

实验技术与方法

通过式固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留

辛晓晨¹, 卫瑾瑾¹, 鹿尘¹, 孙翠霞¹, 张二鹏²

(1. 周口市疾病预防控制中心, 河南 周口 466000; 2. 河南省疾病预防控制中心, 河南 郑州 450000)

摘要:目的 建立 Captiva EMR-Lipid 直通式固相萃取净化, 超高效液相串联三重四级杆质谱检测鸡蛋内氯霉素类药物残留的技术。方法 样品用氯化乙腈提取, 提取液经 Captiva EMR-Lipid 柱净化, 通过电喷雾离子源, 正负离子同时扫描的多反应监测模式进行检测, 用内标法定量。结果 在线性范围 0.03~6.0 $\mu\text{g/L}$ 内, 3 种化合物相关系数(r)皆在 0.995 以上, 检出限氟苯尼考胺(FFA)、氟苯尼考(FF)与氯霉素(CAP)分别是 0.04、0.01 与 0.02 $\mu\text{g/kg}$, 定量限分别是 0.12、0.03 与 0.06 $\mu\text{g/kg}$, 回收率范围在 92.3%~109.6% 之间, 相对标准偏差($n=6$)范围为 1.4%~8.2%。结论 此法易于操作, 可实现较高准确度, 适用于测定鸡蛋内 FFA、FF 与 CAP 残留。

关键词: Captiva EMR-Lipid; 液质联用; 鸡蛋; 氯霉素; 氟苯尼考; 氟苯尼考胺

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2023)09-1297-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.09.007

Determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in hen eggs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass-through solid extraction

XIN Xiaochen¹, WEI Jinjin¹, LU Chen¹, SUN Cuixia¹, ZHANG Erpeng²

(1. Center for Disease Control and Prevention of Zhoukou, He'nan Zhoukou 466000, China;

2. Center for Disease Control and Prevention of He'nan, He'nan Zhengzhou 450000, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of chloramphenicol drugs in hen eggs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with Captiva EMR-Lipid pretreatment. **Methods** Samples were extracted with ammoniated acetonitrile, then purified with Captiva EMR-Lipid, and finally detected by UPLC-MS/MS with electrospray ionization in multiple reaction monitoring mode *via* positive and negative ions scanning. Compounds were quantified by internal standard method. **Results** There were good linear relationships for 3 compounds in the range of 0.03-6.0 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients (r) not less than 0.995. The limits of detection of chloramphenicol (CAP), florfenicol (FF) and florfenicol amine (FFA) were 0.02, 0.01, 0.04 $\mu\text{g/kg}$, respectively. And the limits of quantitation were 0.06, 0.03, 0.12 $\mu\text{g/kg}$, respectively. The method recoveries were between 92.3%-109.6%, with relative standard deviations ($n=6$) between 1.4%-8.2%. **Conclusion** With simple operation and high accuracy, the method was suitable for the determination of CAP, FF and FFA in hen eggs.

Key words: Captiva EMR-Lipid; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; hen eggs; chloramphenicol; florfenicol; florfenicol amine

氯霉素 (Chloramphenicol, CAP)、氟苯尼考 (Florfenicol, FF) 均属氯霉素类广谱抗生素, 对多数

革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抑制作用, 但 CAP 会导致人体产生严重的致再生障碍性贫血, 已被中国、美国和欧盟等国家和组织在动物源性食品中禁用^[1]; FF 对多类细菌 (包括耐氯霉素及甲砒霉素的大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*)、克雷白氏杆菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、溶血性巴氏杆菌 (*Pasteurella haemolyticus*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 等) 所导致的畜禽细菌性疾病治疗效果显著, 目前已广泛用于畜禽动物养殖。但 FF 的消除半衰期

收稿日期: 2021-09-13

基金项目: 动物性食品中抗生素残留状况监测及膳食暴露风险评估研究 (LHGJ20190677)

作者简介: 辛晓晨 女 主管技师 研究方向为卫生理化检验

E-mail: Xin_023@163.com

通信作者: 张二鹏 男 主管技师 研究方向为卫生理化检验

E-mail: erpengzhang@163.com

长,易产生药物残留,会可逆性地抑制细胞的生成,并具有胚胎毒性。氟苯尼考胺(Florfenicol amine, FFA)是FF的主要代谢产物,通常作为动物体内FF的残留标示物^[2]。GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》^[3]规定,FF为产蛋期及泌乳期禁用药物,因此FF、FFA在鸡蛋、牛奶中不得检出。

