

邓润辉, 范丽萍, 刘希望, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪粪便中除虫脒的方法学研究 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (1): 56-64.

DENG R H, FAN L P, LIU X W, et al. Development of a method for determination of diflubenzuron in swine feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (1): 56-64.

液相色谱-串联质谱法检测猪粪便中除虫脒的方法学研究

邓润辉^{1,2}, 范丽萍², 刘希望², 秦哲², 白莉霞², 葛闻博²,
李世宏², 李剑勇², 董书伟^{1*}, 杨亚军^{1,2*}

(1. 榆林学院生命科学学院, 陕西 榆林 719000;

2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业农村部兽用药物创制重点实验室/甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 除虫脒 (DFB) 属于苯甲酰苯脒类化合物, 能够抑制昆虫及其幼虫的几丁质合成, 从而控制成虫的数量。为了解除虫脒预混剂混饲给药后, 猪粪便中药物的浓度, 以 DFB-¹³C₆ 为内标, 建立了猪粪便中 DFB 药物浓度的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 检测方法。以冰乙酸-乙腈提取粪便中的 DFB, 采用 QuEChERS 技术净化提取液, LC-MS/MS 测定, 内标法定量。结果显示, 猪粪便样品基质对于 DFB 的定量检测干扰较小, 检测方法灵敏度高, 检测限为 10 ng/g, 定量限为 20 ng/g; 检测方法的基质效应对样品的检测影响较小; 标准溶液在 2~500 ng/mL 的浓度范围内, 线性关系良好 ($R^2 \geq 0.99$); 在定量限 20 ng/g 及低浓度 (100 ng/g)、中浓度 (1 000 ng/g)、高浓度 (5 000 ng/g) 的添加水平下, 平均准确度在 93%~110%, 批内、批间变异系数均小于 10%, 符合方法学要求; 不同浓度加标样品处理后的溶液, 室温放置 24 h 稳定性良好, 但应避免样品的反复冻融。结果表明, 本试验建立的 LC-MS/MS 检测方法可用于猪粪便中 DFB 药物浓度的检测, 为后期开展除虫脒预混剂的临床试验提供了可靠方法。

关键词: 猪; 粪便; 除虫脒; 液相色谱-串联质谱法; 内标法

中图分类号: S859.79+5 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)01-0056-09

Development of a method for determination of diflubenzuron in swine feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

DENG Runhui^{1,2}, FAN Liping², LIU Xiwang², QIN Zhe², BAI Lixia², GE Wenbo²,
LI Shihong², LI Jianyong², DONG Shuwei^{1*}, YANG Yajun^{1,2*}

(1. College of Life Sciences, Yulin University, Yulin 719000, China;

2. Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences/
Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Development of Ministry of Agriculture and Rural Affairs/
Gansu Province Key Laboratory of New Animal Drug Project, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Diflubenzuron (DFB) belongs to benzoylphenyl ureas compounds, which inhibit the chitin synthesis and development of insect and their larvae. In order to investigate the concentration of DFB in swine feces after administration of diflubenzuron premix through mixed feeding, a method of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with DFB-¹³C₆ as the internal standard (IS) was developed to determine DFB in the feces. The DFB in swine feces samples was extracted by glacial acetic acid-acetonitrile, and the extracted solution was cleaned up by QuEChERS technology. The DFB was determined by LC-MS/MS and quantified using the internal standard method. The results showed that the matrix of swine feces had little interference with the quantitative detection of DFB, and the method had high sensitivity with a limit of detection of 10 ng/g and a limit of quantitation (LOQ) of 20 ng/g. The matrix effect of the method had little influence on the detection of the samples. The linearity was good ($R^2 \geq 0.99$) when the standard solutions were in the concentration range of 2 ng/mL to 500 ng/mL. The average accuracy of the method was between 93% and 110% and the intra-assay and inter-assay precisions were

收稿日期: 2023-02-28; 修回日期: 2023-11-07

基金项目: 甘肃省重点研发计划项目 (21YF5NA142); 榆林学院高层次人才科研启动项目 (18GK10)

第一作者: 邓润辉, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 杨亚军, 副研究员, 硕导, 研究方向: 兽医药理学, E-mail: yangyue10224@163.com; 董书伟, 副教授, 硕导, 研究方向: 牛羊普通病和中兽药防治研究, E-mail: dongshuwei2005@126.com。

both less than 10% when the spiked concentrations were at LOQ 20 ng/g, and at low (100 ng/g), medium (1000 ng/g) and high (5 000 ng/g) added concentrations. These results met the methodological requirements. The processed solution at different spiked concentrations had good stability when placed at room temperature for 24 h. However, repeated freeze-thaw of the sample should be avoided. The proposed method might be employed to determine DFB concentration in swine feces, which would provide a reliable method for future clinical trials of diflubenzuron premix.

Keywords: swine; feces; diflubenzuron; LC-MS/MS; internal standard

以家蝇 (*Musca domestica* L.) 为代表的蝇类卫生害虫适应性和繁殖力强, 在养殖场环境中易大量孳生, 并传播疾病、袭扰牲畜, 给生产、生活及周围环境造成较大影响^[1-2]。目前, 杀灭蝇类成虫的常见药物包括有机磷类、菊酯类等, 一般毒性较大。当前, 国内畜禽口服灭蝇蛆药仅有可用于鸡的环丙氨嗪 (cyromazine)^[3], 其可降解为三聚氰胺, 存在一定风险。因此, 在国内养猪业中, 高效、安全、便捷的口服灭蝇蛆药目前尚属空白。

