

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250522002

引用格式: 沈斯文, 王敏, 汪弘康, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定生乳中抗吸虫药物及其代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 28–35.

SHEN SW, WANG M, WANG HK, *et al.* Determination of fasciolicides and its metabolite residues in raw milk by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 28–35. (in Chinese with English abstract).

# QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定生乳中抗吸虫药物及其代谢物残留量

沈斯文, 王敏, 汪弘康, 祁兵, 高猛峰, 黄祎雯, 俞奔, 梅博, 陆倩楠, 王霞\*  
(上海市农产品质量安全中心, 上海 201708)

**摘要:** **目的** 建立一种 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 同时测定生乳中抗吸虫药物及其代谢物 (硝碘酚脒、碘醚柳胺、氯氰碘柳胺、三氯苯达唑和三氯苯达唑酮) 的分析方法。**方法** 生乳样品加入 3% 三乙胺乙腈-乙酸乙酯 (7:3, V:V) 溶液提取, 经 C<sub>18</sub> 吸附剂净化后, 采用 UPLC-MS/MS 测定, 外标法定量。以 0.1% 甲酸溶液-乙腈为流动相, ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (2.1mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱进行色谱分离, 在电喷雾正负离子切换扫描模式下, 多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 方式进行测定。**结果** 抗吸虫药物及其代谢物在 1~100 μg/L 质量浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数 (*r*) 均大于 0.9988, 检出限为 2.5 μg/kg, 定量限为 5 μg/kg。在 10、20、100 μg/kg 浓度水平下, 5 种化合物的平均回收率在 86.0%~108.2% 范围之内, 相对标准偏差范围为 0.81%~5.60%。**结论** 该方法简单快捷、准确可靠, 适用于生乳中抗吸虫药物及其代谢物残留量的快速测定。**关键词:** QuEChERS; 抗吸虫药物; 超高效液相色谱-串联质谱法; 生乳

## Determination of fasciolicides and its metabolite residues in raw milk by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHEN Si-Wen, WANG Min, WANG Hong-Kang, QI Bing, GAO Meng-Feng,  
HUANG Yi-Wen, YU Ben, MEI Bo, LU Qian-Nan, WANG Xia\*

(Shanghai Quality and Safety Testing Centre of Agricultural Product, Shanghai 201708, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the simultaneous determination of fasciolicides and its metabolite (nitroxinil, rafoxanide, closantel, triclabendazole and ketotriclabendazole) in raw milk by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The

收稿日期: 2025-05-22

基金项目: 2023 年上海市奶业优势特色产业集群科研类项目 (沪农委[2024]74 号)

第一作者: 沈斯文 (1997—), 女, 助理畜牧师, 主要研究方向为农产品质量安全检测及风险评估研究。E-mail: shensiwen1997@163.com

\*通信作者: 王霞 (1985—), 女, 硕士, 高级畜牧师, 主要研究方向为农产品质量安全及风险评估研究。E-mail: wangxia1698@163.com

raw milk samples was extracted with 3% triethylamine acetonitrile-ethyl acetate acetate solution (7:3, V:V), purified by C<sub>18</sub> adsorbent powder, and determined by UPLC-MS/MS with external standard method. The chromatographic separation was performed on an ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm 1.8 μm) column with a mobile phase of 0.1% formic acid-acetonitrile solution, and detected under multiple reaction monitoring (MRM) mode in the positive and negative electrospray ion modes. **Results** The results showed that a good linear relationship was obtained in the mass concentration range of 1 to 100 μg/L for fasciolicides and its metabolite, and the correlation coefficients (*r*) were all greater than 0.9988, the limits of detection were 2.5 μg/kg, and the limits of quantitation were 5 μg/kg. The average recoveries of 5 kinds of compounds at the concentration levels of 10, 20 and 100 μg/kg were between 86.0% and 108.2%, and the relative standard deviation ranged from 0.81% to 5.60%. **Conclusion** The method is simple, rapid accurate and reliable, and is suitable for the rapid determination of the residues of fasciolicides and its metabolite in raw milk.

**KEY WORDS:** QuEChERS; fasciolicides; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; raw milk

## 0 引言

生乳营养丰富,深受消费者喜爱,其质量作为食品安全问题备受全球关注。在奶牛养殖中,兽药被广泛用于防治疾病和促进生长。吸虫病是牛和羊等反刍动物易感染的寄生虫病之一,以肝片吸虫最为常见,主要寄生于哺乳动物的肺部、胆道和肝脏位置,直接破坏器官,导致动物瘦弱、发育障碍,从而造成产肉量减少或肉质品质下降,给畜牧业经济造成巨大损失<sup>[1-4]</sup>。

