doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2023.09.10

气相和液相色谱法在氟苯尼考残留检测中的应用进展

徐婉婷[1,2],牛牧青[1,2],郑永良[1,3],刘 畅[1,3],徐碧林[1,3],吕锐玲[1,3],范 霞[1,3],王 政[1,3*]

(1.黄冈师范学院生物与农业资源学院,湖北黄冈 438000;2.华中农业大学生命科学与技术学院,武汉 430070;
3.经济林木种质改良及资源综合利用湖北省重点实验室,湖北黄冈 438000)

[收稿日期] 2022 - 12 - 30 [文献标识码]A [文章编号]1002 - 1280 (2023) 09 - 0064 - 13 [中图分类号]S859.83

[摘 要] 气相和液相色谱法常用于检测氟苯尼考在动物产品和环境样品中的残留水平。本文比较了气相色谱和液相色谱检测氟苯尼考的优缺点,同时重点对动物产品和养殖场相关环境样品中氟苯尼考的提取和净化方法进行了比较分析。不同类型样品前处理方法有不同,乙腈是良好的蛋白沉淀剂,有助于动物产品的纯化;环境样品的前处理比动物产品更复杂,色谱串联质谱能够有效提高其检测效率。本文旨在归纳氟苯尼考的残留检测的色谱方法,为动物类食品安全和氟苯尼考环境风险评估提供参考。

[关键词] 氟苯尼考;前处理;药物残留;检测方法

Application Progress of Gas and Liquid Chromatography in the Detection of Florfenicol Residues

XU Wan - ting[1,2], NIU Mu - qing[1,2], ZHENG Yong - liang[1,3], LIU Chang[1,3], XU Bi - lin[1,3], LV Rui - ling[1,3], FAN Xia[1,3], WANG Zheng[1,3*]

(1. *College of Biology and Agricultural Resources*, *Huang Gang Normal University*, *Huanggang Hubei* 438000, *China*;
2. *College of Life Science and Technology*, *Huazhong Agricultural University*, *Wuhan* 430070, *China*;
3. *Hubei Key Laboratory of Economic Forest Germplasm Improvement and Resources Comprehensive Utilization*, *Huanggang Hubei* 438000, *China*)
Corresponding author: *WANG Zheng*, *E - mail*: *wangzheng@hgnu.edu.cn*

Abstract: Gas chromatography and liquid chromatography are commonly used to detect the residual levels of florfenicol in animal products and environmental samples. In this paper, the advantages and disadvantages of gas chromatography and liquid chromatography in the detection of florfenicol were compared. At the same time, the extraction and purification methods of florfenicol in animal products and farm - related environmental samples were compared and analyzed. Different types of sample pretreatment methods are different. Acetonitrile is a good protein precipitant, which are helpful for the purification of animal products. The pretreatment of environmental

---

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(32001207);湖北省教育厅科学技术研究计划青年人才项目(Q20202902)
作者简介:徐婉婷,在读硕士研究生,研究方向为生物与医药。
通讯作者:王 政,E - mail:wangzheng@hgnu.edu.cn

samples is more complicated than that of animal products, and chromatography tandem mass spectrometry can effectively improve its detection efficiency. The purpose of this paper is to summarize the chromatographic methods of florfenicol residue detection, and to provide reference for animal food safety and florfenicol environmental risk assessment.

Key words: florfenicol; pretreatment; drug residue; detection methods

氟苯尼考(Florfenicol,FF),又名氟甲砜霉素,是动物专用抗菌药物。氟苯尼考能与细菌 70 S 核糖体的 50 S 亚基紧密结合,降低肽酰基转移酶的活性,从而抑制肽链的延伸,干扰细菌蛋白质的合成,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌均有抑制作用[1]。因其良好的抑菌效果,氟苯尼考被广泛应用于治疗牛、猪、鸡等家禽和鱼类的细菌性疾病[2]。随着氟苯尼考的广泛使用,其残留问题也逐渐引起了人们的广泛关注[3]。氟苯尼考的残留主要表现在两个方面,一方面是食品中的残留,在畜禽、水产等动物性食品中残留的氟苯尼考,可通过食物链传递,造成食品安全隐患,影响消费者健康[4]。另一方面,动物摄入的氟苯尼考不能被其完全吸收,会以母体或者代谢物的形式随着粪便和尿液等排泄物排出体外进入到环境中,造成氟苯尼考及其代谢物在水体、底泥和土壤等生态环境的残留和累积[5]。与此同时,环境中氟苯尼考的累积促进了氟苯尼考耐药菌的富集和传播,对公共安全造成了威胁。根据我国《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》(GB31650－2019)中的规定,氟苯尼考的最大残留限量为氟苯尼考及其代谢产物氟苯尼考胺之和[6],研究人员建立了很多针对氟苯尼考及其代谢物的检测方法,其中色谱分析法是各种检测方法中的金标准。氟苯尼考的色谱分析法主要有气相色谱法和液相色谱法。二者也可与质谱串联使用,称为气相色谱－串联质谱法和液相色谱－串联质谱法,均有高效、灵敏的优点,在水产品、畜禽产品和环境样品检测中都有应用[7]。本文对氟苯尼考及其代谢物的色谱检测方法进行了综述,对各检测方法的优、缺点进行了分析,并对不同的前处理方法进行了比较,以期为氟苯尼考的残留分析提供科学参考。

1　前处理方法比较分析

1.1　*动物产品的前处理分析*　氟苯尼考的分析测定过程中,除了定量方法的选择外,样品前处理是至关重要的一个环节。它将复杂体系中待测组分与基体进行分离,除去对分析测定有干扰的杂质,通过纯化和富集以提高浓度,制成便于测定的溶液形式[8]。样品的前处理直接影响到分析的效率和结果,样品的种类和实验条件不同,所用的提取方法和净化方法不同(表 1)。合适的前处理技术结合高灵敏度的检测方法,才能获得良好的检测结果。氟苯尼考易溶于有机溶剂,所以提取液大多选择甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂。有研究比较了不同提取试剂对猪肉中氟苯尼考回收率的影响,发现甲醇和乙腈提取率较差,回收率较低;乙酸乙酯提取效果最佳,带入的干扰物质较少,无须固相萃取小柱的净化,简化净化过程,节约了样品前处理的成本[9－10]。对于禽蛋样品,蛋白质含量较高,而乙腈比乙酸乙酯的极性大,在提取目标化合物的同时可以沉淀蛋白,是良好的蛋白沉淀剂,能有效提取氟苯尼考。曾勇等[11]比较了乙腈、乙酸乙酯、甲醇三种试剂对禽蛋中氟苯尼考的回收率情况,甲醇回收率较低,而在禽蛋中加入碱性乙酸乙酯后样品基质会变成果冻状,无法充分提取,影响回收率。乙腈能有效提取药物,再用正己烷去除脂肪等杂质,也可省去固相萃取步骤。样品处理后用超高效液相色谱－串联质谱(UHPLC－MS/MS)分析,氟苯尼考的检测限(LOD)为 0.5 μg/kg,定量限(LOQ)为 2.0 μg/kg,回收率为 73.5% ~81.7%。鸡爪是家禽的副产品,但关于氟苯尼考在鸡爪中的残留检测研究很少。Pokrant 等[12]用水和丙酮提取鸡爪中的氟苯尼考和氟苯尼考胺,加入二氯甲烷液液萃取净化,再用液相色谱－质谱对分析物进行检