20 世纪 70 年代, 人们在合成除草剂时, 意外发现苯甲酰苯脲类化合物可干扰节肢动物的发育, 进而将该类化合物开发成防治植物多种害虫及动物节肢类寄生虫的产品^[4-5]。除虫脲 (diflubenzuron, DFB) 就是第一个被开发出来的商业化产品, 因其对许多昆虫类害虫有杀灭特效, 并且因对人及环境中其他动物的低毒性而被广泛应用于农业^[6]、林业^[7]、畜牧业^[8-9]和卫生^[10]等领域的昆虫类害虫的防治。

几丁质是昆虫类动物外骨骼及其幼虫表皮的主要成分, 包括 DFB 在内的苯甲酰苯脲类杀虫剂, 可抑制几丁质的合成^[11-12]。不同于常规的动物用药物, DFB 混饲给药后在动物肠道内稳定^[13], 吸收较少, 大部分经粪便以原形排出^[14-15], 在体外发挥药效。孳生于粪便中的蝇蛆摄入 DFB 后, 其发育过程中的几丁质合成将被阻断, 故不能正常蜕皮、成蛹、羽化, 进而可达到控制养殖场中蝇类成虫数量的目的。在德国、巴西、美国等国家, 除虫脲已被批准添加于牛、猪、羊、马等动物饲料中, 用于控制养殖环境中蝇虫数量^[16-17]。因此, 检测动物粪便中 DFB 的浓度, 对于判定混饲给药剂量是否合理、预测药效等具有重要意义。

QuEChERS 法是一种提取样品中残留药物的前处理方法, 具有快速、简单、低成本、有效、可靠和安全等优点。将待测样品均质后, 加入有机溶剂提取, 无机盐促使有机溶剂盐析分层, 最后根据待测样品性质选择净化剂以吸附杂质、净化样品。目前, QuEChERS 法已广泛应用于农药、兽药残留的检测^[18-19]。本研究在粪便样品的前处理过程中采用了此方法, 结合液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS), 以 DFB-¹³C₆ 为内标, 参照《生物样品定量分析方法

验证指导原则》^[20]进行了方法学考察, 进而建立了猪粪便中 DFB 浓度的检测方法, 以期明确猪口服除虫脲预混剂后, 其活性成分 DFB 在粪便中的浓度, 进而结合体外药效试验结果, 制定较为合理的给药方案, 也将为日后的粪便存储和堆肥过程中待测物的降解规律研究提供检测技术。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Agilent 1200-6410A 液相色谱-串联三重四级杆质谱联用仪 (Agilent Technologies, 美国); 数据采集与处理软件为 MassHunter; 电子分析天平 (Sartorius, 德国), 感量分别为 0.000 01 g 和 0.001 g; Multifuge X3R 大容量低温离心机 (Thermo Scientific, 美国); Vortex-2 Genie 涡旋混合器 (Scientific Industries, 美国); KQ-600DE 超声波清洗器 (舒美, 中国昆山)。

1.2 药品与试剂

除虫脲标准品, 纯度 99.8%, 购于中国计量科学研究院, 批号 19001; 除虫脲内标 DFB-¹³C₆, 购于 WITEGA Laboratorien Berlin - Adlershof GmbH, 批号 31241403; 甲醇 (批号 213443)、甲酸铵 (批号 144753) 和甲酸 (批号 205775) 均购于 Fisher Scientific (质谱级); 乙腈 (批号 20210114)、无水乙酸钠 (批号 20210902) 和氯化钠 (批号 20181226) 均购于国药集团化学试剂有限公司 (分析纯); N-丙基乙二胺 (PSA, 批号 12213024) 和十八烷基硅胶 (C₁₈, 粒度 40 μm, 批号 12213012) 均购于安捷伦科技有限公司; 无水硫酸镁 (分析纯, 批号 20071219) 购于天津市巴斯夫化工有限公司; 冰乙酸 (分析纯, 批号 20171121) 购于天津市科密欧化学试剂有限公司; 二甲基亚砜 (DMSO, ACS Grade, 批号 520C032) 购于北京索莱宝科技有限公司。

1.3 溶液制备

DFB 标准储备液: 精密称取除虫脲标准品 (99.8%) 10 mg, 加入 1 mL DMSO, 水浴超声, 以使完全溶解, 完全转入 10 mL 量瓶中, 以质谱级甲醇稀释并定容至刻度, 即为质量浓度为 1 mg/mL 的标准储备液, -20 °C 存放。移取 DFB 标准储备液, 以 10% DMSO 甲醇溶液稀释至相应浓度, 作为中间标准

储备液及标准工作溶液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放。

DFB- $^{13}\text{C}_6$ 标准储备液: 称取 DFB- $^{13}\text{C}_6$ 约 5 mg, 以 10% DMSO 甲醇溶解并定容至 10 mL, 配制成质量浓度为 0.5 mg/mL 的标准储备液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放。以 10% DMSO 甲醇溶液稀释成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作溶液。

0.1% 冰乙酸乙腈: 取冰乙酸 1 mL, 以乙腈稀释至 1 000 mL, 混匀, 宜现用现配。

10% DMSO 甲醇溶液: 取 DMSO 10 mL, 以质谱级甲醇稀释至 100 mL, 混匀。

1.4 猪粪便样品的处理

称取粪便样品 2 g ($\pm 0.02\text{ g}$) 于 50 mL 离心管, 加入浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 DFB- $^{13}\text{C}_6$ 内标工作溶液 10 μL , 加入 2 mL 水, 涡旋 2 min, 以使粪便样品完全分散, 加入 10 mL 0.1% 冰乙酸乙腈溶液, 加入 1 g 无水乙酸钠和 2 g 氯化钠, 涡旋混匀 2 min, 室温下水浴超声处理 30 min (40 kHz), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下 4 500 g 离心 10 min; 移取 1 mL 上层清液, 加入 1 mL 乙腈, 于装有 0.05 g PSA、0.1 g C_{18} 和 0.15 g 无水硫酸镁的 15 mL 离心管中净化, 涡旋 1 min, 4 500 g 离心 2 min, 上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 进行 LC-MS/MS 测定。

