

鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留测定回收率较低的影响因素研究

杨嘉伟*, 陈双红, 李万光, 杨璇, 张官巨
(大竹县农产品质量安全监督检验检测站, 大竹 635100)

摘要: **目的** 探讨《农业部 781 号公告-6-2006 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定 高效液相色谱法》中方法回收率较低的原因。**方法** 样品用正己烷提取后, 采用 C₁₈ 固相萃取柱进行净化, 对不同的固相萃取柱型号、流动相洗脱用量、水洗脱用量、正己烷萃取次数和振荡方式对空白试剂样品中氟喹诺酮类药物的回收率进行研究, 探讨影响回收率的因素。**结果** 本研究选取的因素对氟喹诺酮类药物的回收率均有影响, 其中 1 次正己烷脱脂过程使环丙沙星的回收率从 97.5% 降至 35.2%, 达氟沙星从 92.5% 降至 32.9%, 恩诺沙星从 88.1% 降至 76.4%, 沙拉沙星从 85.6% 降至 37.4%。普通振荡器振荡使环丙沙星的回收率从 12.3% 降至 0, 恩诺沙星的回收率从 25.7% 降至 7.3%, 沙拉沙星的回收率从 13% 降至 0。**结论** 正己烷脱脂及普通振荡器振荡是《农业部 781 号公告-6-2006 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定 高效液相色谱法》中方法回收率较低的主要原因。**关键词:** 高效液相色谱法; 氟喹诺酮类药物; 鸡蛋; 回收率

Study on the influence factor of lower recovery in the detection of fluoroquinolones residues in eggs

YANG Jia-Wei*, CHEN Shuang-Hong, LI Wan-Guang, YANG Xuan, ZHANG Guan-Ju
(Agricultural Products Quality and Safety Supervision and Inspection Station of Dazhu County,
Dazhu 635100, China)

ABSTRACT: Objective To explore the cause of lower recovery in *Announcement No.781 of the ministry of agriculture the determination of quinolones residues in egg by high performance liquid chromatography Method*. **Methods** The samples were extracted with n-hexane and purified by the C₁₈ solid phase extraction column. The study on the influence factor of lower recovery in the detection of fluoroquinolones residues in eggs were conducted from the following aspects: different solid phase extraction column models, mobile phase elution volume, water elution volume, n-hexane extraction times and agitation ways. **Results** The recoveries of fluoroquinolones residues in eggs were influenced by the factors selected in this study. One time of n-hexane extraction decreased the recovery of ciprofloxacin from 97.5% to 35.2%, danofloxacin from 92.5% to 32.9%, enrofloxacin from 88.1% to 76.4%, and sarafloxacin from 85.6% to 37.4%. The use of ordinary oscillator decreased the recovery of ciprofloxacin from 12.3% to 0 and enrofloxacin from 25.7% to 7.3%. **Conclusion** The n-hexane extraction and use of ordinary oscillator are the main causes of lower recovery in *Announcement No.781 of the ministry of agriculture the determination of quinolones residues in egg by high performance liquid chromatography Method*.

*通讯作者: 杨嘉伟, 硕士, 助理畜牧师, 主要研究方向为农产品质量安全检测。E-mail: A10060248@126.com

*Corresponding author: YANG Jia-Wei, Master, Assistant Engineer of Pasturage, Agricultural Products Quality and Safety Supervision and Inspection Station of Dazhu County, Dazhu 635100, China. E-mail: A10060248@126.com

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; fluoroquinolones; egg; recovery

1 引言

氟喹诺酮类药物是一类抗菌谱广、抗菌活性强的人工合成药物,在预防及治疗动物疾病方面起到了重要作用^[1]。氟喹诺酮类药物残留会对人体产生毒副作用^[1],长期食用含低浓度氟喹诺酮类药物的动物性食品容易导致机体产生耐药性,从而影响对该药物的临床治疗^[2,3]。

