

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.2.03

# 土壤中头孢噻呋的高效液相色谱检测方法的建立

安博宇<sup>1</sup>, 徐向月<sup>2</sup>, 霍美霞<sup>2</sup>, 马文瑾<sup>2</sup>, 王涵宇<sup>2</sup>, 刘振利<sup>2</sup>, 程古月<sup>1,\*</sup>, 黄玲利<sup>2,\*</sup>

(1. 华中农业大学农业部畜禽产品质量安全风险评估实验室, 武汉 430070;

2. 华中农业大学国家兽药残留基准实验室(HZAU), 农业部食品兽药残留检测重点实验室, 华中农业大学动物医学院, 武汉 430070)

[收稿日期] 2020-06-23 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 02-0012-07 [中图分类号] S859.3

**[摘要]** 兽用抗菌药物的大量使用后进入环境后的行为、对环境的污染以及环境耐药基因的诱导现象逐渐受到人们的重视。建立了一种以高效液相色谱(HPLC)检测四种不同类型土壤中兽用抗生素头孢噻呋的方法,为今后此类药物环境行为研究提供方法学借鉴。使用硼酸缓冲液(pH=9)简单提取两次,Waters Oasis HLB 固相萃取小柱富集浓缩药物之后,氮吹干,初始流动相复溶,HPLC 检测。流动相为 0.1% 三氟乙酸和乙腈,梯度洗脱之后经过 Waters 2998 二极管阵列检测器(PDA)进行定量分析。该方法在四种土壤中的加标回收率为 70.8%~85.6%,检测限为 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,日内变异系数范围为 3.8%~9.8%,日间变异系数范围为 4.1%~10.6%。结果表明,本方法高效、稳定、特异性好,可以用于不同类型土壤中头孢噻呋的检测。

**[关键词]** 头孢噻呋;环境;高效液相色谱;土壤

**基金项目:** 国家重点研发计划课题“抗菌药物代谢转归及环境微生态风险评估”(2018YFD0500301)

**作者简介:** 安博宇,硕士,从事兽医药理学与毒理学研究。

**通讯作者:** 程古月, E-mail: chengguyue@mail.hzau.edu.cn; 黄玲利, E-mail: huanglingli@mail.hzau.edu.cn

(上接 11 页)

[13] 王建华, 兽医内科学[M]. 第 4 版, 北京: 中国农业大学出版社, 2010: 226-229.

Wang J H. Veterinary internal medicine[J]. Version 4. Beijing: China Agricultural University Press, 2010: 226-229.

[14] 李建平. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌脉冲凝胶电泳分型及其主要毒力因子和耐药性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.

Li J P. Pulsed Field Gel Electrophoresis Typing of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis, and the Main Virulence Factors and Antibiotic Resistance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.

[15] Z. N. Yu, J. Wang, H. Ho, et al. Prevalence, Antimicrobial - Resistance Phenotypes and Genotypes of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Samples from Mastitis Cases in Four Regions of China[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2020, 9 (22): 94-101.

[16] M. Stevens, S. Piepers, S. De. Vlieghe The effect of mastitis management input and implementation of mastitis management on

udder health, milk quality, and antimicrobial consumption in dairy herds[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102 (3): 2401-2415.

[17] 何利强. 浅谈畜牧业中抗生素的危害与控制[J]. 中国动物检疫, 2010, 27 (4): 11-12.

He L Q. Discussion on the harm and control of antibiotics in animal husbandry[J]. China Animal Health Inspection, 2010, 27 (4): 11-12.

[18] 徐继英, 刘俊林, 李先波, 等. 我国部分地区奶牛乳房炎大肠杆菌生物学特性及耐药性分析[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(9): 1035-1041.

Xu J Y, Liu J L, Li X B, et al. Characterization and Antibiotic Resistance of Ninety-five Strains of *Escherichia coli* Isolated from Bovine with Mastitis in Some Regions of China[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(9): 1035-1041.

