

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.11.04

高效液相色谱法测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量前处理方法的优化

陈 蔷¹, 达列亚·阿合买提², 张崇威¹, 司慧民¹, 张 磊¹, 宋志超^{1*}

(1. 河南省兽药饲料监察所, 郑州 450008; 2. 新疆兽药饲料监察所, 乌鲁木齐 830063)

[收稿日期] 2021-03-01 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 11-0022-07 [中图分类号] S859.83

[摘要] 建立了鸡蛋中环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星和沙拉沙星 4 种氟喹诺酮类药物残留测定的超高效液相色谱方法。样品经磷酸盐缓冲液提取后, 用正己烷脱脂, C₁₈ 固相萃取柱净化, 反相高效液相色谱分离, 荧光检测器测定。本方法的检测限为环丙沙星、恩诺沙星和沙拉沙星 5 μg/kg, 达氟沙星 1 μg/kg。环丙沙星、恩诺沙星和沙拉沙星在 2~200 ng/mL、达氟沙星在 0.4~40 ng/mL 范围内呈线性相关, 相关系数 r 大于 0.9999。在空白鸡蛋中添加环丙沙星、恩诺沙星和沙拉沙星 5~50 μg/kg、达氟沙星 1~10 μg/kg, 4 种氟喹诺酮类药物的平均回收率为 82.2%~101.3%, 批内变异系数 0.8%~5.9% 之间 ($n=6$), 批间变异系数在 1.0%~6.6% 之间 ($n=4$)。结果表明, 该法灵敏、准确、特异性强, 适用于鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的测定。

[关键词] 鸡蛋; 氟喹诺酮类药物; 残留; 高效液相色谱

Optimization of the Pretreatment Method for the Determination of Fluoroquinolones Residues in Eggs by High Performance Liquid Chromatography

CHEN Qiang¹, DA Lie-ya · Ahemaiti², ZHANG Chong-wei¹, SI Hui-min¹, ZHANG Lei¹, SONG Zhi-chao^{1*}

(1. Henan Institute of Veterinary Drug and Feed Control, Zhengzhou 450008, China;

2. The Institute of Veterinary Drugs and Feed Control in Xinjiang, Urumqi 830063, China)

Corresponding author: SONG Zhi-chao, E-mail: SZC96@163.com

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography method for testing ciprofloxacin, danofloxacin, enrofloxacin and sarafloxacin residues in eggs was established. After the sample was extracted with phosphate buffer, it was degreased with n-hexane, and purified with C₁₈ solid phase extraction column, separated by reversed-phase HPLC, and measured by fluorescence detector. The detection limit of this method is 5 μg/kg for ciprofloxacin, enrofloxacin and sarafloxacin, and 1 μg/kg for danofloxacin. Ciprofloxacin, enrofloxacin and

作者简介: 陈 蔷, 硕士, 从事兽药残留研究。

通讯作者: 宋志超, E-mail: SZC96@163.com

sarafloxacin were linearly correlated in the range of 2 ~ 200 ng/mL, and danofloxacin were linearly correlated in the range of 0.4 ~ 40 ng/mL, the correlation coefficient r was greater than 0.9999. Adding 5 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of ciprofloxacin, enrofloxacin and sarafloxacin, 1 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of danofloxacin to blank eggs sample, the average recovery rate of the four fluoroquinolones is 82.2% ~ 101.3%, the intra-assay coefficient of variation is between 0.8% and 5.9% ($n=6$), and the inter-assay coefficient of variation is between 1.0% and 6.6% ($n=4$). The results indicated that the method is sensitive, accurate and specific, and is suitable for the testing of fluoroquinolones residues in eggs.

Key words: eggs; fluoroquinolones; residues; high performance liquid chromatography

