

# 高效液相色谱法测定畜禽肉及三文鱼中土霉素、四环素和金霉素残留

高旭东, 陈士恩\*, 叶永丽, 王晓静, 邓健康, 魏锁成

(西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730030)

**摘要:** **目的** 建立一种用高效液相色谱法同时测定畜禽肉与三文鱼中的土霉素、四环素和金霉素残留的分析方法。**方法**  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -McIlvaine 缓冲溶液(pH=4.0)对样品进行提取, 三氯乙酸沉淀样品中的蛋白质, 固相萃取柱富集待测样品中的抗生素, 流动相为 0.01 mol/L 草酸溶液:乙腈:甲醇(73::17:10, v:v:v)混合溶液, 检测波长为 350 nm, 外标法定量。**结果** 土霉素、四环素和金霉素分别在 100~4000、100~4000、200~8000 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数  $r > 0.99$ , 土霉素、四环素和金霉素检出限分别为 20、20、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 加标回收率为 74%~90%, 相对标准偏差为 3%~8%。**结论** 该方法简便、快速、灵敏, 适用于畜禽肉和水产品中土霉素、四环素和金霉素残留的检测。

**关键词:** 高效液相色谱法; 土霉素; 四环素; 金霉素; 残留量

## Determination of tetracycline, minocycline and aureomycin in livestock, poultry meat and salmon by high performance liquid chromatography

GAO Xu-Dong, CHEN Shi-En\*, YE Yong-Li, WANG Xiao-Jing, DENG Jian-Kang, WEI Suo-Cheng

(College of Life Sciences and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method that can determine the content of oxytetracycline (OTC), tetracycline (TC) and chlortetracycline (CTC) residues in the livestock and poultry meat and salmon using high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** The samples were extracted by  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -McIlvaine buffer solution (pH=4.0) and removed the protein by chloroacetic acid. Then the samples were cleaned up by solid phase extraction column. The mobile phase was 0.01 mol/L oxalic acid:acetonitrile:methanol (73:17:10, v:v:v). The detection wave-length was 350 nm and the external standard quantitation was adopted. **Results** This method showed a good linear relationship in the range of 100~4000, 100~4000 ng/mL, and 200~8000 ng/mL for OTC, TC and CTC, respectively. The correlation coefficient was over 0.99. The detect limits were 20, 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  for OTC, TC and CTC, respectively. The recoveries was 74%~90% with the relative standard deviation of 3%~8%, respectively. **Conclusion** The method is convenient, fast, sensitive and reproducible and it is suitable for determining OTC, TC and CTC residues in fresh meat and aquatic products.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography; oxytetracycline; tetracycline; chlortetracycline; re-

基金项目: 现代农业生产发展资金早胜牛种质资源保护项目(XBMV-2013-BC-19)

**Fund:** Supported by the Modern Agricultural Production Development Funds for Zaosheng Cattle Germplasm Resources Protection Project (XBMV-2013-BC-19)

\*通讯作者: 陈士恩, 教授, 硕导, 主要研究方向为食品安全与品质控制。E-mail: chshien@163.com

\*Corresponding author: CHEN Shi-En, Professor, Supervisor of Postgraduate, College of Life Sciences and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China. E-mail: chshien@163.com

sidue

## 1 引言

四环素类(tetracyclines, TCs)抗生素是由放线菌产生的一种广谱抗生素,包括金霉素(chlortetracycline, CTC)、土霉素(oxytetracycline, OTC)、四环素(tetracycline, TC)及半合成衍生物甲烯土霉素、强力霉素等,其结构均含并四苯基本骨架,如图1所示。

四环素类抗生素对革兰氏阳性和阴性菌、立克次体、螺旋体乃至原虫类都有抑制作用。其作用机制主要为与细菌核蛋白体的30s亚基结合,阻止aa-tRNA同核蛋白体结合,从而阻止肽链延伸和细菌蛋白质合成<sup>[1]</sup>。

