

UPLC-MS/MS 测定水产品中氟喹诺酮类药物前处理优化

孙言春^{1,2}, 许宪祝¹, 朱晓东¹, 牟振波², 葛彦龙², 吴松², 杜宁宁²

(1. 哈尔滨工业大学 基础与交叉科学研究院, 150001 哈尔滨; 2. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 150070 哈尔滨)

摘要: 建立了一种快速、灵敏的超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时定性和定量测定水产品中6种氟喹诺酮类(FQs)药物残留. 考察了提取液类型、提取液甲酸体积分数、净化方式、脱水剂用量等影响浓缩富集效果的因素, 确立了样品采用酸化乙腈溶液提取、正己烷脱脂并以无水硫酸钠除水等步骤. 在电喷雾-多反应监测正离子模式下, 色谱分离柱选用 BEH C18 色谱柱, 流动相选用 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱, 流速为 0.20 mL/min. 结果表明, 6种氟喹诺酮类标准品均在 1~1 000 $\mu\text{g/L}$ 内线性关系良好 (R^2 均 ≥ 0.998), 在 2~100 $\mu\text{g/kg}$ 添加范围内平均回收率在 76.9%~95.9%, 相对标准偏差在 4.8%~9.2%, 最低检测限和定量限分别为 0.1 和 0.2 $\mu\text{g/kg}$.

关键词: 水产品; 氟喹诺酮类; 样品前处理; 优化; 超高效液相色谱串联质谱法

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2013)10-0052-06

Optimization of sample preparation for the determination of fluoroquinolone antibiotics residues in aquatic products by UPLC-MS/MS

SUN Yanchun^{1,2}, XU Xianzhu¹, ZHU Xiaodong¹, MOU Zhenbo², GE Yanlong², WU Song², DU Ningning²

(1. Academy of Fundamental and Interdisciplinary Sciences, Harbin Institute of Technology, 150001 Harbin, China;

2. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, 150070 Harbin, China)

Abstract: The preparation was optimized for the quantitative and qualitative determination of six fluoroquinolone antibiotics (FQs) in muscles of aquatic products using ultra-performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Types of extraction, content of formic acid in extraction solution, styles of the cleanup, and amount of dehydrates were discussed for the purpose of reaching the optimal result of sample preparation. Extraction of the FQs was carried out with acid acetonitrile and defatted with n-hexane, while the water in the muscle was removed by sodium sulfate. Separation of the FQs was achieved by using a BEH C18 column under gradient elution at flow rate of 0.20 mL/min with the mobile phases being composed of 0.1% formic acid solution and acetonitrile. The mass spectrometer was operated in positive ion mode using electrospray ionization in the multiple reaction monitoring (MRM) mode. The standard curves were linear ($R^2 \geq 0.998$) over the concentration ranging from 1.0 to 1 000 $\mu\text{g/L}$ when the limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.1 and 0.2 $\mu\text{g/kg}$, respectively. Recoveries of the FQs in spiked samples (fish, shrimp and crab) arranging from 2 to 100 $\mu\text{g/kg}$ were between 76.9% and 95.9% with the relative standard deviation between 4.8% and 9.2%.

Key words: aquatic products; fluoroquinolones residues; sample preparation; optimization; UPLC-MS/MS

喹诺酮类(Quinolones, QNs)是1,4-二氢-4-吡啶酮-3-羧酸衍生物的抗菌药,4-吡啶酮-

3-羧酸是共同的功能基团,对细菌DNA螺旋酶具有选择性抑制作用. 氟喹诺酮类抗菌药物(Fluoroquinolones, FQs)是QNs的一个亚组,其化学结构为6号位氟取代的吡啶酮羧酸衍生物,作为一类人工合成的广谱高效抗菌药物,近年来在临床、兽医和水产养殖中获得了广泛应用^[1-2]. 研

收稿日期: 2012-12-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21246011);中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2013A1103).

作者简介: 孙言春(1979-),男,博士研究生;

许宪祝(1963-),男,教授,博士生导师.

通信作者: 许宪祝, xuxianzhu@hit.edu.cn.

究表明, 氟喹诺酮类药物会给人类健康造成一定的毒害, 长期服用会增加耐药性^[3-4], 还有致畸胎和致突变、致癌的危险^[5-6], 其残留问题已引起广泛的关注^[7-9].

