



## 新型改良 QuEChERS 前处理技术联合 UPLC-MS/MS 监测几种常见养殖水产品中抗生素的残留

徐雪姣<sup>1</sup>, 黄程<sup>2</sup>, 杨加成<sup>3</sup>, 戴志远<sup>3</sup>, 郑振霄<sup>3\*</sup>

(1. 浙江树人学院生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015;

2. 绿城农科检测技术有限公司, 浙江 杭州 310052;

3. 浙江工商大学海洋食品研究院, 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室,  
海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 浙江 杭州 310012)

**摘要:** 为提高养殖水产品中抗生素的检测效率, 本研究以新型石墨烯/碳纳米管复合材料为吸附剂, 采用 QuEChERS 前处理, 联合 UPLC-MS/MS 技术实现了不同养殖水产品中 28 种抗生素残留的同时检测。通过加标回收率研究了不同提取溶剂、不同种类吸附剂及添加量对养殖水产品中抗生素检测效率的影响, 并确定了最佳的 QuEChERS 操作参数。然后, 根据食品法典指南 (CAC/GL-71) 进行方法学验证, 性能指标包括线性、检测限、定量限、基质效应、回收率、日内精密度和日间精密度等。结果显示, 当以乙腈: 甲醇 (75: 25, 体积比) 为提取剂, 吸附剂的添加量为 10 mg 时, 石墨烯/碳纳米管复合纳米材料的吸附效果最佳。此时, 所建立技术方法的线性良好 ( $R^2 > 0.99$ ), 检出限为 0.06~1.42  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限为 0.20~4.72  $\mu\text{g/kg}$ , 多数抗生素 [磺胺二甲异恶唑 (SIA)、磺胺喹恶啉 (SQX)、丹诺沙星 (DAN)、洛美沙星 (LOM) 除外] 基质效应较低 ( $< 10\%$ )。在 5~100  $\mu\text{g/kg}$  的添加水平下, 平均回收率为 80.1%~100.4%。日内精密度  $< 10.3\%$ , 日间精密度  $< 13.4\%$ 。将该方法应用于草鱼、大口黑鲈、凡纳滨对虾、中华绒螯蟹和厚壳贻贝中 28 种抗生素的检测, 结果显示所建立的方法重复性好, 灵敏度高, 适用于常规检测。研究表明, 石墨烯/碳纳米管复合纳米材料可以较好地吸附养殖水产样品中的共提取杂质, 提高养殖鱼肉中抗生素的检测效率, 在水产品质量安全控制方面具有较好的应用前景。

**关键词:** 养殖水产品; 石墨烯; 多壁碳纳米管; QuEChERS; UPLC-MS/MS; 抗生素

**中图分类号:** S 98; TS 254.7

**文献标志码:** A

水产品是人类膳食的重要组成部分, 相比于其他畜禽产品, 水产品具有脂肪含量低、蛋白含量高、易消化等特点, 深受消费者的青睐<sup>[1-2]</sup>。按照来源, 水产品可分为捕捞水产品 and 养殖水产品两大类。近年来, 伴随海洋污染的加剧以及海洋资源的衰退, 水产养殖业日益兴隆<sup>[3]</sup>。据报道, 2020 年全

球水产养殖产量达到 1.226 亿 t, 其中, 中国达到了 5 224 万 t, 居世界首位<sup>[4]</sup>。在水产养殖的过程中, 适量抗生素的添加可以提高水产品的成活率及养殖效率。然而, 抗生素通常具有性质稳定、半衰期较长及不易降解的特点。滥用抗生素不仅会对环境造成直接污染, 还可能在鱼体内积累,

收稿日期: 2024-01-21 修回日期: 2024-03-23

资助项目: 浙江省自然科学基金 (LQ22C200008, LQ22C200010); 浙江树人学院省属高校基本科研业务费专项 (2022XZ008)

第一作者: 徐雪姣 (照片), 从事食品检测方法研究, E-mail: xuxuejiao@zjsru.edu.cn

通信作者: 郑振霄, 从事水产品加工与贮藏研究, E-mail: zzz@zjgsu.edu.cn



通过食物链蓄积传递给人类, 危害人类健康。因此, 对养殖水产品中抗生素残留的监控一直是食品安全的重要内容<sup>[5]</sup>。

对于养殖水产品中抗生素的检测, 常用的有电化学法、酶联免疫吸附法、高效液相色谱法以及液质联用法等。其中, 液质联用法具有准确度高、重现性好等优点, 被广泛应用。然而, 该方法对样品前处理的要求较高, 能否高效提取目标物, 并尽可能地去掉基质干扰是保障检测效率的关键<sup>[6]</sup>。2003年, Anastassiades等<sup>[7]</sup>提出了一种新型的样品前处理方法-QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe), 该方法简化了繁琐的萃取步骤, 扩大了萃取药物的范围, 缩短了前处理的时间, 被广泛应用于兽药检测的前处理。Shen等<sup>[8]</sup>采用QuEChERS结合96孔板固相萃取技术对养殖草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 肉进行了前处理, 并采用UPLC-MS/MS技术实现了草鱼肉中万古霉素的定性定量检测。Campanharo等<sup>[9]</sup>开发了基于分散液微萃取改良的QuEChERS前处理方法, 并通过LC-MS/MS技术实现了鱼肉中红霉素残留量的定量检测。这些研究对于养殖鱼类中抗生素的监测具有一定的参考价值。然而, 目前多数研究方法仅针对某种水产品中的某些抗生素的检测, 但水产品种类繁多, 养殖过程中可能涉及多种抗生素的使用。因此, 开发一种可实现不同水产中多种抗生素同时检测的方法很有必要。

本研究以新型吸附剂-石墨烯/多壁碳纳米管改良的QuEChERS技术为样品的前处理程序, 结合UPLC-MS/MS技术, 建立了同时实现5类(磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类和四环素类) 28种抗生素的定性定量检测方法, 并通过计算相应的加标回收率、检出限和定量限、基质效应、日内精密度、日间精密度进行方法学评估。之后, 将该方法应用到草鱼、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)、中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 和厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 等几种典型养殖水产品中抗生素的检测, 用以监测养殖水产品的质量并保障消费者的健康。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