氟喹诺酮类药物 (Fluoroquinolones) 是一类人工合成的广谱杀菌性抗菌药物,因其具有广谱、高效、低毒以及与其它抗菌药物无交叉耐药性等特点,已广泛应用于兽医临床。但人们若长期使用含较低浓度氟喹诺酮类药物的动物食品后,易诱导耐药性的产生^[1-2]。目前,鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的检测方法有液质联用法^[3-5]、液相色谱法^[6-8]、酶联免疫法^[9]等,其中一些是现行的检测标准^[5-7]。在日常检测中,采用国内农业部 781 号公告-6-2006 和 NY 5039-2005 的方法对鸡蛋中 4 种氟喹诺酮类药物检测时发现回收率较低且平行性较差。本实验结合几种常见的氟喹诺酮类药物检测标准,优化了样品提取净化条件,建立了鸡蛋中环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星和沙拉沙星 4 种氟喹诺酮类药物多残留的液相色谱-荧光检测器分析方法。本方法检测结果灵敏度高、准确度高,适用鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的分析检测。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料 高效液相色谱仪 Waters2695 (配荧光检测器 2475),美国 Waters 公司;分析天平 (感量 0.00001 g),METTLE TOLEDO XP205;天平 (感量 0.01 g),ALC-1100;涡旋混合器,IKA MS2;振荡器,江苏金坛市正基仪器有限公司 HZ-82;离心机, Sigma 公司 3-30 K;C18 固相萃取柱,美国 Agilent 公司,规格 100 mg,3 mL。

1.2 试剂 乙腈、甲醇均为色谱纯;氢氧化钠、磷酸、三乙胺、磷酸二氢钾、正己烷为分析纯;实验用水为高纯水;盐酸环丙沙星、甲磺酸达氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星对照品(中国兽医药品监察所,纯度

$\geq 99\%$)。

1.3 试剂的配制 5.0 mol/L 氢氧化钠溶液,取氢氧化钠 20 g 或饱和溶液 28 mL,加水稀释至 100 mL;0.03 mol/L 氢氧化钠溶液,取 5.0 mol/L 氢氧化钠溶液 0.6 mL,加水稀释至 100 mL;磷酸盐缓冲液,取磷酸二氢钾 6.8 g,加水使溶解并稀释至 500 mL ($\text{pH} \approx 4.4$),用 5.0 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0;0.05 mol/L 磷酸/三乙胺溶液,取 85% 磷酸 3.4 mL,用水稀释至 1000 mL ($\text{pH} \approx 1.7$),用三乙胺调节 pH 值至 2.4)。

1.4 试验方法

1.4.1 色谱条件 色谱柱: XBridgeTM C₁₈ (5 μm , 4.6 \times 150 mm);柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;流动相: 0.05 mol/L 磷酸溶液/三乙胺-乙腈 (87 + 13);流速: 1.0 mL/min;进样量: 20 μL ;检测波长: 激发波长 280 nm;发射波长 450 nm。

1.4.2 标准曲线绘制 分别称取 4 种氟喹诺酮类药物对照品,用 0.03 mol/L 氢氧化钠溶液配制浓度分别为 1 mg/mL (环丙沙星、恩诺沙星、沙拉沙星) 和 0.2 mg/mL (达氟沙星) 的标准储备液;用流动相稀释成浓度分别为 2、5、10、20、50、100、200 ng/mL (环丙沙星、恩诺沙星、沙拉沙星) 和 0.4、1、2、4、10、40 ng/mL (达氟沙星) 的系列标准工作液。

1.4.3 样品前处理 鸡蛋去壳,混合均匀。-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下贮存备用。称取新鲜或解冻的试料 2 ± 0.02 g 置 50 mL 离心管中,加入磷酸盐缓冲液 10 mL,涡旋混合,中速振荡 10 min,10000 r/min 离心 10 min,转移上清液于 25 mL 容量瓶中。用磷酸盐缓冲液 10 mL 重复提取一次。合并两次上清液,

定容,混匀,转移到 50 mL 离心管中。加入正己烷 10 mL,涡旋混合,中速振荡 5 min。10000 r/min 离心 10 min,吸取下层清液备用。C₁₈ 固相萃取柱依次用甲醇 2 mL,磷酸盐缓冲液 2 mL 预洗。取上述备用液 10.0 mL 以 1 mL/min 的速度过柱。用水 2 mL 洗柱,挤干。用洗脱液 2.0 mL 以 1 mL/min 的速度将样品洗脱入 10 mL 离心管中,挤干,涡旋混合,过 0.22 μm 微孔滤膜,供高效液相色谱-荧光检测器测定。

1.4.4 样品回收率与精密度 取空白样品,分别添加 5、10、20、50 μg/kg(环丙沙星、恩诺沙星、沙拉沙星)和 1、2、4、10 μg/kg(达氟沙星)4 个浓度,按 1.4.3 项进行测定。每个浓度分别测定 6 次,连续测定 4 d,计算回收率及批内批间相对标准偏差。

