

实验技术与方法

高效液相色谱-串联质谱法快速测定水产品中喹诺酮类药物残留

魏博娟^{1,2}, 钱卓真², 吴成业²

(1. 集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361012)

摘要:目的 用高效液相色谱-串联质谱法快速测定水产品中 13 种喹诺酮类药物残留量的方法。方法 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ (2.1 mm × 150 mm, 5 μm), 确定了最佳检测参数: 离子源为电喷雾 (ESI) 离子源、正离子扫描、选择反应监测 (SRM)、电喷雾电压 4 500 V、鞘气 35 units、辅气 5 units、离子源温度 350℃、源内碰撞诱导解离电压为 10 V。从提取和净化两个方面确立了前处理的最佳条件与步骤。结果 平均回收率 74.6% ~ 113.0%, 相对标准偏差为 3.24% ~ 12.11% (n = 6), 定量检出限 (LOQ) 为 1.00 μg/kg, 线性范围在 3.0 ~ 200.0 ng/ml。结论 所建立的方法可以用于日常水产品中 13 种喹诺酮类药物残留量的检测分析。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱; 水产品; 喹诺酮; 残留

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)03-0249-06

Rapid detection of quinolones in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Wei Bojuan, Qian Zhuozhen, Wu Chengye

(School of Biotechnology, Jimei University, Fujian Xiamen 361021, China)

Abstract: **Objective** To develop a rapid method for detecting residues of 13 quinolones in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The chromatographic column was Ultimate XB-C₁₈ (2.1 mm × 150 mm, 5 μm). The optimal analytical conditions and detection parameters were confirmed. The electrospray conditions were as follows: ion source, ESI (+); selection reaction monitoring (SRM) system; ion-spray voltage, 4 500 V; sheath gas pressure, 35 units; auxiliary gas pressure, 5 units; ion source temperature, 350℃; collision induced dissociation (CID) pressure, 10 V. And the best conditions and procedures for extraction and purification were established. **Results** The average recovery was 74.6% - 113.0%, and the relative standard deviation was 3.24% - 12.11% (n = 6), the limit of quantification (LOQ) was 1.00 μg/kg. The linear range was 3.0 - 200.0 ng/ml. **Conclusion** This method was suitable for the detection of 13 quinolones residues in aquatic products.

Key words: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; aquatic products; quinolones; residue

喹诺酮类药物是近年来迅速发展起来的、使用广泛的一类新型抗菌药物^[1]。该药物因其抗菌谱广、抗菌活性强、吸收快、体内分布广泛,与其他抗菌药物不易产生交叉耐药性以及价廉等优点而被广泛应用。其微量残留可能对人体神经系统和消化系统有潜在的危害,有些药物已被一些国家禁止使用。各国对喹诺酮类药物的检查一直都非常严格^[2,3]。我国规定水产品中该类物质中不同品种的最大残留量在 30 ~ 500 μg/kg 之间^[4];日本肯定列表规定为 10 ~ 100 μg/kg^[5]。我国检测鳗鱼中喹

诺酮类药物的残留值一般在 5 μg/kg 甚至更低;日本一般采用 10 μg/kg 的残留值,而美国、加拿大等国则规定不得检出^[3]。

目前常用的检测一种或多种喹诺酮类药物的方法有 ELISA 法^[6,7], 高效液相色谱法 (HPLC)^[8-14], 高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS)^[15-23] 等。本实验建立 HPLC-MS/MS 法同时测定水产品中 13 种喹诺酮类药物残留量的检测方法,采用外标法定量,药物能够得到很好的分离,在一定程度上实现了快速检测。

收稿日期: 2010-03-18

基金项目: 福建省海洋与渔业局重点项目 (闽海渔合同 [2009] 1-16 号)

作者简介: 魏博娟 女 研究生 研究方向为食品安全与检测

E-mail: weibojuan12345@163.com

通信作者: 吴成业 男 研究员

1 材料与方法

1.1 仪器

Accela TSQ Quantum Access 液相色谱串联四级杆质谱联用仪, 美国 Thermo Fisher 公司; 真空氮气

吹干仪,安谱 DC12; Milli-Q Academic 去离子水发生器,上海百维生物科技有限公司;循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;XH-C 型漩涡混合器,江苏省金坛市医疗器械厂;离心机,上海安亭科技有限公司。

1.2 试剂

13 种喹诺酮类药物(氟甲喹、噁喹酸、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、培氟沙星、洛美沙星、丹诺沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、双氟沙星)标准品,纯度大于 98%,Augsburg Germany 公司;正己烷、乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,美国 Tedia 公司;乙酸铵、无水硫酸钠均为分析纯;实验用水均为去离子水。

