

# 淡水鱼制品中阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜和阿苯达唑-2-氨基砜的测定研究

张小军<sup>1</sup>, 陈雪昌<sup>1</sup>, 郭远明<sup>1</sup>, 梅光明<sup>1</sup>, 杨会成<sup>2</sup>, 郑斌<sup>2\*</sup>

(1. 浙江省海洋水产研究所 浙江省海水增养殖重点实验室,浙江 舟山 316100;

2. 浙江省海洋开发研究院,浙江 舟山 316100)

**摘要:**建立了同时测定淡水鱼制品中阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜和阿苯达唑-2-氨基砜的高效液相色谱-串联质谱测定方法。鱼制品通过碳酸钠溶液和乙酸乙酯提取,正己烷净化,液相色谱分离,串联质谱检测。该方法在1.0~20 μg/L范围内各物质线性良好,线性系数均大于0.998 8。阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜、阿苯达唑-2-氨基砜在0.5~10.0 μg/kg添加水平,回收率在93.4%至108.1%之间,定量检出限均为0.5 μg/kg,方法精密度小于7.13%。本方法为淡水鱼制品中阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜和阿苯达唑-2-氨基砜的检测及监控提供了一种灵敏、准确的定量分析方法。  
[中国渔业质量与标准,2011,1(1):60~63]

**关键词:**高效液相色谱-串联质谱;阿苯达唑亚砜;阿苯达唑砜;阿苯达唑-2-氨基砜

**中图分类号:**S94      **文献标志码:**A      **文章编号:**2095-1833(2011)01-0060-04

## 0 引言

阿苯达唑是一种苯并咪唑类药物,其化学名称为5-丙硫基苯丙咪唑-2-氨基甲酸甲酯。阿苯达唑作为一种广谱、高效、低毒抗蠕虫药,在消化道内被吸收,对动物体内各种寄生线虫、绦虫具有很强的驱杀作用,目前在兽医临幊上应用广泛。毒理学研究表明,阿苯达唑及其活性代谢物阿苯达唑亚砜具有致畸作用<sup>[1]</sup>。近年来市场上出现了以阿苯达唑为主要成分用于水产养殖的药物,其使用可在加工链中不断传递,可能在加工鱼制品中存在代谢物的残留,给消费者带来了一定的食品安全风险。

目前阿苯达唑及代谢物常用的检测方法主要有分光光度法<sup>[2]</sup>、高效液相色谱法<sup>[3~6]</sup>和高效液相色谱-串联质谱法<sup>[7~8]</sup>等。与新鲜水产品相比,加工鱼制品具有含水率低、脂肪含量高和基质比较复杂等特点,其检测的前处理存在着一定的难度。本文研究采用液液萃取等方法进行前处理,建立了鱼制品中阿苯达唑三种代谢物阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜和阿苯达唑-2-氨基砜的高效液相色谱-串联质谱测定法。

## 1 实验

### 1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪、Quattro Premier XE 串联四极杆质谱仪(美国 Waters 公司);T18 匀浆机、MS2 漩涡混合器(德国 Ika 公司);Centrifuge5810 高速离心机(Eppendorf 公司);N-EVAP112 氮吹仪(Organomation 公司);R-215 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司)。

实验用水为 Milli-Q 制备高纯水;甲醇、甲酸、乙酸乙酯、正己烷均为色谱纯(Merk 公司);氢氧化钠为分析纯;阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜、阿苯达唑-2-氨基砜,标准品纯度均大于98%(德国 Dr 公司);其他试剂均为分析纯。

### 1.2 标准溶液配制

阿苯达唑代谢物标准储备液:分别准确称取阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜、阿苯达唑-2-氨基砜3种标准品各5.0 mg,用甲醇溶解并定容至50 mL容量瓶,分别配成3种标准储备液,浓度均为100 μg/mL。避光冷藏保存,保存期为3个月。

