DOI:10.12441/spyswjs.20240221001 [文章编号] 1673-1689(2025)07-0161-12

# 同时测定乌骨鸡肉中39种兽药及其代谢物UPLC-MS/MS法的建立与应用

杜家伟[1] 李永琴[1,2] 靳双媛[1] 王雪妍[1] 温宏武[3] 郭雪莲[1] 李 昊[1] 许立华[1*]

(1. 宁夏大学动物科技学院,宁夏 银川 750021; 2. 宁夏回族自治区兽药饲料监察所,宁夏 银川 750011; 3. 宁夏吴忠市盐池县农业农村局畜牧技术推广服务中心,宁夏 吴忠 751500)

**摘要:**【目的】全面排查乌骨鸡兽药残留风险。【方法】结合乌骨鸡临床用药种类,利用低温超声提取、固相萃取前处理技术与超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry,UPLC-MS/MS),建立了一种同时测定3类共39种兽药及其代谢物的快速检测方法。用Mcllvaine-$Na_2$EDTA和磷酸盐缓冲液对样品进行低温超声提取,再用Oasis HLB固相萃取柱净化样品,样品经T3色谱柱分离后,采用基质匹配外标法进行定量。【结果】39种兽药及其代谢物在基质匹配外标溶液质量浓度为2.0~500.0 μg/L时呈现良好的线性关系,相关系数均大于0.990,检出限为2.0 μg/kg,定量限为10.0 μg/kg,该方法在加标质量分数为10.0~100.0 μg/kg时的加标回收率为68%~111%,相对标准偏差($n$=5)为0.65%~15.12%。该方法灵敏度高、定性及定量结果可靠,可满足对乌骨鸡肉兽药残留的检测要求。使用该方法对60份市售乌骨鸡肉进行检测,结果显示,市售乌骨鸡肉中检出了氟喹诺酮类、四环素类和磺胺类兽药,其中2份样品的恩诺沙星检测结果(153.187、174.979 μg/kg)超出最大残留限量;2份样品的甲氧苄啶检测结果(55.007、111.391 μg/kg)超出最大残留限量;2份样品的二甲氧苄啶检测结果(153.779、189.801 μg/kg)超出最大残留限量。【结论】市售乌骨鸡肉中存在一定的磺胺类兽药抗菌增效剂残留风险,需要加强抗菌增效剂在乌骨鸡养殖中的用药监管。

**关键词:**乌骨鸡;兽药残留;快速检测;恩诺沙星;甲氧苄啶;二甲氧苄啶

# Establishment and Application of a UPLC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of 39 Veterinary Drugs and Their Metabolites in Black Bone Chicken

*DU Jiawei*[1] *LI Yongqin*[1,2] *JIN Shuangyuan*[1] *WANG Xueyan*[1] *WEN Hongwu*[3]
*GUO Xuelian*[1] *LI Hao*[1] *XU Lihua*[1*]

(1. School of Animal Science and Technology, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Ningxia Veterinary Drugs and Fodder Inspection Institute, Yinchuan 750011, China; 3. Husbandry Technology Extension Service Center of Yanchi Bureau of Agriculture and Rural Affairs, Wuzhong 751500, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study aims to comprehensively investigate the risk of veterinary drug residues in black bone chicken. [**Method**] A method for rapid and simultaneous analysis of 39 veterinary drugs and their metabolites in three categories was established based on low-temperature ultrasonic extraction, solid-phase extraction pretreatment, and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

**基金项目:**宁夏回族自治区畜产品安全与品质监控创新团队项目(2022BSB03108);畜禽产品质量安全评价与监控技术应用研究项目(2018BBF02002);宁夏大学兽医硕士人才培养方案改革与实践项目(YJG01837)。

**通信作者:**许立华(1972—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事微生物学与免疫学、动物疫病诊断与防控技术研究。E-mail:littlezhe99@163.com

**收稿日期:**2024-02-21 **修回日期:**2024-03-19

(UPLC-MS/MS). The samples were extracted by McIlvaine-$Na_2EDTA$ and phosphate buffer *via* ultrasonic treatment at low temperatures, purified by Oasis HLB solid-phase extraction column, separated by T3 chromatographic column, and quantified by the matrix matching external standard method. [**Result**] The 39 veterinary drugs and their metabolites showed good linear relationships in the matrix matching external standard solutions with the mass concentration range of 2.0~500.0 μg/L, with the correlation coefficients greater than 0.990. The limits of detection and quantification were 2.0 μg/kg and 10.0 μg/kg, respectively. The spike recovery rates of the method ranged from 68% to 111% at fortified mass fractions of 10.0~100.0 μg/kg, and the relative standard deviation ($n$=5) ranged from 0.65% to 15.12%. The method had high sensitivity and reliable qualitative and quantitative results, meeting the requirements for the detection and analysis of veterinary drug residues in black bone chicken. This method was then used to test 60 samples of black bone chicken sold on the market. The results showed that fluoroquinolones, tetracyclines, and sulfonamides were detected in commercial black bone chicken. The mass fraction of enrofloxacin, trimethoprim, and diaveridine exceeded the maximum residue limits in two (153.187, 174.979 μg/kg), two (55.007, 111.391 μg/kg), and two (153.779, 189.801 μg/kg) samples, respectively. [**Conclusion**] There is a certain risk of the residues of sulfonamides in black bone chicken on the market, and it is necessary to strengthen the supervision on use of antibiotics in black bone chicken breeding.

**Keywords:** black bone chicken; veterinary drug residue; rapid detection; enrofloxacin; trimethoprim; diaveridine

随着全球畜牧业的迅速发展，国内外对抗生素的使用量也显著增加。据统计，美国兽用抗生素占人用和兽用总用量的70%，我国养殖业抗生素使用量占总产量的46.1%[1-2]。虽然兽用抗生素在预防和治疗动物疾病方面发挥重要作用，但不遵守休药期规定或超剂量使用会导致动物产品中兽药残留超标，不仅威胁人体健康，还可能增加细菌的耐药性，并对环境造成污染[3-4]。

中国乌骨鸡养殖和食用历史悠久，但近年乌骨鸡产品中兽药残留超标事件时有发生。根据国家市场监督管理总局和食品安全网的统计数据，2017—2021年，我国乌骨鸡产品共有305批次兽药残留超标[5]，且部分样品存在同时检测出多种兽药残留的情况。其中，氟喹诺酮类兽药残留超标186批次，占比61.0%；磺胺类兽药残留超标110批次，占比36.1%；甲氧苄啶和四环素类分别有42批次和5批次超标，占比分别为13.8%和2.7%（见图1）。由此可见，氟喹诺酮类兽药一直是乌骨鸡产品存在兽药残留风险的主要因素。自2020年以来，磺胺类兽药检出率出现下降趋势，而甲氧苄啶兽药残留超标的风险显著上升。从我国监测情况来看，氟喹诺酮类、磺胺类兽药及其抗菌增效剂都是乌骨鸡中兽药残留的主要风险因素，四环素类兽药残留超标的情况偶有发生。因此，建立同时筛查这3类兽药残留的检测方法具有重要的研究意义和应用前景。

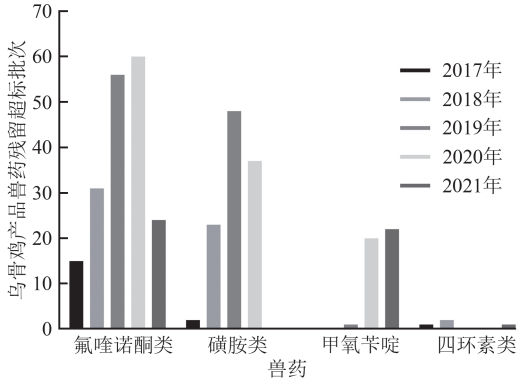



图1 2017—2021年乌骨鸡部分兽药残留超标情况

Fig. 1 Current status of limit-exceeding veterinary drug residues in black bone chicken from 2017 to 2021

