doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2023.11.08

猪肉及猪肝中四环素类药物残留量测定的 高效液相色谱法

牛蓉1,2,秦丽波1,2*,李远恒1,周兰兰2,孙志文3

(1. 河南宏信检测技术有限公司农产食品检测中心,河南南阳 473000;2. 牧原食品股份有限公司,河南南阳 473000; 3. 北京市农产品质量安全中心,北京 100000)

[收稿日期] 2023-05-10 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280 (2023) 11-0055-07 [中图分类号]S859.84

[摘 要] 采用高效液相色谱法建立了猪肉及猪肝中土霉素、四环素、金霉素、多西环素残留量的检测方法。试样中的四环素类药物经 Na₂ EDTA - Mcllvaine 缓冲溶液提取,硫酸和钨酸钠溶液沉淀蛋白,HLB 及 LCX 固相萃取柱净化,高效液相色谱法测定。以 0.01 mol/L 三氟乙酸 - 乙腈为流动相,梯度洗脱,检测波长为 340 nm。结果显示:四种四环素类药物在 0.05~5 μg/mL 质量浓度范围内呈良好的线性关系,决定系数大于 0.999。本方法在猪肉中的检测限为 20 μg/kg,定量限为 50 μg/kg;在猪肝中的检测限为 50 μg/kg,定量限为 100 μg/kg。在空白猪肉组织中添加 50~200 μg/kg 浓度,平均回收率为 62.8% ~ 114.4%,日内相对标准偏差为 0.5% ~ 6.6%,日间相对标准偏差为 2.1% ~ 5.4%;在空白猪肝组织中添加 100~600 μg/kg 浓度,平均回收率为 60.2% ~ 111.9%,日内相对标准偏差为 0.3% ~ 3.1%,日间相对标准偏差为 1.1% ~ 3.5%。该方法各项技术指标均能满足残留检测要求,且重现性良好,适用于猪肉及猪肝中四环素类药物残留量的测定。

「关键词】 猪肉:猪肝:四环素类:残留:高效液相色谱法

Determination of Tetracyclines Residues in Pork Meat and Pork Liver by High Performance Liquid Chromatography

NIU $\rm Rong^{1,2}$, QIN Li $-\,\rm bo^{1,2\,*}$, LI Yuan $-\,\rm heng^1$, ZHOU Lan $-\,\rm lan^2$, SUN Zhi $-\,\rm wen^3$

(1. Agricultural Food Testing Center, Henan Hongxin Testing Technology Co., Ltd., Nanyang, Henan 473000, China; 2. Muyuan Foods Co., Ltd., Nanyang, Henan 47300, China; 3. Beijing Agricultural Product Quality and Safety Center, Beijing 100020, China)

Corresponding author: QIN Li - bo, E - mail: 1012098146@ qq. com

Abstract: To establish a method for testing the terramycin, tetracycline, aureomycin and doxycycline residues in pork meat and pork liver by HPLC. The tetracyclines in sample were extracted by Na₂ EDTA – McIlvaine buffer

作者简介: 牛蓉,硕士,从事兽药残留检测与研究。

通讯作者: 秦丽波。E - mail: 1012098146@ gg. com

solution, precipitated protein by sodium tungstate and sulfuric acid, purified by HLB and LCX solid phase extraction column, and determinated by HPLC. The mobile phase were trifluoroacetic acid and acetonitrile with gradient elution, and detection wavelength was 340 nm. The results showed that the linearities of the four tetracyclines were good with the correlation better than 0.999 within the range of 0.05 \sim 5 μ g/mL. The limit of detection was 20 μ g/kg for pork meat,50 μ g/kg for pork liver. The limit of quantification was 50 μ g/kg for pork meat,100 μ g/kg for pork liver, The average recoveries ranged from 62.8% to 114.4%, which spiked at the concentrations range from 50 μ g/kg to 200 μ g/kg in blank pork meat, the intra – batch relative standard deviations (RSD) were in the range of 0.5% \sim 6.6% and the inter – batch RSD were in the range of 2.1% \sim 5.4%. The average recoveries ranged from 60.2% to 111.9%, which spiked at the concentrations range from 100 μ g/kg to 600 μ g/kg in blank pork liver, the intra – batch RSD were in the range of 0.3% \sim 3.1% and the inter – batch RSD were in the range of 1.1% \sim 3.5%. The method can meet the requirements of residue detection with good reproducibility, and is suitable for the determination of tetracycline residues in pork meat and pork liver.