阿苯达唑代谢物标准工作液:用甲醇将3种标准储备液分别逐级稀释成100 ng/mL混合标准工作液,现配现用。

收稿日期:2011-03-01;接收日期:2011-04-16

资助项目:浙江省水产加工产业创新团队项目(2011R09031-15);浙江省优先主题重点农业项目(2009C12008)资助

作者简介:张小军(1982-),男,博士,工程师,研究方向为水产品加工及质量安全。E-mail:xiaojun3627@163.com

通信作者:郑斌,男,教授级高工,主要从事水产品加工及质量安全研究。E-mail:zhengbin67@163.com

### 1.3 样品的制备

样品用粉碎机打碎,称取2.0 g置于50 mL离心管中,加入5 mL 2 mol/L的碳酸钠溶液后匀浆1 min,加入15 mL乙酸乙酯溶液,震荡提取10 min。将混合液6 000 r/min离心5 min,收集上层液转移至100 mL鸡心瓶中,样品残渣用15 mL乙酸乙酯溶液重复提取一次,合并上清液。上清液于40 ℃旋转蒸发至干,向鸡心瓶中加1 mL甲醇水溶液(体积比4:6),以溶解残渣。将鸡心瓶中溶液转移至10 mL离心管中,加2 mL正己烷涡旋混合2 min,6 000 r/min离心5 min后,取水相溶液过0.22 μm滤膜后待测。

混合标准工作液除不加样品外均按照样品制备方法进行处理,上机后绘制标准曲线。

### 1.4 色谱质谱条件

色谱柱:C<sub>18</sub>柱(2.1 mm×50 mm,1.7 μm);流动相:A为0.2%甲酸水溶液,B为甲醇;流动相流速:

0.3 mL/min;流动相梯度洗脱程序如表1所示;柱温:40 ℃;进样量:10 μL。

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution of mobile phase

时间/min	A/%	B/%	流速/(mL·min <sup>-1</sup> )
0.0	90	10	0.3
2.0	10	90	0.3
3.0	10	90	0.3
4.0	90	10	0.3

离子源:电喷雾离子源,正离子扫描(ESI+);检测方式:多反应监测(MRM);毛细管电压:3.5 kV;离子源温度:120 ℃;脱溶剂气温度:380 ℃;锥孔气流量:50 L/h;脱溶剂气流量:600 L/h;目标物母离子、子离子、锥孔电压和碰撞能量等质谱多反应监测实验条件如表2所示。

表2 质谱监测实验条件

Tab. 2 Conditions of MS monitoring

分析物	母离子/(m·z <sup>-1</sup> )	子离子/(m·z <sup>-1</sup> )	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
阿苯达唑亚砜	282	240 *	30	15
		222		20
阿苯达唑砜	298	266 *	40	35
		159		20
阿苯达唑-2-氨基砜	240	133 *	30	25
		198		20

\* 定量子离子(Quantitative ions)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法选择

与新鲜水产品相比,淡水加工鱼制品含水率低,脂肪含量高,基质比较复杂,其检测的前处理存在着一定的难度。实验采用水溶液、甲醇、乙腈、乙酸乙酯等作为提取溶剂进行提取实验,发现干的加工鱼制品在纯的有机溶剂中不能完全分散,影响提取效果。采用碳酸钠溶液和乙酸乙酯混合提取则可以使样品均匀分散在溶剂中,获得较好的提取效果。实验使用正己烷进行脱脂处理,可有效去除提取液中的脂肪成分,获得较好的脱脂除杂效果。

### 2.2 方法线性关系

分别取阿苯达唑代谢物标准工作液10 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL按照1.3步骤进行处理后进行检测,获得3种标示残留物的工作曲线和线性范围。

阿苯达唑亚砜在1.0~20 μg/L内,线性方程为Y=557X-10.2,线性系数R<sup>2</sup>为0.999 4;阿苯达唑砜在1.0~20 μg/L内,线性方程为Y=2 481X-157.0,线性系数R<sup>2</sup>为0.999 1;阿苯达唑-2-氨基砜在1.0~20 μg/L内,线性方程为Y=818X-110.7,线性系数R<sup>2</sup>为0.998 8。实验结果表明,在1.0~20 μg/L的范围内3种代谢物线性良好,线性系数均大于0.998 8。

### 2.3 方法回收率、精密度和检出限

在鲤鱼干样品中进行0.5、5.0和10.0 μg/kg 3个水平的加标回收实验,计算方法的回收率和精密度。方法的回收率和精密度结果如表3所示。方法中3种代谢物的回收率在93.4%~108.1%之间,精密度均小于7.13%。由于采用串联质谱进行检测,方法灵敏度明显提高,阿苯达唑3种代谢物的检出限可达到0.5 μg/kg。通过对空白鱼干样品的分析,色谱图中目标峰位置并未发现有明显的杂峰,表明方法基质干扰较少。阿苯达唑代谢物的样品加标色谱

图如图 1 所示。与目前使用较广泛的液相色谱方法<sup>[3-4]</sup>相比,本方法的回收率和灵敏度显著提高,基

质干扰少,可满足精确定量和痕量检测的要求。

表 3 样品中添加回收率及方法的精密度

Tab. 3 Results of recovery test and precision of the method from fortified samples

