

固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中小檗碱残留量

杨修镇, 尹伶灵, 薄永恒, 陈玲, 魏茂莲, 李有志*

(山东省兽药质量检验所, 山东省畜产品质量安全监测与风险评估重点实验室, 济南 250022)

摘要: **目的** 建立固相萃取-液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定鸡蛋中小檗碱残留量的检测方法。**方法** 样品经80%(V/V)乙腈溶液提取, 经过混合阳离子(mixed-mode, strong cation-exchange, MCX)固相萃取柱净化。采用0.1%甲酸(V/V)-甲醇溶液(A)和0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液(B)进行梯度洗脱, 采用正离子模式, 多反应监测, 基质匹配外标法定量分析。**结果** 小檗碱进样浓度在2~100 ng/mL范围内与峰面积呈良好的线性关系($r^2=0.999$); 方法检出限和定量限分别为0.5和1.0 $\mu\text{g/kg}$; 在1.0、2.0、10.0 $\mu\text{g/kg}$ 3个添加水平下, 回收率在62.2%~108.3%之间, 相对标准偏差为5.6%~9.8% ($n=6$)。**结论** 本方法简便、准确、快速、灵敏, 适用于鸡蛋中小檗碱残留量的检测。

关键词: 液相色谱-串联质谱法; 鸡蛋; 小檗碱; 残留量

Determination of berberine residues in eggs by solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YANG Xiu-Zhen, YIN Ling-Ling, BO Yong-Heng, CHEN Ling, WEI Mao-Lian, LI You-Zhi*

(Shandong Provincial Veterinary Medicine Supervision Institute, Shandong Provincial Key Laboratory of Quality Safety Monitoring and Risk Assessment for Livestock and Poultry Products, Jinan 250022, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of berberine in eggs by solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS). **Methods** Eggs samples were extracted with 80% (V/V) acetonitrile solution and then the extracts were purified by the MCX (mixed-mode, strong cation-exchange) solid phase extraction. The gradient elution was carried out with 0.1% (V/V) formic acid methanol (A) and 0.1% formic acid-5 mmol/L ammonium acetate solution(B). Electrospray positive ion source (ESI⁺), multiple reaction monitoring (MRM) mode and the matrix-matching external standard method were applied for quantitative analysis. **Results** There was a good linear correlation between the peak areas and the concentrations of berberine at the range of 2.0–100 ng/mL ($r^2=0.999$), the limit of detection and limit of quantification was 0.5 and 1.0 $\mu\text{g/kg}$. The recovery rates were 62.2%–108.3% and the relative standard deviations were 5.6%–9.8% at the addition levels of 1.0, 2.0 and 10.0 $\mu\text{g/kg}$ ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, accurate, fast and sensitive and is suitable for determination of berberine residues in eggs.

KEY WORDS: liquid chromatography-tandem mass spectrometric; egg; berberine; residues

*通讯作者: 李有志, 研究员, 主要研究方向为畜牧技术创新研究和推广工作。E-mail: liyouzhi2009@126.com

*Corresponding author: LI You-Zhi, Processor, Shandong Provincial Veterinary Medicine Supervision Institute, Shandong Provincial Key Laboratory of Quality Safety Monitoring and Risk Assessment for Livestock and Poultry Products, Jinan 250022, China. E-mail: liyouzhi2009@126.com

