

综述与专论

环境样品中抗生素残留分析的检测方法
研究进展陈 军¹, 钱玉山²

(1.苏州出入境检验检疫局,江苏 苏州 215021;

2.煤科集团杭州环保研究院有限公司,浙江 杭州 311201)

摘要:针对不同环境介质中抗生素残留检测的要求和特点,总结了预处理和常见抗生素检测方法的应用现状。分析认为,抗生素检测的难点在于环境基质的复杂性和检测方法的灵敏性,应开发连续化、自动化和微型化的绿色分离技术,综合运用多种技术建立高效、准确、快速的抗生素残留检测方法。

关键词:抗生素;环境介质;检测技术

中图分类号:X592

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2018)04-0007-06

DEVELOPMENT OF DETECTION METHODS OF
ANTIBIOTIC RESIDUES IN ENVIRONMENT SAMPLES

CHEN Jun, QIAN Yu-shan

(1.Suzhou Exit-Entry Quarantine and Inspection Bureau, Suzhou 215021, China;

2. Hangzhou Environmental Protection Research Institute of China Coal Technology & Engineering Group, Hangzhou 311201, China)

Abstract: Based on the requirements and characteristics of antibiotic residues detection in different environmental matrices, the application situation of pre-treatment and common antibiotic detection technologies was summarized. The complexity of environmental matrices and the sensitivity of detection methods were considered to result in the difficulty of antibiotic residues detection. Therefore, it was significant to develop continuous, automated, miniaturized technologies of green separation and set up efficient, accurate and rapid detection methods of antibiotic residues with multiple technologies.

Key words: Antibiotics; environmental matrices; detection technology.

抗生素作为一种杀灭或抑制细菌生长的药物,在食品、临床、兽药、农业等方面得到了广泛的应用。然而,抗生素的大量应用导致其残留物污染已遍布存在于水、土壤、大气等介质^[1-2]。不同于传统化学污染物,抗生素污染因其固有的生物学特性,表现出独特的环境行为,如可复制性、传播性和环境持久性等特点^[3-4]。目前对于环境介质中抗生素的污染现状和环境转趋缺少足够的信息,建立典型抗生素在水、气、土壤中以及生物体内定量表征标准方法就显得非常重要^[5]。由于环境介质中

抗生素残留多为痕量水平且环境基质复杂,亟待开发合适的前处理技术和灵敏度高、检测限低的检测方法以满足日趋严格的残留限量要求。本文综述了近年来国内外对不同环境介质中抗生素的快速检测技术,以期促进抗生素分析方法的进一步发展和应用。

1 抗生素的分类及使用

以抗生素为代表的药物及个人护理品(Pharmaceutical and Personal Care Products,简称PPCPs)作为新型污染物在环境中的污染问题已受

到各国重视^[6-8]。抗生素是 PPCPs 中比较常见的一种,主要由细菌、霉菌或其他微生物在生活过程中所产生,具有抗病原体或其他活性的一类次级代谢产物,能干扰或抑制致病微生物的生存^[9]。滥用或过度使用抗生素不仅导致人类和动植物对其产生耐药性,摄入体内的抗生素也会以二次代谢物或原药的形式排出体外,人畜服用的抗生素类药物大多不能被充分吸收利用而随排泄物进入污水处理厂或直接进入环境^[10-11]。

相关研究显示,抗生素可通过受污染地表水和垃圾填埋场渗滤液的渗滤作用进入地下水^[12]。当水体受到污染时,水体中的分解者(细菌)失去了生态平衡,导致水体的持续性污染,水体自净能力下降,从而使水生植物也受到伤害^[13]。此外,抗生素经过食物链不断向上一级传递,在生物体内蓄积富集,最终可能会使生物体发生质变。抗生素污染不仅存在于水、土壤、大气等介质,而在以污水处理厂和固废填埋场为代表的人工环境中,其污染水平更高,因而抗生素的大量使用及其生态环境效应日益受到广大环境领域学者的关注^[14]。

