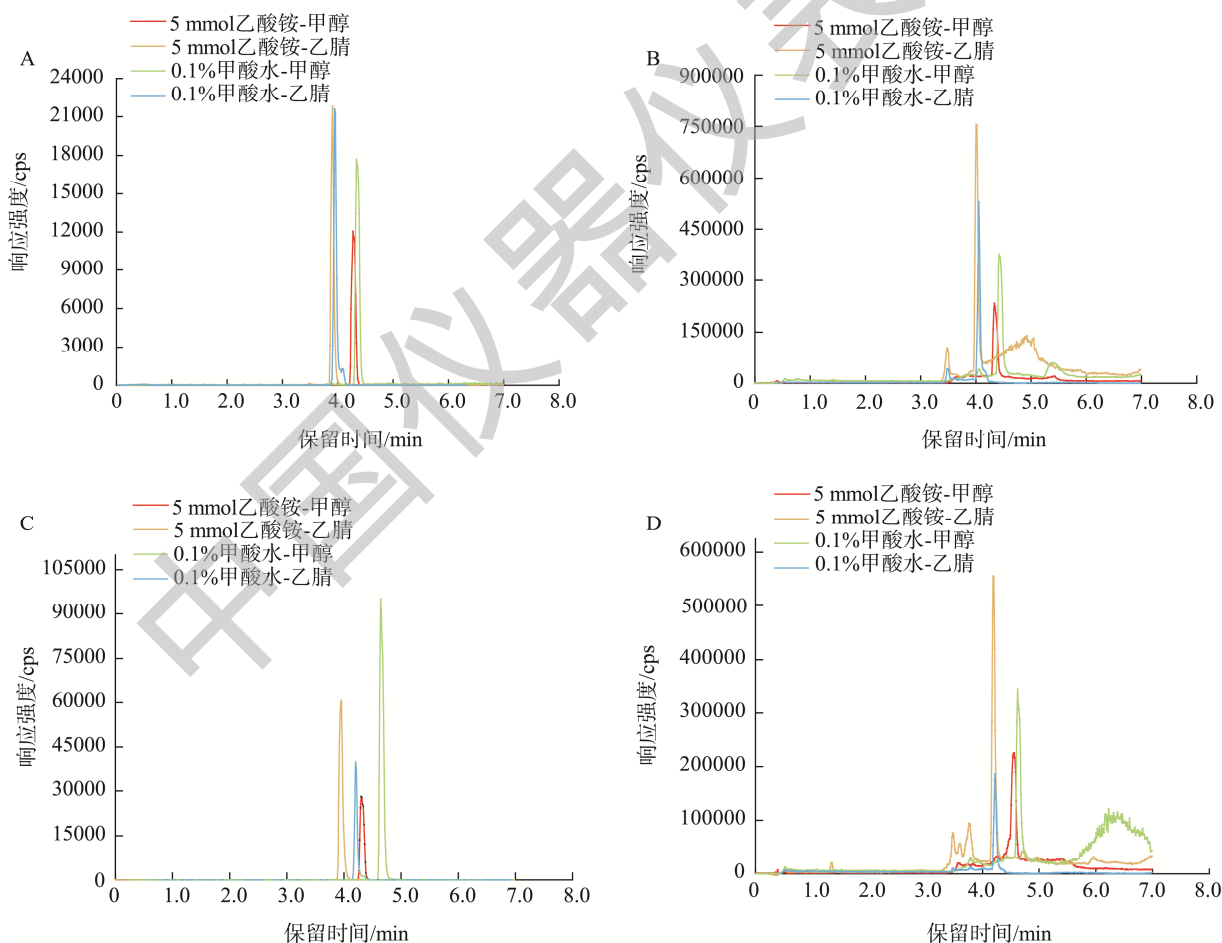
2.1 流动相的选择

因扫描方式是电喷雾负离子模式, 首先考虑用 5 mmol/L 乙酸铵-甲醇来做流动相, 得到的目标峰色谱图基线平稳, 但响应最低; 随后又考察了 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈、0.1% 甲酸水-甲醇和 0.1% 甲酸水-乙腈溶液等流动相。结果表明, 当使用 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈溶液作为流动相时, 4 种抗球虫化合物的峰型都得到了改善, 大部分化合物响应值最高, 分离效果好; 当使用 0.1% 甲酸水-甲醇溶液作为流动相时, 基线平稳, 仅地克珠利的响应最好。综上考虑, 确定流动相为 5 mmol/L 乙酸铵-乙腈溶液。4 种相同浓度抗球虫药物在不同流动相中的提取离子色谱图如图 2。