1 引言

小檗碱亦称黄连素,是从中药黄连中分离出来的一种生物碱^[1],亦可大量合成^[2-5],具有明显的抗菌作用,临床上已广泛用于细菌性痢疾和其他胃肠道细菌性感染的治疗^[6,7]。农业农村部发布《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案(2018-2021 年)》^[8],开展兽用抗菌药物减量行动,但小檗碱制剂未在被限制的名单里面,含有小檗碱成分的黄连解毒散、白头翁散等中兽药制剂在减抗的背景下更是被广泛采用。研究表明^[9]小檗碱可引起溶血性贫血导致黄疸,遗传性葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏的儿童应禁用,孕妇及哺乳期妇女应慎用。鸡蛋为人体提供了丰富的蛋白质,同时是孕妇、哺乳期妇女、婴幼儿及疾病患者接触较多的食品,其安全性是食品安全的重中之重,但目前未见鸡蛋中小檗碱残留量检测的报道。用于检测小檗碱的方法主要有高效液相色谱法^[10-16]、紫外分光光度法^[17]、薄层扫描法^[18-19]、荧光光度法^[20]、液相色谱-串联质谱法^[21,22],液相色谱-串联质谱法将色谱的分离能力与质谱的定性能力结合起来,适用于复杂痕量组分的分析,具有高灵敏度和特异性,因此选用液相色谱-串联质谱法进行研究。文献报道^[21,22]的液相色谱-串联质谱法前处理未采用固相萃取技术,固相萃取技术与传统前处理方法相比具有效率更高、效果更好的优点,可降低样品基质干扰,提高检测灵敏度,延长色谱系统和色谱柱使用寿命。基于此,本研究建立了鸡蛋中小檗碱残留量检测的固相萃取(solid phase extraction, SPE)-液相色谱-串联质谱方法,以期对蛋鸡养殖过程中使用小檗碱制剂及含有小檗碱成分的中兽药的安全性进行评估,减少因小檗碱残留带来的食品安全隐患,为相关工作者提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器

Xevo TQ-S 液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司); AE-240 电子天平(感量 0.01 、0.00001 g, 瑞士 Mettler 公司); MS3 ika 涡旋混合器(德国艾卡公司); KS-2 康氏振荡器(常州金坛恒丰仪器制造有限公司); CF16RXII 离心机(日本日立工业株式会社); FJ-200 高速分散均质器(上海标本模型厂); N-EVAPTM112 氮吹仪(美国 Organomation 公司); Oasis 混合阳离子 MCX 固相萃取柱(60 mg, 美国 Waters 公司); 0.22 μm 微孔滤膜、MilliPAK 纯水器(美国 Millipore 公司)。

2.1.2 试剂与样品

小檗碱对照品(批号 110713-201814, 含量 86.7%, 中国食品药品检定研究院);

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 甲酸(色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 氨水、氯化钠、乙酸铵(分析纯,

国药集团化学试剂有限公司); 水为一级水(自制)。

鸡蛋购自山东省内大型超市及农贸市场。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配制

小檗碱标准溶液配制: 精密称取 11.5 mg 小檗碱对照品, 用甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 定容至刻度线, 摇匀, 作为 1 mg/mL 标准储备液, -20 °C 保存。精密量取贮备液适量, 用 10% 甲醇逐级稀释至 2、5、10、20、50、100 ng/mL 的系列溶液, 精密吸取各溶液 1 mL 分置空白样品吹干的基质中, 涡旋 1 min 过 0.22 μm 滤膜, 作为标准工作液。

2.2.2 样品前处理

称取均质后的鸡蛋样品(5±0.05) g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 80%(V/V)乙腈溶液 15 mL, 涡旋 1 min, 振荡提取 15 min, 9000 r/min 离心 10 min。上清液置另一 50 mL 离心管中, 残渣加入 80%乙腈溶液 15 mL, 重复提取一次, 合并上清液, 氮吹至干, 加入 4%(m/V)氯化钠溶液 5 mL 溶解残渣, 再加正己烷 5 mL, 涡旋混合 1 min, 9000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷液, 重复除脂 1 次, 下层备用。

MCX 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化, 将上一步备用液全部过柱, 依次用 5 mL 水、5 mL 甲醇洗涤, 抽干, 用 5%(V/V)氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱, 收集洗脱液, 氮吹(不超过 40 °C)至干, 用 10%(V/V)甲醇 1 mL 溶解, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 供上机测试。

2.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

Waters BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相 A: 0.1%(V/V)甲酸-甲醇溶液; 流动相 B^[17]: 0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液, 流速: 0.3 mL/min, 进样体积: 2 μL, 柱温: 40 °C。液相色谱梯度洗脱程序见表 1。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序
Table 1 Liquid chromatography gradient elution program

时间/min	A/%	B/%
0	10	90
1	10	90
4	90	10
5	90	10
6	10	90

(2) 质谱条件

电喷雾离子源: 正离子扫描(electrospray positive ion source, ESI⁺); 多反应监测(multiple reaction monitoring , MRM); 离子源温度: 150 °C; 脱溶剂温度: 350 °C; 脱溶剂氮气流速: 1000 L/h; 锥孔反吹氮气流速: 150 L/h; 毛细管电压: 0.5 kV。

