

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240109006

# 磁性固相萃取前处理-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中阿维菌素类药物残留

石梦涵<sup>1</sup>, 邢骞文<sup>2</sup>, 武晓琦<sup>3</sup>, 李研东<sup>2</sup>, 武利勇<sup>2</sup>, 姚慧娇<sup>4</sup>, 周茜<sup>1\*</sup>, 李肖莉<sup>2\*</sup>

(1. 河北农业大学食品科技学院, 保定 071033; 2. 河北省兽药饲料工作总站, 石家庄 050000;  
3. 河北科技大学食品与生物学院, 石家庄 050018; 4. 河北省畜牧总站, 石家庄 050035)

**摘要:** **目的** 建立磁性固相萃取(magnetic solid phase extraction, MSPE)前处理-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中阿维菌素类药物残留的方法。**方法** 牛奶样品使用乙酸锌和亚铁氰化钾沉淀蛋白, 8 mL 乙腈提取, 10 mg 磁性 HLB 净化材料净化, 5%乙腈-水、乙腈进行淋洗和洗脱, 使用超高效液相色谱-串联质谱法检测牛奶中阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素。**结果** 4 种药物在 0.2~200.0  $\mu\text{g/L}$  质量浓度范围内线性关系良好( $r^2>0.995$ )。阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素的检出限为 0.2  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限为 0.5  $\mu\text{g/kg}$ ; 乙酰氨基阿维菌素的检出限为 0.5  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限为 2.5  $\mu\text{g/kg}$ , 回收率为 74.31%~96.67%, 相对标准偏差为 0.02%~12.24%。**结论** 本研究建立的 MSPE 前处理技术, 极大地提高了样品前处理效率, 缩短了样品检测的时间, 降低了检测成本, 减少了有机溶剂的使用, 可应用于定量检测牛奶样品中阿维菌素类药物残留, 为 MSPE 前处理方法的广泛应用提供参考。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱法; 磁固相萃取; 牛奶; 阿维菌素

## Determination of residues of avermectins in milk by magnetic solid phase extraction pre-treatment coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHI Meng-Han<sup>1</sup>, XING Qian-Wen<sup>2</sup>, WU Xiao-Qi<sup>3</sup>, LI Yan-Dong<sup>2</sup>,  
WU Li-Yong<sup>2</sup>, YAO Hui-Jiao<sup>4</sup>, ZHOU Qian<sup>1\*</sup>, LI Xiao-Li<sup>2\*</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071033, China; 2. Hebei Provincial Station of Veterinary Drug and Feed, Shijiazhuang 050000, China; 3. School of Food and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China; 4. Hebei Provincial Animal Husbandry Station, Shijiazhuang 050035, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of avermectin residues in milk by magnetic

基金项目: 三期现代农业产业技术体系河北省生猪产业创新团队项目(HBCT2023170206)

**Fund:** Supported by the Third Phase of Modern Agricultural Industrial Technology System of Hebei Pig Industry Innovation Team Project (HBCT2023170206)

\*通信作者: 周茜, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与检测技术。E-mail: zhouqian@hebau.cn

李肖莉, 高级兽医师, 主要研究方向为畜牧兽医。E-mail: 1336197134@qq.com

\*Corresponding author: ZHOU Qian, Ph.D, Associate Professor, Department of Food Nutrition and Detection Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071033, China. E-mail: zhouqian@hebau.cn

LI Xiao-Li, Senior Veterinarian, Department of Livestock Veterinarians, Hebei Provincial Station of Veterinary Drug and Feed, Shijiazhuang 050000, China. E-mail: 1336197134@qq.com

solid phase extraction (MSPE) pre-treatment ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

**Methods** Protein in milk samples was precipitated by zinc acetate and potassium ferrocyanide, samples were then extracted with 8 mL of acetonitrile, purified with 10 mg of magnetic HLB purification material, and washed and eluted with 5% acetonitrile-water and acetonitrile. Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to detect avermectin, eprinomectin, ivermectin and doramectin in milk. **Results** The linear relationship of the 4 kinds of drugs was good in the mass concentration range of 0.2–200.0  $\mu\text{g/L}$  ( $r^2 > 0.995$ ). The limit of detection and limit of quantitation of abamectin, ivermectin and dolamectin were 0.2  $\mu\text{g/kg}$  and 0.5  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. The limit of detection and limit of quantitation of acetylamictin were 0.5  $\mu\text{g/kg}$  and 2.5  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. The recoveries were 74.31%–96.67% and the relative standard deviations were 0.02%–12.24%. **Conclusion** The MSPE pretreatment technology established in this paper greatly improves the sample pretreatment efficiency, shortens the sample detection time, reduces the detection cost, and reduces the use of organic solvents. It can be applied to the quantitative detection of abamectin drug residues in milk samples, and provides a reference for the wide application of MSPE pretreatment method.