1.5 色谱条件

色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 柱 (3 mm \times 50 mm, 1.8 μm) (Agilent Technologies, 美国); 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 5 mmol/L 甲酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱程序见表 1; 流速为 0.4 mL/min; 柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量为 10 μL 。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	15	85
2	15	85
3	90	10
4	90	10
4.5	15	85
6	15	85

1.6 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 毛细管电压为 +4 000 V; 喷雾器压力为 30 psi; 干燥气温度 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$, 干燥气流量 (氮气) 为 10 L/min; 电子倍增器电压增加值 (ΔEMV) 为 +300 V, 采用多离子反应监测模式 (MRM) 进行检测。MRM 参数见表 2^[21]。

表 2 优化后的 MRM 参数及特征离子对

分析物	母离子 (m/z)	MS1 峰宽	子离子 (m/z)	MS2 峰宽	驻留时间/ms	碎裂电压/V	碰撞能量/eV	极性
DFB	311.1	unit	158.1*	unit	100	80	11	正离子
DFB	311.1	unit	141.1	unit	100	80	13	正离子
DFB- $^{13}\text{C}_6$	317.1	unit	158.1*	unit	100	84	10	正离子
DFB- $^{13}\text{C}_6$	317.1	unit	141.1	unit	100	84	12	正离子

注: * 定量离子, 下同。

1.7 方法学验证

1.7.1 选择性

取不同猪场及猪舍的空白猪粪便样品, 加入 10 μL 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作液后, 依 1.4 项下的方法进行处理、检测, 记录目标分析物的色谱图, 以考察不同来源的基质对 DFB 检测的干扰。

1.7.2 定量下限

称取空白猪粪便样品, 加入 10 μL 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的内标和 100 μL 浓度分别为 0.2 和 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 的 DFB 标准工作溶液, 涡旋混匀, 制备成对应浓度的 DFB 加标样品, 依 1.4 项下的方法进行处理、检测, 记录色谱图, 计算 DFB 定量离子的信噪比 (SNR), 结合准确度及精密度试验结果, 以确定

方法的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)。

1.7.3 基质效应

称取空白猪粪便样品, 加入 2 mL 水, 依 1.4 项下的方法进行处理, 移取 1 mL 上清液, 加入 1 mL 乙腈; 加入 10 μL 浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作液, 加入 10 μL 浓度分别为 0.4 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 DFB 标准工作溶液并净化, 配制低、高浓度水平的处理样品, 每个浓度 6 个平行, 依前法进行检测, 与相应浓度标准溶液的定量离子峰面积进行比较, 分别计算 DFB 及内标的基质因子, 进而计算经内标归一化的基质因子^[20]。考察 6 批不同来源的空白猪粪便样品, 以评价方法的基质效应。

1.7.4 线性范围

准确移取标准储备液适量,以乙腈为溶剂,配制DFB浓度分别为1 ng/mL至500 ng/mL(对应的加标样品浓度为10 ng/g至5 000 ng/g),内标浓度均为50 ng/mL的系列浓度混合标准工作溶液,依前法进行LC-MS/MS检测,以DFB与内标浓度的比值为横坐标(x),以DFB与内标的定量离子的峰面积比值为纵坐标(y),选取合适的加权方式,进行线性回归。

1.7.5 准确度和精密度

称取空白猪粪便样品,加入10 μ L浓度为100 μ g/mL的内标和100 μ L浓度分别为0.2、0.4、2、20、100 μ g/mL的DFB标准工作溶液,配制成DFB浓度分别为10 ng/g(LOD)、20 ng/g(LOQ)及100 ng/g(低)、1 000 ng/g(中)和5 000 ng/g(高)不同添加水平的猪粪便加标样品,依1.4项下的方法进行处理、检测。每个浓度6个平行,考察方法的准确度、精密度在批内及批间的变异情况。以随行标准曲线计算样品中待测物的浓度;对于接近定量限的样品,在必要时可采用单点校正法计算待测物浓度。

1.7.6 样品稳定性

称取空白猪粪便样品,加入10 μ L浓度为100 μ g/mL的内标工作液和100 μ L浓度分别为0.4和100 μ g/mL的DFB标准工作溶液,制备成添加浓度分别为20 ng/g和5 000 ng/g的DFB加标样品;将此于-20 $^{\circ}$ C冻存后,室温下融化,反复3次,考察冻融稳定性;将样品处理后,进样前于室温条件下放置24 h,以考察样品处理液的稳定性。

2 结果与分析

2.1 方法的选择性

对DFB及内标的标准溶液(图1)、不同来源的空白猪粪便样品(图2)、空白猪粪便加标样品(图3)以及给药后的实际样品(图4)等进行处理并检测。如图2e所示,在DFB定量离子出峰的位置(保留时间 R_t 为5.08 min),空白基质出现了较小的干扰;但其响应低于待测物DFB定量下限20 ng/g定量离子响应的20%(图5b),符合方法学要求^[20]。表明该方法选择性好,猪粪便基质对DFB的干扰在定量检测可接受的范围内。

