

# SPE-LC-MS/MS 法检测肉粉中 5 种硝基呋喃类药物的代谢物

侯向昶<sup>1</sup>, 黄金凤<sup>1</sup>, 杜志峰<sup>2</sup>, 洗燕萍<sup>1</sup>, 郭新东<sup>1</sup>, 罗东辉<sup>1</sup>, 吴玉銮<sup>1</sup>, 卢宇靖<sup>3</sup>

(1.广州市质量监督检测研究院, 广东广州 510110) (2.爱博才思亚太应用支持中心, 上海 200233)

(3.广东工业大学轻工化工学院, 广东广州 510006)

**摘要:** 采用同位素稀释法结合固相萃取净化技术, 建立了准确、灵敏的肉粉样品中 5 种硝基呋喃类药物的代谢物的液相色谱-串联三重四极杆质谱检测方法。样品中添加同位素内标, 经盐酸水解, 2-硝基苯甲醛衍生, 乙酸乙酯提取, HLB 固相萃取小柱净化, 采用 C18 色谱柱分离, 乙腈-甲酸铵溶液为流动相进行梯度洗脱, 串联质谱 ESI 正负离子切换模式电离, 多反应监测 (MRM) 模式检测。结果表明, 5 种硝基呋喃类药物的代谢物在各自的线性范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.9990; 方法的检出限为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 在低、中、高 3 个添加水平, 平均回收率 ( $n=6$ ) 为 80.33~103.24%, 日内精密密度在 4.60~9.85%; 添加水平为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 日间精密密度 ( $n=5$ ) 小于 10.3%。本方法净化效果好, 灵敏度高、准确性好, 适用于基质复杂的肉粉样品中 5 种硝基呋喃类药物的代谢物的测定。

**关键词:** 硝基呋喃类药物代谢物; 肉粉; 液相色谱-串联质谱; 固相萃取

文章编号: 1673-9078(2013)6-1381-1385

## Quantitative Determination of Five Nitrofuran Metabolites in Meat Meal using Solid Phase Extraction and LC-tandem MS

HOU Xiang-chang<sup>1</sup>, Huang Jin-feng<sup>1</sup>, DU Zhi-feng<sup>2</sup>, XIAN Yan-ping<sup>1</sup>, GUO Xin-dong<sup>1</sup>, LUO Dong-hui, WU Yu-luan<sup>1</sup>, LU Yu-jin<sup>3</sup>

(1.Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510110, China) (2.AB SCIEX Asia Pacific Application Support Center, Shanghai 200233, China) (3.School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** A method for the simultaneous determination of five nitrofuran metabolites in meat meal by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was established, based on isotope dilution and solid phase extraction (SPE). The homogenized sample was spiked with isotope inter standards, hydrolyzed with HCl, derivatized with nitrobenzaldehyde, extracted with ethyl acetate, and cleaned up with HLB solid phase extraction cartridge. The analysis was carried out on C18 column by gradient elution with acetonitrile - ammonium acetate as mobile phase, and detected by MS/MS system with switch positive and negative electrospray ionization under multiple reaction monitoring (MRM) mode. The compounds was identified with retention time and ion ratio and quantified by the internal standard calibration curve of isotope dilution technique. The results showed that the high correlation coefficients ( $r>0.9990$ ) of five targets were obtained within their respective linear ranges over dynamic range of 0.2~20  $\mu\text{g}/\text{L}$  and the limits of detection (LOD,  $S/N=3$ ) of five analytes were in the range of 0.05~0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The average recoveries were ranged from 80.33% to 103.24% for the five targets at three spiked levels with the relative standard deviations (RSD,  $n=6$ ) were between 4.60% and 9.85%, and the inter-day RSD ( $n=5$ ) was less than 10.3% at spiked levels of 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The method was precise and sensitivity, suitable for quantitative and qualitative analysis of five nitrofuran metabolites in meat meal.

