

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.03.07

分散固相萃取结合液相色谱串联质谱法检测 牛可食性组织中泰地罗新残留量

吴剑平,张婧,贡松松,严凤*,潘娟

(上海市兽药饲料检测所,上海 201103)

[收稿日期] 2018-12-28 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 03-0037-10 [中图分类号] S859.84

[摘要] 建立了分散固相萃取结合液相色谱串联质谱法检测牛肉、牛脂肪、牛肝和牛肾等可食性组织中的泰地罗新残留量的方法。取牛组织样品经 50% (V/V) 乙腈溶液提取,加入无水硫酸镁和氯化钠进行脱水 and 盐析,正己烷脱脂,高速离心分层后,取适量乙腈层溶液经 0.1% (V/V) 甲酸稀释后,用酸性氧化铝粉末进行样品净化并以 10000 r/min 离心取上清液,过 0.22 μm 滤膜后上机测定。使用反相色谱柱进行分离,流动相为 0.1% 甲酸和乙腈溶液,采用梯度程序进行洗脱,三重四级杆质谱进行定性定量分析。结果表明,方法的最低检测限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,最低定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,添加含量在 10~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性关系良好 ($r>0.995$),对应添加回收率为 60%~110%, $RSD<10\%$,表明该方法具有较好的准确度与精密度。

[关键词] 泰地罗新;分散固相萃取;串联质谱法

Determination of Tildipirosin in Edible Bovine Tissues by Dispersive Solid Phase Extraction Combined with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

WU Jian-ping, ZHANG Jing, GONG Song-song, YAN Feng*, PAN Juan

(Shanghai Municipal Supervisory Institute Veterinary Drugs and Feedstuff, Shanghai 201103, China)

Corresponding author: YAN Feng, E-mail: yan508@163.com

Abstract: To determine residue of tildipirosin in edible bovine tissues such as muscle, fat, liver and kidney, a dispersive liquid phase extraction method was used to process the sample. The 50% (V/V) acetonitrile was chosen to extract the target compounds, the anhydrous magnesium sulfate was chosen to dehydrate and salt out, the n-hexane was chosen to degrease. After high speed centrifugation, the extract was diluted by the 0.1% (V/V) formic acid and purified by the acid alumina powder. After 10000 r/min centrifugation, the extract was filtered by 0.22 μm film and then injected. The targets was separated by the gradient elution with a reverse phase column as the stationary phase and 0.1% formic acid with acetonitrile as the mobile phase. The qualification and

基金项目:上海市科技兴农重点攻关项目[(2016)3-2]

作者简介:吴剑平,硕士,畜牧师,从事兽药残留分析与研究。

通讯作者:严凤。E-mail: yan508@163.com

quantification were achieved by a tandem mass spectrometry. The results showed that the LOD of the method was 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the LOQ was 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The linearity of the method was good in the range of 10~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the liner correlations were all above 0.995, the corresponding recovery were between 60% and 110%, and the RSD were lower than 10%, which showed the good accuracy and precision of the method.

Key words: tildipirosin; dispersive solid phase extraction; tandem mass spectrometry

泰地罗新(tildipirosin),国际化学名为 20-脱氧-23 脱氧-5-氧-[3,6-二脱氧-3-(二甲氨基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-20,23-二-1-哌啶基泰乐内脂, CAS No.:328898-40-4,分子式为 $\text{C}_{41}\text{H}_{71}\text{N}_3\text{O}_8$,分子量为 734.02,其结构式如图 1 所示。泰地罗新是继替米考星和乙酰异戊酰泰乐菌素之后,又一种由泰乐菌素半合成制备的新型大环内酯类抗生素。荷兰英特威国际有限公司(Intervet International BV)最早研发了该药物,于 2011 年经欧洲药物管理局(European medicines agency, EMA)的审核,在欧盟国家批准上市销售^[1-2]。泰地罗新主要通过作用于细菌核糖体 50s 亚基,阻断 mRNA 位移,使得细菌的肽链合成和延长受阻,影响其蛋白质的合成,从而达到抑菌的目的。其主要用于治疗由副猪嗜血杆菌、胸膜肺炎放线杆菌等细菌引起的呼吸道疾病,其比泰乐菌素在抑制猪、牛呼吸道致病菌展现出更好的效果^[3-5]。该药吸收迅速,半衰期长,生物利用度高,性质稳定,具有较好的开发价值。国内近期已有厂商引进研发了该药,因此,有必要尽快制定该药在猪、牛等动物可食性组织中的残留量检测方法。

目前,检测大环内酯类抗生素检测方法中的紫外分光光度法、荧光法等由于受基质干扰较严重不适用于残留检测,液相色谱法虽能较好的分离基质^[6-8],但是后端的紫外检测器或二极管阵列检测器的灵敏度不足,难以适应残留检测的需要^[9]。本实验室之前也建立了以静电场轨道阱高分辨液质解析泰地罗新注射液中的有关物质^[10],但高分辨质谱在定量方面并不如其在定性方面的优势明显^[11]。液相色谱-串联质谱法检测动物可食性组织中的药物残留量具有灵敏度高,特异性好的特点^[12],有研究表明用该方法检测猪可食性组织中

