

王旭堂,刁志祥,张培杨,等. 超高液相色谱荧光检测法测定鹌鹑蛋和鸽蛋中甲砒霉素残留量[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(1): 206-211.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.01.029

超高液相色谱荧光检测法测定鹌鹑蛋和鸽蛋中甲砒霉素残留量

王旭堂^{1,2}, 刁志祥^{1,2}, 张培杨^{1,2}, 谢恺舟^{1,2}, 王波^{2,3}, 刘楚君^{1,2}, 张跟喜^{1,2}, 张涛^{1,2}, 刘学忠^{2,3}, 戴国俊^{1,2}

(1.扬州大学动物科学与技术学院,江苏 扬州 225009; 2.教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室,江苏 扬州 225009; 3.扬州大学兽医学院,江苏 扬州 225009)

摘要: 本研究旨在建立鹌鹑蛋和鸽蛋中甲砒霉素(TAP)残留的超高效液相色谱-荧光检测(UPLC-FLD)方法。以鹌鹑蛋和鸽蛋为试验材料,采用加速溶剂萃取(ASE)技术提取目标物,以乙腈饱和的正己烷去脂,净化后用UPLC-FLD法进行检测分析。结果表明,在鹌鹑蛋和鸽蛋中TAP的添加质量比在定量限(LOQ)至250.0 μg/kg内,线性关系良好,决定系数均大于0.999 2。TAP添加质量比为LOQ、0.5 MRL、1.0 MRL和2.0 MRL时,在鹌鹑蛋和鸽蛋中的回收率分别为83.23%~95.72%、84.37%~97.12%,检测限(LOD)分别为3.4 μg/kg、3.3 μg/kg,LOQ分别为9.9 μg/kg、9.7 μg/kg。检测方法快速、高效、灵敏度高,为鹌鹑蛋和鸽蛋中TAP残留检测提供了新方法。

关键词: 鹌鹑蛋; 鸽蛋; 甲砒霉素; 加速溶剂萃取; 超高效液相色谱-荧光检测法

中图分类号: S859.84 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)01-0206-06

Determination of thiamphenicol residues in quail eggs and pigeon eggs by ultra-high performance liquid chromatography with fluorescence detection

WANG Xu-tang^{1,2}, DIAO Zhi-xiang^{1,2}, ZHANG Pei-yang^{1,2}, XIE Kai-zhou^{1,2}, WANG Bo^{2,3}, LIU Chu-jun^{1,2}, ZHANG Gen-xi^{1,2}, ZHANG Tao^{1,2}, LIU Xue-zhong^{2,3}, DAI Guo-jun^{1,2}

(1.College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2.Joint International Research Laboratory of Agriculture & Agri-Product Safety, Ministry of Education, Yangzhou 225009, China; 3.College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: This study aimed to establish an ultra-high performance liquid chromatography-fluorescence detection (UPLC-FLD) method for the determination of thiamphenicol (TAP) residues in quail eggs and pigeon eggs. Using quail eggs and pigeon eggs as test materials, the target compound was extracted by accelerated solvent extraction (ASE) technique, and degreased by n-hexane saturated with acetonitrile. After purification, it was detected and analyzed by UPLC-

FLD method. The results showed that the mass ratio of TAP in quail eggs and pigeon eggs was in the range of the limit of quantification (LOQ) to 250.0 μg/kg, and the linear relationship was good. The coefficients of determination were greater than 0.999 2. When TAP was added at mass ratios of LOQ, 0.5 maximum residue limit (MRL), 1.0 MRL and 2.0 MRL, the recoveries in quail eggs and

收稿日期: 2019-06-26

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-41-G23); 扬州大学“高端人才支持计划”项目(PAPD); 江苏省农业科技创新基金项目[CX(18)3022]

作者简介: 王旭堂(1994-), 男, 甘肃武威人, 硕士研究生, 主要从事畜产品安全与检测。(E-mail) 2916502606@qq.com

通讯作者: 谢恺舟, (E-mail) yzskz168@163.com

pigeon eggs were 83.23%–95.72%, 84.37%–97.12%, the detection limits were 3.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the quantitative limits were 9.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 9.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The detection method used in this study is rapid, efficient and sensitive, which provides a new method for the detection of TAP residues in quail eggs and pigeon eggs.