肝片吸虫病是人畜共患的寄生虫病,诊断较困难。人感染后可引起肝脏损害和出血,可造成胆管阻塞、肝实质变性、黄疸等<sup>[5-6]</sup>。我国牛羊养殖中,抗吸虫病药物普遍使用,常用的主要有氯氰碘柳胺、硝碘酚腈、碘醚柳胺和三氯苯达唑<sup>[7]</sup>。不合理用药或动物产品生产加工不规范等情况下,容易导致该类药物在牛羊乳中残留。长期食用含有抗吸虫药物残留的乳及乳制品,易产生抗药性,给牲畜和人类健康带来巨大威胁,也会对畜牧业生产造成严重的经济损失。

为了确保消费者健康和牛奶质量,欧盟、韩国、新西兰等已经制定了抗吸虫药物的最大残留量(maximum residue limits, MRLs)。我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留量》也规定了硝碘酚腈、碘醚柳胺、氯氰碘柳胺、三氯苯达唑在牛乳、羊乳中的限量,分别为 10~45 μg/kg,其中三氯苯达唑残留标志物为三氯苯达唑酮。目前,报道较多的抗吸虫药物残留的检测方法主要有高效液相色谱法<sup>[8-10]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[11-15]</sup>。

兽药残留前处理方法主要有液液萃取法(liquid-liquid extraction, LLE)、固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)和分散固相萃取法(dispersive solid-phase extraction, dSPE)等<sup>[16-18]</sup>。目前用于抗吸虫药物检测的样品前处理技术主要

有液液萃取法<sup>[19-21]</sup>和固相萃取法<sup>[11,22]</sup>。LLE 作为一种经典的分离技术,具有一定的优势,但存在操作复杂、耗时、成本高等缺点<sup>[16]</sup>。SPE 是通过固相和液相之间的化学作用,实现对目标化合物的分离、富集和净化,具有有机溶剂消耗量少,适合批量样品处理等特点,在农药、兽药残留等检测领域使用较为广泛。在样品前处理方面 SPE 有许多优势,但前处理中需要活化、上样、淋洗、洗脱等一系列操作,过程耗时长,且成本、技术要求和样品适用性等方面也存在局限性<sup>[23-24]</sup>。dSPE 是一种新兴的样品前处理技术,结合了 LLE 和 SPE 的优点,具有操作简单、耗时短、耗材少、成本低等优势,已被广泛应用于环境、食品、药物、生物等领域的样品前处理中<sup>[25-26]</sup>。QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)是一种快速、简便、价格低廉的分析方法,通过使用 dSPE 对萃取液进行净化,具有回收率高和操作简单快速的特点,被广泛用于农药残留检测方面<sup>[27-29]</sup>。目前,QuEChERS 前处理技术多用于动物源食品中大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类和四环素类等兽药残留的测定<sup>[30-31]</sup>,但针对生乳基质中的硝碘酚腈等抗吸虫药物残留测定的报道则相对有限。

本研究基于 QuEChERS 前处理技术,结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS),建立一种同时测定生乳中抗吸虫药物及其代谢物的检测方法,以期对批量生乳中抗吸虫药物快速筛查提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

甲醇、乙腈、乙酸乙酯(色谱纯,德国 Merck 公司);甲酸、醋酸、三乙胺(色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司);Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、NaCl、MgSO<sub>4</sub>、氨水(分析纯,国药集团化学

试剂有限公司); 硝碘酚脒、碘醚柳胺、氯氰碘柳胺、三氯苯达唑、三氯苯达唑酮标准溶液(质量浓度 100  $\mu\text{g/mL}$ , 天津阿尔塔科技有限公司); 乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、 $\text{C}_{18}$  吸附剂(天津博纳艾杰尔科技有限公司); 实验用水为超纯水。

## 1.2 仪器与设备

6495 QQQ 超高效液相色谱-串联质谱仪[配电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI)]、ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm 1.8  $\mu\text{m}$ )(美国 Agilent 公司); ML204 电子分析天平(精度 0.0001 g)、ML802 电子分析天平(精度 0.01 g)(瑞士梅特勒-托利多公司); X1R 冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SIGMA 2-16K 高速离心机(转速 $\geq$ 15000 r/min, 德国 Sigma 公司); DC-24 水浴氮吹仪(上海安谱实验科技股份有限公司); Vortex-230V 涡旋振荡器(美国 Talboys 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); HSS T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ )(美国 Waters 公司)。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 样品采集

生乳样品参照 NY/T 4631—2025《生乳采样技术规范》的采样要求, 采集自上海市某一规模化奶牛场。生乳样品用聚丙烯塑料样品瓶盛装, 4  $^{\circ}\text{C}$  冷链运输至实验室后于 -18  $^{\circ}\text{C}$  条件下保存。