目前,我国城镇居民的饮食结构发生了很大变化,肉、蛋、奶及其制品的食用比重越来越高。鸡蛋是很多居民日常生活中不可或缺的营养供给,因此鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的控制是一个很严峻的任务,并且我国对鸡蛋中氟喹诺酮类药物的残留限量^[4]作出了明文规定。检测氟喹诺酮类药物残留的方法主要有液相色谱-质谱联用法^[5,6]、液相色谱法^[7]及酶联免疫法^[8]等,本研究针对《农业部781号公告-6-2006 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定高效液相色谱法》^[9]中的方法回收率较低^[10,11]的现象,探讨不同因素对鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留测定的影响,分析加标回收率较低的原因,为该方法的进一步完善提供依据。

2 材料与方法

2.1 仪器

Agilent 1260 液相色谱仪(配备荧光检测器,美国安捷伦公司); C₁₈ 色谱柱(250×4.6 mm, 5 μm, 上海月旭科技公司); C₁₈ 固相萃取柱(100 mg/mL, 200mg/mL, 500mg/mL, 美国安捷伦公司); LT302 电子天平(常熟市天量仪器有限责任公司); UPT-II-5T 超纯水装置(成都超纯科技有限公司); HQY-CQ 全温空气浴振荡器(金坛市鸿科仪器厂); MX-S 涡旋混合器(大龙兴创实验仪器有限公司)。

2.2 试剂

甲醇、乙腈(HPLC级,美国天地公司); 正己烷、三乙胺、氢氧化钠和磷酸二氢钾(分析纯,成都科龙试剂); 环丙沙星、甲磺酸达氟沙星、恩诺沙星和盐酸沙拉沙星标准品(100 μg/mL,农业部环境保护科研监测所); 5.0 mol/L的氢氧化钠溶液(28 mL 氢氧化钠饱和溶液用水定容至 100 mL); 0.05 mol/L 磷酸-三乙胺溶液(将 3.4 mL 的 85%磷酸用水定容至 1000 mL,用三乙胺调节 pH 至 2.4); 乙腈(30%)缓冲液(乙腈:0.05mol/L 磷酸/三乙胺溶液=3:7, V:V)。

2.3 实验方法

2.3.1 样品前处理

称取 2 g 鸡蛋样品置于匀浆杯中,加入 2.0 mL 磷酸

盐提取液,振荡混合 10 min,在 5000 r/min 下离心 10 min,将上清液转入另一离心管中。用 2.0 mL 磷酸盐提取液洗涤残渣,按照上述步骤重复提取 1 次,将 2 次的上清液合并于同一离心管中,加入 10 mL 水饱和的正己烷,振荡 5 min,在 5000 r/min 下离心 10 min,用吸管吸取絮状物质下面的清液于另一离心管中,再加入 10 mL 水饱和的正己烷于清液中,振荡,离心,弃去上层正己烷,下层为备用液。

2.3.2 净化

C₁₈ 固相萃取柱依次用 5 mL 乙腈、5 mL 乙腈缓冲液(30%)和 5 mL 磷酸盐提取液润洗,备用液过柱,用 5 mL 水洗后真空抽干。加入 1 mL 流动相进行洗脱,真空抽干,收集洗脱液作为试样溶液,过 0.2 μm 滤膜后用高效液相色谱仪进行分析。

2.3.3 标准曲线的绘制

用流动相将环丙沙星、恩诺沙星和盐酸沙拉沙星分别进行稀释,分别配制成浓度为 0.005、0.01、0.02、0.02、0.10 和 0.50 μg/mL 的标准溶液,将甲磺酸达氟沙星稀释为 0.001、0.002、0.01、0.02、0.10 和 0.20 μg/mL 的标准溶液。以标准品浓度为横坐标,色谱图中对应的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