2.2 提取条件的选择

目前, 已建立的抗球虫药物残留分析方法主要采用乙腈和酸化乙腈作为提取试剂。张敏等^[19]直接使用乙腈

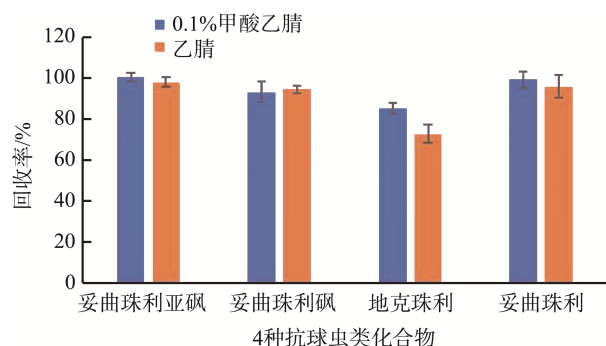
提取牛乳中的妥曲珠利, 但在低浓度添加时回收率较低; 李莹等^[24]则采用 2% 的甲酸乙腈提取禽肉和蛋中的抗球虫药物, 回收率接近 100%。文献报道中 QuEChERS 方法也多用乙腈作为提取溶剂, 常与甲酸或者乙酸搭配使用^[27-29]。基于上述结果, 分别对乙腈、含 0.1% 甲酸的乙腈溶液、甲醇及含 0.1% 甲酸的甲醇溶液等提取溶剂在 QuEChERS 方法中的作用效果进行了探索。结果表明, 乙腈和酸化乙腈作为提取溶剂的回收率均高于甲醇和酸化甲醇。分析认为, 这是因为乙腈较之甲醇具有更强的溶剂效应和渗透性, 更有利于鸡蛋中蛋白质的沉淀。因此, 使用乙腈可以更高效的提取目标物。相比之下, 经甲醇提取的样品杂质含量高, 这可能会影响目标物的分析检测。乙腈和含 0.1% 甲酸的乙腈溶液的提取效率总体相当, 回收率在 80%~110% 之间, 但含 0.1% 甲酸的乙腈溶液更有利于地克珠利的提取(见图 3), 综上考虑, 最终确定提取溶剂为含 0.1% 甲酸的乙腈溶液。与王颖怡等^[27]对提取溶剂的筛选结果一致。



注: A: 妥曲珠利亚砷(440.1>371.1); B: 妥曲珠利砷(456.0>456.0); C: 地克珠利(404.9>334.0); D: 妥曲珠利(424.0>424.0)。

图2 提取离子色谱图

Fig.2 Extract ion chromatograms

图3 提取溶剂对三嗪类抗球虫药物回收率的影响($n=3$)Fig.3 Effects of extract solvent on the recoveries of triazine coccidiostats ($n=3$)

2.3 净化剂的选择优化

QuEChERS 方法中吸附剂的选择和用量是关键, 常用的吸附净化材料有 PSA、 C_{18} 、石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)、无水硫酸镁等, PSA 可有效除去极性干扰物, 包括糖类、色素及脂肪酸等^[30], C_{18} 可吸附非极性干扰物, 如脂类、固醇、类胡萝卜素等^[31], GCB 可有效的吸附色素等小分子杂质, 无水硫酸镁则常被用做除水剂。QuEChERS 方法已被应用于抗球虫药物的测定, 并且在相关文献中得到报道。邢丽红等^[23]使用 C_{18} 50 mg 作为净化吸附剂, 对鱼体中地克珠利残留量进行测定, 但该方法的应用范围较窄, 可测定的化合物种类有限; 王颖怡等^[27]则选用 C_{18} 250 mg 和 PSA 50 mg 为净化剂, 对鸡蛋中 5 种抗球虫药物进行测定, 然而基质净化程度不足, 基质抑制效应显著。基于以上文献调研, 考虑到鸡蛋中含有大量的水分以及丰富的脂肪和蛋白质等大分子物质, 因此将 C_{18} 、