**KEY WORDS:** ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; magnetic solid phase extraction; milk; avermectins

## 0 引言

阿维菌素类(avermectins, AVMs)药物是由链霉菌的发酵产物中分离的大环内酯类抗生素,是迄今为止活性最高的生物源杀虫药物,为畜禽养殖过程中应用最多的抗虫药物<sup>[1]</sup>,被广泛应用于牛、羊等动物的养殖过程<sup>[2-3]</sup>。AVMs 具有高效低毒性的特点,其作用剂量小,但脂溶性较高,降解比较缓慢,导致此类药物在动物体内残留时间长,可能给食品安全带来隐患,伊维菌素、乙酰氨基阿维菌素、多拉菌素都是由 AVMs 衍生而来<sup>[4-5]</sup>,世界卫生组织将其列为高毒化合物<sup>[6-10]</sup>。AVMs 药物对哺乳动物的毒性较低,但药物会通过食物链的传递进入人体内,长期食用含有此类药物的奶产品会对人类健康产生潜在威胁<sup>[11]</sup>,因此各国对牛羊肉及乳制品中 AVMs 药物有明确的限量规定。

我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定 AVMs(以阿维菌素 B<sub>1a</sub> 计)禁用于泌乳期牛、羊,伊维菌素在牛奶中最大残留限量为 10  $\mu\text{g/kg}$ ,多拉菌素在牛奶中最大残留限量为 15  $\mu\text{g/kg}$ ,乙酰氨基 AVMs 在牛奶中最大残留量为 20  $\mu\text{g/kg}$ 。欧盟、美国、日本等国家也将其列为重点监控对象并制定了最大残留限量(maximum residue limit, MRL)<sup>[12]</sup>。目前有关牛奶中阿维菌素类药物残留检测的报道较少<sup>[13]</sup>,现行的标准方法也存在适用范围不全面以及方法的灵敏度较低的问题<sup>[14-15]</sup>。常用于检测 AVMs 药物的方法主要有液相色谱法<sup>[16-18]</sup>、酶联免疫吸附测定法<sup>[16]</sup>和超高效液相色谱-串联质谱法<sup>[20-23]</sup>等。液相色谱法灵敏度低,标准品需要进行衍生化才可以进行检测,对结果准确性的影响因素较多,操作复杂;酶联免

疫吸附测定法虽然操作简单、成本低,但是检测过程中假阳性率高,只能用于基层现场速测,且检测结果只能定性而不能定量,不可用于出具阳性报告,不可作为执法依据使用;超高效液相色谱-串联质谱法灵敏度高、稳定性强,具有极好的定性和定量检测能力,常被作为仲裁和确证检测的指定方法使用,应用前景较为广泛。

现有的 AVMs 的净化方法大多为传统的固相萃取法,但操作步骤复杂,且费时费力。鉴于此,本研究使用全自动磁性固相萃取技术,采用有磁性的颗粒材料作为吸附剂,通过外部磁铁的作用,使目标物与吸附剂分离,将提取后的溶液直接放置到全自动磁性固相萃取仪上,利用吸附剂吸附溶液中的杂质。在此基础上,建立超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定牛奶中 4 种 AVMs 药物的定性定量方法,为我国奶及奶制品市场增加市场监管技术储备,也为食品安全风险评估提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

牛奶样品来源为抽检样品,主要抽检产地为河北省 11 个市奶牛养殖场生鲜乳收购站、奶牛养殖公司及奶牛养殖合作社。

乙腈、甲醇(色谱纯,德国默克公司);乙酸铵(色谱纯,美国赛默飞世尔科技公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);三乙胺(色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);乙酸锌、亚铁氰化钾(分析纯,天津博迪化工股份有限公司);磁性亲水亲脂平衡固相颗粒萃取剂(上海普敦实验室设备有限公司)。

阿维菌素标准品(纯度 99.2%)、乙酰氨基阿维菌素标准品(纯度 96.0%)、伊维菌素标准品(纯度 91.8%)、多拉菌素混合标准品(纯度 98.2%)(天津阿尔塔科技有限公司)。

## 1.2 仪器与设备

AB 4500 型超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 ABSCIEX 公司); Shim-pack GIST C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 2 μm, 日本岛津公司); MagicFlux1000 型全自动固相萃取仪(上海普敦公司); BIOFUGESTERATOS 型离心机(美国赛默飞世尔科技公司); MIX-200S 涡旋混匀仪(拓赫机电科技有限公司); N-EVAP112 氮吹仪(美国 JNC 公司); MS3DS25 涡旋仪(德国 IKA 公司); JJ200 电子天平(精度 0.01 g, 美国双杰公司)。

## 1.3 标准溶液的配制

### 1.3.1 阿维菌素类药物标准储备液

准确移取 1.00 mL 质量浓度均约为 100 μg/mL 的 AVMs 药物的混合标准品于 10 mL 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 配制成质量浓度约为 10 μg/mL 的 AVMs 混合标准储备液。-18℃以下保存, 有效期 12 个月。

### 1.3.2 阿维菌素类药物标准工作液

准确量取 10 μg/mL 的 AVMs 混合标准储备液 1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中, 50%乙腈-水定容至刻度, 摇匀, 配制成质量浓度约为 1 μg/mL 的 AVMs 混合标准工作液, 待用。-18℃以下保存, 有效期 12 个月。

## 1.4 样品前处理

### (1) 样品提取

称取牛奶样品(2.00±0.05) g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 1.0 mL 乙酸锌溶液和 1.0 mL 亚铁氰化钾溶液, 然后加入 8.0 mL 乙腈, 涡旋混匀 5 min, 6000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.0 mL 置于 50 mL 离心管, 加入 8.0 mL 水和 10 μL 三乙胺溶液, 涡旋混匀 2 min, 备用。

### (2) 样品净化

样品净化使用全自动磁性固相萃取仪(如图 1 所示), 10 mg HLB 磁珠依次用 3 mL 乙腈活化, 3 mL 20%乙腈平衡, 取备用液准备上样, 依次用 2.5 mL 5%乙腈和 2.5 mL 10%异丙醇淋洗, 用 3.5 mL 乙腈进行洗脱, 收集洗脱液于 5 mL 试管中(具体操作如表 1 和图 1 所示), 于 40℃水浴氮气吹干。用 1 mL 50%乙腈水溶液复溶, 涡旋混匀 1 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 供 UPLC-MS/MS 测定。