Key words: quail eggs; pigeon eggs; thiamphenicol; accelerated solvent extraction; ultra-high performance liquid chromatography with fluorescence detection

甲砒霉素(Thiamphenicol, TAP), 别名硫霉素, 甲砒氯霉素, 是人工合成的氯霉素的同类物, 属于广谱抗菌药物。主要用于防治需氧革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌、厌氧菌、立克次体属病菌、螺旋体病菌和衣原体属病菌等引起的疾病。通过抑制细菌蛋白质的形成, 起到抑菌效果。由于其对畜禽的多种细菌性疾病有良好的治疗效果, 在畜禽生产中已被广泛使用。

禽蛋作为来源最广, 蛋白质含量较高的动物性食品, 近年来其需求量日益增大。而养殖者为了提高经济效益, 常将 TAP 等抗生素药物不合理地用于禽类, 导致药物残留于禽蛋中。因为 TAP 具有较强的抑制红细胞、白细胞和血小板生成的作用, 影响人类健康, 所以许多国家都对这种药物的最高残留限量做出了规定^[1-3]。为了保证禽蛋的质量安全, TAP 的残留检测也日益重要。目前常用的检测方法主要包括气相色谱法(Gas chromatography, GC)^[4-6]、气质联用法(Gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)^[7-9]、液相色谱法(Liquid chromatography, LC)^[10-12]和液质联用法(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[13-14]。国内外利用高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)检测动物性食品中 TAP 的研究多有报道, 而利用超高效液相色谱法(Ultra performance liquid chromatography, UPLC)的报道较少。本研究采用了加速溶剂萃取(ASE)的方法, 实现了提取剂与目标物更好的接触, 提高萃取效率^[15], 并利用 UPLC 分离, 荧光检测器(Fluorescence detector, FLD)检测, 建立了超高效液相色谱-荧光检测法检测鹌鹑蛋和鸽蛋中 TAP 残留的方法, 为鹌鹑蛋和鸽蛋中 TAP 残留标准的制定提供了依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱仪(Acquity UPLC 型), 由美国 Waters 公司生产; 荧光检测器(Acquity FLD 型), 由

美国 Waters 公司生产; 加速溶剂萃取仪(ASE350 型), 由美国 Thermo Fisher 公司生产; 离心浓缩仪(ScanSpeedVac40 型), 由丹麦 LaboGene 公司生产; 超纯水制备仪(Smart2-Pure), 由美国 Thermo Scientific 公司生产; 甲砒霉素标准品(纯度 $\geq 99.0\%$)(CAS 号: 15318-45-3), 由德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 有限公司生产; 乙腈、甲醇(色谱纯), 由美国 Tedia 有限公司生产; 十二烷基硫酸钠(分析纯, 纯度 $\geq 95.0\%$), 由北京索莱宝科技有限公司生产; 其他试剂均购买于国药集团化学试剂有限公司, 试验用水为超纯水。

1.2 标准溶液的制备

准确称取甲砒霉素 4.0 mg, 用乙腈溶解、定容至 10 ml, 充分摇匀, 配制成 400.0 mg/L 的标准贮备液, 分装, 密封, 置 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中保存。将标准贮备液用 36% (体积比) 的乙腈水溶液逐级稀释成不同质量浓度的甲砒霉素标准工作液, 分装, 密封, 置 $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用, 可稳定保存 30 d。

1.3 样品的提取与净化

ASE 提取: 分别准确称取 $(2.00 \pm 0.02)\text{ g}$ 均质好的鸽蛋和鹌鹑蛋样品置于研钵中, 与适量硅藻土研磨至粉末状, 以达到最佳的萃取效果。之后装入 22 ml 萃取池(若池子留有空隙则用硅藻土填满)中, 放在加速溶剂萃取仪的机械臂上进行萃取, 萃取剂为 2% 的氨水乙腈, 其萃取方法及参数如下: 萃取压力为 1 500 psi, 萃取温度为 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 萃取时间为 5 min, 萃取剂用量约为池体积的 40%, 每个样品之间自动冲洗 1 次, 氮气吹扫时间 60 s, 静态循环萃取 2 次, 最后收集萃取液, 待用。