Key words: pork meat; pork liver; residues; tetracyclines; HPLC

四环素类属于广谱抗生素,对革兰氏阳性和阴 性细菌、立克次氏体等均有抑菌作用[1-2],其作用 机制主要是和 30S 核糖体亚基的末端结合,从而干 扰细菌蛋白质的合成[3]。常用的四环素类主要有 四环素、金霉素、土霉素、多西环素等,该类药物在 畜禽养殖过程中被广泛作为药物添加剂使用,用于 防止肠道感染和促生长[4],但长期使用甚至滥用则 会导致药物在动物体内滞留或蓄积,并以残留的方 式进入人体及生态环境,从而危害人体健康及生态 环境[5]。因此四环素类药物的残留监控尤为重要。 目前,四环素类药物的残留分析的资料较多[6-8],主 要有液相色谱 - 串联质谱法、高效液相色谱法、酶联 免疫法等[9-10]。本研究参考《GB 31658.6-2021 食 品安全国家标准 动物性食品中四环素类药物残留量 的测定 高效液相色谱法》中四环素类药物的测定方 法[11],并在其基础上进行了改进优化,拟建立猪肉及 猪肝中的四环素、土霉素、金霉素及多西环素这四种 药物残留量测定的高效液相色谱法,为国家兽药残 留监控体系提供更为可靠的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器及设备 高效液相色谱仪: E2695, 配2489 紫外检测器,美国沃特世公司; 电子天平: MS105DU,感量 0.01 mg,德国梅特勒托利多公司; 电子天平: HZF - A200,感量 0.01 g,福州志华电子

有限公司;多管混匀仪:UMV-2,北京优晟联合科技有限公司;高速冷冻离心机:CH160R,湖南湘仪离心机仪器有限公司;氮吹仪:NGB-1024,莱谱(北京)科技有限公司;固相萃取装置:24位,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 药品及材料 盐酸四环素:含量 98.00%,批号 5352101,坛墨质检;土霉素盐酸盐:含量 89.62%,批号 G1125763,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;金霉素盐酸盐:含量 92.90%,批号 1112164,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;盐酸多西环素:含量 98.00%,批号 1116543,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;甲醇、乙腈:色谱级,美国天地有限公司;三氟乙酸、乙二胺四乙酸二钠、柠檬酸、磷酸氢二钠、草酸、硫酸、钨酸钠:分析级,国药集团化学技术有限公司;HLB 固相萃取柱:规格 500 mg/6 mL,上海安谱实验科技股份有限公司;LCX 固相萃取柱:规格 500 mg/6 mL,天津博纳艾杰尔科技有限公司。

1.3 溶液配制

1.3.1 标准储备溶液 精密称定盐酸四环素、土霉素盐酸盐、金霉素盐酸盐、盐酸多西环素标准品适量(相当于四环素、土霉素、金霉素、多西环素各10 mg),用甲醇溶解并稀释定容至不同10 mL容量瓶内,配制成浓度为1 mg/mL的标准储备溶液。-18 ℃以下保存,有效期为1 个月。

1.3.2 混合标准中间液 精密量取土霉素、四环素、金霉素和多西环素标准储备液各 0.1 mL, 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成浓度为 10 μg/mL的混合标准中间液。2~8 ℃保存。现用现配。