1.3 标准溶液配制

1.3.1 标准储备液

准确称取适量标准品,加入 200 μ l 甲酸,用甲醇溶解并定容至 100 ml 棕色容量瓶中,此溶液浓度为 100.0 μ g/ml,4 $^{\circ}$ C 下避光保存,有效期为 6 个月。

1.3.2 混合标准工作液

准确移取适量混合标准贮备液,用 2 mmol/L 乙酸钠的 0.2% 甲酸-乙腈(85 + 15)混合溶液分别稀释至 3.0、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0、150.0 和 200.0 ng/ml。

1.4 色谱条件

色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈(2.1 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m);柱温 30 $^{\circ}$ C;流动相为含 2 mmol/L 乙酸钠的 0.2% 甲酸-乙腈溶液,梯度洗脱程序见表 1;流速 250 μ l/min;进样量 10 μ l。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间(min)	乙酸钠-甲酸水溶液 (2:1000, V/V) (%)	乙腈 (%)
0	85	15
15.5	81	19
16.0	60	40
23.0	60	40
23.5	85	15
28.0	85	15

1.5 质谱条件

离子源:电喷雾(ESI)离子源;离子化模式:正离子;监测方式:选择反应监测(SRM);电喷雾电压 4 500 V;鞘气 35 units;辅气 5 units;离子源温度 350 $^{\circ}$ C;源内碰撞诱导解离电压 10 V。

1.6 样品制备

称取 5.00 g(精确至 0.01 g)试样,于 100 ml 塑料离心管中,加入 10 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,再加入 20 ml 甲酸-乙腈溶液(1:99, V/V),涡旋混合 1 min,超声提取 8 min。于 2 500 r/min 离心 5 min,取

上清液于分液漏斗内;样品残渣再加入 20 ml 甲酸-乙腈溶液(1:99, V/V),重复上述操作,合并上清液于分液漏斗中。

向分液漏斗中加入 30 ml 乙腈饱和正己烷,剧烈震荡 2 min,静置,取下层清液于 50 ml 圆底烧瓶中,于 40 $^{\circ}$ C 下旋转蒸发至近干,再于 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干。1.5 ml 初始配比的流动相定容,1 ml 乙腈饱和正己烷除脂,13 000 r/min 离心 10 min,取下层清液,过 0.22 μ m 滤膜,滤液待测。

2 结果与分析

2.1 样品提取与净化条件的优化

按照文献报道^[15,16,18-23]方法,实验中比较了乙腈、二氯甲烷、乙腈:甲酸(98:2, V/V)、乙腈:甲酸(99:1, V/V)4 种不同溶剂的提取效果,回收率差异见表 2。

表 2 不同提取剂提取效果

Table 2 The effectiveness of different extracting solvents (%)

提取剂	平均回收率
乙腈:甲酸(98:2, V/V)	85.6
乙腈:甲酸(99:1, V/V)	87.2
二氯甲烷	54.5
乙腈	66.1

采用纯溶剂提取回收率相对较低,但乙腈比二氯甲烷提取效果好;由于喹诺酮类药物具有酸碱两性,添加一定的酸或碱有利于药物的提取,结合质谱分析所需条件,加入一定体积的甲酸后有利于提高回收率,添加体积在 1 ml 时回收率最高,因此实验中选用乙腈:甲酸(99:1, V/V)进行提取。

由于处理过程中样品容易结块,且在样液浓缩过程中样品中带入的水分较难蒸干,从而延长旋蒸和氮吹时间,影响加标回收率。而加入无水硫酸钠,有除水和盐析作用,促进提取液对药物的提取,减少浓缩时间。实验通过比较确定了加入酸化乙腈和无水硫酸钠的最佳顺序,二者加入的先后顺序对回收率影响不大,但在加入酸化乙腈前先加入 10 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,可以更好地避免样品结块,提高实验效率。

2.2 色谱柱的选择

对于喹诺酮类药物近年来多采用 C₁₈ 反相柱,能够很好地保留各组分,分离效果好。实验中对 Ultimate XB-C₁₈(2.1 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m)、ZORBAX RX-C₁₈(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m)、Hysil GOLD C₁₈(2.1 mm $\times$ 100 mm, 5 μ m)、PAK C₁₈ MG II(2.0 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m)进行了比较,结果都能将 13 种喹诺酮类药物进行分离,通过对谱图的比较,发现采