(编辑: 侯向辉)

## Establishment of HPLC for Detection of Ceftiofur in Soil

AN Bo - yu<sup>1</sup>, XU Xiang - yue<sup>2</sup>, HUO Mei - xia<sup>2</sup>, MA Wen - jin<sup>2</sup>, WANG Han - yu<sup>2</sup>,  
LIU Zhen - li<sup>2</sup>, CHENG Gu - yue<sup>1\*</sup>, HUANG Ling - li<sup>2\*</sup>

(1. MOA Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Livestock and Poultry Products (HZA), Wuhan 430070, China;

2. National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues (HZA) and MOA Key Laboratory for Detection of Veterinary  
Drug Residues, College of Veterinary Medicine, HZA, Wuhan 430070, China)

Corresponding author: CHENG Gu - yue, E - mail: chengguyue@mail.hzau.edu.cn; HUANG Ling - li, E - mail: huanglingli@mail.hzau.edu.cn

**Abstract:** After the behavior and fate in the environment, environmental pollution and the induction of environmental resistance genes have gradually attracted people's attention. In this study, a method for the determination of ceftiofur in four different types of soil by high - performance liquid chromatography (HPLC) was established to provide a methodological reference for future research on the environmental behavior of such drugs. Simple extraction was performed twice with boric acid buffer (pH = 9), and the drug was concentrated using a Waters Oasis HLB solid - phase extraction cartridge, and then dried under nitrogen, and the initial mobile phase was reconstituted for HPLC detection. The mobile phase was eluted with a gradient of 0.1% trifluoroacetic acid and acetonitrile, and then quantitatively analyzed by a Waters 2998 diode array detector (PDA). The recovery rate of the method in four kinds of soil was 70.8% ~ 85.6%, the LOD was 30 µg/kg, the LOQ was 50 µg/kg. The intra - day coefficient of variation ranges from 3.8% ~ 9.8%, and the inter - day coefficient of variation ranges from 4.1% to 10.6%. The results show that the method is efficient, stable and specific, and can be used to detect ceftiofur in different types of soil.

**Key words:** ceftiofur; environment; HPLC; soil

当今抗生素尤其是兽用抗生素对环境的污染受到了世界各国的广泛关注,其存在于环境中不仅会对动植物和微生物造成毒性,也会诱导环境微生物产生耐药性并传播。我国作为抗生素的使用大国,仅在 2018 年我国兽用抗生素使用的总量就高达 29774.09 吨<sup>[1]</sup>。如此大量的兽用抗生素经过动物体排入环境后,势必会对土壤或水体环境造成严重的污染<sup>[2]</sup>。头孢噻呋(Ceftiofur)又名赛德福,是 20 世纪 80 年代由美国普强公司开发并被批准应用于治疗动物细菌性疾病的第三代头孢菌素类药物<sup>[3-4]</sup>。由于其抗菌活性强,毒性较低,副作用较小,因此,成为市场上应用最为广泛的兽用头孢菌素类药物。由于我国不合理用药的现象比较常见,临床上的病原对其耐药性现象十分严重。因此,人们不仅要关注临床用药的合理规范,也要注意抗生素对环境的污染以及对环境微生物耐药基因的诱

导作用<sup>[5-7]</sup>。根据之前的研究,头孢噻呋在动物用药后,约 20% ~ 30% 的活性物质会随粪便和尿液排入环境<sup>[4]</sup>,这些化合物以原型药物为主,其进入环境后不仅会影响微生物群落结构,也会诱导耐药基因的产生,因此,对其环境污染的研究是非常有必要的<sup>[8]</sup>。对于头孢噻呋的检测方法,目前研究较多的是在组织和血浆中<sup>[9-12]</sup>,而在环境样品(粪便、堆肥、污水)中的检测研究较少<sup>[13-16]</sup>。目前环境样品中抗生素的检测最常见的是高效液相色谱法(HPLC)和高效液相色谱 - 串联质谱法(HPLC - MS/MS)。这两种方法中 HPLC - MS/MS 方法具有更好的灵敏度,相比于 HPLC 法其仪器价格昂贵,成本较高<sup>[17]</sup>。HPLC 分析方法具有应用范围广,成本较低,更稳定等特点,被广泛应用于物质的定量分析。本研究选择砂土、壤土、砂壤土、黏土 4 种不同类型的土壤为研究对象,开发了土壤中头孢噻呋