目前, 针对氟喹诺酮类药物在动物源性食品中残留的检验主要有微生物法^[10-11]、高效液相色谱法^[12-13]和液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)^[14-15]。相对于其他分析手段, LC-MS/MS法具有灵敏度高、选择性强、分析范围广等优点, 在水产品氟喹诺酮类药物残留的定性和定量测定中广泛应用^[14, 16]。液质方法多采用固相萃取法进行样品前处理, 其对于复杂生物样品基质净化处理的效果较好, 但价格昂贵、难以满足高通量检测的要求, 且一般步骤较繁琐^[14-15]。本实验通过对前处理方法的优化, 在保证回收率的同时, 建立一种步骤尽可能简单、精密度良好、费用低并且适合液质检测的样品前处理方法, 用于自水产品肌肉组织中提取 6 种常用 FQs 药物, 以期为水产动物体内该类药物残留分析方法提供一种灵敏度高、专一性强、重现性好、回收率稳定的检测手段, 并满足药物吸收、分布、代谢、排泄、毒性等进一步研究的检测需求。

1 实验

1.1 试剂与材料

诺氟沙星标准品(美国 Sigma-Aldrich 公司, $\geq 99.9\%$, NOR); 恩诺沙星标准品(美国 Sigma-Aldrich 公司, $\geq 99.9\%$, ENR); 环丙沙星标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, $\geq 99.0\%$, CIP); 沙拉沙星标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, $\geq 99.0\%$, SAR); 达诺沙星标准品(美国 Sigma-Aldrich 公司, $\geq 99.9\%$, DAN); 氧氟沙星标准品(美国 Sigma-Aldrich 公司, $\geq 99.3\%$, OFL); 甲醇、丙酮、乙腈(德国 Merck 公司, 色谱纯); 正己烷(美国 TEDIA 公司, 色谱纯); 实验过程中所用水由 Millipore A10 纯水系统(美国 Millipore 公司)制备; 无水硫酸钠(上海国药, 分析纯); 甲酸(美国 Sigma-Aldrich 公司, $> 98\%$)。

准确称取适量的 6 种标准品, 用纯甲醇溶解并定容得到 100 mg/L 的储备液, 室温下可稳定两个月。储备液用乙腈/0.2% 甲酸水溶液(体积比为 20:80)做稀释液配成 1.0 mg/L 的中间工作溶液; 然后将中间液用该稀释液配制成相应浓度的标准工作溶液, 上机前过 0.22 μm 有机滤膜。

1.2 仪器设备

ACQUITY™ 超高效液相色谱仪, Micromass

Quattro micro API 三重四极杆质谱(配电喷雾离子源), MassLynx™ V 4.1 操作软件(Waters 公司); XS205 电子天平(Mettler Toledo 公司); Biofuge Stratos 高速冷冻离心机(Thermo Scientific 公司); T25 digital ULTRA-TURRAX 均质机、RV 10 旋转蒸发器、MS1 Mini-shaker 涡轮振荡器(IKA 公司); Milli-Q A 10 纯水器(Millipore 公司); 移液器(200、1 000、5 000 μL , Eppendorf 公司) PHS-3C pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 色谱和质谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm , 2.1 mm \times 50 mm; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 样品室温度: 10 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A: 含 0.1% (体积分数) 甲酸的水溶液; 流动相 B: 乙腈; 进样体积: 10 μL ; 流速: 0.20 mL/min。流动相梯度洗脱程序: 0 ~ 1 min, 90% A; 1 ~ 2 min, 90% A 线性变化至 80% A; 2 ~ 4 min, 80% A 线性变化至 15% A; 4 ~ 6 min, 15% A 线性变化至 90% A。

电离方式: ESI(+); 电离电压: 2.1 kV; 锥孔电压: 30 V; 离子源温度: 120 $^{\circ}\text{C}$; 锥孔反吹气流量: 50 L/h; 脱溶剂气温度: 360 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气流量: 700 L/h; 采集方式: MRM 模式; 定性定量离子对见表 1。