2.3.4 回收率测定

取鸡蛋样品 2 g,按照 10 μg/kg 的添加量添加 4 种标准品,按上述条件进行测定,每个样品平行测定 3 次,计算样品的加标回收率。同时计算不添加样品的空白试剂的加标回收率。

2.4 液相色谱条件

流动相: 0.05 mol/L 的磷酸-三乙胺溶液:乙腈=81:19, V:V; 流速: 1.0 mL/min;

荧光检测器: 激发波长 280 nm, 发射波长 450 nm; 进样量: 20 μL。

2.5 统计分析方法

实验数据用 SPSS 软件进行统计分析。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线的绘制

4 种氟喹诺酮类药物标准品的液相色谱图如图 1 所示。4 种标准品的标准曲线及回归方程如图 2、图 3、图 4 及图 5 所示。环丙沙星、沙拉沙星的检出限为 10 μg/kg,达氟沙星为 2 μg/kg。

3.2 色谱净化柱对空白试剂回收率的影响

分别选取 100、200、500 mg/3 mL 的 C₁₈ 固相萃取柱,按照“2.3.2”中的方法进行处理。由于空白试剂样品不含脂

肪, 因此提取过程不需进行正己烷去脂, 结果如表 1 所示。

从实验结果可以看出, 随着固相萃取柱填料量的增加, 在流动相洗脱用量不变的情况下, 氟喹诺酮类药物的回收率呈下降趋势; 当填料量增加到 500 mg/3mL 时, 4 种氟喹诺酮类药物均未被检出。当填料量为 200 mg/mL 时, 环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星和沙拉沙星的回收率呈逐步下降趋势。

环丙沙星在色谱图上的保留时间最小, 而沙拉沙

星的保留时间最大, 说明固相萃取柱上还有部分氟喹诺酮类药物未被流动相洗脱下来。当填料增加到 500 mg/3mL 时, 1 mL 的流动相无法洗脱下萃取柱上的氟喹诺酮类药物, 所以洗脱液中未检出氟喹诺酮类药物残留。根据农业部 781 号公告-6-2006《鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定高效液相色谱法》^[9]中的实验条件, 填料量为 100 mg/mL 的柱子能够满足空白试剂的加标回收率需要。

FLD1 A, Ex=280, Em=450 (TEST\TEST-250MM 10UG_L, 2UG_L混标系统.D)