由于养殖业中超剂量、不遵守休药期使用兽药,2020年上半年,国家市场监督管理总局两次发布禽蛋中氟苯尼考检出的通报^[4-5],说明FF滥用问题严重。现今针对CAP类药物的测定技术报道众多,以气相色谱(Gas chromatography, GC)法^[6]、GC-质谱(Mass spectrum, MS)法^[7]、液相色谱(Liquid chromatography, LC)法^[8]、LC串联MS法^[9]、酶联免疫(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[10]法为主。气相方法需要对样品进行衍生,液相方法检出限太高,酶联免疫法存在假阳性问题。近几年研究最多的是超高效液相串联三重四级杆质谱(Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)法,大多应用于动物肌肉组织的检测,前处理多采用液-液萃取方式,毒性较大,且所检测化合物只涉及CAP、FF、FFA单个或两种药物残留检测方法。禽蛋基质复杂,富含磷脂、蛋白质,采用液-液萃取方法除脂效果不彻底,常用的HLB(Hydrophilic lipophilic co-equilibrated polymer column)、MCS(SILICA+阳离子交换树脂)等常规固相萃取柱操作繁琐耗时,不利于大批量快速检测。

本实验在GB/T 20756—2006^[11]和SN/T 1865—2016^[12]的基础上,优化了前处理过程,提取液经直通式固相萃取柱净化,大幅降低了基质干扰,提高定量的准确性,为鸡蛋内CAP、FF、与FFA的同时测定提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

氯霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺、氟苯尼考胺-d₃和氯霉素-d₅标准品(纯度均为98%,德国Dr. Ehrenstorfer公司);甲醇、乙酸乙酯、乙腈(色谱纯,西陇化工有限公司);甲酸、氨水(美国Fisher公司);Captiva EMR-Lipid固相萃取柱(6 mL/600 mg,美国Agilent公司);Oasis PRiME HLB固相萃取柱(6 mL/200 mg,美国Waters公司);Discovery® DSC-18净化填料(美国Sigma-Aldrich公司);0.22 μm/13 mm Millex PVDF针式过滤器(美国Millipore公司);超纯水。

AB Sciex ExionLC -Triple Quad 6500+(美国 AB

Sciex公司);FA1204B分析天平(感量0.0001 g,上海越平科技公司);Avanti JXN-30低温高速离心机(美国Beckman Coulter公司);SA-480A超声清洗机(济南松浦设备有限公司);DMT涡旋混合仪(常州良友仪器公司);BA-DCY24Y氮吹仪(长沙Bayue仪器有限公司);微量移液器20~200 μL(德国Eppendorf有限公司);VA-E超纯水机(深圳市宏森科技有限公司)。

1.2 标准溶液配制

1.2.1 混合标准溶液

分别精准称量10.0 mg的CAP、FF、与FFA标准品,以甲醇(Methanol, MT)配制成1 000 mg/L的储备液,分别准确量取0.10 mL上述单标储备液,以MT定容,制备出10 mg/L的标准中间液,避光存放于-20℃环境中;准确吸取标准中间液0.10 mL,用10%乙腈水溶液定容,得到0.1 mg/L的标准使用液,4℃贮存。

1.2.2 混合内标溶液

分别准确称取FFA-d₃和CAP-d₅标准品10.0 mg,以MT溶解,同时稀释为1 000 mg/L浓度的储备液,精准吸量0.10 mL各单标储备液,用MT制备成10 mg/L的内标中间液,避光存放于-20℃环境中;准确吸取内标中间液0.10 mL,用10%乙腈-水溶液定容,得到0.1 mg/L的内标使用液,4℃贮存。

1.2.3 系列标准工作溶液

精准吸量适量内标中间液与混合标准中间液,通过10%乙腈(Acetonitrile, ACN)制备出不同质量浓度(0.1、0.25、0.5、1、2.5与5 μg/L)混合标准曲线,每份标准系列溶液含2 μg/L的FFA-d₃和CAP-d₅混合同位素内标。