世界上已报道的抗生素与微生物产生的生物活性物质已超过万余种,其中约有二百余种已在医药、工业、农业、畜牧、养殖、食品保藏与科学研究等领域广泛应用^[15]。按照抗生素的化学结构特点,抗生素可分为 β -内酰胺类抗生素、氨基糖苷类抗生素、四环素类抗生素、大环内酯类抗生素、喹诺酮类抗生素、磺胺类抗生素、氯霉素等(表 1)。

表 1 常见抗生素的分类和名称

分类	名称
氨基糖苷类	卡那霉素、妥布霉素、新霉素、链霉素、庆大霉素等
β -内酰胺类青霉素类	β -内酰胺酶抑制剂、单内酰胺类、硫霉素类、甲氧青霉素和头孢类抗生素
四环素类	素类等
四环素类	四环素、土霉素、金霉素及强力霉素等
大环内酯类	红霉素、白霉素、阿奇霉素、交沙霉素等
氯霉素类	氯霉素、甲砒霉素等
糖肽类抗生素	去甲万古霉素、万古霉素等
喹诺酮类	诺氟沙星、环丙沙星等
硝基咪唑类	甲硝唑、替硝唑等
抗结核菌类	利福平、异烟肼、吡嗪酰胺等
抗真菌抗生素	棘白菌素类、多烯类等

除上述几大类的抗生素外,抗生素还包括其他一些类型,如:(1)多肽类:包括黏杆菌素、持久霉素、维吉尼亚霉素、杆菌肽锌、硫肽霉素、恩拉霉素和阿伏霉素等。(2)含磷多糖类:此类抗生素对抑制

革兰阳性菌的耐药菌株效果很好,常用的有黄霉素和大碳霉素等。(3)聚醚类抗生素:聚醚类抗生素抗菌谱广,具有离子运输作用,常用的有莫能菌素、拉沙里霉素、盐霉素和马杜霉素等。(4)抗肿瘤抗生素:如博莱霉素、丝裂霉素、放线菌素 D、阿霉素等。

近年来,随着检测分析技术的不断发展,各类环境介质中抗生素残留检测报道日益趋多^[16]。国际组织和各国政府对抗生素残留实施了越来越严格的规定^[17],其残留问题亦成为国内外的研究热点之一^[18],寻求简便、快速、准确、敏感性高的检测方法以满足日趋严格的残留限量要求极为必要。我国抗生素的使用情况比欧盟和美国等国家严重,但相关产业废弃物排放引发的污染问题并没有得到有效治理,尤其是我国的抗生素成药过程污染物排放标准尚未纳入抗生素污染物指标,现行污染物排放标准已不适用,但又没有新的环保标准可用,因而不能适应当前的环境治理需求^[19-20]。有效控制和防范抗生素类污染物环境风险,持续改进环境介质中抗生素残留进行快速实时检测的方法,不仅关系到过去环保工作成效的评价,也影响到未来环保政策的制定。

2 样品的采集与预处理

环境样品中的抗生素具有浓度低,成分复杂等特点,通常采用有效的预处理如提取、净化、浓缩等步骤才能进行准确的分析测定,其中,提取与净化过程是否有效快速将影响最终的测试结果^[21]。理想的样品制备和处理方法应该具备以下几个特点:(1)尽量减少有毒有机溶剂的使用;建立绿色环保的分析新方法;(2)操作要简单,速度要快;(3)处理成本低廉;(4)选择性良好;(5)使用范围要广,能适应处理复杂介质、痕量成分、特殊性质成分分析的要求;(6)微型化和自动化,尽量集采样、萃取、净化、浓缩、预分离、进样于一身。近年来,研究高效、简单、快速的无溶剂和少溶剂样品处理方法已成为现代分析研究的前沿课题^[22-23]。

目前,样品的前处理技术已由传统的液-液萃取技术、索氏萃取逐步发展出加速溶剂萃取(ASE)、超临界萃取(SFE)、固相萃取技术(SPE)、固相微萃取(SPME)、液相微萃取(LPME)、基质固相分散(MSPD)、微波辅助萃取(MAE)、超声辅助萃取(UAE)、池点萃取(CPE)、膜萃取(ME)以及 QuEChRS

(Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged、Safe)等萃取技术^[24-33]。表 2 综述了部分前处理技术在抗生素检测中的应用。

表 2 部分前处理技术在抗生素检测中的应用

技术	样品	目标化合物	方法	回收率(%)
PLE	猪肉、鸡肉	大环内酯类抗生素	乙腈提取, 正己烷净化, 引入 PLE 系统, 甲醇提取, N ₂ 吹扫	80.0~100.0
SPE	饮用水、地下水和废水	四环素、磺胺甲基嘧啶	Oasis HLB 富集, 甲醇洗脱, N ₂ 吹扫, 乙腈溶解; 调 pH, ENV 柱富集, 甲醇洗脱, 过滤	69.2~85.2 46.7~98.3
SPME	地下水、土壤	磺胺类抗生素	HLB 萃取膜萃取, 甲酸-甲醇溶液提取, 甲醇洗脱, N ₂ 吹扫, 甲酸-甲醇溶液定容	69.8~117.6
MSPD	肌肉组织	喹诺酮类抗生素	以硅胶为分散剂, 1-己基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐离子液体为萃取剂, pH = 1.0 水溶液洗脱	87.9~105.3
MIPs-SPE	牛奶和水样	四环素	自制分子印迹固相微萃取涂层萃取, 乙腈-PBS 二元液解吸	97.8~109.0
MAE	水产品	青霉素 G, 双氯青霉素	NaH ₂ PO ₄ 溶液(pH=8.0); 乙腈混合溶液萃取, PSA 净化	94.7%~102.4%
CE	地表水	青霉素 G	0.02M KH ₂ PO ₄ 溶液(pH=3.5); 甲醇=38.62 为流动相提取	80.0~95.5
QuEChRS	动物组织	黄酰胺	NaCl 盐析溶剂振荡提取, 离心, N ₂ 干燥, 甲醇溶液重构	74.0~100.3

液-液萃取法以其操作简单、回收率高等特点, 长期以来是一种常用的环境样品前处理技术手段, 但液液萃取存在有机溶剂消耗量大, 萃取时间长, 分离效率低、萃取过程易乳化或沉淀等不足, 不能满足环境样品快速分析要求。因此, 研究和开发基于液-液分配机理, 发展连续化、自动化和微型化的绿色分离技术越来越受到人们的重视, 固相萃取(SPE)通过固体吸附剂将样品中的目标物吸附, 具有耗费有机溶剂少、快速高效、易于实现自动化等优点, 且萃取材料种类丰富, 因而成为目前应用最广的样品富集分离纯化技术^[34-35]。

近几年研究热点主要集中在样品提取和净化步骤的改进, 集采样、萃取和浓缩于一体的环境友好型环境样品前处理技术以其对痕量/超痕量污染物有高效的富集、净化效果而大行其道, 其中固相微萃取(SPME)、基质固相分散萃取(MSPD)、微波辅助萃取(MAE)和液膜萃取技术(CE)因其不用或少用溶剂、易于自动化和与其他技术在线联用的优势, 成为很有发展潜力的环境样品前处理方法^[36-39]。固相微萃取技术是一种集采样、萃取、浓缩、进样为一体的新颖样品前处理技术, 对于痕量污染物提取、纯化显示出高选择性、高净化效率。基质固相分散萃取则以其无需匀浆、沉淀、离心和样品转移等步骤, 避免了样品的损失。微波辅助萃取根据不同物质吸收微波能力使目标物和基体分离开来从而达到萃取效率和产品纯度。液膜萃取技术基于液-液分配机理, 通过乳状液膜或支撑液膜构成两相萃取系统和三相萃取系统, 由此使萃取液中的目标组分穿过液膜扩散至接受体溶液, 具有高选择性, 传质速率快等特点, 尤其是近年来