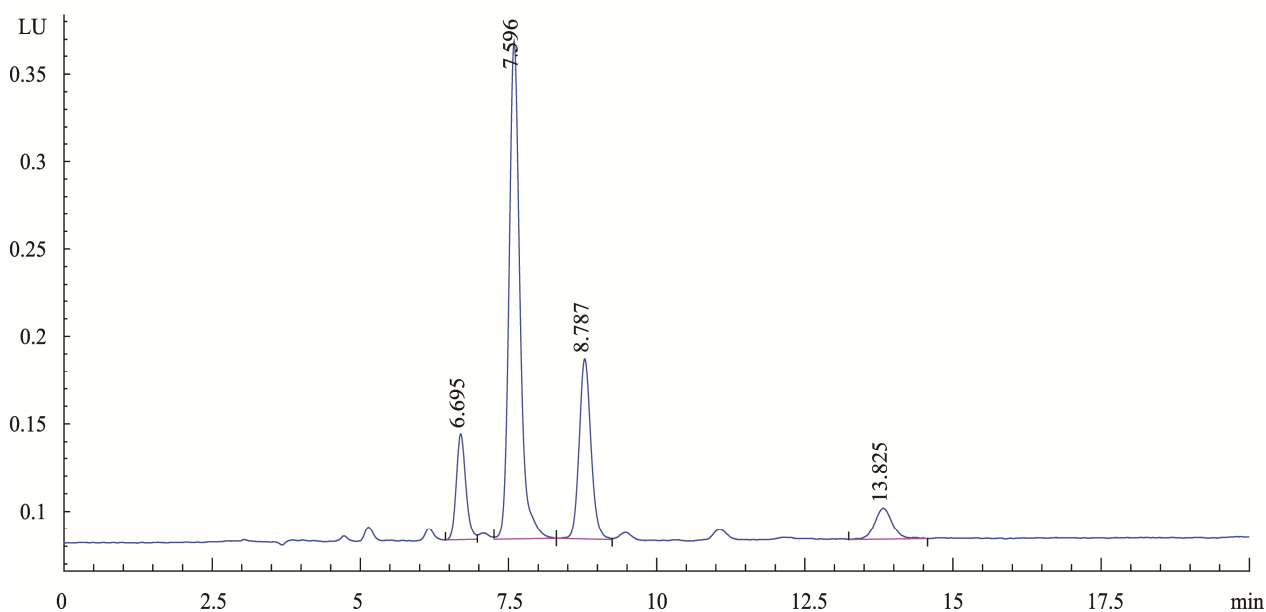


图 1 环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星和沙拉沙星标准品的色谱图(自左向右)(达氟沙星浓度为 2 $\mu\text{g/L}$, 其余浓度为 10 $\mu\text{g/L}$)

Fig. 1 Chromatograms of ciprofloxacin, danofloxacin, enrofloxacin and sarafloxacin standard(from left to right)(the concentration of danofloxacin is 2 $\mu\text{g/L}$, the others are 10 $\mu\text{g/L}$)

