

饲料中兽药含量的检测技术进展

陈沁¹, 房克艳^{1,2}, 赵超敏², 邓晓军²

(1.上海大学生命科学学院, 上海 200444)

(2.上海出入境检验检疫局动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135)

摘要: 本文主要综述了近年来饲料基质中兽药含量的检测分析方法。简要介绍了关于兽药在饲料中使用的相关规定, 以及添加使用兽药的用途和违禁使用兽药的危害。重点介绍了饲料中兽药含量检测的前处理技术和检测技术, 包括样品的提取、分离、纯化和检测等, 并分析了不同检测技术的优点和不足, 以及不同检测技术在兽药检测中的应用。最后, 讨论了饲料中兽药检测技术的发展前景与趋势。指出兽药品种多样、饲料基质复杂, 在不同兽药的检测方法上存在差异, 精确、快速和高通量的检测方法相对较少。需要优化兽药检测前处理技术, 缩短前处理时间, 提高检测效率; 同时, 加大力度研究和开发高灵敏度和准确度的检测技术, 为更好的监督和规范饲料中兽药的使用提供可靠的依据。

关键词: 饲料; 兽药; 前处理技术; 检测技术

文章编号: 1673-9078(2018)10-281-290

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.038

Progress in Detection Technology of Veterinary Drug Content in Feed

CHEN Qin¹, FANG Ke-yan^{1,2}, ZHAO Chao-min², DENG Xiao-jun²

(1.School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)(2.Technical Center for Animal Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

Abstract: The methods for the detection and analysis of veterinary drugs in feed in recent years were reviewed. A brief introduction on the relative laws and regulations regarding the usage of forage and medicine, as well as the advantages of using veterinary drugs and the harm of illegal uses of unsafe drugs in feed were summarized. Emphasis was laid on pretreatment technology and detection technology of feed matrices, including sample extraction and separation as well as purification and different detection methods, being in use for the determination of drugs. It is provided to illustrate common trends and method variability. The advantages and disadvantages of different detection techniques, as well as the application of different detection techniques in the detection of veterinary drugs were analyzed. Finally, the possibilities of novel analytical approaches were discussed. Due to the variety of the veterinary drug and the complex feed matrix, there are many differences in the detection methods of veterinary drugs. However, the exact, fast and high-throughput detection methods are relatively few. It is necessary to optimize the pretreatment technology, shorten pre-processing time and improve detection efficiency of veterinary drug detection, and intensify research and development of high-sensitivity and accuracy detection technology to provide a reliable basis for better supervision and regulation of the use of veterinary drugs in feed.

Key words: feed; veterinary medicine; preprocessing technology; detection technology

饲料 (Feed) 是经工业化加工、制作的供动物食用的产品, 包括单一饲料、添加剂预混合饲料、浓缩饲料、配合饲料和精料补充料^[1]。其质量的优劣直接影响动物的生长速度和健康水平, 进而影响动物性产品的质量。不同类型的饲料所含有的营养成分的种类

收稿日期: 2018-07-12

基金项目: 上海市科委科研项目 (16142201500; 17DZ2293700); 长三角科技合作项目 (17395810102); 中央引导地方科技发展专项 (YDZX20173100004528)

作者简介: 陈沁 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 生物化学与分子生物学。共同第一作者: 房克艳 (1993-), 女, 在读, 研究方向: 食品工程
通讯作者: 赵超敏 (1979-), 女, 博士, 工程师, 研究方向: 食品掺假溯源

和含量不同, 可以满足不同种类、不同性别、不同年龄、不同生理状态和生产目的的动物的生长需要; 同时, 为预防、治疗、诊断动物疾病或有目的地调节动物生理机能, 可在饲料中添加一定含量的兽药, 以促进动物的生长繁殖, 降低动物的发病率和死亡率。但是, 兽药滥用现象也极易造成兽药及其代谢产物在动物体内蓄积, 这不仅威胁人的生命健康, 还会对畜牧业的发展和生态环境造成极大的危害。因此, 严格控制饲料中兽药的使用具有重要的意义。

欧盟委员会条例 (EU) 第 37/2010 号^[2], 规定了 641 种药理学活性认可物质的使用规范和 9 种禁用兽药。我国也在《饲料药物添加剂使用规范》中列出了

允许在饲料中添加的 55 种兽药,并明确指出其适用对象、用法用量和休药期^[3]。允许在饲料中添加的兽药,按照功能可分为抗球虫药类、驱虫剂类、抑菌促生长类等。它们都具有代谢周期短,对动物造成的副作用小,不易在动物体内蓄积等特点。但是动物养殖过程中,不合理使用饲料且不遵守食品卫生法规和休药期规定,而任意宰杀销售会造成兽药在动物性产品中残留。人体摄入后,易造成代谢紊乱、功能障碍、甚至危及生命。因此,饲料中兽药的合理和安全使用,对于动物性产品的安全至关重要。本文就饲料中兽药的使用、兽药的检测技术及其进展进行了讨论。

1 饲料中兽药的应用

1.1 兽药的分类

对于体型较大的动物和大型养殖场来说,注射药物具有一定难度,而且注射的位置不易把握,稍有不慎会导致动物瘫痪或死亡,而将兽药添加到饲料中使用不仅会避免这些问题的发生,还可以灵活的控制兽药的使用剂量和停药期。目前,畜禽养殖和生产中使用的兽药种类很多,按照来源可分为化学合成药物、抗生素及其半合成品,按照用途可分为抗菌药物、抗病毒药物、抗寄生虫药物、动物生长促进剂以及其它用途药物。而按照《饲料药物添加剂使用规范》中允许添加的兽药,主要分为两类,一类是可以预防动物疾病、促进动物生长、在饲料中长期使用的饲料药物添加剂;而另一类是以治疗动物疾病为目的并按照疗程服用,通过混饲给药的药物饲料添加剂^[3]。