草鱼、大口黑鲈、凡纳滨对虾、中华绒螯蟹和厚壳贻贝购于杭州某水产市场。高锰酸钾、盐

酸、浓硫酸 (> 98%)、硝酸钠、30 wt% 过氧化氢、水合肼、无水硫酸镁、氯化钠 (分析纯), 杭州汇普化工仪器有限公司。甲醇、乙腈、甲酸和乙酸 (色谱纯), 德国默克公司。石墨烯 (粒径小于30 μm, 含碳量> 98%), 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。多壁碳纳米管 (纯度 98%, 直径 40~60 nm, 长度 5~15 μm, 含碳量 98%), 深圳纳米港有限公司。丙基乙二胺 (primary secondary amine, PSA) (粒径 40~60 μm), Agela 科技有限公司; C<sub>18</sub> (10 μm), 天津博纳艾杰尔科技有限公司。磺胺类: 磺胺氯吡嗪 (sulfachloropyridazine, SPDZ)、磺胺噻唑 (sulfathiazole, ST)、磺胺邻二甲氧嘧啶 (sulfadimoxine, SDM)、磺胺甲氧吡嗪 (sulfamethoxypyridazine, SMP)、磺胺二甲异恶唑 (sulfisoxazole, SIA)、磺胺二甲嘧啶 (sulfadimidine, SM2)、磺胺二甲异嘧啶 (sulfisomidine, SIM2)、磺胺吡啶 (sulfapyridine, SPD)、磺胺喹恶啉 (sulfaminoxaline, SQX)。喹诺酮类: 环丙沙星 (ciprofloxacin, CIP)、丹诺沙星 (danofloxacin, DAN)、双氟沙星 (difloxacin, DIF)、奥比沙星 (orbifloxacin, ORB)、恩诺沙星 (enrofloxacin, ENR)、诺氟沙星 (norfloxacin, NOR)、氧氟沙星 (ofloxacin, OFL)、沙拉沙星 (sarfloxacin, SAR)、氟罗沙星 (fleroxacin, FLE)、依诺沙星 (enoxacin, ENO)、司帕沙星 (sparfloxacin, SPA)、洛美沙星 (lomefloxacin, LOM)、培氟沙星 (pefloxacin, PEF)。大环内酯类: 阿奇霉素 (azithromycin, AZI)、红霉素 (erythromycin, ERY)、罗红霉素 (roxithromycin, ROM)、替米考星 (tilmicosin, TIL)。四环素类: 土霉素 (oxytetracycline, OTC)。林可酰胺类: 林可霉素 (lincomycin, LIN), 抗生素纯度均大于 98%, 美国 Sigma 公司。

### 1.2 主要设备

超高效液相色谱仪, ACQUITYTM UPLC, Waters 公司。串联四级杆质谱仪, 4000 Q-Trap, Applied Biosystems 公司。高速冷冻离心机 (LYNX 4000), Thermo 公司。恒温水浴锅 (DK-8D), 上海一恒科学仪器有限公司。循环水式真空泵 (SHB-III), 郑州长城科工贸有限公司。真空冷冻干燥机 (CN-03336-17), 美国 LABCONCO 公司。电热鼓风干燥箱 (DZF-6050), 上海一恒科学仪器有限公司。扫描电镜 (Hitachi Regulus8100), 日立集团。透射电镜 (FEI Tecnai F20), 美国 FEI 公司。

### 1.3 实验方法

标准溶液的配制 称取适量的标准品, 以

乙腈为溶剂, 先配置一定浓度的母液, 再通过稀释的方法制得浓度为 1、3、5、10、25、50、100、150 和 200  $\mu\text{g/kg}$  的标准液, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冷藏备用。

**氧化石墨烯的制备** 氧化石墨烯的制备参考 Hummers 等<sup>[10]</sup>的方法。将石墨粉 (2 g) 和硝酸钠 (1 g) 在反应瓶中进行混合, 添加硫酸 (98 mL) 后立即置于反应瓶中采用冷水 (0  $^{\circ}\text{C}$ ) 进行循环水浴, 搅拌状态下添加高锰酸钾 (12 g), 反应 30 min 后终止水浴, 继续搅拌 60 min 后, 缓慢加入去离子水, 继续搅拌 20 min 并加入适量的双氧水, 至溶液变为亮黄色。然后将混合物进行离心处理 (10 000 r/min, 15 min), 并采用稀盐酸 (5%) 和去离子水进行洗涤, 离心洗涤多次后, 沉淀置于 80  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘干备用。

**石墨烯/多壁碳纳米管复合材料的制备及表征** 首先, 多壁碳纳米管置于马弗炉中烘干 (500  $^{\circ}\text{C}$ , 3 h) 备用。然后, 将氧化石墨烯 (300 mg) 和去离子水 (400 mL) 混合后置于烧杯中, 超声 60 min, 之后加入多壁碳纳米管 (30 mg), 超声 30 min。再将混合物置于平底烧瓶中, 添加水合肼 (2 mL), 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴 24 h, 真空过滤 (0.22  $\mu\text{m}$ ), 所得沉淀经甲醇和去离子水洗涤后冻干备用。采用扫描电镜和透射电镜观察复合材料的表面形貌、微观结构、内部结构及纳米尺度等细节, 对复合材料的微观结构进行表征。

**QuEChERS 程序的优化** ①QuEChERS 流程: 处理程序如图 1 所示。将均质后的草鱼肉样品 (2.0 g) 置于 50 mL 离心管中。加入 2 mL 水和 10 mL 提取液, 旋涡振荡 5 min, 再加入硫酸镁 (4.0 g) 和氯化钠 (1.0 g), 继续振荡 5 min, 5 000 r/min 离心 5 min。取 1 mL 上清液加入 5 mL 的离心管中, 再加入硫酸镁 (150 mg) 和一定量的吸附剂, 旋涡振荡 1 min, 5 000 r/min 离心 5 min, 上清经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后, 待检。②提取溶剂的选择: 选取不含目标分析物的草鱼肉样品作为空白样品, 在空白样品中加入目标化合物的混合标准工作液 (50  $\mu\text{g/kg}$ )。采用不同溶剂 [(A) 乙腈: 甲醇 (100: 0, 体积比)、(B) 乙腈: 甲醇 (75: 25, 体积比)、(C) 乙腈: 甲醇 (50: 50, 体积比)] 提取样品中的抗生素, 按照 QuEChERS 流程进行前处理, 通过 UPLC-MS/MS 进行定量分析, 并计算相应的回收率, 确定合适的提取溶剂。③吸附剂的效果评价: 为评价石墨烯/多壁碳纳米管复合材料

的吸附效果, 以抗生素添加水平为 50  $\mu\text{g/kg}$  的空白样品为对象, 分别采用不同的吸附剂 (石墨烯/多壁碳纳米管复合材料, PSA、 $\text{C}_{18}$ 、多壁碳纳米管以及石墨烯) 对样品中的共提取杂质进行净化, 通过 UPLC-MS/MS 进行定量分析, 并计算相应的回收率, 评价石墨烯/多壁碳纳米管复合材料的吸附效果。④吸附剂添加量的优化: 为确定合适的吸附剂添加量, 以抗生素添加水平为 50  $\mu\text{g/kg}$  的空白样品为对象, 添加不同剂量的吸附剂 (5、10、20 和 40 mg), 按照 QuEChERS 流程进行前处理, 通过 UPLC-MS/MS 进行定量分析, 并计算相应的回收率, 确定合适的吸附剂添加量。

**UPLC-MS/MS 分析** 色谱分析在 Waters Acquity<sup>TM</sup> UPLC 系统 (Waters) 中进行, 带 PDA 检测器, 色谱柱为  $\text{C}_{18}$  柱 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )。流动相为 A (0.1% 甲酸水溶液) 和 B (100% 乙腈), 流速为 0.4 mL/min, 洗脱模式为梯度洗脱。质谱的离子源为 ESI 源, 正离子扫描; 分析检测方式: MRM, 离子源温度: 500  $^{\circ}\text{C}$ , 喷雾电压: 5.0 kV, 气帘气: 25 psi, 雾化气: 45 psi, 辅助气: 55 psi; 目标化合物母离子、定量离子、定性离子以及去簇电压 (DP)、入口电压 (EP)、碰撞电压 (CE)、出口电压 (CXP) 等参数参考陈琳垚<sup>[11]</sup>的方法。

