

免疫亲和注射器微萃取-高效液相色谱串联质谱法 测定牛奶中玉米赤霉醇类化合物

张欣达^{1,2}, 李娜³, 赵世瑾¹, 郑妍¹, 杨琳燕¹,
张伟¹, 李留安¹, 李存^{*1}

(1. 天津农学院 动物科学与动物医学学院/天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室, 天津 300384; 2. 天津市北大港湿地自然保护区管理中心, 天津 300270; 3. 天津市农业质量标准与检测技术研究所, 天津 300381)

摘要: 将偶联玉米赤霉醇单克隆抗体的二氧化硅作为注射器微萃取的选择性吸附剂, 建立了检测牛奶中 6 种玉米赤霉醇类化合物(ZERs)的免疫亲和注射器微萃取-高效液相色谱串联质谱法(IA-MEPS-LC-MS/MS)。将牛奶离心后, 取中间夹层, 使用免疫亲和注射器微萃取, 超纯水洗涤, 甲醇洗脱, 洗脱液浓缩, 流动相复溶后进行 LC-MS/MS 分析, 采用 C₁₈ 色谱柱分离, 水-乙腈为流动相梯度洗脱。使用基质匹配外标法定量, 在工作液质量浓度 0.1~100.0 ng/mL 时 6 种 ZERs 线性良好, 相关系数在 0.994 3~0.996 2; 在 ZERs 添加水平为 1 ng/g 时, 平均回收率在 50.40%~68.34%, 日内 RSD 在 4.87%~17.64%, 日间 RSD 在 7.04%~18.75%, 本方法的检测限(LOD)为 0.05 ng/g, 定量限(LOQ)为 0.2 ng/g。

关键词: 玉米赤霉醇类化合物; 免疫亲和注射器微萃取; 牛奶; 残留检测

中图分类号: O 657.63; TS 251.51 文章编号: 1673-1689(2023)05-0029-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.05.004

Determination of Zeranols in Milk Using Immunoaffinity Microextraction in a Packed Syringe and High Performance Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Xinda^{1,2}, LI Na³, ZHAO Shijin¹, ZHENG Yan¹, YANG Linyan¹,
ZHANG Wei¹, LI Liu'an¹, LI Cun^{*1}

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine/ Tianjin Key Laboratory of Agricultural Animal Breeding and Healthy Husbandry, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Tianjin Beidagang Wetland Management Center, Tianjin 300270, China; 3. Tianjin Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agricultural Products, Tianjin 300381, China)

Abstract: This research prepared a selective adsorbent on the basis of SiO₂ glass beads bound with zeranols monoclonal antibody and the method of immunoaffinity microextraction in a packed syringe and high performance liquid chromatograph-tandem mass spectrometry (IA-MEPS-LC-MS/MS) was

收稿日期: 2021-03-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(31372482); 天津市“131”创新型人才团队项目(JRC2018044); 天津市奶牛(肉羊)产业技术体系创新团队建设项目(ITTCRS2021000)。

* 通信作者: 李存(1971—), 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事兽医药理学与毒理学研究。E-mail: hhlicun@163.com

further developed to detect six kinds of zeranols (ZERs) in milk. Milk samples were centrifuged, and the middle layer was extracted with IA-MEPS syringe and washed by ultra-pure water before eluted with methanol. The eluent was concentrated and then re-dissolved by mobile phase. Finally, the sample was detected by LC-MS/MS, separated on a C_{18} column with the mobile phase of water and acetonitrile. Matrix-matched external standard method was used for quantification. The linearity of six ZERs was good within 0.1~100.0 ng/mL, and the correlation coefficient was 0.994 3~0.996 2. The average recoveries ranged from 50.40% to 68.34% at the addition level of 1 ng/g, the intra-day and the inter-day RSDs were 4.87%~17.64% and 7.04%~18.75%, respectively. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of this method were 0.05 ng/g and 0.2 ng/g, respectively.

