

高效液相色谱法和高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中的四环素类残留量

吴学贵*, 王一晨, 黄肖凤, 韩惠芳, 李小梅

(海南威尔检测技术有限公司, 澄迈 571924)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法(high-performance liquid chromatography, HPLC)定量测定水产品中四环素类残留量, 同时采用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)进行定性确证和定量检测。**方法** 优化缓冲提取液浓度、固相萃取柱类型、色谱条件选择等测定环节。样品经柠檬酸缓冲液提取, 固相萃取柱净化后, 以液相色谱-紫外检测器进行定量检测, 同时通过高效液相色谱-串联质谱仪进行定性和定量检测。**结果** 四环素类目标物在 10~200 ng/mL 范围内线性良好($r>0.999$), 在 10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个水平上进行加标回收实验, 回收率为 76.0%~94.5%, 相对标准偏差为 3.9%~7.4%, 高效液相色谱法检出限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 高效液相色谱-串联质谱法检出限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。**结论** 该方法简便、稳定、准确, 适合测定水产品中的四环素类残留量。

关键词: 高效液相色谱法; 高效液相色谱-串联质谱法; 四环素; 水产品

Determination of tetracyclines residues in aquatic products by high performance liquid chromatography and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WU Xue-Gui*, WANG Yi-Chen, HUANG Xiao-Feng, HAN Hui-Fang, LI Xiao-Mei

(Hainan Willtest Technology Co., Ltd., Chengmai 571924, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of tetracycline's residues in aquatic products by high performance liquid chromatography (HPLC) and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The concentration of buffer extract, solid phase extraction column type and chromatographic condition selection were optimized. The samples were extracted with citric acid buffer, purified with solid phase extraction column, quantitatively detected by liquid chromatography-ultraviolet detector, and qualitatively and quantitatively detected by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Results** Tetracycline targets had good linearity in the range of 10-200 ng/mL ($r>0.999$). With 3 spiked concentrations of 10, 50 and 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the average recoveries were 76.0%-94.5%, the relative standard deviation were 3.9%-7.4%, the detection limit of HPLC was 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the detection limit of HPLC-MS/MS was 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** The method is simple, stable and accurate, suitable for the determination of tetracycline residues in aquatic products.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; tetracycline; aquatic products

*通讯作者: 吴学贵, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 412992054@qq.com

*Corresponding author: WU Xue-Gui, Master, Engineer, Hainan Willtest Technology Co., Ltd., Chengmai 571924, China. E-mail: 412992054@qq.com

1 引言

四环素类药物属于广谱抗生素, 包括四环素(tetracycline, TC)、土霉素(oxytetracycline, OTC)、金霉素(chlortetracycline, CTC)、强力霉素(doxycycline, DOTC)等, 其对多数革兰氏阳性菌与阴性菌均有抑制作用, 高浓度有杀菌作用, 四环素类抗生素通过与细菌胞内核糖体 30S 亚基形成可逆结合体, 抑制蛋白质合成, 起到抗菌效果。而该类抗生素被长期广泛用于治疗人及动物的细菌感染, 导致近年来不断出现耐药菌株^[1]。为加强兽药残留监控工作, 保证动物性食品卫生安全, 我国于 2019 年出台的国家标准, 规定了食品中兽药残留的最大残留限量^[2], 其中鱼、虾中四环素/金霉素/土霉素单个或组合残留量不得超过 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 鱼中多四环素残留量不得超过 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前国内外有关水产品中四环素类残留量的测定方法较多, 主要包括酶联免疫吸附法^[3]、高效液相色谱法^[4-11]、液相色谱-串联质谱法^[11-18], 酶联免疫法通常适用于大批样品的筛查, 且仅适用于四环素类残留总量的测定, 无法给出单个目标物的测定数值, 因此具有很大的局限性。目前常用的四环素类常用方法一般为高效液相色谱法和高效液相色谱-串联质谱法。2 种方法各有优势, 高效液相色谱法成本最低, 且可以得到单个目标物准确的定量结果; 高效液相色谱-串联质谱法检出限更低, 除了定量准确, 其还可通过目标物的特征离子进行准确定性, 分析效率也更高。

本研究在 GB/T 21311-2007《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》^[11]的基础上对提取缓冲液浓度、固相萃取柱类型、浓缩方式、仪器条件选择等步骤进行优化, 建立了测定水产品中四环素类残留量的高效液相色谱-紫外检测法及高效液相色谱-串联质谱法, 以期对四环素快速测定提供新的检测方法。

