

# 液相色谱 - 串联质谱法测定配合饲料中 16种头孢菌素类药物

张艳, 吴银良\*

(宁波市农业科学研究院, 浙江 宁波 315040)

**摘要:** 建立了配合饲料中16种头孢类药物(头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢匹林、头孢洛宁、头孢喹肟、头孢噻肟、头孢噻吩、头孢羟氨苄、头孢呋辛、头孢他定、头孢克洛、头孢丙烯)含量的液相色谱-串联质谱测定方法。配合饲料样品中头孢类药物用乙腈-水(40:60)溶液提取,离心,上清液经0.1%甲酸稀释后进行液相色谱-串联质谱分析。采用Acquity BEH C<sub>18</sub>色谱柱,以0.1%甲酸溶液-甲醇作为流动相进行梯度洗脱,电喷雾正离子(ESI<sup>+</sup>)模式电离,多反应监测(MRM)模式检测,基质校准外标法定量。结果表明,16种头孢类药物在一定质量浓度范围内均呈良好的线性关系,相关系数( $r^2$ )均大于0.999;方法检出限为1.5~15 μg/kg,定量下限为5.0~50 μg/kg。阴性配合饲料样品的加标回收率为88.4%~93.6%,相对标准偏差(RSD)为0.8%~4.7%。该方法简单快速,准确度和精密度较好,能满足配合饲料样品中头孢类药物的检测需要。

**关键词:** 配合饲料; 头孢菌素类药物; 液相色谱-串联质谱法; 含量

中图分类号: O657.63; TQ460.72 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2018)11-1375-06

## Determination of Sixteen Cephalosporins in Formulated Feeds by Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Yan, WU Yin-liang\*

(The Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo 315040, China)

**Abstract:** A simple, sensitive and reliable analytical method was developed for the simultaneous determination of 16 cephalosporins in formulated feeds by ultra high performance liquid chromatography - positive electrospray ionization tandem mass spectrometry. Samples were extracted with acetonitrile - water(40:60) solution, and directly diluted using 0.1% formic acid solution after centrifugation, then analyzed by LC - MS/MS. The samples were separated on an Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> column with a mixture of 0.1% formic acid solution and methanol as mobile phase by gradient elution, and detected in multiple reaction monitoring mode. The matrix-matched external standard method was applied for the quantitative analysis. There are good linear relationships for sixteen cephalosporins in the certain concentration ranges with their correlation coefficients more than 0.999. The limits of detection for sixteen cephalosporins were in the range of 1.5 - 15 μg/kg, and the limits of quantitation were 5.0 - 50 μg/kg. The recoveries for the analytes in feeds at spiked levels of 10 - 2 500 μg/kg were in the range of 88.4% - 93.6%, with relative standard deviations of 0.8% - 4.7%. The method is suitable for the determination of sixteen cephalosporins in formulated feeds due to its simplicity and reliability.

**Key words:** formulated feeds; cephalosporins; liquid chromatography with tandem mass spectrometry; concentration

头孢菌素类药物(Cephalosporins, CEPs)又名先锋霉素类药物,属β-内酰胺抗生素,兽医临床应用广泛。CEPs品种多,现已发展到第五代。头孢菌素类药物虽较青霉素类药物过敏反应低,但过量使用会导致人体内白血球降低,影响内脏功能,发生脏器损伤等,对老人、儿童,特别是胎儿的影响较

收稿日期: 2018-05-07; 修回日期: 2018-06-20

基金项目: 宁波市农业资助项目(2016C51036)

\*通讯作者: 吴银良, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 农兽药残留分析, E-mail: wupaddyfield@sina.com

大<sup>[1-2]</sup>。为保障公众健康安全,我国已对头孢氨苄、头孢唑肟和头孢噻吩 3 种头孢菌素类药物制定了动物性食品中最高残留限量(Maximum residue limit, MRL)(20~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )<sup>[3]</sup>;但对于常用的头孢拉定、头孢噻肟等药物,目前尚未制定其 MRL,因此在畜禽生产中存在滥用头孢菌素类药物的现象。考虑到抗生素的耐药性问题,部分国家目前已禁止在家畜饲料中使用头孢菌素类药物<sup>[4]</sup>。因此,为保障人类用药和我国动物性食品安全,建立简单、快速的测定饲料中头孢菌素类药物的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法具有重要意义。