用 Ultimate XB-C₁₈ 柱,总离子流图中峰分离度范围为 0.62 ~ 5.60,分离效果最好,峰形尖锐,对称性好,对拖尾现象有所改善,故选择 Ultimate XB-C₁₈ 柱进行实验。

2.3 化合物的质谱条件优化

用针泵将 13 种喹诺酮类药物混合标准溶液直接打进质谱,在 m/z 150 ~ 500 扫描范围内以正离子模式进行一级质谱图扫描,自动对化合物进行优化,得到丰度较高的分子离子峰 $[M + 1]^+$ 峰均比较强,一些碎片离子和加合离子的峰较弱。以分子离子作为母离子,进行二级子离子扫描,由于喹诺酮类药物分子中含有羧基和哌嗪结构,主要形成 $[M + H - H_2O]$ 、 $[M + H - CO_2]$ 、 $[M + H - CH_3N = CH_2]$ 峰,选取丰度最强的碎片离子作为定量离子,次强碎片离子作为定性离子。确定定性和定量离子对。表 3 列出了选择反应监测的 13 种喹诺酮类药物的母离子、子离子及碰撞能量。扫描得到丰度最佳的二级子离子相对丰度见表 4。

表 3 13 种喹诺酮类药物的母离子、子离子及碰撞能量

Table 3 The parent ion, productive ion and collision energy of 13 quinolones			
目标化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 (eV)
噁喹酸	262/216	262/244	29
	262/244		18
氟甲喹	262/202	262/244	32
	262/244		18
诺氟沙星	320/233	320/276	24
	320/276		16
依诺沙星	320.9/303	320.9/303	22
	320.9/232		30
环丙沙星	332/230.9	332/314	37
	332/314		21
培氟沙星	334/290	334/316	17
	334/316		24
洛美沙星	351.9/265	351.9/265	20
	351.9/334		17
丹诺沙星	358/254.9	358/340	37
	358/340		22
恩诺沙星	360/244.9	360/316	25
	360/316		15
氧氟沙星	361.9/261	361.9/318	26
	361.9/318		20
沙拉沙星	386/299	386/299	22
	386/367		22
司帕沙星	393/292	393/349	20
	393/349		17
双氟沙星	400/356	400/382	21
	400/382		19

表 4 中可以看出,扫描得到的 13 种药物的碎片离子对相对丰度的相对偏差均远小于欧盟等国家标准要求的最大允许相对偏差,可以作为检测物定性的依据。

表 4 质谱扫描二级子离子相对丰度

Table 4 The relative abundance of the productive ion scanned by the mass spectrum					
测定物质	检测离子对 m/z	标准品相 对丰度	加标样相 对丰度	相对偏差 (%)	最大容许 量(%)
噁喹酸	216/244	0.21	0.20	4.76	±25
氟甲喹	202/244	0.50	0.51	2.00	±20
诺氟沙星	233/276	0.34	0.33	2.94	±25
依诺沙星	232/303	0.23	0.25	8.70	±25
环丙沙星	330.9/314	0.65	0.63	3.08	±20
培氟沙星	290/316	0.26	0.24	7.69	±25
洛美沙星	334/265	0.86	0.88	2.33	±20
丹诺沙星	254.9/340	0.22	0.20	9.09	±25
恩诺沙星	244.9/316	0.73	0.74	1.37	±20
氧氟沙星	261/318	0.77	0.78	1.30	±20
沙拉沙星	367/299	0.22	0.20	9.09	±25
司帕沙星	292/349	0.64	0.63	1.56	±20
双氟沙星	356/382	0.34	0.35	2.94	±25

2.4 方法线性范围

将中间混合标准液用流动相分别稀释至 3.0、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0、150.0、200.0 ng/ml,重复测定 3 次,其回归方程和相关系数见表 5,确定方法的线性范围为 3.0 ~ 200.0 ng/ml。

表 5 回归方程和相关系数

Table 5 Regression equation and correlation coefficient		
药物名称	回归方程	相关系数
噁喹酸	$y = 94458.1 + 79860.9x$	0.9994
氟甲喹	$y = -16816.4 + 28235.7x$	0.9993
诺氟沙星	$y = -898.911 + 1592.51x$	0.9997
依诺沙星	$y = -26083.3 + 18389.1x$	0.9995
环丙沙星	$y = -9166.16 + 14890.1x$	0.9986
培氟沙星	$y = -31424.7 + 25407.5x$	0.9996
洛美沙星	$y = -19972.7 + 5138.29x$	0.9989
丹诺沙星	$y = -55294 + 45112.4x$	0.9974
恩诺沙星	$y = -27018.1 + 12426.6x$	0.9990
氧氟沙星	$y = -24312.3 + 26069.3x$	0.9995
沙拉沙星	$y = -6772.17 + 1413.96x$	0.9973
司帕沙星	$y = -37216.2 + 18059.8x$	0.9992
双氟沙星	$y = -16529.5 + 7734.54x$	0.9999