### 1.3.2 前处理方法

准确称取 5 g 生乳(精确至 0.01 g)置于 50 mL 聚丙烯塑料离心管中, 精确加入 10 mL 3% 三乙胺乙腈-乙酸乙酯溶液(7:3, V:V), 涡旋混匀, 超声提取 15 min 后, 加入 7.5 g 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 剧烈振荡 1 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 10000 r/min 离心 10 min。吸取 4 mL 上清液至含有 100 mg  $\text{C}_{18}$  的 15 mL 聚丙烯塑料离心管中, 涡旋混匀 1 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 3000 r/min 离心 5 min。准确吸取 1 mL 上清液至另一 15 mL 聚丙烯塑料离心管, 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴氮气吹干, 精确加入 1 mL 乙腈溶解残渣, 混匀, 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 12000 r/min 离心 10 min, 取上层清液供 UPLC-MS/MS 测定。

### 1.3.3 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  柱(2.1 mm $\times$ 100 mm

1.8  $\mu\text{m}$ ); 进样体积: 2  $\mu\text{L}$ ; 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ 。流动相 A 为 0.1% 甲酸-水溶液, B 为乙腈。流速: 0.4 mL/min。梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 95% A; 0.5~3.0 min, 95%~5% A; 3.0~4.0 min, 5%A; 4.0~4.5 min, 5%~95% A; 4.5~7.0 min, 95% A。

### 1.3.4 质谱条件

离子源: ESI 源; 扫描方式: 正负离子扫描; 监测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 正离子 3500 V, 负离子 -4000 V; 离子源温度: 450  $^{\circ}\text{C}$ ; 干燥气温度: 210  $^{\circ}\text{C}$ ; 干燥气流速: 13 L/min; 鞘气温度: 400  $^{\circ}\text{C}$ ; 鞘气流速: 12 L/min; 质谱采集参数见表 1。

## 1.4 数据处理

本研究采用安捷伦 MassHunter (Version B.09.00) 工作站采集和处理数据, Microsoft Excel 2013 统计和分析数据, Origin 2021 绘制图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 仪器条件优化

#### 2.1.1 质谱条件的优化

分别将 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的硝碘酚脒、碘醚柳胺、氯氰碘柳胺、三氯苯达唑和三氯苯达唑酮标准溶液注入质谱系统, 以正离子和负离子模式在  $m/z$  100~700 的范围内进行一级质谱图扫描, 自动对化合物进行优化, 得到各目标物的分子离子  $[\text{M}+\text{H}]^+$  和  $[\text{M}-\text{H}]^-$  峰。以分子离子作为母离子, 进行二级子离子扫描, 选取丰度最强的碎片离子作为定量离子, 次强碎片离子作为定性离子, 优化选择每种目标物的母离子和子离子所需碰撞能量和锥孔电压, 优化后的质谱参数详见表 1。

#### 2.1.2 色谱条件的优化

考虑到 5 种目标分析物的极性不同, 本研究考察了 ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) 和 HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱对目标物的分离保留作用。结果发现, 碘醚柳胺和三氯苯达唑在 ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  色谱柱上的分离优于 HSS T3 色谱柱, 且目标分析物的峰形及响应值均优于 HSS T3 色谱柱, 故选择使用 ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  色谱柱。5 种目标分析物的总离子流图详见图 1。

表 1 5 种目标分析物的质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of 5 kinds of analytes

目标分析物	保留时间/min	加合模式	前体离子( $m/z$ )	碎片离子( $m/z$ )	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
硝碘酚脒	2.99	$[\text{M}-\text{H}]^-$	288.9	127.0*/162.0	-380	-28/-20
碘醚柳胺	4.68	$[\text{M}-\text{H}]^-$	623.8	126.9*/344.7	-380	-48/-40
氯氰碘柳胺	4.28	$[\text{M}-\text{H}]^-$	660.9	315.0*/344.9	-380	-40/-44
三氯苯达唑	3.53	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.0	274.0*/242.0	380	40/40
三氯苯达唑酮	3.16	$[\text{M}-\text{H}]^-$	327.1	181.9*/146.1	-380	-40/-44

注: \*表示定量离子。

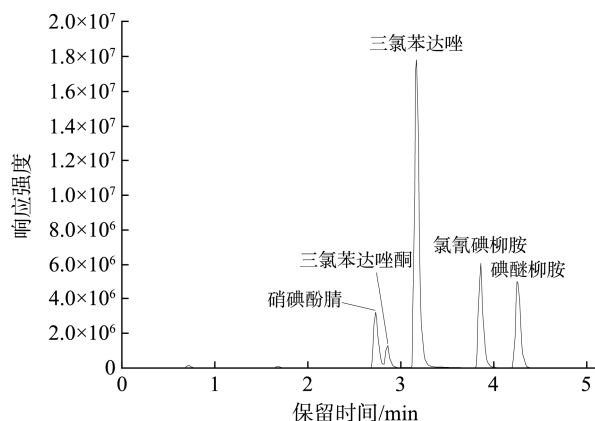


图 1 5 种目标分析物的总离子流图(10 µg/L)  
Fig.1 Total ion chromatograms of 5 kinds of analytes (10 µg/L)