1.3.3 柠檬酸溶液 取柠檬酸 21.01 g,用水溶解 并稀释至 1000 mL。

1.3.4 磷酸氢二钠溶液 取无水磷酸氢二钠 71.63 g,用水溶解并稀释至1000 mL。

1.3.5 Mcllvaine 缓冲溶液(pH 4.0) 取柠檬酸溶液 1000 mL、无水磷酸氢二钠溶液 625 mL, 混匀,用盐酸或氢氧化钠溶液调 pH 至 4.0 ± 0.05。

1.3.6 Na₂EDTA - Mcllvaine 缓冲溶液 取乙二胺 四乙酸二钠 60.5 g,加 Mcllvaine 缓冲溶液 1625 mL,溶解,混匀。

1.3.7 草酸溶液(0.01 mol/L) 取草酸 1.26 g, 用水溶解并稀释至 1000 mL。

1.3.8 三氟乙酸溶液(0.01 mol/L) 取三氟乙酸 0.8 mL,用水溶解并稀释至1000 mL。

1.3.9 硫酸溶液 取硫酸 1.85 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

1.3.10 钨酸钠溶液 取钨酸钠 7 g,用水溶解并稀释至 100 mL。

1.3.11 草酸溶液(1 mol/L) 取草酸 12.6 g,用 水溶解并稀释至 100 mL。

1.3.12 草酸 - 乙腈溶液 取草酸溶液(1 mol/L) 20 mL,用乙腈溶解并稀释至 100 mL。

1.3.13 磷酸二氢钠溶液(8 mmol/L) 取磷酸二氢钠 96 mg,用水溶解并稀释至 100 mL,pH 为 5.0。

1.4 实验方法

1.4.1 提取 称取试料 5 g(准确至±0.02 g),加 Na₂EDTA – Mcllvaine 缓冲溶液 20 mL,涡旋 1 min,振 荡 10 min,加硫酸溶液 5 mL、钨酸钠溶液 5 mL,涡旋 1 min, -5 ℃下 8500 r/min 离心 5 min,取上清液。 残渣用 Na₂EDTA – Mcllvaine 缓冲溶液 20 mL、10 mL 各提取 1 次,合并上清液,中性滤纸过滤,备用。

1.4.2 净化 HLB 柱依次用甲醇、水和 Na₂ EDTA – Mcllvaine 缓冲溶液各 5 mL 活化。备用液过柱,待全部备用液流出后,依次用水、5% 甲醇溶液各 10

mL 淋洗,抽干 30 s,用甲醇 6 mL 洗脱,收集洗脱液于刻度试管中,加 2 mL 8 mmol/L 磷酸二氢钠溶液 (pH 5.0),混匀,过甲醇 5 mL、水 5 mL 活化的 LCX 柱,待全部液体流出后,用水、甲醇各 5 mL 淋洗,抽干 1 min,草酸 – 乙腈溶液 6 mL 洗脱,收集洗脱液,于 40 ℃水浴氮气吹至 0.5 ~ 1.0 mL,用草酸溶液 (0.01 mol/L)稀释至 2.0 mL,微孔滤膜过滤,高效液相色谱测定(上机溶液应在 24 h 内完成测定)。 1.4.3 液相色谱条件 色谱柱:安捷伦 ZORBAX – Extend – C18 柱(250 mm × 4.6 mm,5 μ m);柱温: 30 ℃;检测波长:340 nm;流动相:A 为 0.01 mol/L 三氟乙酸溶液,B 为乙腈(梯度洗脱程序见表 1);流速:1.0 mL/min;进样量:50 μ L。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Tab 1 Mobile phase compositions for gradient elution

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A/%	B/%
0	1.0	90	10
5	1.0	80	20
15	1.0	65	35
16	1.0	90	10
25	1.0	90	10