样品的净化: 将萃取液转移至 50 ml 离心管, 置于离心浓缩仪(转速为 2 000 g)上浓缩接近干燥, 加入 1 ml 纯乙腈涡旋震荡溶解残渣, 加入 8 ml 乙腈饱和的正己烷去脂, 涡旋震荡后静置 5 min, 弃去上层正己烷, 重复去脂 1 次, 然后将萃取液置于离心浓缩仪上浓缩至干。将浓缩干燥后的样品用 2.0 ml 流

动相复溶,涡旋 1 min,以 12 100 g 离心 15 min,过 0.22 μm 聚偏氟乙烯(PVDF)针式滤器,滤液供 UPLC-FLD 检测。

1.4 方法的建立

1.4.1 色谱质谱条件 色谱柱(Acquity UPLC® BEH C18, 2.1 mm×100.0 mm, 1.7 μm),流动相 A:超纯水(含 0.005 mol/L 的 NaH_2PO_4 溶液, 0.003 mol/L 十二烷基硫酸钠和 0.05% 的三乙胺, pH 5.3±0.1),流动相 B:乙腈,等度洗脱 A:B=64:36(体积比),检测器:荧光检测器(激发波长 233 nm,发射波长 284 nm),流速:0.2 ml/min,进样体积:10 μl ,柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4.2 标准曲线 分别准确称取 10 份(2.00±0.02) g 匀浆好的鸽蛋和鹌鹑蛋的全蛋空白样品,进行提取和净化后得到空白样品基质提取液。然后分别移取适量的基质提取液将标准工作液稀释成定量限(LOQ)、20.0 $\mu\text{g/kg}$ 、50.0 $\mu\text{g/kg}$ 、100.0 $\mu\text{g/kg}$ 、150.0 $\mu\text{g/kg}$ 、200.0 $\mu\text{g/kg}$ 、250.0 $\mu\text{g/kg}$ 等系列质量比,在 UPLC-FLD 条件下进行分析。分别以甲砒霉素标准工作液在不同空白基质中的添加质量比为自变量(x),峰面积为因变量(Y),绘制甲砒霉素在鸽蛋和鹌鹑蛋中残留量测定的标准曲线。

1.4.3 样品回收率的测定 分别准确称取(2.00±0.02) g 匀浆好的空白鸽蛋和鹌鹑蛋样品,将样品与硅藻土研磨均匀后,分别加入甲砒霉素标准工作液适量,使其对应在各空白样品中的添加质量比为 LOQ、0.5 MRL(最高残留限量)、1.0 MRL 和 2.0 MRL,搅拌混匀萃取,每个添加水平设置 6 个平行,经提取净化后,UPLC-FLD 检测,最后将检测结果对照标准曲线求得质量比,计算样品回收率。

1.4.4 精密度的测定 精密度分为日内(批内)精密度和日间(批间)精密度,常用相对标准偏差(RSD)来评估。日内(批内)精密度:同一天不同时间点用同一台仪器和同一条标准曲线测定,每个添加浓度设 6 个平行,求出日内 RSD。日间(批间)精密度:一周内的不同天用不同的标准曲线(每天都绘制标准曲线)同一台仪器测定,每个添加质量比设 6 个平行,求出日间 RSD。

1.4.5 检测限与定量限测定 取空白样品进行添加回收试验,并用已建立的 UPLC-FLD 方法进行分析。每个质量比分析 3 次,得出信噪比(S/N)平均值。当信噪比大于等于 3 ($S/N \geq 3$) 时所对应的添

加质量比即为分析方法的检测限(LOD);当信噪比大于等于 10 ($S/N \geq 10$) 时所对应的添加质量比即为分析方法的定量限(LOQ)。此外,LOQ 质量比点还应满足准确度和精密度的要求(一般要求回收率>70%,相对标准偏差 $RSD \leq 20\%$),才能证明此分析方法可靠。

2 结果与分析

2.1 标准曲线、线性范围与决定系数

由图 1 和图 2 可以看出,甲砒霉素在鸽蛋和鹌鹑蛋中添加质量比为 LOQ 至 250 $\mu\text{g/kg}$,其峰面积与质量比均呈良好的线性关系。线性范围、线性回归方程及决定系数(R^2)见表 1。