目前头孢菌素类药物的检测方法常使用微生物法<sup>[5]</sup>、液相色谱法<sup>[6-7]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[8-16]</sup>和毛细管电泳法<sup>[17]</sup>,且主要集中于牛奶<sup>[10-11,15]</sup>和肉<sup>[9,14,17]</sup>类样品,少数方法涉及鸡蛋<sup>[16]</sup>和饲料样品<sup>[12-13]</sup>。国内尚无有关饲料中头孢菌素类药物分析方法的研究。固相萃取小柱净化是最常用的前处理手段<sup>[8,10,15]</sup>,考虑到头孢菌素类药物在中性和酸性条件下固相萃取保留较差,通常在上柱前将溶液调至 pH 8.5 左右<sup>[15]</sup>,从而导致已有方法工序复杂、操作繁琐、成本较高,难以满足批量样品同时分析的需要。本研究比较了提取液直接稀释与固相萃取净化方法的性能参数,建立了提取后直接稀释进样分析配合饲料中头孢菌素类药物的 LC-MS/MS 方法。该方法具有简单、快速、准确、灵敏的优点,为饲料中头孢菌素类药物的风险监测提供了技术支持。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Waters UPLC Xevo™ TQ-S micro 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司),配置电喷雾离子源;IKA Vortex Genie 3 漩涡振荡器(德国 IKA 公司),低温高速离心机(德国 Sigma 公司)。

头孢菌素类药物标准品:头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢唑肟、头孢噻肟、头孢噻吩、头孢羟氨苄、头孢呋辛(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH),头孢乙腈、头孢匹林(德国 WITEGA laboratorien Berlin-Adlershof GmbH),头孢洛宁、头孢噻吩、头孢他定(加拿大 Toronto Research Chemicals 公司),头孢克洛、头孢丙烯(中国食品药品检定研究院),所有标准品的纯度均大于 92%。甲醇、乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司),甲酸(色谱纯,美国 Tedia 公司),HLB 小柱(500 mg/6 mL,美国 Waters 公司);实验用水为 Milli-Q 超纯水。

### 1.2 色谱-质谱条件

色谱柱:Acquity BEH C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ );流动相:A 为 0.1% 甲酸溶液,B 为甲醇;梯度洗脱条件:0~1.0 min, 5% B; 1.0~4.5 min, 5%~50% B; 4.5~7.5 min, 50%~70% B; 7.5~7.6 min, 70%~5% B, 7.6~9.0, 5% B;流速 0.30 mL/min;进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

ESI 源正离子模式电离;多反应监测(MRM);毛细管电压:2.5 kV;萃取锥孔电压:25 V;RF 透镜电压:0.5 V;离子源温度:150  $^{\circ}\text{C}$ ;脱溶剂气温度:500  $^{\circ}\text{C}$ ;锥孔气流速:30 L/h;脱溶剂气流速:1 000 L/h;其它条件见表 1。

表 1 16 种头孢菌素类药物的保留时间、母离子、子离子、锥孔电压及碰撞能量  
Table 1 Retention times, precursor ions, product ions, cone voltages and collision energies of 16 cephalosporins