的泰地罗新检测限可达到 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[13]。分散固相萃取相比传统的固相萃取柱,前处理具有成本低,速度快,便于操作的特点^[14],本研究结合分散固相萃取技术与液相色谱-串联质谱法对牛可食性组织中的泰地罗新残留量检测方法进行了研究。

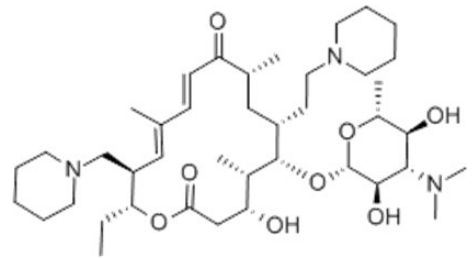


图 1 泰地罗新化学结构式

Fig 1 Structure of tildipirosin

1 材料和方法

1.1 仪器 Ultimate 3000 双三元超高效液相色谱、Excalibur 控制软件、串联四极杆质谱带 HESI 电离喷雾源(TSQ Quantiva)、Xcalibur 数据处理系统等(Thermo, 美国)、高速冷冻离心机(Allegra X-22R, BECKMAN COULTER);电子天平(AL204,梅特勒-托利多仪器有限公司);减压旋转蒸发仪(B-490, BUCHI);水浴控温氮吹仪(N-EVAP,上海安谱公司)。

1.2 材料、药品与试剂 C18 分析柱(Thermo Hypersil gold 50 \times 2.1 mm, 1.9 μm),泰地罗新对照品(上海同仁药业有限公司,批号:130503, 99.1%),无水硫酸镁(分析纯),氯化钠(分析纯),正己烷(色谱纯),乙腈(色谱纯),酸性氧化铝(100~200 目),乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯);去离子水(电阻率 \geq 18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$);高纯氮、高纯氩(纯度均为 99.999%)。

1.3 色谱条件 色谱柱:Thermo Hypersil gold 50 \times 2.1 mm, 1.9 μm , 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$, 流速:0.3 mL/min, 进样量:10 μL , 流动相:A 为 0.1%甲酸,B 为乙腈,采

用梯度洗脱程序(表 1),所得特征离子质量色谱图如图 2 所示。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Procedure of gradient elution

时间/min Time	流速/(mL·min ⁻¹) Flow rate	A/%	B/%
0.00		90	10
1.00		90	10
4.00	0.3	50	50
6.00		50	50
6.10		90	10
9.00		90	10

表 2 质谱选择反应监控(SRM)参数

Tab 2 Qualitative and quantitative ion pair for tildipirosin

化合物 Compound	电离极性 Polarity	母离子(<i>m/z</i>) Parent ion	子离子(<i>m/z</i>) Daughter ion	碰撞能量/V Collision energy	透镜电压/V Lens voltage
泰地罗新 Tildipirosin	+	734.5	98.2*	41	131
			174.1	40	
			561.4	32	

带*为定量离子对

1.5 前处理条件 取 2.00 g 样品置于 50 mL 试管中,加入 50 %乙腈溶液 10 mL,涡旋混匀后加入 5.00 mL 正己烷和无水硫酸镁与氯化钠各 2 g,振荡提取 10 min,8000 r/min 离心 5 min,用微量取液器准确吸取中间乙腈层清液 0.50 mL 至离心管中备用。备用液中加入 1.50 mL 的 0.1%甲酸溶液和 0.20 g 酸性氧化铝粉末,涡旋均匀后 12000 r/min 离心 3 min,取上清液过 0.22 μm 尼龙滤膜后装入棕色进样瓶上机测定。

2 结果与分析

2.1 方法灵敏度实验结果 分别称取(2.00±0.02)g 牛空白组织各 3 份于具塞离心管中,其中一份作为空白基质,另外 2 份依次加入已知浓度的标准工作液,制成含泰地罗新药浓度为 5 μg/kg 和 10 μg/kg 的组织样品。按照 1.5 项前处理方法处理后,按 1.3 项与 1.4 项仪器条件进样分析,所得特征离子质量色谱如图 2 所示,依据信噪比 S/N>3 作为检测限,