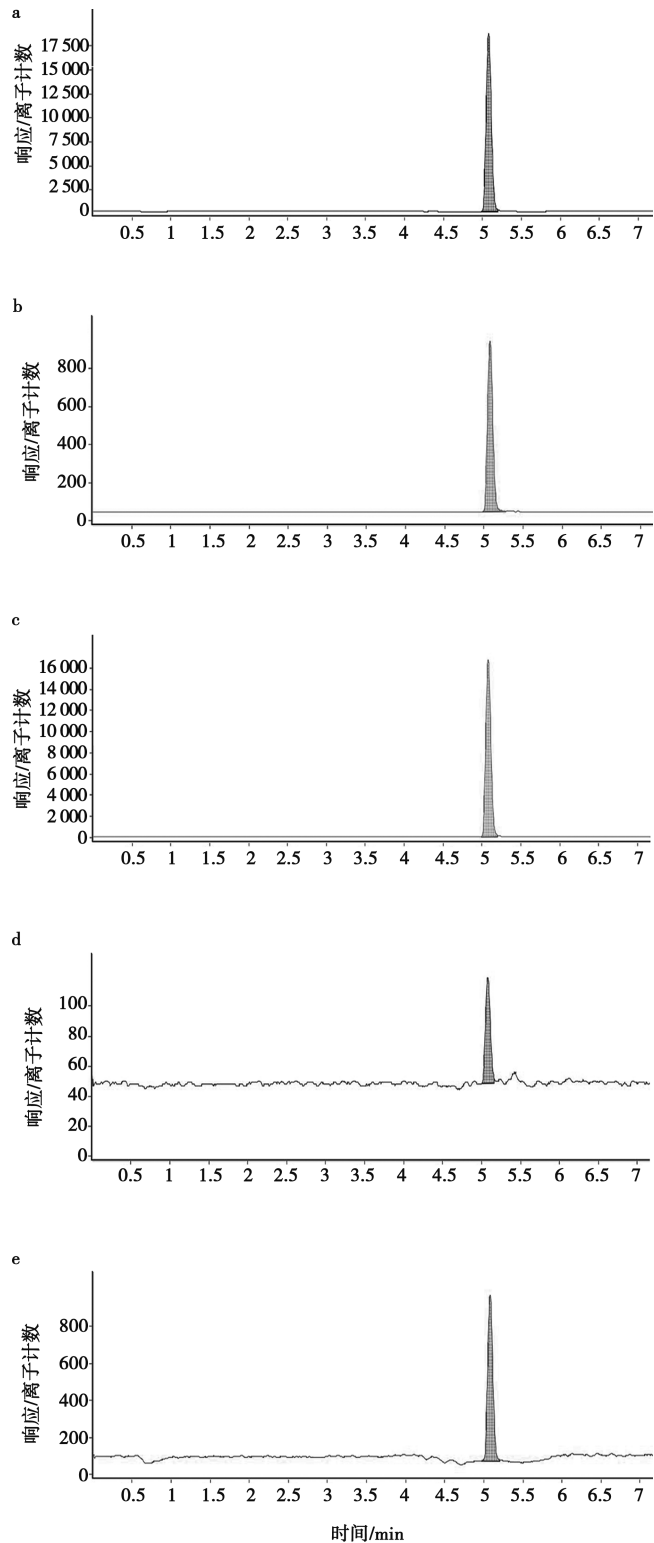
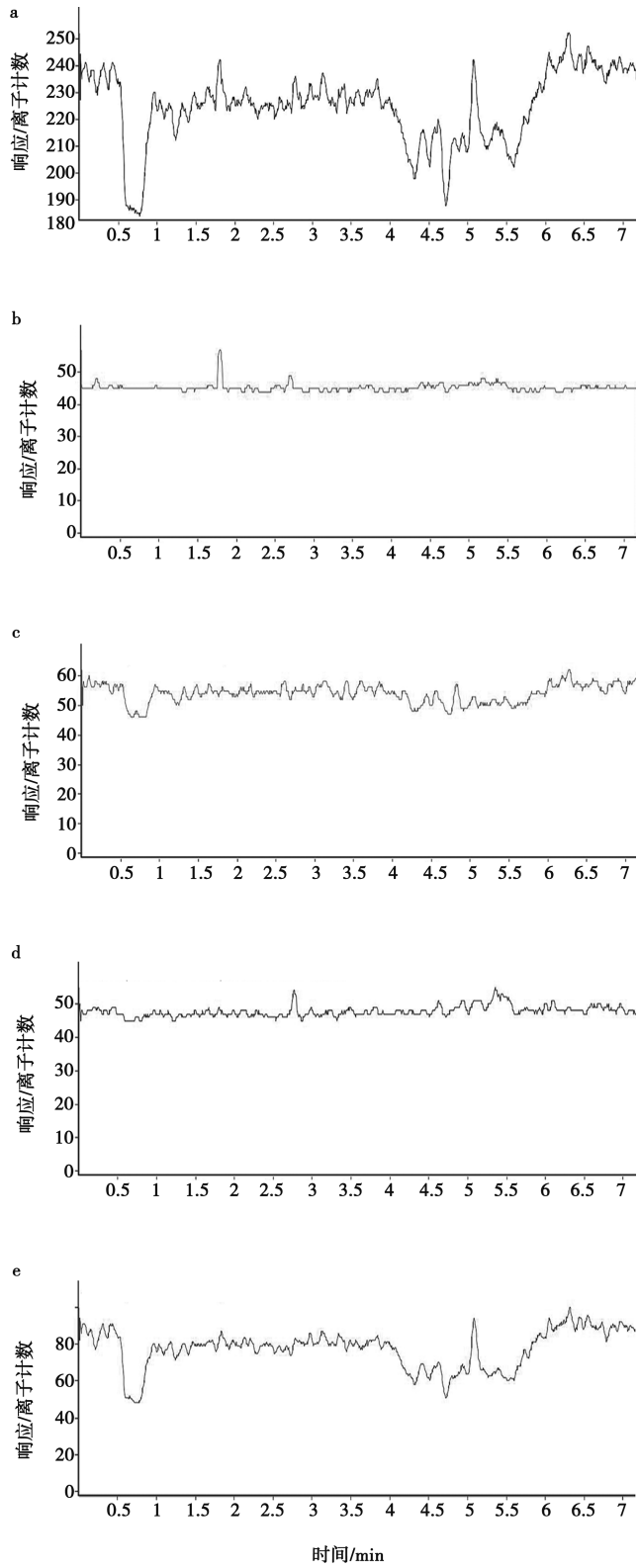