1.2 兽药滥用的危害

兽药残留(Residues of Veterinary Drugs):指食品动物用药后,动物产品的任何食用部分中与所用兽药有关的物质的残留,包括原型药物及其代谢产物^[4]。过量的使用兽药或者不遵守休药期的情况下,兽药在体内的蓄积量会大大增加。残留在动物体内的兽药被人体摄入后,极可能导致急性中毒或慢性中毒,如喹噁啉类、苯丙咪唑类等兽药有“致癌、致畸、致突变”的危险;抗生素类兽药不仅会使敏感的人群发生过敏反应,还会生成耐药性强的细菌和病毒,从而使机体产生抗药性,对后期疾病的治疗造成困难;激素类兽药残留不仅会扰乱人体内分泌、生长发育、免疫系统、生殖系统等方面的功能,还会直接危害人们的健康甚至生命^[5]。另一方面,代谢不完全的兽药,经动物粪便进入到环境中,会对环境产生污染。如 Wei 等^[6],在华东地区采集的土壤样品中发现了 13 种兽药,其中

家禽饲养场的粪便是兽药在土壤中重要的污染源之一,且指出兽药在土壤中更容易积累,持续存在。而 B á t k o v á 等^[7]的研究显示,兽药不仅会影响植物的生长发育,而且会和环境中的其它污染物相互作用,进而对环境产生更加复杂的影响。

1.3 兽药的使用规范

我国对于饲料中兽药使用的规定在不断完善,从 2001 年农业部颁布《饲料药物添加剂使用规范》(农业部公告第 168 号)以来,兽药的使用也逐步规范化,新规定不仅在用量上要求更加严格,在种类上也增加了限制。农业部第 235 号公告(附录 1-4)中,规定了动物性食品允许使用,且不需要制定残留限量的兽药;动物性食品允许使用,但需要制定残留限量的兽药;允许作治疗用,但不得在动物性食品中检出的兽药;以及禁止用于所有食品动物的兽药^[4]。2002 年农业部第 176 号和第 193 号公告中明确禁止了肾上腺受体激动剂、性激素、 β -兴奋剂类、蛋白同化激素、精神药品和各种抗生素滤渣的使用^[8,9]。2018 年 1 月农业部第 2638 号公告中提出喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙肿等兽药禁止在食品动物中使用^[10]。可以看出,我国对于饲料中兽药的使用要求越来越严格。

2 饲料中兽药检测的前处理技术

饲料样品前处理过程可分为:提取、净化、纯化和浓缩四个步骤。饲料中含有大量的有助于动物生长的营养成分,如蛋白质、脂肪、维生素和矿物质等,这些物质如果不去除不仅会损害仪器,还会产生基质效应,影响检测结果。表 1 中列出了不同前处理技术在饲料样品检测中的应用,样品的前处理技术是分析检测的重要环节,其分离纯化的水平直接影响分析的准确度、灵敏度以及分析方法的重现性。因此,选择合适有效的前处理技术,对饲料中兽药含量的检测分析是至关重要的。

2.1 提取

通常根据兽药极性的不同,选择合适的提取溶剂是检测兽药含量的重要前提,常用的提取溶剂有乙腈、甲醇、丙酮、叔丁基甲醚、乙醚和乙酸乙酯等。乙腈、甲醇和丙酮容易与样品结合,溶剂化作用和渗透能力强,粘度小,提取速度快;叔丁基甲醚、乙醚和乙酸乙酯是非水溶性极性溶剂,常用于提取脂溶性化合物。

2.2 净化

净化过程主要是除去蛋白质、脂肪和其它一些小

分子物质。除蛋白质的主要方法是加入变性剂、有机溶剂和中性盐等,其原理是使蛋白质变性或脱水沉淀,三氯乙酸是常用的蛋白质沉淀剂;常用的有机溶剂包括甲醇、乙腈、丙酮和乙醇等;常用的中性盐有饱和硫酸铵、硫酸钠、镁盐和磷酸盐等。除脂的主要方法有冷冻法、化学反应法或者有机溶剂去除法。冷冻法

是根据脂肪和待测物的冷冻点不同,脂肪冷冻点低(5℃),而待测物冷冻点高的特性,凝固后,通过离心分离;也可以通过磺化反应或皂化反应的方法除脂;或者利用有机溶剂将脂肪溶解除去,常用有机溶剂为正己烷、乙醚等。

表1 饲料样品前处理方法的应用

Table 1 Application of pretreatment method for Feed Sample

目标化合物	提取试剂及净化方式	前处理方法	参考文献
海南霉素	乙酸乙酯提取; 90% 甲醇与己烷萃取	液-液萃取	[11]
去甲睾酮、勃地酮、 睾酮等蛋白同化类激素	乙腈提取; 皂化除去脂肪; 乙炔萃取	液-液萃取	[12]
己烷雌酚等 6 种雌激素	乙醚提取; HLB 固相萃取柱净化	固相萃取	[13]
氟甲睾酮, 波登酮等 7 种类固醇激素	乙腈提取; Nexus 固相萃取柱净化	固相萃取	[14]
辛弗林	甲醇提取; QuEChERS 过程: 丙基乙二胺(PSA)、C ₁₈ 净化; 固相萃取过程: MCX 柱净化	QuEChERS 方法和 固相萃取	[15]
卡巴多和喹乙醇	C ₁₈ 材料固体吸附; 乙腈/甲醇 (8:2, V/V) 洗脱提取	基体分散固相萃取	[16]
特步他林和沙丁胺醇	C ₁₈ 材料固体吸附; 乙腈洗脱提取	基体分散固相萃取	[17]
阿替洛尔、 纳多洛尔等 6 种 β -阻断剂	乙腈/甲醇 (3:7, V/V) 提取; 丙基乙二胺(PSA)、 无水 MgSO ₄ 净化吸附	QuEChERS 方法	[18]
β -苯乙醇胺 A	乙腈/水 (80:20, V/V) 提取; MgSO ₄ 和 PSA 净化吸附	QuEChERS 方法	[19]
磺胺二甲氧嘧啶	McIlvaine 缓冲溶液 (pH 4.6) 提取; 磁性纳米材料选择性吸附	磁性固相萃取	[20]
阿维菌素类和伊维菌素	水/甲醇 (95:5, V/V) 提取; C ₁₈ HD 柱在线萃取	在线固相萃取	[21]