**Key words:** nitrofuran metabolites; meat meal; liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); solid phase extraction (SPE)

收稿日期: 2013-01-26

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (S2011040004201)

作者简介: 侯向昶 (1971-), 男, 高级工程师

通讯作者: 卢宇靖 (1980-), 男, 博士, 副教授

硝基呋喃类药物主要是指呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因和硝呋索尔等一类人工合成的具有 5-硝基结构的广谱抗菌药, 被广泛用于治疗和预防由埃希氏菌和沙门氏菌引起的畜、禽及水生动物的胃

肠道疾病。硝基呋喃类药物在动物体内的半衰期短,但其代谢物(结构式见图1)能与蛋白质紧密结合,残留时间长,甚至经蒸煮、烘烤和微波加热后也无法有效降解<sup>[1]</sup>。研究证明,硝基呋喃类药物及其代谢物可诱导有机体基因突变,特别是其代谢物具有强致癌性<sup>[2]</sup>,因此欧盟、韩国和我国先后明令在食用动物中禁用硝基呋喃类药物。鉴于硝基呋喃类药物在动物体内代谢速度快,欧盟将硝基呋喃代谢物作为该类物质残留的标示物来进行监控。国内外关于硝基呋喃类药物及其代谢物的方法有免疫分析法<sup>[3-5]</sup>、高效液相色谱法<sup>[6]</sup>、液质联用法<sup>[7-12]</sup>,由于液质联用法选择性和灵敏度高,国际上多采用此法进行监测和确证,但检测对象多为动物组织,而且主要监测呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因4种药物。

肉粉由动物原料通过温和生物酶解提取或熬煮提取,然后浓缩、喷雾干燥而成,富含多种蛋白、多肽及氨基酸,营养丰富,利于人体吸收利用,属于典型大宗的绿色天然调味基料,其质量安全保障尤显重要。由于肉粉加工过程中常添加盐、糖、防腐剂、增香剂等食品添加剂,样品基质更显复杂,使用原有的动物组织中硝基呋喃代谢物的检测方法(液液萃取)检测时,常常会出现严重乳化,难以保障检测结果的准确性和精密性,目前尚未检索到肉粉中硝基呋喃类药物及其代谢物的检测方法,因此,建立肉粉中硝基呋喃类药物代谢物检测方法,在现代食品安全保障领域具有重要的研究意义和应用价值。本文在样品中加入同位素内标,水解衍生后通过离心除去粉状颗粒,正己烷脱脂结合固相萃取小柱富集和净化,乙酸乙酯洗脱,以液相色谱-串联质谱正、负切换模式同时测定5种硝基呋喃代谢物,以期建立净化效果好、选择性高、灵敏度高、定量下限低于欧盟要求的肉粉中硝基呋喃类药物代谢物的新型检测方法,为肉粉类复杂基质样品中禁用物质残留的监测开辟一条新的途径。

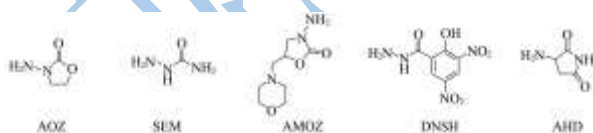


图1 5种硝基呋喃代谢物的结构式

Fig.1 Structures of five nitrofurans metabolites

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器和试剂

1200 RRLC 液相色谱仪(美国 Agilent 公司)和 API 5500 三重四极杆串联质谱仪(美国 AB 公司); 3K30 高速离心机(美国 Sigma 公司); Turbo LV 浓缩

工作站(美国 Biotage 公司); KQ-500E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MS3 basic 漩涡混合器(德国 IKA 公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); 固相萃取装置(美国 Waters 公司), Oasis HLB 固相萃取小柱(美国 Waters 公司, 20 mg/mL, 临用前依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化, 3 mL 0.1% 甲酸水+乙腈=9+1 平衡)。