1.3 样品前处理

准确称量已均质处理的2.0 g鸡蛋样品(精确至0.01 g),放入聚丙烯(Polypropylene, PP)离心管(50 mL)中,精准添加0.04 mL 0.1 mg/L内标使用液,涡旋1 min,静置15 min,加入10 mL含0.1%氨水的90%乙腈水溶液,涡旋10 min,在5℃以8 500 r/min(相对离心力RCF=15 000×g)离心3 min,移取上清液6~8 mL过Captiva EMR-Lipid柱,待完全混合,准确移取5.0 mL滤液氮吹近干,用1.0 mL乙腈水(10%)复溶残渣,用尼龙滤膜(0.22 μm)过滤,上机检测。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Kinetex Polar C₁₈柱(2.1 mm×100 mm, 2.6 μm);柱温:40℃;进样量:5 μL;流速:0.3 mL/min。流动相:A为乙腈,B为0.01%氨水;

梯度洗脱程序见表 1。

1.4.2 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI); 检测方式: 多反应监测 (MRM); 扫描方式: 正离子扫描 MRM+(FFA、FFA-d₃) 和负离子扫描 MRM-(FF、CAP、CAP-d₃); 电喷雾离子化电压 (IS): 5 500 V (MRM+)、-4 500 V (MRM-); 离子源温度 (TEM): 550 °C; 离子源喷雾气 (Gas1): 50 psi; 辅助加热气 (Gas2): 60 psi; 气帘气 (CUR): 30 psi; 碰撞气 (CAD): 9 psi; 碰撞室出口电压 (CXP): 10 V (MRM+)、-11 V (MRM-); 射入电压 (EP): 10 V (MRM+)、-10 V (MRM-); 其他质谱参数见表 2。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	0.01% 氨水溶液/%
0.01	10	90
2.0	25	75
4.0	40	60
4.5	100	0
6.5	100	0
7.0	10	90
8.5	10	90

表 2 目标物的保留时间和优化质谱条件

化合物	保留时间/min	电离模式	监测离子对/(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能/eV
FFA	1.61	ESI+	248.0>230.0*	23	17
			248.0>130.1	23	38
FFA-d ₃	1.61	ESI+	251.1>233.3	32	16
FF	3.57	ESI-	356.0>335.9*	-36	-13
			356.0>184.9	-36	-25
CAP	3.82	ESI-	321.0>152.1*	-40	-24
			321.0>256.9	-40	-17
CAP-d ₃	3.82	ESI-	326.0>157.0	-40	-25

注: *定量离子对

2 结果

2.1 质谱条件的优化

此项研究定量方法为同位素内标法, FFA 与 CAP 皆应用其氘代内标物, FF 目前市售的内标物多为 FF-d₃, 由于同位素峰效应, 会造成定量结果偏低, 且对高含量样品影响更大, FF 与 CAP 具有相似的结构, 且出峰时间相近, 故选用 CAP-d₃ 作为内标物。

FF、CAP 分子结构中含有多个 Cl⁻和 OH⁻等电负性基团, FFA 为含-NH₂的弱碱性药物, 且优化色谱条件后 FFA 先于 FF、CAP 1.5 min 出峰, 故此实验选择正负离子同时扫描模式来监测目标物, 在 2.6 min 时由 ESI+切回 ESI-即可。用 100 ng/mL 的混标溶液进行一级质谱母离子全扫描, 确定 FFA、FF、CAP 的准分子离子质量数分别为 *m/z* 248.0、

356、321。图 1 为 3 种目标物的结构图和可能裂解方式, 将准分子离子当作母离子实施二级质谱扫描, 结合化学结构分析, 以 FFA 为例, 母离子受到电子轰击后, 极易失去末端甲基上的 F⁻, 故选取 *m/z* 230 为定量离子, *m/z* 130.1 为定性离子。分别把具有较大信号强度、较高信噪比的 2 个离子碎片当作定性、定量离子, 并优化去簇电压和碰撞能量使离子碎片的响应达到最高, 优化后的质谱条件见表 1.4.2。