2.3 纯化和浓缩

2.3.1 液-液萃取技术

液-液萃取法 (liquid-liquid extraction, LLE) 又称溶剂萃取或抽提。是利用物质在两种互不相溶 (或微溶) 的溶剂中溶解度或分配系数的不同,使溶质从一种溶剂内转移到另外一种溶剂中的方法。该方法成本低,操作比较简单,是提取和分离的常用方法。抗生素^[11]、类固醇类^[12]、磺酰胺类^[22]等兽药提取和分离均可采用该方法。Valese 等^[23]采用该方法同时对饲料中磺酰胺类、四环素类和硝基咪唑类等 62 种兽药进行提取分离。通过两次液液萃取,首先用乙酸酸化的乙腈/水 (9:1, V/V) 萃取,取水相于 50℃ 浓缩干燥,再用乙腈/水 (7:3, V/V) 和己烷进行萃取,取水相过膜即可进行检测,最终 62 种兽药中有 20 种可实现定量检测,极大的提高了检测效率。液-液萃取法的局限性在于选择性较差,操作时间比较长,需要消耗大量的有机溶剂,会造成环境污染和溶剂的浪费。

2.3.2 固相萃取技术

固相萃取 (Solid Phase Extraction, SPE) 是根据

填料与目标物和杂质选择性吸附与选择性洗脱的原理,进行分离和浓缩的方法。主要包括活化、上样、淋洗和洗脱四个步骤,在进行固相萃取前,样品要进行均质、离心等处理。常用的反相萃取柱有 C₁₈ (十八烷基硅烷键合硅胶柱)、C₈ (辛烷基硅烷键合硅胶柱)、HLB (Hydrophile-Lipophile-Balance, 亲水亲油平衡柱) 和 CN (氰丙基柱) 等;正相萃取柱主要有 Silica (二氧化硅柱) 和 Florisil (佛罗里硅土柱) 等;吸附型萃取柱包括阳离子型和阴离子型,阳离子型主要有 SCX (strong cation Exchange, 强阳离子交换柱) 和 COOH (羧基弱阳离子交换柱) 等,阴离子型主要有 SAX (Strong Anion Exchange, 强阴离子交换)、PSA (N-丙基乙二胺) 和 NH₂ (氨基柱) 等。可以根据饲料中目标化合物的性质选择合适的萃取小柱,将杂质和目标化合物分开。如 Patyra^[24]等在检测饲料中 4 种四环素类兽药时,采用了 SPE 小柱净化的方法,并比较了反相萃取柱 (Stata-X、C₁₈ 和 HLB),吸附型弱阳离子交换柱 (Strata-X-CW) 和正相萃取柱 (二氧化硅) 的纯化效果,发现 C₁₈ 的平均回收率低于 75%; Stata-X 和 Oasis HLB 的平均回收率在 80%~85% 之间,但基质

干扰大; Strata-X-CW 小柱的平均回收率为 79.7%~98.8%, 回收率高且基质效应低。因此, 选择了 Strata-X-CW 小柱作为 SPE 净化小柱。陈卿卿等^[25]采用碱性氧化铝萃取柱进行纯化, 测定饲料中四种磺胺类兽药, 该萃取柱在酸性条件下比较稳定, 其表面的电子可与芳香环相互作用, 具有很强的吸附能力。净化后, 能够满足高效液相色谱的检测要求, 加标回收率达到了 93.6%~106.7%。

SPE 的净化效果好, 萃取时间短, 溶剂用量少, 回收率高, 可有效降低样品基质效应, 提高检测的灵敏度。对于饲料中某些含量甚微的兽药, 如类固醇激素^[13,26,27]、肾上腺素受体激动剂^[15]等, 该方法仍然适用, 其回收率和精确度均能达到检测的要求。不足之处在于, 萃取步骤比较繁琐, 需要选择合适的洗脱剂, 活化时间、洗脱体积和流速要严格的控制, 饲料基质复杂, 有时过滤比较困难, 从而影响萃取效果。

2.3.3 基体分散固相萃取技术

基体分散固相萃取 (matrix solid-phase dispersion, MSPD) 是 1989 年由美国路易斯安那州立大学的 Barker 教授提出一种快速样品前处理技术。该方法的原理是将涂有 C₁₈ 等多种聚合物的材料与样品一起研磨, 得到半干状态的混合物, 并将其作为填料装柱, 然后用不同溶剂淋洗柱子, 将各种待测物分别洗脱下来。MSPD 在饲料样品前处理中应用比较广泛^[16-17,28]。如应永飞^[29]运用碳纳米管分散固相萃取结合的方式测定饲料中 β -受体激动剂和抗菌类兽药, 该方法平均回收率为 80.5%, 标准偏差(RSD)小于 7.47%。表明该前处理的操作简便、重复性和回收率均较好。Zhu 等^[30]建立了针对猪和鸡饲料中 30 种被禁用的兽药, 包括 β -受体激动剂、激素和精神病药物等的检测方法。其中前处理采用了快速、简单和有效的 MSPD 方法, 30 种药物的回收率均在 70.1% 以上, RSD 小于 15.8%。回收率好, 且灵敏度高, 可在短时间内实现多种兽药的检测。该方法的优点在于简化了萃取的过程, 将匀浆、破碎、萃取和纯化这几个步骤合并为一个过程, 不仅操作简单, 溶剂用量少, 还避免了样品的损失; 缺点是与待测物相似的物质不易分离, 以及取样量小, 造成检测限相对较高。

2.3.4 QuEChERS 技术

QuEChERS 方法 (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 是 2003 年由美国农业部 Anastassiades 教授等开发, 其原理与 SPE 相似, 都是利用吸附剂填料与基质中杂质的相互作用, 将杂质吸附从而达到除杂纯化的目的。具体而言, 样品经提取剂提取后, 用萃取盐盐析分层, 根据基质分散萃取的原理, 利用吸

附剂如 PSA、C₁₈ 等, 与杂质结合, 将杂质吸附住, 然后通过离心的方式去除杂质。因其具有快速、简单、环保、经济的优点, 因此常用于饲料中兽药的检测^[18,19,31]。Mart ínez-Villalba 等^[32]在对饲料中抗寄生虫类兽药的检测中, 采用了 QuEChERS 的方法, 最终发现 PSA/C₁₈ (1:1) 的吸附净化效果好, 回收率高 (>72%), 对分析物的损失小, 基质效应低, 在 0.5~10 mg/kg 的浓度范围内线性良好, 且具有处理时间短, 高效、便捷等优点。