目前,我国允许在生产中使用的抗生素有17种,其中四环素类最为普遍,约占抗生素总用量的57%<sup>[2]</sup>。多数养殖户仍在畜禽生产及水产养殖过程中大量添加四环素类抗生素,用于防治肠道感染、促进生长及预防某种疾病。抗生素最大的潜在风险是导致耐药性致病菌的产生和扩散,这将导致对人类公共健康的威胁<sup>[3]</sup>。而四环素类抗生素易诱导耐药菌株和动物性食品中抗生素残留,会危害人体健康。我国和欧盟对四环素类抗生素的最高残留限量规定为:食用性动物肌肉组织中四环素类抗生素含量不能超100 μg/kg<sup>[4]</sup>。美国食品药品监督管理局规定动物肌肉组织中土霉素、四环素、金霉素总量为200 μg/kg,牛奶中为300 μg/kg<sup>[5]</sup>。

四环素类抗生素残留的测定方法主要包括微生物法<sup>[6,7,8]</sup>、分光光度法<sup>[9,10]</sup>、毛细管电泳法<sup>[11,12]</sup>、薄层色谱法<sup>[13]</sup>、高效液相色谱-紫外检测法<sup>[14]</sup>、高效液相色谱法<sup>[15]</sup>、液相色谱-质谱法<sup>[16]</sup>等。目前用于食品中四环素类抗生素残留的分析常用高效液相色谱法。高效液相色谱法对样品前处理要求高,四环素类药物残留分析中常用的样品前处理技术是固相萃取法,

采用固相萃取-高效液相色谱法可提高对四环素类抗生素检测的准确度和精密度,满足我国对四环素类抗生素的残留限量要求。

同时测定畜禽肉、蛋、乳中的土霉素、四环素和金霉素残留已有大量文献报道,而对于测定水产品中此三种抗生素残留量的报道较少,国家标准规定动物源性食品中四环素类兽药残留量的检测方法,无法完全分离土霉素、四环素和金霉素<sup>[17]</sup>。

本实验通过优化样品前处理方法、选择提取液和提取液的pH值、优化色谱条件,通过回收率和精密度实验验证,得到一种同时测定畜禽肉和三文鱼中土霉素、四环素、金霉素残留量的方法,并对待测样品进行了测定。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试样品、试剂和实验仪器

#### 2.1.1 供试样品

牛肉、羊肉:来自定西二支路肉菜市场,当天上市,新鲜度良好;鸡脯肉:兰州市某养殖场,鲜冻,新鲜度良好;三文鱼:兰州市某市场送检样品,鲜冻,新鲜度较好;实验空白样品:购于兰州华润万家超市,冷冻放置10 d待用,使用前50℃水浴30 min。

#### 2.1.2 供试试剂

土霉素、四环素、金霉素标准品(中国药品生物制品检定所);乙腈、甲醇(色谱纯,天津市光复精细化工研究所);草酸、高氯酸、盐酸(分析纯,天津市凯信化学工业有限公司);NaOH溶液、乙二胺四乙酸二钠( $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )(分析纯,天津市北方天医化学试剂厂);0.1 mol/L柠檬酸溶液;0.2 mol/L磷酸二氢钠溶液;McIlvaine缓冲溶液(pH=4.0);0.1 mol/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -McIlvaine缓冲溶液。

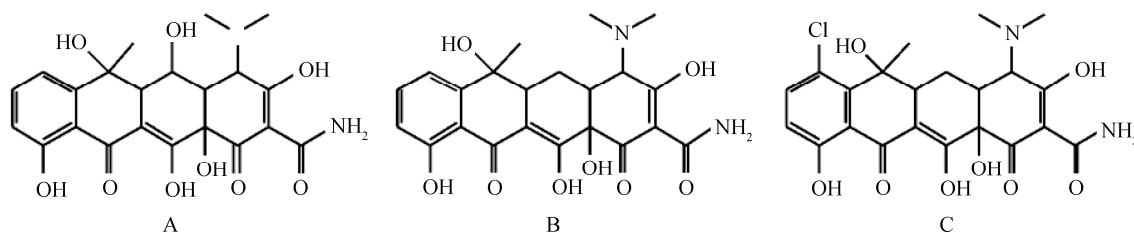


图1 土霉素(A)、四环素(B)和金霉素(C)化学结构式

Fig. 1 Chemical structural formula of oxytetracycline (A), tetracycline (B) and chlortetracycline (C)