1.4.4 标准曲线绘制 精密量取混合标准中间液适量,用草酸溶液(0.01 mol/L)稀释成浓度为0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 μg/mL的系列混合标准液,供高效液相色谱测定。以测得的峰面积为纵坐标,对应的标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,求回归方程和决定系数。

1.4.5 检测限及定量限 分别称取猪肉及猪肝空白样品各5g,准确加入一定体积的混合标准中间液,按照1.4项对应实验条件进行样品前处理并上机测定,按3倍信噪比(S/N=3)和10倍信噪比(S/N=10)计算方法的检测限和定量限。

1.4.6 回收率及精密度 取空白猪肉及猪肝样品各54份,分为3批,每批18份,参照GB/T27404-2008,以定量限和最高残留限量为标准,添加3个不同浓度,每个浓度点6个平行样品,按照1.4项对应实验条件进行样品前处理并上机测定,计算回收率及相对标准偏差,其中采用同批内相同添加浓度的6个平行样品回收率数据计算日内相对标准偏差,采

用3批平均回收率数据计算日间相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 净化条件优化 选择 6 份空白猪肉,分 A 组和 B 组,每组 3 份样品,进行 100 μg/kg 的加标,按照 1.4.1 项和 1.4.2 项中 HLB 小柱净化过程操作,A 组经 HLB 净化后的甲醇洗脱液直接过 LCX 小柱,B 组经 HLB 净化后的甲醇洗脱液用磷酸二氢钠溶液调节 pH 后过 LCX 小柱,将两组经 LCX 小柱净化后的样品氮吹复溶后上机测定,比对四环素类药物的平均回收率。结果显示,B 组平均回收率明显高于 A 组 (如图 1 所示),因此最终净化条件选择 B 组对应条件,详细操作见 1.4.2 项。

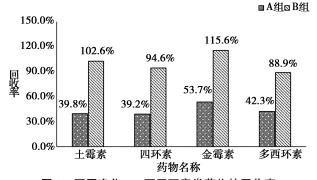


图 1 不同净化 pH 下四环素类药物的回收率

Fig 1 The recoveries of tetracyclines under different purification pH

2.2 检测波长优化 本研究测定了 5 μg/mL 四环 素类混合标准溶液在 300 ~ 400 nm 下的响应值,发 现在 340 nm 波长下,四种药物响应最高(如图 2 所示),因此,选择 340 nm 为最佳波长。

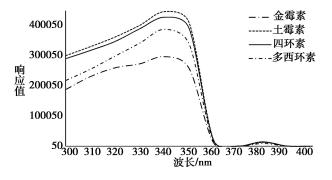


图 2 四环素类标准溶液(5 μg/mL)在不同波长下的响应值 Fig 2 The response values of tetracyclines standard solution (5 μg/mL) at different wavelengths

2.3 标准工作曲线 按照 1.4.4 项配制标准曲线 并检测,结果显示四种药物在 0.05~5 μg/mL 浓度 范围内线性关系良好,具体回归方程和决定系数见 表 2。

表 2 回归方程及决定系数

Tab 2 Regression equation and correlation coefficient

时间/min	回归方程	决定系数 R ²	
四环素	y = 84822x - 1782.1	0.9995	
土霉素	y = 92278x - 1917	0.9995	
金霉素	y = 34784x - 1177.6	0.9992	
多西环素	y = 43532x - 448.65	0.9999	