QuEChERS 方法简单、有效, 可以根据基质及目标物的需要, 改进方法, 以提高检测的提取和纯化效果。Hou 等^[33]采用了 QuEChERS 方法检测饲料中巴氯芬和加巴喷丁的含量, 结果显示: 用酸化的乙腈 (5% 乙酸) 提取, 提取液浓缩干燥, 再用纯乙腈溶解, 然后采用 QuEChERS 方法进行纯化, 比提取后直接采用 QuEChERS 方法纯化的回收率高, 且基质效应低, 因为 PSA 能够吸附样品中的有机酸杂质, 而乙酸的存在会影响杂质的去除, 将提取液氮吹至干后, 乙酸被去除, 消除乙酸的干扰, 提高纯化效率, 降低基质效应。但是, 对于脂肪含量高的物质, 不仅会对检测分析仪器造成很大的损失, 同时也会影响 QuEChERS 方法的分离纯化效果, 且 PSA 价格较高, 不适合大批量饲料样品的检测。

2.3.5 磁性固相萃取技术

磁性固相萃取 (magnetic-solid phase extraction, M-SPE) 技术, 是 21 世纪建立起来的分离富集领域的“革命性”技术。M-SPE 是以磁性或可磁化的材料作为吸附基质的一种分散固相萃取技术。与普通的固相萃取 (SPE) 相比, 吸附剂比较小, 具有比表面积大, 扩散距离短的优点。如 Feng 等^[20]采用磁性有机分子印迹聚合物(MIP)复合材料作为萃取材料, 萃取饲料中磺胺二甲氧辛(SDM), 平均回收率在 89.3%~107.0% 之间, LOD 和 LOQ 分别为 0.016 mg/kg 和 0.052 mg/kg。无机磁性纳米颗粒通过不可逆转共价键与 MIP 相联系, 磁性 MIP 复合材料具有良好的选择性、高粘结能力和良好的动力学性能。该方法只需要使用少量的吸附剂和较短的平衡时间就能实现低浓度的微量萃取, 磁性材料经处理后还能重复使用, 避免了材料的浪费, 利用吸附剂自身的磁性, 吸附目标物质, 节省了离心和过滤的时间^[34], 具有高萃取能力和萃取效率。由于饲料基质成分复杂, 加上磁性纳米材料比较昂贵, 因此, 在这方面的应用较少。

2.3.6 在线固相萃取

近年来, 为满足快速、高精度度和高灵敏度的检测要求, 在固相萃取的基础上又出现了在线固相萃取

技术(Online-solid phase extraction, Online-SPE)。Online-SPE 是离线 SPE 的全自动在线实现方式,不仅大大节省了时间和操作的步骤,而且还减少了人为操作的误差,实现分离、纯化和进样全自动。在线固相萃取与液相色谱-质谱联用,能够提高分析的通量,分析的灵敏度、精确度和速度。如吴剑平等^[35]采用反相在线固相萃取柱在线富集纯化,以 0.2% 甲酸水与乙腈梯度洗脱,同时转移至 C₁₈ 色谱柱上进行分离,测定了饲料中 5 种喹噁啉兽药残留量,该方法的检出限(LOD)为 25 μg/kg,定量限(LOQ)为 50 μg/kg;回收率为 72.6%~84.6%,批内和批间 RSD 值均小于 10%,精确度高,重复性好。Kantiani 等^[21]等采用在线固相萃取实现了饲料中青霉素类、头孢菌素类和磺胺类三类共 18 种抗菌类兽药的纯化和分离。并比较了在线固相萃取和离线固相萃取两种前处理方法,前者的 LOD 在 0.09~2.12 μg/kg 范围内,后者的 LOD 在 0.12~3.94 μg/kg 范围内,前者检测的灵敏度略有提高。该方法的优点是实现样品的快速和自动化分离纯化,减少操作,实现高通量分析和高准确度的检测;缺点是需要高比例的有机相的洗脱液引入分析柱,会造成有机溶剂的浪费,加上其设备比较昂贵,目前在饲料领域的应用还不是特别广泛。

3 饲料中兽药检测技术

良好的前处理技术结合高灵敏度的检测方法,才能获得良好的检测结果。随着科学技术不断发展和对饲料中兽药研究的进一步深入,检测方法也在不断的进步,从薄层色谱法、酶联免疫吸附法、气相色谱法、高效毛细管电泳、电化学分析法等一些最先出现的检测方法,到后期不断涌现的一些高通量、高灵敏度、高精确度的检测技术,如高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法和其它的高新检测方法等。饲料中兽药检测技术的不断发展和创新,能够更好的控制饲料质量,促进畜禽健康成长,从而让人们吃到放心的动物性产品。

3.1 薄层色谱法

薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)是一种吸附薄层色谱分离法,它利用各成分对同一吸附剂吸附能力不同,使在流动相(溶剂)流过固定相(吸附剂)的过程中,连续的产生吸附、解吸附、再吸附、再解吸附,从而达到各成分的互相分离的目的。该方法在对于饲料中兽药的检测由来已久,虽然只能粗略的定量,但是其设备简单,检测成本低。如王小莺等^[36]运用于该方法对饲料中恩拉霉素进行定性检测,方法

可靠,可快速得出结果。Weng 等^[37]对饲料中四环素、金霉素和土霉素等进行检测,定量限分别为 40 mg/g、200 mg/g、100 mg/g。其优点是可在短时间内检测大量样品,且溶剂的使用量小。但是这种方法操作比较繁琐,不能准确进行定量,检测灵敏度低,仅可作为定性筛选方法。

3.2 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)它采用抗原与抗体的特异反应将待测物与酶连接,然后通过酶与底物产生颜色反应,进行定量检测。其可实现大量样品的集中检测,在饲料兽药检测中应用比较广泛,盐酸克伦特罗、磺胺类、四环素类和氯霉素类等的检测均有 ELISA 试剂盒,操作简单,使用方便。王仁华等^[38]运用 ELISA 法测定饲料中沙丁胺醇,其线性相关系数为 0.993,平均回收率达 90%以上。Wang 等^[39]等用 ELISA 分析方法检测饲料中的苯二氮卓类药物,检测范围在 25.2~55.4 μg/kg,加标回收率为 70.9~111.3%,RSD 小于 15.0%。ELISA 法具有选择性好、特异性强、检测时间短、测定方便等优点;缺点是影响因素多,易出现假阳性结果。