No.	Compound	Retention time (min)	Precursor ion ( $m/z$ )	Product ions ( $m/z$ )	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
1	Cefalexin(头孢氨苄)	5.27	347.9	105.7, 157.7*	16	6, 20
2	Cefradine(头孢拉定)	5.56	350.0	157.7, 175.8*	16	10, 8
3	Cefacetrile(头孢乙腈)	4.88	361.9	177.7, 257.8*	8	10, 12
4	Cefazolin(头孢唑林)	5.63	455.0	156.0, 323.0*	4	16, 10
5	Cefoperazone(头孢哌酮)	5.83	646.0	142.8*, 530.0	8	34, 10
6	Cefapirin(头孢匹林)	4.43	423.9	151.7, 291.8*	10	20, 14
7	Cefalonium(头孢洛宁)	4.92	459.0	122.7, 151.7*	6	10, 16
8	Cefquinome(头孢唑肟)	4.67	529.0	124.7, 133.7*	6	62, 14
9	Cefotaxime(头孢噻肟)	5.39	456.0	124.9*, 166.7	6	44, 18
10	Ceftiofur(头孢噻吩)	6.86	523.9	125.5, 240.8*	4	38, 16
11	Cefalothin(头孢噻吩)	6.94	418.9	314.8, 358.8*	6	12, 10
12	Ceadroxil(头孢羟氨苄)	4.14	363.9	113.6*, 207.8	6	18, 8

(续表1)

No.	Compound	Retention time (min)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ions ( <i>m/z</i> )	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
13	Cefuroxime(头孢呋辛)	5.57	447.0	341.9*, 385.9	16	12, 10
14	Ceftazidime(头孢他定)	4.48	547.0	166.7, 467.9*	4	26, 10
15	Cefaclor(头孢克洛)	5.15	367.9	105.7*, 173.8	6	18, 14
16	Cefprozil(头孢丙烯)	4.95	390.0	113.6*, 207.8	6	18, 8

\* quantitation ion

### 1.3 样品前处理

取试样5 g(精确至0.01 g),置于50 mL聚丙烯离心管中,加入乙腈-水(40:60)溶液25 mL,以300 r/min振荡提取30 min,再以5 000 r/min离心5 min后,用乙腈-水(40:60)溶液25 mL重复提取1次,合并上清液至50 mL容量瓶中,用乙腈-水(40:60,体积比)溶液定容。吸取0.4 mL上清液,加0.1%甲酸溶液0.6 mL,混合均匀,过0.22 μm滤膜后,待测定。

### 1.4 加标回收实验

对阴性猪配合饲料进行加标回收实验,样品处理同“1.3”,头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢唑肟、头孢噻吩、头孢呋辛和头孢他定7种药物的加标水平为50、500、2 500 μg/kg,其余头孢菌素类药物的加标水平为10、50、500、2 500 μg/kg。称样后加入标准溶液,涡旋混匀放置0.5 h后进行样品处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 仪器条件的优化

已建立的头孢菌素类药物的LC-MS/MS分析方法通常采用正离子模式进行电离<sup>[8-16]</sup>。本实验用水-甲醇(95:5,体积比)溶液分别配制1.0 mg/L的16种头孢菌素类药物溶液,利用仪器自带Intelstart软件优化质谱条件并获得定性、定量离子对,结果发现16种头孢菌素类药物在正离子模式下均能获得较好的响应,其中头孢唑林、头孢乙腈、头孢噻吩和头孢呋辛的母离子均为[M+Na]<sup>+</sup>,其余头孢菌素类药物的母离子为[M+H]<sup>+</sup>;同时发现头孢噻吩和头孢呋辛在负离子模式下也有较好的响应,但与正离子模式下的分析灵敏度差异不显著,因此本研究采用表1中的质谱条件进行实验。

文献表明,当采用Waters超高效液相色谱仪分析头孢菌素类药物时,Waters Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>、Waters Acquity Xselect CSH C<sub>18</sub>等色谱柱均能取得较好的保留和分离效果<sup>[7]</sup>,因此本实验采用Waters Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>柱考察了甲酸溶液-甲醇和甲酸溶液-乙腈2种流动相体系的响应情况,发现当采用0.1%甲酸-乙腈为流动相进行梯度洗脱时,头孢乙腈、头孢唑林等药物的响应较差,而采用0.1%甲酸-甲醇体系进行梯度洗脱时16种头孢菌素类药物的响应均较好,因此确定0.1%甲酸-甲醇体系为流动相,梯度洗脱条件见“1.2”。