2.2.4 标准曲线绘制

为降低基质效应的影响, 采用空白基质匹配标准溶

液进行定量, 配制浓度为 2、5、10、20、50、100 ng/mL 的基质匹配系列溶液。以定量离子峰面积(Y)为纵坐标, 浓度为横坐标(X, ng/mL), 进行线性回归分析。

3 结果与分析

3.1 色谱和质谱条件优化

本实验用甲醇-水作为流动相, ESI⁺模式下流动相中加入甲酸能促进化合物的离子化, 水相中 5 mmol/L 乙酸铵的加入大大改善了峰形, 防止了前延峰的出现。图 1 为小檗碱在该色谱条件下的色谱图, 色谱峰峰面积信号强, 峰形对称性好且尖锐, 小檗碱在 4 min 内能获得良好的分离。

在 ESI⁺模式下, 将 100 ng/mL 小檗碱标准溶液, 以 10 μ L/min 的流速直接注入串联质谱, 进行母离子和子离子扫描, 确定母离子质荷比为 336.0, 选取经碰撞后所得丰度较高的 2 个子离子分别作为定量和定性离子, 并优化确定其最佳锥孔电压和碰撞能量, 见表 2。

3.2 样品前处理条件优化

小檗碱是一种季铵生物碱, 微溶于水、甲醇、乙腈等极性较强的溶剂, 不溶于正己烷。鸡蛋中的主要干扰组分为蛋白质和脂肪, 乙腈可以沉淀蛋白, 且对小檗碱有一定的溶解作用, 故选乙腈为提取溶剂。实验采用加标回收实验($n=5$)比较了乙腈、50%乙腈溶液、80%乙腈溶液 3 种溶剂的提取效率, 其平均回收率分别为 55.2%、75.4%、62.3%, 80%乙腈溶液提取率最高, 因此选择 80%乙腈溶液为提取溶液。为除去基质中的脂肪, 采用正己烷液液萃取除脂, 提取液经氮气吹干后用 4%氯化钠溶液溶解可与正己烷实现较好的分层, 并能防止乳化现象的产生。

已报道文献未采用固相萃取柱进行净化, 为减少基质效应, 降低色谱系统的维护成本, 达到分离和富集目标化合物提高检测灵敏度的目的, 本文选取 MCX 固相萃取小柱对样品进行了净化, MCX 固相萃取小柱具有强阳离子交换和反相保留作用, 对碱性分析物选择性强, 并可在有机溶剂中保持稳定, 优化前和优化后的色谱图见图 2~3。结果表明优化后的方法可大大减少基质效应。

3.3 基质效应评估

称取空白鸡蛋, 按优化后的前处理方法进行处理至“收集洗脱液, 氮吹(不超过 40 $^{\circ}$ C)至干”, 精密吸取 10 ng/mL 小檗碱对照品溶液 1 mL 溶解残渣, 平行 6 份。在规定的条件下进行检测, 所得面积均值与相同浓度对照品溶液的峰面积进行比较, 所得峰面积均值分别为 33486、42673。溶剂对照品峰面积均值高于基质匹配对照品峰面积均值约 30%, 鸡蛋基质有明显的基质抑制作用, 因此, 用基质匹配标准曲线进行定量校正。

3.4 方法的线性关系、检出限及定量限

经测定, 方法线性回归方程为: $Y = 3314.9X - 291.38$ ($r^2 = 0.999$), 结果表明小檗碱进样浓度在 2~100 ng/mL 范围内与定量离子峰面积呈良好的线性关系。

称取空白鸡蛋, 添加一定量小檗碱, 按优化后的前处理方法进行处理, 以定性、定量离子色谱峰的信噪比 $S/N \geq 3$, 且定性离子相对丰度偏差不超过规定^[23]的最低添加量为本方法的检出限, 大于检出限且定量离子色谱峰的信噪比 $S/N=10$ 的最低添加量为本方法的定量限。本方法的检出限为 0.5 μ g/kg, 定量限为 1.0 μ g/kg, 与文献方法相比灵敏度大大提高, 满足鸡蛋中痕量小檗碱残留检测需求。