3.3 气相色谱法与气相色谱-质谱联用法

气相色谱方法(Gas Chromatography, GC)是利用气体作流动相的色层分离分析方法。该方法分离效率高,能分离、分析很复杂的混合物或性质极近似的物质(如同系物、异构体等)。虽然相同物质具有相同保留值的色谱峰,但是不一定相同保留时间的色谱峰都是一种物质。所以,为了更好地对色谱峰进行定性分析,常采用其它手段来定性。如气相色谱-质谱联用法(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS),其主要用于复杂化合物的分离与鉴定,气相色谱和质谱的结合,不仅弥补了气相色谱法只凭保留时间难以对复杂化合物中未知组分做出可靠定性鉴定的缺点,而且具有高分辨能力、高灵敏度和分析过程简便快速的特点。陈培荣等^[40]在检测饲料中硝基咪唑类兽药时就是采用了 GC-MS 的方法,通过色谱分离,LOD 在 0.20~0.63 ng/kg 之间,且批内与批间的 RSD 均小于 15%,灵敏度和稳定性良好。适用于挥发性较好的物质的检测,能降低样品的基质效应,重复性好,准确度高,且 GC-MS 方法有相应的质谱库,可根据待测物与质谱库物质的匹配程度对未知化合物进行定性。但是,由于 GC-MS 分析样品时必须经过气化,检测难挥发的物质时需要衍生化,操作繁琐、耗时。因此,该方法不适用于沸点高于 450℃ 的难挥发物质和热不

稳定物质的分析。

3.4 高效毛细管电泳法

高效毛细管电泳法 (High performance capillary electrophoresis, HPCE) 是以高压电场为驱动力, 以毛细管为分离通道, 依据样品中各组分之间淌度和分配系数的差异而实现分离分析的液相分离方法。如 Jing 等^[41]成功的分离了饲料中五种抗生素 (四环素、土霉素、多西环素、替米考星和泰乐菌素), 迁移时间和峰面积的日内 RSD 分别小于 0.2% 和 1.4%, 而日间的 RSD 则分别低于 0.4% 和 3.5%; LOD 分别为 0.5 mg/kg、1 mg/kg、1 mg/kg、1 mg/kg 和 1mg/kg, 具有良好的重复性、稳定性和可靠性。而 Wang 等^[42]用该方法测定猪饲料中盐酸克伦特罗和莱克多巴胺的含量, 检测限分别达到了 1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 且平均富集系数达到 124 倍以上。Nguyen 等^[43]则开发了一种廉价, 坚固且易于使用的便携式毛细管电泳仪, 用它来检测饲料中 β -激动剂, 基于其方便, 易于操作, 易于清洗的特点, 所以在应用现场和实验室中均适用。但是, 它在实现微量样品测定的同时, 也对前处理提出了高要求, 微量的样品使检测产生误差的几率增高。

3.5 电化学分析法

电化学分析方法是建立在物质在溶液中的电化学性质基础上的一类仪器分析方法, 主要有电位分析法、电质量分析法、库仑分析法、伏安分析法等。它是饲料中兽药含量测定的一种重要的检测方法, 其操作简单, 重复性好, 检测成本低, 所需时间短。如 Waris 等^[44]采用选择性电化学方法测定饲料中的洛克沙肿。结果显示, RSD<2.0%, 重复性良好; LOD 和 LOQ 分别为 0.53 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 和 1.76 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。对洛克沙肿检测不存在明显的表面钝化, 表明修饰电极适用于洛克沙肿的检测。电化学方法的优点在于、稳定性好、经济有效; 缺点是它的选择性比较差, 其检测限相对较高, 因此, 对于饲料这一基质的检测应用相对较少。

3.6 高效液相色谱法

高效液相色谱法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 是以液体作为流动相的检测方法, 因其高效、高速、高灵敏度的特点, 得到了广泛的应用^[45,46]。如 Yang 等^[47]采用高效液相色谱-紫外检测法 (HPLC-UV) 测定猪, 鸡和鱼饲料中的氟苯尼考 (FF), 并建立了一种有效的纯化方法, 该方法在 0.05~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度范围内, 具有良好的线性相关性 ($R>0.9999$), 日间和日内 RSD 均小于 9.3%, 重复

性良好。LOD 和 LOQ 分别为: 猪饲料 0.02 mg/kg 和 0.06 mg/kg, 鸡饲料 0.02 mg/kg 和 0.07 mg/kg, 鱼饲料 0.02 mg/kg 和 0.05 mg/kg。而 Kim 等^[48]则利用该方法测定饲料中 16 种磺胺类兽药, 发现 16 种化合物能够在 46 min 内实现分离, 并且具有良好的分辨率和对称的峰值; 线性相关系数 (R^2) 均高于 0.999; LOD 值范围为 14.1~45.0 $\mu\text{g}/\text{L}$, 而 LOQ 值在 46.9~150 $\mu\text{g}/\text{L}$ 之间; 日内 RSD<5.5%, 日间的 RSD<4.0%。以上结果表明该方法具有良好的选择性、线性、灵敏度和可靠性, 适用于动物饲料中兽药的分析与检测, 且该方法简单、经济、可靠, 有可接受的特异性和精确度。HPLC 方法的优点是选择性好、灵敏度高、重复性好、操作简单, 而且可与不同灵敏度、选择性和线性范围的检测器连接, 灵活度高, 应用性强, 分离和净化效果好; 缺点是受基质影响大, 对前处理要求比较严格。