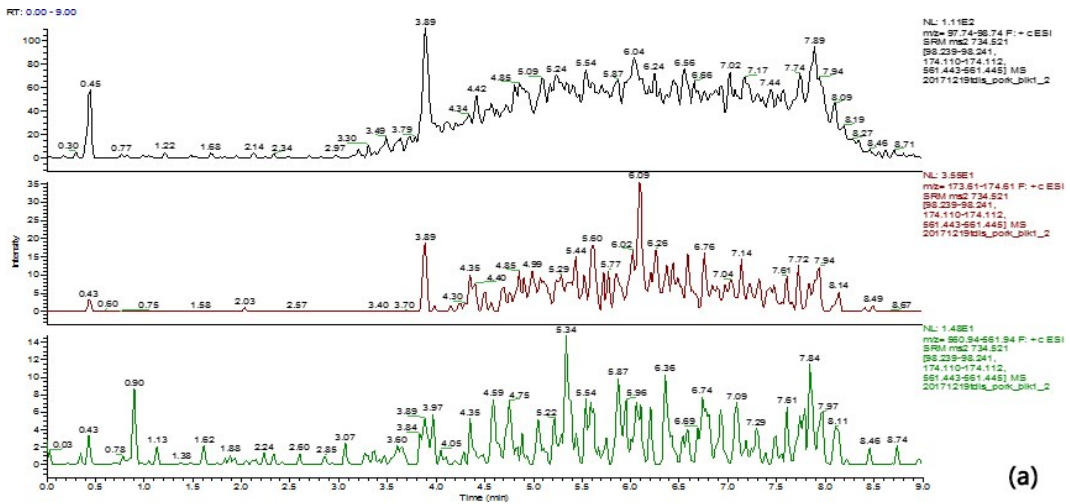
1.4 质谱条件 使用 Thermo Fisher 公司的 TSQ Quantiva 串联四极杆质谱带 HESI 电离喷雾源质谱检测器,条件如下:ESI+模式,源电压 3500 V,鞘气(Sheath gas)压力 344 kPa,辅助气(Aux gas)流速 5 L/min,吹扫气(Sweep gas)流速 0.3 L/min,离子传输管(Ion transfer tube)温度 350 °C,雾化器(Vapourizer)温度 350 °C,检测模式为选择反应监控(Selected reaction monitor, SRM),碰撞气压力 0.2 Pa, Q1 段分辨率设为半峰宽 0.7, Q2 段分辨率设为半峰宽 0.7,目标化合物反应监测参数见表 2。

信噪比 S/N>10 作为定量限,结果表明方法的检测限可达 5 μg/kg,定量限可达 10 μg/kg。据欧盟最新规定^[15],泰地罗新在牛肉中的最大残留限量(MRL)为 400 μg/kg,在牛脂肪中为 200 μg/kg,在牛肝中为 2000 μg/kg,在牛肾中为 3000 μg/kg,实验结果表明该方法灵敏度符合要求。

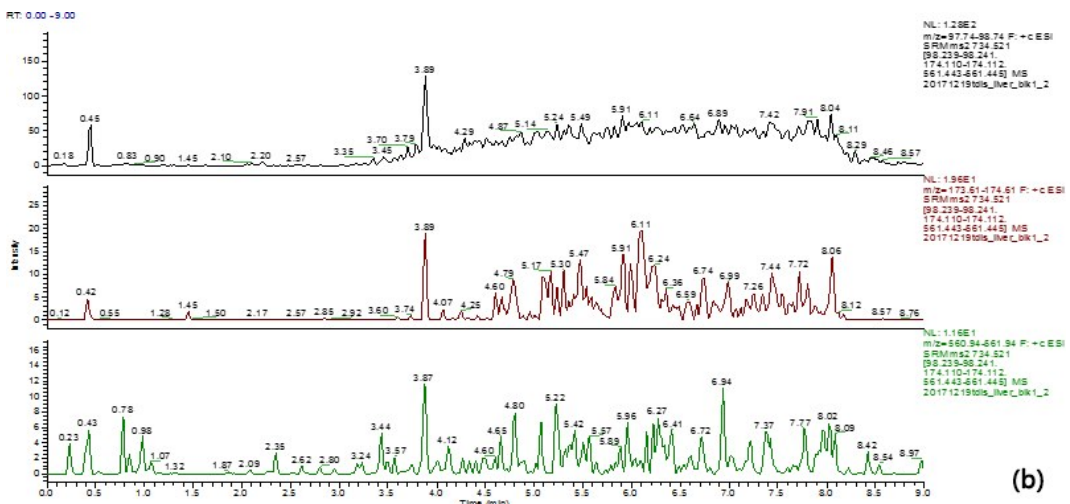
2.2 基质效应实验结果 称取 2.00±0.02 g 牛空白组织各 5 份,按 1.5 项方法处理后获得相应组织空白基质溶液。另精密称定标准品 10 ±0.5 mg,用甲醇溶解并定容至 100 mL,得 100 μg/mL 的标准品贮备液。取标准品贮备液用 0.1%甲酸稀释至 100 ng/mL 的标准品工作溶液。取适量标准品工作溶液用 0.1%甲酸溶液稀释至 1 ng/mL 溶剂标准品溶液,另取适量标准品工作溶液用空白基质溶液稀释至 1 ng/mL 基质标准品溶液。将 1 ng/mL 的溶剂标准品溶液基质标准品溶液按 1.3 项与 1.4 项的仪器条件进样测试,所得面积均值和 RSD%如表 3 所