硝基呋喃类药物的代谢物标准品: 3-氨基-2-噁唑基酮(AOZ)和 5-甲基吗啉-3-氨基-2-噁唑基酮(AMOZ)(纯度大于 99%, 德国 Witega 公司), 1-氨基-2-内酰胺(AHD)和氨基脒(SEM)(含量均大于 99%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司), 3,5-二硝基水杨酸肼(DNSH)(含量大于 93.0%, 英国 LGC 公司); 同位素内标: AHD-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>, AMOZ-D<sub>5</sub>, AOZ-D<sub>4</sub>, SCA-HCl-(<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N<sub>2</sub>)(纯度大于 98%, 德国 Witega 公司); 2-硝基苯甲醛(2-NBA, 纯度大于 99%, 比利时 Acros 公司); 甲醇、乙腈(HPLC 级, 德国 Merck 公司); 甲酸铵、甲酸(HPLC 级, CNW 公司); 乙酸乙酯、正己烷、氢氧化钠、盐酸、磷酸氢二钾铵均为分析纯; 超纯水(18.2 MΩ)。

### 1.2 标准溶液的配制

五种硝基呋喃代谢物标准贮备液(1.0 mg/mL): 适量的硝基呋喃代谢物标准物质用甲醇配成 1.0 mg/mL 的标准贮备液, -18 °C 避光贮存, 三个月。

五种硝基呋喃代谢物混合标准工作液(1.0 μg/mL): 适量硝基呋喃代谢物的标准贮备溶液用甲醇稀释成 1.0 μg/mL 的混合标准工作溶液, -18 °C 避光贮存, 一个月, 使用前回温到室温。

氘代内标混合液储备液(0.1 mg/L): 分别准确移取氘代内标物至 25 mL 容量瓶中, 用 0.125 mol/L HCl 定容, 混合均匀。(此溶液在冰箱中至少稳定 6 个月)

2-硝基苯甲醛溶液(8.0 g/L), 以甲醇配制, 随配随用。

根据需要, 用经 1.3 处理所得的阴性样品基质溶液配成不同浓度的系列基质匹配混合校准工作液, 当天配制。以基质匹配校准工作曲线进行定量。

### 1.3 样品前处理

#### 1.3.1 水解和衍生

称取 1.0 g 均匀试样于 50 mL 塑料离心管中, 加入 15 mL 0.125 mol/L 盐酸溶液, 漩涡振荡 2 min 后, 再加入 100 μL 8.0 g/L 2-硝基苯甲醛溶液和 50 μL 0.1 mg/L 氘代内标混合储存液, 涡旋 30 s 后, 在 37 °C 水浴中振荡 16 h。

#### 1.3.2 净化

取出样品, 冷却至室温后, 于 4000 r/min 下离心 5

min, 收集上清液。上清液用0.1 mol/L的磷酸氢二钾溶液和1 mol/L的氢氧化钠溶液调节pH至7.4, 加入5 mL正己烷, 涡旋30 s, 于4000 r/min离心3 min, 弃去上层正己烷溶液, 下层溶液转移至固相萃取装置上, 使样液以小于2 mL/min的流速通过HLB柱, 待样液全部通过固相萃取柱后用5 mL水淋洗固相萃取柱, 弃去全部流出液。用真空泵在50 kPa负压下抽干, 再用10 mL乙酸乙酯洗脱目标物, 收集洗脱液, 于40 °C水浴中氮气吹干, 残渣用1.0 mL乙腈-甲酸铵混合液(乙腈+5 mmol/L甲酸铵溶液=1+9, 体积比)溶解, 过0.22 μm的滤膜, 滤液供LC-MS/MS测定。

### 1.3.3 RRLC-MS/MS 检测条件

色谱柱: Phenomenex Luna C18 (2.0×150 mm, 5 μm); 流动相: A.1 mmol/L甲酸铵溶液, B.1 mmol/L甲酸铵溶液+乙腈=1+9, 梯度洗脱程序: 0.0~0.5 min, 65% A; 0.5~4.0 min, 65~0% A; 4.0~6.0 min, 0% A; 6.0~6.5 min, 0~65% A; 6.5~10.0 min, 65% A; 流速: 200 μL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 5 μL。