## 1.5 仪器条件

### 1.5.1 液相色谱条件

色谱柱: Shim-pack GIST C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 2 μm); 流动相 A: 10 mmol/L 乙酸铵溶液; 流动相 B: 乙腈; 梯度洗脱程序为: 0~1.0 min, 5%~50% B; 1.0~4.0 min, 50%~100% B; 4.0~7.0 min, 100% B; 7.0~7.1 min, 100%~5% B; 7.1~10.0 min, 5% B; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 柱温: 40℃。

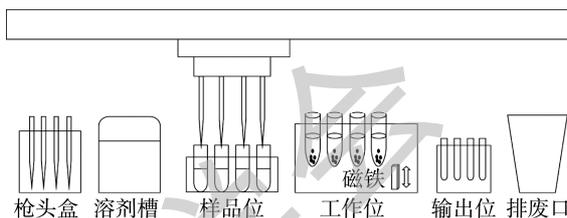


图 1 全自动磁性固相萃取系统过程图

Fig.1 Automatic magnetic solid phase extraction system process diagram

表 1 全自动磁性固相萃取仪操作步骤

Table 1 Operation steps of automatic magnetic solid phase extractor

步骤	溶液	溶液体积/mL	混合时间/s	静置时间/s	分离时间/s	静置时间/s
活化	乙腈	3.0	5	10	5	10
平衡	20%乙腈	3.0	5	10	5	10
上样 1	上样溶液	3.5	45	10	10	10
上样 2	上样溶液	3.5	45	10	10	10
上样 3	上样溶液	3.0	45	10	10	10
淋洗 1	5%乙腈	2.5	5	10	5	10
淋洗 2	10%异丙醇	2.5	5	10	5	10
洗脱	乙腈	3.5	45	10	45	10

### 1.5.2 质谱条件

离子源: 电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI); 扫描方式: 正离子扫描; 电喷雾电压: 5500 V; 离子源温度: 300℃; 辅助气 1 为 40 psi; 辅助气 2 为 55 psi; 气帘气为 30 psi; 碰撞气: 氮气, 纯度 99.999%。采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)方式扫描, 分别监测阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素碎片离子、锥孔电压、碰撞能量等参数, 结果如表 2 所示。

表 2 4 种阿维菌素类药物的质谱检测参数

Table 2 Mass spectrometric parameters of 4 kinds of avermectin drugs

化合物名称	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
阿维菌素	4.00	890.5	305.3 <sup>*</sup> /567.4	60	34/21
乙酰氨基阿维菌素	3.73	936.5	490.2 <sup>*</sup> /368.2	200	71/75
伊维菌素	4.54	892.5	307.0 <sup>*</sup> /569.3	71	37/19
多拉菌素	4.26	916.6	331.1 <sup>*</sup> /592.9	100	35/25

注: \*为定量离子对。

## 1.6 数据处理

本研究采用 WPS Office 2021 办公软件进行数据统计和制表,采用 Origin 2021 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取条件优化

阿维菌素为脂溶性化合物, 难溶于水, 易溶于甲醇、乙腈等有机溶液中<sup>[24]</sup>。牛奶中的主要物质有水、蛋白质、脂肪、碳水化合物等。基于牛奶基质的特点, 除去基质中的乳蛋白和乳脂肪是至关重要的一点<sup>[25]</sup>。常见的蛋白质沉淀剂有有机溶剂、酸、重金属离子等<sup>[26]</sup>。本研究通过对照法观察加入蛋白沉淀剂是否会对实验结果产生影响, 选择一组牛奶基质在提取过程中加入 1 mL 乙酸锌和 1 mL 亚铁氰化钾作为蛋白沉淀剂, 与另一组不加蛋白沉淀剂的牛奶基质进行比较。结果如图 2 所示, 加入蛋白沉淀剂的牛奶基质中阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素的回收率高于不加蛋白沉淀剂, 因此选择在提取过程中加入 1 mL 乙酸锌和 1 mL 亚铁氰化钾作为蛋白沉淀剂以提高药物的回收率。

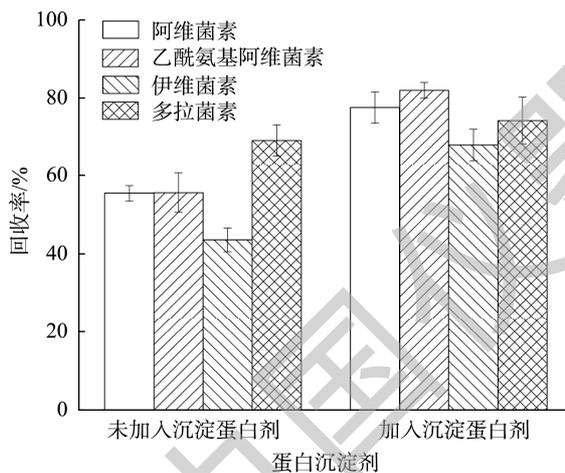


图 2 加入蛋白沉淀剂对回收率的影响

Fig.2 Effects of adding protein precipitator on recovery

### 2.2 磁性固相萃取条件的优化

#### 2.2.1 平衡液的优化

为了更好的活化平衡磁珠, 使得磁珠能够更好地吸附目标物, 平衡液一般与上样液接近, 从活化液过渡到上样液, 以减少上样损失率。通过比较水、20%乙腈、40%乙腈作为平衡液时 4 种药物的回收率, 结果如图 3 所示, 当选用 20%乙腈作为平衡液时效果更好, 且与上样液接近, 能够将目标物尽可能的吸附到磁珠上。因此本研究采用 20%乙腈作为平衡液。