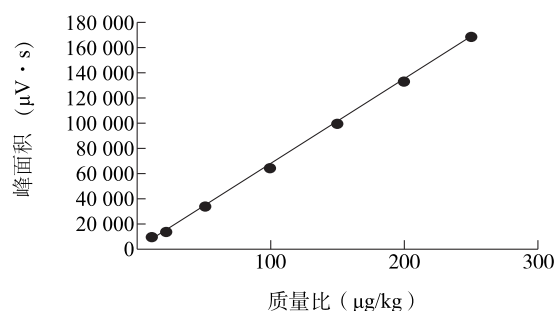


图 1 空白鸽蛋基质中甲砒霉素标准曲线

Fig.1 Standard curve of thiamphenicol(TAP) in blank pigeon eggs matrix

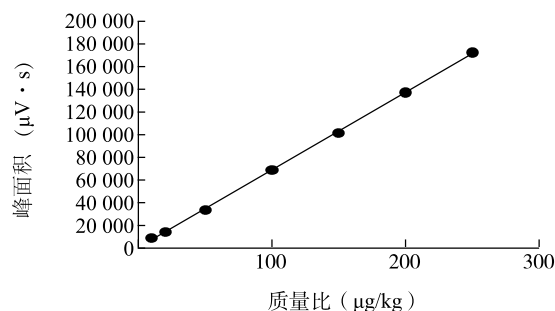


图 2 空白鹌鹑蛋基质中甲砒霉素标准曲线

Fig.2 Standard curve of thiamphenicol in blank quail eggs matrix

表 1 鸽蛋和鹌鹑蛋中 TAP 回归方程、决定系数和线性范围

Table 1 Regression equation, coefficient of determination and linear range of TAP in pigeon eggs and quail eggs

基质	线性回归方程	决定系数 (R^2)	线性范围 ($\mu\text{g/kg}$)
鸽蛋	$Y = 683.62x + 564.98$	0.999 8	9.9~250.0
鹌鹑蛋	$Y = 667.37x + 519.65$	0.999 2	9.7~250.0

2.2 色谱图

色谱图见图 3、图 4,在 UPLC-FLD 检测条件下,甲砒霉素在鸽蛋和鹌鹑蛋中与杂质实现了较好的分离,峰形对称且保留时间在 1.50 min 左右,与标准品色谱图目标化合物的保留时间接近。

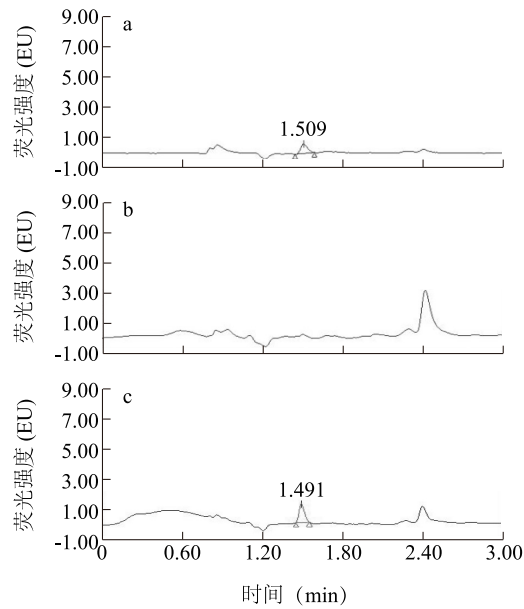


图 3 25.0 µg/kg TAP 标准品 (a)、空白鸽蛋 (b) 和空白鸽蛋添加 25.0 µg/kg TAP (c) 的色谱图

Fig.3 Chromatogram of 25.0 µg/kg TAP standard (a), blank pigeon eggs (b) and blank pigeon eggs with 25.0 µg/kg TAP (c)

2.3 添加回收率、精密度、检测限与定量限

空白鸽蛋和鹌鹑蛋中添加甲砒霉素质量比在 LOQ 、0.5 MRL 、1.0 MRL 和 2.0 MRL 水平时,甲砒霉素添加回收率及精密度见表 2。由表 2 可知,甲砒霉素在鸽蛋和鹌鹑蛋中添加质量比为 LOQ 至 2.0 MRL 时,甲砒霉素在鸽蛋和鹌鹑蛋中的添加回收率分别为 83.23%~95.72% 和 84.37%~97.12%,相对标准偏差 (RSD) 分别为 2.75%~3.87% 和 1.99%~3.70%,日内 RSD 分别为 2.78%~4.32% 和 2.74%~3.91%,日间 RSD 分别为 3.36%~5.22% 和 3.44%~4.98%。经过添加回收试验可得,鸽蛋和鹌鹑蛋中甲砒霉素的 LOD 分别为 3.4 µg/kg、3.3 µg/kg, LOQ 分别为 9.9 µg/kg、9.7 µg/kg。结果表明,此方法灵敏度高,完全满足鹌鹑蛋和鸽蛋中甲砒霉素残留检测的要求,符合中国农业农村部、欧盟、美国甲砒霉素残留检测的规定^[1-3]。