C<sub>18</sub> 色谱柱常用流动相包括乙腈、甲醇和水溶液等, 流动相中加入适量的甲酸、甲酸铵和乙酸铵等, 可以提高离子化效率, 减少色谱峰拖尾, 改善峰形。本研究分别考察了 0.1% 甲酸水溶液-乙腈、5 mmol/L 甲酸铵水溶液-乙腈和 5 mmol/L 乙酸铵水溶液-乙腈 3 种流动相对目标分析物的影响。结果发现, 采用 0.1% 甲酸水溶液-乙腈作为流动相时, 大部分目标分析物的响应最好, 且峰形尖锐、对称, 分离效果更好。因此, 最终选择 0.1% 甲酸水溶液-乙腈作为流动相进行实验。

## 2.2 前处理条件优化

### 2.2.1 提取试剂的选择

生乳样品含有脂肪、蛋白质等营养物质, 其药物残留检测常用提取溶剂主要有甲醇、乙腈、乙酸乙酯等。甲醇和乙腈的极性相对较高, 提取效率较好, 且有沉淀蛋白的作用; 乙酸乙酯为中等极性的溶剂, 适用于提取游离生物碱、有机酸、黄酮等中等极性的物质。5 种目标化合物的结构不同, 极性不同, 其中碘醚柳胺和氯氰碘柳胺的极性相对较弱, 受提取溶剂影响较大。本研究考察了甲醇、乙腈、乙酸乙酯以及乙腈-乙酸乙酯不同比例组合溶剂作为提取试剂时对 5 种目标分析物的提取效果影响。结果表明(图 2), 采用乙腈-乙酸乙酯(7:3, V:V)溶液提取, 5 种目标分析物的平均回收率在 50.9%~88.0% 范围内, 提取结果整体上优于其他提取剂。

为进一步提高提取效果, 加入适量氨水、三乙胺、甲酸调节提取液酸碱性, 考察不同酸碱条件下目标分析物的提取效果。结果发现(图 3), 酸性条件下碘醚柳胺和氯氰碘柳胺中的酰胺基可能发生水解或质子化, 增强了与基质的结合导致回收率降低。而三乙胺对化合物的提取效果有显著提升, 原因可能在于三乙胺与目标分析物的酸性基团(如酚羟基、羧酸)结合, 减少了基质中蛋白质、乳脂等物质对分析物的包裹。比较不同浓度下三乙胺对回收率的影响, 3% 三乙胺乙腈-乙酸乙酯(7:3, V:V)作为提取试剂时, 各化

合物的回收率在 71%~101% 之间。因此, 选用 3% 三乙胺乙腈-乙酸乙酯(7:3, V:V)溶液作为提取剂。

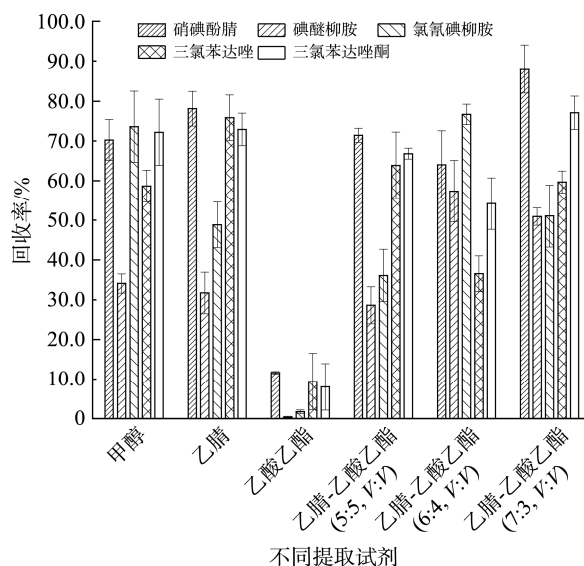


图 2 不同提取试剂对 5 种目标分析物回收率的影响  
Fig.2 Effects of different extraction reagents on the recoveries of 5 kinds of analytes

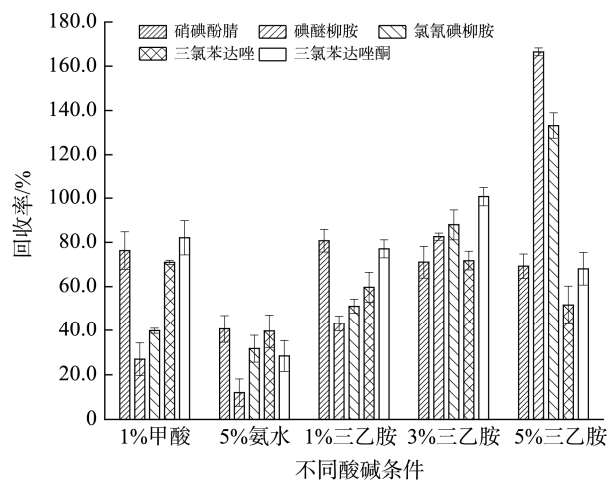


图 3 不同酸碱条件对 5 种目标分析物回收率的影响  
Fig.3 Effects of different acid-base conditions on the recoveries of 5 kinds of analytes