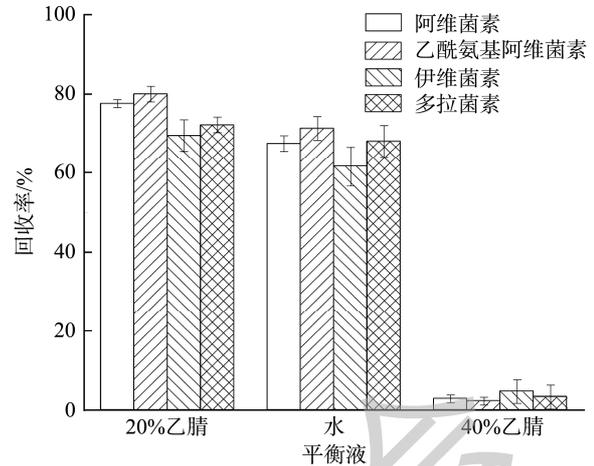


图 3 平衡液的选择

Fig.3 Selection of equilibrium solution

#### 2.2.2 淋洗液的优化

上样结束后, 由于磁珠上同时吸附有目标物和杂质, 在淋洗环节需要将杂质尽可能除去且保证目标物仍吸附在磁珠上。淋洗液的选择是影响磁性固相萃取法回收率的重要因素, 它不仅能去除非特异性结合的杂质, 而且还能最大程度地保留目标化合物, 从而提高检测的准确性和灵敏度<sup>[27-28]</sup>。本研究分别选取不同比例的乙腈-水溶液作为淋洗液进行比较。结果如图 4 所示, 当选用 5%乙腈作为淋洗液时, 4 种 AVMs 药物的回收率均在 60%~100%之间; 当选用 10%乙腈作为淋洗液时, 阿维菌素的回收率为 116%, 伊维菌素的回收率为 118%, 接近 120%, 说明部分杂质并未洗掉。为最大限度去除杂质, 将目标物吸附在磁珠表面, 故选择 5%乙腈作为淋洗液。

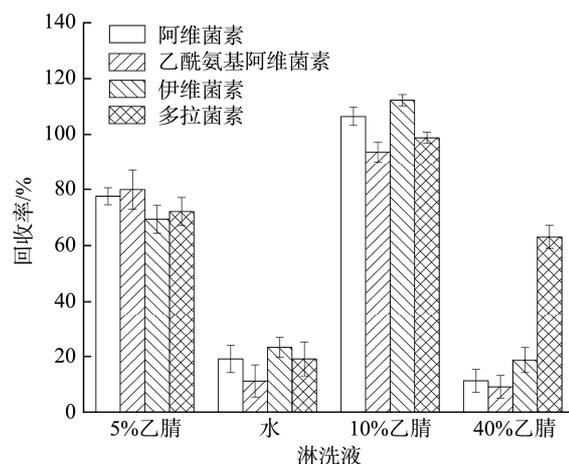


图 4 淋洗液的选择

Fig.4 Selection of eluent

#### 2.2.3 洗脱液及洗脱混合时间的优化

洗脱液分别选取 80%乙腈、乙腈、乙酸乙酯进行比较, 洗脱时的混合时间为 45 s, 通过比较选用不同洗脱液时 4

种药物的回收率, 如图 5 所示, 发现选用乙腈作为洗脱液时, 4 种药物的回收率均较为理想, 均在 60%~120% 区间内。为了节省时间, 且回收率在要求范围内, 尽可能减少洗脱液与磁珠的混合时间, 分别选择 15、30、45 s 作为洗脱时的混合时间, 通过振动超声使乙腈与磁珠充分混合, 将磁珠上的目标药物解析下来。结果发现当洗脱混合时间为 45 s 时, 4 种药物的回收率最高, 且均可达到规定范围内, 如图 6 所示。因此选择乙腈为洗脱液, 混合时间为 45 s。