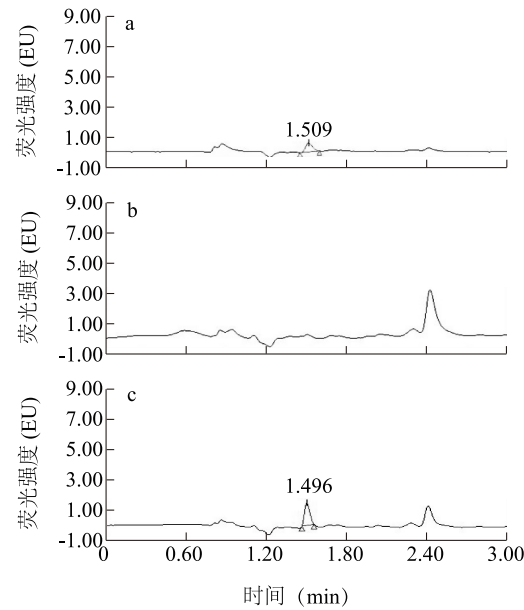


图 4 25.0 µg/kg TAP 标准品 (a)、空白鹌鹑蛋 (b) 和空白鹌鹑蛋添加 25.0 µg/kg TAP (c) 的色谱图

Fig.4 Chromatography of 25.0 µg/kg TAP standard (a), blank quail eggs (b) and blank quail eggs with 25.0 µg/kg TAP (c)

表 2 鸽蛋和鹌鹑蛋中 TAP 的添加回收率和精密度 ($n=6$)

Table 2 Fortified recovery and precision of TAP in pigeon eggs and quail eggs ($n=6$)

基质	添加质量比 (µg/kg)	回收率 (%)	相对标准 偏差 (%)	日内相对 标准偏差 (%)	日间相对 标准偏差 (%)
鸽蛋	9.9	83.23±2.62	3.15	2.78	3.53
	25.0	94.54±3.66	3.87	4.32	5.22
	50.0*	93.43±2.57	2.75	2.94	3.36
	100.0	95.72±3.40	3.55	3.05	4.10
鹌鹑蛋	9.7	84.37±3.12	3.70	3.91	4.25
	25.0	95.02±1.89	1.99	2.74	3.44
	50.0*	94.26±2.82	2.99	3.66	4.08
	100.0	97.12±2.30	2.37	3.48	4.98

* 表示鸽蛋和鹌鹑蛋中 TAP 的最高残留限量。

2.4 最佳提取方法

本研究比较了超声提取、涡旋震荡提取、涡旋震荡+超声提取和 ASE 提取对鸽蛋和鹌鹑蛋中甲砒霉素提取效果的影响,结果见表 3。在超声和涡旋震荡条件下,TAP 的回收率较低,虽然利用超声结合涡旋震荡的方法提取的回收率与 ASE 法提取的回收率接近,但 ASE 法提取后不需要再结合 SPE 柱进行净化,减少了操作带来的误差的同时,也缩短了前

处理所用的时间。此外,本研究中还对不同比例提取剂进行了效果对比,结果见表 4,由表 4 可发现,提取剂选择乙腈:氨水(98:2,体积比)时效果最佳,目标物的回收率均在 92.0% 以上。最后试验对 ASE 提取方法的温度和提取时间进行了优化,分别比较了 40 ℃、60 ℃、80 ℃、100 ℃、120 ℃ 温度下,2 min、3 min、5 min、8 min 时 TAP 的回收率,最终发现在 80 ℃、5 min 时为最佳的萃取条件,可获得最佳的效果。

表 4 不同比例提取试剂对鸽蛋和鹌鹑蛋中甲磺霉素回收率的影响(%)

Table 4 Effect of different proportions of extraction reagents on recovery of thiamphenicol in pigeon and quail eggs