测。氟苯尼考和氟苯尼考胺的回收率为 88.91% ~ 115.83%，LOD 均为 50 μg/kg，LOQ 均为 56.8 μg/kg。液液萃取（LPE）和固相萃取（SPE）作为样品预处理技术，主要用于样品的分离和纯化，但传统的液液萃取和固相萃取技术具有持续时间长、消耗有机溶剂等缺点。Imran 等[13]测定鸡肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺时，先用氨化乙腈提取，乙酸乙酯二次提取。正己烷脱脂后，用封端 C18 材料进行分散固相萃取（dSPE），进一步对提取物净化。氟苯尼考和氟苯尼考胺的回收率分别为 91.6% ~100.5%、86.4% ~ 94.5%，LOD 分别为 0.73 μg/kg 和 0.58 μg/kg，LOQ 分别为 2.45 μg/kg 和1.9 μg/kg。相比于传统的固相萃取法，分散固相萃取具有快速、简单的优点，并且不需要大量的溶剂来从吸附剂中回收分析物。Wei 等[14]采用磁性分子印迹固相萃取（M – MISPE）与高效液相色谱紫外检测（HPLC – UV）相结合的方法检测鸡蛋和鸡血中的氟苯尼考。磁性双模板分子印迹聚合物（DMIP）具有磁响应性，对氟苯尼考具有良好的吸附能力和选择性。结果显示，氟苯尼考的平均回收率为 88.3% ~99.1%，LOD 为 0.08 μg/kg。此检测方法快速、灵敏度高、选择性好，在动物样品检测中具有良好的应用前景。氟苯尼考的检测方法一般是基于溶剂提取，然后去除杂质。氟苯尼考代谢研究表明，在鸡、猪、牛和鱼的可食用组织中，一些代谢产物对蛋白质等生物分子具有较强的结合亲和力。这些结合的氟苯尼考残基不能被有机溶剂直接提取，需要酸水解步骤来释放结合残基并将其转化为氟苯尼考胺[15-16]。Shizuka 等[17]开发了一种新的方法，先从样品中释放结合残留物，然后将氟苯尼考及其代谢物转化为氟苯尼考胺，最后检测氟苯尼考胺的浓度。Shizuka 测定牛组织和鳗鱼中氟苯尼考残留量，结果显示，氟苯尼考的回收率为 93% ~ 104%，LOD 和 LOQ 分别为 10 μg/kg 和 0.5 μg/kg。该研究通过仔细优化样品水解和净化步骤，以最大限度地减少基质效应和分析物损失，开发了一种可靠的总氟苯尼考残留检测方法，通过使用溶剂标准品的外部校准实现准确定量，既不需要同位素标记的内标，也不需要基质匹配校准，具有很好的应用前景。Li 等[18]通过酸水解与溶剂萃取相结合，对鸡蛋中氟苯尼考总残留量进行定量分析。样品酸水解后用乙酸乙酯洗涤去除干扰物质，在碱性条件下用乙酸乙酯萃取，MCX 固相萃取柱净化，鸡蛋中氟苯尼考胺的回收率为 91.2% ~102.4%，LOD 和 LOQ 分别为0.5 μg/kg 和1.0 μg/kg。动物产品中氟苯尼考的残留检测大多集中于可食用组织，而对于家禽羽毛研究较少。羽毛作为一种替代样品材料，检测家禽养殖中氟苯尼考的使用情况，可以在一定程度上解决干扰基质多、收集不便等问题。为了研究氟苯尼考及其代谢产物氟苯尼考胺在肉鸡羽毛中的残留情况，Cornejo 等[19]用丙酮和水作为提取溶剂，再加入二氯甲烷进行液液萃取。氟苯尼考和氟苯尼考胺的回收率为 99% ~102%，LOD 均为 20 μg/kg，LOQ 分别为 24.4 μg/kg 和24.5 μg/kg。

1.2 环境类样品的前处理分析 环境样品中抗生素检测是评价环境安全的重要标准之一[20]。土壤、水和畜禽粪便等环境样品都已经被检测出来含有残留的抗生素[21]。不同于动物性产品，环境样品成分复杂，其提取的杂质更多，易对检测分析造成干扰。对于土壤样品中氟苯尼考的残留检测，用乙酸乙酯提取的杂质较多，净化过程较为繁杂，而用甲醇、乙腈或丙酮提取，效果较好。张冲[22]建立了土壤中氟苯尼考残留的检测方法，甲醇提取，LC – 18 固相萃取小柱净化。实验比较了二氯甲烷、甲醇和乙腈对土壤中氟苯尼考的提取效果，其中甲醇提取效率最高，再辅以超声提取，最终氟苯尼考回收率为 82.5%。Xu 等[23]同时检测土壤中氟苯尼考及氟苯尼考胺。样品用氨化乙腈提取，加入无水硫酸镁和氯化钠除水，PSA 和 C18 吸附剂净化后，震荡离心，取上清液上机测定。结果显示，氟苯尼考和氟苯尼考胺的平均回收率为 73.6% ~ 94.9%。此方法不用固相萃取柱净化，是一种简便，低成本，有效的测定方法。除土壤样品外，还有一类环境样品——畜禽粪便，近年来也逐渐受到了人们的关注。畜禽粪便基质复杂，前处理较为繁琐，大多需要用固相萃取小柱净化杂质。Wang 等[24]采

用超高效液相色谱 – 串联质谱法检测了畜禽养殖场中有机肥料中氟苯尼考的残留浓度,用水:甲醇:丙酮(50:25:25,*V/V/V*)提取后,HLB 萃取柱净化。氟苯尼考的 LOD 为 0.1 μg/kg,LOQ 为 0.5 μg/kg,平均回收率为 76.6% ~85.4%。Pokrant 等[25]从粪便基质中提取氟苯尼考。将样品均质后用乙腈和 EDTA – McIlvaine 缓冲液(pH 4.0)提取。无粘合剂的玻璃纤维滤纸过滤,HLB 固相萃取柱净化,氟苯尼考的 LOD 为 11.2 μg/kg,LOQ 为 33.5 μg/kg,回收率为 97.5% ~99.2%。目前,关于畜禽粪便中氟苯尼考的残留检测文章较少,此方法可以为之后的残留检测提供参考。

表 1　不同类型样品的前处理方法比较分析

Tab 1　Comparative analysis of pretreatment methods for different types of samples