2 材料与方法

2.1 仪器与设备

Agilent1200-API 3200 高效液相色谱-串联质谱仪(Agilent 1200, 美国安捷伦科技公司; API 3200, 美国 AB Sciex 生物技术有限公司); PL-602 电子天平、MS105DU 电子天平、FE20 型 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; IKA T18 涡旋混合器(德国 IKA 公司); HY-3 多功能振荡器(江苏金坛市环宇科学仪器厂); LXJ-IIIB 低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂); TTL-DCII 氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司); Milli-QA10 超纯水机[密理博(上海)贸易有限公司]。

2.2 试剂与材料

乙腈、甲醇、乙酸乙酯(色谱纯, 北京百灵威科技有限

公司); 乙酸铵(色谱纯, 上海阿拉丁生物技术有限公司); 草酸(优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 十二水合磷酸氢二钠(分析纯, 广东光华科技股份有限公司); 乙二胺四乙酸二钠(分析纯, 西陇科学股份有限公司); 柠檬酸(分析纯, 天津市大贸化学试剂厂); 甲酸(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 实验用水(Milli-QA10 超纯水机制备); 0.22 μm 尼龙 66 滤膜(津腾); Bond Elut ENV 固相萃取柱(200 mg/3 mL, 美国安捷伦科技公司); 使用前分别用 3 mL 甲醇和 3 mL 水预处理, 保持柱体湿润; Oasis HLB 固相萃取柱(60 mg/3 mL, 沃特世科技有限公司)。

土霉素盐酸盐(94.23%)、盐酸四环素(96.02%)、金霉素盐酸盐(99.5%)、盐酸强力霉素(98.7%)(德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司)。

罗非鱼、东风螺、对虾样品为海口农贸市场随机购买。

2.3 标准溶液与试剂配制

2.3.1 试剂配制

0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液: 称取 28.41 g 磷酸氢二钠, 用水溶解, 定容至 1000 mL。

0.1 mol/L 柠檬酸溶液: 称取 21.01 g 柠檬酸, 用水溶解, 定容至 1000 mL。

Mcllvaine 缓冲溶液: 将 1 L 0.1 mol/L 柠檬酸溶液与 625 mL 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液混合, 必要时用 NaOH 或 HCl 调 pH=4.0 \pm 0.05。

0.01 mol/L Na₂EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液: 称取 6.05 g Na₂EDTA 溶解于 1625 mL Mcllvaine 缓冲溶液中。

0.1 mol/L Na₂EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液: 称取 60.5 g Na₂EDTA 溶解于 1625 mL Mcllvaine 缓冲溶液中。

5%甲醇: 5 mL 甲醇与 95 mL 水混合。

洗脱液: 50 mL 甲醇与 50 mL 乙酸乙酯混合。

0.5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸): 称取 38.5 mg 乙酸铵用水溶解, 加入 1 mL 甲酸, 用水定容至 1000 mL。

定溶液: 取 0.5 mmol/L 乙酸铵-0.1%甲酸溶液与乙腈以 95:5 的比例混合。

0.01 mol/L 草酸溶液: 1.26 g 草酸溶于 1000 mL 水中。

2.3.2 标准溶液配制

0.1 mg/mL 标准储备溶液: 准确称取适量的四环素类标准物质, 分别用甲醇配成 0.1 mg/mL 的标准储备液(-18 $^{\circ}\text{C}$ 储存)。

5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准使用液: 分别准确量取适量标准储备溶液, 用甲醇稀释成 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准中间溶液(-18 $^{\circ}\text{C}$ 保存)。

系列标准工作溶液: 分别取 0.02、0.04、0.1、0.2、0.4 mL 混合标准使用液于 10 mL 容量瓶中, 用初始比例流动相稀释成浓度为 10、20、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的系列标

准工作溶液。

2.4 实验方法

2.4.1 样品制备

取全部样品肌肉部分切碎后,用均质器捣碎均匀, -18 °C 冷冻保存。

2.4.2 提取

称取约 2 g 试样(精确至 0.01 g), 于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 0.01 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液, 涡旋混匀 1 min, 振荡提取 10 min。4200 r/min 离心 10 min, 用快速滤纸过滤, 取上清液待净化。