表 1 FQs 的定性定量离子对、碰撞能量和锥孔电压

名称	定性离子对	定量离子对	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
恩诺沙星 Enrofloxacin	360.2 > 245.2	360.2 > 316.2	46	16
环丙沙星 Ciprofloxacin	332.2 > 288.2	332.2 > 288.2	32	16
沙拉沙星 Sarafloxacin	386.1 > 342.2	386.1 > 342.2	32	17
达氟沙星 Danofloxacin	358.2 > 340.2	358.2 > 314.2	34	19
诺氟沙星 Norfloxacin	320.2 > 276.2	320.2 > 276.2	34	15
氧氟沙星 Ofloxacin	362.2 > 318.2	362.2 > 318.2	34	18
			34	20
			34	22
			34	25
			34	17
			34	17
			34	15
			34	20
			34	18
			34	24

1.4 前处理方法

鱼别取背部肌肉, 虾、贝去壳后取可食部分, 分别以均质机充分均质后, 称取(5.00 \pm 0.05) g 均质好的样品, 置于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中, 加入 20 mL 2% 甲酸的乙腈溶液, 均质提取 10 s, 用 10 mL 提取液洗涤刀头 10 s, 洗涤液储备。向

50 mL离心管加入 4.0 g 无水硫酸钠, 涡动 30 s, 然后以 4 000 r/min 离心 5 min, 上清液转移到 125 mL分液漏斗中. 将洗涤液加入前一次提取后残渣中, 涡动提取 1 min, 4 000 r/min 离心 5 min, 合并上清液. 向分液漏斗加入 25 mL 乙腈饱和的正己烷, 振荡 2 min, 避光静置 15 min, 下层溶液 40 °C 水浴低压旋转蒸发至干, 加入 1 mL 10% 乙腈溶液(含 0.1% 甲酸)溶解残渣, 并加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡动 30 s. 溶液转移至 10 mL 离心管中, 4 000 r/min 离心 8 min. 用一次性注射器

吸取下层溶液, 过 0.22 μm 有机相滤膜, 取滤液上机检测.

2 结果与讨论

2.1 6 种 FQs 的质量色谱图

采用 1.3 中的色谱和质谱条件, 6 种 FQs 在 C18 (1.7 μm, 2.1 mm × 50 mm) 色谱柱上获得了良好的分离(图 1), 保留时间分别为 2.61 min (NOR)、2.65 min (OFL)、2.74 min (CIP)、2.93 min (DAN)、3.11 min (ENR) 和 3.49 min (SAR).