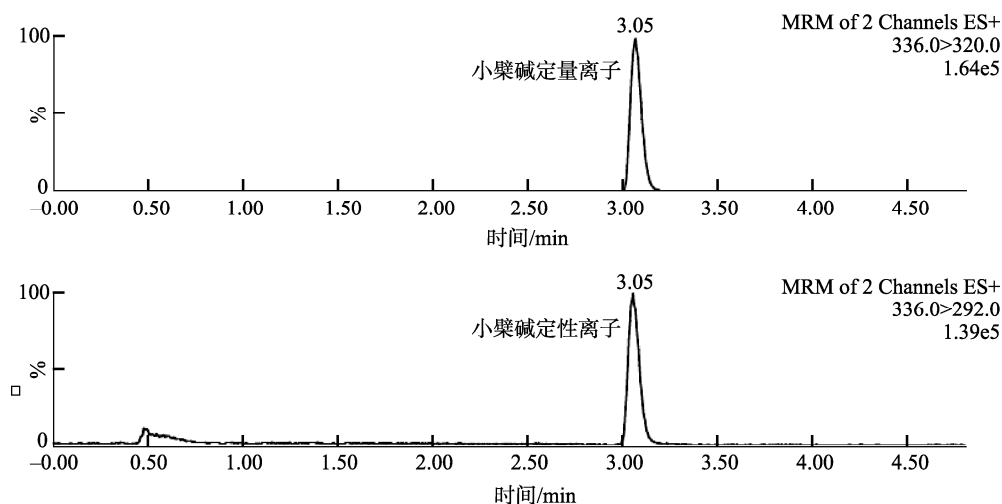


图 1 小檗碱的色谱图

Fig.1 Chromatogram of berberine

表 2 小檗碱的 MRM 离子测定参数表

Table 2 Parameters of multiple reaction monitoring ion determination of berberine

化合物名称	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
小檗碱	336.0	320.0*	15	30
		292.0	15	29