### 2.1.3 实验仪器

电子天平; Waters 高效液相色谱仪(美国沃特世公司); 固相萃取装置(Lida 公司); 冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司); 超声波提取器(天津奥特赛斯恩斯仪器有限公司); QLT 匀浆机(台湾科立泰有限公司); ELGA PURELAB 纯水机(英国 Veolia water 公司); W-O 恒温油水浴锅(上海申顺生物科技有限公司); 氮吹仪(南京科捷仪器有限公司)。

## 2.2 试验方法

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱: Sunfire C<sub>18</sub>(4.8 mm×150 mm); 检测波长: 350 nm; 灵敏度: 0.002 AUFS; 柱温: 室温(30 °C); 流动相: 0.1 mol/L 草酸溶液:乙腈:甲醇(73:17:10, v:v:v); 流速: 0.1 mL/min; 进样量: 20 μL; 检测器: Waters2487 紫外检测器。

### 2.2.2 溶液制备

#### 2.2.2.1 标准储备液

准确称取土霉素、四环素和金霉素标准品各 0.0100 g, 用甲醇溶解于 10 mL 棕色容量瓶并定容, 分别配置成 1.0 mg/mL 的储备液置于 4~6 °C 冷藏备用。

#### 2.2.2.2 混合标准溶液

分别精密量取土霉素、四环素和金霉素标准储备液 1、1、2 mL 于 50 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀。土霉素、四环素和金霉素浓度分别为 20、20、40 μg/mL。混合标准工作液当天配制。

#### 2.2.3 样品前处理<sup>[18]</sup>

准确称取 10.0 g 待测样品于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液, 匀浆 5 min, 冰水超声 20 min, 4 °C 左右以 5000 r/min 离心 10 min, 振荡添加 5 mL 三氯乙酸溶液, 再低温离心 5 min, 取上清液, 于离心管中加入 10 mL Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液, 低温超声 10 min, 5000 r/min 低温离心 10 min,

振荡添加 3 mL 三氯乙酸溶液, 低温离心 5 min, 合并两次上清液, 过滤。

用 5 mL 甲醇、10 mL 纯水和 3 mL Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液依次洗涤活化固相萃取柱, 流速控制在 2~3 滴/s, 用 10 mL 5% 甲醇水溶液冲洗除去杂质, 最后用 5 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液于 35 °C 氮吹浓缩至 1 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜, 供高效液相色谱分析。

### 2.2.4 标准曲线的制作

配制系列浓度混合标准液, 得到含土霉素、四环素浓度分别为 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0、4.0 μg/mL, 金霉素浓度为 0.2、0.4、1.0、2.0、4.0、8.0 μg/mL 的混合标准溶液, 在上述色谱条件下测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 作校正曲线, 得线性回归方程。

## 3 结果与讨论

### 3.1 提取方法的选择

#### 3.1.1 提取液的选择

以 5% 高氯酸和 Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液 (pH=4.0±0.5) 同时测定畜产品中土霉素、四环素和金霉素的实验方法常见于文献报道<sup>[19]</sup>。对于三文鱼肉中此三种四环素类抗生素的测定利用此两种提取液鲜见文献报道, 选择此两种提取液进行比较试验, 在空白样品(三文鱼、鸡脯肉)中分别加入土霉素、四环素和金霉素 4、4、8 μg。测定回收率, 结果见表 1。