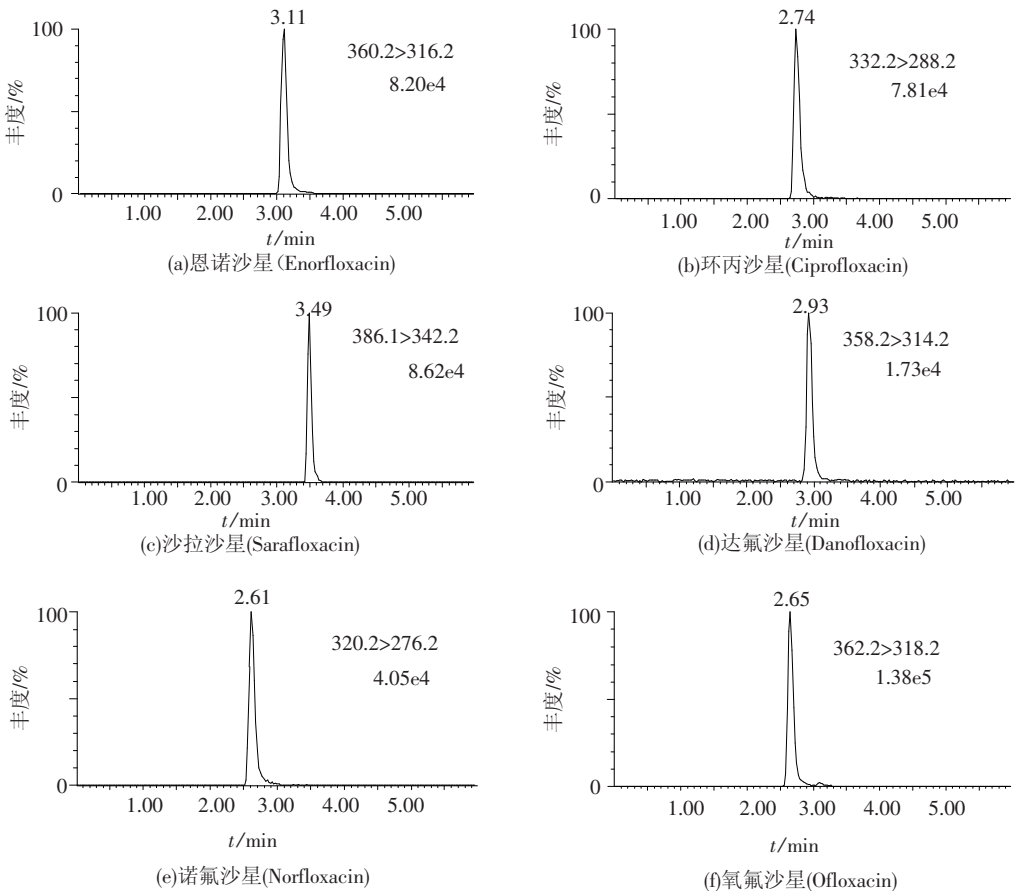


图 1 添加鱼肉基质(2.0 μg/kg)后 6 种药物的质量色谱图

2.2 提取溶液的选择

FQs 极性较大, 本实验研究了丙酮、甲醇和乙腈作为提取液提取鲤鱼肌肉中 6 种 FQs 药物的回收效果(空白基质添加质量分数为 50 μg/kg, n = 6), 结果见图 2. 可以看出, 乙腈作为提取剂时, 6 种 FQs 的回收率较好, 在 56.6% ~ 69.3%, 并且乙腈做提取剂时对于生物蛋白的沉淀作用也较好, 离心后的上层溶液比较澄清, 能起到一定的净化作用. 因此, 选择乙腈作为提取液.

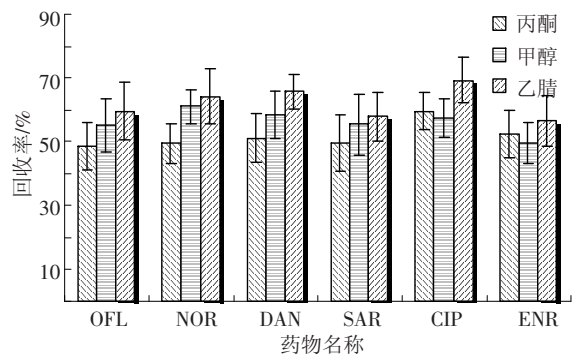


图 2 丙酮、甲醇和乙腈提取回收率比较

2.3 提取溶液 pH 的选择

有文献报道^[17-18], 提取剂添加一定比例的酸和碱可显著提高氟喹诺酮的回收率. 而本实验选择 ESI(+) 电离方式, 添加挥发性的酸有利于离子化效果, 因此, 考察了在提取液中添加一定量的酸对回收率的影响. 在乙腈提取液中分别添加体积分数为 1%、2%、3% 的甲酸, 将其与纯乙腈作为提取液时的回收率相比较, 结果如图 3 所示.

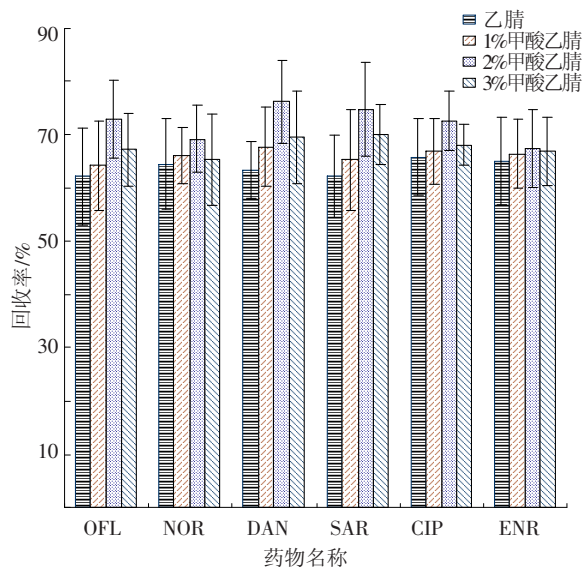


图 3 乙腈, 1%、2% 和 3% 甲酸乙腈提取液的回收率比较 ($n=6$)

图 3 可以看出, 酸化乙腈回收率普遍高于纯乙腈, 并且 2% 甲酸乙腈溶液作为提取液时回收效率最佳, 因此, 选择 2% 甲酸乙腈溶液作为提取液来提取水产品中 FQs 药物残留.