**方法学验证** ①标准曲线: 在空白样品中添加不同浓度 (1、3、5、10、25 和 50  $\mu\text{g/kg}$ ) 的抗生素标准品, 按照前面所描述的方法对样品中的抗生素进行 QuEChERS 前处理, 后经 UPLC-MS/MS 检测, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制 28 种抗生素的标准曲线, 并求得相关系数  $R^2$ 。②基质效应: 为评价基质共萃取杂质对分析物信号的影响, 分别绘制溶剂标准曲线 (a1) 和基质匹配校准曲线 (a2) 进行比较。通过 a2 和 a1 斜率的比值反映基质效应<sup>[12-13]</sup>。③检测限和定量限: 在空白样品中添加不同浓度 (1、3、5、10、25 和 50  $\mu\text{g/kg}$ ) 的抗生素标准品, 按照前面所描述的方法对样品中的抗生素进行 QuEChERS 前处理, 后经 UPLC-MS/MS 检测, 计算其检测限和定量限。回收率: 在空白样品中添加不同浓度 (5、50 和 100  $\mu\text{g/kg}$ ) 的抗生素标准品, 按照前面所描述的方法对样品中的抗生素进行 QuEChERS 前处理, 后经 UPLC-MS/MS 检测, 计算在不同添加水平下的回收率。日内/日间精密度: 在空白样品中添加不同浓度的 (5、50 和 100  $\mu\text{g/kg}$ ) 的抗生素标准品, 按照前面所描述的方法对样品中的抗生素进行



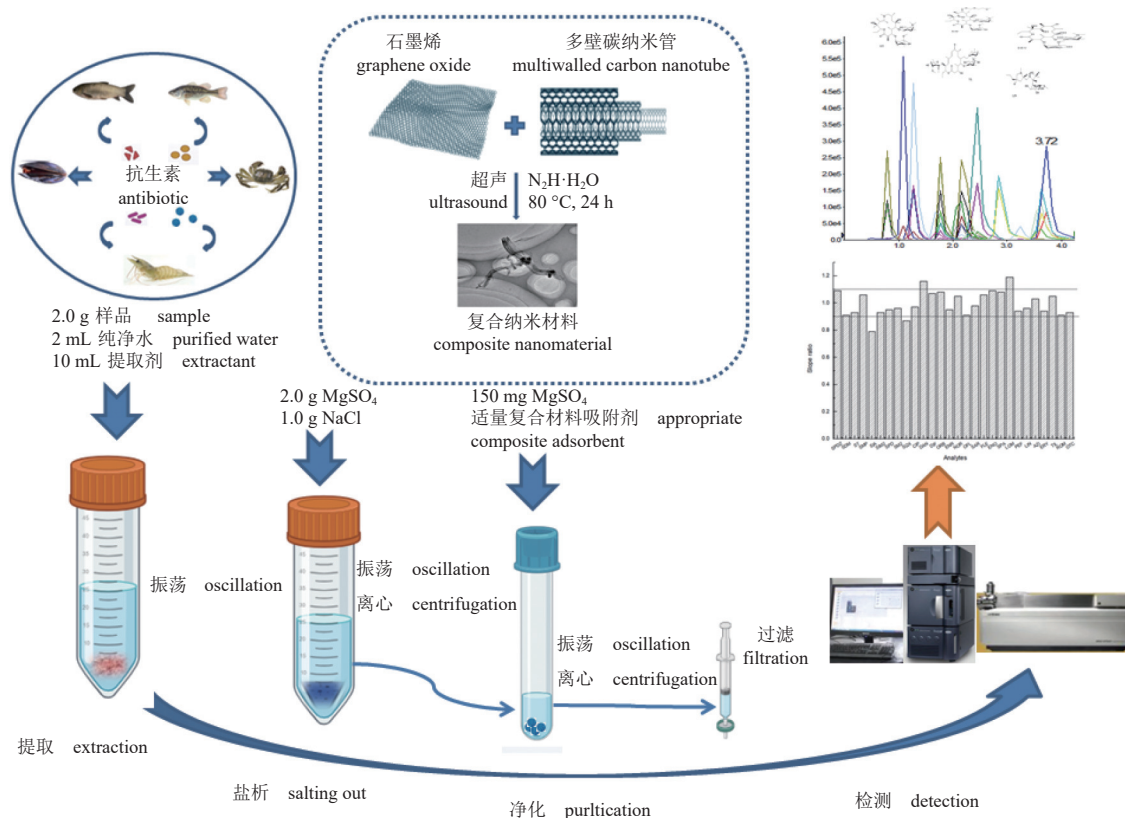


图1 QuEChERS流程图

Fig. 1 The overview of the QuEChERS

QuEChERS 前处理, 然后通过 UPLC-MS/MS 检测进行定量分析, 每个浓度进行 7 次平行试验, 计算相对标准偏差。

**方法的应用** 新鲜的草鱼和大口黑鲈经去头、去尾、去皮、去内脏后, 取其背部肌肉, 经绞肉机打成肉糜后, 置于 4 °C 冰箱中备用。凡纳滨对虾经去头、去尾、去壳、去虾线等操作后, 取肌肉部分, 经绞肉机打成肉糜后, 置于 4 °C 冰箱中备用。中华绒螯蟹和厚壳贻贝经去壳, 去内脏后, 取其肌肉部分, 经绞肉机打成肉糜后, 置于 4 °C 冰箱中备用。取 2.0 g 样品, 经 QuEChERS 程序处理后, 进 UPLC-MS/MS 检测。实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范。

**数据分析** 数据结果采用平均值±标准差的形式展现, 显著性分析采用 SPSS 21.0 软件进行, 图片采用 Origin 9.0 和 Photoshop CC 2015.5 软件进行绘制。

## 2 结果

### 2.1 石墨烯/多壁碳纳米管复合材料的表征

石墨烯/多壁碳纳米管复合材料的扫描电镜结

果如图 2-a~b 所示, 其中石墨烯为折叠片状结构, 石墨烯平均厚度约为 2 nm。多壁碳纳米管已经成功嵌入石墨烯中, 形成了多层次的网路结构, 降低了石墨烯的直接叠加效应, 增大了石墨烯片之间的间隙 (图 2-a)。石墨烯处于网状结构的顶端且为透明状。此外, 多壁碳纳米管的大部分间隙被石墨烯片覆盖 (图 2-c~d)。

### 2.2 QuEChERS 程序的优化

**提取剂的选择** 不同提取溶剂 (A、B 和 C) 对样品中抗生素回收率的影响如图 3 所示。以溶剂 B 为提取溶剂时, 该方法可高效提取 28 种抗生素。而当使用溶剂 A 作为提取溶剂时, 喹诺酮类和四环素类无法提取, 这可能是由于它们和甲醇具有相似的化学基团, 根据相似相容原则, 这两类物质更倾向溶于甲醇<sup>[14]</sup>。虽然甲醇的加入可以提高回收率, 但过量的甲醇增加了基质萃取率, 反而降低了某些抗生素的回收率。因此, 选择溶剂 C 作为合适的提取溶剂。