示。实验结果表明,牛肉、牛脂肪、牛肝和牛肾的基
质标准品溶液与溶剂标准品相比都有不同程度的

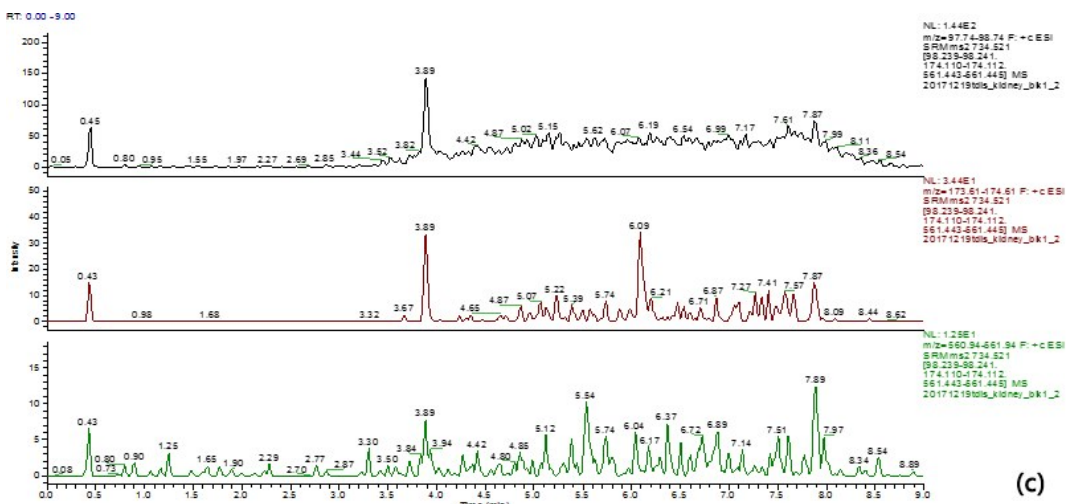
基质抑制作用,因此,后续实验均采用基质标准曲
线进行定量校正。



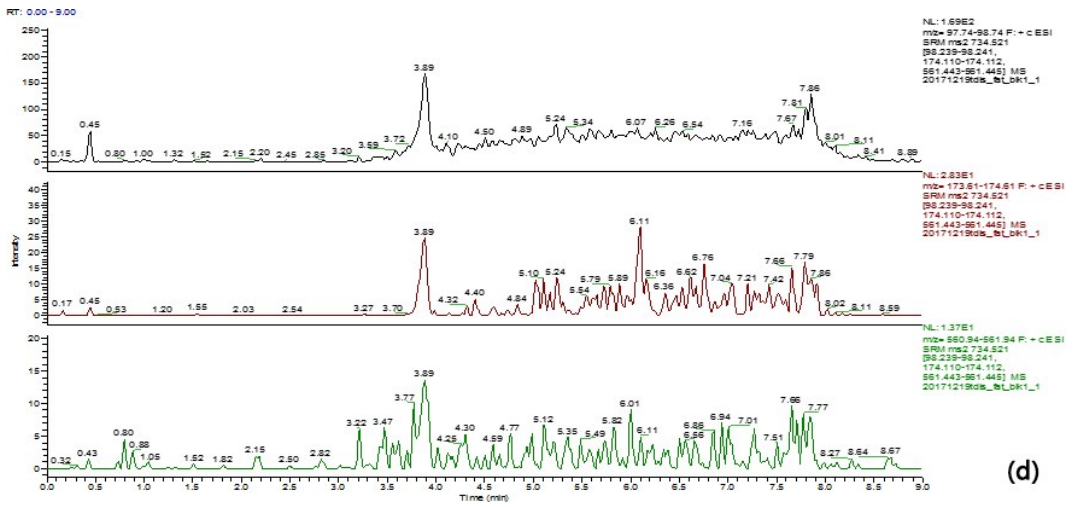
(a)



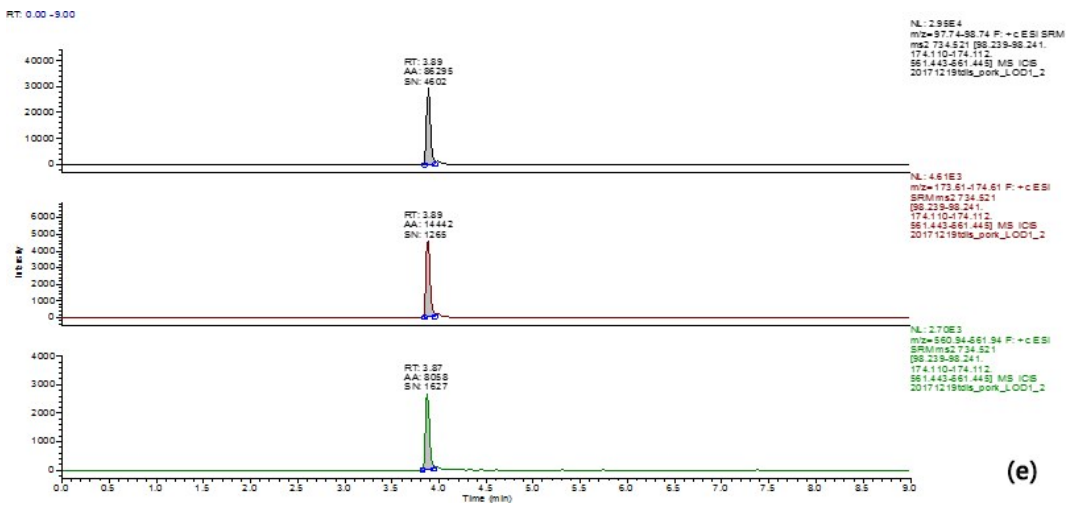
(b)