2.4.3 净化

将上清液加入上接 ENV 固相萃取柱的贮液器中, 上清液以≤3 mL/min 的流速通过固相萃取柱, 待上清液完全流出后, 用 5% 甲醇洗柱, 弃去全部流出液。减压抽干 5 min, 最后用 3 mL 洗脱液洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 玻璃管中, 在 40 °C 下以空气流吹干, 加入定溶液 1 mL, 涡旋 30 s, 4200 r/min 离心 10 min, 吸取上层清液经 0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中, 供上机检测。

2.5 测定

2.5.1 高效液相色谱法

色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25 °C; 进样量: 60 μL; 检测波长: 350 nm; 流速: 1.0 mL/min; 流动相: 乙腈-甲醇-0.01 mol/L 草酸溶液, 洗脱梯度见表 1。

表 1 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱梯度洗脱方式

时间/min	甲醇/%	乙腈/%	0.01 mol/L 草酸/%
0	10	13	77
6	10	20	70
10	10	27	63
11	10	13	77
16	10	13	77

2.5.2 高效液相色谱-串联质谱法

(1) 高效液相色谱条件

色谱柱: 安捷伦 Poroshell 120 EC-C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 2.7 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1 % 甲酸)(B), 梯度洗脱见表 2; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样体积: 10 μL。

表 2 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱梯度洗脱方式

时间/min	A/%	B/%
0	95	5
3	70	30
5	70	30
5.1	95	5
10	95	5

(2) 质谱条件

离子源模式: 电喷雾离子源(ESI+); 检测方式: 多反应监测(multiple detection mode, MRM); 电喷雾电压(ionspray voltage, IS): 5.5 kV; 离子源温度(temperature, TEM): 600 °C; 雾化气压力(ion source gas 1, GS1): 50 psi; 辅助气压力(ion source gas 2, GS2): 40 psi; 气帘气压力(curtain gas, CUR): 30 psi; 定性离子对、定量离子对、内标离子对、去簇电压(declustering potential, DP)、势电压(entrance potential, EP)、碰撞气能量(collision energy, CE)及碰撞室出口电压(collision cell exit potential, CXP)见表 3。

表 3 质谱参数

药物名称	离子对(m/z)	DP/V	EP/V	CE/V	CXP/V
TC	445/409.8*	56	4.5	25	8
	445/427	56	4.5	25	3.2
OTC	461.1/425.9*	46	7.5	20	4
	461.1/443.1	46	7.5	25	8
CTC	479.1/443.9*	36	6.5	25	5
	479.1/461.8	36	6.5	23	8
DOTC	445.2/428*	45	7.0	23	6.7
	445.2/154.1	45	7.0	41	2.6

注: *为定量离子对。

3 结果与分析

3.1 缓冲提取液浓度优化

称取 12 个阴性样品 2.00 g, 加入 5 μg/mL 混合标准溶液, 使样品中浓度分别为 100 μg/kg, 放置 0.5 h 后, 其中 6 个加标样品作为一组, 加入 20 mL, 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液, 另外 6 个样品作为二组, 加入 20 mL 0.01 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液, 按 2.4.2 和 2.4.3 方法操作, 液相色谱法测定, 2 组结果回收率均在 81.5%~94.0%之间, 见表 4, 并无显著性差异。标准方法中采用 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液进行提取, 本研究降低 10 倍浓度, 同样可获得良好的回收率。

表 4 不同优化条件下平均回收率比较(n=6)

优化方式	回收率范围(加标浓度 100 μg/kg)/%	
缓冲提取液浓度	0.1 mol/L Na ₂ EDTA-McIlvaine	81.9~94.0
优化	0.01 mol/L Na ₂ EDTA-McIlvaine	81.5~92.6
缓冲提取液体积	分 2 次提取, 每次用 20 mL 提取液	79.5~93.8
优化	20 mL 提取液 1 次提取	78.9~94.7
固相萃取柱类型	Oasis HLB 固相萃取柱	81.9~91.5
比较	Bond Elut ENV 固相萃取柱	81.1~92.1

3.2 缓冲提取液体积优化

取空白样品 2.00 g, 加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液, 使样品中浓度为 100 $\mu\text{g/kg}$, 放置 0.5 h 后, 将加标样品分 2 次用 20 mL 0.01 mol/L $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲溶液提取, 再定容至 50 mL, 另一种方式用 20 mL 0.01 mol/L $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲溶液提取后, 按 2.4.3 方法净化, 2 种方法回收率均在 78.9%~94.7%之间, 见表 4, 无显著性差异。而采用一次提取, 可减少一半的操作时间, 提高检测效率。