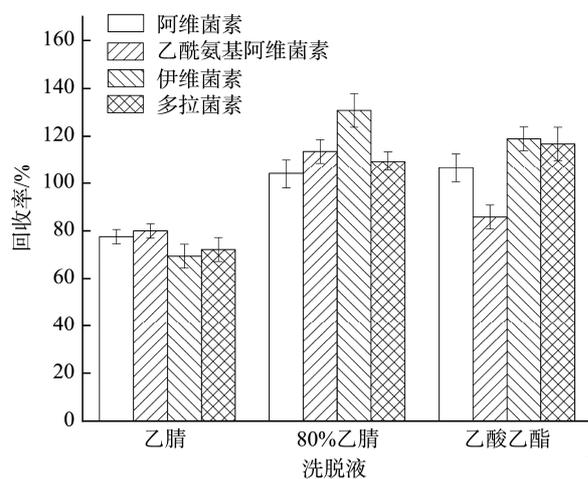


图 5 洗脱液的选择

Fig.5 Selection of eluent

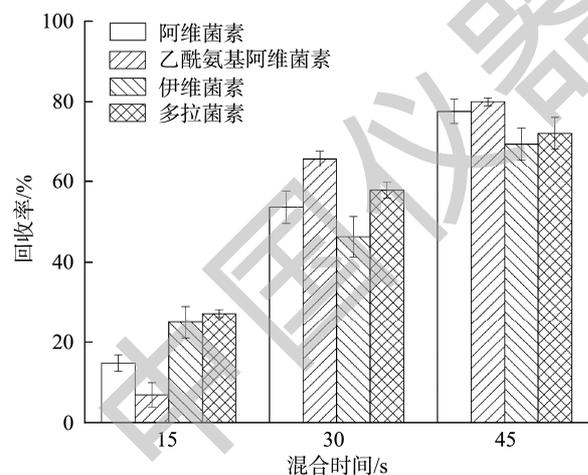


图 6 洗脱混合时间

Fig.6 Elution mixing time

### 2.3 色谱条件优化

本研究比较了 0.1%甲酸-水/乙腈、水/乙腈、5 mmol/L 乙酸铵溶液/乙腈、10 mmol/L 乙酸铵溶液/乙腈 4 种流动相体系对阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素的分离效果及峰信号强度的影响。结果显示, 4 种药物在以上 4 种流动相体系下均可出峰, 在选用 10 mmol/L 乙酸铵溶液/乙腈的流动相体系下峰信号强度明显高于其他流

动相体系, 故选择该流动相体系。调整合适的流动相梯度, 进行梯度洗脱, 在本研究的液相条件下, 4 种药物的总离子流色谱图(total ion chromatograph, TIC)见图 7。

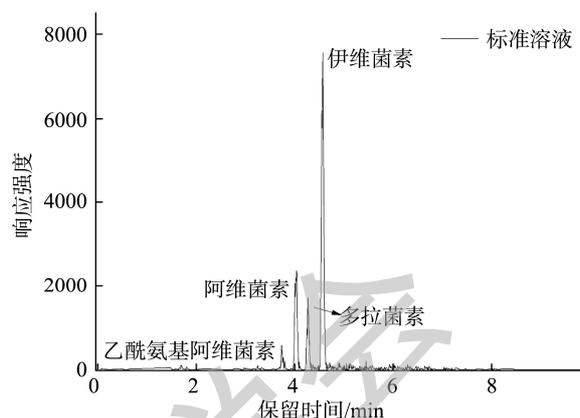


图 7 4 种药物的总离子流图

Fig.7 Total ion chromatograph of 4 kinds of drugs

### 2.4 方法性能

#### 2.4.1 基质效应的考察

取牛奶空白样品若干, 经前处理后, 分别加入质量浓度约为 100 ng/mL 的混合标准工作溶液 25  $\mu$ L、50  $\mu$ L 和质量浓度约为 1  $\mu$ g/mL 的混合标准中间液 50  $\mu$ L, 并用初始流动相定容至 1.00 mL, 复溶残渣, 过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜, 分别配制质量浓度约为 2.5、5.0 和 50.0 ng/mL 的基质溶液, 供 UPLC-MS/MS 检测。每个质量浓度制备 6 个平行样品, 通过计算基质标准工作曲线与溶剂标准工作曲线的斜率百分比来定义基质效应(matrix effect, ME)抑制或增强<sup>[29-30]</sup>, 可得出样品的基质效应。若  $ME < 1$ , 说明基质对目标物响应产生抑制作用;  $ME > 1$ , 说明基质会对目标物的响应产生增强作用;  $ME = 1$ , 说明无基质效应。经计算, 阿维菌素的 ME 约为 1.2, 乙酰氨基阿维菌素 ME 约为 1.1, 伊维菌素 ME 约为 1.0, 多拉菌素 ME 约为 0.96。4 种 AVMs 药物的 ME 均在 1 左右, 说明无明显的基质效应。

#### 2.4.2 标准曲线及线性范围的确定

精密量取 1  $\mu$ g/mL AVMs 混合标准工作液适量, 用 50%乙腈-水溶液稀释, 配制质量浓度分别为 0.2、0.5、1.0、10.0、20.0、100.0、200.0  $\mu$ g/L 的系列标准溶液, 从中各取 1.0 mL, 分别加入空白样品经提取、净化和吹干后的残留物中, 充分混匀、溶解, 作为基质匹配标准溶液, 过微孔滤膜后, 供超高效液相色谱仪测定。按上述离子扫描方法进样测定, 以分析物质量浓度为横坐标, 定量离子的色谱峰面积为纵坐标分别绘制阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素的标准曲线, 分别得到 4 种 AVMs 药物的线性方程、相关系数, 结果见表 3。结果表明, 阿维菌素、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素在 0.2~200  $\mu$ g/L 范围内线性关系良好, 相关系数  $r^2$  均大于 0.995。

表 3 4 种阿维菌素类药物的线性方程、相关系数  
Table 3 Linear equations and correlation coefficients for avermectin drugs

化合物	线性方程	相关系数( $r^2$ )
阿维菌素	$Y=4535.0X-27.9$	0.99987
乙酰氨基阿维菌素	$Y=599.0X+112.0$	0.99509
伊维菌素	$Y=7656.6X+460.2$	0.99977
多拉菌素	$Y=4259.8X+576.8$	0.99738

#### 2.4.3 检出限及定量限

取 2 g 空白牛奶基质进行添加回收实验, 添加适量浓度的 4 种 AVMs 药物的标准工作液于空白基质中, 经上述前处理方法处理后测定, 观察 4 种 AVMs 药物特征离子质谱色谱峰信噪比( $S/N$ )和对应药物质量浓度。 $S/N>3$  作为检

出限,  $S/N>10$  作为定量限, 得出阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素的检出限均为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限均为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 乙酰氨基阿维菌素的检出限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。与 GB 31659.4—2022《食品安全国家标准 奶及奶粉中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》相比, 虽乙酰氨基阿维菌素的定量限和检出限高于 GB 31659.4—2022, 但也达到检测要求。

