

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.01.09

牛奶中氟喹诺酮类药物残留同步快速检测的酶联免疫吸附法研究

李燕君¹, 谭梅¹, 岳秀英², 陆强², 吴晓岚², 吕晓华^{1*}

(1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院, 四川 成都 610041; 2. 四川省兽药监察所, 四川 成都 610041)

[收稿日期] 2019-09-03 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 01-0046-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立同时快速检测牛奶中环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星六种氟喹诺酮类药物残留的酶联免疫吸附法。ELISA 法的操作在 20℃ ~ 25℃ 下进行, 以 50% 抑制浓度、最低检测限反映方法的灵敏度, 同时进行加标回收试验。结果表明, 本文所建立的 ELISA 法的最低检测限为 1.48 μg/L, 50% 抑制浓度的范围在 0.254 ~ 0.361 μg/L; 在环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物添加浓度为 5、25、50 μg/L 时的回收率为 84.58% ~ 115.92%, 批内变异系数均小于 15.0%, 批间变异系数均小于 16.0%。本方法简便快捷, 灵敏度、准确度和精密度高, 适用于牛奶中 FQs 残留的同时快速检测。

[关键词] 酶联免疫吸附法; 牛奶; 氟喹诺酮类药物; 残留

Determination of Fluoroquinolones Residues in Milk by Enzyme-linked Immunosorbent Assay

LI Yan-jun¹, TAN Mei¹, YUE Xiu-ying², LU Qiang², WU Xiao-lan², LV Xiao-hua^{1*}

(1. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;

2. Veterinary Drug Supervision of Sichuan Province, Chengdu 610041, China)

Corresponding author: LV Xiao-hua, E-mail: luxiaohua@scu.edu.cn

Abstract: An enzyme-linked immunosorbent assay was established for the simultaneous determination of six fluoroquinolone residues in milk, includes ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and lomefloxacin. ELISA was performed at 20℃ ~ 25℃, the sensitivity of the method was reflected by 50% inhibition concentration and minimum detection limit, the recovery test was carried out at the same time. The results showed that the minimum detection limit of this method was 1.48 μg/L, the range of 50% inhibitory concentration was

基金项目: 四川省科技计划(2019YFS00620); 四川大学高校基本科研业务费研究专项项目(skqy201234)

作者简介: 李燕君, 硕士研究生, 从事食品安全方向研究。

通讯作者: 吕晓华。E-mail: luxiaohua@scu.edu.cn

0.254 ~ 0.361 $\mu\text{g/L}$; The recovery rate of ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and lomefloxacin at 5, 25 and 50 $\mu\text{g/L}$ was 84.58% ~ 115.92%, the intra-batch variation coefficient was less than 15.0%, and the inter-batch variation coefficient was less than 16.0%. This method is simple and rapid, with high sensitivity, accuracy and precision. It is suitable for the rapid screening and detection of the residues of fluoroquinolones in milk.

Key words: ELISA; milk; fluoroquinolones; residues

氟喹诺酮类药物 (fluoroquinolones, FQs) 是目前广泛应用于畜牧业的第三代喹诺酮类药物, 由于耐药性致病菌的产生、继发的不良反应及潜在致癌作用, FQs 残留问题受到各国的高度关注^[1-3]。本文探索一种快速同步检测牛奶中多种 FQs 残留的酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 为基层现场监测牛奶中 FQs 残留提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品 牛奶样品, 购于超市。

1.2 主要仪器 Thermo Multiskan Go 酶标仪 (配备 450 nm 滤光片) (Thermo), CPA225D 电子天平 (赛多利斯), X-200 漩涡混合仪 (Labnet), Eppendorf 5810R 冷冻离心机 (Eppendorf), 单道和多道微量移液器 (Eppendorf)。

1.3 标准品和主要试剂 氟喹诺酮类药物残留酶联免疫检测试剂盒 (北京勤邦生物技术有限公司), 试剂盒中提供 0、0.1、0.3、0.9、2.7、8.1 $\mu\text{g/L}$ 环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物系列标准溶液, 试验用水符合 GB/T 6682-2008 规定。