- 2.4 检测限及定量限 按照 1.4.5 项中相关步骤,依据 3 倍信噪比(S/N = 3)和 10 倍信噪比(S/N = 10)计算猪肉及猪肝对应检出限及定量限,得出四种药物在猪肉中检测限为 20 μg/kg,定量限为 50 μg/kg;在猪肝中检测限为 50 μg/kg,定量限为 100 μg/kg。
- 2.5 回收率及精密度 按照 1.4.6 项中规定的样品数量及加标标准,空白猪肉样品加标浓度分别为50、100、200 μg/kg;空白猪肝样品加标浓度分别为100、200、600 μg/kg;以上样品按照 1.4.1 项及1.4.2项中前处理步骤处理后上机测定,计算回收率及 RSD,其回收率水平及 RSD 值均符合《GB/T 27404 2008 实验室质量控制》对应技术标准,具体结果见表 3。
- 2.6 稳定性 将加标浓度为 100 μg/kg 的空白猪 肉样品按照本实验条件进行处理,将处理后的样品 溶液分别在 0、12、24、48、72 h 上机测定,对比四种 药物的回收率。结果显示,四环素类药物随着时间 的变化含量逐渐降低,在 24 h 内药物损失率均低于 5%,24 ~48 h 内,药物含量发生了明显降低,48 h 时四种药物损失率均高于 15%(表 4),因此处理完的样品需在 24 h 内测定完毕,以确保检测结果的准确性。

表 3 猪肉和猪肝中四环素类药物的回收率及精密度

Tab 3 Recovery and RSD of tetracyclines in Pork Meat and pork liver

样品基质	药物名称	添加浓度/(μg・kg ⁻¹)	平均回收率/%	日内相对标准偏差/%	日间相对标准偏差/%
猪肉		50	95.0	3.4	3.7
	四环素	100	74.7	1.0	2.5
		200	65.8	0.5	3.0
	土霉素	50	101.8	2.0	3.4
		100	85.4	1.6	3.0
		200	77.1	0.7	2.1
		50	114.4	2.5	3.0
	金霉素	100	76.9	4.3	4.0
		200	78.3	0.9	2.4
	多西环素	50	88.9	6.6	5.4
		100	70.2	2.6	4.7
		200	62.8	1.6	2.4
	四环素	100	111.9	1.1	2.0
		200	105.0	0.9	1.5
		600	72.8	0.5	2.5
	土霉素	100	68.5	0.6	2.0
猪肝 -		200	76.2	0.3	3.4
		600	70.6	0.6	1.5
	金霉素	100	62.9	2.5	2.3
		200	61.7	2.6	3.1
		600	60.2	1.3	1.1
		100	61.3	1.3	1.2
	多西环素	200	61.1	3.1	3.5
		600	62.6	0.5	2.8

表 4 稳定性测定结果

Tab 4 Stability test result

药物名称	放置时间/h	平均回收率/%	药物损失率/% (相较于0 h)
四环素	0	74.6	/
	12	74.0	0.8
	24	72.3	3.1
	48	57.2	23.3
	72	42.9	42.5
土霉素	0	85.3	/
	12	85.1	0.2
	24	84.0	1.5
	48	71.1	16.6
	72	57.3	32.8
金霉素	0	77.0	/
	12	77.2	-0.3
	24	75.5	1.9
	48	65.3	15.2
	72	51.3	33.4
多西环素	0	70.2	/
	12	70.0	0.3
	24	67.8	3.4
	48	53.5	23.8
	72	40.3	42.6

3 讨论与结论

- 3.1 检测方法的选择 兽药残留检测的方法目前主要有液相色谱 串联质谱法、高效液相色谱法、酶联免疫法、微生物法等[12]。微生物法操作简便、价格低廉、不需要精密仪器,缺点是不能区分具体的药物种类,难以进行定量检测。酶联免疫法成本较低,灵敏度相对较高,但在多残留检测方面存在一定的局限性,且检测精准度不够高,检测样品假阳性或假阴性概率较色谱法高。液相色谱 串联质谱法灵敏度高、分析速度快且能够精准定量[13],但仪器昂贵,影响因素较多,且受样品基质效应的影响,往往需要采用基质匹配标准曲线进行定量。高效液相色谱法具有检测成本较低、无明显基质效应、可准确定量等特点[14],适用范围较广。因此,本研究选择高效液相色谱法测定猪肉及猪肝中四环素类药物的残留量,
- 3.2 净化条件的优化 LCX 固相萃取柱属于离子 交换型固相萃取柱,样品溶液过柱前需调节 pH 至