#### 2.4.4 准确度和精密度实验

以空白牛奶为样品, 在 2.5、5.0、50.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个水平下进行加标回收实验, 每个质量浓度设置 6 个平行样品, 考察本方法的准确度和精密度, 结果见表 4, 标准溶液、加标样品、空白样品色谱图见图 8。牛奶中 4 种 AVMs 药物的回收率在 70%~90%之间, 相对标准偏差均 $\leq 15\%$ , 满足分析要求。

表 4 加标回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 4 Recoveries and relative standard deviations ( $n=6$ )

化合物	2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
阿维菌素	92.54	0.87	88.18	0.23	83.90	0.02
乙酰氨基阿维菌素	78.3	12.24	89.78	0.22	78.92	0.10
伊维菌素	94.81	0.42	86.58	0.23	79.04	0.05
多拉菌素	96.67	0.41	84.23	0.24	74.31	0.05

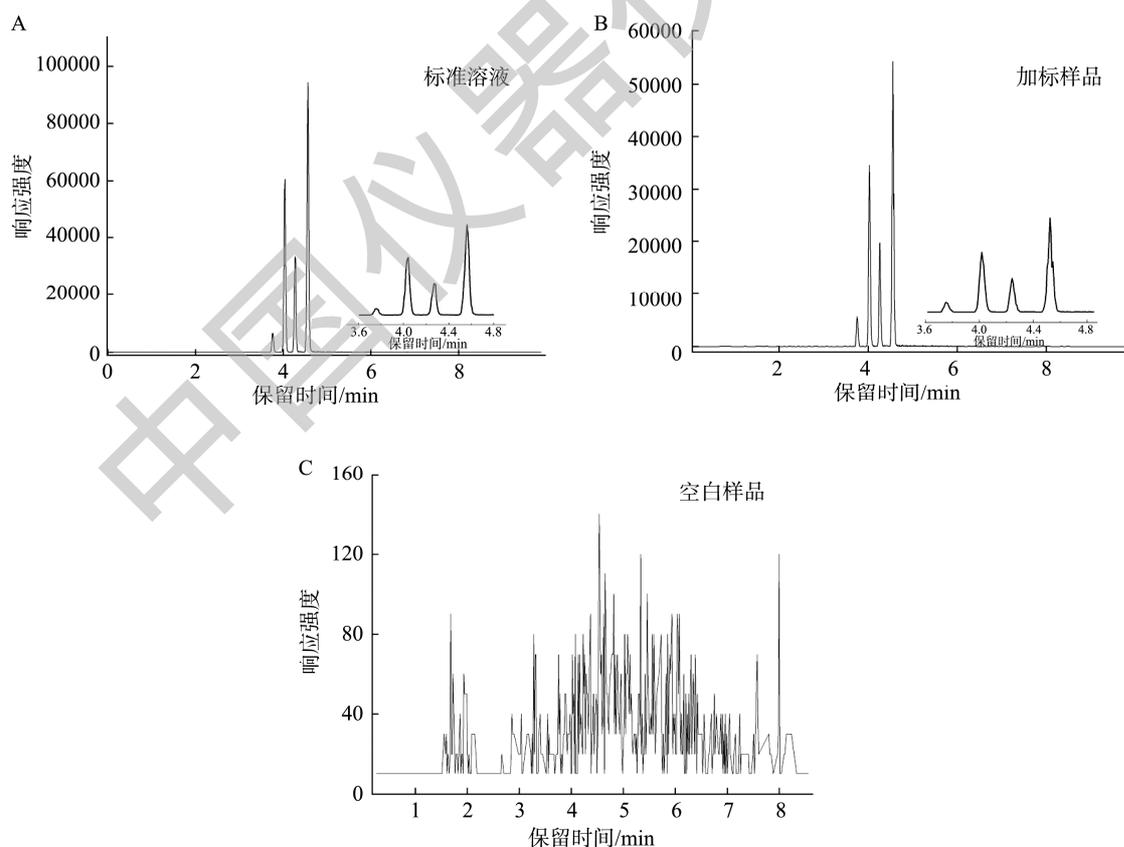


图 8 标准溶液(A)、加标样品(B)、空白样品(C)的色谱图

Fig.8 Chromatogram of standard solution (A), standard sample (B) and blank sample (C)

## 2.5 实际样品检测

对河北省 13 个市区抽查的 130 批牛奶样品进行检测, 检测结果是 4 种药物均未检出。

## 2.6 与国家标准方法的对比

选取牛奶样品, 将本研究方法与 GB 31659.4—2022 的方法在时间方面及有机溶剂用量方面进行比较, 结果如表 5 所示。本方法用时短, 且有机试剂总用量低, 更具有优势。

表 5 本方法与 GB 31659.4—2022 的对比  
Table 5 Comparison between this method and GB 31659.4—2022

	本方法	GB 31659.4—2022
时间/min	90	110
有机溶剂总用量/mL	约 30	约 70

## 3 讨论与结论

磁性固相萃取材料逐渐被检验检测从业者所认可和接受, 其对样品的净化和富集作用被广泛的应用于药物残留等多个领域中, 同传统 SPE 固相萃取方式相比, 磁性萃取材料具有成本较低、操作便捷等优点。全自动磁性固相萃取仪将活化、平衡、上样、淋洗、洗脱等步骤实现了整机操作。与传统的 SPE 前处理净化方法相比, 该过程用时短, 大大提高了工作效率。但是磁性固相萃取仪所需的磁性颗粒材料有限, 所测样品的种类也受到了限制, 所以在关于磁性固相材料的研究也是目前的研究热点之一。