1.4 方法

1.4.1 样品前处理 准确量取 25 μL 牛奶于 2 mL 离心管中, 加入稀释后复溶工作液 475 μL , 混合, 用涡旋仪涡动 1 min, 取 50 μL 用于分析。

1.4.2 检测方法 所有操作均在 20 $^{\circ}\text{C}$ ~ 25 $^{\circ}\text{C}$ 下进行。

使用前将试剂盒置于室温 (20 $^{\circ}\text{C}$ ~ 25 $^{\circ}\text{C}$) 平衡 30 min 以上, 注意每种液体试剂使用前摇匀, 取出

需要数量的酶标板微孔条插入框架中, 将不用的微孔条放入自封袋, 保存于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$, 将样品和标准品对应微孔按序编号, 每个样品和标准品做两个平行实验; 加入 50 μL 标准溶液或试样溶液到微孔底部, 每孔再加入 50 μL 抗体工作液和酶标二抗浓缩液的混合液, 轻轻振荡混匀, 用盖板膜封板, 25 $^{\circ}\text{C}$ 避光环境中反应 30 min; 倒出孔中液体, 将酶标板倒置在吸水纸上拍打, 去除孔中液体, 每孔加 250 μL 洗涤液, 10 s 后倒出孔中液体, 用吸水纸拍干, 如此重复操作共洗板 5 次; 加入 50 μL 底物溶液 A 和 50 μL 底物溶液 B 到微孔中, 轻轻振荡混匀 25 $^{\circ}\text{C}$ 环境避光显色 15 min; 加入 50 μL 终止液到微孔中, 轻轻振荡混匀, 设定酶标仪于 450 nm 处, 测定每孔吸光度值 (OD 值)。

1.4.3 50% 抑制浓度 50% 抑制浓度可评价检测方法的灵敏度^[4]。分别测定 10 次标准曲线的 50% 抑制浓度。标准曲线中 10 次 0 浓度的标准液 50% 抑制处所对应的药物浓度值, 即为 50% 抑制浓度。

1.4.4 最低检测限 最低检测限也是检测方法灵敏度的评价指标^[4]。检测 10 个牛奶样品, 求出相应浓度的平均值 (\bar{X}), 再加上 3 倍标准差 (3SD), 其光密度值 ($\bar{X} - 3\text{SD}$) 在曲线上对应的浓度值, 即为最低检测限。

1.4.5 加标回收试验 在牛奶样品加入 FQs 系列标准溶液, 分别配制 5.0、25.0 和 50.0 $\mu\text{g/L}$ 三个添加浓度, ELISA 法测定样品中 FQs 含量。每批 (日内) 每一浓度重复测定 5 次, 共做 3 个批次 (日间)。

计算各质量浓度的批内和批间变异系数(CV)。

2 结果与分析

2.1 ELISA 法的 50% 抑制浓度和最低检测限

表 1 所示, ELISA 法的 50% 抑制浓度的范围在 0.254 ~ 0.361 $\mu\text{g/L}$ 。ELISA 法的最低检测限为 1.48 $\mu\text{g/L}$ 。

表 1 ELISA 法的 50% 抑制浓度

Tab 1 50% Inhibitory Concentration of ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
50% 抑制浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.299	0.332	0.350	0.309	0.315	0.326	0.296	0.361	0.286	0.254

2.2 ELISA 法的加标回收率 如表 2 所示,在牛奶中添加 5 $\mu\text{g/L}$ 环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物时,回收率为 87.20% ~ 115.92%; 添加 25 $\mu\text{g/L}$ 环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物时,回收率为 84.58% ~ 112.91%; 添加 50 $\mu\text{g/L}$ 环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙

星和洛美沙星药物时,回收率为 87.10% ~ 113.28%。

2.3 ELISA 法的加标试验的批内和批间变异系数

如表 2 所示,在环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物添加浓度为 5、25、50 $\mu\text{g/L}$ 时,批内变异系数均小于 15.0%,批间变异系数均小于 16.0%。