二甲氧苄啶和甲氧苄啶同为磺胺类兽药抗菌增效剂，广泛应用于家禽养殖过程中，基于甲氧苄啶的相关研究，推测二甲氧苄啶在乌骨鸡产品中有类似的兽药残留风险[6]，但在我国和欧盟暂无二甲氧苄啶最大残留限量标准，日本规定二甲氧苄啶的最大残留限量为50 μg/kg[7]。因此，作者以乌骨鸡为研究对象，选择了乌骨鸡中兽药残留超标风险较高的兽药和同类型兽药及其代谢物，包括二甲氧苄啶、甲氧苄啶、恩诺沙星、环丙沙星、沙拉沙星等，共计3类39种，尝试建立能够快速分析筛查乌骨鸡中兽药残留的高通量方法，以期扩大乌骨鸡兽药残留风险的筛查覆盖面，为乌骨鸡兽药残留风险分析提供技术支撑。同时，该研究随机从32个市场采集乌骨鸡产品共60份，进行兽药

残留情况市场调研与分析，以期对市售乌骨鸡兽药残留情况进行摸底和分析，为农产品质量安全监测提供科学依据及参考。

## 1　材料与方法

### 1.1　仪器与设备

UPLC-MS/MS：ACQUITY UPLC-Xevo TQ-S micro型，美国Waters公司；电子天平：AE-205型，瑞士Mettler Toledo公司；超声波清洗机：CQ-400B-DST型，上海跃进医用光学器械厂；Milli-Q超纯水系统：IQ7005型，美国Millpore公司；高速冷冻离心机：CT15RT型，日本Hitachi公司；氮吹仪：N-EVAP 113型，美国Organomation Associates公司。

### 1.2　标准品与试剂

#### 1.2.1　标准品

4种四环素类兽药标准品：中国食品药品检定研究院；磺胺氯吡嗪、甲氧苄啶、二甲氧苄啶标准品：中国兽医药品监察所；19种磺胺类兽药标准品（溶于甲醇，100 mg/L）、13种氟喹诺酮类兽药标准品（溶于甲醇，100 mg/L）：上海安谱璀世标准技术服务有限公司。

#### 1.2.2　主要试剂及溶液配制

甲醇、甲酸、乙腈、乙酸乙酯：色谱纯，美国Thermo Fisher Scientific公司；二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠、一水合柠檬酸：分析纯，天津市科密欧化学试剂有限公司；Oasis HLB固相萃取柱（200 mg，6 mL）、0.22 μm微孔亲水性聚丙烯滤膜：美国Waters公司。

Mcllvaine-$Na_2$EDTA缓冲液：取一水合柠檬酸12.9 g、十二水合磷酸氢二钠10.9 g和二水合乙二胺四乙酸二钠39.2 g，溶于1 000 mL去离子水中，用1 mol/L的NaOH溶液将pH调至5.0±0.2。磷酸盐缓冲液：取0.05 mol/L磷酸二氢钠溶液190 mL置于1 L容量瓶中，加入0.05 mol/L磷酸氢二钠溶液定容至1 000 mL。洗脱液：量取150 mL甲醇、150 mL乙酸乙酯、6 mL氨水，混匀。复溶液：量取40 mL水，加入5 mL甲醇、5 mL乙腈、50 μL甲酸，混匀。

#### 1.2.3　标准工作液的配制

精确称取四环素类兽药、甲氧苄啶和二甲氧苄啶标准品0.010 0 g，用甲醇溶解并定容至10 mL容量瓶中，配制成质量浓度为1 mg/mL的标准储备液，置于棕色试剂瓶中，于−18 ℃保存。根据使用需要分别精确移取适量各标准储备液，配制成不同质量浓度的混合标准工作液，4~8 ℃冷藏保存。

### 1.3　兽药选择

该试验选择兽药主要考虑以下方面：1）参考农业部农办医函【2015】37号、农业部公告第2292号中规定在养殖环节禁止使用的兽药，包括洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星[8-9]；2）查阅近年来市场上乌骨鸡不合格产品中主要残留超标兽药，以及学者研究证明在乌骨鸡体内代谢缓慢、代谢周期较长的兽药，主要包括恩诺沙星（乌骨鸡禁用）、沙拉沙星、磺胺类兽药及其抗菌增效剂[5,10-14]；3）目前国内还没有规定最大残留限量，但存在兽药残留风险的兽药，如二甲氧苄啶与甲氧苄啶以及同样作为磺胺类兽药的抗菌增效剂。该研究将这些兽药纳入检测对象，以期能够紧追产业发展要求，预先掌握更多乌骨鸡兽药残留风险因子[15-17]。

### 1.4　检测条件

#### 1.4.1　液相色谱条件

使用ACQUITY UPLC BEH C18色谱柱（2.1 mm×100 mm×1.7 μm），流动相A为乙腈，流动相B为体积分数0.1%甲酸水溶液，柱温为40 ℃，进样量为1 μL，流量为0.3 mL/min。UPLC梯度洗脱程序见表1。

表1　UPLC梯度洗脱程序

Table 1　Gradient elution program of UPLC

| 时间/min | 流动相A体积分数/% | 流动相B体积分数/% |
|---|---|---|
| 0 | 5 | 95 |
| 0.5 | 5 | 95 |
| 3.0 | 75 | 25 |
| 3.1 | 10 | 90 |
| 5.0 | 10 | 90 |

#### 1.4.2　质谱条件

电子喷雾正离子源（$ESI^+$），多反应监测模式（MRM），离子源温度100 ℃，雾化温度450 ℃，电离电压3.0 kV，锥孔气流量30 L/h，雾化器流量1 000 L/h。39种兽药及其代谢物的质谱检测参数见表2。

#### 1.4.3　前处理方法

该研究采样部分为乌骨鸡的肌肉，准确称取1.00 g均质的乌骨鸡肉样品，置于50 mL聚丙烯离心管中，加入8 mL Mcllvaine-$Na_2$EDTA缓冲液，高速

表2 39种兽药及其代谢物的质谱检测参数

Table 2 Mass spectrometry monitoring parameters of 39 veterinary drugs and their metabolites