基质	甲磺霉素回收率(%)				
	乙腈:氨水=99:1 (体积比)	乙腈:氨水=98:2 (体积比)	乙腈:氨水=97:3 (体积比)	乙腈:氨水=96:4 (体积比)	乙腈:氨水=95:5 (体积比)
鸽蛋	92.44±2.61	92.64±2.11	82.28±3.11	75.52±2.37	63.24±2.33
鹌鹑蛋	91.29±2.30	92.84±2.30	87.27±2.02	70.81±1.90	65.67±2.07

表 3 不同提取方法对鸽蛋和鹌鹑蛋中甲磺霉素回收率的影响

Table 3 Effect of different extraction methods on the recovery of thiamphenicol in pigeon eggs and quail eggs

基质	甲磺霉素回收率(%)			
	LLE 超声 提取	LLE 涡旋 震荡提取	LLE 涡旋震 荡+超声提取	ASE 提取
鸽蛋	34.44±3.03	69.89±2.74	85.32±2.90	86.93±2.23
鹌鹑蛋	36.14±2.90	72.12±2.81	83.45±2.66	90.05±1.99

LLE:液液萃取。

3 讨论

3.1 样品前处理方法的优化

在研究过程中,样品的前处理对试验结果的准确性有着很大的影响。Xie 等^[16]以乙酸乙酯:乙腈:氢氧化铵(49:49:2,体积比)作为提取剂,利用液液萃取的方法提取鸡蛋中的 TAP、氟苯尼考(FF)和氟苯尼考胺(FFA),经己烷脱脂后,用反相高效液相色谱-荧光检测法检测,TAP 回收率在 86.4% 以上;Alechagae 等^[17]采用固相萃取的方法,在甲醇与乙酸-乙酸铵缓冲液(5 mmol/mol,pH 5)色谱柱条件下提取动物源食品中的 TAP、氟苯尼考(FF)和氟苯尼考胺(FFA),再通过 UPLC-MS/MS 检测法检测分析,也获得了较好的检测效果。

3.2 UPLC-FLD 检测条件的优化

在色谱法检测中,色谱柱与流动相的选择是影响检测结果的重要因素。Evangelopoulou 等^[18]、Zhang 等^[19]以及 Sichilongo 等^[20]检测动物源食品中氯霉素类药物残留时都利用了 C18 色谱柱,均获得了较好的检测效果。因此本试验中也采用了 ACQUITY UPLC[®] BEH C18 (2.1 mm×100.0 mm,1.7 μm)柱。本研究在谢恺舟等^[21]利用高效液相色谱-荧光检测法检测鸡蛋中甲磺霉素残留量的基础上,比较了 1 mmol/L、3 mmol/L、5 mmol/L 和 10 mmol/L 十二烷基硫酸钠,0 mmol/L、3 mmol/L、5 mmol/L、10

mmol/L 和 20 mmol/L NaH₂PO₄,0.01%、0.03%、0.05% 和 0.10% 三乙胺用量和不同 pH 值对目标化合物所产生的影响,并对流动相进行优化。通过对比得出,以乙腈为流动相 A,以内含 5 mmol/L 磷酸二氢钠、3 mmol/L 十二烷基硫酸钠和 0.05% 的三乙胺水溶液(调 pH 为 5.3±0.1)作为流动相 B(A:B=36:64,体积比),TAP 的色谱峰与杂质峰达到很好的分离。同时进一步优化目标物质的检测波长,最终选择了激发波长 233 nm,发射波长 284 nm,在此条件下既达到了目标物的高响应值,又无杂质的干扰。

3.3 UPLC-FLD 法的突出优势

UPLC 是在 HPLC 的理论及原理基础上发展起来的一个新兴的领域,与传统的 HPLC 相比,UPLC 采用了更短的色谱柱和更高的流速,使得分离效果更突出。在同样条件下,UPLC 能分离的色谱峰比 HPLC 多出一倍以上,得出的图谱也更精确。同时,UPLC 能以较快的速度或较好的分辨率完成对特征分析的高通量库筛选,而这两点都能使分离效率得到提高,效率的提高进一步提高了灵敏度。总体而言,UPLC 突破了普通 HPLC 的极限,在相同条件下,UPLC 的速度、灵敏度及分离度更高,它缩短了分析时间,同时减少了溶剂用量,降低了分析成本,结合检测精度更高的 FLD 检测器,使得研究结果更加精确。为这种分离技术的广泛应用提供了可能。