离子液体被引入作为萃取溶剂并因而实现高效率、绿色化发展^[40]。

3 样品中抗生素的检测

抗生素的检测方法主要有微生物检测法, 免疫学分析法和理化检测法, 其中微生物检测法(MIT)是目前应用较为广泛的方法^[41], 主要根据抗生素对微生物机能和代谢具有抑制作用实现定性或定量分析, 其优点是检测费用低消耗少, 一般实验室都能进行操作, 但微生物方法花费时间长, 敏感度低, 在检测过程中容易产生误差造成错误判定结果或者对微量、少量残留难以给出正确分析结果。微生物检测法出现较早, 从出现至今, 大大改善了我国抗生素检测手段的发展, 目前最常用的是氯化三苯基四氮哇法(TTC)、戴尔沃检测法(Delvotest SP)、纸片法(Paper Disc)等^[42]。

免疫分析法是根据抗原与抗体的特异性结合为基础的分析技术。该法的优点是操作简单、快速、灵敏度高、特异性强, 可以实现大规模的检测, 是较为理想的抗生素残留初步筛选方法, 主要有酶联免疫分析法(ELISA)和放射免疫分析法(RIA)、固相免疫传感器等^[43]。如 Strasser 等检测牛奶中的青霉素采用竞争 ELISA 法, 其线性范围为 2~32 ng/m L^[44]。Kubo 等利用 FIA 法快速测定 β-内酰胺类抗生素的残留, 测得线性范围为 0.1~5.5 μg/m L, 检出限为 50 ng/m L^[45]。目前研究应用较多的是 ELISA, 该法是基于抗原抗体吸附于固定载体的特异反应、以酶催化底物显色作为判定检测结果的一种免疫技术, 可分为间接法、酶-抗酶抗体法、双抗体夹心法等。随着相关技术日益成熟, 针对各

种抗生素的免疫学检测方法相继建立, 在环境介质中药物残留分析检测领域发挥了重要的作用。理化检测方法主要是针对抗生素分子的基团特性, 借助现代仪器进行检测, 如利用吸光光谱曲线来确定抗生素残留量的分光光度法、利用待测物质溶液电化学特性实现定量分析的电化学分析法、以及借助色谱分离手段和高灵敏度与选择性检测器的联用技术等。相对而言, 仪器分析方法分离速度快, 高效, 实现自动化控制, 可以检测出抗生素的具体含量, 其结果更加准确, 但待检样品需经一系列的预处理, 繁琐费时, 还必须有相应的价格昂贵的仪器设备, 故一般在大型实验室使用, 适合于精确测定。

已经有很多有关环境介质中抗生素理化分析的报道, 如叶琳等采用分光光度法对硫酸庆大霉素残留进行检测, 测得其在 244 和 248 nm 处具有良好的吸光度, 检出限为 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[46]。冯学忠建立了紫外分光光度法测定注射液中泰乐菌素的含量, 结果在 290 nm 处具有最大吸收波长, 平均回收率达到 99.7 %^[47]。方宾等利用电化学分析法测定卡那霉素的含量, 测得线性范围为 $2.0\times 10^{-7}\sim 3.0\times 10^{-5}\text{ mol/L}$, 卡那霉素的检出限为 $1.98\times 10^{-7}\text{ mol/L}$ ^[48]。Tuerk 等用液相色谱和质谱联用法对尿液中的 β -内酰胺类进行检测, 其检测限为 0.4~70.0 ng/L^[49]。Morgan 等利用电喷雾质谱法检测氨基糖苷类多种抗生素, 检出限为 $5\mu\text{mol/L}$ ^[50]。Part 等用液相色谱/荧光法检测水体中的丹诺沙星和双氟沙星等抗生素, 其检测限为 0.05 ng/L^[51]。

近年来发展迅速的分子生物学技术因其快速灵敏、特异性高的特点, 已经成为检测环境样品中抗生素的主要方法^[52]。其中生物传感器技术作为一种先进的检测与监控装置, 利用被测目标与生物敏感基元之间的相互反应, 将反应信号转化为电信号被表达出来, 从而分析出被测物质浓度。与传统的抗生素分析方法相比, 生物传感器由于具有成本低、响应快、专一性强和准确度高等优点被广泛应用^[53]。如 Gustavsson 报道了一种采用羧基肽酶的微生物受体蛋白设计的生物传感器技术用于测定青霉素 G 的方法, 其检测灵敏度为 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ (欧洲的 MRL 为 $4\mu\text{g}/\text{kg}$), 方法检测范围在 1.2~1.5 mg/kg 之间, 相对标准偏差小于 5 %, 结果表明比 HPLC 法的结果更准确可靠^[54]。Margarita 等开发的基于乳酸菌脱氢酶电化学生物传感器的青