### 2.2 前处理条件的优化

生物样品中头孢菌素类药物的常用提取剂有甲醇<sup>[13]</sup>、甲醇-水<sup>[12]</sup>和乙腈-水<sup>[8-9,16]</sup>等。因饲料样品中通常富含蛋白质和脂类物质,用甲醇或甲醇-水提取时样液较混浊,需进一步净化去除蛋白。而用乙腈提取时,因蛋白变性沉淀,提取后杂质少,且提取液澄清,因此本研究使用乙腈、乙腈-水(50:50,体积比)、乙腈-水(40:60,体积比)和乙腈-水(25:75,体积比)4种提取液对猪配合饲料在500 μg/kg加标水平下进行提取,结果发现用乙腈提取时所有药物的回收率均在10%以下,采用乙腈-水(50:50)和乙腈-水(25:75)提取时,不能使所有头孢菌素类药物的提取回收率达到90%以上;而采用乙腈-水(40:60)时,所有头孢菌素类药物的回收率均大于90%,因此确定以乙腈-水(40:60)进行提取。目前用于动物性食品提取的乙腈溶液中乙腈含量均高于60%<sup>[7-8,15]</sup>,而本实验中乙腈的比例仅为40%,可能是饲料样品比动物性食品的含水量低所致。

500 μg/kg的猪配合饲料加标样品经乙腈-水(40:60)提取后,比较了直接稀释法与固相萃取法的加标回收率、方法灵敏度、基质效应和用时,其中固相萃取法参考GB/T 22942-2008<sup>[18]</sup>,即5 mL提取液用25 mL磷酸二氢钠缓冲溶液稀释后,调至pH 8.5过柱,用乙腈洗脱吹干后以15%乙腈溶解

(溶解液体积分别为 1.0、12.5 mL)。结果发现,直接稀释法的回收率(88.7%~93.6%)明显高于固相萃取法(75.2%~82.1%);当固相萃取法采用 1.0 mL 的 15% 乙腈溶解时,基质效应明显大于直接稀释法(图 1),而采用 12.5 mL 15% 乙腈溶解时,基质效应比直接稀释法略有改善,斜率比值(基质标准曲线斜率和溶剂标准曲线斜率的比值)在 0.8~1.2 范围外的药物由 4 种减至 1 种(图 1);直接稀释法的灵敏度(检出限为 1.5~15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )比固相萃取法采用 1.0 mL 15% 乙腈溶液溶解时(检出限为 0.12~1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的灵敏度低;时间方面,直接稀释法完成 6 个样品的稀释仅需 3 min,而固相萃取法则需约 2.5 h。动物性食品中 MRL 限量为 20~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,头孢菌素类药物在饲料中使用浓度通常较高<sup>[3]</sup>。综合考虑用时、基质效应和回收率,本实验最终采用直接稀释法。

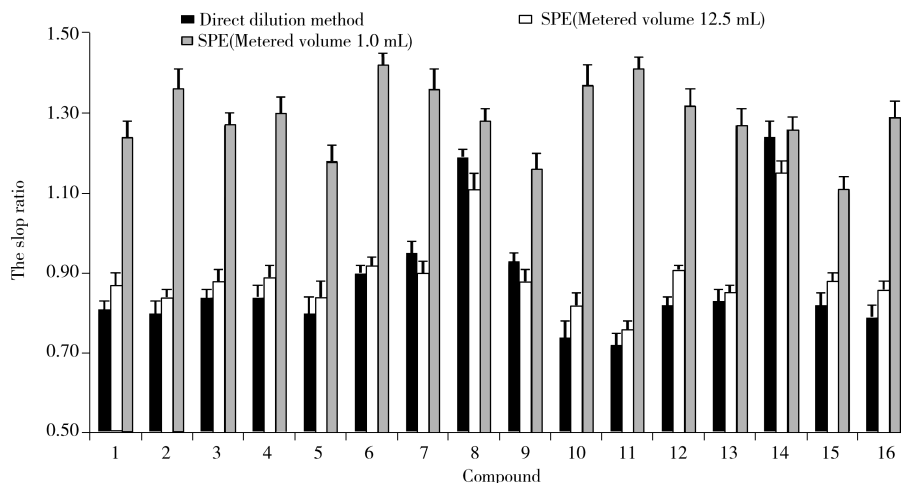


图 1 不同净化方式下的基质效应

Fig. 1 Matrix effects of different purification methods  
the order number of the cephalosporins is the same as that in Table 1