本研究采用磁性固相萃取净化技术与超高效液相色谱-串联质谱仪联用, 建立了一种适用于牛奶中 AVMs 药物残留的 UPLC-MS/MS 分析检测方法。样品由乙腈进行提取, 经磁性固相萃取磁性颗粒材料净化后, 可实现对牛奶中 4 种 AVMs 药物的有效监测。该方法操作简单, 在提高了样品前处理效率和结果准确度的同时, 减少了人力、物力、财力的消耗。与目前的 GB 31659.4—2022 相比, 在保证准确度的同时, 省去了复杂的净化过程, 降低成本。为检测牛奶中 AVMs 药物的残留提供了有力的技术支持, 可以很好地满足牛奶中 AVMs 药物的实际检测需要。

## 参考文献

- [1] 向华平. 阿维菌素 B2 衍生物有机合成研究进展[J]. 当代化工研究, 2018, 31(7): 169–170.  
XIANG HP. Progress inorganic synthesis of avermectin B2 derivatives [J]. Res Contemp Chem Eng, 2018, 31(7): 169–170.
- [2] 陈吉香, 谢体波, 冯才伟. 阿维菌素、埃比菌素的残留检测[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(8): 119–124.  
CHEN JX, XIE TB, FENG CW. Detection of avermectin and escolin residues [J]. Food Res Dev, 2018, 39(8): 119–124.
- [3] 张文娟, 连庚寅, 郭晓喜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定 10 种食品中的阿维菌素类药物残留[J]. 食品科学, 2012, (18): 226–231.

- ZHANG WJ, LIAN GY, GUO XX, *et al.* Determination of avermectin residues in 10 foods by High-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2012, (18): 226–231.
- [4] 缙仲轩, 和风, 李紫萱, 等. 阿维菌素研究进展与产业综述[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(11): 1139–1148.  
GOU ZX, HE F, LI ZX, *et al.* Research advances and the industry of avermectin [J]. Chin J Antibiot, 2022, 47(11): 1139–1148.
- [5] 李卫平. 阿维菌素的研究进展[J]. 中国药业, 2012, 21(19): 3.  
LI WP. Research progress of avermectin [J]. China Pharm, 2012, 21(19): 3.
- [6] 倪腾腾, 彭大鹏, 谢书宇, 等. 饲料和畜禽产品中阿维菌素类药物快速检测技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(9): 2344–2351.  
NI TT, PENG DP, XIE SY, *et al.* Advances in rapid detection of avermectin drugs in feed and livestock products [J]. Chin J Anim Husbandry Vet Med, 2016, 43(9): 2344–2351.
- [7] 张玉洁, 沈昕, 李丹, 等. 阿维菌素类药物残留检测衍生化研究[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(7): 18–22.  
ZHANG YJ, SHEN X, LI D, *et al.* Derivatization study for the detection of avermectin residues [J]. Chin J Vet Med, 2020, 54(7): 18–22.
- [8] 高玉玲, 孙鹏, 梁婷, 等. 分散固相萃取-UHPLC-APCI-MS/MS 测定猪肉中阿维菌素类药物残留量[J]. 高师理科学刊, 2019, 39(7): 64–68.  
GAO YL, SUN P, LIANG T, *et al.* Determination of avermectin residues in pork by UHPLC-APCI-MS [J]. J Sci Norm Univ, 2019, 39(7): 64–68.
- [9] 张卫卫, 符贵红, 王元, 等. 阿维菌素在模拟水产养殖生态系统中的蓄积与消除规律[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 225–232.  
ZHANG WW, FU GH, WANG Y, *et al.* Accumulation and elimination of avermectin in a simulated aquaculture ecosystem [J]. J Fish Sci China, 2016, 23(1): 225–232.
- [10] 高洋洋, 李小丽, 赵媛媛, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定 12 种食品中的阿维菌素、伊维菌素类药物残留[J]. 质量安全与检验检测, 2020, 30(4): 10–15.  
GAO YY, LI XL, ZHAO YY, *et al.* Determination of avermectin and ivermectin residues in 12 kinds of foods by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Qual Saf Inspect Test, 2020, 30(4): 10–15.
- [11] 张玉洁, 李丹, 李倩, 等. 奶及奶粉中 4 种阿维菌素类药物残留检测高效液相色谱法[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(4): 88–91.  
ZHANG YJ, LI D, LI Q, *et al.* Determination of avermectin drug residues in milk and milk high-performance liquid chromatography [J]. Chin J Vet Med, 2017, 53(4): 88–91.
- [12] 王亦琳, 叶妮, 尹晖, 等. 液相色谱-串联质谱法检测牛奶中 4 种阿维菌素类药物残留量的研究[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(8): 33–38.  
WANG YL, YE N, YIN H, *et al.* Determination of four avermectin residues in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Vet Med, 2016, 50(8): 33–38.
- [13] 陈永平, 包艳, 许文龙, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水产养殖用非规范药品及水中扑草净、阿维菌素和伊维菌素的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(9): 1021–1027.  
CHEN YP, BAO Y, XU WL, *et al.* Determination of high-performance liquid chromatography, avermectin and ivermectin residues in non-standard aquaculture drugs and water by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Phys Chem Tests-Chem, 2023, 59(9): 1021–1027.
- [14] HOU XL, WU YN, SHEN JZ, *et al.* Multi-residue analysis of aver