| 兽药名称 | 相对分子质量 | 保留时间/min | 定性离子对的 *m/z* | 碰撞能量/eV | 定量离子对的 *m/z* | 碰撞能量/eV | 锥孔电压/V |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 盐酸四环素 | 480.8 | 2.60 | 445.00,410.10 | 20 | 445.00,427.20 | 13 | 32 |
| 金霉素 | 478.8 | 3.48 | 479.30,444.20 | 24 | 479.30,462.10 | 22 | 10 |
| 土霉素 | 460.4 | 2.35 | 460.94,426.07 | 20 | 460.94,443.20 | 13 | 2 |
| 多西环素 | 444.4 | 3.73 | 445.20,154.00 | 30 | 215.00,428.00 | 18 | 10 |
| 多西环素 | 444.4 | 3.73 | 445.20,410.20 | 20 | 215.00,428.00 | 18 | 10 |
| 乙酰磺胺 | 214.2 | 1.22 | 215.00,108.00 | 18 | 215.00,156.00 | 12 | 25 |
| 磺胺吡啶 | 249.3 | 1.82 | 249.97,91.99 | 28 | 249.97,155.99 | 18 | 38 |
| 磺胺嘧啶 | 250.3 | 1.46 | 250.94,91.99 | 28 | 250.94,155.99 | 14 | 6 |
| 磺胺甲恶唑 | 253.3 | 3.30 | 253.94,92.05 | 28 | 253.94,155.99 | 14 | 2 |
| 磺胺噻唑 | 255.3 | 1.72 | 256.10,91.98 | 30 | 256.10,155.96 | 14 | 42 |
| 磺胺甲嘧啶 | 264.3 | 1.96 | 265.10,92.00 | 25 | 265.10,156.00 | 15 | 35 |
| 磺胺二甲异噁唑 | 267.3 | 3.57 | 268.00,92.00 | 28 | 268.00,156.00 | 13 | 30 |
| 磺胺甲噻二唑 | 270.3 | 2.49 | 271.10,92.00 | 25 | 271.10,156.00 | 15 | 30 |
| 苯甲酰磺胺 | 276.3 | 3.84 | 276.95,91.99 | 30 | 276.95,155.92 | 12 | 22 |
| 磺胺二甲异嘧啶 | 278.3 | 2.44 | 279.00,124.00 | 13 | 279.00,186.00 | 12 | 20 |
| 磺胺二甲嘧啶 | 278.3 | 1.35 | 278.94,91.98 | 32 | 278.94,185.98 | 16 | 42 |
| 磺胺间甲氧嘧啶 | 280.3 | 2.96 | 280.94,91.98 | 30 | 280.94,155.97 | 16 | 4 |
| 磺胺氯吡嗪 | 284.7 | 3.94 | 284.84,92.09 | 30 | 284.84,108.02 | 26 | 30 |
| 磺胺甲氧哒嗪 | 280.3 | 2.57 | 280.95,91.98 | 30 | 280.95,155.97 | 18 | 30 |
| 磺胺对甲氧嘧啶 | 280.3 | 2.47 | 280.89,92.04 | 28 | 280.89,155.97 | 16 | 4 |
| 磺胺氯哒嗪 | 284.7 | 3.03 | 284.90,92.00 | 30 | 284.90,156.00 | 14 | 20 |
| 磺胺邻二甲氧嘧啶 | 310.3 | 3.34 | 310.92,91.98 | 30 | 310.92,155.97 | 18 | 22 |
| 磺胺间二甲氧嘧啶 | 310.3 | 4.08 | 311.00,92.00 | 24 | 311.00,156.00 | 12 | 50 |
| 磺胺苯吡唑 | 314.4 | 4.12 | 314.95,91.98 | 38 | 314.95,158.11 | 32 | 22 |
| 酞磺胺噻唑 | 403.4 | 3.56 | 404.10,149.10 | 32 | 404.10,256.10 | 15 | 20 |
| 恶喹酸 | 261.2 | 3.76 | 262.00,216.00 | 20 | 262.00,244.00 | 8 | 12 |
| 氟甲喹 | 261.3 | 4.82 | 262.00,202.00 | 32 | 262.00,244.00 | 18 | 29 |
| 诺氟沙星 | 319.3 | 2.29 | 320.20,233.10 | 24 | 320.20,302.10 | 18 | 30 |
| 依诺沙星 | 320.3 | 2.16 | 321.00,234.00 | 23 | 321.00,303.00 | 18 | 32 |
| 环丙沙星 | 331.3 | 2.39 | 332.32,230.96 | 40 | 332.32,245.08 | 22 | 50 |
| 培氟沙星 | 333.4 | 2.35 | 334.00,290.10 | 16 | 334.00,316.10 | 18 | 23 |
| 洛美沙星 | 351.4 | 2.58 | 352.20,265.10 | 23 | 352.20,308.10 | 16 | 40 |
| 达氟沙星 | 357.4 | 2.60 | 358.07,96.02 | 26 | 358.07,340.20 | 22 | 34 |
| 恩诺沙星 | 359.4 | 2.72 | 360.10,72.00 | 34 | 360.10,245.00 | 28 | 45 |
| 氧氟沙星 | 361.4 | 2.31 | 362.10,261.10 | 30 | 362.10,318.10 | 24 | 42 |
| 麻保沙星 | 362.4 | 2.12 | 363.00,72.00 | 14 | 363.00,320.00 | 10 | 34 |
| 沙拉沙星 | 385.4 | 3.05 | 386.00,299.08 | 30 | 386.00,342.10 | 22 | 33 |
| 二氟沙星 | 399.4 | 3.09 | 400.00,299.00 | 32 | 400.00,356.10 | 20 | 37 |
| 甲氧苄啶 | 290.3 | 2.14 | 291.08,123.04 | 28 | 291.08,229.99 | 24 | 66 |
| 二甲氧苄啶 | 260.3 | 1.84 | 261.08,123.05 | 22 | 261.08,245.16 | 24 | 24 |

涡旋振荡，4 ℃低温超声 20 min，于 4 ℃、8 000 r/min离心 5 min，取上清液，向残渣中加入 8 mL 磷酸盐缓冲液，涡旋混匀，超声 20 min，于 4 ℃、12 000 r/min 离心 5 min，混匀、合并 2 次上清液，于 4 ℃、15 000 r/min离心 5 min，转移至新的 50 mL 离心管中待净化。取固相萃取柱（200 mg，6 mL），依次加入甲醇、水各 5 mL 活化柱子，取 16 mL 合并后的上清液过固相萃取柱，依次加入 5 mL 水、5 mL 体积分数

20%甲醇水溶液淋洗，用洗耳球挤出柱中残留的液体，再向柱管中加入洗脱液10 mL，收集全部洗脱液于45 ℃水浴氮气吹干，加入1.0 mL复溶液溶解。充分涡旋振荡，15 000 r/min离心3 min，过0.22 μm微孔亲水性聚丙烯滤膜，用UPLC-MS/MS测定并分析。

### 1.5　定量限与线性范围的确定

在混合标准工作液中加入1.0 g空白乌骨鸡肌肉组织，分别制成质量浓度为2.0、10.0、50.0、100.0、250.0、500.0 μg/L无兽药残留的空白样品，经前处理后上机测定，根据色谱信号信噪比（*S*/*N*）≥10，确定39种兽药及其代谢物的定量限。

准确量取适量混合标准工作液，用复溶液配制成质量浓度分别为2.0、10.0、50.0、100.0、250.0、500.0 μg/L的系列混合标准工作液，取6份空白样品氮吹后的残余物，依次加入配制好的系列标准溶液1 mL，充分溶解后得到空白基质匹配系列标准工作液，过微孔滤膜后上机测定。每个质量浓度的样品测定3次，以不同兽药标准溶液的质量浓度为横坐标、特征离子质量色谱峰面积为纵坐标绘制基质匹配标准曲线。

### 1.6　精密度与加标回收率的测试

称取空白乌骨鸡肉1.0 g，用混合标准工作液对空白样品进行加标（10.0、50.0、100.0 μg/kg），经前处理后上机测定，每组平行性检测5份样品，重复3次计算回收率、批内标准差和批间标准差。

### 1.7　市售乌骨鸡中兽药残留量检测

市售乌骨鸡肉中兽药残留检测结果评价标准参照GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》，其中二甲氧苄啶在国标中无规定，参考其相同类型兽药甲氧苄啶以及日本标准，见表3。样品中若任何一种兽药检测值超过最大残留限量规定，则该样品被评定为不合格。相同样品中存在几种兽药残留不合格，不重复计算不合格数。使用Excel软件对样品数据进行整理、分析。

## 2　结果与讨论

### 2.1　前处理条件的优化

乌骨鸡肉中蛋白质等干扰物质含量较高，前处理过程中降低杂质对兽药的干扰十分有必要。当选择常用有机试剂乙腈、甲醇为提取溶液时，样品迅速凝固结块，回收率较低，不利于目标兽药提取，且毒性较大，故选取Mcllvaine-$Na_2EDTA$和磷酸盐缓冲液作为提取试剂[18]。Mcllvaine-$Na_2EDTA$可与基质中内源性干扰杂质结合，阻止兽药与基质中的金属离子和蛋白质结合，减少目标兽药损失，进而提高回收率[19-22]；四环素类兽药、氟喹诺酮类兽药在磷酸盐缓冲液中有较高的溶解性，可显著提高回收率，2次不同试剂的提取可提高多种兽药的提取效率[23-25]，见图2。样品前处理过程中离心常采取常温离心，但试验过程中发现常温离心效果不佳，脂肪等组分在净化过程中常出现堵柱现象[22,26-28]。所以在提取过程中，一直保持4 ℃低温、高速离心能够将脂质分离至上层，有效防止共萃取杂质干扰导致固相萃取柱发生堵柱现象，保证过柱效率。在氮吹结束复溶之后再添加离心步骤，可有效去除杂质，降低过膜体积减少和过膜损耗。