用 13 种喹诺酮类药物混合标准品测得其中每种药物的标准曲线线性关系良好,相关系数在 0.9973 ~ 0.9999 之间,可知方法的灵敏度较高,计算所得结果更加准确。

2.5 回收率、精密度和方法检测限

在空白罗非鱼鱼肉中添加 1.00、5.00 和 20.00 $\mu\text{g/kg}$ 3 个浓度水平范围内,测得 13 种喹诺酮类药物的平均回收率为 77.0% ~ 103.0%,相对标准偏差 3.24% ~ 12.11%。空白样品中添加 1.00 $\mu\text{g/kg}$ 的标准溶液,经测定回收率在 78.6% ~ 103.0%,表明 13 种喹诺酮类药物检测限可达到 1.00 $\mu\text{g/kg}$ 。添加回收率和精密度见表 6,扫描总离

子流图见图 1。

另外 ,由于同时检测多种喹诺酮类药物残留 ,该药物之间具有相似性 ,在检测时相互之间可能会

有轻微的影响 ,使得结果的 RSD 值跨度较大 ,相关文献报道^[25 26] 也有同样情况。但是通过检测均可以达到较好的回收和检测限量要求。

表 6 罗非鱼加标回收率和精密度

Table 6 The recovery of standard addition and precision in *Tilapia mossambica* ($n = 6$)

药物名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 (%)	相对标准 偏差 (%)	药物名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 (%)	相对标准 偏差 (%)
噻嗪酸	1.00	0.88	88.2	8.31	丹诺沙星	1.00	0.92	92.1	5.24
	5.00	4.12	82.4	10.45		5.00	4.41	88.1	10.16
	20.00	16.90	84.5	4.47		20.00	19.14	95.7	11.27
氟甲喹	1.00	0.87	86.7	10.24	恩诺沙星	1.00	1.01	101.0	5.38
	5.00	4.52	90.3	8.78		5.00	3.85	77.0	7.79
	20.00	18.04	90.2	8.50		20.00	16.02	80.1	3.71
诺氟沙星	1.00	0.87	86.7	11.24	氧氟沙星	1.00	1.03	102.6	10.31
	5.00	4.07	81.4	7.40		5.00	4.44	88.7	10.65
	20.00	17.10	85.5	9.08		20.00	17.80	89.0	10.45
依诺沙星	1.00	1.03	103.0	9.89	沙拉沙星	1.00	1.01	100.7	10.90
	5.00	4.12	82.4	11.90		5.00	4.05	81.0	3.43
	20.00	18.26	91.3	6.12		20.00	16.84	84.2	10.91
环丙沙星	1.00	0.76	76.4	3.70	司帕沙星	1.00	0.80	79.8	10.37
	5.00	4.34	86.8	4.90		5.00	4.45	88.9	11.20
	20.00	17.94	89.7	3.24		20.00	18.14	90.7	6.51
培氟沙星	1.00	0.86	85.5	11.10	双氟沙星	1.00	0.79	78.6	7.92
	5.00	3.89	77.8	9.40		5.00	4.31	86.1	5.24
	20.00	17.98	89.9	9.10		20.00	18.34	91.7	10.60
洛美沙星	1.00	1.01	101.0	10.74					
	5.00	4.04	80.7	12.11					
	20.00	18.52	92.6	10.80					