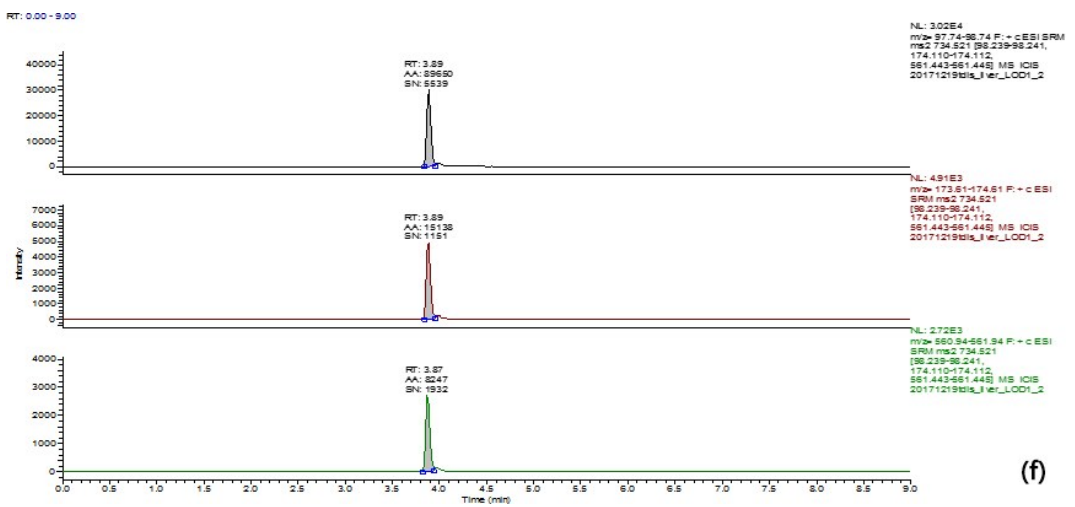
(c)



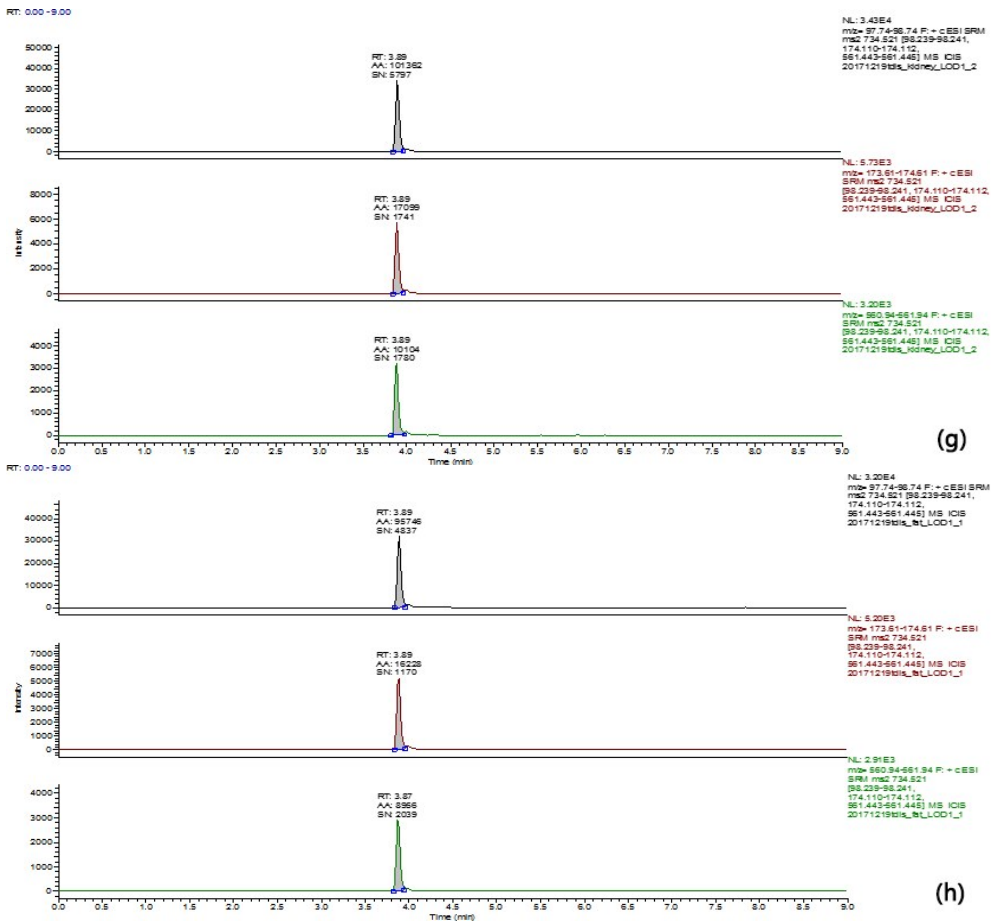
(d)



(e)



(f)



- (a) 牛肉空白样品图; blank bovine muscle;
- (b) 牛脂肪空白样品图; blank bovine fat;
- (c) 牛肝空白样品图; blank bovine liver;
- (d) 牛肾空白样品图; blank bovine kidney;
- (e) 牛肉空白样品添加 10 μg/kg; 10 μg/kg added in blank bovine muscle;
- (f) 牛脂肪空白样品添加 10 μg/kg; 10 μg/kg added in blank bovine fat;
- (g) 牛肝空白样品添加 10 μg/kg; 10 μg/kg added in blank bovine liver;
- (h) 牛肾空白样品添加 10 μg/kg; 10 μg/kg added in blank bovine kidney;