Keywords: zeranols, immunoaffinity microextraction in a packed syringe, milk, residual determination

玉米赤霉醇类化合物(zeranols, ZERs)是由玉米赤霉菌产生的非甾类同化激素, 包括玉米赤霉酮(zearalanone, ZAN)、玉米赤霉烯酮(zearalanone, ZON)、 α -玉米赤霉醇(α -zearalanol, α -ZAL)、 α -玉米赤霉烯醇(α -zearalenol, α -ZOL)、 β -玉米赤霉醇(β -zearalanol, β -ZAL)和 β -玉米赤霉烯醇(β -zearalenol, β -ZOL)^[1]。ZON存在于玉米等饲料中, 被家畜食用后, 在体内代谢为 α -ZAL和 β -ZAL, α -ZAL对反刍动物有明显的促生长作用, 因此被广泛应用于养殖业。然而, ZERs易在动物体内造成残留, 通过食物链进入人体后, 会引起第二性征发育不全, 影响生长发育, 并具有潜在的“三致”作用^[2]。

目前, 常用的检测 ZERs 的方法有酶联免疫法(ELISA)、高效液相色谱法(HPLC)及高效液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)^[3-7]。而 LC-MS/MS 因其高灵敏度和选择性被广泛应用于动物源性食品检测。牛奶成分复杂, 含有大量的脂质、蛋白质、糖分等化合物, 能够对检测产生干扰。因此在检测前需要对样品进行前处理, 常用的方法有固相萃取、免疫亲和柱(IAC)净化等方法, 然而固相萃取需要消耗大量有机试剂、操作复杂、专属性差, IAC 价格昂贵且不能重复使用^[8-9]。注射器微萃取(MEPS)是 2004 年首次提出的一种新型的微萃取装置, 具有简单、快速、选择性好和灵敏度高等特点。MEPS 中常用的吸附剂有硅胶基质(C_2 、 C_8 、 C_{18})和 MIP^[10]。作者采用戊二醛法将抗体偶联在二氧化硅上作为 MEPS 的吸附剂, IA-MEPS 作为样品前处理方法, LC-MS/MS 测定牛奶中的 ZERs 含量。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1290 高效液相色谱仪、Agilent 6460 TripleQuad LC/MS、ZORBAX SB- C_{18} 色谱柱(3.5 μ m, 2.1 mm $\times$ 150 mm): 美国安捷伦公司产品; 超纯水仪: Millipak 公司产品; 水浴氮吹仪: 中国聚同电子有限公司产品; 离心机: 中国湘仪有限公司产品; 涡旋仪: 其林贝尔仪器制造有限公司产品; 注射泵: 保定申辰泵业有限公司产品; 扫描电子显微镜: 荷兰 Philips 公司产品。

玉米赤霉烯酮、 α -玉米赤霉醇、玉米赤霉酮、 β -玉米赤霉醇、 α -玉米赤霉烯醇、 β -玉米赤霉烯醇、3-氨丙基三乙氧基硅烷(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)、戊二醛、乙醇胺、硼氢化钠: 美国 Sigma 公司产品; 甲醇、乙腈(均为色谱纯): 德国 Merck 公司产品; 单克隆抗体: 作者所在实验室提供。

1.2 溶液配制

1.2.1 ZERs 标准储备液的配制 分别称取 1 mg 的 ZON、ZAN、 α -ZAL、 β -ZAL、 α -ZOL、 β -ZOL 标准品, 用甲醇定容至 100 mL, 配制成 10 μ g/mL 的 ZERs 标准储备液。保存在棕色容量瓶中, 4 $^{\circ}$ C 避光保存。

1.2.2 ZERs 标准工作液的配制 用甲醇将以上 6 种 ZERs 标准储备液逐级稀释至 1 μ g/mL, 配制成为标准工作液。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB- C_{18} (3.5 μ m, 2.1 mm $\times$ 150 mm); 流动相: A 相为水, B 相为乙