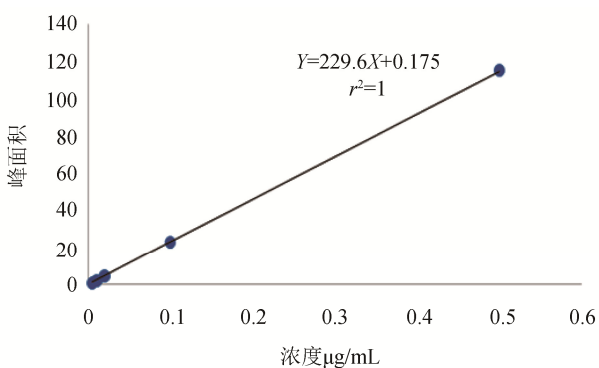


图 2 环丙沙星的标准曲线

Fig. 2 The calibration curve of ciprofloxacin

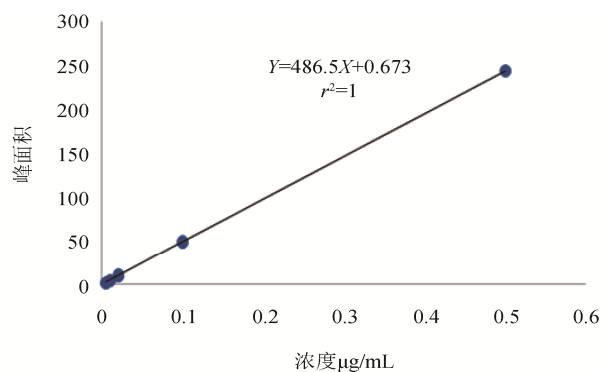


图 3 恩诺沙星的标准曲线

Fig. 3 The calibration curve of enrofloxacin

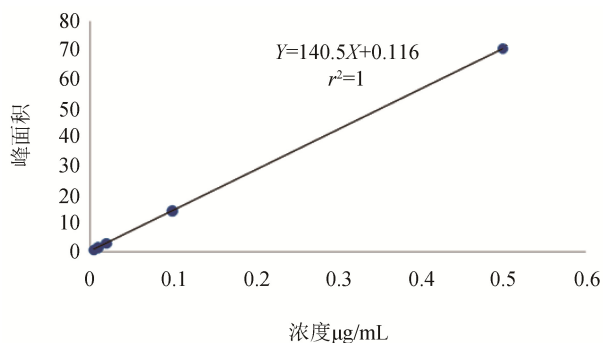


图4 沙拉沙星的标准曲线

Fig. 4 The calibration curve of sarafloxacin

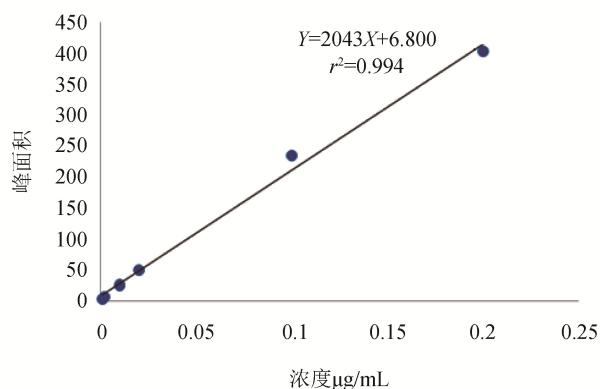


图5 达氟沙星的标准曲线

Fig. 5 The calibration curve of danofloxacin

表1 不同规格色谱柱对回收率的影响(n=3)

Table 1 Effect of different specification columns on the recoveries (n=3)

| 色谱柱规格(mg/3 mL) | 组分名称 | 回收率(%) |
|----------------|------|----------|
| 100 | 环丙沙星 | 96.7±2.2 |
| | 达氟沙星 | 91.5±2.4 |
| | 恩诺沙星 | 86.1±3.0 |
| | 沙拉沙星 | 85.2±1.7 |
| | 环丙沙星 | 88.5±1.3 |
| 200 | 达氟沙星 | 82.7±1.4 |
| | 恩诺沙星 | 69.7±1.3 |
| | 沙拉沙星 | 0*±0 |
| | 环丙沙星 | 0*±0 |
| 500 | 达氟沙星 | 0*±0 |
| | 恩诺沙星 | 0*±0 |
| | 沙拉沙星 | 0*±0 |

注: *为检验结果低于方法检出限。

3.3 流动相洗脱用量对空白试剂回收率的影响

选取 100 mg/mL 填料的 C₁₈ 固相萃取柱, 按照“2.3.2”中的方法进行处理, 分别用 1、2、3 mL 的流动相洗脱固相萃取柱, 提取过程未进行正己烷去脂, 实验结果如表 2 所示。从结果可以看出, 流动相洗脱用量的增加对空白试剂加标回收率的影响较小, 1 mL 的流动相已经足够将固相萃取柱中的氟喹诺酮类药物洗脱下来。

表2 不同流动相洗脱用量对回收率的影响(n=3)

Table 2 Effect of different mobile phase elution volumes on the recovery (n=3)

| 洗脱用量(mL) | 组分名称 | 回收率(%) |
|----------|------|----------|
| 1 | 环丙沙星 | 96.7±2.2 |
| | 达氟沙星 | 91.5±2.4 |
| | 恩诺沙星 | 86.1±3.0 |
| | 沙拉沙星 | 85.2±1.7 |
| | 环丙沙星 | 97.1±1.7 |
| 2 | 达氟沙星 | 93.2±0.6 |
| | 恩诺沙星 | 87.5±2.5 |
| | 沙拉沙星 | 87.2±2.5 |
| | 环丙沙星 | 96.9±1.4 |
| 3 | 达氟沙星 | 93.5±0.7 |
| | 恩诺沙星 | 88.0±1.3 |
| | 沙拉沙星 | 88.2±0.9 |

3.4 水洗洗脱用量对空白试剂回收率的影响

选取 100 mg/mL 填料的 C₁₈ 固相萃取柱, 按照“2.3.2”中的方法进行处理, 分别用 1、3、5 mL 水洗, 提取过程未进行正己烷去脂, 最后用 1 mL 流动相洗脱固相萃取柱, 实验结果如表 3 所示。从结果可以看出, 水洗用量的增加对空白试剂的加标回收率影响较小, 水洗用量增加并未将更多的氟喹诺酮类药物从固相萃取柱上洗脱下来, 从简化实验步骤、缩短实验时间的角度考虑, 选择水洗用量为 1 mL。