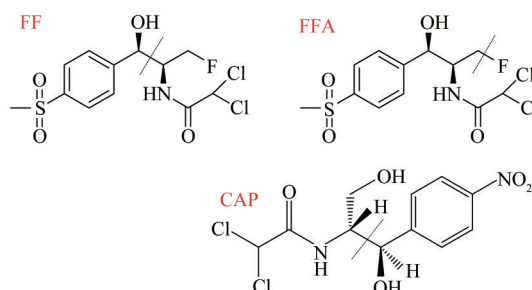


图 1 目标物的结构图和质谱裂解图

Figure 1 Chemical structures and mass spectral fragmentation of the targets

2.2 色谱条件的优化

本方法首先考察了水、0.01% 氨水 (Ammonium hydroxide, AH) 溶液、0.1% 氨水溶液、MT、ACN 作为流动相时各化合物的分离和响应情况, 见图 2。结果表明在同等仪器条件下, 目标化合物在乙腈体系下的响应略高, 且峰形更窄; 由于 CAP、FF 与 FFA 的 pKa 值皆在 10 以上, 更易溶解在高 pH 值的溶液中, 本方法又考察了 ACN-0.01% 氨水溶液、乙腈-0.1% 氨水溶液作为流动相时各化合物的响应值, 发现随着氨水的加入, 氟苯尼考胺的保留时间更加稳定、分离度和峰形效果更好, 在氨水浓度上调下, 色谱图不会出现明显波动, 但 FFA 在正离子模式下的离子化效率受到影响, 响应有所下降, 故最终确定流动相为 ACN-0.01% 氨水。

FFA 极性较强, 在普通 C₁₈ 柱 (Phenomenex Kinetex EVO C₁₈ 柱) 上有拖尾现象, 本次选用 Phenomenex Kinetex Polar C₁₈ 柱, 利用其 C₁₈ 配体和极性基团修饰的表面来提升 FFA 的保留能力并提高分离度, 同时确保均衡的非极性化合物保留能力, 优化后的 TIC 图 (总离子流图) 见图 3。

另外, FFA 峰形受流动相和基质影响较大, 在实践中发现, 同一根色谱柱, 随着进样针数的增加, FFA 的拖尾越严重, 建议在实验前彻底冲洗管路, 并采用较新色谱柱进行检测。FFA 内标较不稳定, 建议配制后冷藏保存不超过 4 d。

2.3 前处理条件的优化

2.3.1 提取溶剂的选择

根据文献 [13] 报道, 本实验考察了甲醇、乙腈、

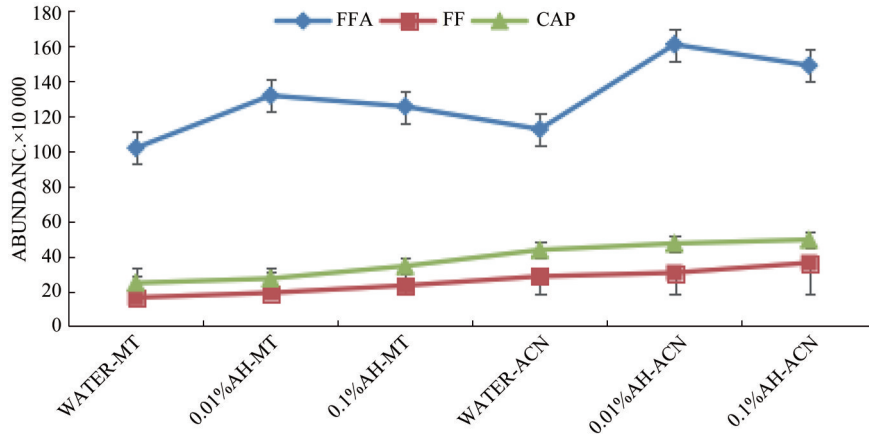


图2 不同流动相对目标化合物的影响

Figure 2 Intensity of compounds in different mobile phase

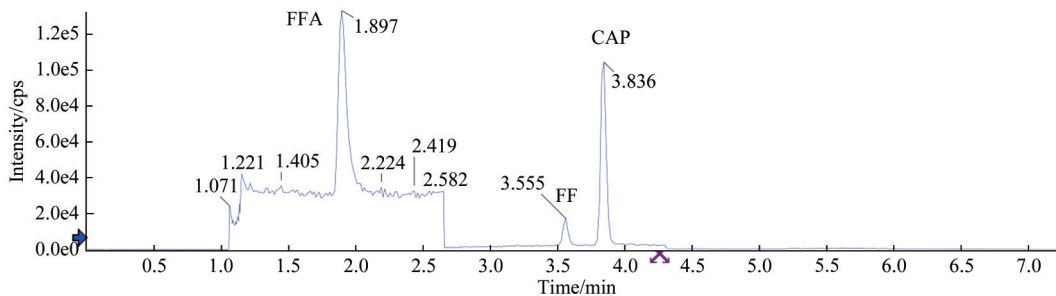


图3 FFA、FF、CAP的总离子流图

Figure 3 Total ion chromatogram of CAP, FFA and FF in Phenomenex Kinetex Polar C₁₈