3.3 固相萃取柱类型比较

取空白样品 2.00 g, 加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液, 使样品中浓度分别为 100 $\mu\text{g/kg}$, 放置 0.5 h, 按 2.4.2 进行提取后, 取其中 6 个加标样品提取液以 1 滴/s 的速度过 Oasis HLB 固相萃取柱, 待样液完全流出后, 依次用 5 mL 5% 甲醇淋洗, 弃去全部流出液, 减压抽干 5 min, 最后用 10 mL 甲醇-乙酸乙酯=1:9(体积比)洗脱, 洗脱液按 2.4.3 进行浓缩定容。取另 6 个加标样品提取液按照 2.4.3 方法采用 Bond Elut ENV 固相萃取柱净化, 2 种方法回收率均在 81.1%~92.1%之间, 见表 4。

四环素类化合物结构中均带有多个苯环, 本研究中所使用的 Bond Elut ENV 固相萃取柱为非官能化聚苯乙烯-二乙烯基苯聚合物填料, 对带苯环的化合物具有很好的保留性, ENV 柱填料粒径大, 可实现快速萃取。本研究中该萃取柱使用的洗脱液仅为 3 mL, 可节约至少 70% 的试剂, 且过柱时间和浓缩时间均减少, 检测效率提高的同时也能得到较好的回收率。

3.4 浓缩气体比较

取 12 个干净空管, 分别加入 20 μL 5 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液和 3 mL 甲醇-乙酸乙酯=1:1, 其中 6 个用氮气流吹干浓缩, 另外 6 个用空气流吹干浓缩, 吹干后再加 1 mL 定溶液溶解, 0.22 μm 滤膜过滤分析, 氮气流、空气流 2 种浓缩方式测得的样液平均浓度分别为 97.5 $\mu\text{g/L}$ 和 98.8 $\mu\text{g/L}$, 结果表明 2 种浓缩方式均可满足实验要求, 但压缩空气来源经济实惠, 可降低检测成本。

3.5 色谱条件选择和优化

GB/T 21317-2007《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》^[11] 中液相色谱-串联质谱法使用三氟乙酸作为离子对试剂以改善峰形、克服峰展宽和拖尾问题。但液质流动相如果能用甲酸、乙酸, 一般不建议用三氟乙酸, 三氟乙酸为强酸, 长期使用会造成离子源的污染, 尤其会影响负离子模式, 另外, F 极性较大, 可能会形成其他的分子离子峰, 如果污染严重的话, 可能会产生很大的背景干扰。因此本研究中流动相添加 0.1% 甲酸替代三氟乙酸, 同时加入 0.5 mmol/L 乙酸铵, 很大程度地改善了化合物的峰形, 4 种化合物 MRM 谱图见图 1。

本研究中液相色谱法使用 0.01 mol/L 草酸溶液-甲醇-乙腈作为流动相, 当采用 7:1:2 比例等度洗脱时, 后出峰的金霉素和强力霉素信号低, 且拖尾严重, 而采用梯度洗脱 4 种目标物均能获得响应值高且尖锐的峰形, 图 2 为四环素类标准溶液色谱图、空白鱼肉和鱼肉加标色谱。