表3　乌骨鸡肉兽药残留检测结果评价标准

Table 3　Evaluation criteria for the detection results of veterinary drug residues in black bone chicken

| 兽药名称 | 残留限量/（μg/kg） |
|---|---|
| 四环素、金霉素、土霉素 | 200 |
| 多西环素 | 100 |
| 磺胺类 | 100 |
| 磺胺二甲嘧啶 | 100 |
| 恶喹酸、环丙沙星、恩诺沙星 | 100 |
| 氟甲喹 | 500 |
| 诺氟沙星、培氟沙星、洛美沙星氧氟沙星 | 2 |
| 达氟沙星 | 200 |
| 沙拉沙星 | 10 |
| 二氟沙星 | 300 |
| 甲氧苄啶 | 50 |
| 二甲氧苄啶 | 50 |

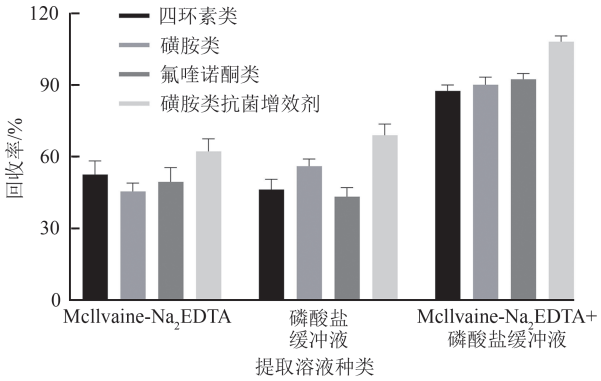
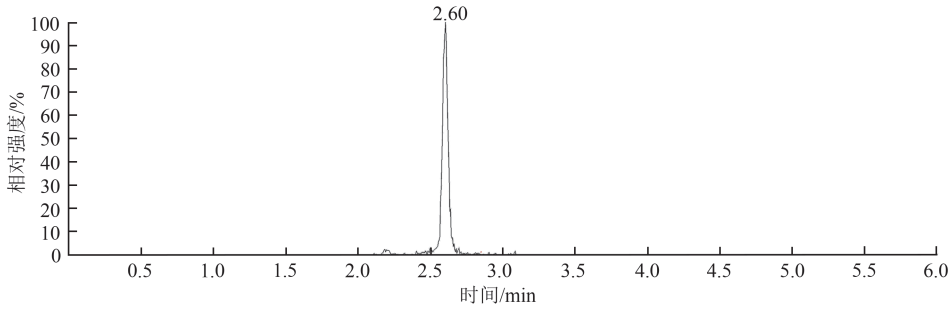



图2　不同试剂提取结果对比

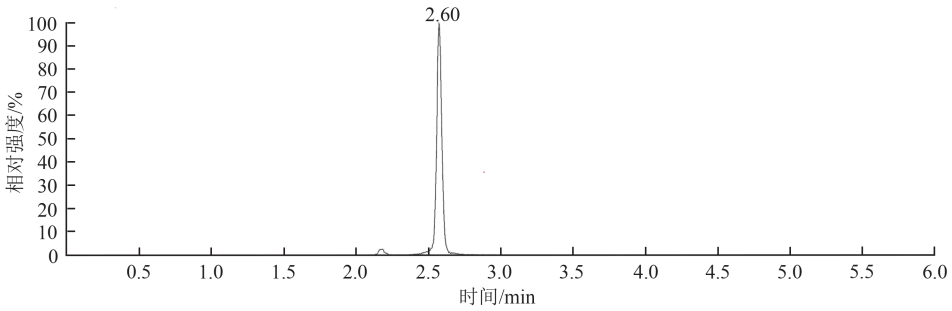
Fig. 2　Comparison of extraction results with different reagents

## 2.2 色谱柱的优化

常规检测氟喹诺酮类、磺胺类兽药多以C18柱作为色谱柱进行化合物的分离鉴定，但本方法涉及兽药种类较多，采用常规C18色谱柱进行多种类兽药检测时，四环素、酞磺胺噻唑、恶喹酸、磺胺嘧啶等兽药峰型较差，故采用T3色谱柱进行化合物的分离鉴定，结果表明在T3色谱柱下，39种化合物的分离效果较好，能够达到检测鉴定条件，部分兽药C18和T3色谱柱分离效果见图3~8。



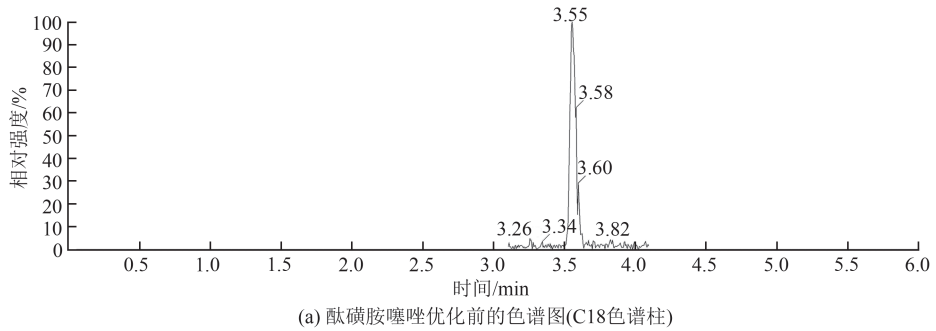

(a) 四环素优化前的色谱图(C18色谱柱)



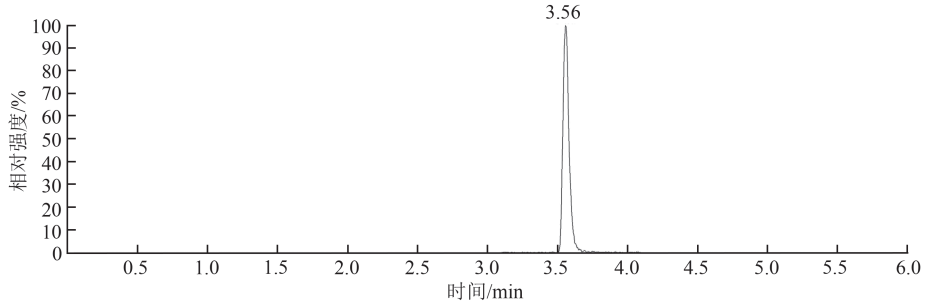

(b) 四环素优化后的色谱图(T3色谱柱)

图 3 四环素优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 3 Comparison of chromatograms of tetracycline before and after optimization



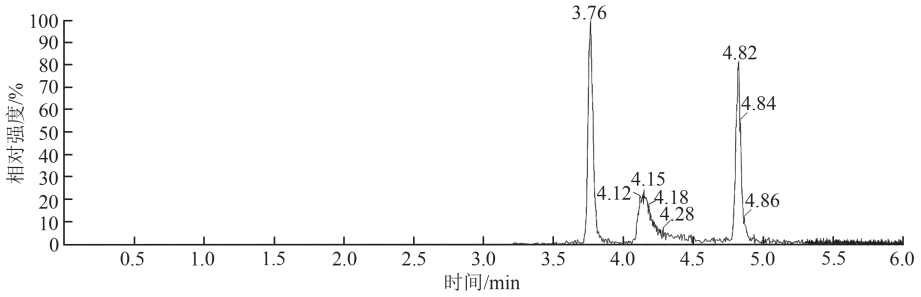

(a) 酞磺胺噻唑优化前的色谱图(C18色谱柱)



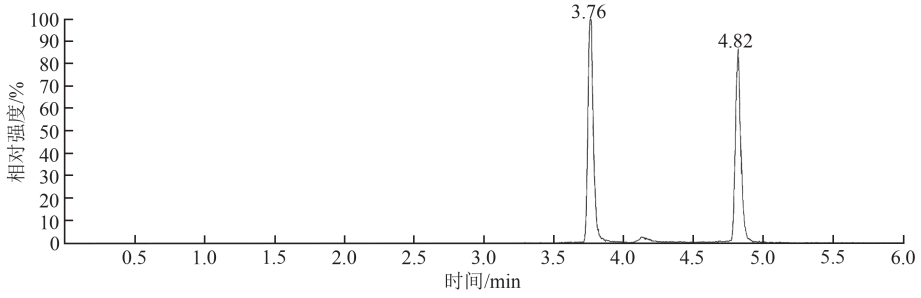

(b) 酞磺胺噻唑优化后的色谱图(T3色谱柱)