乙酸乙酯以及这3种提取溶剂的碱化物对FFA、FF和CAP提取效率的影响。结果表明,MT提取液浑浊,可见显著基质抑制效应,ACN与乙酸乙酯(Ethyl acetate, EAC)及其碱化物具备比较澄清的提取液,提取回收率较好,且ACN还是良好的蛋白质沉淀剂,能很好地解决鸡蛋中蛋白质的沉淀和目标物的提取问题,综合考虑下选取乙腈为提取溶剂。加入0.1%氨水后FFA的回收率有所提升,且峰形更好,这主要是因为待测物均为弱碱性化合物,在碱性环境下,根据相似相溶原理,更容易进入提取液中。故最终确定含0.1%氨水的乙腈为鸡蛋基质的提取液。

2.3.2 净化方法的选择

2021年国家食品污染和有害因素风险监测工

作手册《动物源性食品中氟苯尼考和氟苯尼考胺测定的标准操作规程LC/MC/MC法》^[14]利用C₁₈固相萃取填料进行QuEChERS提取,实践中发现,鸡蛋样本因富含磷脂、蛋白质,提取液浑浊需用正己烷两次除脂,净化效果不理想。本实验考察了目前市售的Discovery® DSC-18净化填料和两种直通式净化小柱Captiba EMR-Lipid和Oasis PRiME HLB的净化效果(图4,加标量2 μg/kg),样品经这3种净化材料处理后,均可直接过膜上样或进一步浓缩后用初始流动相复溶上样。结果显示:从数据看,虽Discovery® DSC-18回收率最高,其对鸡蛋基质的除脂不彻底,上机液浑浊,对仪器损伤较大;Oasis PRiME HLB小柱的氟苯尼考回收率只有67.8%,而Captiba EMR-Lipid对3种化合物的加标回收率为

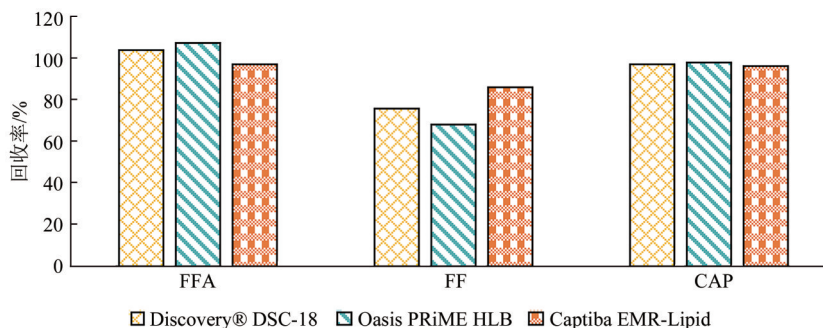


图4 3种净化方法的回收率比较

Figure 4 Comparison among recoveries of 3 purification methods

80.4%~98.2%, 综合考虑后, 决定选用 Captiba EMR-Lipid 作为净化用固相萃取柱。

2.4 基质效应

2.4.1 绝对基质效应

用 3 种净化材料分别处理的空白基质中加入混标溶液上机测定, 比较空白基质和纯溶剂中目标化合物的离子强度, 进而评价绝对基质效应, 以此来考察基质效应影响分析的程度, 以基质效应因子 (Matrix factor, MF) 表示: $MF(\%) = X/Y \times 100$, 其中 X、Y 依次代表空白基质响应值、纯溶剂响应值。表 3 为加标量 0.2 μg/kg 时 3 种化合物的基质效应, 其中 FFA 基质抑制效应严重, 需要采用内标法消除基质效应的影响。

表 3 3 种净化方法的绝对基质效应
Table 3 Absolute ME of 3 purification type

净化方式	基质效应/%		
	FFA	FF	CAP
Discovery® DSC-18	33.5	92.1	82.3
Oasis PRiME HLB	15.7	104.6	78.2
Captiba EMR-Lipid	31.7	90.4	82.3