3.7 液相色谱-质谱联用法

随着质谱技术的出现, 液相色谱-串联质谱方法 (liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS) 成为饲料中兽药含量检测以及兽药残留分析的重要手段。由于其既具备了液相色谱的分离功能, 又包含了质谱的准确定量功能, 提高了检测的选择性和灵敏度, 同时也避免了假阳性、假阴性结果的出现。如李延山^[49]和张丽等^[50], 分别利用液相色谱-串联质谱的技术建立了饲料中硫酸黏杆菌素和异噻唑啉酮的测定方法, 能够准确进行定量, 检测结果良好。而 Valesse 等^[51]开发并验证了液相色谱串联质谱法同时测定饲料中 62 种兽药的方法。结果表明, 该方法变异系数 CV (coefficient of variation, CV) 均小于 16%, 低于最大可接受值 (20%), LOQ 小于 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOD 小于 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 表明该方法的重复性良好, 检测限低, 适用于多种兽药同时检测。该方法前处理相对简单, 不需要进行衍生化, 具有灵敏度高, 检出限低的优点。

高效液相色谱-二级质谱联用法 (liquid chromatography-mass spectrometer, HPLC-MS/MS) 的分辨率更高, 能够对混合物进行选择性的分析, 适合化学稳定性差且含量较低的兽药的检测, 是目前最常用的检测方法。如魏云计等^[52]采用 HPLC-MS/MS 方法测定了饲料中的硝基咪唑类兽药及其代谢物残留, 针对每种分析物优化了仪器的 MS/MS 参数, 色谱分离只需要 12 min, 大大的提高了检测效率。而 Gavilán 等^[53]采用 HPLC-MS/MS 的方法测定饲料中四种四环素类兽药, 发现 HPLC-MS/MS 在 50~500 mg/kg 的浓度范围内的可准确定量, 回收率在 84%~109% 之间, RSD 在 12%~16% 之间。该方法的准确度高, 重复性

好,具有良好的回收率和线性范围,可进行大批量样品的检测分析。

相比液相色谱的方法,超高液相色谱的灵敏度更高,可以满足更低含量的物质的检测和鉴定。如李洪波等^[54]采用超高效液相色谱-串联质谱法测定饲料中的恩诺沙星和喹乙醇的含量,该方法灵敏度高,选择性好,恩诺沙星和喹乙醇的线性关系在 5~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内良好, R 值均大于 0.998,批内、批间的 RSD 均小于 20%,是一种行之有效的检测方法;而张伟等^[55]则建立一种畜禽饲料中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考的超高效液相色谱-串联质谱检测方法,该方法的 LOD 为 0.1 $\mu\text{g/kg}$, LOQ 为 0.3 $\mu\text{g/kg}$,三个加标水平的平均回收率在 81.41%~112.88%之间,日内精密度和日间精密度分别在 1.24%~12.92%和 0.64%~13.09%范围内,适用于饲料中氯霉素类兽药的定性和定量。该方法高效、快速、节省时间,节省流动相,大大地提高了效率,可实现样品的快速分离。

此外,随着高分辨率质谱仪的出现,高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱 (high-resolution quadrupole time-of-flight mass, HPLC-QTOF-MS) 方法以及超高效液相色谱串联组合型四级杆质谱 (ultra performance liquid chromatography-Q-Exactive mass, UPLC-Q-Exactive-MS) 方法也逐渐被应用于饲料中兽药的检测之中。如 Amelin 等^[56]采用 HPLC-QTOF-MS 的方法测定饲料中的四环素、磺胺类、喹诺酮类、驱肠虫剂、硝基咪唑类兽药,结果显示, RSD 值 $\leq 15\%$; LOD 和 LOQ 分别在 0.0005~100 ng/mL 和 0.003~250 ng/mL 范围内。该方法重复性好,检出限低,灵敏度高。由于仪器检出限低,提取物的稀释度高,所以基质效应也相应的降低了,进而提高了检测的灵敏度。LC-TOF/MS 技术通过高分辨来去除基质干扰,能有效鉴别质量数非常接近的化合物,可以快速、高通量筛查目标物或未知化合物超标的样品,但由于线性范围的局限性, TOF/MS 技术的定量效果不如 HPLC-MS/MS。而 Sollic 等^[57]运用 UPLC-Q-Exactive-MS 的方法检测饲料中四环素类兽药,结果表明,其线性范围 ($R^2 > 0.991$) 和重复性 (RSD $< 15\%$) 均良好, LOD 在 1.5~3.6 ng/g 范围内。具有良好的准确度和灵敏度,其能够同时定性和量高分辨下所有碎片离子的精确质量信息,但是仪器设备比较昂贵,检测成本高。

液质联用的方法灵敏度高,检出限低,在定性方面表现良好,不仅适合大分子物质的检测,也适合痕量和超痕量物质的检测,且对测试组分的热稳定性没有特殊要求,能够满足快速、高效的需求;缺点是易

受到样品基质的干扰,对前处理要求高,而且此类设备一般比较昂贵,检测成本相对较高,目前国内正在逐步普及,相应的标准方法也在进一步制定完善。

4 总结

我国是饲料产业大国,饲料的种类多,产量大,对于饲料品质的把握存在一定的挑战性,迫切需要完善现有技术,探究前沿技术,为畜禽产品的安全把好关。目前存在兽药品种多样,应用广泛,在不同兽药的检测方法上存在差异;精确、快速、高通量的检测方法相对较少;饲料中杂质含量较多,前处理过程复杂,操作繁琐;以及对检测方法的灵敏度和准确度要求不断提高等一系列问题。因此,优化饲料中兽药检测的前处理方法,简化前处理的操作过程,缩短前处理的时间,提高纯化效果;利用新技术、新手段研究出高通量的快速检测方法,提高检测效率;同时加大力度研究具有潜力的检测技术是饲料中兽药检测需要克服的难题。

参考文献

- [1] GB 10648-2013,饲料标签 [S]
GB 10648-2013, Feed label [S]
- [2] European Union. Commission Regulations (EU) No 37/2010 of 22 December 2009
- [3] 中华人民共和国农业部公告第 168 号.2001
The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC168,2001
- [4] 中华人民共和国农业部公告第 235 号. 2002
The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC235,2002
- [5] Noppe H, Le B B, Verheyden K, et al. Novel analytical methods for the determination of steroid hormones in edible matrices [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 611(1): 1-16
- [6] Wei R, Ge F, Zhang L, et al. Occurrence of 13 veterinary drugs in animal manure-amended soils in Eastern China [J]. *Chemosphere*, 2016, 144(1): 2377-2383
- [7] B á t Kov á H, Podlipn á R, Sk á ov á L. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants [J]. *Chemosphere*, 2015, 144(1): 2290-2301
- [8] 中华人民共和国农业部公告第 176 号.2002
The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC176, 2002
- [9] 中华人民共和国农业部公告第 193 号. 2002
The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC193, 2002
- [10] 中华人民共和国农业部公告第 2638 号.2018
The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC2638, 2018
- [11] Wang Z P, Shen J Z, Linhardt R J, et al. Liquid to liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass

- spectrometry determination of hainanmycin in feed [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1046(5): 98-101
- [12] Muñoz-Valencia R, Ceballos-Magaña S G, Gonzalo-Lumbreras R, et al. GC-MS method development and validation for anabolic steroids in feed samples [J]. Journal of Separation Science, 2008, 31(4): 727-734
- [13] 林小莉, 李宁, 霍峰, 等. 气相色谱-质谱法同时测定饲料中 6 种雌激素类药物[J]. 分析测试学报, 2016, 35(3): 322-326
LIN Xiao-li, LI Ning, HUO Feng, et al. Simultaneous determination of six estrogens in feed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2016, 35(3): 322-326
- [14] Muñoz-Valencia R, Gonzalo-Lumbreras R, Santos-Montes A, et al. Liquid chromatographic method development for anabolic androgenic steroids using a monolithic column: Application to animal feed samples [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 611(1): 103-112
- [15] Song Y, Chai T, Lou S, et al. Determination of synephrine in feeds by a novel quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe solid-phase extraction method combined with UHPLC-MS/MS [J]. Journal of Separation Science, 2018, 41(8): 1743-1751
- [16] Kesiūnaitė-Naite G, Naujalis E, Padarauskas A. Matrix solid-phase dispersion extraction of carbadox and olaquinox in feed followed by hydrophilic interaction ultra-high-pressure liquid chromatographic analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1209(1): 83-87
- [17] Cai C, Cheng H, Wang Y, et al. Simultaneous determination of four β 2-agonist residues in pig feed and urine by capillary electrophoresis with field amplified sample injection and electrochemiluminescent detection [J]. Analytical Methods, 2013, 5(19): 4978-4983
- [18] 姜光丽, 何小琴, 郝存显, 等. QuEChERS/超高液相色谱-串联质谱法同时测定饲料中 6 种 β -阻断剂类药物[J]. 中国饲料, 2015, 12: 33-36
JIANG Guang-li, HE Xiao-qin, XI Cun-xian, et al. Simultaneous determination of 6 kinds of beta blockers in feed by QuEChERS/ ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. China Feed, 2015, 12: 33-36
- [19] Zhang M X, Li C, Wu Y L. Determination of phenylethanolamine A in animal hair, tissues and feeds by reversed phase liquid chromatography tandem mass spectrometry with QuEChERS [J]. Journal of Chromatography B, 2012, 900(13): 94-99
- [20] Feng M, Li H, Zhang L, et al. Preparation and application of novel magnetic molecularly imprinted composites for recognition of sulfadimethoxine in feed samples [J]. Analytical Sciences, 2016, 32(5): 517-521
- [21] Kantiani L, Farré M, Freixedas J M G I, et al. Determination of antibacterials in animal feed by pressurized liquid extraction followed by online purification and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2010, 398(3): 1195-1205
- [22] Yang Y J, Liu X W, Li B, et al. Simultaneous determination of diaveridine, trimethoprim and ormetoprim in feed using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2015, 212(23): 358-366
- [23] Vales A C, Molognoni L, De Souza N C, et al. Development, validation and different approaches for the measurement uncertainty of a multi-class veterinary drugs residues LC-MS method for feeds [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1053(10): 48-59
- [24] Patyra E, Kwiatek K. Development and validation of multi-residue analysis for tetracycline antibiotics in feed by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. Food Additives & Contaminants Part A Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2017, 34(9): 1553-1561
- [25] 陈卿卿, 金迁, 林灵超. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定饲料中 4 种磺胺类药物残留[J]. 化学分析计量, 2017, 26(3): 84-87
CHEN Qing-qing, JIN Qian, LIN Ling-chao. Simultaneous determination of four sulfonamide residues in feeds by high performance liquid chromatography with solid phase extraction [J]. Chemical Analysis And Meterage, 2017, 26(3): 84-87
- [26] Bovee T F H, Gerrit Bor, Heskamp H H, et al. Validation and application of a robust yeast estrogen bioassay for the screening of estrogenic activity in animal feed [J]. Food Additives & Contaminants, 2006, 23(6): 556-568
- [27] Huo F, Li N, Lin X L. Simultaneous determination of hexoestrol, diethylstilbestrol, estrone and 17-beta-estradiol in feed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2016, 23(1): 44-49
- [28] Tao Y, Zhu F, Chen D, et al. Evaluation of matrix solid-phase dispersion extraction for 11 β -agonists in swine feed by liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(18):