注: *为定量离子

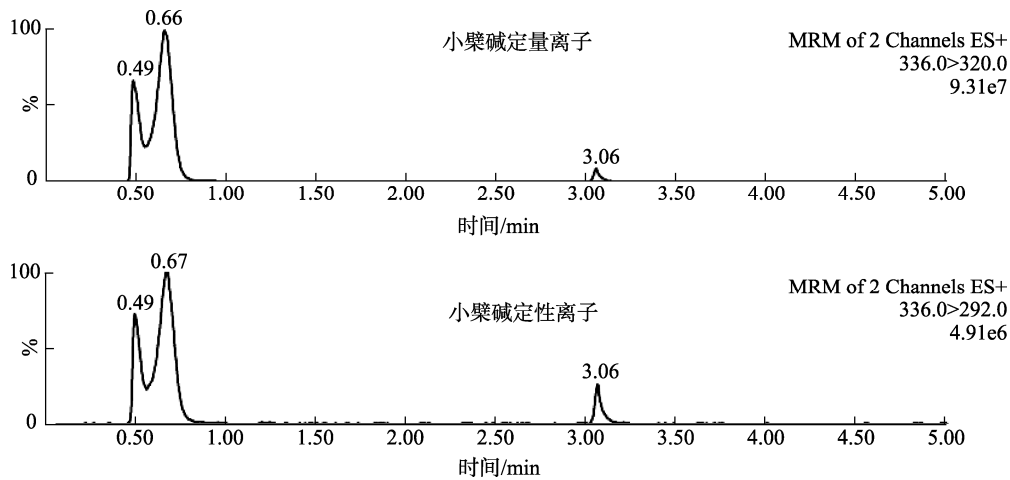


图 2 未经固相萃取净化的色谱图

Fig.2 Chromatogram without SPE purification

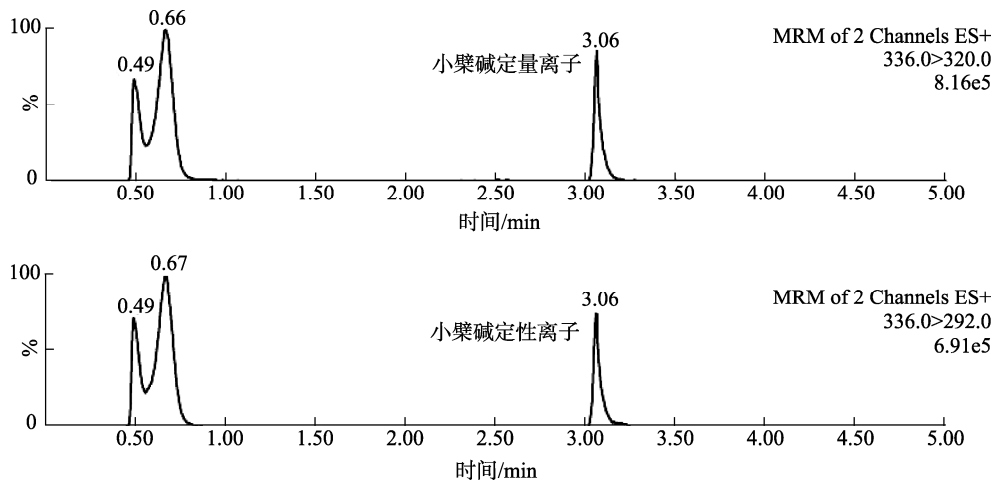


图 3 经固相萃取净化后的色谱图

Fig.3 Chromatogram after SPE purification

3.5 回收率及精密度实验

取 3 批空白鸡蛋,按定量限、2 倍定量限、10 倍定量限进行添加,每个浓度做 6 个平行,在实验最终确定的条件下进行测定,采用基质配外标法定量,考察方法回收率、相对标准偏差,结果如表 3 所示。从表 3 可以看出小檗碱在鸡蛋中的加标回收率为 62.2%~108.3%,批内相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 5.6%~9.8%,批间 RSD < 15%,能够满足样品残留检测的要求。

3.6 实际样品测定

用本方法对山东省内流通环节的 150 批鸡蛋样品进行检测,发现阳性样品 3 批,其中 1 批残留量为 1.8 $\mu\text{g/kg}$,另外 2 批未达到定量限,阳性率较低可能与小檗碱经口服给药生物利用率低^[24]有关。

4 结 论

本研究建立了固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定鸡

蛋中小檗碱残留量的方法。采用 MCX 混合阳离子固相萃取柱净化, 降低了样品基质干扰, 文献方法^[21,22]定量限为 5 μg/kg, 本方法定量限为 1.0 μg/kg, 灵敏度大大提高。本方

法简便、准确、快速、灵敏, 适用于大批样品检测, 可以满足对食品安全隐患排查需求, 能为蛋鸡养殖过程中使用小檗碱制剂及含有小檗碱成分的中兽药的安全性评估提供参考。

表 3 回收率及精密度实验结果
Table 3 Results of recovery and precision test

添加量/(μg/kg)	批次	回收率/%						平均回收率/%	批内 RSD/%	批间 RSD/%
1.0	I	68.32	74.18	79.73	84.26	62.19	72.68	73.1	9.8	10.5
	II	76.52	83.18	65.82	71.49	79.62	70.11	74.5	8.7	
	III	80.34	84.37	76.68	90.26	93.24	82.85	84.6	7.3	
2.0	I	78.64	86.11	80.25	91.66	83.89	74.11	82.4	7.5	7.9
	II	90.67	93.42	72.86	83.71	78.96	88.15	84.6	9.1	
	III	87.92	79.75	95.26	82.55	91.37	92.44	88.2	6.8	
10.0	I	88.74	93.54	101.27	95.84	86.73	92.07	93.0	5.6	7.5
	II	104.73	91.36	79.81	87.65	98.72	89.43	92.0	9.5	
	III	96.73	99.21	108.32	90.76	94.37	87.74	96.2	7.5	

参考文献

[1] 曹素萍, 陈芳. 黄连中小檗碱的提取方法研究进展[J]. 海峡药学, 2016, 28(2): 39-41.
Cao SP, Chen F. Research progress on the extraction method of berberine from *Coptidis rhizoma* [J]. Strait Pharma J, 2016, 28(2): 39-41.