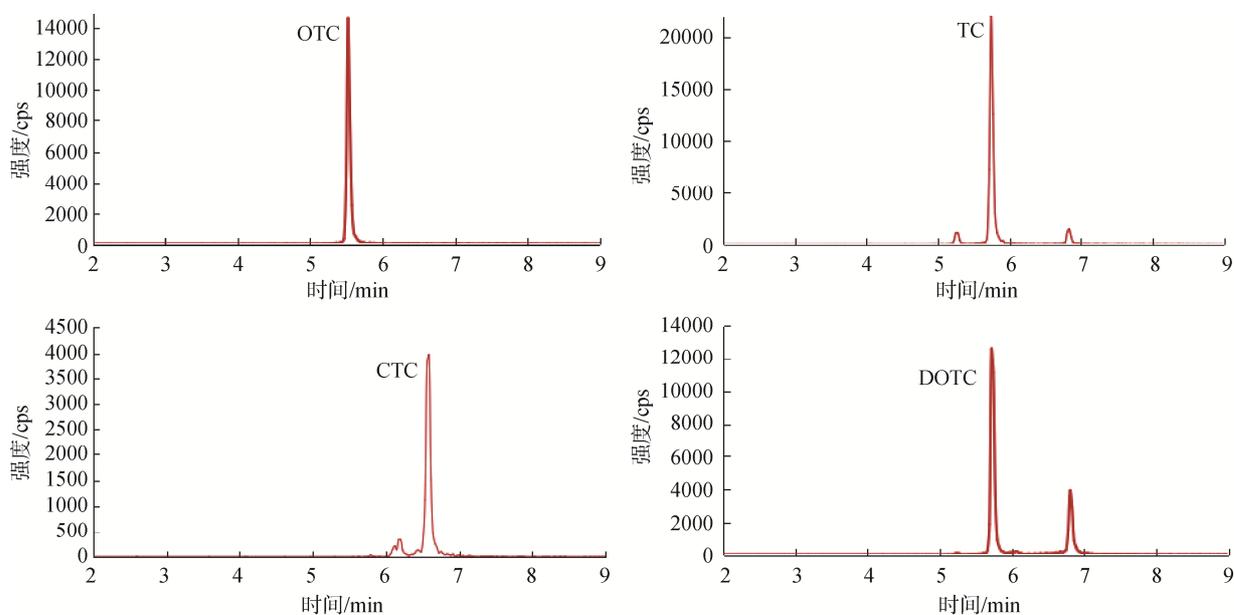
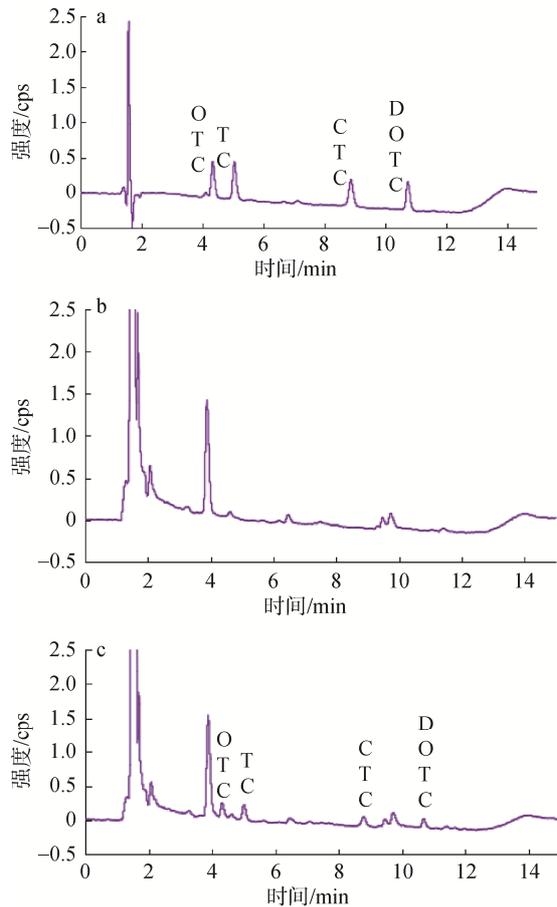


图 1 各化合物的 MRM 谱图

Fig.1 MRM spectra of each compound



注: a 标准溶液(50 µg/L); b 空白样品; c 加标样品(10 µg/kg)。

图 2 液相色谱图

Fig.2 Liquid chromatograms of samples

3.6 线性范围

根据 2.3.2 方法配制四环素类系列标准溶液,按照上述条件和方法进行分析,以标准溶液中各目标物浓度为横坐标 X ,各四环素类目标物峰面积为纵坐标 Y 绘制标准工作曲线,得到回归方程如表 4 及表 5,结果表明,在 10~

200 µg/L 范围内,各四环素类目标物的浓度和色谱峰面积线性关系良好。

3.7 方法检出限

以色谱峰信噪比 $S/N=3$ 为方法检出限,将加标质量浓度逐级稀释添加于空白样品中测定信噪比,最终确定本方法的检出限,见表 5 及表 6,而标准方法给出的测定底限为 50 µg/kg^[11],本研究方法灵敏度更高。

表 5 高效液相色谱法线性关系、检出限及定量限
Table 5 Linear relationship and detection limit quantitative limit by the method of HPLC

化合物	线性回归方程	相关系数	检出限/(µg/kg)
TC	$Y=0.009274X$	0.9993	5
OTC	$Y=0.008872X$	0.9997	5
CTC	$Y=0.004594X$	0.9999	5
DOTC	$Y=0.007933X$	0.9997	5