2.4.2 相对基质效应

鉴于 FFA 基质效应较大, 为考察方法的合理性, 需对加入内标后方法的相对基质效应进行评价。购买 6 个不同来源的鸡蛋, 测定 6 种生物基质

中待测物和内标的 MF, 计算待测物和内标的比值得到内标归一化基质效应因子 (IS-normalized MF), 通过 6 个内标归一化基质效应因子计算变异系数 (Coefficient variation, CV), 表 4 为加标量 0.2 μg/kg 时 3 种化合物的相对基质效应评价结果, CV 均小于 15%, 说明对未知生物样本的测定, 基质效应影响可忽略。

2.5 方法学评价

2.5.1 检出限与定量限

将定量混合工作液加入至空白鸡蛋基质中, 按 1.3 处理后上机, 检出限 (Limits of detection, LOD) 为定性离子通道中信噪比 (S/N) 等于 3 时上机液中目标化合物的浓度, 定量限 (Limits of quantitation, LOQ) 为定量离子通道内 S/N=10 时上机液中目标化合物的浓度, 计算 CAP、FF、与 FFA 的 LOD 依次是 0.02、0.01 与 0.04 μg/kg, LOQ 依次是 0.06、0.03 与 0.12 μg/kg, 结果显著低于农业农村部要求的 LOD 和最低要求执行限量 (Minimum required performance limit, MRPL)。图 5 所示为空白鸡蛋样品加标后目标化合物的提取离子色谱图。

2.5.2 线性关系

横坐标 (X) 为标准工作液的质量浓度 (单位: μg/kg), 纵坐标 (Y) 为目标组分同内标峰面积比值, 完成线性回归标准曲线的拟合, 见表 5。

表 4 目标物的相对基质效应

Table 4 Relative matrix effects of the targets

样品名	FFA			CV/%	FF			CV/%	CAP			CV/%
	Absolute MF/%		IS-normalized MF/%		Absolute MF/%		IS-normalized MF/%		Absolute MF/%		IS-normalized MF/%	
	FF	FFA-d ₃			FF	CAP-d ₃			CAP	CAP-d ₃		
谷物蛋	34.7	34.5	100.7	10.1	86.2	82.5	104.4	12.7	74.1	78.9	93.8	4.3
乌鸡蛋	32.2	35.0	92.1		91.6	82.1	111.6		80.6	82.5	97.6	
富硒鸡蛋	30.6	32.4	94.5		87.5	78.5	111.5		80.4	82.1	98.0	
土鸡蛋	28.5	29.8	95.8		85.4	82.9	103.0		83.9	82.6	101.6	
生态蛋	30.4	25.9	117.0		83.5	96.3	86.7		74.2	82.9	89.5	
柴鸡蛋	20.5	18.3	112.4		80.3	98.3	81.7		79.7	81.3	98.1	

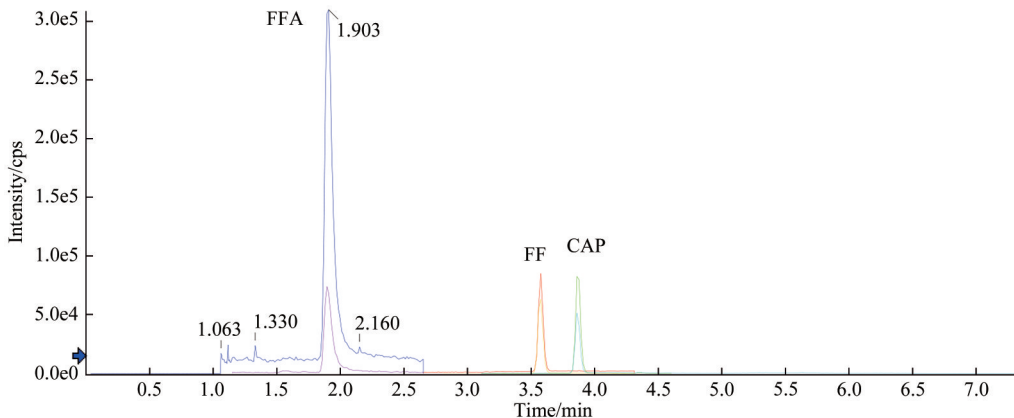


图 5 空白鸡蛋样品添加标准品的提取离子色谱图

Figure 5 Extracted ion chromatogram of blank control with standard

表5 目标物的相关系数(r)、线性方程及线性范围Table 5 Correlation coefficients(r), linear equations and linearity range for the target