### 2.2.2 盐析条件的优化

生乳样品水分占比大, 采用乙腈提取时, 乙腈与水互相溶解, 可通过盐析效应提高提取效率。本研究考察了 3 种盐析材料(NaCl、无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和无水 MgSO<sub>4</sub>)对目标物提取效果的影响。结果发现(图 4), 采用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 进行盐析, 5 种目标分析物的回收率在 80%~101% 范围内。而采用 NaCl 和无水 MgSO<sub>4</sub> 进行盐析时, 碘醚柳胺和氯氰碘柳胺提取效率受影响较大。NaCl 具有较高的离子强度, 盐析效应强, 可能与氯氰碘柳胺的卤代物发生离子交换, 造成特异性增强。无水 MgSO<sub>4</sub> 具有强脱水性和放热特性, 其水

合后形成的多孔结晶水合物可物理吸附疏水性药物,而碘醚柳胺的疏水性较强,可能被包裹滞留在结晶物中,造成碘醚柳胺的损失。此外,碘醚柳胺中含有多个碘原子,其热稳定性较差,无水  $MgSO_4$  吸水时的局部过热也可能导致碘醚柳胺热分解。为确保样品中的水分除尽且不影响定量结果,最终选择无水  $Na_2SO_4$  进行盐析。

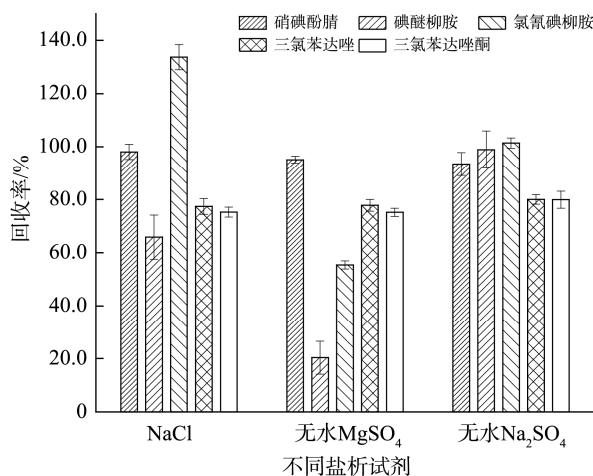


图 4 不同盐析试剂对 5 种目标分析物回收率的影响  
Fig.4 Effects of different salting agents on the recoveries of 5 kinds of analytes

### 2.2.3 净化条件的优化

生乳富含蛋白质、脂肪、矿物质和维生素等营养物质,本研究考察了 dSPE 常用的 PSA 和  $C_{18}$  吸附剂的去杂效果。与 PSA 相比,  $C_{18}$  能有效去除生乳中的脂肪、磷脂和蛋白质等杂质,且对目标分析物有较弱的吸附。本研究进一步考察了 25、50、75 mg  $C_{18}$  吸附剂对目标分析物回收率的影响。结果发现(图 5),随  $C_{18}$  使用量的增加,三氯苯达唑酮的回收率从 90.1% 大幅下降至 72.5%,其余 4 种目标分析物的回收率在 81.3%~95.3% 之间,综合考虑净化效果和实验成本,最终确定每毫升提取液采用 25 mg  $C_{18}$  吸附剂进行净化。

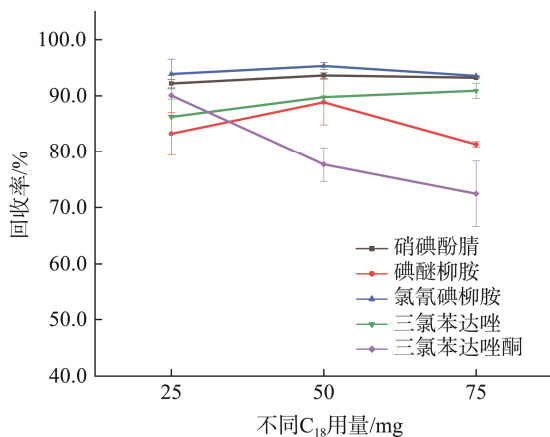


图 5 不同  $C_{18}$  用量对 5 种目标分析物回收率的影响  
Fig.5 Effects of different  $C_{18}$  dosages on the recoveries of 5 kinds of analytes