表 2 ELISA 法的加标回收试验结果

Tab 2 The Test Results of Recovery Experiment by ELISA

添加浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	药物	实测浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)					回收率/%	批内变异 系数 CV%	批间变异 系数 CV%
5	环丙沙星	4.98	5.47	5.20	5.23	5.67	106.20	5.01	4.34
		5.21	5.74	5.34	5.67	5.21	109.08	4.32	
		5.28	4.97	5.34	5.46	5.53	106.32	4.08	
	恩诺沙星	5.30	5.23	5.12	4.78	4.84	101.08	4.61	5.17
		5.45	5.64	5.23	5.12	5.19	106.52	4.03	
		5.47	5.76	5.34	5.56	5.12	109.00	4.40	
	诺氟沙星	5.20	5.67	5.34	5.42	5.19	113.28	3.66	4.23
		5.79	5.34	5.02	5.46	5.58	108.76	5.27	
		5.23	5.68	5.71	5.53	5.23	109.52	4.29	
	培氟沙星	5.19	5.78	5.21	5.90	4.89	107.88	7.94	6.48
		5.12	5.89	5.13	5.67	5.28	108.36	6.37	
		5.59	5.98	5.78	5.76	5.87	115.92	2.49	
	氧氟沙星	5.77	5.34	4.78	5.37	5.64	107.60	7.09	6.19
		5.67	5.91	5.82	5.34	5.74	113.92	3.83	
		5.23	6.21	5.79	5.63	5.33	112.76	6.94	
	洛美沙星	4.12	4.23	4.41	4.31	4.73	87.20	5.33	14.23
		4.27	4.39	5.46	4.36	4.22	90.80	11.43	
			5.17	6.21	5.79	5.63	5.33	112.52	7.24

								续表	
添加浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	药物	实测浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)					回收率/%	批内变异 系数 CV%	批间变异 系数 CV%
25	环丙沙星	25.73	25.69	22.39	26.08	24.54	99.54	6.07	
		27.78	28.65	26.97	27.56	27.41	110.70	2.24	5.79
		26.36	25.95	26.12	26.76	24.91	104.08	2.66	
	恩诺沙星	23.43	24.12	22.65	23.67	21.89	92.61	3.82	
		26.56	27.67	29.34	25.12	27.43	108.90	5.69	8.88
		27.43	25.12	26.34	28.10	23.23	104.18	7.44	
	诺氟沙星	26.48	29.12	25.13	25.72	25.29	105.39	6.21	
		26.23	29.43	27.12	25.90	28.12	109.44	5.27	5.88
		25.86	28.93	27.91	29.10	29.34	112.91	5.07	
	培氟沙星	29.43	23.45	26.18	28.75	28.12	108.74	8.88	
		29.12	28.34	23.10	26.39	22.15	103.28	12.01	8.37
		26.13	27.45	28.13	27.12	26.98	108.65	2.68	
	氧氟沙星	28.12	27.22	27.63	28.45	25.12	109.23	4.80	
		26.42	28.63	29.23	24.10	30.12	110.80	8.78	8.97
		23.22	31.01	29.45	28.31	23.18	108.14	13.42	
	洛美沙星	21.13	22.70	21.34	20.34	20.22	84.58	4.71	
		27.12	25.34	26.16	28.45	29.41	109.18	6.06	15.49
		24.46	31.29	28.46	32.15	23.41	111.82	14.07	
50	环丙沙星	42.98	43.17	41.58	49.87	48.41	90.40	8.15	
		42.98	45.26	42.67	48.12	43.56	89.00	5.09	5.96
		43.75	42.89	48.56	44.12	42.76	88.83	5.37	
	恩诺沙星	43.45	44.21	48.65	46.92	51.56	93.92	7.05	
		56.98	54.23	56.21	58.45	57.33	113.28	2.77	9.27
		51.23	57.11	54.23	52.34	56.23	108.46	4.60	
	诺氟沙星	52.13	51.20	50.79	51.17	53.86	103.66	2.39	
		57.23	53.21	57.89	56.45	55.21	112.00	3.30	4.65
		53.21	52.89	51.20	51.87	57.31	106.59	4.47	
	培氟沙星	54.23	55.98	52.13	55.46	51.98	107.91	3.43	
		45.68	47.90	46.12	50.12	44.29	93.64	4.81	8.25
		55.13	56.12	57.34	55.97	52.19	110.70	3.50	
	氧氟沙星	48.12	48.56	47.54	46.89	48.12	95.69	1.35	
		52.23	57.13	54.16	51.34	59.25	109.64	6.06	7.39
		51.21	53.45	52.09	54.15	57.33	107.29	4.39	
	洛美沙星	44.12	43.56	42.57	41.26	46.23	87.10	4.25	
		49.32	48.91	45.65	42.47	44.59	92.38	6.30	8.97
		53.21	55.18	49.32	52.17	48.56	103.38	5.31	