**吸附效果的评价** 不同种类吸附剂处理对抗生素回收率的影响如图 4 所示。通过计算可得, 当吸附剂为石墨烯/多壁碳纳米管复合材料时, 磺

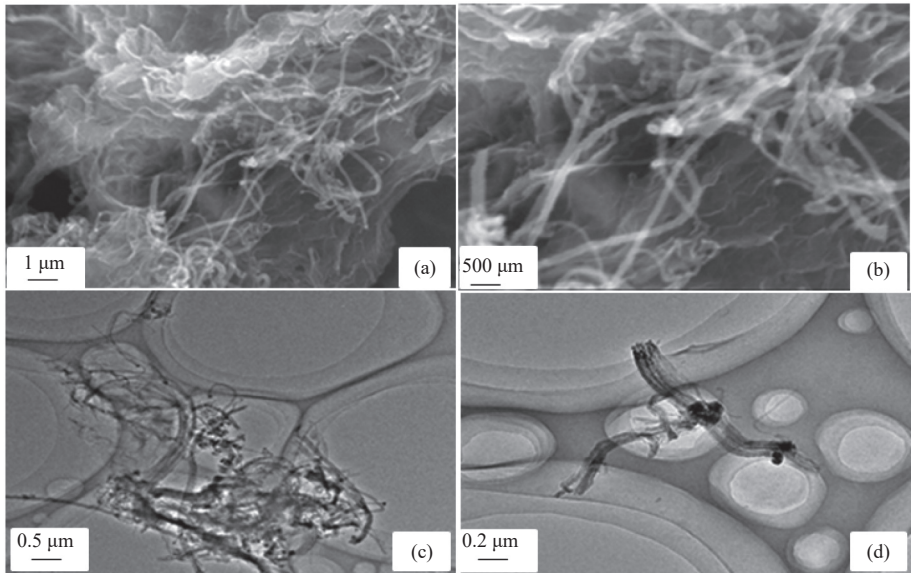


图 2 复合材料的微观结构图

(a) (b) 为扫描电镜图, (c) (d) 为透射电镜图。

Fig. 2 Microstructure diagram of the composite

(a) (b) SEM diagram, (c) (d) TEM diagram.

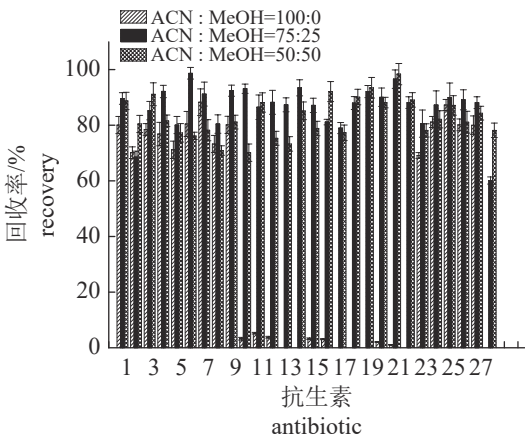


图 3 不同提取溶剂对回收率的影响

1.磺胺氯哒嗪, 2.磺胺邻二甲氧嘧啶, 3.磺胺噻唑, 4.磺胺甲氧哒嗪, 5.磺胺二甲异恶唑, 6.磺胺二甲异嘧啶, 7.磺胺吡啶, 8.磺胺二甲嘧啶, 9.磺胺喹恶啉, 10.环丙沙星, 11.丹诺沙星, 12.双氟沙星, 13.奥比沙星, 14.恩诺沙星, 15.诺氟沙星, 16.氧氟沙星, 17.沙拉沙星, 18.氟罗沙星, 19.依诺沙星, 20.司帕沙星, 21.洛美沙星, 22.培氟沙星, 23.林可霉素, 24.阿奇霉素, 25.红霉素, 26.替米考星, 27.罗红霉素, 28.土霉素, 下同。

Fig. 3 The influences of different extraction solvents on recovery rate

1. SPDZ, 2. SDM, 3. ST, 4. SMP, 5. SIA, 6. SIM2, 7. SPD, 8. SM2, 9. SQX, 10. CIP, 11. DAN, 12. DIF, 13. ORB, 14. ENR, 15. NOR, 16. OFL, 17. SAR, 18. FLE, 19. ENO, 20. SPA, 21. LOM, 22. PEF, 23. LIN, 24. AZI, 25. ERY, 26. TIL, 27. ROM, 28. OTC, the same below.

胺类、喹诺酮类、林可酰胺类, 大环内酯类和四环素类抗生素的平均回收率分别为 83.0%、84.1%、

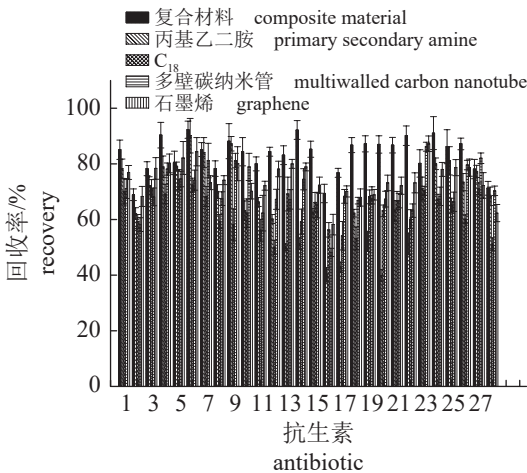


图 4 不同吸附剂对回收率的影响

Fig. 4 The influences of different kinds of adsorbent on recovery rate

80.2%、85.7% 和 71.3%。当吸附剂为 PSA 时, 磺胺类、喹诺酮类、林可酰胺类, 大环内酯类和四环素类抗生素的平均回收率分别为 78.0%、54.3%、71.2%、78.0% 和 68.4%。当吸附剂为 C<sub>18</sub>、多壁碳纳米管、石墨烯时, 这些数据分别为 66.9%、60.4%、70.4%、66.0%、51.2%、72.7%、66.5%、86.2%、74.1%、70.3% 和 77.6%、72.0%、87.3%、76.9%、62.3%。可以看出, 石墨烯/多壁碳纳米管复合材料对基质的净化效果较好, 各类抗生素的回收率相对较高。因此, 选择石墨烯/多壁碳纳米管复合材料作为合适的吸附剂。