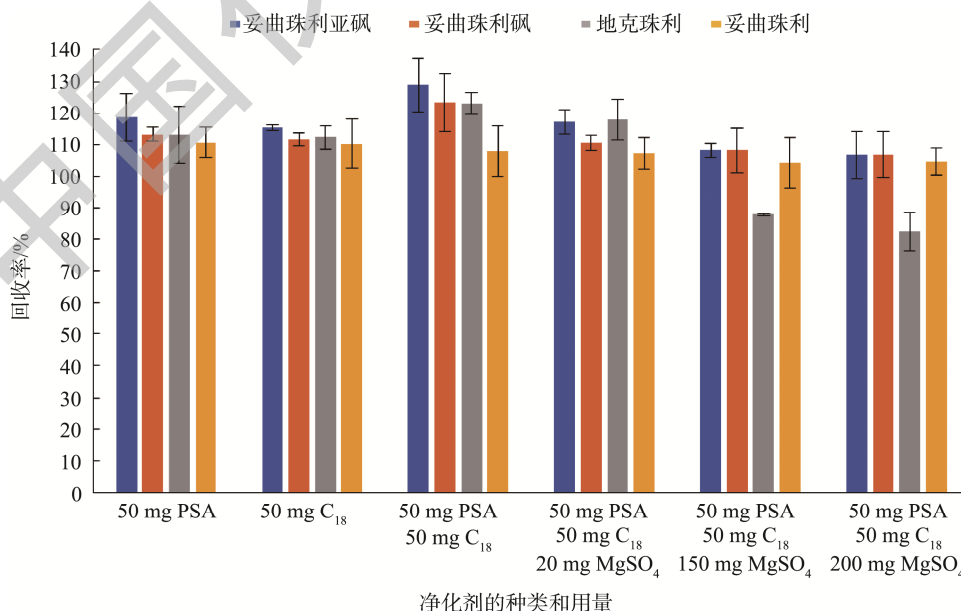
PSA 与无水硫酸镁混合作为吸附剂进行实验, 以考察其搭配用量对实验结果的影响。在实验过程中, 发现净化剂中若不添加无水硫酸镁, 回收率基本上均超过 110%, 推测可能是基质效应影响所致。因此, 后续着重筛选了无水硫酸镁的用量, 发现当无水硫酸镁为 150 mg, C_{18} 50 mg、PSA 50 mg 时净化效果最佳, 回收率最高, 集中在 80%~110%, 见图 4。

2.4 基质效应

基质是指样品中目标物以外的组分, 在化学分析过程中它的存在通常会对目标物的分析产生干扰, 影响分析结果的准确性。MATUSZEWSKI 等^[32]首次提出了评估基质效应的方法, 可用公式基质效应(matrix effect, ME)= $B/A \times 100\%$ 来表示, 其中: A 为溶剂标准曲线斜率; B 为基质标准曲线斜率。实验结果表明, 妥曲珠利亚砷、妥曲珠利砷、地克珠利、妥曲珠利的基质效应分别为 97%、110%、97%、114%。通常认为, 基质效应处于 80%~120%以内为弱基质效应, 基本可以忽略不计^[33], 比值大于 120%, 则说明有基质增强效应, 比值小于 80%, 则说明有基质抑制效应。本方法的基质效应在 97%~114%之间, 即基质效应对地克珠利、妥曲珠利及其代谢物的影响并不显著。综上所述, 本研究采用与流动相匹配的溶剂来配制标准溶液。

2.5 线性范围、检出限、定量限

准确移取 4 种抗球虫药物混合标准中间液和妥曲珠利-d3 内标储备液适量, 用流动相稀释成质量浓度均为 2、5、10、20、50 ng/mL 的系列混合标准工作液, 内标含量为 50 ng/mL, 供高效液相色谱-串联质谱法分析。以目标化合物的特征离子与内标的峰面积之比为纵轴, 相应的标准溶液浓度之比为横轴, 绘制工作曲线。同时, 选用阴性鸡蛋

图4 QuEChERS 填料对三嗪类抗球虫药物回收率的影响($n=3$)Fig.4 Effects of QuEChERS fillers on the recoveries of triazine coccidiostats ($n=3$)

样品,加入一系列低浓度的4种抗球虫药物混合标准中间液,经上述方法处理测定,以信噪比(S/N)=3时的浓度作为检出限。同理,信噪比(S/N)=10时的浓度为定量限。结果表明,地克珠利和妥曲珠利及其代谢物线性关系良好,线性相关系数均大于0.99,且检出限、定量限满足实验要求,详见表3。

2.6 回收率及精密度

选取阴性鸡蛋样品做加标实验,进行回收率和精密度的考察。阴性鸡蛋样品中分别添加15、30和60 μg/kg

3个水平的4种抗球虫药物,每个加标水平平行测定5次,结果见表4。实验结果表明,方法的回收率为80.4%~117.9%,相对标准偏差为1.0%~4.8%,准确度、精密度均满足日常检测需求。