表1 目标化合物的质谱分析条件

Table 1 MS parameters for the analysis of five nitrofuran metabolites

Analytes	Precursor Ion/(m/z)	Daughter ion/(m/z)	DP	CE	RT
		(Relative ratio)	/V	/eV	/min
2-NP-AMOZ	335.2	291.1 <sup>a</sup> (100)	80	19	2.41
		262.2 (36)	80	25	
2-NP-SEM	209.2	192.1 <sup>a</sup> (100)	80	17	2.55
		166.2 (10)	80	15	
2-NP-AHD	249.2	134.1 <sup>a</sup> (100)	89	19	4.04
		104.1 (48)	89	32	
2-NP-AOZ	236.2	134.2 <sup>a</sup> (100)	80	17	4.53
		104.1 (10)	80	15	
2-NP-DNSH	374.6	182.0 <sup>a</sup> (100)	-114	-30	4.34
		226.0 (28)	-114	-30	
2-NP-D5-AMOZ	340.3	296.4	80	18	2.41
2-NP-13C,15N2-SEM, N-SEM	212.2	168.2	80	15	2.55
2-NP-13C3-AHD	252.2	134.2	86	18	4.04
2-NP-D4-AOZ	240.2	134.2	86	18	4.53

注: <sup>a</sup>定量离子。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI) 离子模式, 多反应监测 (MRM); 电喷雾电压, 5500 V, -4500 V, 正负切换; 离子源温度, 550 °C; 辅助气流速, 氮气, 流速 8 L/min; 雾化气压力: 0.076 MPa; 气帘气压力: 0.69 MPa; 5 种代谢物及同位素内标的监测离子对 (m/z) 及其丰度比、其它优化的质谱参数 (锥孔电压、

碰撞能等)见表 1, 每个离子对的驻留时间均为 50 ms。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理条件的选择

5种硝基呋喃代谢物的相对分子质量小于200, 采用LC-MS/MS分析时, 这个质量范围内质谱背景噪音大, 容易受低质量端分子离子干扰, 无法准确定性和定量, 因此, 需要将硝基呋喃代谢物通过衍生化反应接入大基团, 以增大其相对分子质量。本文在酸性条件下, 先将与蛋白结合的硝基呋喃代谢物水解, 其支链氨基与2-硝基苯甲醛上的醛酮基团发生醛胺亲核加成反应, 生成的衍生物的分子离子质荷比 (m/z) 增大至200以上, 背景干扰相对减少了, 从而提高了质谱检测灵敏度。其衍生化反应见图2。

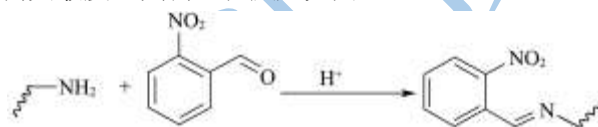


图2 硝基呋喃代谢物的衍生反应示意图

Fig.2 Scheme of nitrofur metabolites reaction

如前言所述, 肉粉基质复杂, 采用液液萃取时会出现严重的乳化, 即使使用超高速离心 (>13000 r/min)、加氯化钠、加乙醇等破乳手段, 也难以获得较好的效果, 易造成目标物损失, 而且单纯采用液液萃取净化的效果也不理想, 表现为谱图背景较高, 杂峰多, 甚至观察不到内标物, 因此, 本实验选择固相萃取方式 (SPE) 进行提取和净化。在 SPE 提取和净化之前, 先采用离心的方式除去未能水解的粉状颗粒, 再使用正己烷脱脂, 有效消除了乳化现象, 并参考文献方法<sup>[14]</sup>, 选用 Oasis HLB (60 mg, 3 mL Waters) 萃取柱, 取得了较好的净化效果, 保证了检测结果的准确性和精密度。