- 2574-2582
- [29] 应永飞.碳纳米管分散固相萃取结合液质联用测定饲料中 β -受体激动剂/霉菌毒素和抗菌类药物的研究[D].浙江:浙江大学,2014
- YING Yong-fei. Study on the determination of β -receptor agonists, mycotoxins and antibiotics in feeds by LC-MS/MS coupled with dispersive solid phase extraction using carbon nanotubes as absorbent [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2014
- [30] Zhu Y, Xie S, Chen D, et al. Targeted analysis and determination of β -agonists, hormones, glucocorticoid, and psychiatric drugs in feed by liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(13): 2584-2594
- [31] Lopes R P, Filho J F D A, Vargas E A, et al. Development and validation of a method for the determination of sulfonamides in animal feed by modified QuEChERS and LC-MS/MS analysis [J]. Food Control, 2012, 28(1): 192-198
- [32] Martínez-Villalba A, Vaclavik L, Moyano E, et al. Direct analysis in real time high-resolution mass spectrometry for high-throughput analysis of antiparasitic veterinary drugs in feed and food [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2013, 27(3):467-475
- [33] Hou X L, Wu Y L, Chen R X, et al. Evaluation of two modified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) sample preparation methods for the analysis of baclofen and gabapentin in feeds by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. 2014, 88(2): 53-59
- [34] Wen Q, Wang Y, Xu K, et al. A novel polymeric ionic liquid-coated magnetic multiwalled carbon nanotubes for the solid-phase extraction of Cu, Zn-superoxide dismutase [J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 939(38): 54-63
- [35] 吴剑平,张鑫,李丹妮,等.在线固相萃取/液相色谱-串联质谱法检测饲料中5种喹噁啉类药物残留量[J].分析测试学报, 2015,34(5):610-615
- WU Jian-ping, ZHANG Xin, LI Dan-ni, et al. Determination of 5 quinoxaline residues in feed by on-line solid phase extraction/liquid chromatography-tandem mass spectrometry method [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2015, 34(5): 610-615
- [36] 王小莹,杨海翠.薄层色谱法检测饲料中的恩拉霉素[J].黑龙江畜牧兽医,2014,9(17):208-209
- WANG Xiao-ying, YANG Hai-cui. Determination of enramycin in feed by TLC [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2014, 9(17): 208-209
- [37] Naidong W, Hua S, Roets E, et al. Assay and purity control of tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline in animal feeds and premixes by TLC densitometry with fluorescence detection [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2003, 33(1): 85
- [38] 王仁华,练小华,谢益根.酶联免疫法测定饲料中沙丁胺醇[J].猪业科学,2016,33(11):88-89
- WANG Ren-hua, LIAN Xiao-hua, XIE Yi-gen. Determination of salbutamol in feed by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Swine Industry Science, 2016, 33(11): 88-89
- [39] Wang J, Wang Y, Pan Y, et al. Preparation of a broadly specific monoclonal antibody-based indirect competitive ELISA for the detection of benzodiazepines in edible animal tissues and feed [J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(12): 1-13
- [40] 陈培荣,刘锦妮,李洵,等.饲料中硝基咪唑类药物的GC-MS检测方法[J].江苏农业科学,2013,41(7):292-293
- CHEN Pei-rong, LIU Jin-ni, LI Xun, et al. GC-MS detection of nitroimidazoles in feeds [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(7): 292-293
- [41] Tong J, Rao Q, Zhu K, et al. Simultaneous determination of five tetracycline and macrolide antibiotics in feeds using HPLC [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(23-24): 4254-4260
- [42] Wang H, Yan H, Shi M, et al. An enzyme-assisted and nitrogen-blowing salt-induced solidified floating organic droplet microextraction for determination of clenbuterol and ractopamine in swine feed via capillary electrophoresis [J]. Animal Feed Science & Technology, 2015, 209(21): 257-267
- [43] Nguyen T A, Pham T N, Doan T T, et al. Simple semi-automated portable capillary electrophoresis instrument with contactless conductivity detection for the determination of β -agonists in pharmaceutical and pig-feed samples [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1360(35): 305-311
- [44] Waris M, Baig J A, Sirajuddin, et al. Selective electro analytical method for the determination of roxarsone in poultry feed and litter [J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(8): 2142-2151
- [45] Liu Q, Li J, Song X, et al. Simultaneous determination of aminoglycoside antibiotics in feeds using high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection [J]. Rsc Advances, 2017, 7(3): 1251-1259
- [46] Galarini R, Saluti G, Moretti S, et al. Determination of macrocyclic lactones in food and feed [J]. Food Addit

- Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2013, 30(6): 1068-1079
- [47] Yang J, Sun G, Qian M, et al. Development of a high-performance liquid chromatography method for the determination of florfenicol in animal feeds tuffs [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1068-1069(22): 9-14
- [48] Kim H J, Jeong M H, Park H J, et al. Development of an immunoaffinity chromatography and HPLC-UV method for determination of 16 sulfonamides in feed [J]. Food Chemistry, 2016, 196(7): 1144-1149
- [49] 李延山.液相色谱-串联质谱法检测饲料中硫酸黏杆菌素 [J].饲料工业,2017,38(14):56-58
LI Yan-shan. Determination of colistin sulfate in feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Feed Industry, 2017, 38(14): 56-58
- [50] 张丽,董丽君,刘琳,等.液相色谱-串联质谱法测定饲料中 3 种异噻唑啉酮[J].粮食与饲料工业,2017,8:55-62
ZHANG Li, DONG Li-jun, LIU Lin, et al. Determination of 3 isothiazolinones in feedstuff using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Cereal & Feed Industry, 2017, 8: 55-62
- [51] Valese A C, Molognoni L, de Souza N C, et al. Development, validation and different approaches for the measurement uncertainty of a multi-class veterinary drugs residues LC-MS method for feeds [J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2017, 1053(10): 48-59
- [52] 魏云计,朱臻怡,冯民,等.高效液相色谱-串联质谱快速测定饲料中硝基咪唑类药物及其代谢物残留[J].分析测试学报, 2017,36(3):377-381
WEI Yun-ji, ZHU Zhen-yi, FENG Min, et al. Rapid determination of nitroimidazoles and their metabolites residues in feeds by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(3): 377-381
- [53] Elvira G R, Carolina N, Manuel M J, et al. Analysis of tetracyclines in medicated feed for food animal production by HPLC-MS/MS [J]. Antibiotics, 2016, 5(1): 1-10
- [54] 李洪波,许小友,黄志伟,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定饲料中的恩诺沙星和喹乙醇药物的含量[J].饲料工业, 2016,37(22):53-57
LI Hong-bo, XU Xiao-you, HUANG Zhi-wei, et al. Determination of enrofloxacin and olaquinox in feeds by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Feed Industry, 2016, 37(22): 53-57
- [55] 张伟,彭麟,江善祥.超高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽饲料中氯霉素类药物含量[J].南京农业大学学报,2015,38(3):453-458
ZHANG Wei, PENG Lin, JIANG Shan-xiang. Determination of chloramphenicols in the livestock and poultry feeds by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2015, 38(3): 453-458
- [56] Amelin V, Korotkov A, Andoralov A. Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method [J]. Journal of Aoac International,2016, 99(6): 1600-1618
- [57] Sollic M, Roylachapelle A. Quantitative performance of liquid chromatography coupled to Q-Exact high resolution mass spectrometry (HRMS) for the analysis of tetracyclines in a complex matrix [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 853(1): 415-424