的定量检测方法,以期为头孢噻呋及其同类药物环境行为研究提供方法学参考。

1 材料与方法

1.1 仪器、耗材与试剂 Waters 2998 高效液相色谱仪(配备 PDA 检测器);万分之一电子天平(SQP,购自北京赛多利科学仪器有限公司);Agilent ZORBAX SB-C18 (4.6 mm×250 mm×5 μm)色谱柱;固相萃取装置;微型涡旋振荡器(WX-80A,购自上海沪西分析仪器厂有限公司);超声波清洗机(KQ-3200,购自昆山市超声仪器有限公司);Waters Oasis HLB 固相萃取柱(3cc/60 mg, Waters公司);高速冷冻离心机(HITACHI CR21G,日立公司);纯水仪(购自美国 Milli-Q 公司);分析天平(型号 AW120,购自日本 SHIMADZU 公司)。

头孢噻呋标准品(纯度≥89.5%),购自湖北赛因斯实验设备有限公司,100 mg;硼酸钠;氯化钾;甲醇和乙腈均为 HPLC 级;三氟乙酸、乙二胺四乙酸二钠(Na<sub>2</sub>EDTA)、乙酸乙酯等试剂均为分析纯。

1.2 标准溶液及提取液的配置 准确称取头孢噻呋标准品 11.2 mg,溶解在 2 mL N,N-二甲基甲酰胺中,加入超纯水定容至 10 mL,配置成浓度为 1000 μg/mL 的标准储备液,于-20℃冰箱中保存备用。

硼酸缓冲液:称取 3.7 g 氯化钾和 19 g 四硼酸钠,用超纯水溶解并定容至 1 L(pH 为 9)。

1.3 供试土壤样品的采集及理化性质 土壤采自华中农业大学水稻田边土壤,黏土采自华中农业大学水稻田池塘边土壤,砂壤土采自华中农业大学狮子山上,砂土采自武汉白沙洲大桥附近。以上土壤使用多点采样法从表层土壤顶部 0~20 cm 收集三个子样本混合在一起得到复合样本,自然风干。其中一部分过 2 mm 筛用于土壤实验,另一部分过 1 mm 筛用于测定土壤的基本理化形式。土壤颗粒组成用比重法测定,阳离子交换量(CEC)使用乙酸铵法测定,有机质含量(OC)使用重铬酸钾容量法测定,土壤 pH 使用电位法测定(水土比=5:1)。上述土壤经检测不含目标抗生素。四种土壤的相应

理化性质见表 1。

表 1 四种土壤的理化性质

| Tab 1 Physical and Chemical Properties of Four Soils |      |       |       |       |         |                  |
|------------------------------------------------------|------|-------|-------|-------|---------|------------------|
| 土壤类型                                                 | pH   | 粉粒/%  | 黏粒/%  | 砂粒/%  | 有机质含量/% | 阳离子交换量/(cmol/kg) |
| 砂土                                                   | 7.37 | 4.65  | 6.73  | 88.63 | 3.40    | 2.93             |
| 壤土                                                   | 6.89 | 66.25 | 19.02 | 14.73 | 5.93    | 20.27            |
| 砂壤土                                                  | 6.32 | 35.53 | 13.92 | 50.55 | 15.72   | 13.73            |
| 黏土                                                   | 6.58 | 56.78 | 40.53 | 2.69  | 37.50   | 25.71            |