图 2 牛组织中添加泰地罗新实验特征离子质量色谱图

Fig 2 Typical SRM chromatogram of tildipirosin added in bovine tissues

表 3 牛组织中检测泰地罗新的基质效应研究

Tab 3 Study of matrix effect in determination of tildipirosin in bovine tissues

样品 Sample	浓度/(ng · mL ⁻¹) Concentration	面积均值 (n=5) Average area	RSD/%
溶剂标准品	1	121766	1.2
牛肉基质标准品	1	86836	2.1
牛脂肪基质标准品	1	90156	2.5
牛肝基质标准品	1	101362	3.8
牛肾基质标准品	1	95647	2.9

2.3 线性定量范围 将 100 μg/mL 的泰地罗新标准品贮备液用 0.1% 甲酸溶液稀释至 1 μg/mL 的标

准中间溶液,再以各种牛组织按 1.5 项前处理方法处理所得的空白基质溶液稀释标准中间溶液获得

1、2、5、20、50、100 ng/mL 系列基质标准工作曲线溶液,按 1.3 项与 1.4 项仪器条件进样检测。将所得定量通道色谱图积分后面积以 Y 表示,进样浓度以 X 表示,所得回归曲线结果如表 4 所示,其线性相关系数 r 都大于等于 0.995。实验表明,该方法检测泰地罗新在 4 种牛组织基质中 10~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加含量范围内线性良好。

2.4 方法准确度与精密度 分别取 3 批空白牛肉、牛脂肪、牛肝和牛肾中添加定量限(LOQ)、半最大残留限量(1/2MRL)、最大残留限量(MRL)和 2 倍最大残留限量(2MRL)4 个不同含量水平的泰地

罗新药物,进行添加回收率测定实验。其中牛肉添加量分别为 10、200、400、800 $\mu\text{g}/\text{kg}$;牛脂肪添加量分别为 10、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$;牛肝中添加量分别为 10、1000、2000、4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$;牛肾中添加量分别为 10、1500、3000、6000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其中由于牛肝和牛肾中的 MRL 数值较高,所添加的含量超出了方法的线性定量范围,因此,在按 1.5 项前处理方法处理后还需再用 0.1% 甲酸稀释 10 倍进样分析。所得实验结果如表 5 所示,实验结果表明,添加回收率在 60%~110% 范围内, $RSD < 10\%$,表明该方法具有较好的准确度与精密度。

表 4 牛组织中添加泰地罗新的标准曲线

Tab 4 Standard curve of tildipirosin added in bovine tissue

组织 Tissue	线性范围/ $(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ Linearity range	含量范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Concentration range	斜率 A Slope	截距 B Y-Intercept	r
牛肉 Bovine muscle	1~100	10~1000	124005	119534	0.9979
牛脂肪 Bovine fat			91008	622491	0.9952
牛肝 Bovine liver			81006	489230	0.9977
牛肾 Bovine kidney			94453	350382	0.9969

表 5 方法准确度与精密度

Tab 5 Accuracy and precision of the method

组织 Tissue	添加量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Added concentration	批次 Batch	回收率/% Recovery/%				均值/% Average recovery/%	批内 Inter-assay $RSD/\%$	批间 Between-assay $RSD/\%$	
牛肉 Bovine muscle	10	I	73.86	77.49	78.9	79.62	71.76	76.3	4.4	
		II	82.00	78.89	71.7	73.81	78.79	77.0	5.4	5.7
		III	74.60	69.81	84.51	70.62	77.2	75.3	7.9	
	200	I	82.42	81.76	81.72	78.52	80.59	81.0	1.9	
		II	70.18	79.22	70.31	83.14	79.62	76.5	7.7	5.8
		III	83.14	73.46	73.24	81.41	81.17	78.5	6.1	
	400	I	70.21	68.39	70.15	70.58	72.49	70.4	2.1	
		II	71.10	78.98	73.59	77.52	68.42	73.9	5.9	6.8
		III	69.08	80.60	83.71	79.79	72.3	77.1	8.0	
	800	I	69.71	79.45	79.25	77.72	77.27	76.7	5.2	
		II	74.48	68.39	84.53	82.64	80.96	78.2	8.5	6.1
		III	79.99	81.78	72.98	80.21	74.45	77.9	5.0	