检测项目和文献	提取试剂	净化方法	回收率	结论
猪肉中的 FF 和 FFA[9]。	氨水 – 乙酸乙酯	正己烷	87.74% ~88.7% 87.84% ~88.28%	对于猪肉样品,实验比较了乙酸乙酯、乙腈、甲醇和丙酮对回收率的影响,其中氨水 – 乙酸乙酯提取效果更佳,且简化了净化过程,节约成本。
猪肉中的 FF[10]。	氨水 – 乙酸乙酯	正己烷	90.8% ~108.2%	
禽蛋中的 FF、FFA[11]。	乙腈	正己烷	73.5% ~81.7% 63.4% ~68.7%	对于禽蛋样品,乙腈在提取目标化合物的同时可以沉淀蛋白,能有效提取氟苯尼考。
鸡爪中的 FF 和 FFA[12]。	丙酮和水	二氯甲烷	88.91% ~115.83%	对于鸡爪样品,用丙酮和水作提取,二氯甲烷液液萃取净化,此方法操作简便且药物回收率较高。
鸡肉中 FF 和 FFA[13]。	氨化乙腈,乙酸乙酯	正己烷	91.6% ~100.5% 86.4% ~94.5%	相比于传统的固相萃取法,分散固相萃取具有快速、简单的优点,并且不需要大量的溶剂来从吸附剂中回收分析物。
鸡蛋和鸡血中的 FF[14]。	乙腈	M – MISPE	88.3% ~99.1%	采用磁性分子印迹固相萃取,无需固相萃取柱填料,可以解决传统固体萃取技术具有持续时间长、消耗有机溶剂、样品前处理复杂等缺点。
牛组织、鳗鱼中的 FF[17]。	乙酸乙酯	正己烷,Chem Elut 萃取柱	93% ~104%	通过酸水解,将 FF 及其代谢物转化为 FFA,优化样品水解和净化步骤,以最大限度地减少基质效应和分析物损失。
鸡蛋中的 FF[18]。	乙酸乙酯	MCX 固相萃取柱	91.2% ~102.4%	
肉鸡羽毛中的 FF 和 FFA[19]。	丙酮和水	二氯甲烷	99% ~102%	丙酮和水作为提取溶剂,二氯甲烷进行液液萃取,此方法操作简便且药物回收率较高。
土壤中的 FF[22]。	甲醇	LC – 18 固相萃取小柱	82.5%	对于土壤样品,用乙酸乙酯提取的杂质较多,净化过程较为繁杂。实验比较了二氯甲烷、甲醇和乙腈提取土壤中 FF 的效果,其中甲醇提取效率最高。
土壤中 FF 和 FFA[23]。	氨化乙腈	PSA 和 C18	73.6% ~94.9%	通过 PSA 和 C18 吸附净化,无需固相萃取柱,操作简便,节约成本。
有机肥料中 FF[24]。	水、甲醇和丙酮	HLB 萃取柱	76.6% ~85.4%	畜禽粪便中 FF 的残留检测文章很少,该方法满足 FF 的检测要求,可为畜禽粪便中 FF 的残留检测提供参考。
粪便基质中提取 FF[25]。	乙腈、EDTA – McIlvaine缓冲液提取	无粘合剂的玻璃纤维滤纸,HLB 固相萃取柱	97.5% ~99.2%	

总的来看,氟苯尼考提取液大多选择甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂,但不同类型的样品中提取液的选择不一样。在动物产品分析中,乙腈是良好的蛋白沉淀剂,提出的杂质相对较少,可以省去固相萃取柱净化这一步骤。对于土壤,粪便等环境样品,提取过程中许多内源性物质无法得到有效

去除,净化过程较为复杂,需固相萃取柱过滤纯化。相较于传统的固体萃取技术,分散固相萃取技术快速、简单,并且不需要大量的溶剂来从吸附剂中回收分析物。磁性分子印迹固相萃取无需固相萃取柱填料,只需外置磁铁即可快速分离,耗时短,准确性高。

2 色谱分析

2.1 气相色谱法 气相色谱法(GC)是利用气体作流动相的色层分离分析方法,原理如图 1 所示,试样被载气(流动相)带入色谱柱中,由于固定相对各组份的吸附或溶解能力不同,因此各组份从色谱柱流出的时间不同,组分彼此分离[26]。氟苯尼考含有硫酰基和亚氨基,有很强的极性且难挥发,在采用气相色谱法分析此类化合物时,需对其极性官能团进行酯化、硅烷化或酰化,生成易挥发的衍生物[27]。如表 2 所示,气相色谱对于氟苯尼考的残留检测在动物组织中应用广泛。胡红美等[28]用乙酸乙酯提取样品,正己烷除脂,PSA 吸附剂净化,硅烷化试剂衍生化后通过气相色谱法检测水产品中氟苯尼考,结果显示氟苯尼考在鲫鱼、青蟹、南美白对虾中的回收率分别为 82% ~93% 、89% ~96% 和 91% ~93% ,LOD 为 0.3 μg/kg。该方法回收效果较好,准确度也较高,可以满足水产品中氟苯尼考的检测要求。对于用乙酸乙酯提取,正己烷除脂后还是净化不完全的样品,则需要借助固相萃取柱,如 MCX 固相萃取柱、C18 固相萃取柱来完成进一步的净化[29-30]。孙丰云等[29]同时检测了虾肉中的氟苯尼考和氟苯尼考胺,提取剂为氨化乙酸乙酯。氟苯尼考胺呈碱性,极性高,故采用 MCX 固相萃取柱净化,弱碱性的氟苯尼考胺在酸性溶液中呈离子状态,通过阳离子交换作用保留在柱上,而氟苯尼考通过反向交换作用保留在柱上。结果显示,氟苯尼考和氟苯尼考胺的回收率分别为 89.0% ~93.3% 和 86.3% ~119.6% ,LOD 分别为0.4 μg/kg和 0.2 μg/kg,LOQ 分别为 1.3 μg/kg 和0.8 μg/kg。在胡红美和孙丰云的研究中,分别用 PSA 吸附剂和 MCX 柱净化,二者回收率和检测限相差不大。对于氟苯尼考的检测,PSA 在乙酸乙酯中可吸附氟苯尼考,需用丙酮溶解提取物,在丙酮中用 PSA 净化。MCX 萃取柱能达到较好的净化效果,但是,固相萃取需要进行活化、上样、淋洗、洗脱等过程,步骤较多、过柱时间较长,不利于大批量样品的检测。

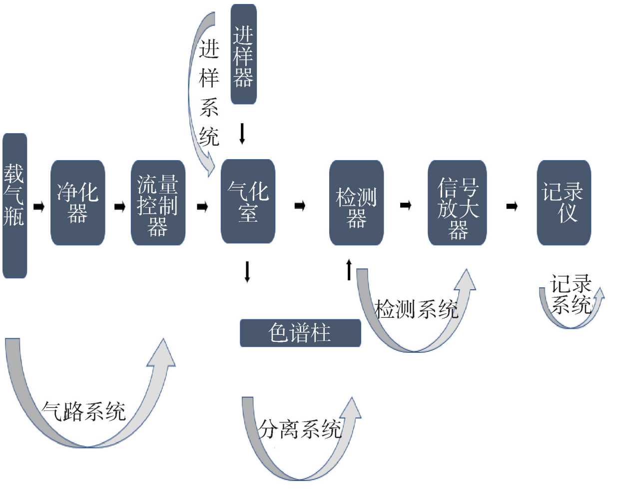

图 1 气相色谱原理

Fig 1. principle of gas chromatography

上述文献都是用的是气相色谱 – 电子捕获检测器(GC – ECD)来检测氟苯尼考。ECD 是一个高灵敏度的检测器,但只对具有电负性的物质,如含卤素、硫、磷、氮的物质有信号,而对电中性(无电负性)的物质,无信号,这在一定程度上限制了它的使用[31]。质谱仪灵敏度高,样品用量少,分析速度快,与气相色谱相连实现对未知成分的分离和定性。气相色谱 – 质谱联用(GC – MS)可根据样品中待测组分在图谱上的保留时间和此保留时间内残留药物分子裂解的特征离子碎片,由质谱仪对药物进行准确定性,并以此作为定量的依据,从而克服了因杂质峰与药物保留时间相同而将杂质峰误认为药物的缺点,因此气相色谱 – 质谱联用法广泛用于复杂组分的分离和鉴定[32]。气相色谱 – 质谱联用法对样品进行检测之前,需对其净化。水产品中残留药物的净化一般采用液 – 液萃取法或固相萃取法。邵会[33]建立了气相色谱法 – 质谱法同时测定 6 种水产品(中国对虾、大菱鲆、鲫鱼、鳗鱼、蟹、甲鱼)中的氟苯尼考和氟苯尼考胺。氟苯尼考脂溶性强,而代谢物氟苯尼考胺极性强。由于极性的差异,普通固相萃取柱对 2 种药物同时净化效果不太理想。他比较了阳离子交换固相萃取柱 PCX、MCX 柱以及反相吸附萃取