### 2.3 线性实验

在优化条件下,利用稀释后的猪配合饲料空白样品提取液配制 0.1、0.5、5、20、50、200、500  $\mu\text{g}/\text{L}$  的系列基质标准工作溶液(其中头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢喹肟、头孢噻吩、头孢呋辛和头孢他定分别为 0.5、5、20、50、200、500  $\mu\text{g}/\text{L}$ )进行 LC-MS/MS 分析,以峰面积( $Y$ )对相应质量浓度( $X$ ,  $\mu\text{g}/\text{L}$ )作标准曲线,得到回归方程和相关系数( $r^2$ )。16 种头孢菌素类药物在上述质量浓度范围内线性关系良好, $r^2$  均大于 0.999。

### 2.4 方法的专属性

按照“1.4”方法同时进行空白猪配合饲料样品、加标样品和干扰样品(空白样品中添加  $\beta$ -内酰胺类药物青霉素 G、青霉素 V、氯唑西林、苯唑西林、氨苄西林、阿莫西林、双氯西林)实验,结果发现空白样品和干扰样品未出现干扰峰,表明方法的专属性较好。

### 2.5 回收率、精密度与检出限

按照“1.4”方法进行加标回收实验,每批次同一浓度 5 个平行样品,重复 3 次,其中第 1 批的结果见表 2,加标样品的 MRM 色谱图见图 2。由表 2 可知,16 种头孢菌素类药物的加标回收率为 88.4%~93.6%,相对标准偏差(RSD)为 0.8%~4.7%,满足饲料中头孢菌素类药物含量的测定要求。按 3 倍信噪比( $S/N=3$ )计算该方法对 16 种头孢菌素类药物的检出限(LOD)为 1.5~15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;按  $S/N=10$  计算得定量下限(LOQ)为 5.0~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国农业部 235 号公告规定头孢氨苄、头孢喹肟和头孢噻吩在动物性食品中的 MRL 为 20~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[3]</sup>,而本研究的分析对象为饲料,其分析要求通常低于动物性食品,且本方法检出限可达 1.5~15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,因此能满足饲料中该类药品含量的分析需要。

表 2 猪配合饲料中 16 种头孢菌素类药物的回收率与相对标准偏差  
Table 2 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of 16 cephalosporins in swine formulated feed

Compound	Recovery(%, n=5)				RSD(%, n=5)				LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
	10 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	50 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	500 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2 500 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	10 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	50 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	500 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2 500 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		
Cefalexin	93.1	91.9	90.8	93.6	2.0	1.7	1.2	0.8	1.5	5.0
Cefradine	90.7	89.9	90.3	91.2	3.0	3.3	3.7	2.8	1.5	5.0
Cefacetrile	-*	88.7	88.8	89.2	-	3.5	3.3	3.9	15	50
Cefazolin	-	93.3	90.9	92.8	-	1.8	3.2	2.2	12	40
Cefoperazone	-	88.9	92.9	89.4	-	2.6	1.2	2.6	12	40
Cefapirin	88.7	90.7	91.6	89.8	3.7	1.6	1.0	2.4	3.0	10
Cefalonium	91.3	89.9	92.5	90.6	4.7	3.0	1.4	2.3	3.0	10
Cefquinome	-	89.6	89.8	90.0	-	2.3	3.1	4.1	12	40
Cefotaxime	88.7	88.4	89.2	90.4	1.0	3.9	3.8	3.5	3.0	10
Ceftiofur	89.9	90.7	88.9	92.2	3.7	3.3	2.0	2.9	3.0	10
Cefalothin	-	92.7	92.2	91.0	-	3.5	4.0	3.3	15	50
Cefadroxil	91.6	90.6	91.1	90.0	2.1	2.6	1.9	4.0	1.5	5
Cefuroxime	-	91.6	90.6	92.5	-	2.8	2.8	3.9	15	50
Ceftazidime	-	91.2	89.9	89.8	-	1.8	2.3	2.8	7.5	25
Cefaclor	89.7	91.5	91.4	91.9	3.0	2.3	2.0	2.2	3.0	10
Cefprozil	90.7	91.2	90.1	90.6	3.5	3.1	2.8	3.0	3.0	10