图 4 酞磺胺噻唑优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 4 Comparison of chromatograms of phthalylsulfathiazole before and after optimization



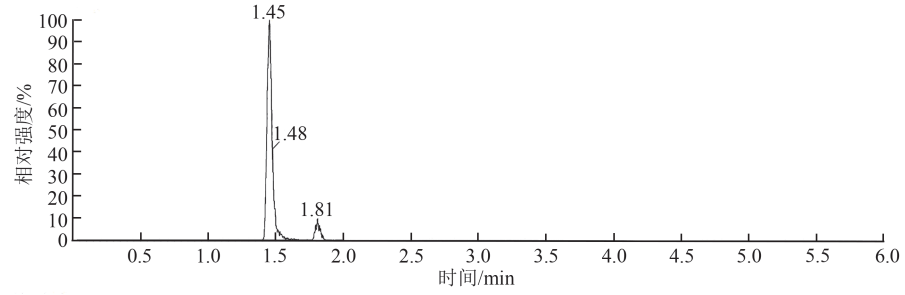

(a) 恶喹酸优化前的色谱图(C18色谱柱)



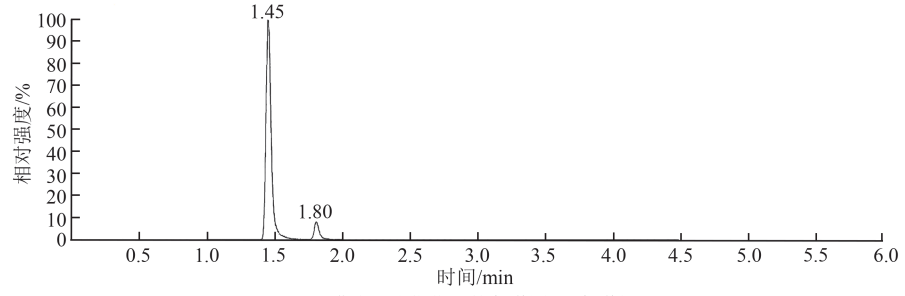

(b) 恶喹酸优化后的色谱图(T3色谱柱)

图5　恶喹酸优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 5　Comparison of chromatograms of oxolinic acid before and after optimization




(a) 磺胺嘧啶优化前的色谱图(C18色谱柱)




(b) 磺胺嘧啶优化后的色谱图(T3色谱柱)

图6　磺胺嘧啶优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 6　Comparison of chromatograms of sulfadiazine before and after optimization

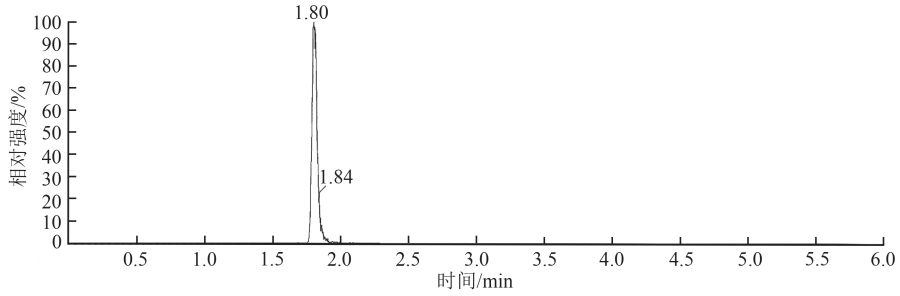
## 2.3　方法学验证

### 2.3.1　定量限与线性范围结果

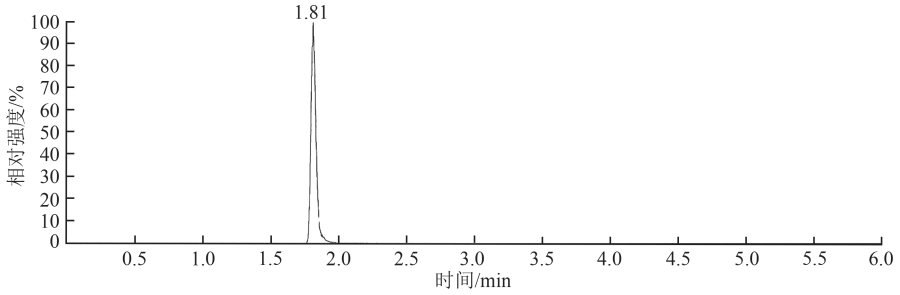
根据色谱信号$S/N$≥10，最终确定3大类39种兽药及其代谢物的定量限均为10 μg/kg。39种兽药及其代谢物在2.0~500.0 μg/L呈现良好线性关系，相关系数>0.990，结果见表4。

### 2.3.2　精密度与加标回收率的测定结果

乌骨鸡肉中39种兽药及其代谢物的加标回收率与精密度见表4。结果显示，在加标质量分数为10.0 μg/kg时，加标回收率为72.26%~110.68%，相对标准偏差为2.64%~12.25%；在加标质量分数为50.0 μg/kg时，加标回收率为68.89%~108.93%，相



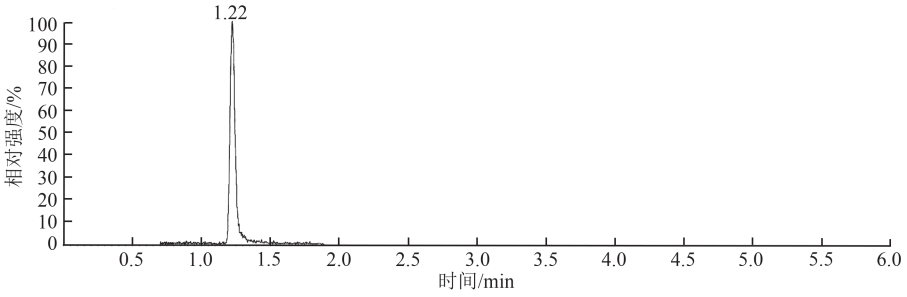

(a) 磺胺吡啶优化前的色谱图(C18色谱柱)



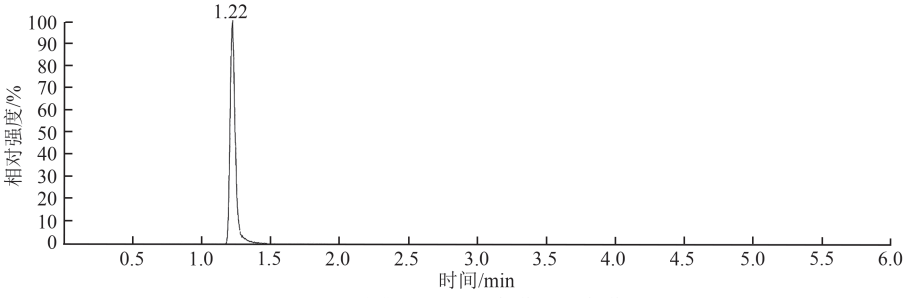

(b) 磺胺吡啶优化后的色谱图(T3色谱柱)

图 7　磺胺吡啶优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 7 Comparison of chromatograms of sulfapyridine before and after optimization




(a) 乙酰磺胺优化前的色谱图(C18色谱柱)




(b) 乙酰磺胺优化后的色谱图(T3色谱柱)

图 8　乙酰磺胺优化前和优化后的色谱图对比

Fig. 8　Comparison of chromatograms of sulfacetamide before and after optimization

对标准偏差为 1.11%~15.12%；在加标质量分数为 100.0 μg/kg 时，加标回收率为 81.19%~109.85%，相对标准偏差为 0.65%~4.72%。结果表明，本方法对乌骨鸡肉中 39 种兽药及其代谢物的测定结果均符合 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和试验指南》[29]。