每个样品平行试验五次, 相对标准偏差(RSD)的范围在 3%~10% 之间, 精密度较高。

由表 1 可知, 以三文鱼和鸡脯肉为空白样品的回收率实验, 土霉素、四环素的回收率高于金霉素。金霉素的稳定性较低, 在生物组织内易发生异构化, 这与试验结果吻合。

表 1 5%高氯酸和 Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液回收率的比较(n=5)

Table 1 Comparison of the recoveries with 5% perchloric acid and Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine buffer (n=5)

	OTC 平均回收率(%)		TC 平均回收率(%)		CTC 平均回收率(%)	
	5%高氯酸	Na <sub>2</sub> EDTA-McIlvaine 缓冲液	5%高氯酸	Na <sub>2</sub> EDTA-McIlvaine 缓冲液	5%高氯酸	Na <sub>2</sub> EDTA-McIlvaine 缓冲液
三文鱼	79.2	83.8	74.2	84.1	71.0	73.6
鸡脯肉	78.4	83.9	81.8	84.5	73.6	73.2

以Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine为提取液,回收率水平高于以5%高氯酸为提取液,且稳定性更好。因此本试验样品前处理提取液选定Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲液,并对其pH对回收率的影响进行了比较。

### 3.1.2 Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲液最佳pH值的选择

用盐酸或NaOH溶液调整Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲溶液的pH值到3.0、3.5、4.0、4.5、5.0,在空白样品(牛肉、鸡脯肉、三文鱼)中分别添加1 mL 4 μg/mL土霉素和四环素,8 μL/mL金霉素,用上述不同pH值Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲溶液提取,依次进样测定回收率,每个样品做平行试验五次。测定回收率,结果如表2。

由表2可见,以牛肉和鸡脯肉为空白样品与以三文鱼肉为空白样品进行比较,结果显示以牛肉和鸡脯肉为空白样品的加标回收率要略高于以三文鱼肉为空白样品的加标回收率。

pH=3.0时回收率约为70%,结果不理想,pH=5.0时回收率低于77%,回收率水平一般。其他三个水平的结果非常接近,pH=4.0时回收率水平略高。考察pH值为3.5、4.0和4.5时回收率的精密度,用相对标准偏差(RSD)表示,其中以牛肉为空白样品中土霉素、四环素和金霉素的回收率相对标准偏差如表3。

由表3可知,牛肉空白样品pH=4.0时各指标的RSD为3%~6%,精密度好,pH值为3.5和4.5时的RSD为5%~10%,精密度较差。考察以鸡脯肉和三文鱼为空白样品时得到同样的结论,说明pH=4.0时的

提取稳定性更好。

综上,Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲溶液(pH=4.0)提取水平较高,且稳定性较好。

## 3.2 色谱条件的选择

### 3.2.1 检测波长的选择<sup>[20,21]</sup>

对含4 μg/mL土霉素、四环素和8 μg/mL金霉素的混合标准溶液在220~360 nm范围内进行吸光度-波长扫描。检测波长为225 nm时,杂质峰较多,并且其面积较大,影响最显著。350 nm和270 nm条件下的谱图中杂质峰较少,峰形较好且峰形相近,但350 nm相对于280 nm波长灵敏度更高。这与国家标准《可食动物肌肉中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定(液相色谱-紫外检测法)》(GB/T 20764-2006)中检测波长一致。综合分析,350 nm波长对此三种抗生素的检测灵敏度较高,三种抗生素峰能完全分离,同时杂质峰较少如图2所示。因此,350 nm为较适宜的检测波长。

### 3.2.2 流动相的选择

依据国标方法试验发现,土霉素、四环素的保留时间接近,分离度不好,且金霉素峰形不好,经试验得出,当流动相为0.01 mol/L草酸溶液:乙腈:甲醇(73:17:10, v:v:v),流速1.0 mL/min时,保留时间分别为4.849、5.483、10.967 min;分离度大于1.5,拖尾因子为0.95~1.05。保留时间,分离度和峰形较为理想,符合测定需求。

表2 不同pH的Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine缓冲液回收率试验结果(n=5)  
Table 2 The results of recoveries with different pH in Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine buffer (n=5)