分析物	添加水平/( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	平均回收率/%,(n=6)	精密度/%,(n=6)	定量检出限/( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
阿苯达唑亚砜	0.5	93.4	4.58	
	5.0	96.5	4.46	
	10.0	98.3	4.25	
阿苯达唑砜	0.5	103.8	5.28	
	5.0	94.8	4.33	0.5
	10.0	96.2	4.79	
阿苯达唑 -2- 氨基砜	0.5	108.1	5.15	
	5.0	105.2	7.13	
	10.0	98.8	4.72	

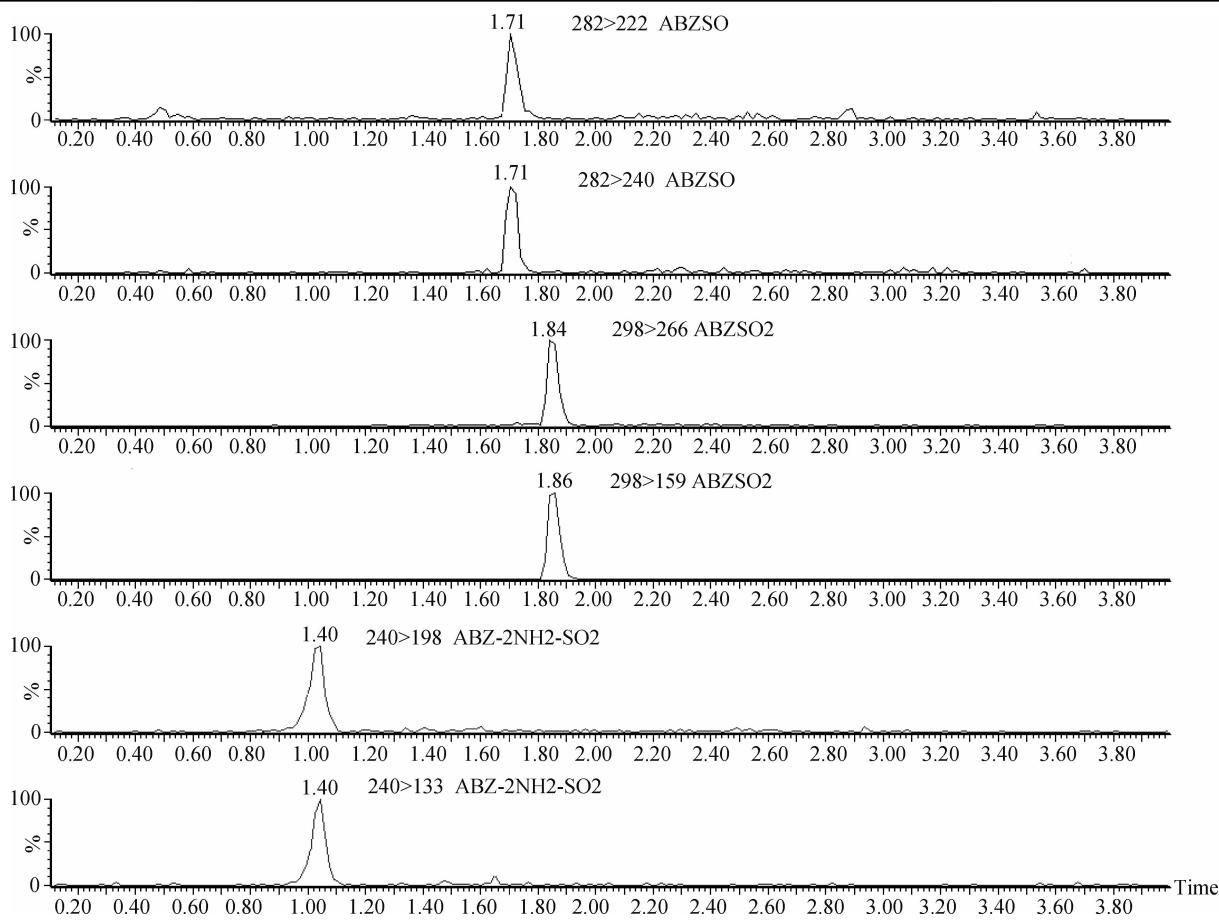


图 1 鱼干样品阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜、阿苯达唑 -2- 氨基砜加标  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  色谱图

Fig. 1 Chromatogram of dried fish sample spiked at  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