柱 HLB 柱的净化效果。结果表明,MCX 柱净化效果较好,这与已有的研究结果相符[34-35]。氟苯尼考和氟苯尼考胺的加标回收率为 76.4% ~94.3%,LOD 均为 1.0 μg/kg,LOQ 均为3.0 μg/kg。氟苯尼考的检测分析中,固相萃取柱的选择很关键,固相萃取过程中洗脱剂的选择和用量也十分重要。氟苯尼考一般用甲醇洗脱,洗脱剂量小,不足以把目标物从小柱上洗脱下来;洗脱剂量大,会导致弱极性杂质洗脱出来,影响检验效果。乔青青等[36]探讨了固相萃取柱洗脱剂的用量对药物回收率的影响,当洗脱剂甲醇用量小于 5 mL 时,氟苯尼考和氟苯尼考胺的回收率在 90% 以下,而甲醇用量超过 6 mL 时才能充分洗脱,2 种化合物回收率均在 90% ~110%,回收效果较好,LOD 为 0.5 μg/kg。

气相色谱 - 质谱联用法结合了气相色谱和质谱的优点,因而具有灵敏度高、分析速度快、选择性高等优点,可同时完成待测组分的分离和鉴定[37]。氟苯尼考在硅烷化后有几个丰度较大的碎片离子,易于定性鉴别,所以气质联用法对氟苯尼考的残留检测灵敏[32]。

表 2　气相色谱检测样品中的 FF

Tab 2　Determination of FF in samples by gas chromatography

检测项目和文献	前处理方法	检测仪器	回收率	检测限	结论
鲫鱼、青蟹、南美白对虾中的 FF[28]。	乙酸乙酯提取,正己烷除脂,PSA 吸附剂净化。	GC - ECD	82% ~93% 89% ~96% 91% ~93%	0.3 μg/kg	ECD 是一个高灵敏度的检测器,但只对具有电负性的物质有信号。实验用 PSA 吸附剂净化,操作简便,回收率高和准确度较高。
虾肉中的 FF 和 FFA[29]。	氨水 - 乙酸乙酯提取,MCX 固相萃取柱净化。	GC - ECD	89.0% ~93.3% 86.3% ~119.6%	0.4 μg/kg 0.2 μg/kg	MCX 萃取柱净化,效果较好,但与吸附剂相比,其步骤较多、过柱的时间较长,不利于大批量样品的检测。
中国对虾、大菱鲆、鲫鱼、鳗鱼、蟹、甲鱼中的 FF 和 FFA[33]。	氨水 - 乙酸乙酯提取,MCX 固相萃取柱净化。	GC - MS	76.4% ~94.3%	1.0 μg/kg	GC - MS 广泛用于复杂组分的分离和鉴定。实验比较了固相萃取柱 PCX、MCX 柱以及反相吸附萃取柱 HLB 柱的净化效果。结果显示,MCX 柱净化效果较好。
鸡蛋中的 FF 和 FFA[35]。	氨水 - 乙酸乙酯提取,C18 固相萃取柱净化。	GC - MS	86.4% ~102% 94.0% ~119.4%	0.5 μg/kg	GC - MS 检测分析时,固相萃取柱的选择很关键,固相萃取过程中洗脱剂的选择和用量也十分重要。

2.2　液相色谱法　目前,国内外对氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的残留检测方法较多,原理如图 2 所示,国家标准规定的检测方法以高效液相色谱法为主[38]。气相色谱是利用惰性气体的流动相进行分析,它的检测对象主要是具有一定挥发性的物质,而液相色谱不受样品的挥发性和热稳定性的限制[39],不需要较繁琐的衍生化步骤。因此,在氟苯尼考的检测分析中,液相色谱应用范围更广泛[40]。高效液相色谱可根据待测样品的特性以及实验条件来选择不同的检测器来检测分析[41],如紫外检测器(UVD)、荧光检测器(FD)及二极管阵列检测器(PDA)和质谱检测器(MSD)等,详细内容如表 3 所示。紫外检测器是高效液相中常用的检测器之一,灵敏度较高,线性范围宽,噪声低[42]。李涛等[43]用高效液相色谱串联紫外检测器测定畜禽肉中氟苯尼考残留量,样品经乙腈提取,正己烷除脂,

滤膜过滤后直接高效液相色谱仪分析。平均加标回收率为 91.8% ~95.2%，LOD 为 10 μg/kg，LOQ 为 30 μg/kg。此方法操作简单，成本较低，适合畜禽肉中氟苯尼考残留的检测。相比于畜禽产品中氟苯尼考的检测，饲料这类成分复杂的样品，其净化步骤也更加复杂，这增加了分析成本。Yang 等[44]建立了薄层色谱－高效液相色谱法串联紫外检测器测定猪、鸡、鱼饲料中氟苯尼考的方法。氟苯尼考的回收率为 80.6% ~105.3%，LOD 为 20 μg/kg，LOQ 为 50 μg/kg。实验对比了固相萃取柱和薄层色谱这两种方法的净化效果。结果显示，净化猪饲料样品时，固相萃取不能有效去除干扰，而薄层色谱具有较好的分离效率和较低的成本。紫外检测器分析样品时，要求样品必须有紫外吸收，且流动相的紫外吸收应尽可能的小，否则会有较大的本底吸收，影响结果。二极管阵列检测器作为紫外检测器的升级，可以克服普通紫外检测器的缺点，给出的是色谱、光谱的三维谱图，可以测出样品中每一种物质的最大吸收，实现三维定性与定量分析，为分析工作者提供十分丰富的定性定量信息[45]。杨方等[46]用二极管阵列检测器检测鳗鱼中氟苯尼考含量。采用乙酸乙酯提取样品，在提取过程中，因鳗鱼肉中有大量脂质及类脂物质同时被提取出，用正已烷除脂，再采用 C18 小柱净化以除去水溶性杂质的干扰。结果表明，该方法的平均回收率为 93%，LOD 为 9.1 μg/kg，LOQ 为22.3 μg/kg。马文瑾等[47]用液相色谱串联二极管阵列检测器检测土壤中氟苯尼考及氟苯尼考胺。样品自然风干后，用丙酮和水作为提取试剂，采用超声辅助提取，再与二氯甲烷进行液液萃取净化杂质。试验测得土壤样品中氟苯尼考和氟苯尼考胺的加标回收率分别为 90.16% ~99.37%、67.63% ~96.86%，LOD 分别为 10、15 μg/kg，LOQ 分别为 45、50 μg/kg。与畜禽样品的提取方法不同，土壤样品选用丙酮和水来提取氟苯尼考，回收率相对较高，而且提取出的内源性物质少，减少了杂峰干扰。荧光检测器也是常用的检测器，采用激光作为荧光检测器的光源而产生的激光诱导荧光检测器极大地增强了荧光检测的信噪比，具有良好的选择性。荧光检测器的灵敏度很高，比紫外检测器约高两个数量级，其线性范围比紫外检测器窄。刘永涛等[48]和谢恺舟等[49]用高效液相色谱荧光检测法分别检测水产品和鸡肉中氟苯尼考含量，最终 LOD 分别为 5 μg/kg、1.5 μg/kg。二者样品都用丙酮来提取，提取的内源性杂质较少，省去了固相萃取步骤，方法的药物平均回收率分别为 79% ~90% 和 79.3% ~82.5%。刘永涛和谢恺舟采用传统的液－液萃取法提取氟苯尼考。为了简化样品的预处理及提高效率，Wang 等[50]采用加速溶剂萃取（ASE）从样品中提取目标分析物，结合超高效液相色谱－荧光检测器测定禽蛋中氟苯尼考和氟苯尼考胺的残留量。氟苯尼考和氟苯尼考胺的加标回收率分别为 89.4% ~98.6%、91.5% ~98.0%，LOD 分别为 4.7、1.8 μg/kg，LOQ 分别为 10.5、4.3 μg/kg。此外，还比较了超声提取、涡旋振荡提取、ASE 提取的效果。结果表明，ASE 具有自动化、试剂消耗少、回收率高以及适用于样品的批量处理等优点。比较上述三种检测器，紫外检测器目前在液相色谱方面应用范围广。二极管阵列检测器可以测出样品中每一种物质的最大吸收，这样可以分别进行灵敏度最高的检测，克服了普通紫外检测器的缺点。但是，其价格相对昂贵，对于成熟的色谱条件分析没有优势，适合新产品的色谱条件开发、摸索。荧光检测器灵敏度最高，检出限最低，其适用范围比紫外检测器窄，仅适用于被激发后能产生荧光的物质。并且，对发生在荧光测量中的一些干扰非常敏感，在进行定量分析时，有必要验证这些干扰是否存在，以及对样品测定的影响程度，该缺点限制了荧光检测器的应用。