3.5 正己烷萃取次数对空白试剂回收率的影响

选取 100 mg/mL 填料的 C₁₈ 固相萃取柱, 按照“2.3.2”中的方法进行处理, 分别用正己烷进行去脂处理 0、1、2 次, 用 1 mL 水洗, 最后用 1 mL 流动相洗脱固相萃取柱。实验结果如表 4 所示。

表 3 不同水洗洗脱用量对回收率的影响($n=3$)
Table 3 Effect of different water elution volumes on the recoveries ($n=3$)

| 洗脱用量(mL) | 组分名称 | 回收率(%) |
|----------|------|-----------|
| 1 | 环丙沙星 | 97.5±0.95 |
| | 达氟沙星 | 92.5±1.8 |
| | 恩诺沙星 | 88.1±2.9 |
| | 沙拉沙星 | 85.6±1.3 |
| 3 | 环丙沙星 | 96.5±1.6 |
| | 达氟沙星 | 91.2±0.5 |
| | 恩诺沙星 | 86.5±3.1 |
| | 沙拉沙星 | 84.7±2.5 |
| 5 | 环丙沙星 | 96.7±2.2 |
| | 达氟沙星 | 91.5±2.4 |
| | 恩诺沙星 | 86.1±3.0 |
| | 沙拉沙星 | 85.2±1.7 |

从结果可以看出,随着正己烷萃取次数的增加,空白试剂的加标回收率呈明显下降的趋势,未加正己烷萃取时,氟喹诺酮类药物的回收率能够满足 70%~100%的准确度要求;经正己烷去脂 1 次后,环丙沙星、达氟沙星和沙拉沙星的回收率骤然将至 40%以下,恩诺沙星的平均回收率下降至 76.4%。陈蕾等^[10]认为,回收率偏低的原因是去除合并提取液后正己烷脱脂形成的絮状沉淀造成提取液损失,使得实际过柱的样品溶液减少。但是实验过程中并未加入鸡蛋样品,说明回收率偏低的原因是正己烷溶解了部分氟喹诺酮类药物,特别是溶解了大部分环丙沙星、达氟沙星和沙拉沙星,这与王冉^[12]的研究中环丙沙星在含脂量较高的蛋黄中分布较多的现象相佐证。因此,在满足脱脂要求及回收率尽量高的前提下,选取的萃取次数为 1 次。

表 4 不同正己烷萃取次数对回收率的影响($n=3$)
Table 4 Effect of different n-hexane extraction times on the recoveries ($n=3$)

| 萃取次数 | 组分名称 | 回收率(%) |
|------|------|----------|
| 0 | 环丙沙星 | 97.5±0.9 |
| | 达氟沙星 | 92.5±1.8 |
| | 恩诺沙星 | 88.1±2.9 |
| | 沙拉沙星 | 85.6±1.3 |
| 1 | 环丙沙星 | 35.2±0.5 |
| | 达氟沙星 | 32.9±0.5 |
| | 恩诺沙星 | 76.4±1.4 |
| | 沙拉沙星 | 37.4±2.2 |
| 2 | 环丙沙星 | 31.1±0.7 |
| | 达氟沙星 | 25.6±1.7 |
| | 恩诺沙星 | 54.7±1.6 |
| | 沙拉沙星 | 34.7±1.2 |

3.6 振荡方式对空白试剂回收率的影响

选取 100 mg/mL 填料的 C₁₈ 固相萃取柱,按照“2.3.2”中的方法进行处理,分别用不同方式进行振荡,用正己烷对样品进行去脂处理 1 次,用 1 mL 水洗,用 1 mL 流动相洗脱固相萃取柱,得到的结果如表 5 所示。用正己烷进行脱脂处理后的离心分层结果如图 6 所示。