本试验首次建立了 ASE-UPLC-FLD 方法,检测鹌鹑蛋和鸽蛋中 TAP 的残留量,为动物源食品中 TAP 的残留检测提供了新的技术方法。该检测方法简便、快速、高效,检测结果满足美国、欧盟和中国对动物性食品中甲砒霉素残留检测的要求。

参考文献:

- [1] 程 坚. 中国和欧盟动物源性产品中药物残留限量差异性分析(二)[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(11):140-143.
- [2] 叶雪珠,王 强,张志恒,等. 我国与 CAC、日本鸡肉兽药残留限量标准比较分析[J]. 中国畜牧杂志, 2009, 45(16):28-32.
- [3] 中华人民共和国农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量[J]. 中国猪业, 2010(8):10-12.
- [4] 王鹏思,李嘉欣,石上梅,等. GC 法测定市售动物源性中药材地龙、水蛭中 3 种氯霉素类药物的残留量[J]. 中国兽药杂志, 2017, 51(3):65-69.
- [5] 杨秋红,艾晓辉,李 荣,等. 固相萃取-气相色谱法同时检测水产品中的氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺[J]. 分析试验室, 2015, 34(5):533-537.
- [6] YIKILMAZ Y, FILAZI A. Detection of florfenicol residues in salmon trout via GC-MS[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(4):1027-1033.
- [7] AZZOUZ A, JURADO-SANCHEZ B, SOUHAIL B, et al. Simultaneous determination of 20 pharmacologically active substances in Cow's Milk, Goat's milk, and human breast milk by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(9):5125-5132.
- [8] AZZOUZ A, BALLESTEROS E. Multiresidue method for the determination of pharmacologically active substances in egg and honey using a continuous solid-phase extraction system and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2015, 178:63-69.
- [9] AMELIN V G, VOLKOVA N M, TIMOFEEV A A, et al. QuEChERS sample preparation in the simultaneous determination of residual amounts of quinolones, sulfanilamides, and amphenicols in food using HPLC with a diode-array detector[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2015, 70(9):1076-1084.
- [10] LI J, CHEN H, CHEN H, et al. Selective determination of trace thiamphenicol in milk and honey by molecularly imprinted polymer monolith microextraction and high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Separation Science, 2015, 35(1):137-144.
- [11] BARRETO F, RIBEIRO C, HOFF R B, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry, swine, bovine and fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1449:48-53.
- [12] 肖国军,蔡超海,王 生,等. 固相萃取高效液相色谱串联质谱法同时测定蜂蜜中甲硝唑、氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(1):22-25.
- [13] XIAO Z, SONG R, RAO Z, et al. Development of a subcritical water extraction approach for trace analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry tissues[J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1418(4):29-35.
- [14] 张治军,周文杰,李志芸. UPLC-MS 法检测动物类药材中氯霉素类药物残留[J]. 中国药房, 2017(30):101-104.
- [15] 欧小群,马丽艳,潘赛超,等. 加速溶剂萃取技术在食品安全检测中的应用[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5):227-236.
- [16] XIE K, JIA L, YAO Y, et al. Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(23):2351-2354.
- [17] ALECHAGAE, MOYANO E, GÁLCEAN M T, et al. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of phenicol drugs and florfenicol-amine in foods[J]. Analyst, 2012, 137(10):2486-2494.
- [18] EVAGGELOPOULOU E N, SAMANIDOU V F. Development and validation of an HPLC method for the determination of six penicillin and three amphenicol antibiotics in gilthead seabream (*Sparus Aurata*) tissue according to the European Union Decision 2002/657/EC[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3/4):1322-1329.
- [19] ZHANG Z, WU Y, LI X, et al. Multi-class method for the determination of nitroimidazoles, nitrofurans, and chloramphenicol in chicken muscle and egg by dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2017, 217:182-190.
- [20] SICHILONGO K F, KOLANYANE P, MASESANE I B, et al. A sensitive LC-MS/MS method employing a THF/water solvent system for the determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in bovine muscle[J]. Analytical Methods, 2014, 6(17):7015-7021.
- [21] 谢恺舟,徐 东,姚宜林,等. 高效液相色谱荧光检测法检测鸡蛋中甲砒霉素残留[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(9):1322-1326.

(责任编辑:陈海霞)