高效液相色谱是通过监测与计算保留时间来对单个物质进行定性检测的，但是两个不同的物质可能具有相同的保留时间，这就会导致高效液相色谱在物质定性上可能存在不准确的情况[35]。高效液相色谱－串联质谱法（HPLC－MS/MS）是通过使待测物质中各个组分在离子源中产生电离，通过质荷比的差异来对各组分进行定性分析，提高了检测的灵敏度，也避免了假阳性结果的出现[51]。高效

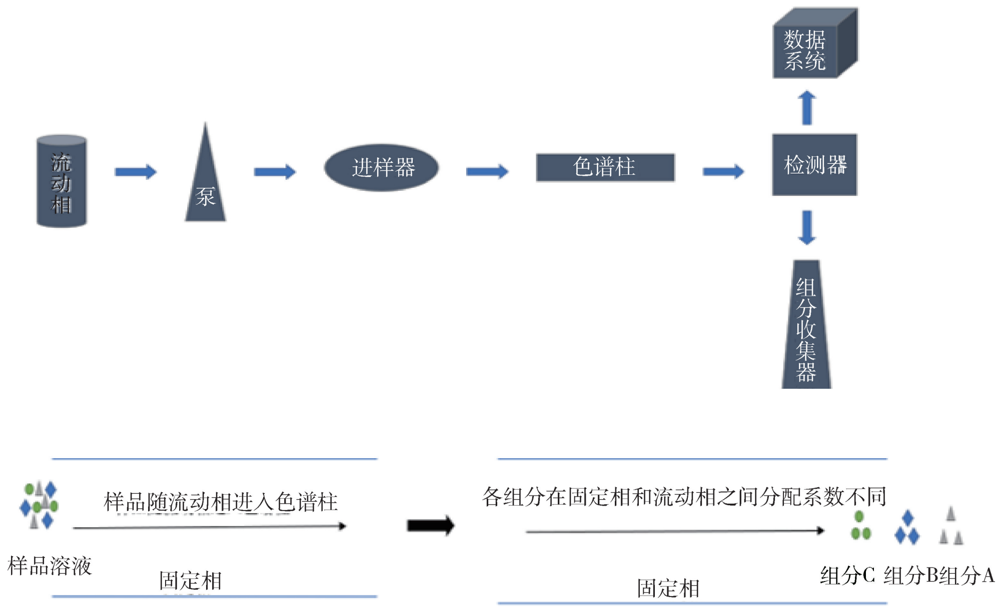

图 2　液相色谱原理

Fig 2. Principle of liquid chromatography

液相色谱－串联质谱法测定氟苯尼考含量时，常用的定量方法有外标法和内标法，外标法是用待测组分的纯品作对照物质，以对照物质和样品中待测组分的响应信号相比较进行定量。张伟玮等[52]用高效液相色谱－质谱分析鸡肉中残留的氟苯尼考时，用标准品绘制标准曲线，外标法定量。结果显示，氟苯尼考的峰面积与其浓度均呈良好线性关系。氟苯尼考的回收率为 84.7% ～95.2%，LOD 为 0.2 μg/kg，LOQ 为 0.5 μg/kg。内标法与外标法相对，是在测定样品中某组分含量时，加入一种内标物质以校准和消除由于操作条件的波动而对分析结果产生的影响，以提高分析结果的准确度。殷平等[53]用液相色谱－质谱同位素稀释法测定水产品中的氟苯尼考，采用同位素内标法定量，此法有机试剂消耗量少、操作步骤少且测定周期短。氟苯尼考在鱼肉中回收率为 78.6% ～102.7%，在虾肉中为 73.5% ～109.6%。LOD 为 1.5 ng/mL，LOQ 为 0.5 ng/mL。Xie 等[54]选用内标法定量，高液相色谱－电喷雾电离串联三重四极杆质谱（LC－ESI/MS/MS）同时分析鸡蛋中氟苯尼考和氟苯尼考胺。在鸡蛋样品的预处理过程中，优化了提取剂以及乙腈饱和正己烷的体积，以更好地去除蛋白质和脂肪，从而提高了回收率，也节省了实验成本。氟苯尼考和氟苯尼考胺的平均回收率为 90.84% ～107.84%，LOD 分别为 0.1、0.5 μg/kg，LOQ 分别为 0.3、1.5 μg/kg。外标法和内标法都是色谱分析中定量方法。外标法简便，但对于进样量要求准确，要严格控制在与标准物相同的操作条件下进行，否则造成分析误差，得不到准确的测量结果；内标法在一定程度上消除了操作条件等的变化所引起的误差，因而测定的结果较为准确。但内标法的操作程序较为麻烦，有时寻找合适的内标物有困难。超高效液相色谱（UHPLC）是指一种采用小颗粒填料色谱柱和超高压系统的新型液相色谱技术，与传统的高效液相技术相比，能大幅度改善液相色谱的分离度、灵敏度，极大地提高分析工作的效率和质量[55]。Li 等[56]建立了一种用超高效液相色谱－质谱联用测定中药明胶中氟苯尼考残留量的方法。氨水－乙腈提取药物，加入胰蛋白酶来消除明胶药物中蛋白质成分引起的基质效应，加入无水硫酸钠、C18 和 PSA 吸附剂来减少其他成分引起的基质效应。氟苯尼考的回收率为 92.8% ～102.7%。样品中氟苯尼考的 LOD 和 LOQ 分别为 0.4 μg/kg 和 1.5 μg/kg。Faulkner 等[57]提出了一种有效检测牛奶中氟苯尼考及其代谢物的方

法,该方法采用 MRM^3 采集技术,超高效液相色谱－质谱分析检测。牛奶样品盐酸水解后调节 pH 到 10 以上,再用乙酸乙酯提取,分散式固相萃取进一步萃取净化。氟苯尼考胺的回收率为92% ～113% ,CCα（Decision limit）为 0.2 μg/kg,CCβ（detection capability）为 0.34 μg/kg。与 MRM(Multi Reaction Monitor)相比,MRM^3 改进了牛奶中较低水平氟苯尼考胺的选择性检测和定量。