腈,梯度洗脱程序见表1;进样体积:10 μL ;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$ 。

表1 流动相梯度洗脱表

Table 1 Mobile phase gradient program

t/min	水体积分数/%	乙腈体积分数/%	流量/(mL/min)
0	75	25	0.2
5	30	70	0.2
6	30	70	0.4
9	75	25	0.4

1.3.2 质谱条件 质谱条件见表2。

表2 6种ZERs的质谱分析参数

Table 2 Mass spectrometry parameters for 6 ZERs

分析物	m/z (母离子)	m/z (子离子)	碰撞电压/ V	锥孔电压/ eV
α -ZAL	321.1	302.9	40	20
		276.9 [*]		20
β -ZAL	321.1	302.9	40	10
		276.9 [*]		15
α -ZOL	319.1	275.1	40	20
		159.8 [*]		25
β -ZOL	319.1	275.1	40	15
		159.6 [*]		25
ZAN	319.1	275.1	40	20
		160.8 [*]		20
ZON	317.0	174.6	40	20
		130.7 [*]		25

注:* 为定量离子。

1.3.3 基质效应测定 用甲醇分别配制质量浓度为1 $\mu\text{g/L}$ 的6种ZERs标准工作液,测定6种ZERs标准工作液的峰面积为 S_1 ;溶剂为空白样品基质解析液分别配制质量浓度为1 $\mu\text{g/L}$ 的ZERs的标准溶液,测定ZERs基质标准溶液峰面积为 S_2 ^[7]。

$$E_M = S_2/S_1 \times 100\%$$

式中: E_M 为基质效应, S_1 为6种ZERs标准工作液的峰面积, S_2 为ZERs基质标准溶液峰面积。

1.3.4 标准曲线的绘制 以空白牛奶样品(未添加ZERs的牛奶样品)解吸液作为溶剂,配制质量浓度为0.1、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL 的工作液,分别取10 μL 工作液进行分析,每个质量浓度进样3次。以0.1、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL 为横坐标,每个质量浓度对应的峰面积的平均值为纵坐标,构建基质匹配外标曲线,计算线性回归方程和

相关系数,进行线性相关性统计分析^[10]。

1.4 免疫亲和注射器制备

1.4.1 制备方法 参考文献[10-11]中的方法,将二氧化硅浸入溶液($V(\text{过氧化氢}):V(\text{浓硫酸})=7:3$)中,80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热1 h后分别用超纯水和纯乙醇对处理过的二氧化硅彻底冲洗。之后放入APTES乙醇溶液中室温下反应24 h,使用纯乙醇对其彻底冲洗。将经纯乙醇冲洗过的二氧化硅放入真空干燥箱中,80 $^{\circ}\text{C}$ 下固定15 h。放入含体积分数2.5%戊二醛的PBS缓冲液中活化5 h,经超纯水和PBS溶液彻底冲洗后浸入含单克隆抗体的PBS缓冲液中,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下反应24 h。将偶联有抗体的二氧化硅浸入乙醇胺水溶液中,4 $^{\circ}\text{C}$ 下反应1 h。最后放入含硼氢化钠的PBS缓冲液中48 h进行抗体固定。将偶联有单克隆抗体的二氧化硅手动填充到注射器内,两端用筛板固定,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.4.2 电镜表征分析 使用Philips XL-30电镜对制备的偶联有单克隆抗体的二氧化硅表面进行扫描,EHT为10 kV,WD为6.0 mm。

1.4.3 柱容量的测定 用超纯水将6种ZERs标准工作液分别稀释成100 ng/mL 的溶液,分别各取1 mL,用IA-MEPS萃取,抽吸流量为3.5 mL/min,萃取时间为15 min。再用超纯水洗去IA-MEPS注射器内部残留的化合物,之后用600 μL 甲醇溶液进行洗脱5 min,重复洗脱步骤1次,合并两次洗脱液。氮气吹干后200 μL 流动相复溶,进行LC-MS/MS分析。