表 6 高效液相色谱-串联质谱法线性关系、检出限及定量限
Table 6 Linear relationship and detection limit quantitative limit by the method of LC-MS/MS

化合物	线性回归方程	相关系数	检出限/(µg/kg)
TC	$Y=1440X-0.000117$	0.9994	1
OTC	$Y=964X+0.00081$	0.9995	1
CTC	$Y=372X-0.000173$	0.9995	1
DOTC	$Y=1620X+0.00697$	0.9992	1

3.8 回收率和精密度实验

在空白罗非鱼肉、东风螺、对虾组织中加入 4 种化合物的标准溶液,加标水平分别为 10、50、100 µg/kg,每个水平做 6 个平行样品,分别用液相色谱仪和液相色谱-串联质谱仪进行测定,结果见表 7 和表 8。结果表明,改进后的方法加标回收率在 76.0%~94.5%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均在 10%以下。

表 7 高效液相色谱法加标回收率和精密度实验结果($n=6$)

Table 7 Results of spiked recovery and precision by the method of HPLC($n=6$)

样品	添加浓度/(µg/kg)	回收率/%						平均回收率/%	RSD/%
罗非鱼	10	79.5	85.2	81.3	91	83.2	86.3	84.4	4.8
	50	83.5	92.6	94.3	85.6	84.6	88.8	88.2	5.0
	100	84.6	81.6	92.3	79.1	82.5	78.1	83.0	6.2
东风螺	10	78.3	83.2	91.2	85.4	91.1	82.5	85.3	6.0
	50	83.2	87.6	84.3	93.4	86.3	94.2	88.2	5.3
	100	89.3	91.5	79.4	86.5	84.9	92.3	87.3	5.5
对虾	10	79.1	78.6	89.2	84.6	88.4	81.6	83.6	5.5
	50	84.2	83	83.9	91.8	93.2	86.5	87.1	5.0
	100	84.4	84.3	89.6	92	94.5	79.9	87.5	6.3

表 8 高效液相串联质谱法加标回收率和精密度实验结果($n=6$)Table 8 Results of spiked recovery and precision by the method of LC-MS/MS ($n=6$)

样品	添加浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%			平均回收率/%			RSD/%	
罗非鱼	10	80.5	83.5	80.6	89.5	85.3	83.3	83.8	4.0
	50	84.0	94.1	92.5	84.6	81.9	90.6	88.0	5.8
	100	84.7	79.5	94.0	80.6	83.5	76.0	83.1	7.4
东风螺	10	79.2	86.3	92.5	86.9	90.5	81.5	86.2	5.9
	50	84.0	82.9	83.9	94.2	86.1	90.6	87.0	5.2
	100	90.4	89.5	80.5	85.5	87.2	90.5	87.3	4.4
对虾	10	81.0	80.4	90.4	86.0	85.6	83.2	84.4	4.4
	50	82.5	89.3	84.5	89.4	90.2	84.0	86.7	3.9
	100	86.7	82.6	90.1	89.6	92.3	81.3	87.1	5.0

4 结 论

通过对缓冲提取液浓度和体积、固相萃取柱类型、浓缩气体类型、色谱条件选择等因素进行优化, 确定了水产品中四环素类残留量测定的最佳条件。在此条件下可获得检出限更低、前处理简单、定性定量准确的测定水产品中四环素类残留量的检测方法, 本方法各化合物浓度在 10~200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 内线性良好, 高效液相色谱法检出限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 高效液相色谱-串联质谱法为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