1.4 样品提取与净化 称取土壤 1 g 和 0.15 g Na<sub>2</sub>EDTA 于 10 mL 离心管中,加入硼酸缓冲液 4 mL,涡旋 2 min 混匀,超声 10 min,10000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至另一只 10 mL 离心管中。再分别加相同量提取液重复提取一次。进行固相萃取,取固相萃取 HLB 柱(60 mg,3cc)依次用 3 mL 甲醇、3 mL 超纯水活化。样品过柱,过完后用 2 mL 超纯水淋洗,真空条件下干燥 5 min,再用 3 mL 甲醇洗脱两次,收集洗脱液,40℃水浴氮气吹干,用 1 mL 初始流动相[0.1% 三氟乙酸:乙腈=4:1(V:V)]复溶,溶液过 0.22 μm 微孔滤膜,HPLC 分析。

1.5 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(4.6×250 mm);流速 1 mL/min;柱温 25℃;波长 295 nm;进样量 20 μL;流动相:A 相为 0.1% 三氟乙酸,B 相为乙腈,梯度洗脱程序见表 2。

表 2 液相色谱梯度洗脱比例

| Tab 2 Liquid chromatography gradient elution ratio |           |    |
|----------------------------------------------------|-----------|----|
| 时间/min                                             | 0.1% 三氟乙酸 | 乙腈 |
| 0                                                  | 80        | 20 |
| 5                                                  | 80        | 20 |
| 19                                                 | 24        | 76 |
| 19.01                                              | 80        | 20 |
| 20                                                 | 80        | 20 |

1.6 方法性能考核

1.6.1 标准曲线的制备 根据头孢噻呋在环境中

可能出现的浓度,将标准曲线的范围设置为 0.05 ~ 10 μg/mL,取 4 mL 离心管数只配置成含有头孢噻呋浓度为 0.05、0.2、1、5、10 μg/mL 的药液 1 mL,取 20 μL 进行 HPLC 检测,绘制加药浓度与峰面积的曲线图,考察方法的线性关系,并得出回归方程。

1.6.2 准确度和精密度 1 g 空白土壤样品分别添加 0.05、0.1、1 μg/g 的头孢噻呋,作为低、中、高浓度,按照样品前处理的步骤处理后进行 HPLC 测定,每个浓度设置 5 个重复,通过单点校正法进行回收率的测定,作为准确度考核结果。这些样品每天重复走样三次,连续测定 3 d,得出日内和日间变异系数作为该方法的精密度考核。

1.6.3 检测限和定量限 1 g 空白土壤中加入一系列低浓度头孢噻呋标准品,其浓度分别为 0.2、0.1、0.05、0.04、0.03 μg/g,每个浓度做 5 个平行样品,按照上述样品前处理步骤处理后进行检测,以 S/N = 3 时的最低药物浓度作为该方法的检测限,以 S/N = 10 时的最低药物浓度作为该方法的定量限。

2 结果与分析

2.1 方法的线性范围与检测限和定量限 目标物质在 0.05 ~ 10 μg/mL 范围内具有良好的线性关

系,线性方程为  $y = 87.545x + 4123.6$ ,相关系数  $r^2$  为 0.9998。按照信噪比为 3 时的最低浓度作为检测限,信噪比为 10 时的最低浓度作为定量限,得到四种土壤的检测限为 30 μg/kg,定量限为 50 μg/kg (图 1)。

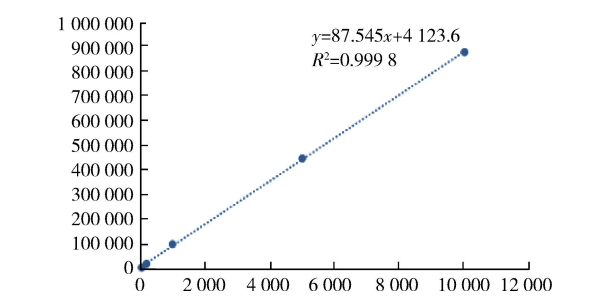


图 1 头孢噻呋标准曲线

Fig 1 Standard curve of ceftiofur

2.2 方法的准确度和精密度 根据 1.6.2 项中的步骤得到回收率和日间变异系数作为方法的准确度和精密度,准确度范围是 70.8% ~ 85.6%,日内变异系数范围是 3.8% ~ 9.8%,日间变异系数范围是 4.1% ~ 10.6%,相应结果见表 3。头孢噻呋在四种土壤的添加色谱图见图 2。