### 2.2.4 滤膜的选择

采用液相色谱法或液相色谱-串联质谱法检测分析时,需采用微孔滤膜过滤或高速离心法去除溶液中的不溶性粒子,以避免堵塞色谱系统,同时消除杂质干扰,获得理想的色谱分离结果。微孔滤膜是一种具有微小孔径的薄膜,能够过滤微粒、细菌等物质。实验过程中,应考虑到目标分析物的特性和实验需求,选择合适的滤膜材质以减少或避免不必要的吸附作用。本研究通过将 0.05  $\mu\text{g/mL}$  混合标准溶液分别过膜上机测定,考察不同材质微孔滤膜(疏水性聚四氟乙烯、有机相尼龙、疏水性聚偏氟乙烯、疏水性聚丙烯)的吸附作用。结果发现,与未过膜的混合标准溶液相比,4 种微孔滤膜对目标分析物均有一定吸附作用,吸附作用最小的聚丙烯材质滤膜,氯氟碘柳胺的回收率也仅到 66.8%(图 6)。因此,选择采用低温高速离心(4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 12000 r/min 离心 10 min)方式去除最终提取液中的杂质。

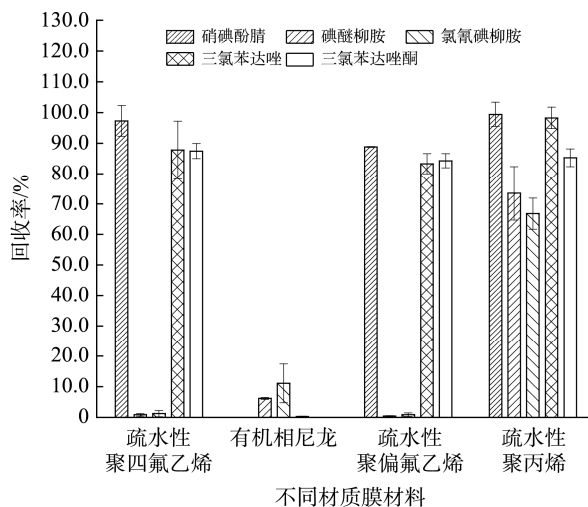


图 6 不同材质膜材料对 5 种目标分析物回收率的影响  
Fig.6 Effects of different microporous membrane on the recoveries of 5 kinds of analytes

## 2.3 方法学研究

### 2.3.1 基质效应评价

基质效应(matrix effect, ME)指样品中除目标分析物以外的组分对检测结果的影响,ME 的存在会使目标物的响应出现增强或者抑制,影响分析结果的准确性<sup>[32]</sup>。为评估生乳基质对 5 种目标分析物的影响,采用相对响应值法( $ME = \text{基质标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率}$ )进行 ME 的评价<sup>[11]</sup>。若  $ME < 1$ ,说明存在基质抑制效应;若  $ME > 1$ ,说明存在基质增强效应;若  $0.8 < ME < 1.2$ ,通常认为 ME 较弱,可以忽略,若  $ME \leq 0.8$  或  $ME \geq 1.2$ ,则表明 ME 较强,在测定时需考虑基质对结果的影响。分别采集 10  $\mu\text{g/L}$  的乙腈混合标准溶液和生乳空白基质匹配标准工作溶液,检测响应值并计算 ME。结果显示,三氯苯达唑酮表现为基质抑制效应,其他 4 种目标分析物呈现为基质增强效应,详见表 2。



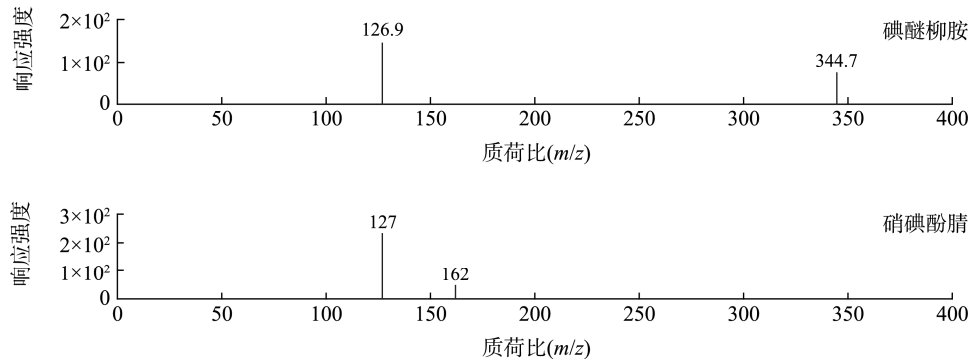


图 7(续) 5 种目标分析物的碎片离子质谱图(5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )  
Fig.7 Fragment ion mass spectrometry images of 5 kinds of analytes (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

## 2.4 实际样品的测定

采用本研究所建立的方法, 对市售的 35 份鲜奶样品进行 5 种抗吸虫药物的检测, 结果未发现样品中检出抗吸虫药物残留现象。

## 3 结论

本研究将 QuEChERS 前处理方法应用于生乳中抗吸虫药物及其代谢物的检测, 通过对前处理提取、净化过程及仪器条件进行优化, 建立了生乳中 5 种抗吸虫药物及其代谢物的 UPLC-MS/MS, 检出限为 2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法简单快捷、准确可靠, 适用于生乳中抗吸虫药物及其代谢物残留量的批量监测。