### 2.4　实际样品测定结果

从 32 个农贸市场、超市采集 60 份市售活体及冰鲜乌骨鸡，活体宰杀前经严格健康检查，宰杀后取乌骨鸡肉作为被检材料，采用建立的方法进行实际样品测定，检测结果见表 5。结果显示，在抽取的乌骨鸡样品中，四环素类兽药多西环素和土霉素分

表4　乌骨鸡肉中39种兽药及其代谢物的线性方程、相关系数及加标回收率

Table 4　Linear equations, correlation coefficients, and spiked recovery rates of 39 veterinary drugs and their metabolites in black bone chicken

| 兽药名称 | 线性方程 | 相关系数 | 加标回收率/% | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 加标质量分数为10.0 μg/kg | 加标质量分数为50.0 μg/kg | 加标质量分数为100.0 μg/kg |
| 盐酸四环素 | $y$=854.914$x$+305.68 | 0.998 008 | 76.77±2.57 | 79.43±2.36 | 86.34±1.30 |
| 金霉素 | $y$=289.446$x$−87.459 6 | 0.997 128 | 76.09±0.73 | 84.28±1.58 | 87.50±0.31 |
| 土霉素 | $y$=667.17$x$+114.102 | 0.998 502 | 73.30±2.20 | 73.73±1.49 | 87.45±0.06 |
| 多西环素 | $y$=1 483.84$x$−1 225.1 | 0.997 910 | 74.52±2.09 | 75.18±1.21 | 87.42±0.23 |
| 乙酰磺胺 | $y$=1 809.2$x$−944.933 | 0.998 977 | 72.26±3.01 | 70.67±3.44 | 84.83±2.60 |
| 磺胺吡啶 | $y$=1 441.2$x$+1 230.32 | 0.997 696 | 94.38±6.17 | 98.60±3.86 | 101.73±3.68 |
| 磺胺嘧啶 | $y$=1 263.25$x$+121.458 | 0.998 837 | 99.19±8.31 | 104.01±3.74 | 107.64±4.87 |
| 磺胺甲恶唑 | $y$=1 273.07$x$−517.639 | 0.998 741 | 96.67±6.23 | 93.44±1.30 | 96.63±1.76 |
| 磺胺噻唑 | $y$=1 714.07$x$−308.54 | 0.999 183 | 75.38±6.51 | 73.18±3.49 | 85.01±4.35 |
| 磺胺甲嘧啶 | $y$=1 030.17$x$+927.441 | 0.996 599 | 99.56±3.78 | 106.01±5.95 | 104.81±4.48 |
| 磺胺二甲异噁唑 | $y$=1 822.94$x$−1 600.63 | 0.998 649 | 87.51±8.26 | 81.53±4.18 | 84.27±2.42 |
| 磺胺甲噻二唑 | $y$=1 656.22$x$−101.769 | 0.998 981 | 93.99±9.30 | 94.57±3.81 | 98.06±2.49 |
| 苯甲酰磺胺 | $y$=2 529.25$x$−1 656.65 | 0.999 267 | 95.15±7.09 | 91.17±1.52 | 94.00±2.58 |
| 磺胺二甲异嘧啶 | $y$=554.265$x$+408.949 | 0.996 888 | 103.17±1.31 | 107.48±2.77 | 105.37±1.45 |
| 磺胺二甲嘧啶 | $y$=854.927$x$−561.484 | 0.998 853 | 96.27±6.33 | 90.77±5.17 | 92.56±11.01 |
| 磺胺间甲氧嘧啶 | $y$=1 239.23$x$+61.431 8 | 0.998 479 | 108.41±7.92 | 104.22±4.48 | 102.76±8.76 |
| 磺胺氯吡嗪 | $y$=691.351$x$−571.076 | 0.997 078 | 80.37±4.25 | 88.08±1.38 | 85.84±1.89 |
| 磺胺甲氧哒嗪 | $y$=1 371.65$x$+3 853.6 | 0.995 738 | 104.58±3.24 | 108.79±2.86 | 107.36±8.05 |
| 磺胺对甲氧嘧啶 | $y$=530.56$x$+231.827 | 0.998 146 | 110.68±10.24 | 102.75±3.51 | 103.90±5.09 |
| 磺胺氯哒嗪 | $y$=1 326.51$x$−322.004 | 0.999 015 | 91.83±9.77 | 88.39±2.63 | 87.15±10.00 |
| 磺胺邻二甲氧嘧啶 | $y$=1 752.14$x$+948.122 | 0.998 945 | 106.56±5.05 | 108.93±3.44 | 107.68±7.09 |
| 磺胺间二甲氧嘧啶 | $y$=482.894$x$−619.798 | 0.996 306 | 84.15±2.11 | 71.48±1.93 | 82.25±1.73 |
| 磺胺苯吡唑 | $y$=862.673$x$−861.596 | 0.998 481 | 94.77±3.60 | 70.84±1.30 | 83.74±0.28 |
| 酞磺胺噻唑 | $y$=205.285$x$−143.213 | 0.990 354 | 93.88±0.79 | 70.64±7.00 | 84.93±0.74 |
| 恶喹酸 | $y$=700.342$x$+175.017 | 0.998 314 | 104.61±0.74 | 108.54±2.33 | 109.85±1.09 |
| 氟甲喹 | $y$=3 458.28$x$−2 392.47 | 0.998 763 | 92.84±5.91 | 87.12±5.34 | 97.39±0.53 |
| 诺氟沙星 | $y$=298.995$x$−55.080 9 | 0.998 404 | 91.69±3.46 | 84.42±4.03 | 86.48±0.33 |
| 依诺沙星 | $y$=230.972$x$+122.373 | 0.998 313 | 89.75±1.61 | 89.94±2.64 | 92.66±1.86 |
| 环丙沙星 | $y$=177.445$x$+57.802 | 0.995 018 | 103.30±5.45 | 92.84±4.19 | 92.25±1.45 |
| 培氟沙星 | $y$=462.023$x$−157.881 | 0.998 203 | 106.26±2.73 | 100.77±4.58 | 105.43±2.50 |
| 洛美沙星 | $y$=1 103.15$x$−840.26 | 0.997 742 | 90.01±1.21 | 78.60±2.52 | 81.19±0.06 |
| 达氟沙星 | $y$=282.915$x$+105.628 | 0.995 098 | 104.84±4.38 | 98.70±3.63 | 102.20±1.88 |
| 恩诺沙星 | $y$=727.186$x$+26 998.9 | 0.988 407 | 98.96±15.22 | 96.69±4.41 | 99.15±0.13 |
| 氧氟沙星 | $y$=714.999$x$−260.653 | 0.999 089 | 95.03±1.79 | 86.99±2.55 | 89.25±2.48 |
| 麻保沙星 | $y$=705.949$x$−183.793 | 0.999 138 | 95.93±1.88 | 86.16±1.96 | 87.26±2.68 |
| 沙拉沙星 | $y$=445.598$x$−242.545 | 0.997 526 | 80.68±2.91 | 68.89±0.57 | 85.39±1.25 |
| 二氟沙星 | $y$=811.9$x$−293.226 | 0.997 659 | 94.17±3.37 | 82.69±2.76 | 82.68±0.91 |
| 甲氧苄啶 | $y$=600.457$x$+797.101 | 0.996 990 | 106.73±3.86 | 106.61±1.53 | 107.11±1.61 |
| 二甲氧苄啶 | $y$=2 337.75$x$+3 006.9 | 0.997 593 | 101.34±7.03 | 107.39±2.44 | 109.50±2.64 |

别检出1批次、6批次，检出率分别为1.67%、10.00%，两者残留量为10.807~155.328 μg/kg，均符合GB 31650—2019中规定的四环素类兽药最大残留限量，合格率为100%；磺胺类兽药残留检出率由高到低依次为磺胺甲嘧啶（6.67%）、磺胺氯哒嗪（1.67%）和磺胺嘧啶（1.67%），三者残留量为