\* no recovery experiments have been carried out

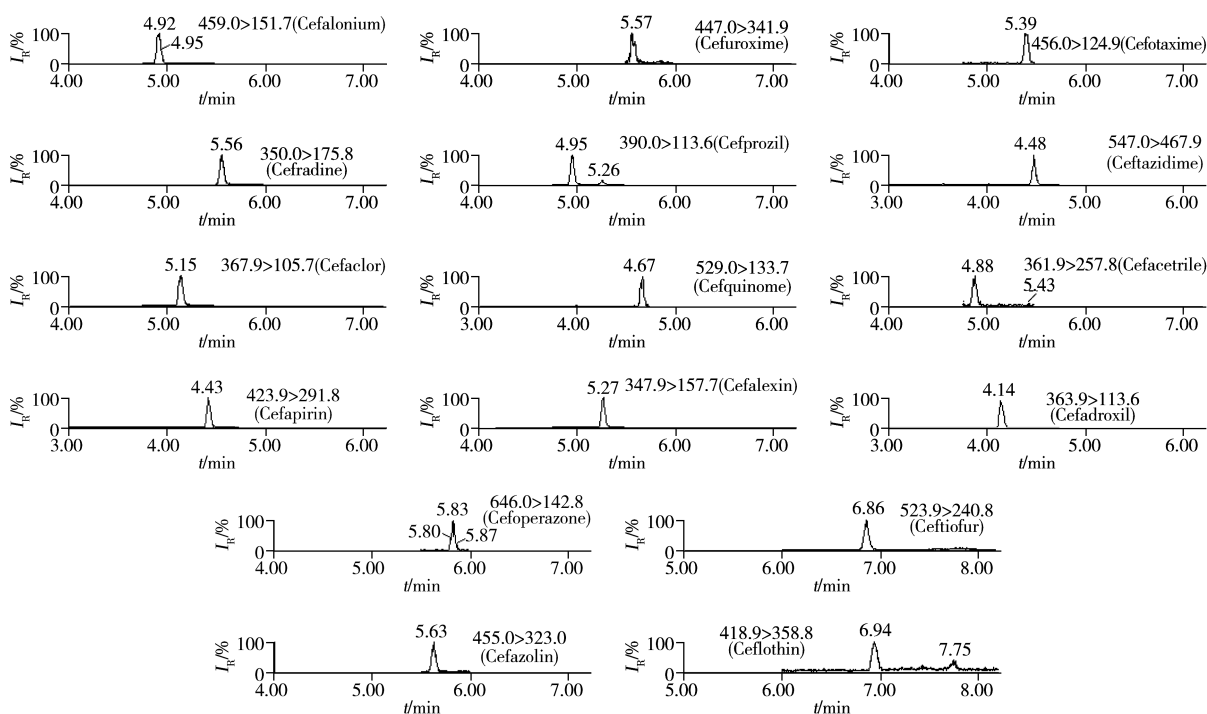


图 2 猪配合饲料加标样品(50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的 MRM 色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of spiked swine formulated feed sample at spiked level of 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$