从结果中可以看出,涡旋振荡后的离心下层溶液清澈透明,而普通振荡器振荡离心后下层溶液呈浑浊状态,导致净化时固相萃取柱易堵塞,使回收率偏低。涡旋振荡能使提取液充分乳化,有利于在 5000 r/min 的低速离心条件下形成结构较紧密的絮状层,使下层溶液清澈透明而容易通过萃取柱,陈蕾等^[10]的实验结果显示,提取液在 10000 r/min 的离心条件下分层明显,相对于大体积溶液的高速离心,涡旋振荡后低速离心能够更安全地达到分层的目的。此外,在 1 次正己烷萃取条件下,恩诺沙星的回收率从空白试剂中的 76.4%降到空白鸡蛋样品中的 25.7%,说明离心分层后絮状物质对恩诺沙星有一定吸附作用。

表 5 不同振荡方式对回收率的影响($n=3$)
Table 5 Effect of different agitation ways on the recoveries ($n=3$)

| 振荡方式 | 组分名称 | 回收率(%) |
|---------|------|----------|
| 普通振荡器振荡 | 环丙沙星 | 0*±0 |
| | 达氟沙星 | 0*±0 |
| | 恩诺沙星 | 7.5±2.8 |
| | 沙拉沙星 | 0*±0 |
| 涡旋振荡器振荡 | 环丙沙星 | 12.3±1.4 |
| | 达氟沙星 | 0*±0 |
| | 恩诺沙星 | 25.7±0.9 |
| | 沙拉沙星 | 13.0±1.0 |

注: *为检验结果低于方法检出限。

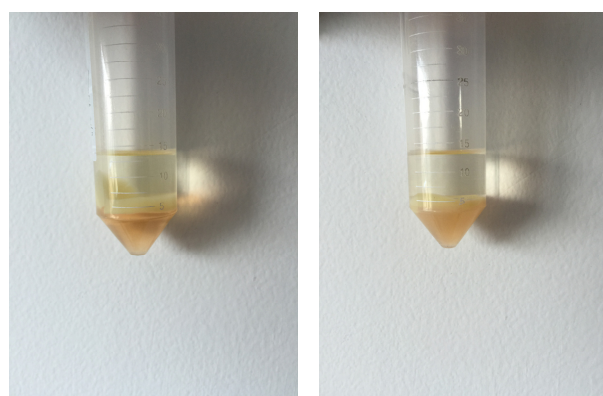


图 6 涡旋振荡(左)及普通振荡后的离心分层结果(右)

Fig. 6 Centrifugal stratified results of vortex oscillation (left) and normal oscillation(right)

5 结 论

综上所述,在《农业部 781 号公告-6-2006 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定 高效液相色谱法》^[9]的方法框架下,净化色谱柱规格、流动相洗脱用量、水洗洗脱用量、正己烷萃取次数及振荡方式等变量对氟喹诺酮类药物的回收率均有影响。李丹等^[11]的研究发现,“农业部 781 号公告-6-2006”中的方法加标回收率偏低,并提出了测定鸡蛋中的氟喹诺酮类药物残留的新方法,但是并未指出回收率偏低的原因。本研究的结果表明,在空白试剂的加标回收率实验中,1次正己烷萃取使环丙沙星的回收率从 97.5%降至 35.2%,达氟沙星的回收率从 92.5%降至 32.9%,恩诺沙星的回收率从 88.1%降至 76.4%,沙拉沙星的回收率从 85.6%降至 37.4%,说明正己烷溶解了部分氟喹诺酮类药物。正己烷脱脂过程的振荡方式造成了正己烷脱脂后的分层状况不同,其中,普通振荡器振荡使得回收率降低,而涡旋振荡能使回收率提高。因此,正己烷萃取脱脂及普通振荡器振荡可能是回收率降低的主要原因,本研究的结果为“农业部 781 号公告-6-2006”中氟喹诺酮类药物测定的进一步优化和修订提供了一定的依据。