表 3 四种土壤中头孢噻呋的回收率、日内和日间变异系数

Tab 3 Recovery rate, LOQ, and RSD of ceftiofur in four soils

| 土壤类型 | 添加浓度/(μg·kg <sup>-1</sup> ) | 实测浓度/(μg·kg <sup>-1</sup> ) | 平均回收率/%    | 日内变异系数/% | 日间变异系数/% |
|------|-----------------------------|-----------------------------|------------|----------|----------|
| 壤土   | 50                          | 42.3                        | 84.6 ± 4.6 | 5.1      | 5.4      |
|      | 100                         | 78.4                        | 78.4 ± 3.4 | 4.2      | 4.4      |
|      | 1000                        | 825.0                       | 82.5 ± 6.3 | 6.7      | 7.6      |
| 砂壤土  | 50                          | 41.3                        | 82.6 ± 6.2 | 7.4      | 7.6      |
|      | 100                         | 80.7                        | 80.7 ± 4.0 | 3.8      | 4.9      |
|      | 1000                        | 773.0                       | 77.3 ± 3.9 | 4.9      | 5.1      |
| 砂土   | 50                          | 42.8                        | 85.6 ± 3.5 | 4.0      | 4.1      |
|      | 100                         | 77.8                        | 77.8 ± 7.8 | 9.5      | 10.1     |
|      | 1000                        | 781.0                       | 78.1 ± 8.2 | 9.8      | 10.5     |
| 黏土   | 50                          | 35.4                        | 70.8 ± 7.5 | 9.3      | 10.6     |
|      | 100                         | 72.3                        | 72.3 ± 5.9 | 7.1      | 8.1      |
|      | 1000                        | 726.0                       | 72.6 ± 6.2 | 7.4      | 8.5      |

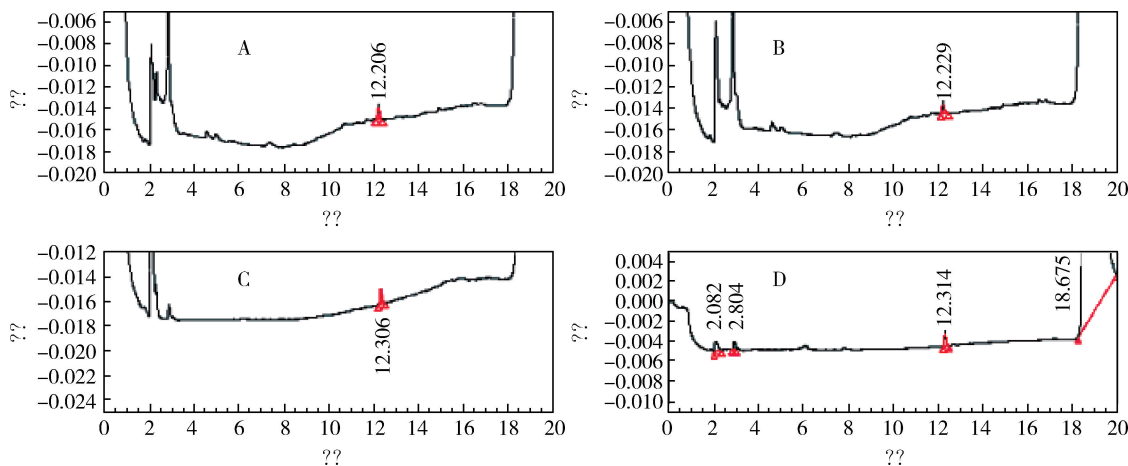


图2 壤土、黏土、砂壤土、砂土 100 µg/L 添加提取色谱图(A:壤土 B:黏土 C:沙壤土 D:砂土)