合适范围内,但《GB 31658.6 - 2021》中经 HLB 净 化后的洗脱液过 LCX 小柱前未调节 pH,即四环素 类药物离子化不充分,目标物与 LCX 小柱的磷酸 官能团结合效率低,导致目标物损失,回收率偏低^[15]。本试验对比了 HLB 净化后的洗脱液上 LCX 小柱前调节 pH 及不调节 pH 两种条件,发现不调节 pH 直接过 LCX 小柱,四环素类药物的回收率均低于 60%;经磷酸二氢钠溶液调节 pH 后再过 LCX 小柱,四环素类药物的回收率明显提高,均在 80%以上。因此,本方法最终选择使用磷酸二氢钠溶液调节 HLB 净化后的洗脱液 pH,以提高方法回收率,保证检测结果准确性。

3.3 色谱条件的优化 《GB 31658.6 - 2021》中四环素类药物检测波长为 350 nm, 有部分报道显示土霉素、四环素和金霉素的检测波长分别为 355 nm和 365 nm^[16-17]。本试验考察了 300 ~ 400 nm 范围内四环素类药物的响应值, 发现选择 340 nm 波长时,各药物响应最高。因此,选择 340 nm 为本方法最佳波长。

本研究建立了一种高效液相色谱法同时猪肉及猪肝中四种四环素类药物兽药残留检测方法。通过各项技术参数的考察验证,本方法无基质效应、重复性好、准确度高且精密度良好,满足猪肉及猪肝中四环素类药物残留量的检测,可为动物性食品中四环素类药物的残留监控提供检测依据。

参考文献:

- [1] 张崇威,李华岑,陈 蔷,等.鸡蛋及牛奶中四环素类药物残留量的液相色谱 串联质谱测定法[J].中国兽药杂志,2022,56(03):35-36.
 - Zhang Chongwei, Li Huacen, Chen Qiang, et al. Determination of Tetracyclines Residues in Eggs and Milk by Liquid Chromatography mass Spectrometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2022, 56 (03): 35 36.
- [2] Zelan Wang, XiaoYanchen, Zhe Meng, et al. A water resistance magnetic graphene – anchored zeolitic imidazolate framework for efficient adsorption and removal of residual tetracyclines in wastewater[J]. Water Science & Technology, 2020, 81(11): 2322 – 2336.

- [3] 高旭东,陈士恩,叶永丽,等. 高效液相色谱法测定畜禽肉及三文鱼中土霉素、四环素和金霉素残留[J]. 食品安全质量检测学报,2014,5 (02):369-376.

 Gao Xudong, Chen Shien, Ye Yongli, et al. Determination of terramycin, minocycline and aureomycin in livestock, poultry meat and salmon by high performance liquid chromatography[J].
- [4] 李俊锁,邱月明,王超. 兽药残留分析[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002. 365-370.
 Li Junsuo, Qiu Yueming, Wang Chao. Veterinary drug residue analysis [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2002. 365-370.

Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5 (02): 369 - 376.

- [5] 郑平, 邹康平, 王冬. 畜产品中兽药残留检测方法的相关研究[J]. 食品安全导刊,2023,366 (01):124-126.
 Zheng Ping, Zou Kangping, Wang Dong. Relevant Research on Detection Methods of Veterinary Drug Residues in Animal Products[J]. China Food Safety Magazine, 2023,366 (01): 124-126.
- [6] 苏霞, 王绪根, 李云, 等. 畜禽产品中四环素类抗生素残留检测方法研究进展[J]. 畜产品质量安全, 2022, 38 (07): 8-9.

 Su Xia, Wang Xugen, Li Yun, et al. Research progress on detection methods of tetracycline antibiotics residues in livestock and poultry products[J]. Animal product safety column, 2022, 38 (07): 8-9.
- [7] 张建伟,彭丽,张盼盼,等.液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶和羊奶中 43 种药物残留[J].中国兽医杂志, 2023, 59 (02): 66-73.