- mectins in bovine liver and muscle by liquid chromatography-fluorescence detector [J]. *Chromatographia*, 2007, 65: 77–80.
- [15] ALI SM, SUN T, MCLEROY GE, *et al.* Confirmation of eprinomectin, moxidectin, abamectin, doramectin, and ivermectin in beef liver by liquid chromatography/positive ion atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *AOAC Int*, 2000, 83: 31.
- [16] 张元, 谷岩, 贾宏新. 固相萃取-高效液相色谱-紫外检测法测定蔬菜中阿维菌素的残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(6): 1958–1961.
- ZHANG Y, GU Y, JIA HX. Determination of high-performance liquid chromatography avermectin residues in vegetables by solid phase extraction-ultraviolet detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(6): 1958–1961.
- [17] 刘桂伶, 李婷婷. 高效液相色谱法检测 8 种果蔬中阿维菌素残留量的分析方法[J]. *新疆农业科技*, 2020, (1): 38–39.
- LIU GL, LI TT. Method for the determination of avermectin residue in fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography [J]. *Xinjiang Agric Sci Technol*, 2020, (1): 38–39.
- [18] FLOREZ DHÂ, TEIXEIRA RA, SANTOS DRC, *et al.* Pipette-tip solid-phase extraction using polypyrrole as efficient adsorbent for extraction of avermectins and milbemycins in milk [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(14): 3361–3374.
- [19] XIE ZJ, KONG DZ, LIU LQ, *et al.* Development of ic-ELISA and lateral-flow immunochromatographic assay strip for the simultaneous detection of avermectin and ivermectin [J]. *Food Agric Immunol*, 2017, 28(3): 439–451.
- [20] 方玲, 卞红正, 赵宏梅. QuEChERS-UPLC-MS/MS 法测定水果蔬菜中的阿维菌素[J]. *安徽农学通报*, 2019, 25(9): 106–108.
- FANG L, BIAN HZ, ZHAO HM. Determination of avermectin in fruits and vegetables by QuEChERS-UPLC-MS [J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 2019, 25(9): 106–108.
- [21] MOSCHOU IC, DASENAKI ME, THOMAIDIS S. Ionization study and simultaneous determination of avermectins and milbemycins in fish tissue by LC-ESI-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1104: 134–140.
- [22] 黄梅英, 王华珍, 卢军, 等. 应用 QuEChERS-HPLC/MS/MS 法测定鸡蛋中的氯羟吡啶和阿维菌素[J]. *浙江农业科学*, 2020, 61(9): 1872–1875.
- HUANG MY, WANG HZ, LU J, *et al.* QuEChers-hplc-ms method was used for the determination of chloropyridine and avermectin in eggs [J]. *Zhejiang Agric Sci*, 2020, 61(9): 1872–1875.
- [23] BEPPU K, SAITO D, MUGURUMA Y, *et al.* Stable isotope labeling by carbon-13 in bacteria culture for the analysis of residual avermectin using stable isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Sci*, 2021, 37(10): 1385–1390.
- [24] 王亚会, 李祥波. 液质联用法测定部分原料中的阿维菌素[J]. *食品工业*, 2023, 44(7): 317–321.
- WANG YH, LI XB. Determination of avermectin in some raw materials by LC-MS [J]. *Food Ind*, 2023, 44(7): 317–321.
- [25] 方力, 邱凤梅, 余新威, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测牛奶中硝基咪唑类药物及其代谢物残留[J]. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(1): 17–22.
- FANG L, QIU FM, YU XW, *et al.* Determination of nitroimidazoles and their metabolites in milk by High-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2019, 31(1): 17–22.
- [26] 漆亚乔, 彭名军, 黄秋婷, 等. 4 种蛋白质沉淀剂测定乳粉中非蛋白氮含量的效果[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(16): 5736–5741.
- QI YQ, PENG MJ, HUANG QT, *et al.* 4 kinds of protein precipitators for the determination of non-protein nitrogen content in milk powder [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(16): 5736–5741.
- [27] 朱旭冉, 刘媛, 韩正政, 等. 分子印迹掺杂金属有机框架固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定大米中 10 种磺酰脲类除草剂[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(2): 213–219, 226.
- ZHU XR, LIU Y, HAN ZZ, *et al.* Determination of 10 sulfonylurea herbicides by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with molecularly imprinted polymers solid phase extraction doped metal organic frameworks [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(2): 213–219, 226.
- [28] 冉丹, 罗苏芬, 张可欣, 等. HPLC 法检测蜜饯中 20 种合成着色剂含量[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(16): 281–289.
- RAN D, LUO SS, ZHANG KX, *et al.* Determination of 20 kinds of synthetic colorants in candied fruit by HPLC [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(16): 281–289.
- [29] 艾道迎, 郑奕柔, 黄展锐, 等. 湘派卤汁中 10 种真菌毒素液相色谱串联质谱法的建立与评价[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(3): 306–313.
- AI DY, ZHENG YR, HUANG ZR, *et al.* Establishment and evaluation of LC-MS/MS method for ten mycotoxins in Xiangpai brine [J]. *Food Ferment Ind*, 2023, 49(3): 306–313.
- [30] 冯婷婷, 魏旭东, 郑仕剑, 等. 基于复合萃取技术-超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法同时测定谷物及其制品中 10 种真菌毒素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(16): 196–204.
- FENG TT, WEI XD, ZHENG SJ, *et al.* Simultaneous determination of 10 mycotoxins in cereals and their products by High-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry based on a complex extraction technique [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(16): 196–204.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

## 作者简介



石梦涵, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测分析。

E-mail: 973909032@qq.com



周茜, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与检测技术。

E-mail: zhouqian@hebau.cn



李肖莉, 高级兽医师, 主要研究方向为畜牧兽医。

E-mail: 1336197134@qq.com