1.5 方法验证

1.5.1 牛奶样品的净化 称取1 g牛奶于2 mL离心管内,添加一定量标准溶液,涡旋混匀,然后以10 000 r/min在20 $^{\circ}\text{C}$ 下离心10 min。弃去下层蛋白质沉淀和上层脂肪,取中间层。

将IA-MEPS注射器从冰箱内取出,恢复至室温后,将注射器安装在注射泵上,以3.5 mL/min的速率对离心后的牛奶进行萃取15 min。之后用1 mL的水对注射器反复清洗3次洗去附着的蛋白质等杂质,然后用600 μL 的纯甲醇溶液以3.5 mL/min流量洗脱5 min,重复洗脱步骤1次,合并两次解吸液,氮气吹干后,用200 μL 流动相复溶,0.22 μm 有机膜过滤,取10 μL 进行LC-MS/MS分析。使用后,用1 mL的解吸液清洗注射器5 min,最后用2 mL的PBS缓冲液冲洗注射器,除去注射器内残留的甲

醇,保护抗体涂层以延长使用寿命。用毕,注射器内吸满 PBS 缓冲液,保证吸附剂浸润在缓冲液中,并置于 4 ℃ 保存。

1.5.2 检测限和定量限的测定 取空白牛奶样品(做 10 个平行样品),按 1.5.1 的样品前处理方法、1.3.1 的色谱条件及 1.3.2 的质谱方法进行测定。测得基线噪音值,按信噪比 $S/N=3$ 为检测限, $S/N=10$ 为定量限。

1.5.3 平均回收率和精密度的测定 取空白牛奶样品 1 g,添加一定体积的 ZERs 标准工作液,使牛奶中 ZERs 的添加量为 1 ng/g,按照上述的样品前处理方法处理后用 LC-MS/MS 测定,一日内每个化合物取 5 个平行样品,分别测定,计算平均回收率和日内 RSD。连续测定 3 d,计算日间 RSD。

2 结果与分析

2.1 仪器方法优化结果

2.1.1 色谱条件的优化 目前 ZERs 残留检测的常用方法有 GC-MS^[12]、HPLC-UV^[6]和 LC-MS/MS^[8]。但是 GC-MS 的检测方法复杂,需要衍生化步骤,载样量少,而 HPLC 可以直接分离检测 ZERs,操作简单。ZERs 脂溶性高且缺乏解离性基团,因此仅需要相对简单的水与乙腈作为流动相。而分离效果则取决于色谱柱的填料。ZORBAX SB-C₁₈ 具有较大的二异丁基官能团,柱效较高,可以作为分离 ZERs 的色谱柱。由于 α -ZAL、 β -ZAL、 α -ZOL 和 β -ZOL 为同分异构体,使用质谱检测器不易分离,调节流动相比比例可以达到最优的分离效果,因此选择梯度洗脱程序保证 ZERs 充分分离^[3]。ZERs 在 200~400 nm 处有紫外吸收,但是具有严重的基质效应,对检测产生干扰,因此一般用于检测成品药物,不用于残留检测。ZERs 在衍生化后具有荧光性,可以使用荧光检测器进行检测,但是由于操作复杂,适用范围窄,因此本实验中没有采用荧光检测器^[6]。LC-MS/MS 在检测高极性和热稳定性差的分析物上具有突出优势^[13]。样品不需要衍生化步骤,直接进行分析即可获得待测物的结构信息,检测和确证能力强^[14],因此选择串联质谱作为检测器。

2.1.2 质谱条件的优化 由于 ZERs 含有一OH,在质谱检测时极易失去质子,不宜采用正离子模式,因而选择负离子模式进行扫描^[15]。在子离子与母离子选择上,由于 ZERs 在负离子模式下产生分子离