表 3　液相色谱检测样品中 FF

Tab 3　Determination of FF in samples by liquid chromatograph

检测项目和文献	前处理方法	检测仪器	回收率	检测限	结论
畜禽肉中的 FF[42]。	乙腈提取,正己烷除脂净化。	HPLC－UVD	91.8% ～95.2%	10 μg/kg	UVD 分析样品时,为了避免干扰,选择的流动相的紫外吸收应尽可能小。与其它检测器相比,此方法成本较低,应用较广。
猪、鸡、鱼饲料中的 FF[43]	乙酸乙酯提取,乙腈饱和的正己烷脱脂,薄层色谱进一步纯化。	HPLC－UVD	80.6% ～105.3%	20 μg/kg	
鳗鱼肉中的 FF[45]。	乙酸乙酯提取,正己烷脱脂,C18 固相萃取柱净化。	HPLC－PDA	93%	9.1 μg/kg	UVD 给出的只是某一波长的色谱图,PDA 作为 UVD 的升级,得出的是三维谱图,可以测出样品中每一种物质的最大吸收,这样可以分别进行灵敏度最高的检测,克服了普通 UVD 的缺点。但是,PDA 价格相对昂贵,对于成熟的色谱条件分析没有优势。因此,适合新产品的色谱条件开发、摸索。
土壤中的 FF 和 FFA[46]。	丙酮和水提取,二氯甲烷液液萃取净化。	HPLC－PDA	90.16% ～99.37% 67.63% ～96.86%	10 μg/kg 15μg/kg	
鱼肉中的 FF 和 FFA[47]。	丙酮和二氯甲烷提取,正己烷除脂净化。	HPLC－FD	79% ～90% 81% ～91%	5 μg/kg 1μg/kg	与 UVD、PDA 相比,FD 选择性好,灵敏度最高,检出限最低,但适用范围比 UVD 窄,仅适用于被激发后能产生荧光的物质。并且,对发生在荧光测量中的一些干扰非常敏感,在进行定量分析时,有必要验证这些干扰是否存在,以及对样品测定的影响程度。
鸡肉中的 FF 和 FFA[48]。	丙酮、二氯甲烷提取,正己烷脱脂。	HPLC－FD	79.3% ～82.5% 80.5% ～85.6%	1.5 μg/kg 0.5 μg/kg	
禽蛋中的 FF 和 FFA[49]。	加速溶剂萃取,萃取剂为氨水－乙腈,乙腈饱和的正己烷脱脂。	HPLC－FD	89.4% ～98.6% 91.5% ～98.0%	4.7 μg/kg 1.8 μg/kg	
鸡肉中的 FF[52]。	乙酸乙酯提取后,正己烷去除脂肪,MCX 小柱净化。	HPLC－MS	84.7% ～95.2%	0.2 μg/kg	与 UVD、PDA、FD 相比,用 MS 进行分析时的检测限更低,灵敏度更高,定性定量结果可靠,极大提高了分析效率。但仪器昂贵,维修费用高。因此,检测成本较高。
鱼肉和虾肉中的 FF[53]。	氨水乙酸乙酯提取,正己烷除脂净化。	HPLC－MS	78.6% ～102.7% 73.5% ～109.6%	1.5 ng/mL	
鸡蛋中的 FF 和 FFA[54]。	氨化乙酸乙酯－乙腈提取,乙腈饱和的己烷脱脂。	HPLC－MS	90.84% ～107.84%	0.1 μg/kg 0.5 μg/kg	
中药明胶中的 FF[56]。	氨水－乙腈提取,胰蛋白酶来消除明胶药物中蛋白质,无水硫酸钠、C18 和 PSA 吸附剂净化。	UHPLC－MS/MS	92.8% ～102.7%	0.4 μg/kg	与传统的 HPLC 相比,UHPLC 能大幅度改善液相色谱的分离度、灵敏度,极大地提高分析工作的效率和质量。与 MRM 相比,MRM^3 改进了对牛奶中较低水平氟苯尼考胺的选择性检测和定量。
牛奶中的 FF[57]。	盐酸水解样品,调节 pH,乙酸乙酯提取,分散式固相萃取进一步萃取净化	UHPLC－MS/MS	92% ～113%	0.2 μg/kg	

3 展 望

不同色谱检测方法各有优缺点。用仪器分析法检测氟苯尼考时,气相色谱法应用相对较少,主要是由于氟苯尼考不易挥发,在使用气相色谱法分析时需要进行衍生化处理,样品处理的成本较高。相比较而言,液相色谱法更适合氟苯尼考的检测。液相色谱可与多种检测器连接。其中,紫外检测器和二极管阵列检测器操作简单,但灵敏度比荧光检测器低。荧光检测器灵敏度高,检出限低,但只对荧光物质有响应。随着科技的发展,高效液相色谱 – 质谱联用技术提高了检测效率,对于复杂的环境样品,可以增加额外的分析能力,消除基质的干扰,准确鉴定和定量氟苯尼考,且检出限低,灵敏度高。

对于复杂样品,前处理是影响检测结果的关键因素。关于氟苯尼考的前处理方法,还有待进一步改进,如通过转化只检测氟苯尼考胺一种检测物,以提高检测效率。与此同时,简化色谱分析流程以缩短检测时间也是实际检测的需要,根据需要有效结合快速检测方法与色谱分析方法也是未来的分析趋势。总的来看,色谱法在动物产品和环境样品的氟苯尼考检测中发挥了重要作用,进一步完善色谱方法是食品安全检测和环境风险评估的需要。

参考文献:

[1] Wang B, Zhao X, Xie X, *et al*. Development of an Accelerated Solvent Extraction Approach for Quantitative Analysis of Chloramphenicol, Thiamphenicol, Florfenicol, and Florfenicol Amine in Poultry Eggs[J]. Food Anal Methods, 2019,12(8):1705 – 1714.

[2] 李先强. 氟苯尼考研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(11):5 – 8.
Li X Q. Advance in the Research of Florfenicol[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2016,50(11):5 – 8.

[3] 谭敏捷. 超高效液相色谱 – 串联质谱法测定猪肉和鸡蛋中氟苯尼考兽药残留量[J]. 现代食品,2021,(23):156 – 159.
Tan M J. Determination of Florfenicol Residues in Pork and Egg by Ultra Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry[J]. Modern Food, 2021,(23):156 – 159.

[4] 李莹莹,宋永青,赵 榕,等. 液质联用检测鱼肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺的残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(12):219 – 222.
Li Y Y, Song Y Q, Zhao R *et al*. HPLC – MS/MS Determination of Florfenicol and Florfenicol Amine Residues in Fish[J]. Food Science, 2010,31(12):219 – 222.

[5] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment[J]. Chemosphere, 2006,65(5):725 – 759.

[6] GB 31650 – 2019 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量. 国家卫生健康委员会,农业农村部,国家市场监管理总局[S]. 北京:中国标准出版社,2019.
GB37650—2019. National food safety standard – Maximum residue limits of veterinary drugs in foods. National Health Commission, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Administration of Market Regulation [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.

[7] 刘传发,杨 帆. 动物源食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留检测方法的研究进展[J]. 广东畜牧兽医科技,2015,40(03):1 – 4 + 7.
Liu C F, Yang F. Research progress on detection methods of florfenicol and florfenicol amine residues in animal – derived foods[J]. Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science, 2015,40(03):1 – 4 + 7.

[8] 刘建军. 新型样品预处理技术的开发及在高效液相色谱 – 质谱分析中的应用[D]. 山东:曲阜师范大学,2015.
Liu J J. Development of new sample pretreatment technology and its application in high performance liquid chromatography – mass spectrometry analysis [D]. Shandong: Qufu Normal University, 2015.

[9] 宋 菲,黄 瑶,张利明,等. 猪肉中氟苯尼考残留量高效液相色谱 – 串联质谱检测方法的建立[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2021,41(02):89 – 93.
Song F, Huang Y, Zhang L M, *et al*. Establishment of HPLC – MS method for the determination of florfenicol residues in pork[J]. Animal Science Abroad (Pigs and Poultry), 2021, 41(02):89 – 93.

[10] 陆春胜,马 莉,张学博,等. 超高效液相色谱 – 串联质谱法测定猪肉中氯霉素类兽药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019,10(24):8268 – 8272.
Lu C S, Ma L, Zhang, X B, *et al*. Determination of chloramphenicol residues in pork by ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019,10(24):8268 – 8272.