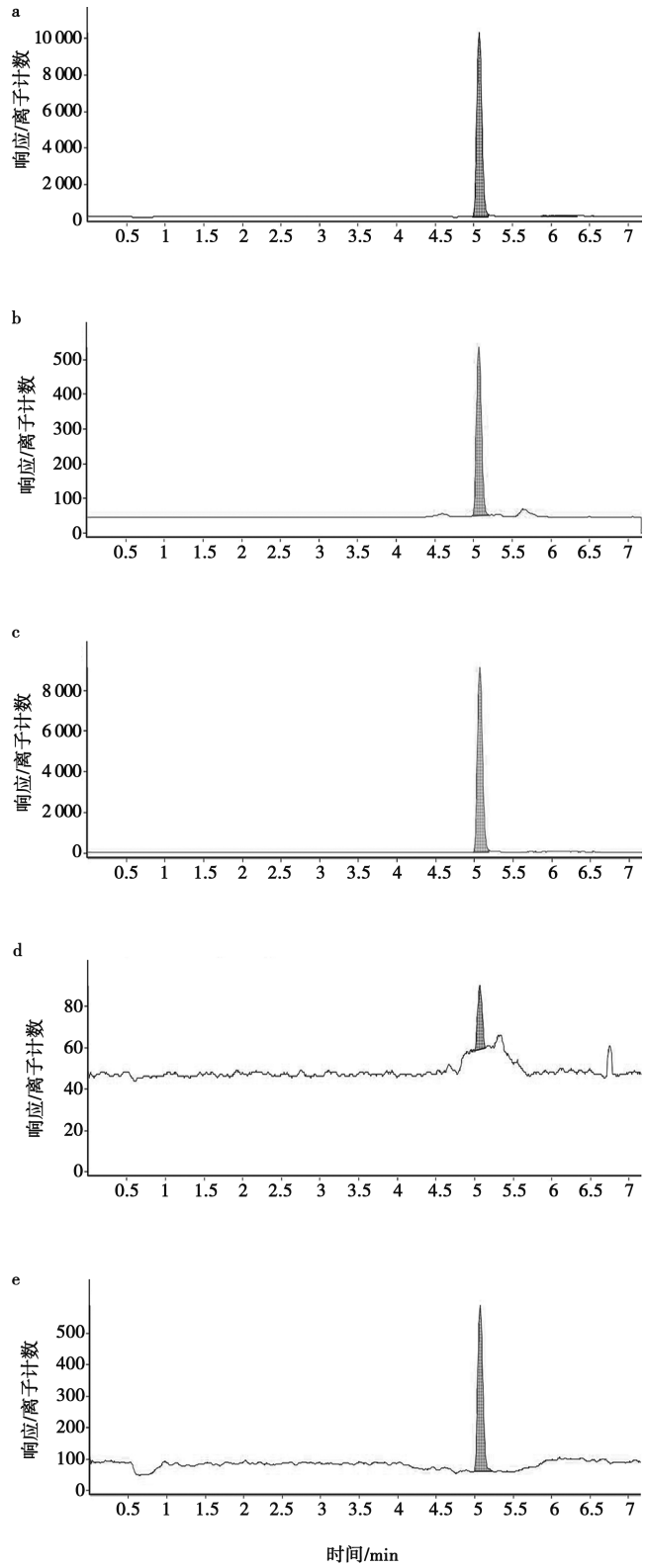
图1 DFB及DFB-¹³C₆标准溶液的MRM色谱
a. 总离子流图 TIC; b. 317.10→141.10; c. 317.10→158.10*;
d. 311.10→141.10; e. 311.10→158.10*。

图1 DFB及DFB-¹³C₆标准溶液的MRM色谱



a . TIC; b. 317.10→141.10; c. 317.10→158.10* ; d. 311.10→141.10; e. 311.10→158.10* 。

图2 空白猪粪便的代表性 MRM 色谱



a. TIC; b. 317.10→141.10; c. 317.10→158.10* ; d. 311.10→141.10; e. 311.10→158.10* 。

图3 加 DFB 及 DFB-¹³C₆空白猪粪便的 MRM 色谱 (20 ng/g)