## 参考文献

- [1] 董文婷, 曾勇, 卢芳, 等. 增强型脂肪净化技术结合超高效液相色谱-串联质谱法测定牛羊可食性组织中碘醚柳胺残留[J]. 农产品质量与安全, 2023, 3: 62-67.  
DONG WT, ZENG Y, LU F, *et al.* Determination of rafoxanide residues in edible tissues of cattle and sheep by enhanced fat purification technology combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Quality and Safety of Agro-Products, 2023, 3: 62-67.
- [2] 薛东堂. 牛羊常见寄生虫病的类型及防治措施[J]. 畜牧业环境, 2025, 1: 107-109.  
XUE DT. Types and prevention of common parasitic diseases in cattle and sheep [J]. Animal Industry and Environment, 2025, 1: 107-109.
- [3] 查干莲花. 牛羊寄生虫病防控研究[J]. 粮油与饲料科技, 2024, 8: 171-173.  
ZHA GLH. Research on the prevention and control of parasitic diseases in cattle and sheep [J]. Grain Oil and Feed Technology, 2024, 8: 171-173.
- [4] 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]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(5): 255-261.
- [5] 周愉乐, 唐文强, 赵霞玲, 等. 肝片吸虫检测方法概述[J]. 动物医学进展, 2024, 45(7): 114-119.  
ZHOU YL, TANG WQ, ZHAO XL, *et al.* Overview on detection methods of *Fasciola hepatica* [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2024, 45(7): 114-119.
- [6] HOU JB, SHI YZ, MAO RY, *et al.* Determining nine fasciolicides and three metabolite residues in milk and infant formula using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Research International, 2024, 192: 114753.
- [7] 王彬, 刘国姣, 严恒, 等. 牛羊肉中 6 种抗肝片吸虫药残留测定的 HPLC-MS/MS 方法研究[J]. 食品科技, 2019, 44(5): 335-339, 10.  
WANG B, LIU GJ, YAN H, *et al.* Determination of 6 fasciolicide in beef and mutton using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(5): 335-339, 10.
- [8] 仲锋, 李丹, 汪霞, 等. 羊组织中三氯苯达唑及其代谢物残留的 HPLC 检测方法研究[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(5): 1-3.  
ZHONG F, LI D, WANG X, *et al.* Study on detection method for triclabendazole and metabolite residues in sheep tissues by HPLC [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2010, 44(5): 1-3.
- [9] 王丽娜, 田晓玲, 刘鸿鹤, 等. 高效液相色谱法测定牛羊组织中碘醚柳胺残留量[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(8): 29-37.  
WANG LN, TAIN XL, LIU HH, *et al.* Determination of rafoxanide residues in the tissue of cattle and sheep by liquid chromatography method [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2022, 56(8): 29-37.
- [10] TAKEBA K, FUJINUMA K, SAKAMOTO M, *et al.* Simultaneous determination of triclabendazole and its sulphoxide and sulphone metabolites in bovine milk by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 882(1-2): 99-107.
- [11] 杨帆, 张晓梅, 阎炳, 等. 超高压液相色谱-串联质谱法测定奶粉中抗吸虫药物残留[J]. 分析化学, 2023, 51(10): 1685-1692.  
YANG F, ZHANG XM, YAN B, *et al.* Determination of fasciolicide residues in milk powder by ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical Chemical, 2023, 51(10): 1685-1692.
- [12] CALDOW M, SHARMAN M, KELLY M, *et al.* Multi-residue determination of phenolic and salicylanilide anthelmintics and related compounds in bovine kidney by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(46): 8200-8205.
- [13] MELEKHIN AO, TOLMACHEVA VV, GONCHAROV NO, *et al.* Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hypercrosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132866.