3 讨论与结论

FQs 是一类重要的兽用抗菌药,对金黄色葡萄

球菌等多种细菌有很强的抗菌活性,常被用作治疗奶牛乳房炎等疾病^[4]。研究表明,FQs 残留可通过

食物链进入人体,对人体多系统造成损伤,并导致耐药性致病菌的产生^[5]。FQs 在禽畜体内具有良好的药代动力学特征,可穿过血乳屏障进入乳腺,在泌乳动物乳汁中呈聚集现象^[6]。我国农业部虽已规定了牛/羊奶中恩诺沙星的最大残留限量(Maximum residue limits, MRLs)为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,达氟沙星的 MRLs 为 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7],但由于奶牛泌乳期超量、盲目或不按休药期规定等滥用 FQs,牛奶中 FQs 残留超标问题依旧严重。在基层工作中,经常面临现场对大量样品的检测,因此,探索 FQs 多残留的快速检测方法十分必要。

目前国内外常用的兽药残留检测技术有确证法和筛检法^[8]。确证法主要包括高效液相色谱法和高效液相色谱-质谱联用法等,因其检测结果稳定、准确度高、重现性好,广泛应用于动物性食品的兽药残留分析中^[9-13]。但确证法仪器昂贵,前处理复杂、检测时间长、操作繁琐,使得其无法满足大样本量的快速检测。筛选法中胶体金试纸条快速检测法虽检测时间短,但由于检测限高、灵敏度差、假阳(阴)性率偏高,难以保证结果的准确可靠性^[13];而 ELISA 法灵敏度高、特异性强、分析成本低、操作简便快捷,试剂盒检测时间仅约 1.5 h,且样本仪器化程度低、前处理简单,尤其适合于现场大批量样品的快速检测,极易在基层推广^[14]。目前已有用于猪肉、牛肉、鸡蛋、牛奶等中 FQs 残留检测的报道^[15-18],然而已有的 ELISA 法仅对某一种或一类 FQs 药物进行残留检测,且灵敏度、准确度有待提高,因此有必要进一步探索大批量快速检测牛奶中多种 FQs 残留的 ELISA 法。

本文建立了一种同时测定牛奶中环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星等六种 FQs 残留的 ELISA 法,试验结果表明,本文所建立的 ELISA 法的最低检测限为 1.48 $\mu\text{g}/\text{L}$,50%抑制浓度的范围在 0.254 ~ 0.361 $\mu\text{g}/\text{L}$,在环丙沙星、恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、氧氟沙星和洛美沙星药物添加浓度为 5、25、50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时的回

收率为 84.58% ~ 115.92%,批内变异系数均小于 15.0%,批间变异系数均小于 16.0%,该方法的精密度(变异系数)、回收率和最低检测限等均符合兽药残留试验技术规范的要求^[19],且回收率和最低检测限与高效液相色谱法^[20]、高效液相色谱-串联质谱法^[21]接近,优于现常用的高效液相色谱荧光检测法^[22-23],具有较高的灵敏度、准确度,极易在基层工作中推广普及,适合大批量样品的快速检测。