子[M-H]⁻,因此选择[M-H]⁻作为母离子,再进行子离子扫描,定量离子为丰度最强碎片离子,定性离子为丰度次强的碎片离子^[16]。在 MS/MS 扫描中,ZON 产生碎片[M-H-CO₂]⁻和[M-H-C₈H₁₄O₂]⁻,另外 5 种 ZERs 丢失一分子 H₂O 和 CO₂ 后产生[M-H-H₂O]⁻和[M-H-CO₂]⁻。最后,以选择反应监测(MRM) 负离子(ESI⁻)模式优化锥孔电压、碰撞能量等参数。优化后的质谱条件如表 2 所示^[13]。

2.1.3 基质效应测定结果 质谱分析中普遍存在基质效应,影响分析的准确性^[17]。基质效应结果见表 3。其中当基质效应大于 100%时是基质增强效应,当基质效应小于 100%时则是基质抑制效应^[16]。从表 3 中可以看出 α -ZOL、 β -ZOL、ZAN、ZON 基质效应较严重,而 α -ZAL、 β -ZAL 基质效应较小,为降低基质效应对定量的影响,提高分析的准确性,基质匹配外标曲线将用于定量分析。

表 3 牛奶样品 6 种 ZERs 的基质效应

Table 3 Matrix effect for 6 ZERs in milk

分析物	S ₂	S ₁	基质效应/%
α -ZAL	1 627.44	1 666.06	97.68
β -ZAL	1 309.65	1 257.01	104.19
α -ZOL	981.82	518.16	189.48
β -ZOL	1 154.83	806.16	143.25
ZAN	599.89	770.04	77.90
ZON	444.68	309.89	143.50

2.1.4 标准曲线的绘制 通过构建基质匹配外标曲线,计算线性回归方程和相关系数,进行线性相关性统计分析,回归方程见表 4。在工作液质量浓度为 0.1~100.0 ng/mL 时,6 种 ZERs 线性关系良好,相关系数在 0.994 3~0.996 2,可以用于定量分析。

2.2 免疫亲和注射器性能

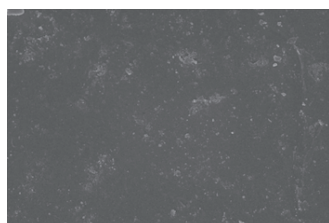
2.2.1 电镜表征结果 图 1 为未经处理的二氧化硅表面和已偶联上抗体的二氧化硅表面的电镜扫描图片,电镜结果的差异表明经过戊二醛活化后抗体被偶联至二氧化硅表面。二氧化硅稳定性好,易被戊二醛活化,因此选择二氧化硅作为抗体偶联载体^[11]。

2.2.2 柱容量 测定 6 种 ZERs 的柱容量见表 5,柱容量为 0.284~0.429 ng/mg。与 IAC 相比柱容量较低,但与免疫亲和和搅拌棒相比柱容量增加了一倍^[18]。虽然柱容量较低但是检测仪器灵敏度较高,因此本方法可用于牛奶中 ZERs 的检测。

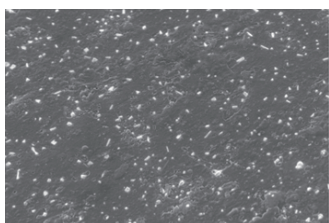
表 4 标准曲线、方法的检出限和定量限

Table 4 Calibration curve, the detection limit and quantification limit of method