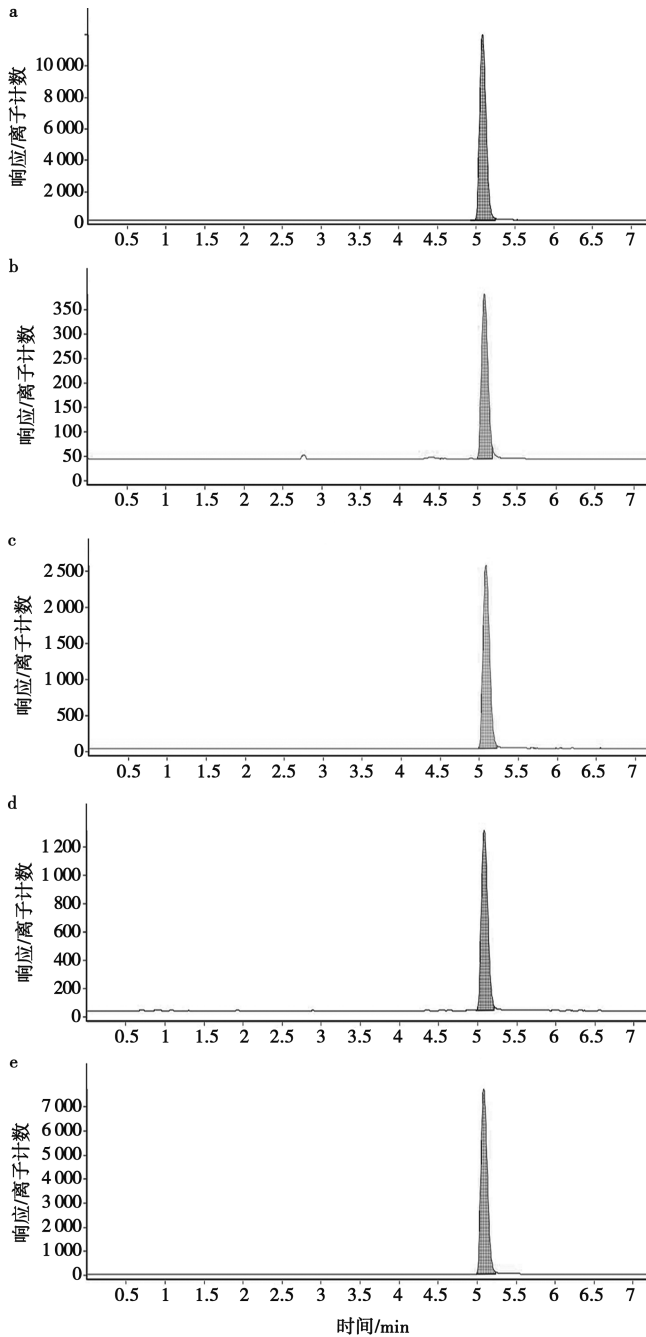


图4 以推荐剂量给药后猪粪便实际样品的代表性检测图谱
a. TIC; b. 317.10→141.10; c. 317.10→158.10^{*}; d. 311.10→141.10; e. 311.10→158.10^{*}。

图4 以推荐剂量给药后猪粪便实际样品的代表性检测图谱

2.2 定量下限

当空白猪粪便中DFB的添加浓度分别为10 ng/g和20 ng/g时,采用前述的样品处理及检测方法,DFB定量离子的SNR(以峰高对峰高的方式计算)分别大于3和10,符合定性和定量检测的要求。典型的检测图谱见图5。

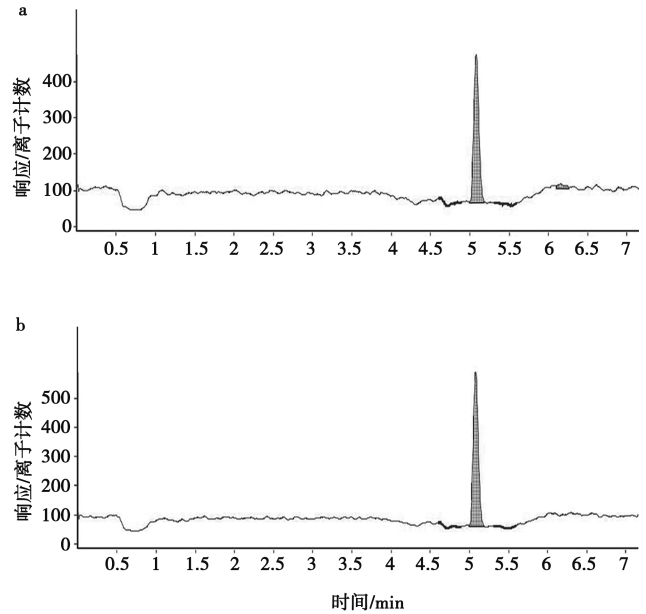


图5 猪粪便中DFB检测灵敏度的代表性MRM色谱图
a. LOD 10 ng/g, Rt 5.08 min, SNR 19.4; b. LOQ 20 ng/g, Rt 5.08 min, SNR 25.1。

图5 猪粪便中DFB检测灵敏度的代表性MRM色谱图

2.3 基质效应

基质效应的考察结果如表3所示。结果显示,方法的平均基质效应在97%~108%之间,且基质效应的批内和批间变异系数均小于10%,符合定量检测要求^[20]。

表3 DFB在猪粪便的基质效应考察结果

添加水平	添加浓度/ (ng · g ⁻¹)	批次	批内 (n=6)		批间 (n=36)	
			基质效应/%	RSD/%	基质效应/%	RSD/%
LOQ	20	1	97.83±0.87	0.89	102.77±3.83	3.72
		2	104.44±2.14	2.05		
		3	107.14±2.99	2.79		
		4	100.58±2.84	2.83		
		5	103.17±2.18	2.12		
		6	103.55±3.33	3.22		

续表3

添加水平	添加浓度/ (ng · g ⁻¹)	批次	批内 (n=6)		批间 (n=36)	
			基质效应/%	RSD/%	基质效应/%	RSD/%
定量上限	5 000	1	101.38±1.39	1.37	102.04±5.47	5.36
		2	98.13±1.04	1.06		
		3	99.29±4.90	4.94		
		4	107.09±3.78	3.53		
		5	102.27±7.60	7.43		
		6	104.05±6.83	6.57		

2.4 线性范围

依据基质效应的考察结果,本方法采用了系列浓度的DFB标准溶液,制备标准曲线。

结果表明,以 $1/x$ 为权重,进行加权线性回归,在2~500 ng/mL的浓度范围内,相应的加标样品的浓度范围为20~5 000 ng/g,呈良好的线性关系,代表性的标准曲线方程为: $y=1.3689x+7.1565 \times 10^{-4}$, $R^2=0.9994$,标准曲线见图6。