11.398~15.140 μg/kg，根据 GB 31650—2019 中的规定，鸡肉组织中磺胺类兽药最大残留限量为 100 μg/kg，因此合格率为 100%；氟喹诺酮类兽药中，恩诺沙星（以恩诺沙星与环丙沙星之和计）检出 4 批次，残留量分别为 38.414、51.217、153.187、174.979 μg/kg，根据 GB 31650—2019 中规定的鸡肉组织中恩诺沙星兽药最大残留限量为 100 μg/kg，合格率为 96.67%，而其他氟喹诺酮类兽药均未检出；甲氧苄啶在 3 份样品（残留量分别为 35.890、55.007、111.391 μg/kg）中检出，二甲氧苄啶在 2 份样品（残留量分别为 153.779、189.801 μg/kg）中检出，参考 GB 31650—2019 和日本标准中规定这 2 种兽药的最大残留限量为 50 μg/kg，合格率均为 96.67%。

表 5 市售乌骨鸡肉的兽药残留检出结果及超标结果统计

Table 5 Detection results and limit-exceeding results of veterinary drug residues in black bone chicken on the market

| 兽药名称 | 检出率/% | 超标率/% | 合格率/% | 残留量/（μg/kg） |
|---|---|---|---|---|
| 土霉素 | 10.00 | 0 | 100.00 | 10.807~155.328 |
| 多西环素 | 1.67 | 0 | 100.00 | 22.182 |
| 磺胺嘧啶 | 1.67 | 0 | 100.00 | 11.693 |
| 磺胺甲嘧啶 | 6.67 | 0 | 100.00 | 11.398~14.080 |
| 磺胺氯哒嗪 | 1.67 | 0 | 100.00 | 15.140 |
| 恩诺沙星 | 6.67 | 3.33 | 96.67 | 38.414~174.979 |
| 甲氧苄啶 | 5.00 | 3.33 | 96.67 | 35.890~111.391 |
| 二甲氧苄啶 | 3.33 | 3.33 | 96.67 | 153.779~189.801 |

### 2.5 乌骨鸡肉中兽药残留情况分析

通过对比乌骨鸡的市场抽样调查结果以及 2 次统计数据，发现乌骨鸡肉中超标的兽药为氟喹诺酮类兽药以及磺胺类兽药抗菌增效剂甲氧苄啶和二甲氧苄啶。四环素和磺胺类兽药在本次抽样检测中虽有检出但未超标。值得注意的是，本次抽样中二甲氧苄啶兽药的残留量（153.779~189.801 μg/kg）大于甲氧苄啶（35.890~111.391 μg/kg），说明其在乌骨鸡养殖中广泛使用，存在较大残留超标风险。甲氧苄啶和二甲氧苄啶同为抗菌增效剂，兽医临床中常与磺胺类兽药配制成预混剂用于预防和治疗鸡球虫病及肠道感染[30]。乌骨鸡兽药残留容易超标的原因包括：一方面是兽药在乌骨鸡养殖过程中的使用没有严格遵照休药期规定，造成乌骨鸡体内兽药残留超标；另一方面，有学者研究证明氟喹诺酮类兽药、磺胺类兽药及其抗菌增效剂与黑色素具有很好的亲和力，而乌骨鸡各组织器官尤其是皮脂富含大量黑色素，这可能是这些兽药代谢缓慢导致兽药残留超标的原因[31-33]。Yuan 等[12]研究了磺胺氯哒嗪、恩诺沙星及甲氧苄啶在泰和乌骨鸡 4 种组织中的药代动力学，发现恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星和甲氧苄啶在肌肉、肝脏、肾脏、皮脂中代谢缓慢，皮脂是兽药残留的主要组织。其中磺胺氯哒嗪、恩诺沙星、甲氧苄啶在皮脂中的推荐休药期分别为 14、284、159 d。Zhao 等[13]选择余干乌骨鸡进行磺胺氯哒嗪和甲氧苄啶代谢消除研究得出的结论和 Yuan 等[12]的大致相同，在停药后的第 40 天，皮脂中的甲氧苄啶质量分数高达 140.15 μg/kg。国家兽药基础数据库的恩诺沙星可溶性粉说明书中已经标注乌骨鸡禁用，而磺胺类兽药及其抗菌增效剂的休药期仍根据肉鸡制定，关于乌骨鸡具体休药期标准的制定尚有欠缺[34]。未来的工作应着重于乌骨鸡抗菌兽药代谢的进一步研究，并针对代谢缓慢的兽药制定具体的休药期标准。同时，还应加强对乌骨鸡中其他兽药代谢的研究，从而选出更适合乌骨鸡的抗菌兽药，以提升产品质量并为消费者健康提供保障。

## 3 结论

作者建立的检测方法以 Mcllvaine-$Na_2EDTA$ 缓冲液和磷酸缓冲液作为提取液，通过低温超声、低温离心、固相萃取柱净化，有效去除了样品中的脂质及其他干扰物质，建立了针对乌骨鸡肉的快速、准确、高效的前处理方法。T3 色谱柱可提升多种兽药的分离度，利用 UPLC-MS/MS 实现了乌骨鸡中 39 种兽药及其代谢物的定性、定量分析。乌骨鸡的市场抽样调查中，土霉素检出 6 份（残留量为 10.807~155.328 μg/kg），多西环素检出 1 份（残留量为 22.182 μg/kg），磺胺甲嘧啶检出 4 份（残留量为 11.398~14.080 μg/kg），磺胺嘧啶检出 1 份（残留量为 11.693 μg/kg），磺胺氯哒嗪检出 1 份（残留量为 15.140 μg/kg），恩诺沙星检出 4 份（残留量为 38.414、51.217、153.187、174.979 μg/kg），甲氧苄啶检出 3 份（残留量为 35.890、55.007、111.391 μg/kg），二甲氧苄啶检出 2 份（检测值为 153.779、

189.801 μg/kg），表明市售乌骨鸡肉中存在磺胺类兽药抗菌增效剂残留风险，对乌骨鸡中磺胺类兽药抗菌增效剂的使用控制和休药期规定需要进行更深入的研究。

## 参考文献


[1] ANOMALY J. Harm to others：the social cost of antibiotics in agriculture[J]. Journal of Agricultural and Environmental Ethics，2009，22(5)：423-435.

[2] 程兆康，杨金山，吕敏，等. 我国畜禽养殖业抗生素的使用特征及其环境与健康风险[J]. 农业资源与环境学报，2022，39(6)：1253-1262.
CHENG Z K，YANG J S，LÜ M，et al. Antibiotics used in livestock and poultry breeding and its environmental and health risks in China：a review[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment，2022，39(6)：1253-1262.(in Chinese)

[3] 廖盛美，张清海，李林竹，等. 中国基于检验检测的食品过程质量控制研究进展[J]. 食品科学，2023，44(17)：305-311.
LIAO S M，ZHANG Q H，LI L Z，et al. Research progress on quality control in food processing based on inspection and testing in China[J]. Food Science，2023，44(17)：305-311.(in Chinese)

[4] 李春颖，王红义，李永春，等. 表面增强拉曼光谱技术在动物源性食品兽药残留检测中的应用[J]. 光谱学与光谱分析，2023，43(6)：1667-1675.
LI C Y，WANG H Y，LI Y C，et al. Application progress of surface-enhanced Raman spectroscopy for detection veterinary drug residues in animal-derived food [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis，2023，43(6)：1667-1675.(in Chinese)

[5] 张璐，巩忠福，张玉洁，等. 乌鸡中氟喹诺酮类药物残留现状分析[J]. 中国兽药杂志，2023，57(10)：79-82.
ZHANG L，GONG Z F，ZHANG Y J，et al. Analysis of fluoroquinolone residues status in black-bone fowl[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug，2023，57(10)：79-82.(in Chinese)

[6] 孙灵灵，袁宗辉，李梅，等. 抗菌增效剂药动学与残留消除研究进展[J]. 中国畜牧兽医，2016，43(12)：3141-3148.
SUN L L，YUAN Z H，LI M，et al. Research progress on pharmacokinetics and residue elimination of antibacterial synergist [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2016，43(12)：3141-3148.(in Chinese)

[7] 郭红燕，周连根，钟佳莲，等. 二甲氧苄啶在猪体内的残留消除[J]. 华南农业大学学报，2015，36(4)：32-35.
GUO H Y，ZHOU L G，ZHONG J L，et al. Residue depletion of diaveridine in pigs[J]. Journal of South China Agricultural University，2015，36(4)：32-35.(in Chinese)

[8] 中华人民共和国农业农村部. 农业部关于决定禁止在食品动物中使用洛美沙星等4种原料药的各种盐、脂及其各种制剂的公告(征求意见稿)[EB/OL].[2024-02-21]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201506/t20150611_4699942.htm.