2.4 提取方式的选择

称取 (5.00 ± 0.05) g 均质好的空白鱼肉样品 ($n=6$), 加入 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的混合标准品溶液, 以 2% 甲酸乙腈溶液为提取溶剂, 分别按以下方法提取目标药物: ① 涡旋震荡提取; ② 超声 5 min 后涡旋震荡提取; ③ 均质提取. 图 4 为 3 种提取方式回收率的比较. 可以看出, 方式③的回收效果最佳. 因此, 选择方式③作为提取鲤鱼组织中 FQs 药物的提取方式.

2.5 净化方式的选择

选择 2% 乙腈均质提取时, 回收率达到了要求, 但是由于检测溶液较浑浊, 虽然质谱的选择性较好, 但对色谱柱和质谱仪造成污染, 减少使用寿命, 因此, 需对其进行净化处理. 选择脂溶性较好的正己烷除脂, 对提取液中的脂肪类杂质等采取 3 种不同的除脂方式: ① 只用 30 mL 乙腈饱和的正己烷除脂 1 次; ② 先用 25 mL 乙腈饱和的正己烷除脂, 旋转蒸干用 1 mL 流动相复溶后, 又加

入 5 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡动后离心; ③ 用 15 mL 乙腈饱和的正己烷除脂两次.

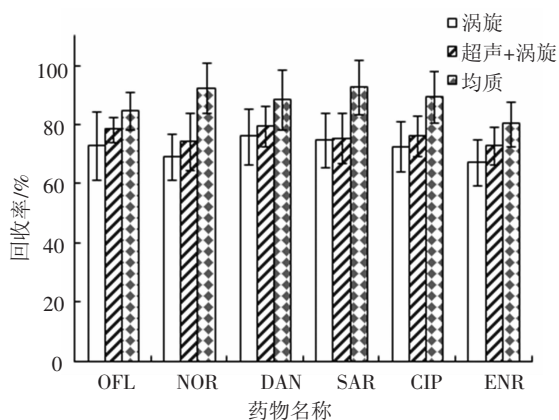


图 4 不同提取方式回收率的比较

方式①的净化效果较差, 而②、③的效果较好, 用流动相复溶后的溶液澄清透明. 但是净化方式②的平均回收率 (72.4% ~ 92.3%) 比方式③ (62.2% ~ 80.1%) 高, 因此, 选择第②种净化方式.

2.6 脱水剂加入量的选择

水产品可食性组织中含有大量的水分, 其与乙腈提取液是互溶的, 这将导致提取液的浓缩富集步骤所需时间较长. 针对这种情况一般有两种方法, 其一是加入能和水形成共沸的物质, 如异丙醇等; 其二是加入能和水结合而不与提取剂及目标分析物反应的物质, 如无水硫酸钠等. 由于异丙醇和水形成共沸的量不容易控制, 选择无水硫酸钠做脱水剂, 并对其添加量对蒸发时间和回收率的影响进行了探讨.

以肌肉组织中水分含量为研究目标, 做了未加及添加 3、4、5、6 和 7 g Na_2SO_4 的空白基质加标回收率实验 ($50 \mu\text{g}/\text{kg}$, $n=6$), 并结合旋转蒸发的时间考察其除水效果. 实验中, 旋转蒸发温度、蒸发瓶旋转速度、真空度及蒸发瓶的水下接触面积固定. 由图 5 可以看出, 无水硫酸钠加入后, 蒸发时间明显减少. 但是随着脱水剂加入质量的继续增加, 蒸干时间并没有明显提高, 回收率反而下降 (见图 6). 这说明 Na_2SO_4 在一定的质量时就将其中的水分完全去除, 再增加时, 由于表面吸附等原因, 一些含有目标分析物的提取剂也附着在 Na_2SO_4 表面, 造成提取液量减少, 导致回收率降低. 综合比较实验结果, 选择 4.0 g 无水硫酸钠作为本实验的脱水剂.