霉素残留快速检测方法, 能够在不到 1 分钟的时间内通过细菌呼吸作用的变化快速检测出目标物, 该办法对青霉素的检测灵敏度为 0.1 mg/kg, 对氯霉素的检测灵敏度为 $1.5\text{ mg}/\text{kg}$ ^[55]。Singh 等通过热蒸发和凝胶包埋技术在光纤芯表面沉积固化了酪氨酸酶的银膜, 用以制备光纤生物传感器探针并使用波长询问技术来确定目标物的响应特性。生物传感器在 pH7 时也表现出最佳的活性, 由于传感器基于波长询问, 因此不受源强度波动的影响^[56]。

由以上抗生素残留的多种检测方法可见, 微生物法虽然普遍适用于抗生素的残留测定, 但不易筛选到特别敏感的菌株, 且方法易受到其它抗菌药物的影响, 存在特异性差、灵敏度低等缺点。酶联免疫法虽特异性强, 但操作繁琐、酶易受样品影响。免疫受体检测法虽速度快、特异性强, 但使用成本高、操作难。色谱联用技术与微生物法相比有较高的灵敏度和特异性, 但设备昂贵, 对试验人员也有较高的要求, 分析费时、且不易推广。基于分子生物学技术的适配体传感器则具有简单快速、成本低和灵敏度高等优势, 在抗生素残留检测方面具有较好的应用前景。

4 结论

抗生素的滥用所导致的细菌耐药性已成为威胁人类健康的焦点问题, 而抗生素及其衍生物作为微量污染物对水所造成的污染及由此产生的环境效应在近年也开始被关注。鉴于我国面临的相对复杂的水体环境以及国内外在饮用水安全领域研究的不断深入和发展, 结合我国实际情况及国内外发展动态开展新型污染物的专项监测及风险评估显得越发重要。抗生素的检测难题在于环境基质的复杂性和检测方法的灵敏性, 随着新型环境样品前处理技术和高灵敏度、高特异性的现代环境分析技术应用、优化、确证和相互渗透, 发展连续化、自动化和微型化的绿色分离技术正受到人们的重视, 此外, 综合运用多种技术建立高效、准确、快速的抗生素残留检测方法体系有着巨大的研究价值和广阔的发展空间。

参考文献:

1. Du Lianfeng, Liu Wenke. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review [J]. Agronomy for Sustainable

- Development, 2012, 32(2): 309–327
2. Klausümmerer. Antibiotics in the aquatic environment – A review [J]. *Chemosphere*, 2009, 75(4): 435–441
 3. Pia V?litalo, Antonina Kruglova, Anna Mikola, et al. Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: A mini-review[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2017, 220(3): 558–569
 4. Gao Lihong, Shi Yali, Li Wenhui, et al. Environmental behavior and impacts of antibiotics [J]. *Environmental Chemistry*, 2013, 32(9): 1619–1632
 5. 叶必雄, 张岚. 环境水体及饮用水中抗生素污染现状及健康影响分析[J]. *环境与健康杂志*, 2015, 32(2) : 173–178.
 6. Simon D Costanzo, John Murby, John Bates. Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 51(1–4): 218–223
 7. 冯宝佳, 曾强, 赵亮等. 水环境中抗生素的来源分布及对健康的影响[J]. *环境监测管理与技术*, 2013, 25(1) : 14–17, 21
 8. Boxall ABA, Kolpin D, Halling-S?rensen B, et al. Are veterinary medicines causing environmental risks [J]. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(15):286–294
 9. Andreu Rico, Kriengkrai Satapornvanit, Mohammad M Haque, et al. Use of chemicals and biological products in Asian aquaculture and their potential environmental risks: a critical review [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2012, 4(2): 75–93
 10. Bu Qingwei, Wang Bin, Huang Jun, et al. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: A review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 262(11): 189–211
 11. Kristian K Brandt, Alejandro Amézquita, Thomas Backhaus. Ecotoxicological assessment of antibiotics: A call for improved consideration of microorganisms [J]. *Environment International*, 2015, 85(11): 189–205
 12. Zhuo Wang, Xi-Hui Zhang, Yong Huang, et al. Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China [J]. *Environ Pollut*, 2015, 204(9): 223–232
 13. Lapworth D J, Baranb N, Stuerta M E, et al. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence[J]. *Environ Pollut*, 2012, 163(4): 287–303
 14. Isabel T Carvalho, Lúcia Santos. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario [J]. *Environment International*, 2016, 94(9): 736–757
 15. Sergio Manzettiab, Rossella Ghisic. The environmental release and fate of antibiotics[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 79(1–2): 7–15
 16. Pia V?litaloab, Antonina Kruglova, Anna Mikola. Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: A mini-review[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2017, 220(3): 558–569
 17. Mitchell S Kostich, Angela L Batt, James M Lazorchak. Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation[J]. *Environ Pollut*, 2014, 184(1):354–359
 18. Jose Luis Martinez. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants [J]. *Environ Pollut*, 2009, 157(11): 2893–2902
 19. Hao Rongzhang, Zhao Rongtao, Qiu Shaofu, et al. Antibiotics crisis in China[J]. *Science*, 2015, 348(6239): 1100–1101
 20. Liu X, Steele J C, Meng X Z. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review [J]. *Environ Pollut*, 2017, 223(4):161–169
 21. Morenobondi M C, Marazuela M D, Herranz S, et al. An overview of sample preparation procedures for LC–MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2009, 395(4): 921–946
 22. Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(11): 6772–6782
 23. Chang X, Meyer MT, Liu X, et al. Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China[J]. *Environ Pollut*, 2010,158: 1444–1450
 24. H Berrada, F Borrull, G Font, et al. Determination of macrolide antibiotics in meat and fish using pressurized liquid extraction and liquid chromatography–mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1208(1–2): 83–89
 25. Liu Z C, Yang F, YU Kong-Jie, et al. Simultaneous Determination of Quinolones, Sulfonamides and Tetracyclines Residues in Eel Using Solid Phase Extraction (SPE) and Ultra-performance Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry (UPLC–MS–MS)[J]. *Food Science*, 2009, 30(14):167–170
 26. Huang J, Liu J, Zhang C. Determination of sulfonamides in food samples by membrane-protected micro-solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1219(2):66–74
 27. Huang Jiangeng, Liu Juanjuan, Zhang Cong, et al. Determination of sulfonamides in food samples by membrane-protected micro-solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1219(6): 66–74
 28. Sara Bogialli, Giuseppe D’Ascenzo, Antonio Di Corcia, et al. Monitoring quinolone antibacterial residues in bovine tissues: extraction with hot water and liquid chromatography coupled to a single- or triple-quadrupole mass spectrometer[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(17): 2833–2842
 29. Zhuang Yuan, Peng Ying, Zhao Yong-gang, et al. Determination of Tetracyclines in Water and Milk by Solid-phase Microextraction Based on Tetracyclines Molecularly Imprinted Polymers Coupled with HPLC[J]. *Journal of Analytical Science*, 2014, 30(4): 451–456
 30. Henrik Kempe, Maria Kempe. QSRR analysis of β -lactam antibiotics on a penicillin G targeted MIP stationary phase [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 398(7–8): 3087–3096
 31. Jiang Y, Xia H, Yu J, et al. Efficient Recovery of Penicillin G by