续表

组织 Tissue	添加量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Added concentration	批次 Batch	回收率/% Recovery/%					均值/% Average recovery/%	批内 Inter-assay RSD/%	批间 Between-assay RSD/%
牛脂肪 Bovine fat	10	I	84.08	81.75	81.37	76.83	77.16	80.2	3.9	
		II	71.12	84.69	71.93	69.62	85.09	76.5	9.7	6.7
		III	76.58	74.75	75.2	83.31	83.58	78.7	5.6	
	100	I	73.76	78.76	75.08	71.03	76.68	75.1	3.9	
		II	74.53	70.93	68.85	70.85	73.92	71.8	3.3	6.0
		III	72.43	84.48	73.32	83.06	78.99	78.5	7.0	
	200	I	68.59	80.29	69.56	84.80	76.12	75.9	9.1	
		II	77.92	84.18	71.67	71.23	73.14	75.6	7.2	7.4
		III	72.35	82.33	85.11	79.58	80.32	79.9	5.9	
400	I	83.31	77.14	68.69	78.02	74.18	76.3	7.0		
	II	85.18	78.96	79.43	78.37	78.94	80.2	3.5	5.8	
	III	73.24	79.96	84.32	74.96	84.24	79.3	6.5		
牛肝 Bovine liver	10	I	76.59	81.2	81.63	69.52	69.38	75.7	7.9	
		II	70.71	84.63	77.06	70.15	70.94	74.7	8.3	6.4
		III	72.99	78.69	77.76	76.68	74.17	76.1	3.2	
	1000	I	76.21	85.06	73.85	75.05	69.21	75.9	7.6	
		II	74.36	77.77	72.13	78.42	70.27	74.6	4.7	5.9
		III	72.37	75.26	76.33	81.06	68.65	74.7	6.2	
	2000	I	72.75	82.15	81.49	76.97	84.54	79.6	5.9	
		II	80.54	79.13	85.33	85.37	80.92	82.3	3.5	4.6
		III	74.76	76.29	79.99	79.21	81.05	78.3	3.4	
4000	I	76.65	73.82	72.55	77.28	70.54	74.2	3.8		
	II	72.68	69.95	69.15	70.11	80.1	72.4	6.2	6.5	
	III	74.94	74.35	83.27	85.45	75.2	78.6	6.7		
牛肾 Bovine kidney	10	I	82.33	71.24	78.35	72.94	79.75	76.9	6.1	
		II	76.21	74.88	76.34	85.01	76.58	77.8	5.2	5.9
		III	75.08	75.13	70.08	81.04	85.34	77.3	7.7	
	1500	I	74.02	81.61	77.74	84.56	69.82	77.6	7.6	
		II	74.79	84.95	79.66	77.17	84.3	80.2	5.5	6.7
		III	76.77	74.72	84.4	83.59	69.58	77.8	8.0	
	3000	I	75.01	82.88	76.52	74.83	73.89	76.6	4.7	
		II	83.74	82.24	71.11	72.95	72.45	76.5	7.8	6.2
		III	79.98	84.37	70.68	75.7	73.15	76.8	7.1	
6000	I	69.09	75.21	79.68	70.13	83.3	75.5	8.1		
	II	71.43	74.09	77.94	83.15	78.4	77.0	5.8	6.4	
	III	74.96	82.66	78.68	82.38	83.31	80.4	4.4		

2.5 方法选择性的验证 选择空白牛肉、牛脂肪、牛肝和牛肾各 20 个空白样品,按优化条件进行处理后上机测定,未发现有假阳性结果,表明该方法的选择性良好。

3 讨论与结论

3.1 提取液提取效率研究 在 4 种基质中尝试了多种提取液,包括纯乙腈、水、50%乙腈、正己烷、异辛烷提取。2 g 空白试样中加入 1 μg/mL 的标准中间溶液 100 μL,分别加入上述提取液进行振荡提

取,之后采用 1.5 项中前处理条件进行净化,测得结果如表 6 所示。测试结果表明,泰地罗新属于极性较大的化合物(LogP = 4.05),在水和 50%乙腈溶液中的提取效率接近 90%,在纯乙腈溶液中的提取效率接近 70%,而在正己烷或异辛烷这类极性小的溶剂中几乎不溶,因此,选择 50%乙腈进行提取,正己烷可用来进行脱脂而不会造成目标药物过多的损失,而异辛烷由于极性太小虽然不会损失目标物但是除酯效果不如正己烷,因此,最终选择正己烷脱脂。

表 6 牛组织中泰地罗新提取效率研究

Tab 6 Research on extraction rate of tildipirosin added in bovine tissue

Tissue	乙腈 Acetonitrile	水 Water	50%乙腈 50% acetonitrile	正己烷 Hexane	异辛烷 Isooctane
牛肉 Bovine muscle	76.3%	74.2%	89.1%	5.3%	0
牛脂肪 Bovine fat	71.2%	64.3%	80.7%	2.6%	0
牛肝 Bovine liver	75.9%	71.2%	85.6%	4.8%	0
牛肾 Bovine kidney	78.2%	73.8%	83.9%	5.9%	0

3.2 分散相基质的选择 牛组织中的干扰杂质主要以蛋白质和磷脂为主,主要通过无水硫酸镁和氯化钠进行盐析,其对基质中的血细胞之类的生物杂质也有一定的破坏和沉降能力。乙腈在提取的同时也具有破坏蛋白质结构造成沉淀的作用。皮脂和肝脏中不但有蛋白质,还有大量的脂肪会干扰后续的检测,原本尝试使用 C18 粉末吸附,结果发现在吸附脂肪的同时会造成提取效率的大幅下降,推测是 C18 粉对目标化合物也有较强的吸附能力,因为在 3.1 项实验中发现正己烷中泰地罗新溶解性很小,而脂肪在其中的溶解度较高,因此,采用正己烷脱脂。最后,通过高速离心可以将蛋白、磷脂、血细胞等沉降至下层,未溶解的脂肪粒会漂浮在正己烷层的表面,只要吸取中间的乙腈层即可获得富含目标物的提取液。