化合物名称	r	线性方程	线性范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
FFA	0.999 2	$y=0.146\ 18x-0.002\ 09$	0.12~6.0
FF	0.999 0	$y=0.022\ 29x+0.003\ 01$	0.03~1.5
CAP	0.999 0	$y=0.068\ 37x-0.002\ 435$	0.06~3.0

2.5.3 回收率与精密度

向空白鸡蛋基质中添加3个水平(对应LOQ、2.0和10.0 LOQ/MRPL)的混合工作液,制备加标样品,按照1.3及1.4的处理方法进行回收率实验,每一添加水平做6个平行,结果见表6。各化合物回收率均值为92.3%~109.6%,RSD是1.4%~8.2%,与测定要求相符合。

2.6 方法应用

采用本法对河南地区市售的110份鸡蛋样品进行了检测,同时与国标方法^[12]相比较。结果显示,3份鸡蛋中同时检出了FF与FFA,FF残留量(括号内为国标方法检测值)是0.512(0.547)、2.72

表6 目标物的添加回收率和精密度($n=6$)Table 6 Mean recoveries and RSDs ($n=6$) for the target

化合物名称	加标水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率/%	RSD/%
FFA	0.12	92.3	8.2
	0.30*	96.4	5.0
	1.20	100.0	1.4
FF	0.03	102.2	3.2
	0.06	109.6	2.5
	0.30	95.4	1.7
CAP	0.06	108.3	3.6
	0.12	96.3	1.9
	0.60	97.1	1.7

注:*MRPL

(2.78)、8.15(7.99) $\mu\text{g}/\text{kg}$, FFA残留量0.422(0.429)、2.62(2.32)、6.35(6.14) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。FFA与FF同时检出,且FFA与FF含量呈正相关,也进一步印证了FFA是FF的主要代谢产物^[15],图6所示为阳性鸡蛋样品的提取离子色谱图。说明家禽产蛋期仍有商家违禁使用药物,监管部门在加强养殖者用药指导的同时,还需加强过程监测。

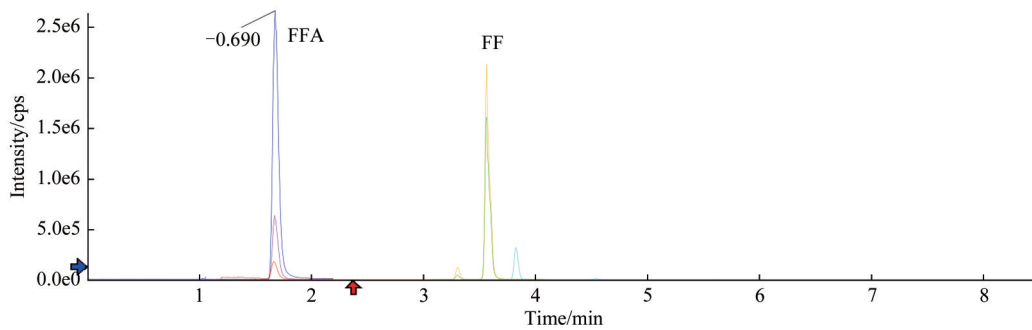


图6 阳性鸡蛋样品的提取离子色谱图

Figure 6 Extracted ion chromatogram of positive sample in hen eggs

3 结论

本实验利用Captiva EMR-Lipid固相萃取柱独特的体积排阻和疏水作用相互作用的净化机制,对脂类进行选择性吸附,且不需活化,比传统的QuEChERS方法操作更加简单,净化效果更彻底;采用正负离子扫描,内标法定量,能够快速完成鸡蛋中FFA等三种化合物残留的定性和定量分析,具有较好的准确度和精密度,适用于FFA、FF和CAP的大批量、快速检测。

参考文献

- [1] US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. CFR-code of federal regulations title 21 part 556 tolerances for residue of new animal drugs in food[Z]. USA: Food and Drug Administration, 2014.
- [2] European Commission. Commission Regulation (EU) No. 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in

foodstuffs of animal origin[J]. Office Journal European Union, 2010, 15(2377): 1-72.

- [3] 中华人民共和国农业农村部,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量:GB 31650—2019[S]. 北京:中国标准出版社,2019.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard Maximum residue limits for veterinary drugs in foods: GB 31650—2019 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [4] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局关于14批次食品不合格情况的通告[2020年第10号][EB/OL]. (2020-05-15) [2021-05-13]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgnr/spcjs/art/2023/art_fd745dcd7374c0c964ab38898beb42b.html. State Administration for Market Regulation. A notification regarding the 14 batches unqualified food situation by State Administration for Market Regulation [No. 10 of 2020] [EB/OL]. (2020-05-15) [2021-05-13] https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgnr/spcjs/art/2023/art_fd745dcd7374c0c964ab38898beb42b.html.