石墨烯/多壁碳纳米管复合材料添加量的确定 固相萃取吸附剂用量是影响 QuEChERS 法回收率的重要因素。为了研究吸附剂用量对回收率的影响, 以抗生素添加水平为 50  $\mu\text{g/kg}$  的空白样品为对象, 以乙腈: 甲醇 (75 : 25, 体积比) 为提取剂, 对样品中的抗生素进行提取, 按照“实验方法”中“QuEChERS 程序的优化”的方法进行操作, 其中复合材料的添加量分别采用 5、10、20 和 40 mg。不同吸附剂添加量对样品中抗生素回收率的影响如图 5 所示。当添加量为 5 mg 时, 除 SDM、OFL 和 OTC 外, 其余抗生素的回收率均>70%。当吸附质量增加到 10 mg 时, 除 SDM 外, 其余抗菌药物的回收率均>70%。当添加量继续增加到 20 或 40 mg 时, 所有药物的回收率均下降, 尤其是喹诺酮类抗生素, 多数回收率降到 50% 以下。从实验结果来看, 当吸附剂添加量过低 (5 mg) 时, 共提取杂质不能够被有效吸附, 抗生素被杂质掩盖, 影响了检测效率。而当吸附剂添加量过高 (20 mg、40 mg) 时, 吸附剂在吸附杂质的同时, 还吸附了抗生素, 导致存在于样品中的抗生素含量下降, 造成抗生素回收率也下降。综上所述, 在本试验条件下, 吸附剂的添加量为 10 mg 时, 目标抗生素的回收率最高。因此, 选择 10 mg 作为合适的吸附剂用量。

2.3 方法学验证

线性、检测限和定量限 以质量浓度 ( $\mu\text{g/kg}$ ) 为横坐标 (X), 以质谱峰面积为纵坐标 (Y), 回归方程 ( $Y=aX+b$ ) 相关系数如表 1 所示。结果显示, 5 类 28 种抗生素在 1.00~50.00  $\mu\text{g/kg}$  范围内

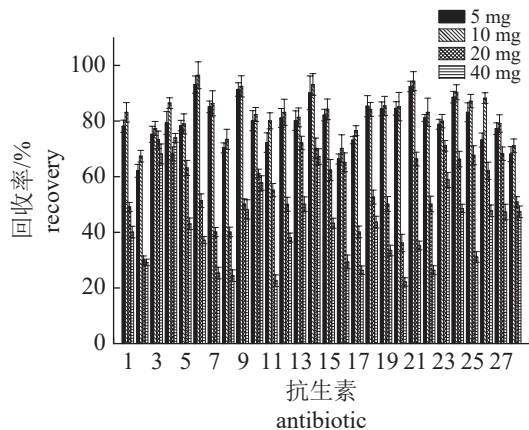


图 5 不同吸附剂用量对回收率的影响  
Fig. 5 Influences of different amounts of adsorbent on recovery

呈良好的线性关系, 相关系数  $R^2$  均大于 0.997 0。检出限 (LOD) 按照按 3 倍信噪比计算, 定量限 (LOQ) 按照 10 倍的信噪比进行计算, 28 种抗菌药物的 LOD 为 0.06~1.42  $\mu\text{g/kg}$ , LOQ 为 0.20~4.72  $\mu\text{g/kg}$ 。结果表明, 所建立的方法适用于目标抗生素的检测, 但 LOD 和 LOQ 不同。

表 1 线性相关系数, 检测限和定量限

Tab. 1 Correlation coefficients, limit of detection and quantitation					
抗生素 antibiotic	标准曲线 standard curve equation		$R^2$	检出限/ ( $\mu\text{g/kg}$ ) LOD	定量限/ ( $\mu\text{g/kg}$ ) LOQ
	a	b			
SPDZ	3.61E+04	3 750	0.999 8	0.17	0.57
SDM	1.17E+05	12 990	0.997 0	0.06	0.20
ST	3.13E+04	1 940	0.999 6	0.18	0.60
SMP	5.82E+04	12 400	0.998 4	0.08	0.27
SIA	1.17E+04	230	0.999 6	0.50	1.70
SIM2	6.86E+03	-603	0.999 2	0.65	2.17
SPD	1.52E+04	-17	0.999 8	0.35	1.17
SM2	1.88E+04	2 330	0.999 2	0.64	2.13
SQX	3.53E+03	784	0.999 0	1.19	3.97
CIP	2.62E+03	-305	0.999 0	1.42	4.72
DAN	4.50E+03	168	0.999 6	1.06	3.52
DIF	7.36E+03	-1 390	0.999 0	1.00	3.33
ORB	1.66E+04	-1 550	0.999 6	0.45	1.50
ENR	1.25E+04	-2 420	0.999 2	0.70	2.33
NOR	4.48E+03	-91	0.999 6	1.23	4.10
OFL	2.18E+04	-916	0.998 6	0.34	1.13
SAR	1.02E+04	-5 190	0.999 6	1.22	4.07
FLE	1.27E+04	-1 910	0.999 0	0.55	1.83
ENO	9.18E+03	193	0.999 6	0.52	1.73
SPA	2.29E+04	-3 290	0.999 0	0.54	1.80
LOM	1.93E+04	-1 570	0.999 6	0.41	1.37
PEF	4.67E+03	266	0.999 0	1.39	4.63
LIN	3.60E+04	3 060	0.999 6	0.10	0.33
AZI	1.59E+04	17 100	0.999 8	0.07	0.23
ERY	1.20E+04	-778	0.998 0	0.34	1.13
TIL	7.61E+03	3 060	0.999 0	0.31	1.03
ROM	1.85E+04	18 400	0.998 4	0.09	0.30
OTC	6.18E+03	1 620	0.999 8	0.79	2.63

基质效应 基质效应对鱼肉中抗生素检测的影响如图 6 所示。28 种抗生素基质效应为 0.79 (SLA)~1.19 (LOM)。其中, SDM、ST、SIA、SIM2、



SPD、SM2、SQX、CIP、ENR、OFL、SAR、REF、LIN、ERY、ROM 和 OTC 等 16 种兽药被基质增强, SPDZ、SMP、DAN、ORB、NOR、FLE、ENO、SPA、LOM、AZI 和 TIL 等 12 种兽药被基质抑制。一般认为, 在 0.90~1.10 的比值范围内 (图 6 中两横线之间的区域), 基质效应对检测结果影响较小, 根据该标准, 大多数兽药 (SIA、SQX、DAN 和 LOM 除外) 不受基质效应的影响。