2.7 线性范围和灵敏度

按 1.1 节所述方法分别配制质量浓度为 1、2、5、20、50、100、200 和 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 混合标准工作溶液, 外加一个空白样品, 进样量均为 10 μL , 外标法

定量,其回归方程及相关系数如表2所示。 X 表示相应药物的质量浓度($\mu\text{g}/\text{L}$), Y 表示质谱响应值, R 表示相关系数。可见,在此范围内6种FQs的标准曲线线性关系良好, R^2 均在0.998以上,说明氟喹诺酮类药物在 $1 \sim 1\,000 \mu\text{g}/\text{L}$ 内,峰面积和浓度呈良好的线性关系。

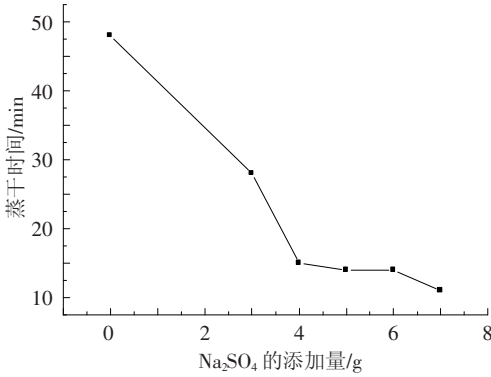


图5 提取液蒸干时间随 Na_2SO_4 添加量的变化

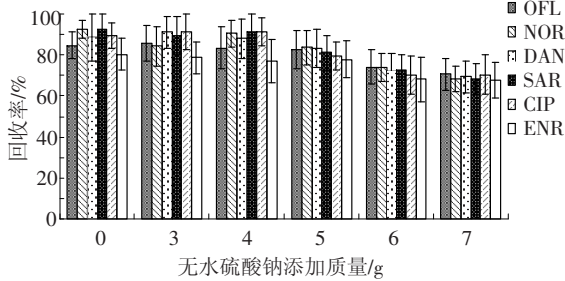


图6 Na_2SO_4 添加量对FQs回收率的影响

表2 6种氟喹诺酮的回归方程及相关系数

名称	回归方程	相关系数 R^2
达诺沙星	$Y = 32.56X + 30.53$	0.999
氧氟沙星	$Y = 121.3X - 24.72$	0.999
诺氟沙星	$Y = 49.56X + 18.35$	0.998
沙拉沙星	$Y = 71.08X - 8.47$	0.998
恩诺沙星	$Y = 118.11X - 26.25$	0.999
环丙沙星	$Y = 126.25X - 32.64$	0.999

采用向阴性样品中添加标准物质的方法考察灵敏度。在鱼、虾、蟹空白样品中添加6种FQs标准溶液(添加水平 $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$),经测定信噪比均大于3,表明在这3类水产品中的检测限(LOD)均可达 $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。在空白样品中添加水平为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,信噪比均大于10,表明其定量限(LOQ)均可达 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.8 回收率和精密度

采用空白加标的方式,以 $2, 20, 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 3个浓度梯度,每个浓度水平6个平行样品,考察6种FQs在鱼、虾和蟹3种水产品中的平均回收率和相对标准偏差,结果见表3。经过统计和计算,6种FQs在鱼、虾和蟹3种水产品中的回收率为 $76.9\% \sim 95.9\%$,精密度在 $4.8\% \sim 9.2\%$ 。回收率和精密度良好,符合水产品质量安全检测技术的需要。

表3 6种FQs添加到3种水产品中的回收率及相对标准偏差($n=6$)

水产品	添加水平/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	CIP	ENR	OFL	NOR	DAN	SAR
鱼	2	79.3 ± 6.9	78.6 ± 9.0	78.3 ± 5.9	77.5 ± 6.4	92.5 ± 8.7	86.5 ± 8.5
	20	85.1 ± 4.8	77.8 ± 8.3	81.5 ± 7.6	82.4 ± 9.7	78.6 ± 8.2	94.6 ± 7.3
	100	82.6 ± 8.4	86.2 ± 7.9	88.5 ± 8.5	79.7 ± 8.9	82.4 ± 7.8	92.5 ± 6.4
虾	2	76.9 ± 8.6	77.8 ± 6.3	87.5 ± 9.1	83.2 ± 7.3	95.9 ± 8.3	86.8 ± 8.5
	20	83.8 ± 6.8	81.3 ± 8.9	83.4 ± 7.6	82.5 ± 6.5	85.3 ± 5.1	94.3 ± 7.2
	100	82.3 ± 5.7	91.3 ± 5.3	92.5 ± 8.9	77.9 ± 6.8	77.6 ± 9.2	87.9 ± 6.4
蟹	2	80.3 ± 7.5	83.7 ± 6.8	79.7 ± 6.7	86.5 ± 8.3	87.6 ± 8.6	88.5 ± 7.6
	20	93.1 ± 9.1	79.2 ± 9.2	91.5 ± 7.6	89.7 ± 6.7	91.8 ± 7.5	90.3 ± 6.8
	100	87.4 ± 8.3	91.5 ± 8.6	93.3 ± 5.5	92.8 ± 7.3	93.1 ± 8.6	88.4 ± 9.0