Fig 2 Chromatograms of 100 µg/L addition and extraction of loam, clay, sandy loam and sand (A: loam, B: clay, C: sandy loam, D: sandy soil)

2.3 提取 pH 的选择 本研究同时比较了不同 pH 缓冲液条件下的提取效果(磷酸盐缓冲液 pH = 3、4、5、6、7 以及硼酸盐缓冲液 pH = 9、11)。根据结果 pH = 3、4、5、6、7 时回收率最高只有 60% 左右,而 pH = 11 时无法将头孢噻呋提取出来,当 pH = 9 时提取效果最好,回收率可达 70% 以上(图 3)。

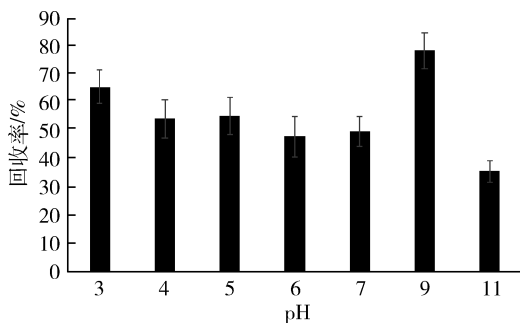


图3 不同提取 pH 条件的回收率

Fig 3 Recovery rates at different extraction pH conditions

2.4 提取试剂的选择 本研究除了硼酸缓冲液之外,还使用了 pH 为 4 的磷酸缓冲液乙腈不同比例混合提取液( $V:V=1:1$ 、 $1:2$ 、 $2:1$ )、超纯水、乙腈水( $V:V=4:1$ ),结果表明,硼酸缓冲液能够有效的将头孢噻呋从土壤中提取出来且回收率最高。最终选择 pH = 9 的硼酸缓冲液作为提取试剂,各个提取试剂的回收率如图 4 所示。

2.5 洗脱条件的选择 同时对比了甲醇、乙腈、乙

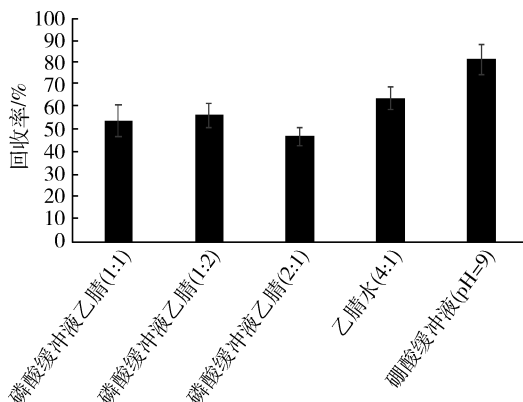


图4 不同提取试剂的回收率

Fig 4 Recovery rates of different extraction reagents

酸乙酯三种常用的洗脱试剂,结果表明甲醇的洗脱效果最好,而乙腈和乙酸乙酯无法将头孢噻呋洗脱下来,检测不到色谱峰,最终选择甲醇作为最终的洗脱试剂。

### 3 讨论与结论

3.1 提取试剂的选择 对于土壤基质来说,主要干扰检测的因素为金属离子和土壤的吸附能力,通过加入 EDTA 来有效的降低金属离子对检测的干扰,碱性缓冲液能够更好的去除土壤对酸性药物的吸附作用<sup>[18,13]</sup>。目前国内外研究中,提取土壤中的兽用抗生素大多使用乙腈和缓冲液以一定比例混合作为提取试剂<sup>[19]</sup>,本实验中也尝试了此方法,但