参考文献

- [1] 李宁, 林小莉, 董艳峰. 优化超相液相色谱法对鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的检测[J]. 黑龙江农业科学, 2014, (3): 107-109.
Li N, Lin XL, Dong YF. Detection of quinolones residues in egg by UPLC method [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2014, (3): 107-109.
- [2] Niwa H, Chuma T, Okamoto K, *et al.* Simultaneous detection of mutations associated with resistance to macrolides and quinolones in campylobacter jejuni and C-coli using a PCR-line probe assay [J]. Antimicrob Agents, 2003, 22: 374-379.
- [3] Horri T, Monji A, Uenuma K, *et al.* Rapid detection of fluoroquinolone resistance by isothermal chimeric primer-initiated amplification of nucleic acids from clinical isolates of Neisseria gonorrhoeae [J]. J Microbiol Meth, 2006, 65: 557-561.
- [4] 农业部 235 号公告 动物性食品中兽药最高残留限量[S].
Announcement No.235 of the Ministry of Agriculture The maximum residue limits of veterinary drugs in animal food [S].
- [5] 田媛, 张尊建, 李静, 等. 固相萃取-LC-MS/MS 测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留[J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(1): 60-65.
Tian Y, Zhang ZJ, Li J, *et al.* Multiresidue determination of fluoroquinolones in eggs by solid-phase extraction-LC-MS/MS [J]. J China Pharm Univ, 2010, 41(1): 60-65.
- [6] GB/T 21312-2007 动物源性食品中 14 种喹诺酮药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].
GB/T 21312-2007 Analysis of fourteen quinolones in food of animal origin by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].
- [7] 李航, 魏伯平, 徐惠聪. 鸡蛋中氟喹诺酮类兽药残留的检测方法研究[J]. 四川食品与发酵, 2008, 44(5): 65-68.
Li H, Wei BP, Xu YC. Determination of fluoroquinolones in eggs [J]. Sichuan Food Ferment, 2008, 44(5): 65-68.
- [8] 刘欢欢, 于学辉, 彭莉, 等. 用 ELISA 检测方法检测鸡蛋氟喹诺酮类药物残留的研究[J]. 西南民族大学学报, 2008, 34(6): 1-4.
Liu HH, Yu XH, Peng L, *et al.* The research on ELISA detection of fluoroquinolones in eggs [J]. J Southwest Univ Nat, 2008, 44(5): 1-4.
- [9] 农业部 781 号公告-6-2006 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量的测定 高效液相色谱法[S].
Announcement No.781 of the Ministry of Agriculture The determination of quinolones residues in egg by HPLC method [S].
- [10] 陈蕾, 张宁, 梅芊, 等. 高效液相色谱法测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留方法研究[C]. 第四届中国兽药大会-动物药品学会论文集, 2012: 184-191.
Chen Q, Zhang N, Mei Q, *et al.* Study on the method of detecting content of fluoroquinolones in eggs by high performance liquid chromatography [C]. Collection of the animal medicine branch of the fourth China veterinary medicine congress, 2012: 184-191.
- [11] 李丹, 张玉洁, 仲锋, 等. 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量检测方法研究[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(6): 1-4.
Li D, Zhang YJ, Zhong F, *et al.* Study on detection method of quinolones residues in egg [J]. Chin J Vet Drug, 2010, 44(6): 1-4.
- [12] 王冉, 刘铁铮. 鸡蛋中的兽药残留规律及其影响因素探讨[J]. 兽药与饲料添加剂, 2004, 9(6): 1-4.
Wang R, Liu TZ. Law of the veterinary drug residues in eggs and its influence factor [J]. Vet Pharm Feed Addit, 2004, 9(6): 1-4.

(责任编辑: 刘 丹)

作者简介



杨嘉伟, 硕士, 畜牧师, 主要研究方向为农产品质量安全检测。

E-mail: A10060248@126.com