### 2.2 质谱条件的选择

5种硝基呋喃代谢物的衍生物均含有氨基, 在电离情况下容易获取正电荷, 但DNSH 除了具有氨基外, 还有2个羟基, 在电离情况下还可以获得负电荷, 实验发现在负离子模式下, DNSH具有更强的分子离子峰<sup>[9~11]</sup>, 因此, 本实验采用负离子模式检测DNSH, 正离子模式检测其它4种代谢衍生物, 以正、负离子模式切换的方式设置质谱方法, 一次性将5种代谢后的衍生物同时分离。为获得较高的灵敏度, 在一级质谱扫描时, 通过优化去簇电压, 使母离子强度最大; 当母离子进入二级质谱后, 在碰撞气和碰撞电压的作用下, 化合物容易发生断裂或重排等反应产生不同的碎片离子, 选择丰度较强、干扰较小的两对离子作为定性与定量离子对, 并优化各自碰撞电压, 使其响应最强。5

种代谢物衍生后的特征离子对和电离条件、碰撞条件见表1。

### 2.3 色谱分离的优化

在流动相中加入甲酸铵,可以提高目标化合物的离子化效率。采用等度洗脱或梯度洗脱变化太快时,由于5种硝基咪唑代谢物的衍生物的结构差异不大,分离度较差。采用本文2.4所示的梯度洗脱,可将5种目标物分离,使正、负离子模式切换有足够的时间。5种硝基咪唑代谢物的衍生物的保留时间见表1,目标物混合标准溶液(2.0 μg/L)提取离子色谱图见图3。

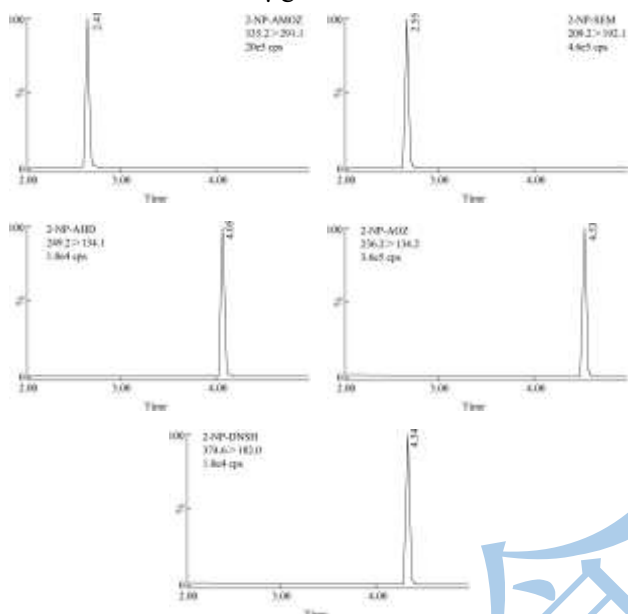


图3 标准溶液提取离子色谱图(2.0 μg/L)

Fig.3 Selective ion chromatogram of the standards

### 2.4 线性关系和检出限

采用LC-MS/MS检测复杂基质样品时,常出现基质效应,影响定量分析的准确度和精密度。除DNSH使用外标法定量,其它4种硝基咪唑代谢物均使用同位素内标法定量。同位素内标法可以减少外标法中基质效应的干扰,使定量更加准确。制备5种硝基咪唑代谢物衍生物浓度分别为0.20 μg/L、0.50 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、10 μg/L和20 μg/L的基质混合标准溶液,在选定的条件下进行测定,其中内标法以待测化合物和内标的峰面积比值为纵坐标,待测化合物的标示浓度为横坐标进行回归分析,外标法以待测化合物的峰面积比值为纵坐标,待测化合物的标示浓度为横坐标进行回归分析。5种待测物在阴性猪肉粉基质中的线性方程、线性范围、相关系数见表2,相关系数均大于0.9990,表明在0.20~20 μg/L范围内线性关系

良好;以3倍信噪比(S/N)计算5种待测物的检测限(LODs)为0.05~0.20 μg/kg,以10倍信噪比(S/N)计算5种待测物的定量限(LOQs)为0.20~0.50 μg/kg,表明方法具有较高的灵敏度,符合欧盟定量的要求。