## 2.6 方法应用

采用优化后的样品前处理方法和分析条件分别对随机采集的 16 个配合饲料样品进行分析, 均未检出上述 16 种头孢菌素类药物。

## 3 结论

通过提取方法和仪器条件优化, 建立了同时分析配合饲料中 16 种头孢菌素类药物的液相色谱 - 串联质谱方法, 样品经乙腈 - 水溶液提取后可直接稀释进样分析。16 种药物在 10 ~ 2 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标范围内的平均回收率为 88.4% ~ 93.6%, RSD 为 0.8% ~ 4.7%; 检出限为 1.5 ~ 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量下限为 5.0 ~ 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。方法具有简单、快速、准确和灵敏的特点, 能满足饲料中 16 种药物含量分析的需要。

## 参考文献:

- [1] Morelli B. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2003**, 32(2): 257 – 267.
- [2] Peng F C, Shi C, Shi S L. *Chin. Pharm.* (彭芳辰, 史岑, 史双来. 中国药房), **2003**, 14(6): 358 – 360.
- [3] The Ministry of Agriculture Bulletin of PRC 235. The Maximum Residue Limit of Veterinary Drug in Animal Derived Food (中华人民共和国农业部第 235 号公告. 动物性食品中兽药最高残留限量).
- [4] Food and Drug Administration 21 CFR Part 530. *Federal Register*, **2012**, 77(4): 735 – 745.
- [5] Morosini M I, Gareia – Castillo M, Tato M, Gijón D, Valverde A, Garbajosa P R, Cantón R. *J. Clin. Microbiol.*, **2014**, 52(5): 1741 – 1744.
- [6] Legrand T, Vodovar D, Tournier N, Khoudour N, Hulin A. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **2016**, 60(8): 4734 – 4742.
- [7] Karageorgou E G, Samanidou V F, Papadoyannis I N. *J. Sep. Sci.*, **2012**, 35(19): 2599 – 2607.
- [8] Gu B Q, Mei G M, Zhang X J, He Y N, Yan Z Y, Zhu J P. *Chin. J. Anal. Chem.* (顾蓓乔, 梅光明, 张小军, 何依娜, 严忠雍, 朱敬萍. 分析化学), **2017**, 45(3): 381 – 388.
- [9] Li W, Shen H, Hong Y, Zhang Y, Yuan F, Zhang F. *J. Chromatogr. B*, **2016**, 1022: 298 – 307.
- [10] Karageorgou E, Myridakis A, Stephanou E G, Samanidou V. *J. Sep. Sci.*, **2013**, 36(12): 2020 – 2027.
- [11] Baeza A N, Urraca J L, Chamorro R, Orellana G, Castellari M, Moreno – Bondi M C. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1474: 121 – 129.
- [12] Kantiani L, Farré M, Grasesi Freixiedas J M, Barceló D. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 398: 1195 – 1205.
- [13] Kantiani L, Farré M, Grasesi Freixiedas J M, Barceló D. *J. Chromatogr. A*, **2010**, 1217: 4247 – 4254.
- [14] Pérez – Burgos R, Greelak E M, Gokce G, Saurina J, Barbosa J, Barrón D. *J. Chromatogr. B*, **2010**, 899: 57 – 65.
- [15] Hou X L, Wu Y L, Lv Y, Xu X Q, Zhao J, Yang T. *J. Chromatogr. B*, **2013**, 931: 6 – 11.
- [16] Yang X T, Tang X Y, Shen X X, Zhang X Q. *Chin. J. Anal. Chem.* (杨小体, 汤晓艳, 沈习习, 张小庆. 分析化学), **2017**, 45(7): 1019 – 1024.
- [17] Wang X Y, Qi K Z, Chen D D, Tan H R, Xue X H. *Jiangsu J. Agric. Sci.* (汪雪雁, 祁克宗, 陈玢玢, 檀华蓉, 薛秀恒. 江苏农业学报), **2012**, 28(1): 193 – 197.
- [18] GB/T 22942 – 2008. Determination of Cefazolin, Cephapirin, Cephalexin, Cefalonium, Cefquinome Residues in Honey LC – MS – MS Method. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China & Standardization administration of the People's Republic of China(蜂蜜中头孢唑啉、头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁、头孢喹肟残留量的测定 液相色谱 – 串联质谱法. 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).