空白样品	平均回收率(%)					
	pH=3.0	pH=3.5	pH=4.0	pH=4.5	pH=5.0	
OTC	牛肉	71.8	79.8	87.1	86.7	78.1
	鸡脯肉	70.4	88.2	87.5	84.0	79.9
	三文鱼	71.9	80.9	84.4	81.3	79.6
TC	牛肉	70.9	89.9	90.2	90.3	78.3
	鸡脯肉	64.3	85.0	86.3	85.5	84.2
	三文鱼	74.0	78.9	84.9	81.5	78.0
CTC	牛肉	71.2	80.1	82.1	78.5	74.6
	鸡脯肉	66.0	85.9	86.9	82.7	77.4
	三文鱼	73.9	80.8	80.8	80.5	78.1

表 3 牛肉空白样品中各抗生素回收率精密度的  
Table 3 The antibiotics precision of recovery rate in  
beef blank sample

提取液 pH	相对标准偏差(RSD, %)		
	OTC	TC	CTC
3.5	8.3	5.7	6.6
4.0	3.5	4.1	5.9
4.5	5.5	9.2	5.5

### 3.3 标准曲线及线性关系

图 2 为土霉素、四环素和金霉素浓度分别为 1、1、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时的色谱图。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 作校正曲线, 得线性回归方程。

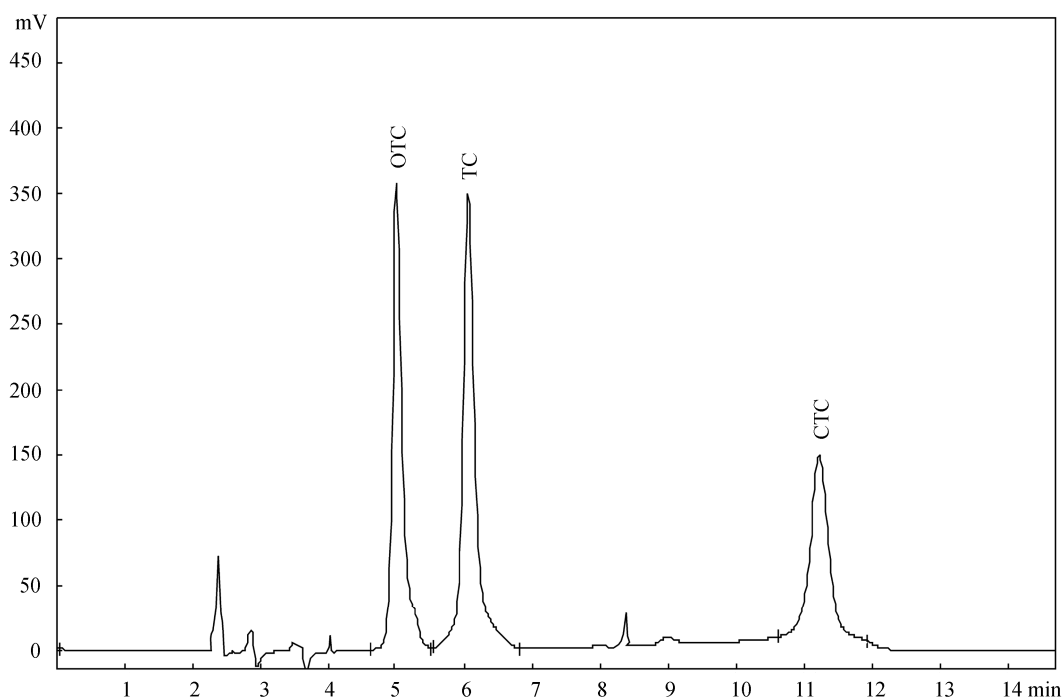


图 2 混合液标准色谱图

Fig. 2 The standard chromatogram for mixed liquid

表 4 各组分的线性方程和相关系数

Table 4 Linear equations and correlation coefficients

	线性方程	相关系数 $R^2$
土霉素(OTC)	$Y = 1960.7X + 37903$	0.9989
四环素(TC)	$Y = 2190.8X + 68071$	0.9986
金霉素(CTC)	$Y = 701.95X + 45743$	0.9982