表2 猪肉粉中5种目标物的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear ranges, regression equations, LODs and LOQs for 5 analytes in samples

Analyte	Linear ranges /(μg/L)	regression equations	R <sup>2</sup>	LOD /(μg/kg)	LOQ /(μg/kg)
AMOZ	0.20~20	y=0.049x+0.0423	0.9990	0.05	0.20
SEM	0.20~20	y=0.058x+0.00952	1.0000	0.05	0.20
AHD	0.50~20	y=0.117x+0.0191	1.0000	0.20	0.50
AOZ	0.20~20	y=0.105x+0.0402	0.9999	0.05	0.20
DNSH	0.50~20	y=1.97×10 <sup>5</sup> x+16156	0.9996	0.20	0.50

### 2.5 方法回收率、精密度和实际样品检测

选取阴性牛肉粉、鸡肉粉样品,按本实验方法进行低、中、高三个浓度的添加回收和精密度实验,按本方法进行提取、净化和测定,平行测定6次,计算其回收率和精密度。采用同一添加水平的样品连续测定5天,计算日间精密度。实验结果见表3,5种硝基咪唑代谢物的平均回收率在80.33~103.24%之间,日内相对标准偏差在4.60~9.85%之间,日间精密度在6.53~10.21%之间,说明方法的适用性良好。

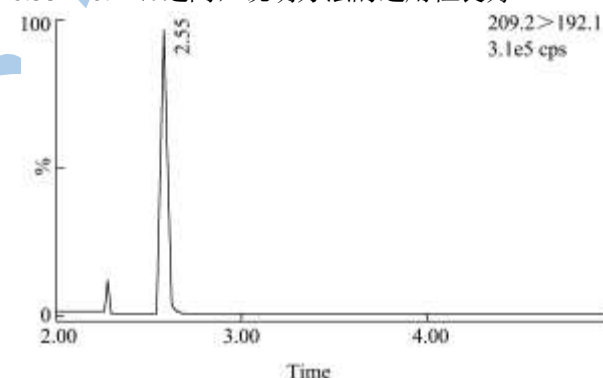


图4 牛肉粉样品中检出的SEM的提取离子色谱图

Fig.4 Selected ion chromatograms of SEM in the beef extract

采用本方法测定了本地市场销售的10份牛肉粉样品和8份鸡肉粉样品,有1份牛肉粉检出SEM,含量为1.4 μg/kg。18份随机样品中发现1份牛肉粉检出SEM,检出SEM含量为1.4 μg/kg,一方面说明市场终端产品肉粉中硝基咪唑类药物指标总体来说相对安全,另一方面说明硝基咪唑类药物的滥用仍然在一定程度上存在,有必要进一步加强监管。

表 3 样品的添加回收和精密度实验数据

Table 3 Recoveries and repeatabilities for 5 analytes in samples

Sample	Analyte	Intra-day RSD/(%, n=6)			Inter-day RSD/(%, n=5)	
		Added/(µg/kg)	Recovery/%	RSD/(%, n=6)	Added/(µg/kg)	RSD/(%, n=5)
鸡肉粉	AMOZ	0.20, 0.50, 1.00	92.31, 89.32, 93.22	6.11, 5.27, 6.37	0.50	8.32
	SEM	0.20, 0.50, 1.00	95.40, 93.11, 93.18	5.72, 5.89, 6.12	0.50	9.14
	AHD	0.50, 1.00, 2.00	96.73, 93.17, 91.57	6.20, 5.27, 7.24	0.50	7.60
	AOZ	0.20, 0.50, 1.00	101.21, 98.22, 96.72	7.23, 5.38, 6.29	0.50	9.02
	DNSH	0.50, 1.00, 2.00	80.33, 82.35, 83.56	8.31, 7.18, 9.85	0.50	10.21
牛肉粉	AMOZ	0.20, 0.50, 1.00	93.40, 89.27, 90.26	4.60, 5.10, 5.38	0.50	7.92
	SEM	0.20, 0.50, 1.00	96.12, 93.85, 96.53	5.82, 4.96, 6.18	0.50	6.53
	AHD	0.50, 1.00, 2.00	85.33, 82.85, 83.62	7.34, 6.52, 6.21	0.50	8.92
	AOZ	0.20, 0.50, 1.00	95.27, 103.24, 96.53	5.32, 4.28, 6.08	0.50	9.51
	DNSH	0.50, 1.00, 2.00	83.60, 85.64, 89.24	6.42, 4.82, 5.54	0.50	9.20