分析物	质量浓度/(ng/mL)	回归方程	相关系数(R^2)	检测限/(ng/g)	定量限/(ng/g)
α -ZAL	0.1~100.0	$y=0.873\ 4x-1.489\ 7$	0.996 2	0.05	0.2
β -ZAL	0.1~100.0	$y=1.085\ 8x+0.378\ 7$	0.994 3	0.05	0.2
α -ZOL	0.1~100.0	$y=1.407\ 6x-2.946\ 8$	0.994 3	0.05	0.2
β -ZOL	0.1~100.0	$y=1.054\ 6x-2.642\ 8$	0.994 8	0.05	0.2
ZAN	0.1~100.0	$y=0.998\ 8x+0.092\ 9$	0.995 9	0.05	0.2
ZON	0.1~100.0	$y=0.974\ 5x+2.538\ 6$	0.995 9	0.05	0.2



(a) 未经处理的二氧化硅表面



(b) 偶联有抗体的二氧化硅表面

图 1 二氧化硅表面电镜扫描图

Fig. 1 Scanning electron microscopy of the silicon dioxide surface

表 5 6 种 ZERs 的柱容量及保留时间

Table 5 Retention time and column capacities of ZERs

分析物	保留时间/min	柱容量/(ng/mg)
α -ZAL	3.459	0.284
β -ZAL	3.040	0.294
α -ZOL	3.558	0.386
β -ZOL	4.280	0.365
ZAN	4.222	0.429
ZON	4.050	0.338

2.3 方法验证

2.3.1 检测限和定量限 按 1.5.1 的样品前处理的方法和 1.3.1 的色谱条件处理样品,测得基线噪音值,结果见表 4。方法的 LOD 为 0.05 ng/g, LOQ 为 0.2 ng/g。

2.3.2 平均回收率和精密度 6 种 ZERs 的平均回收率为 50.40%~68.34%(见表 6),与其他前处理方法相比回收率较低,但是本方法属于微萃取的一种,且检测化合物属于“零残留限量”化合物即只需

要定性不需要定量分析,因此可以作为检测 ZERs 残留的方法^[19]。日内 RSD 为 4.87%~17.64%,日间 RSD 为 7.04%~18.75%,均低于 20%,符合药物残留检测标准,IA-MEPS 可以与注射泵相连接实现自动萃取,降低了手动萃取的误差,具有良好的重复性^[20]。IA-MEPS 方法的特异性通过分析空白样品进行评价。加标样品经 IA-MEPS 萃取后,色谱峰峰形良好,表明 IA-MEPS 能够降低基质影响并能有效地富集纯化 ZERs。本方法与其他方法^[9]相比,所需样本量小,有机试剂的使用量减少至 1/15,前处理时间缩短了一半,是一种环境友好的前处理方法,适用于复杂样品中目标化合物的痕量分析。

表 6 牛奶样品中 ZERs 的平均回收率和精密度测定

Table 6 Average recoveries and precision for ZERs in milk samples

分析物	加标质量分数/(ng/g)	平均回收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
α -ZAL	1	57.23	10.11	17.47
β -ZAL	1	50.40	8.94	17.95
α -ZOL	1	68.34	17.33	18.75
β -ZOL	1	58.98	5.28	17.16
ZAN	1	52.82	17.64	18.00
ZON	1	63.86	4.87	7.04

注:日内 RSD 中的 $n=5$;日间 RSD 的 $n=3$ 。

3 结 语

将偶联玉米赤霉醇单克隆抗体的二氧化硅作为注射器微萃取的选择性吸附剂,建立了检测牛奶中 6 种 ZERs 的 IA-MEPS-LC-MS/MS 方法。前处理时间短,有机试剂使用量少,制备的 IA-MEPS 可以重复使用,成本低,且操作简单,与注射泵相连接后可以实现自动萃取,重复性高,是一种环境友好的样品前处理方法。

参考文献:

- [1] 谢瑜杰,陈辉,彭涛,等. QuEChERS- 高效液相色谱 - 串联质谱测定牛奶中 6 种玉米赤霉烯酮类毒素[J]. 食品科学, 2019, 40(10):304-310.
- [2] CARLA M T, PAOLA M P, SILVIA N S, et al. Simultaneous multi-residue determination of twenty one veterinary drugs in poultry litter by modeling three-way liquid chromatography with fluorescence and absorption detection data[J]. *Talanta*, 2017, 167:442-452.
- [3] 王超众,刘信奎,张连成,等. 动物源性食品中 65 种兽药残留的快速检测方法[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(4):102-111.
- [4] SUN X, TANG Q, DU X L, et al. Simultaneous determination of ractopamine, chloramphenicol, and zeranols in animal-originated foods by LC-MS/MS analysis with immunoaffinity clean-up column[J]. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(10):3239-3246.
- [5] 张欣达,张伟,杨琳燕,等. 注射器微萃取的研究进展及应用前景[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(6):80-84.
- [6] 孙雪,郝存显,唐柏彬,等. 复合免疫亲和柱净化 - 液相色谱 - 串联质谱法测定动物源食品中 6 种黄曲霉毒素和 6 种玉米赤霉醇类真菌毒素残留量[J]. 分析化学, 2016, 44(6):970-978.
- [7] 游丽娜,李贤良,郝存显,等. 免疫亲和柱净化 - 高效液相色谱法同时检测鸡蛋中 6 种玉米赤霉醇类化合物残留量[J]. 色谱, 2012, 30(10):1021-1025.
- [8] SANGELA N C, JOSIAS M, EDUARDO C. Bract as a novel extraction phase in thin-film SPME combined with 96-well plate system for the high-throughput determination of estrogens in human urine by liquid chromatography coupled to fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatogr B*, 2019, 1118:17-24.
- [9] VALERIE P, AUDREY C, NATHALIE D. Immunosorbents in microextraction[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 113:246-255.
- [10] ZHANG X D, WANG C C, YANG L Y, et al. Determination of eight quinolones in milk using immunoaffinity microextraction in a packed syringe and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatogr B*, 2017, 1064:68-74.
- [11] YAO K, ZHANG W, YANG L Y, et al. Determination of 11 quinolones in bovine milk using immunoaffinity stir bar sorptive microextraction and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatogr B*, 2015, 1003:67-73.
- [12] ZHANG J, WU W F, SONG Y F, et al. Homogeneous assay for zearalenone analogues and their docking studies with apo-/holo-estrogen receptors[J]. *Analytical Methods*, 2019, 11(2):192-199.
- [13] 何建丽,彭涛,谢洁,等. 固相萃取 - 液相色谱 - 串联质谱法测定食品包装材料中 16 种全氟烷基类化合物[J]. 色谱, 2016, 34(7):708-714.
- [14] SUN X, TANG Q, DU X L, et al. Simultaneous determination of ractopamine, chloramphenicol, and zeranols in animal-originated foods by LC-MS/MS analysis with immunoaffinity clean-up column[J]. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(10):3239-3246.
- [15] 何建丽,彭涛,谢洁,等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定动物肝脏中 20 种全氟烷基类化合物[J]. 分析化学, 2015, 43(1):40-48.
- [16] WANG Q, ZHAO H, XI C, et al. Determination of chloramphenicol and zeranols in pig muscle by immunoaffinity column clean-up and LC-MS/MS analysis[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2014, 31(7):1177-1186.
- [17] 杨兆甜,吴亚婕,王莹,等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法检测猪肉中多兽药残留[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(7):44-50.
- [18] WANG C C, YANG L Y, LI N, et al. Development of immunoaffinity solid phase microextraction rods for analysis of three estrogens in environmental water samples[J]. *Journal of Chromatogr B*, 2017, 1061:41-48.
- [19] 章璐幸,孙洁胤,王延辉,等. 免疫亲和固相萃取 - 超高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定牛奶中 6 种玉米赤霉醇类化合物残留[J]. 色谱, 2018, 36(6):566-572.
- [20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 动物源性食品中玉米赤霉醇残留量的测定液相色谱 - 串联质谱法:GB/T23218—2008[S]. 北京:中国标准出版社, 2008:12-31.