3 结论

1) 液液萃取具有耗材低廉、易于操作等优势,采用含2%甲酸的乙腈做提取液进行均质提取,正己烷除脂, 5.0 g 水产品可食性组织中加入 4.0 g Na_2SO_4 除水,可显著提高前处理效率,满足

高通量检测的要求。

2) 该方法步骤简单、费用低、回收率高、精密度良好并且适合液质检测,可以作为水产品可食性组织中FQs残留的检测方法,进一步为药代动力学、消除规律及毒理评价等研究提供了灵敏、准确的分析手段。

参考文献

- [1] OLIPHANT C M, GREEN G M. Quinolones: a comprehensive review [J]. *American Family Physician*, 2002, 65(3): 455-464.
- [2] SAMUELSEN O B. Pharmacokinetics of quinolones in fish: a review [J]. *Aquaculture*, 2006, 255(1/2/3/4): 55-75.
- [3] BOXALL A B A, KOLPIN D W, HALLING-SORENSEN B, *et al.* Are veterinary medicines causing environmental risks? [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(15): 286-294.
- [4] KUMALA W, RANI A. Patterns of *Helicobacter pylori* isolate resistance to fluoroquinolones, amoxicillin, clarithromycin and metronidazoles [J]. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 2006, 37(5): 970-974.
- [5] WALTER G, ALFREDO C A, EVA M G, *et al.* Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface waters [J]. *Environmental Analysis*, 2003, 57(9): 485-491.
- [6] BACKHAUS T, SCHOLZE M, GRIMME L H. The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 49(1/2): 49-61.
- [7] SMART D J, LYNCH A M. Evaluating the genotoxicity of topoisomerase-targeted antibiotics [J]. *Mutagenesis*, 2012, 27(3): 359-365.
- [8] GOLET E M, ALDER A C, GIGER W. Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Vally watershed, Switzerland [J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(17): 3645-3651.
- [9] HERNANDEZ - ARTESEROS J A, BARBOSA J, COMPANO R, *et al.* Analysis of quinolone residues in edible animal products [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 945(1/2): 1-24.
- [10] 边永玲, 李秀娟, 郭建. 氟喹诺酮类兽药残留检测方法研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2008, 24(6): 28-31.
- [11] 黄晓蓉, 郑晶, 李寿崧, 等. 鳊鱼及其制品中喹诺酮类药物残留的微生物快速检测方法研究 [J]. *淡水渔业*, 2005, 35(4): 3-6.
- [12] 陈辉华, 戴军, 王洪新, 等. HPLC 法对鱼肉中 3 种四环素类和 5 种氟喹诺酮类兽药残留的同时测定 [J]. *分析测试学报*, 2008, 27(9): 951-955.
- [13] 李佩佩, 陈雪昌, 张小军, 等. 高效液相色谱法检测水产品中氟喹诺酮类药物残留量方法的优化 [J]. *中国渔业质量与标准*, 2012, 2(2): 84-88.
- [14] MCMULLEN S E, SCHENCK F J, VEGA V A. Rapid method for the determination and confirmation of fluoroquinolone residues in catfish using liquid chromatography/fluorescence detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of AOAC International*, 2009, 92(4): 1233-1240.
- [15] 杨方, 庞国芳, 刘正才, 等. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中 15 种喹诺酮类药物残留量 [J]. *分析实验室*, 2008, 27(12): 27-33.
- [16] 林峰, 林海丹, 吴映璇, 等. LC-MS-MS 测定烤鳊中 4 种氟喹诺酮类药物残留量 [J]. *分析测试学报*, 2004, 23(5): 43-47.
- [17] 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: 221-257.
- [18] 王立, 汪正范, 牟世芬, 等. 色谱分析样品处理 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 136-150.

(编辑 刘彤)