1.4.5 检测限 取 20 个空白样品进行适当浓度的添加,按上述步骤操作,测得噪音信号的平均值,按信噪比 ≥ 3 为检测限。

2 结果与分析

2.1 色谱分离与测定 图 1 为混合标准溶液色谱图,4 种氟喹诺酮类药物的保留时间依次为环丙沙星 5.5 min、达氟沙星 6.6 min、恩诺沙星 7.7 min、沙拉沙星 12.1 min。图 2、图 3 分别为鸡蛋空白样品、空白添加样品的色谱图。

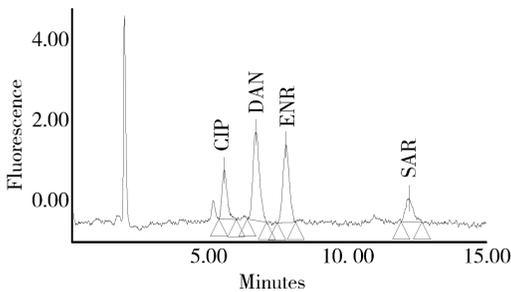


图 1 2 ng/mL 标准溶液中氟喹诺酮类药物色谱图

Fig 1 Chromatogram of standard solution of fluoroquinolones

2.2 标准曲线 在选定的色谱条件下,配制系列标准工作液(1.4.3 项)进行色谱分析,4 种氟喹诺酮类药物的回归方程及相关系数见表 1,标准曲线见图 4。

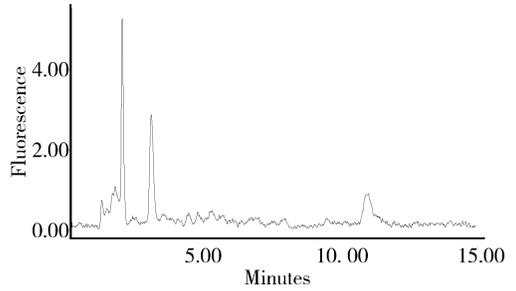


图 2 空白鸡蛋中氟喹诺酮类药物色谱图

Fig 2 Chromatogram of fluoroquinolones in blank egg

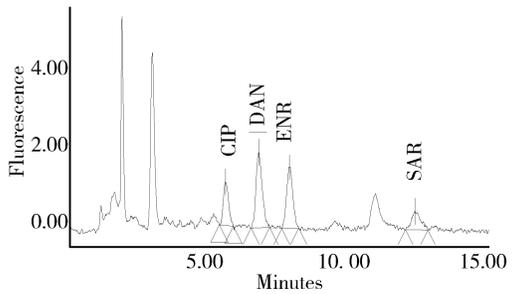


图 3 5 μg/kg 空白鸡蛋添加试样中氟喹诺酮类药物色谱图

Fig 3 Chromatogram of fluoroquinolones with 5 μg/kg added to blank egg

表 1 4 种氟喹诺酮类药物测定的工作曲线

Tab 1 Standard curves of 4 fluoroquinolones

化合物 Compound	回归方程 Curve	相关系数 Correlation
环丙沙星 Ciprofloxacin	$Y = 8598X - 3207$	0.99999
达氟沙星 Dafloxacin	$Y = 91579X - 3569$	0.99999
恩诺沙星 Enrofloxacin	$Y = 16268X - 2799$	0.99997
沙拉沙星 Sarafloxacin	$Y = 6663X - 7616$	0.99998

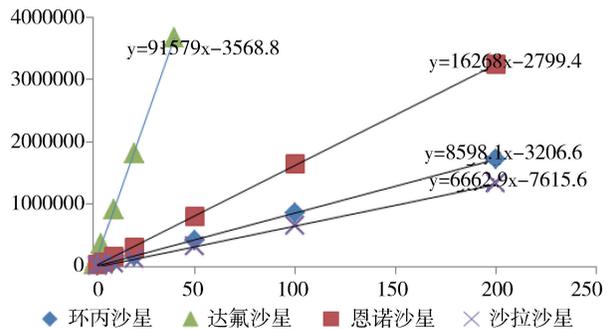


图 4 4 种氟喹诺酮类药物标准曲线

Fig 4 Standard curves of 4 fluoroquinolones

2.3 回收率与精密度 用空白鸡蛋添加后进行方法回收率试验,结果见表 2。由表 2 可见 4 种氟喹诺酮类药物均具有良好的回收率和重现性。

表 2 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留回收率试验及批内批间相对标准偏差

Tab 2 Recoveries of fluoroquinolone Remained in Eggs and the Intra – batch and Inter – batch RSDs