[2] 韩谢, 邵开元, 胡文祥. 小檗碱结构修饰的研究进展[J]. 武汉工程大学学报, 2018, 40(1): 1-7.
Han X, Shao KY, Hu WX. Advance in structural modification of berberine [J]. J Wuhan Insti Technol, 2018, 40(1): 1-7.

[3] Iwassa K, Kamigauchi M. 13-hydroxylation of tetrahydroberberine in cell suspension cultures of some *Corydalis*, species [J]. Phytochemistry, 1996, 41(6): 1511-1515.

[4] Chen Z, Ye X, Yi J, et al. Synthesis of 9-O-glycosyl-berberine derivatives and bioavailability evaluation [J]. Med Chem Res, 2012, 21(8): 1641-1646.

[5] Kim SH, Lee SJ, Lee JH, et al. Antimicrobial activity of 9-O-acyl-and 9-O-alkylberberine derivatives [J]. Planta Med, 2002, 68(3): 277-281.

[6] 杨勇, 刘戎, 王立琦, 等. 小檗碱的抗菌作用研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(9): 1783-1785.
Yang Y, Liu R, Wang LQ, et al. The advance on antimicrobial effect of berberine [J]. Prog Mod Biomed, 2010, 10(9): 1783-1785.

[7] Cernakova M, Kostalova D. Antimicrobial activity of berberine-A constituent of *Mahonia aquifolium* [J]. Folia Microbiol, 2002, 247(4): 375-378.

[8] 中华人民共和国农业农村部. 农业农村部办公厅关于开展兽用抗菌药使用减量化行动试点工作的通知 [EB/OL]. [2018-4-20]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201804/t20180420_6140711.htm.
Ministry of Agriculture and Rural Areas of the People's Republic of China. Circular of the general office of the Ministry of agriculture and rural areas of the people's Republic of China on the pilot work of reducing the use of veterinary antibiotics [EB/OL]. [2018-4-20]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201804/t20180420_6140711.htm.

[9] 林娜. 中药胎毒的研究—黄连和小檗碱对新生儿溶血性黄疸的影响和机制(摘要) [C]. 第六次临床中药学学术年会暨临床中药学学科建设经验交流会论文集, 2013, 92-95.
Lin N. Study on the fetal toxin of traditional Chinese medicine - the effect and mechanism of *Coptis chinensis* and berberine on neonatal hemolytic jaundice (Abstract) [C]. Proceedings of the 6th annual meeting of clinical Chinese medicine and the experience exchange meeting of clinical Chinese medicine discipline construction, 2013, 92-95.

[10] 陈家艺, 田力, 时嘉琪, 等. RP-HPLC法测定不同厂家黄连上清片中小檗碱含量[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2019, 36(4):21-23, 28.
Chen JY, Tian L, Shi JQ, et al. Determination of berberine in Huanglianshangqing tablets from different manufactures by RP-HPLC [J]. J Hubei Minzu Univ (Med Ed), 2019, 36(4):21-23, 28.

[11] 黄春青, 曹桂红, 祝晶, 等. HPLC 法测定复方小檗碱鞣酸蛋白胶囊中盐酸小檗碱的溶出度[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(19): 23-26.
Huang CQ, Cao GH, Zhu J, et al. Dissolution determination of berberine hydrochloride in compound berberine hydrochloride tannalbin capsules by HPLC [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2019, 28(19): 23-26.

[12] 樊锐锋, 李洪涛, 匡洪影, 等. 黄芦木的生药学研究及盐酸小檗碱的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(9): 2074-2075.
Fan RF, Li HT, Kuang HY, et al. Pharmacognosical studies and content determination of berberine hydrochloride of *Berberis amurensis* Rupr. [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(9): 2074-2075.

[13] 陈珂, 黄锐, 蒲清荣, 等. 高效液相色谱法测定肠炎灌肠液中盐酸小檗碱含量[J]. 中国药业, 2019, 28(10): 26-28.
Chen K, Huang R, Pu QR, et al. Content detection of berberine Hydrochloride in enterocolenteral enema by HPLC [J]. China Pharm, 2019, 28(10): 26-28.