是提取的上清液均出现一定浑浊,并且回收率也比较低,原因可能是乙腈虽然具有较强的提取能力,但其会溶解土壤中的一些亲脂性物质,对分析造成干扰。在尝试了几种提取试剂后最终选取 pH = 9 的硼酸缓冲液作为提取试剂。本文中黏土的回收率相较于其他三种土壤存在差异,黏土的有机质含量明显高于另外三种土壤,对于头孢噻呋来说,其在这种土壤中吸附量更大,分子之间的吸附相较于另外几种土壤不易破坏,因此,回收率会比另外三种土壤低一些,但也可以达到检测要求。

**3.2 提取 pH 条件的选择** 在不同提取 pH 条件下可以发现在 pH = 9 使回收率达到 70% 以上,而 pH 在偏中性或者强碱性条件下回收率达不到要求,而强酸性条件下回收率可以达到 60% 以上但不如弱碱性环境回收率高,原因可能是酸性条件下无法破坏土壤和头孢噻呋之间的吸附作用,碱性过强时由于头孢噻呋本身 pKa 等于 2.5 ~ 3.1,属于强酸性药物,在碱性较强 (pH > 11) 的环境下相对不稳定<sup>[4]</sup>,其会在很快的时间 (几小时) 内达到降解半衰期<sup>[20-22]</sup>。

**3.3 洗脱条件的选择** 对于洗脱试剂来讲,由于本实验中使用的是 HLB 小柱,为亲脂亲水平衡柱,一般在洗脱时不需要调 pH,三种洗脱试剂中甲醇的洗脱效果最好,可能是由于头孢噻呋的极性与甲醇的极性相似,而乙酸乙酯和乙腈的极性均低于甲醇,无法将药物完全洗脱下来,因此,最终选择甲醇作为洗脱试剂。

本研究建立了一种高效液相色谱法检测土壤中头孢噻呋的方法,采用 pH = 9 的硼酸缓冲液提取,经 HLB 小柱净化后进行分析。该方法专属性较强、灵敏度高、重现性好、成本较低、回收率和精密度均可达到检测要求,可以用来检测四种土壤中的头孢噻呋含量,为今后头孢噻呋的环境行为研究提供了方法学借鉴。

## 参考文献:

[1] 2018 年中国兽用抗菌药物使用情况报告[R]. 中国兽医药品监察所,2019. Report on the Use of Antibacterial Drugs for Veter-

inary Medicine in China in 2018[R]. China Institute of Veterinary Drug Control, 2019.

- [2] Iris R. Gutiérrez, Watanabe N, Harter T, *et al.* Effect of sulfonamide antibiotics on microbial diversity and activity in a Californian Mollic Haploxyeralf[J]. J. Soils Sediments, 2010, 10(3): 537-544.
- [3] Yancey R J, Kinney M L, Roberts B J, *et al.* Ceftiofur sodium, a broad-spectrum cephalosporin; Evaluation *in vitro* and *in vivo* in mice[J]. Am J Vet Res, 1987, 48(7):1050-1053.
- [4] Hornish R, Katarski S. Cephalosporins in Veterinary Medicine - Ceftiofur Use in Food Animals[J]. Curr Top Med Chem, 2002, 2(7):717-731.
- [5] Zhang L, Jin Y, Mao H, *et al.* Structure-selective hot-spot Raman enhancement for direct identification and detection of trace penicilloic acid allergen in penicillin[J]. Biosens Bioelectron, 2014, 58:165-171.
- [6] Blau K, Casadevall L, Wolters B, *et al.* Soil texture-depending effects of doxycycline and streptomycin applied with manure on the bacterial community composition and resistome[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2017, 94(2):1-11.
- [7] Wepking C, Avera B, Badgley B, *et al.* Exposure to dairy manure leads to greater antibiotic resistance and increased mass-specific respiration in soil microbial communities[J]. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 2017, 284(1851):2016-2233.
- [8] Alexandrino D A M, Mucha A P, Almeida C M R, *et al.* Biodegradation of the veterinary antibiotics enrofloxacin and ceftiofur and associated microbial community dynamics[J]. Sci Total Environ, 2017, 581-582:359-368.
- [9] Jacobson G A, Martinod S, Cunningham C P. Determination of ceftiofur in bovine plasma by HPLC-DAD[J]. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40(5):1249-1252.
- [10] 胡鹏,余群力. 头孢噻呋在猪肌肉组织中残留 HPLC 检测方法的优化[J]. 北京农业, 2012, (30):80-82.
- Hu P, Yu Q L. Optimization of HPLC method for determination of ceftiofur residues in pig muscle tissue[J]. Beijing Agriculture, 2012, (30):80-82.
- [11] 李帅鹏,黄显会,孔祥凯,等. 头孢噻呋在猪组织中残留消除规律[J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44(8):1311-1316.
- Li S P, Huang X H, Kong X K, *et al.* Residue elimination of ceftiofur in pig tissues[J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013, 44(8):1311-1316.
- [12] 刘明生,甘辉群,刘俊栋,等. 鸡蛋中头孢噻呋的残留检测技术研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7):305-306.
- Liu M S, Gan H Q, Liu J D, *et al.* Research on the detection