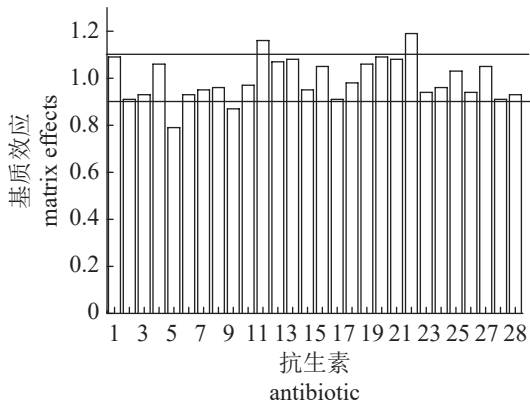


图 6 不同吸附剂对回收率的影响

Fig. 6 The influences of different kinds of adsorbent on the recovery

加标回收率 加标回收率的计算在标准品添加量为 5、50 和 100  $\mu\text{g/kg}$  的条件下进行, 5 类 28 种抗生素的回收率均超过 80% 且不超过 110%, 说明建立的检测方法适用于所有被测抗生素 (表 2)。此外, 抗生素添加量越高, 相应的回收率越高。当加标量为 5  $\mu\text{g/kg}$  时, 28 种抗生素的回收率范围为 80.1% (ROM)~94.7% (SIM2), 平均回收率为 86.7%。当加标量为 50  $\mu\text{g/kg}$  水平时, 28 种抗生素的回收率范围为 80.1% (LIN)~97.5% (SIM2), 平均回收率为 87.9%。当加标量为 100  $\mu\text{g/kg}$  时, 28 种抗生素的回收率范围为 80.5% (SAR)~100.4% (LOM), 平均回收率为 88.6%。按类别来看, 当加标量为 5  $\mu\text{g/kg}$  水平时, 磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类和四环素类的平均回收率分别为 87.7%、86.8%、83.9%、89.3% 和 84.3%; 加标量为 50  $\mu\text{g/kg}$  时, 其平均回收率分别为 88.6%、88.2%、88.9%、80.1% 和 81.1%; 加标量为 100  $\mu\text{g/kg}$  时, 其平均回收率分别为 88.7%、88.6%、90.8%、82.2% 和 84.4%。可以看出, 在所有加标量的水平下, 磺胺类和喹诺酮类药物的回收率保持在较高水平, 且不同添加水平下的回收率变化不大, 表明该方法用于磺胺类和喹诺酮类药物的

表 2 不同加标量的回收率试验

Tab. 2 Recovery test at at different spiking levels

抗生素 antibiotic	5 $\mu\text{g/kg}$		50 $\mu\text{g/kg}$		100 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率/% recovery	相对标准差 RSD	回收率/% recovery	相对标准差 RSD	回收率/% recovery	相对标准差 RSD
SPDZ	86.8	9.7	86.0	8.7	88.2	6.8
SDM	80.2	10.4	87.1	11.9	88.5	9.5
ST	84.5	4.8	85.4	3.6	81.0	4.1
SMP	91.4	4.4	94.3	3.5	92.8	3.7
SIA	80.3	4.2	81.6	3.0	82.5	3.1
SIM2	94.7	3.3	97.5	3.1	96.1	4.2
SPD	90.8	5.1	90.9	4.5	89.6	5.7
SM2	88.5	7.7	80.9	7.3	85.4	8.3
SQX	92.1	3.3	93.4	3.1	94.0	3.6
CIP	89.9	9.6	83.8	8.6	84.5	9.3
DAN	83.1	9.2	82.8	9.3	85.7	9.6
DIF	86.4	8.8	83.8	7.9	84.6	7.8
ORB	81.1	8.7	82.6	7.4	83.7	7.6
ENR	90.3	4.4	93.5	3.8	95.4	4.0
NOR	87.2	7.5	85.4	5.3	87.5	4.0
OFL	80.6	8.7	89.6	6.8	83.4	5.4
SAR	86.5	7.1	88.4	6.5	80.5	6.0
FLE	87.3	5.5	86.5	4.9	89.1	4.3
ENO	86.7	6.5	90.3	6.9	93.2	7.3
SPA	86.4	8.3	89.5	7.7	93.2	7.1
LOM	94.5	5.1	99.2	2.5	100.4	4.6
PEF	88.4	6.6	91.3	5.7	90.5	6.1
LIN	89.3	9.2	80.1	8.0	82.2	8.5
AZI	85.3	8.3	89.3	5.5	90.3	4.9
ERY	83.1	8.2	87.8	7.5	92.6	7.1
TIL	87.4	9.9	90.3	6.9	89.8	7.1
ROM	80.1	9.8	88.2	7.3	90.5	6.9
OTC	84.3	12.7	81.1	9.6	84.4	9.1

检测时更稳定。

日内和日间精密度 日内和日间精密度 (RSD, %,  $n=6$ ) 的计算在标准品添加量为 5、50 和 100  $\mu\text{g/kg}$  的条件下进行, 28 种抗生素的日内精密密度为 3.5%~10.3%, 日间精密密度为 3.9%~13.4% (表 3)。具体来看, 在 5  $\mu\text{g/kg}$  水平上, 磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类和四环素类的平均日内精密密度分别为 5.9%、6.6%、8.8%、9.2% 和 10.3%; 在 50  $\mu\text{g/kg}$  水平上分别为 5.7%、6.2%、7.8%、8.7% 和 9.9%; 在 100  $\mu\text{g/kg}$  水平上分别为 5.1%、6.0%、7.2%、8.5% 和 9.2%。对于日间精密密度, 当加标量为 5  $\mu\text{g/kg}$  水平时, 磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类和四环素类的平均精密密度分别为 6.9%、7.7%、9.5%、11.7% 和 13.4%; 当加标量为 50  $\mu\text{g/kg}$  时, 其精密密度分别为 6.5%、7.3%、8.7%、10.5%、11.0%。磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类和四环素类

药物在 100 µg/kg 水平上的平均日间精密度假别为 6.2%、7.1%、7.9%、9.9% 和 10.8%。总体而言，日内精密度假低于日间精密度假，随着抗生素添加量的增加，其准确性也随之提高。此外，磺胺类和喹诺酮类药物的精密度假较小，表明所建立的方法可能对这两类抗生素的检测更灵敏。

表 3 日内和日间精密度

**Tab. 3**    **Intra-day and inter-day precision**                      %

antibiotic	intra-day precision			inter-day precision		
	5 µg/kg	50 µg/kg	100 µg/kg	5 µg/kg	50 µg/kg	100 µg/kg
SPDZ	6.9	6.7	5.1	7.2	6.1	5.9
SDM	9.5	10.1	8.7	12.1	11.8	9.0
ST	3.9	3.7	3.7	4.5	3.9	4.1
SMP	5.1	4.7	4.2	6.4	6.2	5.4
SIA	4.8	4.9	4.2	5.8	5.1	6.0
SIM2	4.6	4.5	3.7	5.0	4.7	4.1
SPD	5.9	4.7	5.2	6.3	6.0	5.6
SM2	7.8	7.3	6.6	10.3	9.8	9.9
SQX	4.8	4.9	4.2	4.8	5.2	5.9
CIP	8.8	8.3	8.6	9.3	9.7	8.9
DAN	8.6	7.9	7.6	10.2	9.6	9.1
DIF	6.8	6.5	6.9	7.5	6.9	6.5
ORB	6.4	6.7	6.1	8.2	7.9	7.9
ENR	4.7	4.8	3.9	5.2	4.8	4.2
NOR	5.3	5.2	4.9	7.1	6.9	7.5
OFL	7.7	7.8	6.4	8.0	7.5	8.1
SAR	5.3	4.5	4.0	6.2	6.0	5.6
FLE	5.0	4.7	5.2	6.3	6.1	5.9
ENO	7.7	7.3	6.5	9.9	8.4	8.0
SPA	8.3	7.1	7.7	10.7	9.9	9.7
LOM	4.1	3.5	4.0	4.9	5.0	4.3
PEF	6.5	6.2	6.6	7.4	6.8	6.5
LIN	9.2	8.7	8.5	11.7	10.5	9.9
AZI	8.8	7.3	7.6	9.3	8.8	8.3
ERY	7.9	7.7	6.9	8.3	8.5	7.5
TIL	8.6	7.5	7.1	10.8	9.3	7.9
ROM	9.9	8.6	7.3	9.7	8.1	8.0
OTC	10.3	9.9	9.2	13.4	11.0	10.8