- [5] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局关于 17 批次食品不合格情况的通告〔2020 年第 12 号〕[EB/OL]. (2020-06-05) [2021-05-13]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxgk/fdzdgknr/spcjs/art/2023/art_79ae07a0d05b4798a26d753323960a17.html. State Administration for Market Regulation. A notification regarding the 17 batches unqualified food situation by State Administration for Market Regulation [No. 12 of 2020] [EB/OL]. (2020-06-05) [2021-05-13] https://www.samr.gov.cn/zw/zfxgk/fdzdgknr/spcjs/art/2023/art_79ae07a0d05b4798a26d753323960a17.html.
- [6] 张丽萍, 孟蕾, 张盼盼, 等. 鸡、猪组织中甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(9): 33-40.
ZHANG L P, MENG L, ZHANG P P, et al. Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and swine tissues by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2020, 54(9): 33-40.
- [7] 邵会, 冷凯良, 周明莹, 等. 水产品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺多残留的同时测定—GC/MS 法[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(3): 137-141.
SHAO H, LENG K L, ZHOU M Y, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in aquatic products with gas chromatography/mass spectrometry [J]. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(3): 137-141.
- [8] 王波, 赵霞, 谢恺舟, 等. 禽蛋中氟苯尼考及其代谢产物氟苯尼考胺同时检测的超高效液相色谱-荧光检测法的建立[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(1): 36-43.
WANG B, ZHAO X, XIE K Z, et al. Simultaneous determination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in poultry eggs via ultra-performance liquid chromatography-fluorescence detection [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2020, 47(1): 36-43.
- [9] 王波, 赵霞, 谢恺舟, 等. 鸽蛋中氯霉素甲砒霉素氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺同时检测的超高效液相色谱-串联质谱法的建立[J]. 中国兽医科学, 2019, 49(3): 393-402.
WANG B, ZHAO X, XIE K Z, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and its metabolite florfenicol amine in pigeon eggs by UPLC-ESI/MS/MS[J]. Chinese Veterinary Science, 2019, 49(3): 393-402.
- [10] 李然, 林泽佳, 杨金易, 等. 酶联免疫法检测动物组织及尿液中氟苯尼考与甲砒霉素的残留[J]. 分析化学, 2018, 46(8): 1321-1328.
LI R, LIN Z J, YANG J Y, et al. An indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for simultaneous determination of florfenicol and thiamphenicol in animal meat and urine [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(8): 1321-1328.
- [11] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法: GB/T 20756—2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Method for the determination of chloramphenicol thiamphenicol, and florfenicol residues in edible animal muscles liver and aquatic products - LC-MS-MS method: GB/T 20756—2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007.
- [12] 国家质量监督检验检疫总局. 出口动物源食品中甲砒霉素、氟甲砒霉素和氟苯尼考胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法: SN/T 1865—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in animal-derived food for export—LC-MS/MS method: SN/T 1865—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [13] 曹丽丽, 张书芬, 邢家深, 等. 超高效液相色谱-串联质谱结合谱库检索快速测定鸡蛋中氯霉素、氟苯尼考和甲砒霉素残留[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 197-203.
CAO L L, ZHANG S F, XING J L, et al. Fast determination of chloramphenicol, florfenicol, thiamphenicol in eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with library search [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 197-203.
- [14] 国家食品安全风险评估中心. 2021 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册-中卷《动物源性食品中氟苯尼考和氟苯尼考胺测定的标准操作规程 LC/MS/MS 法》[Z]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
China National Center for Food Safety Risk Assessment. Manual for China National Food Contamination and Harmful Factors Risk Monitoring in 2021-Medium Volume <The Standard operating procedures for determination of florfenicol and florfenicol amine residues in animal-derived food by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry> [Z]. Beijing: Standards Press of China, 2021.
- [15] 张静, 周倩, 高玉时, 等. 氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺在鸡蛋中的残留消除规律[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2021, 47(1): 127-134.
ZHANG J, ZHOU Q, GAO Y S, et al. Residue depletion laws of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in eggs [J]. Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences, 2021, 47(1): 127-134.