化合物 Compound	添加浓度 Add concentration /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	测定次数 Number of determinations	平均回收率/% Average recovery	批内相对标准偏差 Intra – assay coefficient of variation/% ($n = 6$)	批间相对标准偏差 Inter – assay coefficient of variation/% ($n = 4$)
环丙沙星 Ciprofloxacin	5	1	99.4	2.1	4.8
		2	96.7	4.2	
		3	100.2	1.9	
		4	90.0	5.9	
	10	1	97.4	2.1	4.4
		2	97.4	3.5	
		3	101.3	2.4	
		4	91.0	5.0	
	20	1	98.9	0.9	1.7
		2	97.6	1.8	
		3	97.6	4.0	
		4	94.9	2.5	
	50	1	94.0	1.5	3.8
		2	94.8	3.2	
		3	98.1	1.6	
		4	89.4	2.5	
达氟沙星 Dafloxacin	1	1	88.3	3.2	3.4
		2	86.1	3.5	
		3	92.1	3.0	
		4	85.5	4.9	
	2	1	91.1	1.7	2.7
		2	91.4	2.6	
		3	93.4	2.7	
		4	87.5	2.2	
	4	1	91.6	1.8	6.6
		2	88.2	5.9	
		3	96.4	2.6	
		4	82.2	3.2	
	10	1	88.9	0.8	3.1
		2	85.5	3.9	
		3	91.1	1.9	
		4	85.5	1.8	

化合物 Compound	添加浓度 Add concentration /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	测定次数 Number of determinations	平均回收率/% Average recovery	批内相对标准偏差 Intra - assay coefficient of variation/% ($n=6$)	批间相对标准偏差 Inter - assay coefficient of variation/% ($n=4$)
恩诺沙星 Enrofloxacin	5	1	92.0	2.3	4.5
		2	90.1	5.5	
		3	94.4	4.5	
		4	84.9	4.6	
	10	1	92.8	2.6	1.0
		2	93.3	3.5	
		3	94.3	3.5	
		4	92.0	1.9	
	20	1	91.6	1.2	1.7
		2	91.6	1.6	
		3	94.5	2.3	
		4	90.9	4.1	
50	1	88.4	1.1	3.8	
	2	88.4	2.8		
	3	93.9	2.8		
	4	86.0	3.5		
沙拉沙星 Sarafloxacin	5	1	94.0	3.9	5.0
		2	92.3	5.7	
		3	95.2	3.6	
		4	85.1	4.8	
	10	1	96.0	2.7	3.5
		2	95.8	1.8	
		3	95.5	3.7	
		4	89.1	4.6	
	20	1	96.9	1.4	2.0
		2	96.7	1.4	
		3	97.7	1.5	
		4	93.4	2.4	
50	1	94.0	2.6	2.4	
	2	92.8	2.1		
	3	94.0	3.8		
	4	89.3	3.2		

2.4 检测限 本方法的检测限为环丙沙星、恩诺沙星、沙拉沙星 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$, 达氟沙星 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 讨论与结论

3.1 提取条件的选择 目前,鸡蛋中氟喹诺酮类药物的提取液有乙腈^[3]、甲酸乙腈溶液^[8]、EDTA - McIlvaine 缓冲溶液^[5]、磷酸盐缓冲溶液^[6-7]等。采

用乙腈或酸化乙腈提取均需要增加浓缩步骤,较为繁琐,而 EDTA - McIlvaine 缓冲溶液的配制也较为复杂,故本实验借鉴文献^[6-7]的提取方法,采用磷酸盐缓冲溶液 (pH 7.0) 对鸡蛋中氟喹诺酮类药物进行提取。本实验对振荡时间、提取次数进行了考察,结果发现,样品提取的振荡时间大于 10 min,4 种氟喹诺

酮类药物的回收率无明显变化。用磷酸盐缓冲溶液 (pH 7.0) 提取 2 次比提取 1 次回收率提高 9.8% ~ 15.6%, 提取 3 次后, 回收率无明显增加。此外, 由于鸡蛋中含有大量水分, 提取时与提取液混合在一起, 用加入的提取液体积来计算结果会引起较大偏差, 所以本实验采用用磷酸盐缓冲溶液 (pH 7.0) 提取 2 次, 合并后定容的方法准确定量提取液体积。