2.7 实际样品的检测

采用该方法对市售的20批次鸡蛋样品进行检测,未在样品中检出地克珠利和妥曲珠利及其代谢物,同时做质控样品,回收率等指标符合分析要求。

表3 4种三嗪类抗球虫药物的线性方程、相关系数、线性范围、检出限与定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients (r^2), linear ranges, limits of detection and limits of quantitation of 4 kinds of triazine coccidiostats

化合物名称	线性方程	相关系数(r^2)	线性范围/(ng/mL)	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
妥曲珠利亚砷	$Y=0.02025X+3.48083e^{-5}$	0.99667	2~50	0.2	0.6
妥曲珠利砷	$Y=1.25791X+0.01161$	0.99894	2~50	2.0	6.0
地克珠利	$Y=0.17244X+1.07281e^{-4}$	0.99862	2~50	0.2	0.3
妥曲珠利	$Y=0.99339X+0.00791$	0.99899	2~50	3.0	6.0

表4 4种三嗪类抗球虫药物的回收率和相对标准偏差

Table 4 Recoveries and relative standard deviations of 4 kinds of triazine coccidiostats

检测项目	添加浓度/(μg/kg)	回收率/%					相对标准偏差/%	回收率/%
		1	2	3	4	5		
妥曲珠利亚砷	15	102.1	105.6	105.7	103.6	98.6	2.8	98.6~105.7
	30	107.8	107.4	102.7	105.9	108.9	2.3	102.7~108.9
	60	104.8	117.9	116.4	114.1	117.3	4.7	104.8~117.9
妥曲珠利砷	15	87.3	97.6	96.0	98.9	93.6	4.8	87.3~98.9
	30	98.9	98.7	96.3	94.4	95.8	2.0	94.4~98.9
	60	99.3	98.6	97.8	95.5	95.2	1.9	95.2~99.3
地克珠利	15	83.2	80.4	84.7	81.9	80.6	2.2	80.4~84.7
	30	84.0	81.9	83.8	81.4	83.2	1.4	81.4~84.0
	60	80.5	85.6	87.5	82.9	83.0	3.2	80.5~87.5
妥曲珠利	15	98.9	92.8	96.3	101.5	100.5	3.6	92.8~101.5
	30	100.9	101.9	99.7	98.2	100.2	1.4	98.2~101.9
	60	101.6	104.3	102.3	102.5	102.1	1.0	101.6~104.3

3 结论

本研究采用高效液相色谱-串联质谱法,结合QuEChERS净化技术进行前处理,对地克珠利、妥曲珠利及其代谢物进行测定。通过优化流动相、提取溶剂及净化剂的用量等参数,避免了烦琐的前处理过程,节省了溶剂的使用量。相比现有的标准方法,本研究具有快速、选择性好、重现性好等优点,有效提高了检测质量和效率,降低了检测成本,并且易于实现批量化操作。后续计划将这种前处理方法应用于不同基质和其他兽药残留分析的探索,探究其基质适用性和药物残留分析普适性,以期为抗球虫

药物残留分析检测或其他药物残留分析监测提供新的思路和技术支持。

参考文献

- [1] ZOU W, YU H, WANG X, *et al.* Establishing a model for evaluating chicken coccidiosis resistance based on principal component analysis [J]. *Animals*, 2019, 9(11): 926.
- [2] MADLALA T, OKPEKU M, ADELEKE MA. Understanding the interactions between Eimeria infection and gut microbiota, towards the control of chicken coccidiosis: A review [J]. *Parasite*, 2021, 28: 48.
- [3] NAHED A, ABD-EL-HACK ME, ALBAQAMI NM, *et al.* Phytochemical control of poultry coccidiosis: A review [J]. *Poult Sci*, 2022, 101(1):