[14] 张健, 张蒙蒙. 高效液相法测定黄连降糖片中盐酸小檗碱含量[J]. 中医研究, 2019, 32(6): 63-65.
Zhang J, Zhang MM. Determination of berberine hydrochloride in Huanglian Jiangtang tablets by HPLC [J]. Tradit Chin Med Res, 2019, 32(6): 63-65.

- [15] 赵东, 郑维兵, 陈志平, 等. HPLC 法测定虎黄烧伤搽剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 海峡药学, 2019, 31(5): 66–68.
Zhao D, Zheng WB, Chen ZP, *et al.* Content detection of berberine hydrochloride in Huhuang burn liniment by HPLC [J]. Strait Pharm J, 2019, 31(5): 66–68.
- [16] 于文萃, 高毓涛, 于凤斌. HPLC 法同时测定小檗碱甲氧苄啶胶囊中 2 种组分的含量[J]. 西北药学杂志, 2018, 33(6): 746–748.
Yu WC, Gao YT, Yu FB. Simultaneous determination of the 2 components in berberine and trimethoprim capsules by HPLC [J]. Northwest Pharm J, 2018, 33(6): 746–748.
- [17] 李惠芬, 张文英, 张庆伟, 等. 胃肠寒痛胶囊中小檗碱含量测定[J]. 中草药, 1993, 24(5): 244–245.
Li HF, Zhang WY, Zhang QW, *et al.* Determination of berberine in gastrointestinal cold pain capsules [J]. J Chin Herb Med, 1993, 24(5): 244–245.
- [18] 卢静华, 杨欢. 双波长薄层扫描法测定如意金黄散中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(1): 52–53.
Lu JH, Yang H. Determination of berberine in ruyijinghuang powder with scanning method of two wave lengths thin layer chromatography [J]. Chin J Biochem Pharm, 2011, 32(1): 52–53.
- [19] 石娟, 朱周才, 袁洪泽, 等. 双波长薄层扫描法测定平溃散中小檗碱的含量[J]. 西安医科大学学报, 1997, (2): 271–272.
Shi J, Zhu ZC, Yuan QZ, *et al.* Determination of berberine in pingkui powder with scanning method of two wave lengths thin layer chromatography [J]. J Xi'an Med Univ, 1997, (2): 271–272.
- [20] 张越诚, 黄莉莉, 党珍珍, 等. 掺氮碳量子点荧光光度法测定盐酸小檗碱[J]. 理化检验(化学分册), 2018, 54(5): 497–501.
Zhang YC, Huang LL, Dang JJ, *et al.* Fluorescence spectrophotometric determination of berberine hydrochloride with nitrogen-doped carbon quantum dots [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2018, 54(5): 497–501.
- [21] 汤菊芬, 蔡佳, 廖建萌, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定水产品中的诺氟沙星、盐酸小檗碱、盐酸氯苯胍残留[J]. 中国兽药杂志, 2014, 48(8): 55–60.
Tang JF, Cai J, Liao JM, *et al.* Determination of norfloxacin berberine hydrochloride and robenidine hydrochloride residues in aquatic products by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Veter Med, 2014, 48(8): 55–60.
- [22] 汤菊芬, 王蓓, 蔡佳, 等. 水产品中盐酸小檗碱的高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. 广东海洋大学学报, 2014, 34(4): 62–66.
Tang JF, Wang B, Cai J, *et al.* Determination of berberine hydrochloride in aquatic products by HPLC-MS/MS [J]. J Guangdong Ocean Univ, 2014, 34(4): 62–66.
- [23] GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].
GB/T 22388-2008 Determination of melamine in raw milk and dairy products [S].
- [24] 马畅. 硫酸小檗碱在白羽肉鸡体内的药动学及冰片对其影响作用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
Ma C. Studies on pharmacokinetics of berberine sulfate in white feather broiler and the effect of borneol on it [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2019.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

杨修镇, 高级兽医师, 主要研究方向为兽药和畜禽产品质量安全。
E-mail: yangxiuzhenaaa@126.com

李有志, 研究员, 主要研究方向为畜牧技术创新研究和推广。
E-mail: liyouzhi2009@126.com