## 2.4 实际样品检测

利用本方法对从水产品市场上购得的鲤鱼干、青鱼干和草鱼干各 20 个样品进行检测,阿苯达唑 3 种

标示残留物阿苯达唑砜、阿苯达唑亚砜和阿苯达唑 -2- 氨基砜均为检出。由于阿苯达唑作为一种渔药,目前存在在水产养殖中使用的现象,因此可利用本方

法对鱼制品中阿苯达唑残留监测控制,以排查鱼制品中阿苯达唑代谢物的安全隐患。

### 3 结 论

实验建立了同时测定淡水鱼制品中阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜、阿苯达唑-2-氨基砜的高效液相色谱-串联质谱分析方法。鱼制品在碳酸钠溶液中均质后用乙酸乙酯提取,正己烷净化,获得了较好的提取效果;采用高效液相色谱进行色谱分离,串联四级杆质谱检测,保证了检测的准确度和可靠性;方法基质干扰小,灵敏度高,重现性好。方法可用于淡水鱼制品中阿苯达唑代谢物的检测和监控。

#### 参考文献:

- [1] Delatour P, Parish R. Benzimidazole anthelmintics and related compounds: Toxicity and evaluation of residues in drug residues in animals [M]. Orlando: Academic Press, 1986: 175 - 204.
- [2] 李荣, 苏晓晴, 张岩. 树脂相荧光光度法测定片剂中的阿苯达唑含量[J]. 天津商业大学学报, 2008, 3: 10 - 13.
- [3] 杜红鸽, 谭旭信, 方忠意, 等. 高效液相色谱法测定动物肌肉中的阿苯达唑及其代谢物[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(1): 52 - 55.
- [4] 黄毅, 闫明, 康爱荣. 高效液相法测定大鼠血浆中阿苯达唑及其代谢产物阿苯达唑亚砜的含量[J]. 中国新药杂志, 2010, 18(2): 177 - 180.
- [5] 付文焕, 施孝金, 王蓓, 等. RP-HPLC 测定人血浆中阿苯达唑及代谢物的浓度[J]. 中国药学杂志, 2009, 23: 1812 - 1814.
- [6] 于慧娟, 惠芸华, 黄冬梅, 等. 反相离子对液相色谱法测定欧洲鳗鲡体中丙硫咪唑及其代谢物的残留量[J]. 分析科学学报, 2008, 24(6): 673 - 676.
- [7] Msagati T, Nindi M. Comparative study of sample preparation methods; supported liquid membrane and solid phase extraction in the determination of benzimidazole anthelmintics in biological matrices by liquid chromatography - electrospray - mass spectrometry [J]. Talanta, 2006, 69(1): 243 - 250.
- [8] Bonato P, Oliveira A, Santana F, et al. Simultaneous determination of albendazole metabolites, praziquantel and its metabolite in plasma by high - performance liquid chromatography - electrospray mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44(2): 558 - 563.

## Determination of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone and albendazole aminosulfone in freshwater fish products

ZHANG Xiaojun<sup>1</sup>, CHEN Xuechang<sup>1</sup>, GUO Yuanming<sup>1</sup>, MEI Guangming<sup>1</sup>, YANG Huicheng<sup>2</sup>, ZHENG Bin<sup>2\*</sup>

(1. Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhejiang Province Key Lab of Mariculture & Enhancement, Zhoushan 316100, China; 2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316100, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (HPLC - MS/MS) method has been developed for the determination of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone and albendazole aminosulfone in freshwater fish products. The samples were extracted with sodium carbonate and ethyl acetate, then cleaned up by n-hexane. Chromatographic separation was achieved by HPLC and the detection was performed by tandem mass spectrometry. In the range of 1.04 - 20 μg/L, albendazole sulfoxide, albendazole sulfone and albendazole aminosulfone were in good linearity, and the correlation coefficients were greater than 0.998 8. The recoveries of the three analytes spiked at levels of 0.5 - 10.0 μg/kg, were 93.4% - 108.1%, the limit of quantization (LOQ) is 0.5 μg/kg, and the RSD was less than 7.13%. The method is sensitive, accurate and suitable for the quantitative analysis and supervision of albendazole metabolites in freshwater fish products. [Chinese Fishery Quality and Standards, 2011, 1(1): 60 - 63]

**Key words:** HPLC - MS/MS; albendazole sulfoxide; albendazole sulfone; albendazole aminosulfone

**Corresponding author:** ZHENG Bin. E-mail: zhengbin6@163.com