- 101542.
- [4] 文丽, 方炳虎, 刘颖. 地克珠利在鸡组织的残留检测[J]. 广东畜牧兽医科技, 2007, 32(4): 39-41.
WEN L, FANG BH, LIU Y. Detection of diclazuril residue in chicken tissue [J]. *Guangdong J Anim Vet Sci*, 2007, 32(4): 39-41.
- [5] 吴永宁, 邵兵, 沈建忠. 兽药残留检测与监控技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
WU YN, SHAO B, SHEN JZ. Detection and monitoring technology of veterinary drug residues [M]. Beijing: Chem Industry Press, 2007.
- [6] AN Y, PAN X, CAI Z, *et al.* Simultaneous analysis of nicarbazin, diclazuril, toltrazuril, and its two metabolites in chicken muscle and eggs by in-syringe dispersive solid-phase filter clean-up followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Foods*, 2024, 13(5): 754.
- [7] 陈彤, 吴雯娟, 黄婷, 等. 建立一种基于超高效液相色谱-串联质谱测定猪肉中地克珠利和妥曲珠利残留的方法[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2019, 39(8): 74-77.
CHEN T, WU WJ, HUANG T, *et al.* Established a method based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of diclazuril and toltrazuril residues in pork [J]. *Anim Sci Abroad (Pigs Poultry)*, 2019, 39(8): 74-77.
- [8] 周变华, 王宏伟, 薛飞群, 等. 地克珠利抗鸡球虫作用机理研究进展[J]. 中国家禽, 2011, 33(21): 40-42.
ZHOU BH, WANG HW, XUE FQ, *et al.* Research progress on mechanism of action of diclazuril against coccidia [J]. *China Poultry*, 2011, 33(21): 40-42.
- [9] DENDOUGUI-TADJINE F, PRÖHL R, SPIES D, *et al.* Residue depletion of toltrazuril and its metabolites in egg after an authorised application in hens [J]. *Food Control*, 2023, 147: 109596.
- [10] ABBAS RZ, IQBAL Z, BLAKE D, *et al.* Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: The state of play revisited [J]. *World Poultry Sci J*, 2011, 67(2): 337-350.
- [11] 邝春曼, 谭心, 黄仪娟, 等. 广东蛋鸡球虫分离株对 12 种抗球虫药物的耐药性分析[J]. 养禽与禽病防治, 2022, (3): 5-11.
KUANG CM, TAN X, HUANG YJ, *et al.* Analysis of drug resistance to 12 anticoccidial drugs of coccidial isolates from laying hens in Guangdong Province [J]. *Poult Husbandry Dis Control*, 2022, (3): 5-11.
- [12] 张涛. 鸡组织和鸡蛋中地克珠利残留的检测[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
ZHANG T. Detection of residues of diclazuril in poultry tissues and eggs [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009.
- [13] BOHN T, PELLET T, BOSCHER A, *et al.* Developing a microbiological growth inhibition screening assay for the detection of 27 veterinary drugs from 13 different classes in animal feedingstuffs [J]. *Food Addit Contam A*, 2013, 30(11): 1870-1887.
- [14] LIU Y, WU Y, JIANG Y. Determination of robenidine residue in chicken tissues and eggs by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(9): 905-907.
- [15] 林仙军, 陆春波, 包爱情, 等. 高效液相色谱法测定鸡肌肉中地克珠利、妥曲珠利及其代谢物的残留量[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(3): 53-57.
LIN XJ, LU CB, BAO AIQ, *et al.* Determination of diclazuril, toltrazuril and its metabolites in chicken muscle by HPLC [J]. *Chin J Vet Drug*, 2015, 49(3): 53-57.
- [16] 赵娟, 张可煜, 薛飞群, 等. 饲料中抗球虫药物——沙咪珠利的高效液相色谱内标检测法研究[J]. 中国饲料, 2016, (3): 32-35.
ZHAO J, ZHANG KY, XUE FQ, *et al.* A high performance liquid chromatography (HPLC) with an internal standard was developed for determination of acetamizuril content in feed [J]. *China Feed*, 2016, (3): 32-35.
- [17] 刘永涛, 艾晓辉, 李乐, 等. 超高效液相色谱法测定鱼体组织中地克珠利残留量[J]. 分析实验室, 2014, 33(4): 420-423.
LIU YT, AI XH, LI L, *et al.* Determination of diclazuril residues in fish tissues by UPLC-TUV [J]. *Chin J Anal Lab*, 2014, 33(4): 420-423.
- [18] 胡京枝, 尚兵, 刘进玺, 等. 抗球虫药检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2825-2833.
HU JZ, SHANG B, LIU JX, *et al.* Advance of the coccidiostat detection methods [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(9): 2825-2833.
- [19] 张敏, 王鸽, 马晓冲, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛乳中 6 种兽药残留[J]. 食品工业科技, 2022, 43(5): 255-261.
ZHANG M, WANG G, MA XC, *et al.* Determination of 6 kinds of veterinary drug residues in milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(5): 255-261.
- [20] 王雅娟, 张杨杨, 郭亚文, 等. 动物源性食品中抗球虫药物残留的色谱和质谱检测技术研究进展[J]. 中国兽医学报, 2018, 38(12): 2424-2431.
WANG YJ, ZHANG YY, GUO YW, *et al.* An overview on chromatographic and mass spectrometry analytical methods for the multiresidue detection of anticoccidiosis drug in tissues of animal origin [J]. *Chin J Vet Sci*, 2018, 38(12): 2424-2431.
- [21] 陈莹娟, 马月皎, 李建成. 抗球虫药物残留的免疫检测技术[J]. 畜牧兽医学报, 2021, 52(4): 899-908.
CHEN YX, MA YJ, LI JC. A review of immunoassay for the determination of coccidiostats residues [J]. *Acta Vet Zootechn Sin*, 2021, 52(4): 899-908.
- [22] 宋佳盛, 李彤, 李胜南, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测鸡肌肉中尼卡巴嗪、地克珠利和托曲珠利的主要代谢物残留量[J]. 现代食品, 2023, 29(6): 185-188.
SONG JS, LI T, LI SN, *et al.* Determination of nicarbazin, dickezulide and tottrizulide in chicken muscle by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry of major metabolite residues [J]. *Mod Food*, 2023, 29(6): 185-188.
- [23] 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 LH, SUN WH, SUN XJ, *et al.* Determination of diclazuril in fish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with dispersive solid phase extraction [J]. *Food Sci*, 2016, 37(14): 174-179.
- [24] 李莹, 羊银, 柳溪, 等. 禽肉、蛋中抗球虫类药物的高效液相色谱-串联质谱检测法[J]. 职业与健康, 2021, 37(12): 1613-1618.
LI Y, YANG Y, LIU X, *et al.* An effective high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for detecting the coccidiostats in poultry meat and eggs [J]. *Occup Health*, 2021, 37(12): 1613-1618.
- [25] AI L, SUN H, WANG F, *et al.* Determination of diclazuril, toltrazuril and its two metabolites in poultry tissues and eggs by gel permeation chromatography-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879(20): 1757-1763.