3.2 脱脂条件的选择 由于鸡蛋中含有大量的脂肪、蛋白质及氨基酸等组分, 样品的提取液呈浑浊状, 高速离心无法使其澄清。所以, 在固相萃取前应先进行脱脂。本实验考察了不同体积、不同次数的正己烷脱脂效果, 结果发现, 用 10 mL 正己烷脱脂 1 次即能达到脱脂效果。需要注意的是, 加入正己烷振荡离心后正己烷和提取液会产生乳化, 形成凝絮状物质, 低速离心往往使正己烷、乳化层、提取液层分层不清晰, 采用高速 (10000 r/min) 离心 10 min 可改善分层现象。然而, 用吸管不易吸取凝絮状物质, 所以, 可用吸管小心吸取下层清液备用。

3.3 固相萃取条件的选择 本实验采用 3 mL C₁₈ 固相萃取柱净化, 比 1 mL C₁₈ 固相萃取柱能有效减少堵塞现象发生。首先用 2 mL 甲醇活化柱子, 尽

可能除去填料中存在的杂质, 使填料溶剂化, 提高固相萃取的重现性。再用 2 mL 磷酸盐缓冲溶液平衡, 为上样创造一致的溶剂环境。本实验比较了 5、10、15、20 mL 4 种上样体积的回收率, 结果发现, 5 mL 和 10 mL 上样量的回收率无明显差异, 但对于的低残留样品, 采用 5 mL 上样净化时最终上机测试溶液的浓度较低, 灵敏度不能满足需要; 而当上样体积增加到 15 mL 以上后会出现不同程度的过柱缓慢甚至堵塞现象, 回收率有所降低。所以, 最终选择取备用液 10 mL 进行净化。之后用 2 mL 水淋洗固相萃取柱, 除去其中的干扰物。淋洗完后, 挤干固相萃取柱, 尽可能除去柱中的残留液体, 再用 2 mL 0.05 mol/L 磷酸溶液/三乙胺 (pH 2.4) - 乙腈 (82 + 18) 即可完全洗脱。本实验比较了不同体积、不同洗脱液组成比例的洗脱效果, 结果发现, 1 mL 0.05 mol/L 磷酸溶液/三乙胺 (pH 2.4) - 乙腈 (82 + 18) 洗脱不完全, 若增大乙腈比例, 虽然可以提高洗脱效率但会引起色谱峰展宽。

3.4 方法比较 在空白鸡蛋中添加环丙沙星、恩诺沙星、沙拉沙星 20 μg/kg 和达氟沙星 4 μg/kg, 采用该方法与常用标准进行比较, 实验结果见表 3。

表 3 不同方法测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的比较

Tab 3 Comparison of Different Methods for Testing of Fluoroquinolone Drugs Residues in Eggs

方法名称 Method name	方法简述 Method brief	化合物 Method brief	平均回收率 Average recovery /% (n = 3)	检测限 Detection limit/ (μg · kg ⁻¹)
农业部 781 号公告 - 6 - 2006	称样 2 g, 2 mL × 2 次提取, 合并提取液。10 mL × 2 次水饱和和正己烷脱脂, 下清液全部过柱净化, 2 mL 洗脱。	环丙沙星	63.1	10
		达氟沙星	53.5	2
		恩诺沙星	57.3	10
		沙拉沙星	62.2	10
NY 5039 - 200 5 附录 A	称样 5 g, 10 mL × 2 次提取, 合并提取液。15 mL × 2 次正己烷脱脂, 下清液 8 mL 过柱净化, 2 mL 洗脱。	环丙沙星	72.5	10
		达氟沙星	69.0	/
		恩诺沙星	69.0	10
		沙拉沙星	72.5	/
本实验方法	称样 2 g, 10 mL × 2 次提取, 合并提取液, 定容至 25 mL。10 mL 正己烷脱脂, 下清液 10 mL 过柱净化, 2 mL 洗脱。	环丙沙星	94.5	5
		达氟沙星	87.4	1
		恩诺沙星	87.3	5
		沙拉沙星	95.9	5
本实验方法 (称样量不同)	称样 5 g, 10 mL × 2 次提取, 合并提取液, 定容至 25 mL。10 mL × 2 次正己烷脱脂, 下清液 5 mL 过柱净化, 2 mL 洗脱。	环丙沙星	86.4	/
		达氟沙星	81.4	/
		恩诺沙星	82.0	/
		沙拉沙星	91.1	/