- [14] 乔勇升, 王萍, 黄银波, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱同时测定乳制品中的苯并咪唑类药物及其代谢物残留量[J]. 食品工业科技, 2024, 45(13): 221-229.  
QIAO YS, WANG P, HUANG YB, *et al.* Simultaneous determination of benzimidazoles and their metabolites residues in dairy products by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(13): 221-229.
- [15] DEVREESE M, MAES A, DE-BAERE S, *et al.* Comparative method validation for closantel determination in cattle and sheep milk according to European Union volume 8 and veterinary international conference on harmonization guidelines [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1353: 106-113.
- [16] 张金玲, 李凯, 王俊燕, 等. 分散固相萃取技术在动物源性食品兽药残留检测中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(15): 165-175.  
ZHANG JL, LI K, WANG JY, *et al.* Dispersive solid-phase extraction for the analysis of veterinary drugs residues applied to animal-derived foods: A review [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(15): 165-175.
- [17] 申佳璐, 王梁, 赵青余, 等. 畜禽肉及鸡蛋中多种兽药残留前处理技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(15): 4840-4849.  
SHEN JL, WANG L, ZHAO QY, *et al.* Research progress on pretreatment technology of multiple veterinary drug residues in meat and eggs [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(15): 4840-4849.
- [18] 张建伟, 孟蕾, 吴志明, 等. 牛奶中兽药残留检测前处理技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(22): 8745-8751.  
ZHANG JW, MENG L, WU ZM, *et al.* Research progress of pretreatment technology for detection of veterinary drug residues in milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(22): 8745-8751.
- [19] 侯冰. 超高效液相色谱串联质谱法测定牛羊脂肪中三氯苯达唑及其代谢物残留量[J]. 现代食品, 2024, 30(15): 173-175.  
HOU B. Determination of residues of triclabendazole and its metabolite in cattle and sheep fat by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food, 2024, 30(15): 173-175.
- [20] KIKUCHI H, SAKAI T, OKURA T, *et al.* Total determination of triclabendazole and its metabolites in bovine tissues using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1109: 54-59.
- [21] 李小桥, 欧阳吴莉, 武焯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中三氯苯达唑及其代谢物残留量的研究[J]. 中国兽药杂志, 2017, 51(9): 43-48.  
LI XQ, OUYANG WL, WU X, *et al.* Determination of triclabendazole and its metabolites residues in milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017, 51(9): 43-48.
- [22] 盛欣, 朱英才, 彭强, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定饲料和牛奶中的 3 种抗蠕虫药[J]. 中国饲料, 2024(23): 389-395.  
SHENG X, ZHU YC, PENG Q, *et al.* Determination of 3 kinds of anthelmintics in feed and milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass through solid-phase extraction [J]. China Feed, 2024(23): 389-395.
- [23] SUN QR, LIU J, GOU Y, *et al.* Determination of veterinary drugs in foods of animal origin by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) [J]. Journal of Chromatography A, 2025, 1744: 465726.
- [24] 孙千然, 刘俊, 苟圆, 等. QuEChERS 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 3 种新型兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 86-96.  
SUN QR, LIU J, GOU Y, *et al.* Determination of 3 kinds of novel veterinary residues in foods of animal origin by QuEChERS dispersive solid-phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 86-96.
- [25] JI BC, YANG LR, REN CY, *et al.* A modified QuEChERS method based on a reduced graphene oxide-coated melamine sponge for multiresidue analysis of veterinary drugs in mutton by UPLC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2024, 433: 137376.
- [26] 李心恬, 黄科, 黄刚, 等. QuEChERS dSPE EMR-Lipid-液相色谱-四极杆飞行时间质谱法定性筛查粮谷中 29 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 76-83.  
LI XT, HUANG K, HUANG G, *et al.* Qualitative screening of 29 kinds of mycotoxins in grain by QuEChERS dSPE EMR-Lipid and liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 76-83.
- [27] 李红丽, 贺超, 苏敏, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法同时测定猪肉中 24 种兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 86-96.  
LI HL, HE C, SU M, *et al.* Simultaneous determination of 24 kinds of veterinary drug residues in pork by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 86-96.
- [28] LI ZL, YANG DJ, ZHAO JQ, *et al.* Fabrication and application of ferrocene contained MOF derived porous carbon: A single multi-interference clean-up QuEChERS sorbent for facile analysis of triazine herbicides in various fruits and vegetables by LC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2025, 484: 144351.
- [29] KHNA WA, VARANUSUPAKUL P, HAQ HU, *et al.* Applications of nanosorbents in dispersive solid phase extraction/microextraction approaches for monitoring of synthetic dyes in various types of samples: A review [J]. Microchemical Journal, 2025, 208: 112419.
- [30] 季宝成, 杨澜瑞, 韩雨, 等. 动物源性食品兽药多残留检测中基质净化与液相色谱-质谱联用技术研究进展[J]. 轻工学报, 2023, 38(5): 8-16.  
JI BC, YANG LR, HAN Y, *et al.* Research progress on matrix purification combined with LC-MS method for the detection of veterinary drug residues in animal-derived foods [J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(5): 8-16.
- [31] 陈秀英, 李爱军, 李明阳, 等. 动物源性食品中兽药残留前处理及检测技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2025, 52(4): 1914-1923.  
CHEN XY, LI AIJ, LI MY, *et al.* Research progress on pretreatment and detection of veterinary drug residues in food of animal origin [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 52(4): 1914-1923.
- [32] 雷红琴, 粟有志, 阿斯喀·夏热甫汉, 等. 双重液液萃取 QuEChERS-HPLC/MS/MS 法测定果蔬及粮食中噁唑酰草胺残留[J]. 分析仪器, 2024(3): 31-36.  
LEI HQ, SU YZ, ASIKA · XRFH, *et al.* Determination of metamifop residues in fruits, vegetables and grains by dual-liquid extraction QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical Instrumentation, 2024(3): 31-36.

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)