- [26] 木合他拜尔, 严华, 徐娜, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-高分辨串联质谱技术检测鸡肉中 6 种抗球虫药物[J]. 色谱, 2015, 33(11): 1199-1204.
MUHAREM M, YAN H, XU S, *et al.* Determination of six anticoccidials in chicken using QuEChERS combined with ultra high liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(11): 1199-1204.
- [27] 王颖怡, 吴玉田, 孟春杨, 等. HPLC-MS/MS 技术同时测定鸡蛋中 5 种抗球虫药[J]. 食品工业, 2023, 44(6): 291-294.
WANG YY, WU YT, MENG CY, *et al.* Simultaneous determination of five anticoccidials in eggs by HPLC-MS/MS [J]. *Food Ind*, 2023, 44(6): 291-294.
- [28] 邓志英. 基于 QuChERS 法的动物性食品中兽药残留检测方法研究[J]. 食品安全导刊, 2020, (27): 178-179.
DENG ZY. Detection of veterinary drug residues in animal food based on QuChERS method study [J]. *China Food Saf Magaz*, 2020, (27): 178-179.
- [29] 张艳, 王全胜, 吴银良. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中 7 种抗病毒类药物和利巴韦林代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(6): 1872-1879.
ZHANG Y, WANG QS, WU YL. Simultaneous determination of 7 kinds of antiviral drugs and ribavirin metabolite residues in eggs by dispersive solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(6): 1872-1879.
- [30] 邵影, 张鸿伟, 高瑞刚, 等. 超高压液相色谱-高分辨质谱法同时筛查蓝莓中 90 种农药残留[J]. 食品工业科技, 2023, 44(5): 230-240.
SHAO Y, ZHANG HW, GAO RG, *et al.* Simultaneous screening of 90 pesticides in blueberry by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, 44(5): 230-240.
- [31] 平新亮, 林媚, 姚周麟, 等. 杨梅中 36 种农药残留快速检测技术研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 328-333.
PING XL, LIN M, YAO ZL, *et al.* Study on rapid detection of 36 pesticide residues in myrica rubra [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 45(5): 328-333.
- [32] MATUSZEWSKI BK, CONSTANZER ML, CHAVEZ-ENG CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019-3030.
- [33] MATUSZEWSKI BK. Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC-MS bioanalysis [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 830(2): 293-300.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)

作者简介



朱春雨, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1127626682@qq.com