结果显示:采用农业部 781 号公告 - 6 - 2006 的检测方法平均回收率低,原因在于合并提取液后脱脂时正己烷和提取液形成凝絮状沉淀,除去沉淀后损失部分提取液,致使净化液体积减少。按照公式 $A \cdot C_s \cdot V/A_s/m$ 计算,净化液与提取液体积不相等,样品最终的稀释体积产生偏差。而且,对于不同的样品,视其脂肪等杂质含量的高低,形成的凝絮状沉淀量不同,损失的提取液体积也不尽相同,其回收率的相对标准偏差也较大。

采用 NY 5039 - 2005 附录 A 的方法回收率较低的主要原因是 2 次提取合并后鸡蛋中本身的水分进入提取液,影响提取液的体积,且不同的样品水分有所差别,致使提取液体积无法准确计量,按照公式 $A \cdot C_s \cdot V_{\text{提取}} \cdot V_{\text{洗脱}}/A_s/m/V_{\text{净化}}$ 计算,样品提取液体积 V_1 应为 20 mL,实际值一般有 24 mL 左右,所以按加入的提取液体积计算的回收率结果会较低,且对于水分不同的样品,它们之间的回收率的相对标准偏差也较大。

采用本实验方法,平均回收率和相对标准偏差均满意,提取后定容可以视为提取液体积为 25 mL,脱脂后虽然提取液有损失,但取部分脱脂后的提取液净化,其提取液、净化液和定容液的体积均准确,按照公式 $A \cdot C_s \cdot V_{\text{提取}} \cdot V_{\text{洗脱}}/A_s/m/V_{\text{净化}}$ 计算,结果准确,回收率稳定,相对标准偏差小。将称样量增大至 5 g 时,平均回收率和相对标准偏差也均较满意,但由于增加样品的称样量,其脂肪等杂质的含量也相应提高,一般需要进行 2 次脱脂,增加了实验步骤,故舍去该方法。

本研究通过优化前处理方法,建立起了液相色谱 - 荧光法同时检测鸡蛋中 4 种氟喹诺酮类药物的方法,该方法线性范围宽,灵敏度高,重复性好,可满足日常样品的检测需求,完全适合鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留的检测。

参考文献:

[1] Niwa H, Chuma T, Okamoto K, Itoh K [J]. Antimicrob. Agents, 2003, 22: 374 - 379.

- [2] Horii T, Monji A, Uemura K, Nagura O [J]. Microbiol. Methods, 2006, 65: 57 - 561.
- [3] 田媛,张尊建,李静,等. 固相萃取 - LC - MS/MS 测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41 (1): 60 - 65.
Tian Y, Zhang Z J, Li J, et al. Multiresidue determination of fluoroquinolones in eggs by solid - phase extraction - LC - MS/MS [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2010, 41 (1): 60 - 65.
- [4] 李航,魏伯平,徐愚聪. 鸡蛋中氟喹诺酮类兽药残留的检测方法研究 [J]. 四川食品与发酵, 2008, 44 (5): 65 - 68.
Li H, Wei B P, Xu Y C. Determination of Fluoroquinolone in Eggs [J]. Si chuan Food and Fermentation, 2008, 44 (5): 65 - 68.
- [5] GB/T 21312 - 2007. 动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱 - 质谱/质谱法 [S].
GB/T 21312 - 2007. Analysis of fourteen quinolones in food of animal origin by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].
- [6] 农业部 781 号公告 - 6 - 2006. 鸡蛋中氟喹诺酮类药物类药物残留量的测定 高效液相色谱法 [S].
Ministry of Agriculture Announcement No. 781 - 6 - 2006. The determination of quinolones residues in egg by HPLC method [S].
- [7] NY 5039 - 2005 附录 A. 鲜禽蛋中恩诺沙星和环丙沙星残留检测方法 - 高效液相色谱法 [S].
NY 5039 - 2005 Appendix A. Detection method of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in fresh poultry eggs - high performance liquid chromatography method [S].
- [8] 李丹,张玉洁,仲锋,等. 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量检测方法研究 [J]. 中国兽药杂志, 2010, 6: 1 - 4.
Li D, Zhang Y J, Zhong F, et al. Study on Detection Method of Quinolones Residues in Egg [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2010, 6: 1 - 4.
- [9] 刘欢欢,于学辉,彭莉,等. 用 ELISA 方法检测鸡蛋氟喹诺酮类药物残留的研究 [J]. 西南民族大学学报《自然科学版》, 2008, 34 (6): 1182 - 1185.
Liu H H, Yu X H, Peng L, et al. Determination of fluoroquinolones residues in eggs by ELISA method [J]. Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), 2008, 34 (6): 1182 - 1185.

(编辑:侯向辉)