[11] 曾 勇,董文婷,龚 波,等. 超高效液相色谱 – 串联质谱法快速测定禽蛋中氯霉素、氟苯尼考及其代谢物残留[J]. 中国兽药杂志,2017,51(12):42 – 46.
Zeng Y, Dong W T, Gong B, *et al*. Rapid Determination of Chloramphenicol,Florfenicol and Its Metabolites in Poultry Eggs by UPLC – MS /MS[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017,51(12):42 – 46.

[12] Pokrant E, Riquelme R, Maddaleno A, *et al*. Residue Depletion of Florfenicol and Florfenicol Amine in Broiler Chicken Claws and a Comparison of Their Concentrations in Edible Tissues Using LC MS/MS[J]. Molecules, 2018,23(9):2211.

[13] Imran M, Habib F E, Majeed S, *et al*. LC – MS/MS – based determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry meat from the Punjab – Pakistan[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2018,35(8):1530 – 1542.

[14] Wei S L, Li J W, Liu Y, *et al*. Development of magnetic molecularly imprinted polymers with double templates for the rapid and selective determination of amphenicol antibiotics in water, blood, and egg samples[J]. J Chromatogr A, 2016,1473:19 – 27.

[15] Zhou D, Li Y, Huang L, *et al*. A reliable and cost – efficient TLC – HPLC method for determining total florfenicol residues in porcine edible tissues[J]. Food Chem, 2020,303:125399.

[16] Imran M, Fazal E H, Tawab A, *et al*. LC – MS/MS based method development for the analysis of florfenicol and its application to estimate relative distribution in various tissues of broiler chicken[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017,1063:163 – 173.

[17] Saito – Shida S, Shiono K, Narushima J, *et al*. Determination of total florfenicol residues as florfenicol amine in bovine tissues and eel by liquid chromatography – tandem mass spectrometry using external calibration[J]. J Chromatogr, 2019,1109:37 – 44.

[18] Li X, Zhang Y, Sun Q, *et al*. Determination of extractable and non – extractable florfenicol residues as florfenicol amine in eggs by UPLC – MS/MS[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2022,39(9):1512 – 1520.

[19] Cornejo J, Pokrant E, Riquelme R, *et al*. Single – laboratory validation of an LC – MS/MS method for determining florfenicol (FF) and florfenicol amine (FFA) residues in chicken feathers and application to a residue – depletion study[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2017,34(4):469 – 476.

[20] 朱颖杰,胡红美,何鹏飞,等. 环境样品中抗生素检测方法的研究进展[J]. 环境科学与管理, 2022,47(03):127 – 129 + 134.
Zhu Y J, Hu H M, He P F, *et al*. Research Progress on Detection Methods for Antibiotics in Environmental Samples[J]. Environmental Science and Management, 2022,47(03):127 – 129 + 134.

[21] 张满成,黄从建,王 未,等. 环境样品中抗生素的预处理及检测分析[J]. 环境保护科学,2013,39(02):84 – 87.
Zhang M C, Huang C J, Wang W, *et al*. Preconcentration and Determination of Antibiotics in Environmental Samples [J] Environmental Protection Science, 2013,39(02):84 – 87.

[22] 张 冲. 氟苯尼考、喹乙醇的环境行为及污染控制技术研究[D]. 江苏:南京农业大学, 2010.
Zhang C. Research on the Environmental Behaviors and Pollution Control Technology of Florfenicol and Olaquindox. [D]. Jiangsu: Nanjing Agricultural University, 2010.

[23] Xu M F, Qian M R, Zhang H, *et al*. Simultaneous determination of florfenicol with its metabolite based on modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe sample pretreatment and evaluation of their degradation behavior in agricultural soils[J]. J Sep Sci, 2015, 38(2):211 – 7.

[24] Wang Y Y, Li X W, Fu Y L, *et al*. Association of florfenicol residues with the abundance of oxazolidinone resistance genes in livestock manures[J]. J Hazard Mater, 2020,399:123059.

[25] Pokrant E, Trincado L, Yévenes K, *et al*. Determination of five antimicrobial families in droppings of therapeutically treated broiler chicken by high – performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry [J]. Poult Sci, 2021, 100(9):101313.

[26] 杜良慧. 果蔬中农残检测的 LC – MS/MS 方法构建及应用研究[D]. 贵州:贵州大学,2021.
Du L H. Construction and application of LC – MS / MS method for the detection of pesticide residues in fruits and vegetables[D] Guizhou: Guizhou University, 2021.

[27] 王 淼,王 艳,吴艳云,等. 水产品中氯霉素类药物残留分析方法研究进展[J]. 中国饲料,2017,(16):40 – 42.
Wang M, Wang Y, Wu Y Y, *et al*. Research advance of detection methods for chloramphenicols residual in aquatic products[J]. China Feed, 2017,(16):40 – 42.

[28] 胡红美,郭远明,雷 科,等. 分散固相萃取净化 – 气相色谱法测定水产品中氯霉素和氟苯尼考[J]. 食品科学,2014,35(08):231 – 235.
Hu H M, Guo Y M, Lei K, *et al*. Determination of Chloramphenicol and Florfenicol in Fishery Products by Using

Dispersive Solid Phase Extraction and Gas Chromatograph[J]. Food Science, 2014,35(08):231 – 235.

[29] 孙丰云,张素霞,沈建忠,等. 气相色谱法同时检测虾中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量[C]//中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会. 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第九次学术讨论会论文与摘要集. 广州:中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会,2006:208 – 213.

Sun F Y, Zhang S X, Shen J Z, *et al*. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in shrimp by gas chromatography[C]. // Veterinary Pharmacology and Toxicology Branch of Animal Husbandry and Veterinary Medicine Society of China. Papers and Abstracts of the Ninth Symposium of Veterinary Pharmacology and Toxicology Branch of China Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine. Guangzhou: Veterinary Pharmacology and Toxicology Branch of China Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine,2006:208 – 213.

[30] Pfenning A P, Roybal J E, Rupp H S, *et al*. Simultaneous determination of residues of chloramphenicol, florfenicol, florfenicol amine, and thiamphenicol in shrimp tissue by gas chromatography with electron capture detection. [J]. J AOAC Int, 2000,83(1):26 – 30.

[31] 王争争,郭明刚,张 琦. 气相色谱仪电子捕获检测器的清洗方法[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(01):245 – 251.

Wang Z Z, Guo M G, Zhang Q. Cleaning methods of electron capture detector of gas chromatographer[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019,10(01):245 – 251.

[32] 郭 浩,王燕飞,邹明强,等. 农兽药多残留检测方法的研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(01):50 – 55.

Guo H, Wang Y F, Zou M Q, *et al*. Research Advance on multi – residue Determination of Pesticides and Veterinary Drugs [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2012,39 (01):50 – 55.

[33] 邵 会,冷凯良,周明莹,等. 水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺多残留的同时测定 – GC/MS 法[J]. 渔业科学进展,2015,36(03):137 – 141.

Shao H, Leng K L, Zhou M Y, *et al*. Simultaneous Determination of Chloramphenicol, Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol Amine Residues in Aquatic Products with Gas Chromatography/Mass Spectrometry[J]. Progress in Fishery Sciences, 2015,36(03):137 – 141.

[34] 郭 霞,张素霞,沈建忠,等. 鱼肌肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留的高效液相色谱检测[J]. 中国兽医科学,2006,(09):743 – 747.

Guo X, Zhang S X, Shen J Z, *et al*. Simultaneous determination of residual florfenicol and florfenicol amine in fish muscle by high performance liquid chromatography[J]. Chinese Veterinary Science, 2006(09):743 – 747.