参考文献

- [1] 孙广龙, 胡立宏. 四环素类抗生素的研究进展[J]. 药学研究, 2017, (1): 1-5.
Sun GL, Hu LH. Research progress of tetracycline antibiotics [J]. J Pharm Res, 2017, (1): 1-5.
- [2] GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S].
GB 31650-2019 National food safety standard maximum residue limits for veterinary drugs in foods [S].
- [3] 农业部 1025 号公告-20-2008 动物性食品中四环素类药物残留检测酶联免疫吸附法[S].
Announcement No. 1025 of the Ministry of Agriculture-20-2008 Determination of tetracyclines residue in animal food by immunoassay [S].
- [4] DB33/T 691-2008 水产品中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定 高效液相色谱荧光检测法[S].
DB33/T 691-2008 Determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline residues in aquatic product HPLC with fluorescence detector [S].
- [5] GB/T 22961-2008 河豚鱼、鳗鱼中土霉素、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[S].
GB/T 22961-2008 Determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline residues in fugu and eel-HPLC-CV method [S].
- [6] SC/T 3015-2002 水产品中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定[S].
SC/T 3015-2002 Determination of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline residues in fish [S].
- [7] 王燕. 高效液相色谱法测定水产品中四环素类抗生素残留的分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, (23): 159-160.
Wang Y. Determination of tetracycline antibiotic residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. World Latest Med Inform, 2019, (23): 159-160.
- [8] 黄鸾玉, 杨姝丽, 吴祥庆, 等. 高效液相色谱法测定水产品中土霉素的残留量. 理化检验-化学分册, 2018, (11): 1355-1358
Huang LY, Yang SL, Wu XQ, et al. Determination of oxytetracycline residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2018, (11): 1355-1358.
- [9] 邢俊生, 张彬, 李倩. 食品虾仁中土霉素、四环素、金霉素含量测定方法的建立[J]. 中国药事, 2017, (10): 1199-1204
Xing JS, Zhang B, Li Q. Establishment of the method to determine terramycin, tetracycline and chlortetracycline in shrimp meat [J]. Chin Pharm Affairs, 2017, (10): 1199-1204
- [10] 刘蕴欣, 邓永健. 高效液相色谱法检测水产品中抗生素药物残留分析[J]. 轻工科技, 2019, 35(2): 116-117.
Liu YX, Deng YJ. Determination of antibiotics residues in aquatic products by HPLC [J]. Light Ind Sci Technol, 2019, 35(2): 116-117.
- [11] GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法[S].
GB/T 21317-2007 Determination of tetracyclines residues in food of animal origin-LC-MS/MS method and HPLC method [S].
- [12] 黄媛, 闫玉. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定三种水产品中氯霉素、四环素的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 7844-7848.
Huang Y, Yan Y. Determination of chloramphenicol and tetracycline in 3 aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(23): 7844-7848.
- [13] 梁任佳, 李学劲, 梁光纤, 等. 液相色谱-串联质谱法同时检测水产品中 41 种兽药残留[J]. 化工管理, 2020, (21): 40-42.
Liang RJ, Li XJ, Liang GQ, et al. Determination of 41 kinds of veterinary drugs residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Enterprise Manage, 2020, (21): 40-42.
- [14] 林希, 李康柏, 洪瑞申. 超高效液相色谱串联质谱法检测水产品中四环素类药物及其差向异构体[J]. 中国食品学报, 2019, (7): 275-282.

- Lin X, Li KB, Hong RS. Determination of tetracycline drugs and their differential isomers in aquatic products by super high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2019, (7): 275–282.
- [15] 孙晓杰, 李兆新, 董晓, 等. SPE–LC–MS/MS 检测不同水产品组织中四环素类药物残留的方法研究[J]. *中国渔业质量与标准*, 2017, (3): 44–51.
- Sun XJ, Li ZX, Dong X, *et al.* Study on SPE–LC–MS /MS method for detecting tetracycline residues in different aquatic product tissues [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2017, (3): 44–51.
- [16] 叶瑞洪, 黄迪惠, 刘珊珊. SPE–UPLC–MS/MS 联用测定水产品四环素类残留量[J]. *福建师大福清分校学报*, 2018, (5): 56–62.
- Ye RH, Huang DH, Liu SS. Determination of tetracyclines residues in aquatic products by SPE–UPLC–MS/MS [J]. *J Fuqing Branch Fujian Norm Univ*, 2018, (5): 56–62.
- [17] 李颖, 孙钰, 李峰. 高效液相色谱–串联质谱法同时测定鱼、虾中 18 种抗生素药物残留[J]. *中国卫生检疫杂志*, 2018, 28(23): 2830–2834, 2837.
- Li Y, Sun Y, Li F. Simultaneous determination of eighteen antibiotics residues in fish and shrimp by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2018, 28(23): 2830–2834, 2837.
- [18] 赵海香, 孙艳红, 丁明玉, 等. 多壁碳纳米管净化/超高效液相色谱串联质谱同时测定动物组织中四环素与喹诺酮多残留[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(6): 635–635.
- Zhao HX, Sun YH, Ding MY, *et al.* Simultaneous determination of tetracyclines and quinolones residues in animal tissue by ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and multiwalled carbon nanotubes cleaning [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(6): 639–635.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



吴学贵, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 412992054@qq.com