## 2.4 方法的应用

为了检验建立方法的实际应用,在当地市场随机采集草鱼(8份)、大口黑鲈(8份)、凡纳滨对虾(8份)、中华绒螯蟹(8份)和厚壳贻贝

(8份)样品进行检测。采用溶剂B提取样品中的抗生素,并将提取液盐析后与石墨烯/多壁碳纳米管复合材料进行涡旋混合,脱水后,利用UPLC-MS/MS进行样品中抗生素残留量的检测,得到相应的定性和定量结果。结果显示,草鱼、凡纳滨对虾、中华绒螯蟹和厚壳贻贝样品中均未检出抗生素,大口黑鲈样品中有磺胺类抗生素检出,对阳性标本进行确证试验并测定其含量,结果表明样品中SM2总含量范围为2.5~9.2 μg/kg,低于国家的限量标准。

### 3 讨论

水产品养殖过程中可能会涉及抗生素的滥用。抗生素滥用不仅会污染环境,且威胁人类健康。因此,如何对养殖水产品中抗生素进行快速准确地检测并监管一直以来都是食品安全领域中的研究热点。本研究建立了一种可同时完成多种养殖水产品中不同种类抗生素残留检测的技术方法,具体为以石墨烯/碳纳米管复合材料改良的 QuEChERS 为前处理方式,通过 UPLC-MS/MS 技术完成相关检测。方法学验证表明,在优化后的检测条件下 [以乙腈:甲醇 (75:25, 体积比) 为提取剂,石墨烯/碳纳米管复合材料的添加量为 10 mg], 能够实现对常见 5 类 28 种抗生素的同时检测。所建立技术方法的线性良好 ( $R^2>0.99$ ), 检出限为 0.06~1.42  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限为 0.20~4.72  $\mu\text{g/kg}$ , 所有抗生素 (SIA、SQX、DAN 和 LOM 除外) 基质效应较低 ( $<10\%$ ), 在 5~100  $\mu\text{g/kg}$  的添加水平下, 平均回收率为 80.1%~100.4%, 日内精密度  $<10.3\%$ , 日间精密度  $<13.4\%$ 。将该方法应用于草鱼、大口黑鲈、凡纳滨对虾、中华绒螯蟹和厚壳贻贝等水产品中 28 种抗生素残留量的同时检测, 结果表明, 所建立的方法重复性好, 灵敏度高, 适用于常规检测。

水产品原料中含有大量的水分、蛋白质和色素等物质,在检测过程中,这些物质会以共提取杂质的形式存在,产生基质效应,影响 UPLC-MS/MS 检测的准确性<sup>[15]</sup>。因此,对样品进行合适的前处理很有必要,QuEChERS 作为一种快速的预处理方法,有效简化了净化步骤。然而,净化过程的简化使基质效应成为误差的主要来源<sup>[16]</sup>。因此,选择合适的吸附剂非常重要。纳米材料作为一种很有前景的吸附剂,具有粒径小、比表面积大、吸附能力强的特点,在 QuEChERS 净化过



程中有着较大的应用潜力。Fu 等<sup>[17]</sup>采用氨基端碳纳米管为吸附剂改良的 QuEChERS 结合 LC-HRMS 技术, 对牛奶样品中的磺胺类抗生素进行检测, 结果表明该方法具有较好的特异性。Fernandes 等<sup>[18]</sup>开发了一种检测水果中有机污染物残留的方案, 该方案以复合氧化铁磁性纳米颗粒吸附剂改良的 QuEChERS 技术结合 GC/MS 为技术手段。这些研究均为纳米材料吸附剂在 QuEChERS 净化操作上的应用提供了参考, 然而, 相对于水果和乳制品, 水产品原料组成复杂, 其净化难度相对较高。石墨烯是由碳原子组成的单片层结构的二维晶体, 具有比表面积大、可再生、可调控及环境友好等优点, 在诸多研究中均有应用, 然而石墨烯在吸附过程中易发生聚集叠加, 影响其吸附效率<sup>[19-20]</sup>。

本研究采用多壁碳纳米管为支架, 嵌入二维的石墨烯结构中, 有效防止了石墨烯的叠加效应, 制备得到的具有多层多孔结构的三维结构材料, 可大大提高吸附材料的比表面积, 并将其应用于养殖水产品 QuEChERS 净化操作上, 具有一定的创新性。Huang 等<sup>[21]</sup>在研究中指出, 多壁碳纳米管的褶皱形状能够阻止石墨烯在合成过程中堆积, 并保持其较大的比表面积, 而且这种褶皱是通过范德华力维持的。机制研究结果表明, 碳纳米管可以阻止石墨烯的聚集, 并扩大石墨烯片层之间的距离, 从而改变石墨烯的阵列。Niu 等<sup>[22]</sup>研究了碳纳米管和石墨烯之间的相互作用, 指出碳纳米管是靠分子间相互作用力而耦合在一起。这种强耦合效应不仅增加了比表面积, 提高了吸附能力, 而且可应用于各种先进复合材料的制造。本研究结果表明, 石墨烯/多壁碳纳米管复合材料作为一种高效的吸附剂, 可有效降低基质效应对水产品抗生素残留检测的影响, 提高抗生素的检测效率。然而, 受限客观因素, 本研究只是将该方法用于常见的 5 种养殖水产品(草鱼、大口黑鲈、凡纳滨对虾、中华绒螯蟹和厚壳贻贝)中的 28 种抗生素残留的检测, 后续的研究将根据该方法进一步扩大药物残留的检测范围以及受检的样品来源, 拓展本方法的应用范围。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

[1] 薛长湖, 李兆杰. 我国水产品加工和流通产业科技现状  
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

状与发展趋势 [J]. 水产学报, 2023, 47(11): 119817.

Xue C H, Li Z J. Current situation and development trend of science and technology in aquatic product processing and circulation industry of China[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(11): 119817 (in Chinese).

[2] Golden C D, Koehn J Z, Shepon A, *et al.* Aquatic foods to nourish nations[J]. *Nature*, 2021, 598(7880): 315-320.

[3] Wu L L, Pu H B, Sun D W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: a review of recent developments[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 259-273.

[4] 中华人民共和国国务院新闻办公室. 中国的远洋渔业发展 [N]. 人民日报, 2023-10-25(014).

The State Council Information Office of the People's Republic of China. Development of pelagic fishery in China[N]. People's Daily, 2023-10-25(014) (in Chinese).

[5] 何欣, 李诗言, 王扬, 等. 基于高效液相色谱—四级杆—飞行时间质谱技术筛查渔业水域环境中抗生素残留方法的建立与应用 [J]. 水产学报, 2016, 40(4): 652-663.

He X, Li S Y, Wang Y, *et al.* Determination of antibiotic residues in fishery water environment by high performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry and its application[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(4): 652-663 (in Chinese).