结果显示, 土霉素、四环素、金霉素分别在 100~4000、100~4000、200~8000  $\text{ng}/\text{mL}$  范围内线性关系良好, 相关系数分别为 0.9989、0.9986、0.9982, 结果见表 4。

### 3.4 检出限

检出限按信噪比  $S/N=3$  计算, 土霉素、四环素、金霉素的最低检出限分别为 20、20、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 3.5 回收率及精密度试验

分别对牛肉、羊肉、鸡脯肉和三文鱼基质进行加标回收率试验。添加标准溶液的浓度分别为土霉素和四环素 20、50、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 金霉素 40、100、200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结果如表 5。

表5 回收率及精密度实验结果( $n=5$ )  
Table 5 The experimental result of recoveries and precisions ( $n=5$ )

名称	组分	牛肉		羊肉		鸡脯肉		三文鱼		
		加标量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
OTC	20		78.6	5.12	75.5	7.41	88.1	5.33	80.3	5.57
	50		86.9	4.03	84.5	3.25	88.6	6.21	83.1	6.53
	100		85.2	3.12	89.9	5.64	86.8	3.65	86.4	7.79
TC	20		79.7	6.82	74.8	6.45	83.7	4.02	79.8	4.22
	50		89.6	4.23	82.3	5.35	84.7	4.42	80.5	4.75
	100		89.1	3.21	81.9	4.43	83.2	4.14	83.5	5.12
CTC	40		76.5	5.13	77.0	6.37	78.1	6.02	80.8	6.93
	100		81.5	3.96	79.8	7.36	80.3	4.42	80.8	3.85
	200		80.8	4.25	82.6	4.7	84.3	6.35	82.7	6.88

结果显示,四种空白样品在三种浓度下的回收率为74%~90%,且随添加浓度的增加回收率水平有所提高;RSD为3%~8%,精密度较好。

### 3.6 样品的测定与分析

采用以上建立的测定方法对待测样品进行分析,结果如表6。

表6 所测样品中土霉素、四环素和金霉素残留  
Table 6 The content of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline residues in samples

平均含量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	牛肉	羊肉	鸡脯肉	三文鱼
OTC	163	55	376	87
TC	188	83	324	未检出
CTC	51	未检出	150	47

结果表明所测样品中普遍存在土霉素、四环素和金霉素残留,其中鸡脯肉中三种抗生素残留量和牛肉中土霉素、四环素残留量均超过国家标准限量( $100\mu\text{g}/\text{kg}$ )<sup>[22]</sup>。该结果也同时表明,采用以上条件优化得到的检测方法适用于畜禽肉和水产品中土霉素、四环素和金霉素残留量的测定。

综上,本方法适用于新鲜畜禽肉和水产品中土霉素、四环素和金霉素残留的同时测定。在所测样品中普遍检测到这三种抗生素残留,所测部分样品抗生素残留量超过国家标准限量。

## 4 结论

本方法具有分离度高、快速、灵敏的优点,并且能满足畜禽肉及水产品中土霉素、四环素和金霉素的测定要求。同时本实验方法存在许多不足,仍需改进。前处理方法中提取液在5%高氯酸和 $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -Mcllvaine缓冲溶液中选择, $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -Mcllvaine缓冲溶液的配制过程繁琐,稳定性受环境影响大;主流固相萃取柱的萃取效率也需要实验验证。

对新鲜畜禽肉和三文鱼样品进行此三种抗生素的残留测定,土霉素、四环素和金霉素残留普遍超过国家限量标准。四环素类抗生素可以抑制白细胞吞噬细菌能力、抑制淋巴细胞的转化等<sup>[23]</sup>,也可与骨骼中的钙结合,抑制骨骼和牙齿的发育;容易引起过敏反应和诱导耐药菌株以及导致食品中抗生素残留。其最明显的残留毒性是在体内富集并诱导产生耐药菌株。

随着消费者对食品由消费型向质量型的转变,动物源性食品中抗生素的残留已逐渐成为广大消费者关注的焦点。因此,亟需对四环素族抗生素残留量进行严格检测,在养殖和运输销售过程中进行严格的使用限量控制。

### 参考文献

- [1] 方晓明,丁卓平.动物源食品兽药残留分析[M].北京:化学工业出版社,2009:115-117.