- a Hydrophobic ionic liquid [J]. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 2016, 4 (2): 609–615
32. Wen C H, Lin S L, Fuh M R. Determination of sulfonamides in animal tissues by modified QuEChERS and liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2016, 164 :85–91
33. 李艳艳, 刘迎亚等. 饮用水中抗生素残留检测方法的研究进展[J]. *化学通报*, 2016, 79(3): 213–219
34. Shirey R E. Rapid analysis of environmental samples using solid phase microextraction (SPME) and narrow bore capillary columns [J]. *Journal of Separation Science*, 2015, 18(8): 495–499
35. 周志洪, 黄卓尔, 吴清柱. 在线固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定环境水体中抗生素 [J]. *分析试验室*, 2016, 35 (9): 1092–1098
36. Rubert J, Soler C, Mañes J. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-mycotoxin determination in different flours using LC-MS/MS[J]. *Talanta*, 2011, 85(1): 206–215
37. Zhe Jiao, Zongning Guo, Suling Zhang, et al. Microwave-assisted micro-solid-phase extraction for analysis of tetracycline antibiotics in environmental samples [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2015, 95(1): 82–91
38. Kai M, González I, Genilloud O, et al. Direct mass spectrometric screening of antibiotics from bacterial surfaces using liquid extraction surface analysis [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26 (20):2477–82
39. Chimuka L, Cukrowska E, Soko L, et al. Supported liquid membrane extraction as a selective sample preparation technique for monitoring uranium in complex matrix samples[J]. *Journal of Separation Science*, 2015, 26(6–7): 601–608
40. Madureira T V, Barreiro J C, Rocha M J, et al. Pharmaceutical trace analysis in aqueous environmental matrices by liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216 (42): 7033–7042
41. Lourenço F R, Pinto TDJA. Antibiotic microbial assay using kinetic-reading microplate system [J]. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 47(3):573–584
42. Nałecz-Jawecki G, Wadhia K, Adomas B, et al. Application of microbial assay for risk assessment biotest in evaluation of toxicity of human and veterinary antibiotics[J]. *Environmental Toxicology*, 2010, 25(5): 487–494
43. Gaudin V. Advances in biosensor development for the screening of antibiotic residues in food products of animal origin – A comprehensive review[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 90(4): 363–367
44. Samsonova Zh V, Shchelokova O S, Ivanova N L, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay of ampicillin in milk [J]. *Appl Biochem micro*, 2005, 41(6): 589–595.
45. Kubo H, Saitoh M. Chemiluminescence Determination on a Luminol Reaction of β -Lactam Antibiotics by FIA [J]. *Analytical Sciences*, 2005, 15(9): 919–921
46. 叶琳, 黄跃仲. 硫酸庆大霉素双波长紫外分光光度测定法[J]. *中国医药工业杂志*, 1991, (11): 507–508
47. 冯学忠, 吴广辉, 方炳虎等. 紫外分光光度法测定泰乐菌素注射液含量方法的建立[J]. *动物医学进展*, 2009, 30 (6): 63–66
48. 方宾, 胡胜水, 李培标等. 卡那霉素的单扫描示波极谱测定[J]. *分析化学*, 1989, 17(7) :836–838
49. Tuerk J, Reinders M, Dreyer D, et al. Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring-comparison of HPLC with UV-, single MS- and tandem MS-detection[J]. *J Chromatogr B*, 2006, 831(1–2):72–80
50. Morgan J, Miranda E Joyce-Menekse, Rowlands R T, et al. Rapid and sensitive quantitation of antibiotics in fermentations by electrospray mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2001, 15(14): 1229–1238
51. Prat M D, Benito J, Compano R, et al. Determination of quinolones in waters samples by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorimetric detection [J]. *J Chromatogra A*, 2004, 1041(1/2): 27–33
52. Ahmed S, Ning J, Cheng G, et al. Receptor-based screening assays for the detection of antibiotics residues – A review [J]. *Talanta*. 2017, 166(5):176–186
53. Lan L, Yao Y, Ping J, Recent advances in nanomaterial-based biosensors for antibiotics detection [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 91(5): 504–510
54. Gustavsson E, Bjurling P, Sternesjö S. Biosensor analysis of penicillin G in milk based on the inhibition of carboxypeptidase activity[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 468(1):153–159
55. Margarita Kagan, Gunnar Printsmann, Kairi Kivirand, et al. Determination of Penicillins in Milk by a Dual-Optrode Biosensor. *Journal Analytical Letters*, 2017, 50(5): 819–828
56. Singh S, Mishra S K, Gupta B D. SPR based fibre optic biosensor for phenolic compounds using immobilization of tyrosinase in polyacrylamide gel [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2013, 186 (18):388–395