[6] Majdinasab M, Mishra R K, Tang X Q, *et al.* Detection of antibiotics in food: new achievements in the development of biosensors[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 127: 115883.

[7] Anastassiades M, Lehotay S J, Štajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. *Journal of AOAC International*, 2003, 86(2): 412-431.

[8] Shen Q, Zhu X F, Zhao Q L, *et al.* QuEChERS and 96-well plate solid phase extraction for determination of vancomycin and norvancomycin in fish meat by UPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2021, 342: 128326.

[9] Campanharo S C, Da Silva A F B, Bleuzen A, *et al.* The association of modified QuEChERS and DLLME to offer high analytical detectability to assess residual depletion profile of erythromycin in fish[J]. *Food Chemistry*, 2023, 405: 134852.

[10] Hummers Jr W S, Offeman R E. Preparation of graphitic oxide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1958, 80(6): 1339.

[11] 陈琳垚. 新型 QuEChERS 方法在水产品兽药多残留分

- 析中的应用研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2013.
- Chen L Y. Modified quechers methods for the analysis of drug residues in aquatic products[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2013 (in Chinese).
- [12] Kundisová I, Juan M E, Planas J M. Simultaneous determination of phenolic compounds in plasma by LC-ESI-MS/MS and their bioavailability after the ingestion of table olives[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(37): 10213-10222.
- [13] Petrucci R, Di Matteo P, De Francesco G, *et al.* Novel fast identification and determination of free polyphenols in untreated craft beers by HPLC-PDA-ESI-MS/MS in SIR mode[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(30): 7984-7994.
- [14] Lopes R P, Reyes R C, Romero-González R, *et al.* Multiresidue determination of veterinary drugs in aquaculture fish samples by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2012, 895-896: 39-47.
- [15] 洪妍妍, 陈海玲, 王翠玲, 等. 样品前处理 QuEChERS 法及新型吸附材料在水产品中抗生素残留分析中的应用进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(21): 6898-6906.
- Hong Y Y, Chen H L, Wang C L, *et al.* Application progress of sample pretreatment QuEChERS method and new adsorbents materials in the analysis of antibiotic residues in aquatic products[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 13(21): 6898-6906 (in Chinese).
- [16] Shi R R, Liu L L, Liu X Q, *et al.* Integrated QuEChERS combined with LC-MS/MS for high-throughput analysis of per-and polyfluoroalkyl substances in milk[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2024, 416(1): 203-214.
- [17] Fu L, Zhou H, Miao E M, *et al.* Functionalization of amino terminated carbon nanotubes with isocyanates for magnetic solid phase extraction of sulfonamides from milk and their subsequent determination by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2019, 289: 701-707.
- [18] Fernandes V C, Freitas M, Pacheco J G, *et al.* Evaluation of the QuEChERS and magnetic micro dispersive solid-phase extraction of brominated flame retardants in red fruits with determination by GC/MS[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125572.
- [19] Kavinkumar T, Manivannan S. Synthesis, characterization and gas sensing properties of graphene oxide-multiwalled carbon nanotube composite[J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2016, 32(7): 626-632.
- [20] Zhou Z R, Shen Z R, Cheng Z H, *et al.* Mechanistic insights for efficient inactivation of antibiotic resistance genes: a synergistic interfacial adsorption and photocatalytic-oxidation process[J]. *Science Bulletin*, 2020, 65(24): 2107-2119.
- [21] Huang J R, Her S C, Yang X X, *et al.* Synthesis and characterization of multi-walled carbon nanotube/graphene nanoplatelet hybrid film for flexible strain sensors[J]. *Nanomaterials*, 2018, 8(10): 786.
- [22] Niu Z Y, Zhang Y, Zhang Y, *et al.* Enhanced electrochemical performance of three-dimensional graphene/carbon nanotube composite for supercapacitor application[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2020, 820: 153114.

## Novel modified QuEChERS combined with UPLC-MS/MS technology for the detection of antibiotic residues in several common kinds of aquaculture products

XU Xuejiao<sup>1</sup>, HUANG Cheng<sup>2</sup>, YANG Jiacheng<sup>3</sup>, DAI Zhiyuan<sup>3</sup>, ZHENG Zhenxiao<sup>3\*</sup>

(1. College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China;

2. Greentown Agricultural Testing Technology Co., Ltd., Hangzhou 310052, China;

3. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Zhejiang Province Joint Key Laboratory of Aquatic Products Processing, Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** Aquatic products play an important role in human diet. Compared with other livestock and poultry products, aquatic products are featured with low fat content, high protein content, and easy digestion. Therefore, aquatic products are deeply loved by consumers. Generally speaking, aquatic products can be divided into two categories: naturally caught aquatic products and aquaculture aquatic products. In recent years, with the decline of marine resources and the increase of marine pollution, aquaculture is booming. In order to improve the efficiency of aquaculture, antibiotics are usually used, which brings risk to human health. Therefore, the monitoring of antibiotic residues in aquaculture products has been an important part in the field of food safety. To supervise antibiotic residues in aquaculture products, a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) combined with UPLC-MS/MS for the simultaneous determination of 28 antibiotic residues in aquaculture products was established, with nano graphene oxide/multi walled carbon nanotubes (n-GO/MWCNTs) composite as the adsorbent. Moreover, parameters such as the ratio of acetonitrile and methanol in extractant, the amount of the n-GO/MWCNTs, were optimized through the recovery of 28 antibiotics. Besides, the adsorbent action of n-GO/MWCNTs was also compared with PSA, C18, MWCNTs, and graphene. Finally, method validation was accomplished according to Codex guideline (CAC/GL-71) with the following performance characteristics: the linearity, limit of detection and quantification, matrix effects, recovery, intra-day and inter-day precision. The results showed that the absorption effect of n-GO/MWCNTs was the best with acetonitrile: methanol (75 : 25, *V/V*) and 10 mg of n-GO/MWCNTs. Good linearity ( $R^2 > 0.99$ ) was observed for all tested antibiotics with the limit of detection and quantification were 0.06-1.42  $\mu\text{g/kg}$  and 0.20-4.72  $\mu\text{g/kg}$ . Low matrix effects ( $< 10\%$ ) was observed for most tested drugs (except for SIA, SQX, DAN and LOM). The average recovery of this protocol was 80.1%-100.4% in the spiked levels of 5-100  $\mu\text{g/kg}$ . The intra-day precision was lower than 10.3%, while the inter-day precision below 13.4%. Method applications authenticated that the established method had favorable repeatability and high sensitivity, which could be applied to the regulatory routine analysis. We hope this work could provide technical support for the monitoring of antibiotic residues in aquaculture products and be helpful to the quality and safety control of aquaculture products.

**Key words:** aquaculture products; graphene; carbon nanotube; QuEChERS; UPLC-MS/MS; antibiotics

**Corresponding author:** ZHENG Zhenxiao. E-mail: [zzx@zjgsu.edu.cn](mailto:zzx@zjgsu.edu.cn)

**Funding projects:** Natural Science Fund of Zhejiang Province (LQ22C200008, LQ22C200010); Zhejiang Shuren University Basic Scientific Research Special Funds (2022XZ008)