### 3 结论

本方法对检测动物组织的方法进行了改进,在样品中加入同位素内标,水解、衍生后,通过离心除去粉状颗粒,然后使用正己烷脱脂,固相萃取小柱富集和净化,乙酸乙酯洗脱,以液相色谱-串联质谱正、负切换模式同时测定5种硝基呋喃代谢物,建立了检测肉粉中5种常见硝基呋喃类药物代谢物的SPE-LC-MSMS检测方法。方法具有净化效果好、高选择性和高灵敏度的特点,定量下限低于欧盟的要求,能够满足欧盟、韩国等国家和地区对于硝基呋喃代谢物检测的限量要求。

### 参考文献

[1] McCracken R J, Blanchflower W J, Rowan C, et al. Determination of furazolidone in porcine tissue using thermospray liquid chromatography-mass spectrometry and a study of the pharmacokinetics and stability of its residues [J]. *Analyst*, 1995, 120(9): 2347-2351

[2] Yndestad M. Public Health Aspects of Residues in Animal Products: Fundamental Considerations [M]. Department of Food Hygiene, Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norway, 1990

[3] 杨悦熙,李敏,李文美,等.呋喃唑酮代谢物抗体的制备与筛查[J].现代食品科技,2013,30(2):362-466

[4] O'Mahony J, Moloney M, McConnell R I, et al. Simultaneous detection of four nitrofurantoin metabolites in honey using a multiplexing biochip screening assay [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 26(10): 4076-4081

[5] Cooper K M, Samsonova J V, Plumpton L, et al. Enzyme immunoassay for semicarbazide-The nitrofurantoin metabolite

and food contaminant [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 592(1): 64-71

[6] Rodziewicz L. Determination of nitrofurantoin metabolites in milk by liquid chromatography- electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 864(2): 156-160

[7] Verdon E, Couedor P, Sanders P. Multi-Residue Monitoring for the Simultaneous Determination of 5 Nitrofurans (Furazolidone, Furaladone, Nitrofurazone, Nitrofurantoin, Nifursol) in Poultry Muscle Tissue Through the Detection of Their Five Major Metabolites (AOZ, AMOZ, SEM, AHD, DNSAH) by Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Tandem Mass Spectrometry In-House Validation in Line with Commission Decision [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2007, 586 (1-2): 336-347

[8] Radovnikovic A, Moloney M, Byrne P, et al. Detection of banned nitrofurantoin metabolites in animal plasma samples using UHPLC-MSMS [J]. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879(2): 159-166

[9] 黄帆,王传现,张缙,等.高效液相色谱-串联质谱法检测动物源食品中硝呋索尔代谢物残留[J].质谱学报,2013,34(2): 82-87

[10] 王传现,黄帆,王敏,等.液相色谱-串联质谱法检测水产品中残留的硝基呋喃类药物的代谢物[J].色谱,2013,31(3): 206-210

[11] 赵凤娟,肖陈贵,岳振峰,等.动物组织中硝呋索尔代谢物残留量的液相色谱串联质谱法测定[J].分析测试学报, 2012, 31(11):1416-1420

[12] 钟海娟,梁焱琼,王建伟,等.超高效液相色谱-串联质谱测定面制品中的呋喃西林代谢物[J].现代食品科技, 2013, 30(2):416-421