综上,氟喹诺酮类药物残留同步快速检测的酶联免疫吸附法符合兽药残留试验技术规范的要求,简便快捷,灵敏度、准确度和精密度高,适用于牛奶中 FQs 残留的快速检测。

参考文献:

- [1] 王勇,龚勇,卢明华. 氟喹诺酮类药物残留检测方法的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(8): 2509-2516.
Wang Y, Gong Y, Lu M H. Research Progress on Detection Methods of Fluoroquinolones Residues [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2017, 44(8): 2509-2516.
- [2] Mei M, Huang X J. Determination of fluoroguinolones in environmental water and milk samples treated with stir cake sorptive extraction based on a boronrich monolith[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(10): 1908-1918.
- [3] Wang H W, Liu Y Q, Wei S L, et al. Selective extraction and determination of fluoroquinolones in bovine milk samples with montmorillonite magnetic molecularly imprinted polymers and capillary electrophoresis[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(2): 589-598.
- [4] 郑淑容. 牛奶中抗生素残留的危害及对策[J]. 中国奶牛, 2010(3): 48-50.
Zheng S R. Harm and Countermeasure of Antibiotic Residue in Milk[J]. China Dairy Cattle, 2010(3): 48-50.
- [5] 张冬冬,苏超,洪伟,等. 动物源食品中氟喹诺酮类兽药残留检测的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2016, 22(13): 38-41.
Zhang D D, Su C, Hong W, et al. Research Progress on Detection of Fluoroquinolones Residues in Edible Animal Products[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2016, 22(13): 38-41.

- [6] 高玉龙, 包红梅, 孙延鸣, 等. 新型抗菌药物防治奶牛乳房炎的研究进展[J]. 中国奶牛, 2000(3): 37-39.
Gao Y L, Bao H M, Sun Y M, *et al.* The Research Progress of New Antibacterial Drugs for Prevention and Treatment of Bovine Mastitis[J]. China Dairy Cattle, 2000(3): 37-39.
- [7] 中华人民共和国农业部和中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 动物性食品中兽药最大残留限量(报批稿). 农业部办公厅关于征求动物性食品中兽药最大残留限量标准意见的函. 2017[Z].
The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China and National health and family planning commission, PRC. National Food Safety Standard: Maximum Residue Limit of Veterinary Drugs in Animal Derived Food (approval draft). Letter of the General Office of the Ministry of Agriculture on soliciting opinions on the standards for maximum residue limits of veterinary drugs in derived animal food. 2017[Z].
- [8] 黄雪英, 沈丹. 兽药残留检测技术应用现状及发展方向[J]. 中国兽药杂志, 2014, 48(7): 66-69.
Huang X Y, Shen D. The Application Status and Progress in Detection of Veterinary Drug Residues[J]. 2014, Chinese Journal of Veterinary Drug, 48(7): 66-69.
- [9] 李新朋, 江金庆, 钱爱东, 等. 动物性食品中氟喹诺酮类药物多残留检测研究进展[J]. 动物医学进展, 2013, 34(9): 99-103.
Li X M, Jiang J Q, Qian A D, *et al.* Progress on Multi-residue Detection for Fluoroquinolones in Animal Food[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2013, 34(9): 99-103.
- [10] 杨勇, 罗奕, 苏菊, 等. 高效液相色谱荧光检测器测定氟喹诺酮类药物残留方法的建立[J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(2): 176-181.
Yang Y, Luo Y, Su J, *et al.* A Method for Determination of Fluoroquinolone Residues by HPLC with Fluorescence Detector[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18(2): 176-181.
- [11] Xia Q, Yang J, Wei X, *et al.* Development of precolumn derivatization procedure prior to ultrasound-assisted cloud point extraction for sensitive determination of fluoroguinolones in eggs by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(5): 1130-1138.
- [12] 杨朝琳, 黄方取, 洪华嫦, 等. 液相色谱-质谱联用法检测鸡蛋中 8 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2016, 39(1): 53-59.
Yang C L, Huang F Q, Hong H E, *et al.* An improved method for determination of eight fluoroquinolones antibiotics in eggs by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Zhejiang Normal University (Natural Sciences), 2016, 39(1): 53-59.
- [13] Kantiani L, Farre M, Barcelo D. Rapid residue analysis of fluoroquinolones in raw bovine milk by online solid phase extraction followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(50): 9019-9027.
- [14] 徐伟, 程凤科, 孟银, 等. 酶联免疫吸附法在兽药残留检测中的应用[J]. 中国家禽, 2013, 35(12): 49-52.
Xu W, Cheng F K, Meng Y, *et al.* Application of Enzyme-linked Immunosorbent Method in Veterinary Drug Residue Detection[J]. China Poultry, 2013, 35(12): 49-52.
- [15] 李建鲲, 俞承山, 刘冬梅, 等. 酶联免疫法测定肌肉中氟喹诺酮类药物效果探讨[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3263-3266.
Li J K, Yu C S, Liu D M, *et al.* Discussion on the effect of determination of fluoroquinolones in muscle by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(13): 3263-3266.
- [16] 李建鲲, 徐泽权, 刘晓蓉, 等. 酶联免疫吸附法测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物效果探讨[J]. 新疆畜牧业, 2018, 33(6): 22-24.
Li J K, Xu Z Q, Liu X R, *et al.* Study on the Determination of Fluoroquinolones in Eggs by Elisa[J]. Xinjiang Xumuye, 2018, 33(6): 22-24.
- [17] 刘秀丽. 三种检测牛奶中氟喹诺酮类药物残留方法的比较研究[D]. 内蒙古: 内蒙古农业大学, 2009: 1-61.
Liu X L. Comparative Study On Three Detection Methods of FQs Residues in Milk[D]. Inner Mongolia: Inner Mongolia agricultural university, 2009: 1-61.
- [18] 董李学, 段晓然. 唐山地区淡水鱼中氟喹诺酮类药物残留检测技术分析[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2018, 34(4): 63-64.
Dong L X, Duan X R. Analysis of Residue Detection of Fluoroquinolones in Freshwater Fish in Tangshan Area[J]. Zhongguo Xumu Shouyi Wenzhai(Shouyi), 2018, 34(4): 63-64.
- [19] 中华人民共和国农业部. 关于发布《兽药残留试验技术规范(试行)》的通知[EB/OL]. (2003-01-22)[2019-05-15]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_1535497.htm