- Fang XM, Ding ZP. Analysis of veterinary drug residues in food of animal origin [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009: 115–117.
- [2] Li RP, Zhang Y, Huang YP. Determination of Tetracycline Antibiotics in the Environmental Samples [J]. Prog Chem, 2008, 20 (12): 2075–2082.
- [3] Sarmah AK, Meyer MT, Boxall A. A Global Perspective on the Use, Sales, Exposure Pathways, Occurrence, Fate and Effects of Veterinary Antibiotics (VAs) in the Environment [J]. Chemosphere, 2006, 65 (5): 725–759.
- [4] 2377/90/EC: Council Regulation (EEC) of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, Brussels, Belgium, Off. J. Eur. Commun [S].
- [5] U. S. Code of Federal Regulations. U.S. Government Printing Office, Washington DC [S].
- [6] 邢进, 冯育芳, 岳秉飞, 等. 微生物法检测实验动物血清中的抗生素残留[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(4): 57–60.  
Xing J, Feng YF, Yue BF, *et al.* Antibiotic residue monitoring in laboratory animal serum by microbial inhibition test [J]. Chin J Comparat Med, 2013, 23(4): 57–60.
- [7] 黄晓蓉, 郑晶, 吴谦, 等. 食品中多种抗生素残留的微生物筛检方法研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 418–419.  
Huang XR, Zheng J, Wu Q, *et al.* Study on MIA method for determination of antibiotics residues in food [J]. Food Sci, 2007, 28 (8): 418–419.
- [8] Gaudin V, Hedou C, Rault A, *et al.* Comparative study of three screening tests, two microbiological tubetests, and a multi-sulphonamide ELISA kit for the detection of antimicrobial and sulphonamide residues in eggs [J]. Food Addit Contam Part A-Chem Anal Contr Expos Risk Assess, 2009, 26 (4): 427–440.
- [9] 王晰, 马春宏, 朱宏, 等. 离子液体萃取分光光度法测定水中四环素类抗生素[J]. 中国给水排水, 2010, 08: 90–92.  
Wang X, Ma CH, Zhu H, *et al.* Determination of tetracycline antibiotic by ionic liquid extraction and spectrophotometry [J]. Chin Water Wastewater, 2010, 08: 90–92.
- [10] 王金秀, 任兰正, 吴霖生, 等. 油点萃取分光光度法测定水中的四环素类抗生素[J]. 光谱实验室, 2012, 06: 3917–3921.  
Wang JX, Ren LZ, Wu LS, *et al.* Determination of Tetracycline Antibiotics in Water by Spectrophotometer with Cloud Point Extraction[J]. Chin J Spectr Lab, 2012, 06: 3917–3921.
- [11] 邵钰秀, 余云娟, 肖晶, 等. 电堆积毛细管电泳法检测食品中四环素类抗生素残留[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2013, 33(02): 161–166.  
Shao YX, Yu YJ, Xiao J, *et al.* Analysis of tetracycline antibiotic residues in food by capillary electrophoresis with stacking[J]. J Hebei Univ (Natural Science Edition), 2013, 33(02): 161–166.
- [12] Miranda JM, Rodriguez JA, Galan-Vidal CA. Simultaneous determination of tetracyclines in poultry muscle by capillary zone electrophoresis [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216 (15): 3366–3371.
- [13] 陈丽, 潘文庆, 马晓康. 5种四环素类抗生素快速鉴别方法的建立[J]. 中国药师, 2010, 6(13): 893–894.  
Chen L, Pan WQ, Ma XK. To establish a rapid identification method of 5 class of tetracycline antibiotics [J]. China Pharm, 2010, 6 (13): 893–894.