本研究建立了检测牛肉、牛脂肪、牛肝和牛肾中泰地罗新残留量的液相色谱串联质谱检测方法。

前处理使用分散固相萃取法,液相部分使用反相色谱柱进行分离,三重四级杆质谱进行定性定量分析。实验结果表明,方法的最低检出限为 5 μg/kg,最低定量限为 10 μg/kg,在 10~1000 μg/kg 范围内线性关系良好($r > 0.995$),添加回收率在 60%~110%,RSD < 10%,表明该方法具有较好的灵敏度、准确度与精密度。

参考文献:

[1] 杨 昆,孙志良,隆雪明. 动物专用抗生素泰地罗新[J]. 动物医学进展, 2018, 39(3): 110-114.
 Yang K, Sun Z L, Long X M. Animal-specific Antibiotic Tildipirosin[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2018, 39(3): 110-114.

[2] 张桂君,吴志玲,梁劲康,等. 动物专用大环内酯类新药-泰地罗新[J]. 广东畜牧兽医科技, 2017, 42(2): 22-25.
 Zhang G J, Wu Z L, Liang J K, et al. A New Macrolide Antibiotic Tildipirosin for Animals[J]. Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science, 2017, 42(2): 22-25.

- [3] 罗显阳. 泰地罗新及其在猪呼吸系统疾病中的应用[J]. 养猪, 2015, (3): 114-116.
Luo X Y. Tildipirosin and Its Application in Swine Respiratory Diseases[J]. Swine Production, 2015, (3): 114-116.
- [4] 闫超群, 黎健业, 张申, 等. 泰地罗新注射液在猪体内的药理学及生物利用度研究[J]. 中国农业科学, 2018, 51(19): 3807-3814.
Yan C Q, Li J Y, Zhang S, *et al.* Pharmacokinetics and Bioavailability of Tildipirosin Solution in Pigs[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(19): 3807-3814.
- [5] 王宏磊, 刘义明, 徐飞, 等. 一种新型大环内酯类抗菌剂-泰地罗新[J]. 兽医导刊, 2017, (15): 49-63.
Wang H L, Liu Y M, Xu F, *et al.* A New Type Macrolide Antibacterial Agent-Tildipirosin [J]. Veterinary medicine Tribune, 2017, (15): 49-63.
- [6] Leal C, Codony R, Compañó R, *et al.* Determination of macrolide antibiotics by liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2001, 910(2): 285-290.
- [7] García-mayor M A, Garcinuño R M, Fernández-herando P, *et al.* Liquid chromatography-UV diode-array detection method for multi-residue determination of macrolide antibiotics in sheep's milk[J]. J Chromatogr A, 2006, 1122(1/2): 76-83.
- [8] Horie M, Saito K, Ishii R, *et al.* Simultaneous determination of five macrolide antibiotics in meat by high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 1998, 812(1/2): 295-302.
- [9] 陈红丽, 马军, 张萍, 等. 高效液相色谱法测定泰地罗新的研究[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(6): 86-88.
Chen H L, Ma J, Zhang P, *et al.* Determination of Tildipirosin by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2016, 48(6): 86-88.
- [10] 严凤, 周哲, 黄家莺, 等. 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨液质联用解析泰地罗新注射液中的有关物质[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(1): 73-79.
Yan F, Zhou Z, Huang J Y, *et al.* Analysis of the related substances in tildipirosin for injection by ultra high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(1): 73-79.
- [11] 吴剑平, 周悦榕, 张婧, 等. 超高效液相色谱-静电轨道阱质谱同时筛查定量饲料中的 31 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(11): 1363-1369.
Wu Jian-ping, Zhou Yue rong, Zhang Jing, *et al.* Synchronous Screening and Quantitation of 30 Carbamate Pesticides Residue in Feed by Ultra Performance Liquid Chromatography - Orbitrap Mass Spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(11): 1363-1369.
- [12] 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 种喹啉类药物残留量[J]. 分析测试学报, 2015, (5): 610-615.
Wu J P, Zhang X, Li D N, *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, (5): 610-615.
- [13] 王文湘, 闫超群, 华成云, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪组织中泰地罗新残留[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(6): 32-38.
Wang W X, Yan C Q, Hua C Y, *et al.* Determination of tildipirosin residues in swine tissues by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of South China Agricultural University, 2018, 39(6): 32-38.
- [14] 吴剑平, 张鑫, 李丹妮, 等. 分散固相萃取结合亲水作用色谱-串联质谱法检测预混合饲料中 7 种抗病毒药物含量[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(3): 49-55.
Wu J P, Zhang X, Li D N, *et al.* Determination of 7 Antivirus in Premixed Feed by QuCHERS Combined with Hydrophilic Interaction Chromatography - Tandem Mass Spectrometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2016, 50(3): 49-55.
- [15] (EU) No 201/2014. Amending the Annex to Regulation (EU) No 37/2010 on Pharmacologically Active Substances and Their Classification Regarding Maximum Residue Limits in Foodstuffs of Animal Origin, as regards the Substance Tildipirosin.

(编辑:侯向辉)