 Zhang Jianwei, Peng Li, Zhang Panpan, et al. Simultaneous Determination of 43 Drug Residues in Cow and Sheep Milk by Liquid Chromatography Tandem Mass [J]. Spectrometry Chinese Journal of Veterinary Drug, 2023, 59 (02): 66-73.
- [8] 赵 琪. 高效液相色谱质谱联用法在食品中四环素类药物残留检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2022, 349 (20): 82-84.

 Zhao Qi. Application of High Performance Liquid Chromatography
 Coupled with Mass Spectrometry in the Detection of Tetracycline
 - Coupled with Mass Spectrometry in the Detection of Tetracycline Residues in Food $[\,J\,]$. China Food Safety Magazine, 2022, 349 (20): 82 84.
- [9] 李依孜, 韩宣怡. 免疫分析法测定食品中四环素类药物残留 [J]. 食品安全导刊, 2021, 315 (22): 68-70. Li Yizi, Han Xuanyi. Determination of tetracycline residues in food by immunoassay [J]. China Food Safety Magazine, 2021, 315 (22): 68-70.
- [10] 闲少玲. 高效液相色谱法测定鸭肉中土霉素、四环素、金霉素

及强力霉素残留量的研究[J]. 食品安全导刊, 2022, 342 (13): 96-98.

Xian Shaoling. Determination of Oxytetracycline, Tetracycline, Chlortetracycline and Doxycycline Residues in Duck Meat by High Performance Liquid Chromatography [J]. China Food Safety Magazine, 2022,342 (13): 96 – 98.

- [11] GB 31658.6-2021 食品安全国家标准 动物性食品中四环素 类药物残留量的测定 高效液相色谱法[EB/OL].
 GB 31658.6 - 2021 National standards for food safety
 Determination of tetracycline drug residues in animal food High
 performance liquid chromatography[EB/OL].
- [12] Chen Zhongyu. Hazards and Detection Techniques of Veterinary Drug Residues in Animal - Origin Food [C]. Web of Conferences, 2021, 271; 04033.
- [13] Khedr Tawfeek, Juhász Angéla, Singh Karam B, et al. Development and validation of a rapid and sensitive LC – MS/MS approach for alkaloid testing in different Lupinus species [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 121: 105391.
- [14] He Zhaoyuan, Shi Xinrui, Guo Yawen, et al. Simultaneous quantitative determination of residues of abamectin, ivermectin, albendazole and its three metabolites in beef and chicken by HPLC - PDA [J]. Food Chemistry, 2023, 421: 136168-136168.

- [15] Casado N, D Pérez Quintanill, Morante Zarcero, et al.

 Evaluation of bi functionalized mesoporous silicas as reversed phase/cation exchange mixed mode sorbents for multi residue solid phase extraction of veterinary drug residues in meat samples[J]. Talanta, 2017, 165; 223 230.
- [16] 范露, 靖涵之. 高效液相色谱法测定猪肉中土霉素、四环素和金霉素[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(03): 162-168. Fan Lu, Jing Hanzhi. Determination of oxytetracycline, tetracycline and aureomycin in pork by high performance liquid chromatography[J]. China Food Additives, 2019, 30(03): 162-168.
- [17] 邓 宇,乌仁图雅,李宝栋,等.固相萃取-超高效液相色谱 法测定土壤中土霉素、四环素及金霉素[J].化学分析计量, 2021,30(08):15-18.

Deng Yu, Wu Rentuya, Li Baodong, et al. Determination of oxytetracyline, tetracyline and chlortetracyline in soil by ultra high performance liquid chromatography with solid phase extraction [J]. Chemical Analysis and Meterage., 2021, 30 (08): 15-18.

(编辑:侯向辉)