[9] 中华人民共和国农业农村部. 中华人民共和国农业部公告第2292号[EB/OL].[2024-02-21]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201509/t20150907_4819267.htm.

[10] 李永琴，任杨，陈娟，等. 浅析乌鸡中氟喹诺酮类药物残留现状[J]. 宁夏农林科技，2020，61(11)：44-46.
LI Y Q，REN Y，CHEN J，et al. Status quo of fluoroquinolone residues in black-bone chicken [J]. Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology，2020，61(11)：44-46.(in Chinese)

[11] HU H Y，QIU J H，LI R N，et al. Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue residues of trimethoprim in silky fowls and 817 broilers after single oral administration [J]. Poultry Science，2023，102(11)：103060.

[12] YUAN L J，WU H Z，WANG J M，et al. Pharmacokinetics，withdrawal time，and dietary risk assessment of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin，and sulfachloropyridazine-trimethoprim in Taihe black-boned silky fowls[J]. Journal of Food Science，2023，88(4)：1743-1752.

[13] ZHAO L，ZHANG D W，LAN J，et al. Tissue residue distribution and withdrawal time estimation of trimethoprim and sulfachloropyridazine in Yugan black-bone fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson) [J]. Food Additives & Contaminants：Part A，2023，40(8)：981-991.

[14] LIU B T，SUN S K，CHEN L，et al. Residue depletion of sarafloxacin in black-bone silky fowl tissues after oral administration [J]. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences，2021，45(3)：470-477.

[15] 王峰，王国永，郝雪琴，等. 二甲氧苄啶对磺胺类药物的抗球虫增效作用研究[J]. 河南农业科学，2013，42(2)：142-144，148.
WANG F，WANG G Y，HAO X Q，et al. Synergistic effect of ditrimethoprim (diaveridine) combind with several sulfa drugs on chicken coccidiosis[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences，2013，42(2)：142-144，148.(in Chinese)

[16] WANG L Y，WEN L H，PAN Y H，Zhang X，et al. Metabolism and tissue elimination of diaveridine in swine，chickens，and rats using radioactive tracing coupled with LC-ESI-IT-TOF/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2023，71(14)：5835-5846.

[17] LIM J H，HWANG Y H，KIM M S，et al. Residue depletion of the sulfaquinoxaline and trimethoprim combination in broilers[J]. Journal of Veterinary Clinics，

2010,27(5):565-568.

[18] 李倩,汤凯洁,冀坤霞,等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定水产品中15种磺胺类药物残留[J]. 食品与生物技术学报,2024,43(1):36-47.
LI Q, TANG K J, JI K X, et al. Simultaneous determination of 15 sulfonamides residues in aquatic products by solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2024,43(1):36-47.(in Chinese)

[19] YOSHIDA E,SHIBUYA T,KUROKAWA C,et al. Study of simultaneous determination of residual veterinary drugs including tetracycline antibiotics in milk and dairy products[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan,2009,50(5):216-222.

[20] 周贻兵,李磊,吴坤,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肝中恩诺沙星残留含量测定[J]. 现代预防医学,2017,44(16):2988-2991,3009.
ZHOU Y B, LI L, WU K, et al. Determination of enrofloxacin residues in chicken liver by UPLC-MS/MS[J]. Modern Preventive Medicine,2017,44(16):2988-2991,3009.(in Chinese)

[21] 许晓辉,王小乔,董蔚,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡内金中9种磺胺类药物残留[J]. 分析测试学报,2021,40(10):1497-1502.
XU X H,WANG X Q,DONG W,et al. Determination of nine kinds of sulfonamides residues in gizzard pepsin by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis,2021,40(10):1497-1502.(in Chinese)

[22] JIA T T,OUYANG S L,CHEN W R,et al. Develop an external standard method for high-flux determination of veterinary drug residues liquid milk without solid phase extraction[J]. Food Chemistry,2024,433:137269.

[23] 邓金,肖正华,张惠静,等. 固相萃取高效液相色谱法测定人血浆中的巴洛沙星[J]. 色谱,2007,25(6):942-943.
DENG J,XIAO Z H,ZHANG H J,et al. Determination of balofloxacin in human plasma by HPLC with solid-phase extraction[J]. Chinese Journal of Chromatography,2007,25(6):942-943.(in Chinese)

[24] 张伟,张明霞,艾霞,等. 高效液相色谱法同时测定猪肌肉中氟喹诺酮类和磺胺类药物残留[J]. 黑龙江畜牧兽医,2014(7):185-188.
ZHANG W, ZHANG M X, AI X, et al. Simultaneous determination of fluoroquinolones and sulfonamides residues in pig muscle by HPLC[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2014(7):185-188.(in Chinese)

[25] KURJOGI M,ISSA MOHAMMAD Y H,ALGHAMDI S,et al. Detection and determination of stability of the antibiotic residues in cow's milk[J]. PLoS One,2019,14(10):e0223475.

[26] 冯月超,王建凤,乔祎娜,等. 基于滤过型净化的液相色谱-串联质谱法测定畜禽肉中89种兽药残留[J]. 分析试验室,2024,43(6):841-849.
FENG Y C,WANG J F,QIAO Y N,et al. Determination of 89 kinds of veterinary drugs in livestock and poultry meat by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on pass-through solid phase extraction purification[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory,2024,43(6):841-849.(in Chinese)

[27] 常利民,张洋,汪春明,等. 鸡蛋、鸡肉及奶粉中22种有机氯农药残留的测定[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(5):98-105.
CHANG L M, ZHANG Y, WANG C M, et al. Determination of 22 organochlorine pesticides in egg, chicken and milk powder[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2022,41(5):98-105.(in Chinese)

[28] 李宏,向俊,李丹,等. QuEChERS-UPLC-MS/MS同时测定鸡肉中80种兽药残留[J]. 食品与机械,2023,39(6):48-54,80.
LI H,XIANG J,LI D,et al. Simultaneous determination of 80 veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-UPLC-MS/MS[J]. Food & Machinery,2023,39(6):48-54,80.(in Chinese)

[29] 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. 合格评定 化学分析方法确认和验证指南:GB/T 27417—2017[S]. 北京:中国标准出版社,2018.

[30] 王嘉鹏,陈红,刘海生,等. 二甲氧苄啶在鸡排泄物中的排泄研究[J]. 畜牧兽医学报,2016,47(8):1682-1688.
WANG J P, CHEN H, LIU H S, et al. Studies on excretion of diaveridine in chicken excreta[J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences,2016,47(8):1682-1688.(in Chinese)

[31] JAKUBIAK P, LACK F, THUN J, et al. Influence of melanin characteristics on drug binding properties[J]. Molecular Pharmaceutics,2019,16(6):2549-2556.

[32] FUKUDA M,SASAKI K,MORITA Y,et al. Studies on the binding mechanism of fluoroquinolones to melanin[J]. Journal of Infection and Chemotherapy,2000,6(2):72-76.

[33] LUNDÉN T, BYLUND G. Effect of sulphadiazine and trimethoprim on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology,2002,85(1/2):99-108.

[34] 中国兽医药品监察所,国家兽药基础数据库. 恩诺沙星溶液说明书[DB/OL].[2024-02-21]. http://vdts.ivdc.org.cn:8081/cx/.

(责任编辑:闫林红)