- [14] 赵冬梅, 龙清平, 赵文华. 高效液相色谱-紫外检测法分析蜂蜜中四环素类药物的残留[J]. 江西化工, 2009, 02: 69–72.  
Zhao DM, Long QP, Zhao WH. The Analysis of Residual Tetracyclines in Honey by High Liquid Chromatography–UV Detection [J]. Jiangxi Chem Ind, 2009, 02: 69–72.
- [15] 卢坤, 童群义. 高效液相色谱法同时检测蜂蜜中的5类抗生素残留[J]. 分析测试学报, 2011, 11: 1320–1323, 1328.  
Lu K, Tong QY. Simultaneous determination of 5 classes of antibiotics residues in honey using high performance [J]. J Instrum Anal, 2011, 11: 1320–1323, 1328.
- [16] 范志影, 刘庆生, 石冬冬, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定生鲜乳中四环素类和 $\beta$ -内酰胺类药物残留[J]. 中国畜牧杂志, 2013, 49(09): 74–77.  
Fan ZY, Liu QS, Shi DD, *et al.* Simultaneous determination of Tetracycline and  $\beta$ -lactam antibiotic residues in Fresh milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Feed Proc Test, 2013, 49(09): 74–77.
- [17] 王鲁勤, 蒋江云. HPLC法测定畜禽肉中土霉素、四环素、金霉素的残留[J]. 海峡药学, 2007, 19(9): 60–61.  
Wang LQ, Jiang JY. Determination of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline residues in the fresh meat by High Performance Liquid Chromatography [J]. Strait Pharm, 2007, 19(9): 60–61.
- [18] 段辉, 陆磊, 顾敏, 等. 畜禽蛋中抗生素高效液相色谱测定方法研究[J]. 兰州: 首届中国中西部地区色谱学术交流会, 2006: 275–276.  
Duan H, Lu L, Gu M, *et al.* Study on the determination of antibiotics in livestock and poultry eggs by high performance liquid chromatography [J]. Lanzhou: The First symposium on chromatography of Mid-west China, 2006: 275–276.
- [19] 吴永宁, 邵兵, 沈建忠. 兽药残留检测与监控技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 231–235.  
Wu YN, Shao B, Shen JZ. Detection and monitoring technology of veterinary drug residues [J]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 231–235.
- [20] 张鑫, 顾欣, 严凤, 等. 高效液相色谱法检测畜禽肉中四环素类药物残留的条件优化[J]. 化学分析计量, 2010, 19(5):

55-59.

Zhang X, Gu X, Yan F, *et al.* Optimization of high performance liquid chromatography for determination of four kinds of tetracyclines in meat [J]. *Chem Anal Meter*, 2010, 19(5): 55-59.

- [21] 孙刚, 袁守军, 彭书传, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定畜禽粪便中的土霉素、金霉素和四环素[J]. *环境化学*, 2010, 29(4): 739-742.

Sun G, Yuan SJ, Peng SC, *et al.* Determination of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline in manure by SPE-HPLC method [J]. *Environ Chem*, 2010, 29(4): 739-742.

- [22] 南庆贤. 肉类工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 813-823.

Nan QX. *The meat industry handbook* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2003: 813-823.

- [23] Hand ML, Thompson NL, Johnson JD. Influence of bacterial-antibiotic interactions on subsequent antimicrobial activity of

alveolar macrophages [J]. *J Infect Dis*, 1984, 149: 271-276.

(责任编辑: 赵静)

### 作者简介



高旭东, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全与品质控制。

E-mail: gxudong@yeah.net



陈士恩, 教授, 硕导, 主要研究方向为食品安全与品质控制。

E-mail: chshien@163.com