- technology of ceftiofur residues in eggs[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(7):305–306.
- [13] 李晓晶, 于 鸿, 甘平胜, 等. 土壤中  $\beta$ -内酰胺类抗生素的全自动固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(5):456–458.
- Li X J, Yu H, Gan P S, *et al.* Determination of  $\beta$ -lactam antibiotics in soil by automatic solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Environment and Health, 2016, 33(5): 456–458.
- [14] Tina V, Els V, Christof V, *et al.* Development, validation and application of an ultra high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the simultaneous detection and quantification of five different classes of veterinary antibiotics in swine manure[J]. J Chromatogr A, 2016, 1429:248–257.
- [15] Li X, Zheng W, Machesky M L, *et al.* Degradation Kinetics and Mechanism of Antibiotic Ceftiofur in Recycled Water Derived from a Beef Farm[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(18):10176–10181.
- [16] 何 欣, 聂晓静, 赵红霞, 等. SPE-LC-MS/MS 同时测定水中 9 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(2):128–132.
- He X, Nie X J, Zhao H X, *et al.* Simultaneous determination of 9  $\beta$ -lactam antibiotics in water by SPE-LC-MS/MS[J]. Environmental Science and Technology, 2018, 41(2):128–132.
- [17] 孟明辉. 土壤中兽药抗生素检测方法研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2017.
- Meng M H. Research on the detection method of veterinary antibiotics in soil[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [18] Bei C, Keith W, Stephen H, *et al.* Sulfamethazine Sorption to Soil: Vegetative Management, pH, and Dissolved Organic Matter Effects[J]. J Environ Qual, 2013, 42(3):794–805.
- [19] 郭欣妍, 王 娜, 郝利君, 等. 超高效液相色谱/串联质谱法同时测定水、土壤及粪便中 25 种抗生素[J]. 分析化学, 2015, (1):13–20.
- Guo X Y, Wang N, Hao L J, *et al.* Simultaneous determination of 25 antibiotics in water, soil and feces by ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, (1):13–20.
- [20] Gilbertson T J, Hornish R E, Jaglan P S, *et al.* Environmental fate of ceftiofur sodium, a cephalosporin antibiotic. Role of animal excreta in its decomposition[J]. J Agric Food Chem, 1990, 38(3):890–894.
- [21] Ribeiro A R, Schmidt T C. Determination of acid dissociation constants (pKa) of cephalosporin antibiotics: Computational and experimental approaches[J]. Chemosphere, 2017, 169:524–533.
- [22] Ribeiro A R, Bernd S, Schmidt T C. Cephalosporin antibiotics in the aquatic environment: A critical review of occurrence, fate, ecotoxicity and removal technologies[J]. Environ Pollut, 2018, 241(1), 1153–1166.

(编辑:侯向辉)