2.5 准确度和精密度

如前所述,当猪粪便中DFB的浓度分别为10 ng/g和20 ng/g时,定量离子的SNR分别满足定性和定量检测的要求。因此,空白猪粪便样品中DFB的添加浓度分别为10、20、100、1 000和5 000 ng/g,以考察方法的准确度和精密度。

如表4所示,本方法的批内和批间平均准确度在93%~110%之间,批内和批间精密度均小于10%,满足定量检测的要求。

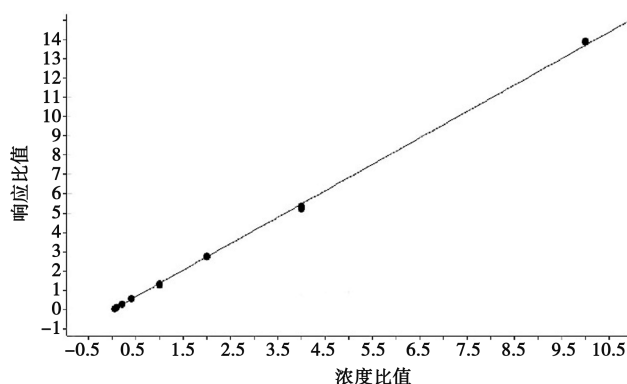


图6 DFB标准曲线

表4 DFB在猪粪便中的准确度与精密度

添加水平	添加浓度/ (ng · g ⁻¹)	批次	批内 (n=6)		批间 (n=18)	
			准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%
LOD	10	1	101.26±9.80	9.68	102.27±7.96	7.79
		2	97.40±1.54	1.58		
		3	108.14±6.78	6.27		
LOQ (定量下限)	20	1	104.75±7.53	7.19	104.92±5.94	5.66
		2	100.38±2.96	2.95		
		3	109.65±1.69	1.54		
低	100	1	99.03±7.05	7.12	99.76±4.60	4.61
		2	99.54±3.13	3.15		
		3	100.72±3.24	3.22		
中	1 000	1	97.32±7.06	7.25	96.06±5.06	5.27
		2	97.11±4.19	4.32		
		3	93.76±3.21	3.42		
高 (定量上限)	5 000	1	105.68±7.40	7.01	102.69±5.69	5.54
		2	102.35±5.06	4.95		
		3	100.03±3.21	3.21		

2.6 稳定性

加标样品的冻融稳定性及处理后的稳定性试验结果见表5。结果显示,加标样品经过多次冻融后,含量会发生较明显的下降,提示在实际检测过程中应避免样品反复冻融;而处理后的样品,在室温条件下存放24 h后,其含量变化不显著。

表5 样品稳定性考察结果

存放条件	添加水平	添加浓度/ (ng · g ⁻¹)	稳定性/% (n=6)	RSD/%
加标样品	LOQ	20	90.21±7.11	7.88
冻融3次	定量上限	5 000	84.10±6.09	7.24
处理液室温 放置24 h	LOQ	20	109.47±3.21	2.93
	定量上限	5 000	97.69±6.70	6.86

3 讨论

除虫脲的作用机理同三嗪类杀蝇蛆药环丙氨嗪相似^[22],在动物的胃肠道内性质稳定,吸收较少,主要以原形同粪便排出体外^[13-15];孳生于粪便中的蝇蛆摄入药物后,其几丁质合成受到抑制,致其不能完成蜕皮而发育受阻,终形成畸形蛹而不能羽化为成虫,或直接导致幼虫死亡。

生物样本中DFB的残留量检测方法主要有液相色谱-紫外检测法^[17, 23]、LC-MS/MS^[24-26]。LC-MS/MS具有检测灵敏度高、化学干扰较少等优点,其使用范围日趋广泛;食品安全国家标准GB 23200.45—2016即采用LC-MS/MS法检测谷物、水果、蔬菜及动物性食品中的DFB残留量^[26]。

在包括动物性食品在内的食品农/兽药残留检测过程中,QuEChERS技术在样品的提取与净化中应用越来越广泛^[18-19];同样,不同基质的样品中,DFB残留检测也多采用QuEChERS技术进行前处理^[24, 26]。因此,本研究在参考GB 23200.45—2016的基础上,采用QuEChERS技术对猪粪便样品进行前处理。

内标法是一个相对定量校正法,前处理、分离、检测条件对定量结果影响不如外标法敏感;内标法可避免定量进样带来的不确定因素,故可获得高定量准确度和精密度。在LC-MS/MS的分析过程中,采用稳定同位素内标,可有效降低前处理过程中以及LC-MS/MS在喷雾、离子化效率等方面的差异与不确定性,提高检测结果的准确度和精密度,同时可在一定程度上简化前处理过程,在定量检测中具有无可比拟的优势^[27]。

综上,本研究联合采用了QuEChERS技术及同位素内标法,简化了样品前处理过程,省去了样品重

复提取、常规的固相萃取净化、浓缩等过程,减少了有机溶剂的使用量,降低了可能存在的基质效应,提高了方法的准确度和精密度。结果显示,基质背景对DFB的检测干扰较小,方法的选择性、灵敏度、基质效应以及准确度和精密度等均符合定量检测的方法学要求^[20],适用于猪粪便中DFB浓度的检测,可用于除虫脲预混剂混饲给药后粪便中活性成分DFB的定量检测。

参考文献:

- [1] 阎晓菲, 马玉辉, 任晓艺, 等. 影响伊犁昭苏地区肠胃蝇产卵因素的研究 [J]. 中国动物传染病学报, 2019, 27 (2): 55-60.
- [2] 胡成波, 张寿慧. 猪场蚊蝇的危害及综合防控措施 [J]. 养猪, 2009 (3): 77-78.
- [3] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准: 化学药品卷 (2017年版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 112-115.
- [4] SUN R, LIU C, ZHANG H, et al. Benzoylurea chitin synthesis inhibitors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63 (31): 6847-6865.
- [5] JUNQUERA P, HOSKING B, GAMEIRO M, et al. Benzoylphenyl ureas as veterinary antiparasitics. An overview and outlook with emphasis on efficacy, usage and resistance [J]. Parasite, 2019, 26: 26.
- [6] 张怡, 钱忠海, 刘琴, 等. 除虫脲防治季节性栽培双孢蘑菇菇蚊蝇效果初探 [J]. 农药, 2017, 56 (7): 521-523.
- [7] 闫家河, 杨启萌, 高佳敏, 等. 20%除虫脲飞防美国白蛾长效持效期观察试验 [J]. 山东林业科技, 2022, 52 (3): 69-71.
- [8] BARKER R W, JONES R L. Inhibition of larval horn fly development in the manure of bovines fed Dimilin[®] mineral blocks [J]. Journal of Economic Entomology, 1976, 69 (4): 441-443.
- [9] FOURIE L J, KOK D J, ALLAN M J, et al. The efficacy of diflubenzuron against the body louse (*Damalinea limbata*) of Angora goats [J]. Veterinary Parasitology, 1995, 59 (3/4): 257-262.
- [10] 开文龙, 师灿南, 赵春春, 等. 除虫脲对登革热媒介伊蚊拟除虫菊酯类抗性种群的作用效果研究 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2018, 29 (2): 126-129.
- [11] HAJJAR N P, CASIDA J E. Insecticidal benzoylphenyl ureas: structure - activity relationships as chitin synthesis inhibitors [J]. Science, 1978, 200 (4349): 1499-500.
- [12] MARX J L. Chitin synthesis inhibitors; new class of insecticides [J]. Science, 1977, 197 (4309): 1170-1172.
- [13] 陶琦, 徐玉珍, 秦哲, 等. 除虫脲在人工胃/肠液和肠道菌群及生物样品中的稳定性研究 [J]. 西北农业学报, 2021, 30 (9): 1271-1278.
- [14] WILLEMS A G, OVERMARS H, SCHERPENISSE P, et al. Diflubenzuron: intestinal absorption and metabolism in the rat [J]. Xenobiotica, 1980, 10 (2): 103-112.
- [15] OPDYCKE J C, MILLER R W, MENZER R E. Metabolism and fate of diflubenzuron in swine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982, 30 (6): 1223-1227.
- [16] Central Life Sciences. SDS/Specimen labels, ClariFly[®] larvicide premix 0.67%, specimen label [EB/OL]. [2023-04-10]. <https://www.centralflycontrol.com/sds-labels>.

- [17] TFOUNI S A V, FURLANI R P Z, CARREIRO L B, et al. Determination of diflubenzuron residues in milk and cattle tissues [J]. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2013, 65 (1): 301-307.
- [18] 刘权辉, 王彤彤, 王敏, 等. QuEChERS 在动物源食品药物残留前处理方法的进展 [J]. 化学试剂, 2020, 42 (12): 1424-1429.
- [19] 刘远晓, 关二旗, 卞科, 等. QuEChERS 法在食品有机污染物检测中的研究进展 [J]. 食品科学, 2017, 38 (19): 294-300.
- [20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (四部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 466-471.
- [21] 徐玉珍, 刘希望, 秦哲, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪血浆中除虫脲的方法学研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49 (7): 2746-2756.
- [22] 卜仕金, 王志强, 蒋志伟, 等. 环丙氨嗪混饲控制鸡粪中家蝇繁殖的试验 [J]. 中国兽医杂志, 2003, 39 (3): 47.
- [23] LUVIZOTTO-SANTOS R, CORDEIRO P J, VIEIRA E M. Analysis of diflubenzuron in tilapia filet by HPLC-DAD [J]. Journal of Chromatographic Science, 2009, 47 (9): 785-788.
- [24] 刘亿婕. QuEChERS/LC-MS/MS 法测定三文鱼中除虫脲残留 [J]. 食品工业, 2021, 42 (12): 436-440.
- [25] 刘锦霞, 王美玲, 黄志强, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 10 种苯甲酰脲类杀虫剂 [J]. 分析实验室, 2010, 29 (9): 39-43.
- [26] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业部, 中华人民共和国国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中除虫脲残留量的测定 液相色谱-质谱法: GB 23200.45—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [27] 杜晓琳, 黄娟, 刘小娟, 等. 内标在 LC-MS 法生物样品分析中的相关问题探讨 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27 (2): 138-141.



北京大学图书馆
PEKING UNIVERSITY LIBRARY

《中文核心期刊要目总览》2023年版入编通知

《畜牧与兽医》主编先生/女士:

我们谨此郑重通知: 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、统计和分析, 以及学科专家评审, 贵刊《畜牧与兽医》入编《中文核心期刊要目总览》2023年版 (即第10版) 之畜牧、动物医学、狩猎、蚕、蜂(除草学、草原学)类的核心期刊。

《中文核心期刊要目总览》2023年版从2021年10月开始研究, 研究工作由北京大学图书馆主持, 共 32 个单位的 148 位专家和工作人员参加了本项研究工作, 全国各地 9473 位学科专家参加了核心期刊表的评审工作。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出 1987 种核心期刊。

评选核心期刊的工作是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动。该研究成果只是一种参考工具书, 主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考, 例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等, 不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

编号: 2023-J2688

《中文核心期刊要目总览》

2023年版编委会

图书馆

T 01061604941