[35] 谭力韬. 多种兽药残留的液相串联质谱高通量检测方法[D]. 广州:华南理工大学,2019.

Tan L T. HPLC tandem mass spectrometry for high throughput detection of veterinary drug residues[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.

[36] 乔青青,郝莉花,巩 凡,等. 气相色谱质谱法检测鸡蛋中氟苯尼考及氟苯尼考胺[J]. 食品工业,2021,42(01):324 – 327.

Qiao Q Q, Hao L H, Gong F, *et al*. Determination of FF and FFa Residue in Eggs by Gas Chromatography Time – of – Flight Mass Spectrometry[J]. The Food Industry, 2021,42(01): 324 – 327.

[37] 庄 宛,叶 玫. 动物性食品中氯霉素(CAP)残留检验方法概述[J]. 福建畜牧兽医,2004(01):8 – 10.

Zhuang Y, Ye M. Overview of detection methods of Chloramphenicol (CAP) residues in animal foods[J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2004(01):8 – 10.

[38] 李 广. 氟苯尼考及氟苯尼考胺药物残留检测方法及应用[J]. 辽宁农业科学,2019(05):59 – 62.

Li G. Method and Application of Florfenicol and Florfenicol Amine Drug Residues Detection[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2019(05):59 – 62.

[39] 宋海梅. 气相色谱技术在水环境监测中的应用[J]. 造纸装备及材料,2022,51(02):141 – 143.

Song M M, Application of gas chromatography in water environment monitoring[J]. Papermaking Equipment & Materials, 2022,51(02):141 – 143.

[40] 王瑞雪. 氟苯尼考在西伯利亚鲟的体内外药效学及药动学研究[D]. 黑龙江:东北农业大学,2012.

Wang R X. The Study of Pharmacodynamics *in vitro* and *in vivo* and Pharmacokinetics of Florfenicol in *Acipenser baeri*[D]. Heilongjiang: Northeast Agricultural University, 2012.

[41] 马博凯,勾新磊,赵新颖. 高效液相色谱法在食品和药品安全分析中的应用[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(11): 4295 – 4298.

Ma B K, Gou X L, Zhao X L. Application of high performance liquid chromatography in food and drug safety analysis[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016,7(11):4295 – 4298.

[42] 刘 娜. 液相色谱紫外检测器关键电路的研制[D]. 河北:河北大学,2007.

Liu N. the Key Circuit Designing of the Ultraviolet Detector[D].

Hebei: Hebei, University, 2007.

[43] 李 涛,杨 伟,杨丽芬,等. 高效液相色谱 – 紫外法检测畜禽肉中氟苯尼考残留[J]. 现代食品,2020,(09):130 – 141.
Li T, Yang W, Yang L F, *et al*. Determination of Florfenicol in Livestock and Poultry Muscle by High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet[J]. Modern Food, 2020, (09): 130 – 141.

[44] Yang J, Sun G, Qian M, *et al*. Development of a high – performance liquid chromatography method for the determination of florfenicol in animal feedstuffs[J]. J Chromatogr B, 2017, 1068 – 1069:9 – 14.

[45] 王恩辉,张志然,王崇瑞,等. 浅析我国兽药残留检测标准现状[J]. 品牌与标准化,2021,(06):5 – 7.
Wang E H, Zhang Z R, Wang C R, *et al*. Research Progress of Veterinary Residues Testing Standards and Methods in China[J]. Brand & Standardization, 2021, (06):5 – 7.

[46] 杨 方,余孔捷,黄建生. 高效液相色谱法检测鳗鱼中氟苯尼考残留量[J]. 分析试验室,2005(02):44 – 46.
Yang F, Yu K J, Huang J S. Determination of florfenicol residues in eel muscle by HPLC[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2005(02):44 – 46.

[47] 马文瑾,徐向月,毛 倩,等. 土壤中氟苯尼考及氟苯尼考胺高效液相色谱检测方法的研究[J]. 中国兽药杂志,2020,54(08):26 – 33.
Ma W J, Xu X Y, Mao Q, *et al*. Determination of Florfenicol and Florfenicol Amine in Soil by High Performance Liquid Chromatography[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2020, 54(08):26 – 33.

[48] 刘永涛,艾晓辉,李 荣,等. 水产品中氟苯尼考和氟苯尼考胺的高效液相色谱荧光法同时测定[J]. 分析测试学报,2008(03):316 – 318.
Liu Y T, Ai X H, Li R, *et al*. Simultaneous Determination of Residues of Florfenicol and Florfenicol Amine in aquatic products by HPLC with fluorescence Detection[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008(03):316 – 318.

[49] 谢恺舟,徐 东,陈书琴,等. 高效液相色谱荧光检测法同时检测鸡肉中甲砜霉素、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留[J]. 分析试验室,2011,30(07):31 – 35.
Xie K Z, Xu D, Chhen S Q, *et al*. Simultaneous determination of residues of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken by HPLC with fluorescence detection[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2011,30(07):31 – 35.

[50] Wang B, Xie X, Zhao X, *et al*. Development of an Accelerated Solvent Extraction – Ultra – Performance Liquid Chromatography – Fluorescence Detection Method for Quantitative Analysis of Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol Amine in Poultry Eggs[J]. Molecules, 2019,24(9):1830.

[51] 陈 沁,房克艳,赵超敏,等. 饲料中兽药含量的检测技术进展[J]. 现代食品科技 2018,34(10):281 – 290.
Chen Q, Fang K Q, Zhao C M, *et al*. Progress in Detection Technology of Veterinary Drug Content in Feed[J]. Modern Food Science and Technology, 2018,34(10):281 – 290.

[52] 张伟玮,曾明华,许世富,等. 高效液相色谱 – 串联质谱法同时测定鸡肉中氯霉素类药物及其代谢物残留方法的建立[J]. 安徽农业大学学报,2012,39(04):641 – 645.
Zhang W W, Zeng M H, Xu S F, *et al*. Development of method for simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken tissues by LC – MS/MS[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2012,39(04):641 – 645.

[53] 殷 平,陈舜胜,邓晓军,等. 液质联用检测水产品中氯霉素、氟苯尼考和甲砜氯霉素的残留量[J]. 现代食品科技,2007(10):83 – 87.
Yin P, Chen S S, Deng X J, *et al*. Determination of Chloramphenicol, Florfenicol and Thiamphenicol Residues in Aquatic Product by Lipid Chromatography – mass/mass Spectrometry[J]. Modern Food Science and Technology, 2007(10):83 – 87.

[54] Xie X, Wang B, Pang M, *et al*. Quantitative analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs via liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Food Chem, 2018,269:542 – 548.

[55] 艾 华,王广基,顾 铁,等. 超高效液相色谱在现代药代动力学中的应用[J]. 中国药科大学学报,2007(04):294 – 298.
Ai H, Wang G J, Gu Y, *et al*. Application of ultra performance liquid chromatography in contemporary pharmacokinetics[J] Journal of China Pharmaceutical University, 2007(04):294 – 298.

[56] Li J, Gong J, Yuan H, *et al*. Determination of Chloramphenicol, Thiamphenicol and Florfenicol in Chinese Gelatin Medicines using Dispersive Solid – Phase Extraction Coupled with Ultra High – Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry[J]. J Chromatogr Sci, 2020,58(5):471 – 476.

[57] Faulkner D V, Cantley M L, Kennedy D G, *et al*. MRM^3 – based UHPLC – MS/MS method for quantitation of total florfenicol residue content in milk and withdrawal study profile of milk from treated cows[J]. Food Chem, 2022,379:132070.

(编 辑:侯向辉)