The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China.

Notice on the issuance of technical specifications for veterinary drug residue test (trial) [EB/OL]. (2003-01-22) [2019-05-15]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_1535497.htm

- [20] 董志远, 赵晓凤, 宫秀杰, 等. 牛奶中氟喹诺酮类药物残留量检测方法研究 [J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(10): 14-16.

Dong Z Y, Zhao X F, Gong X J, *et al.* Study on Detection Method of Fluroquinolones Residues in Milk [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2008, 42(10): 14-16.

- [21] 孙雷, 朱馨乐, 张骊, 等. 牛奶中七种氟喹诺酮类药物残留检测高效液相色谱-串联质谱法研究 [J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(11): 16-19.

Sun L, Zhu X L, Zhang L, *et al.* Determination of Fluoroquinolones Residue in Milk by HPLC-MS/MS [J]. Chinese Journal

of Veterinary Drug, 2008, 42(11): 16-19.

- [22] 廖洁丹, 李智利, 张济培, 等. 高效液相色谱荧光检测法测定牛奶中 4 种氟喹诺酮类药物残留 [J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(3): 104-111.

Liao J D, Li Z L, Zhang J P, *et al.* Determination of four Fluoroquinolones Residues in Milk by High Performance Liquid Chromatography with fluorescence detector [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2018, 54(3): 104-111.

- [23] 任杨. 高效液相色谱-荧光检测法测定牛奶中 4 种氟喹诺酮类药物残留 [J]. 饲料与畜牧, 2017(20): 25-27.

Ren Y. Determination of four Fluoroquinolones Residues in Milk by High Performance Liquid Chromatography with fluorescence detector [J]. Feed and Husbandry, 2017(20): 25-27.

(编辑:陈希)