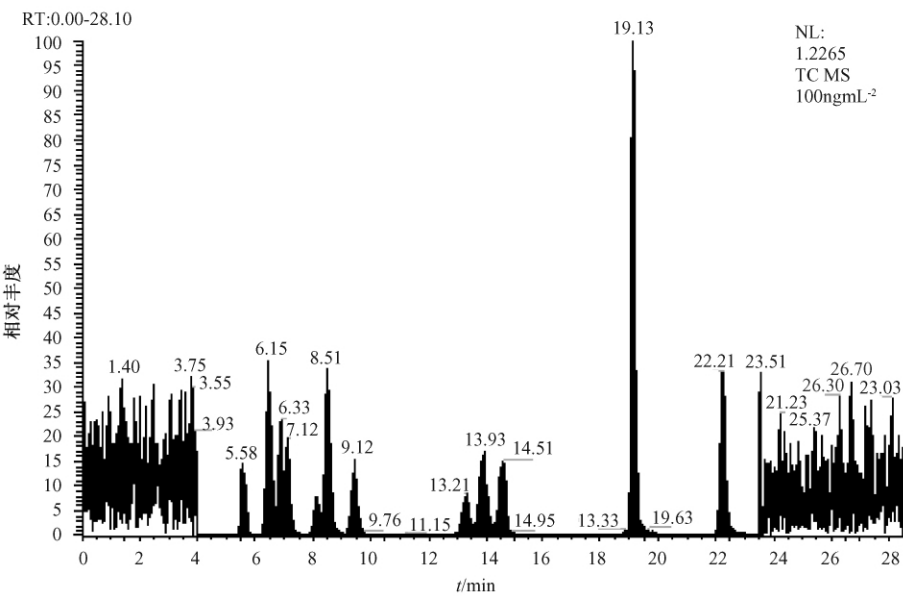


图 1 Ultimate XB-C₁₈ 柱多反应监测模式 ESI 正离子扫描总离子流图

Figure 1 Total ion flow diagram under MRM [ESI (+)] of Ultimate XB-C₁₈

2.6 方法应用范围

选取青蟹、鲈鱼、虾、鳊鱼、草鱼、鲤鱼为样品基
质 ,均为空白样品 ,分别在 1.00、5.00、20.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$
的添加浓度下进行加标回收实验 ,平均回收率在
74.6% ~ 113.0% 之间 ,相对标准偏差为 3.24% ~

12.11% ,如表 7 所示 ,表明该方法可用于检测不同
种类的水产品 ,应用范围广 ,适用性强。通过对多
种市场采集样品进行测定 ,说明了该方法具有一定的
实用性。

2.7 实际样品测试

表 7 不同样品加标回收率
Table 7 The recovery of different samples

药物名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	青蟹		鲈鱼		虾		鳊鱼		草鱼		鲤鱼	
		测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)
噻啶酸	1.00	0.86	78.2	0.99	90.4	0.93	84.1	0.84	76.5	1.06	96.6	0.83	75.5
	5.00	4.13	82.5	4.63	92.6	4.36	87.2	4.02	80.3	4.20	84.0	3.82	76.4
	20.00	16.90	84.5	19.68	98.4	18.08	90.4	18.50	92.5	19.00	95.0	15.02	75.1
氟甲喹	1.00	0.84	76.7	0.97	88.0	0.89	80.9	0.86	78.6	1.05	95.6	0.87	79.2
	5.00	4.07	81.3	4.80	96.0	4.74	94.8	4.11	82.1	4.52	90.4	3.74	74.7
	20.00	17.64	88.2	16.08	80.4	15.80	79.0	18.02	90.1	19.44	97.2	17.02	85.1
诺氟沙星	1.00	0.89	80.7	1.01	91.4	9.22	83.8	0.81	73.6	1.12	102.0	0.86	78.0
	5.00	4.07	81.4	4.85	97.0	4.41	88.1	4.28	85.6	4.52	90.4	4.35	87.0
	20.00	17.50	87.5	19.80	100.0	16.98	84.9	18.42	92.1	20.20	101.0	16.34	81.7
依诺沙星	1.00	1.10	100.0	0.99	90.6	1.07	97.7	0.98	89.1	0.95	86.1	0.93	84.2
	5.00	4.02	80.4	4.79	95.8	5.35	107.0	4.79	95.7	4.19	83.8	4.51	90.2
	20.00	16.26	81.3	19.82	99.1	19.59	100.0	18.82	94.1	17.34	86.7	17.22	86.1
环丙沙星	1.00	0.84	76.7	1.12	102.0	1.06	96.3	0.89	81.0	0.92	84.0	0.82	74.7
	5.00	4.00	79.9	4.91	98.3	5.15	103.0	4.13	82.5	4.29	85.7	3.78	75.6
	20.00	18.14	90.7	19.90	99.5	18.28	91.4	18.60	93.0	16.40	82.0	19.56	97.8
培氟沙星	1.00	0.94	85.1	0.89	80.7	0.91	82.6	0.86	77.8	0.88	79.7	1.09	98.8
	5.00	3.99	79.8	5.10	102.0	4.45	89.0	4.68	93.6	4.45	88.9	3.78	75.6
	20.00	17.98	89.9	19.68	98.4	18.60	93.0	15.06	75.3	18.16	90.8	16.00	80.0
洛美沙星	1.00	1.11	110.0	0.90	82.2	1.01	91.5	1.11	101.0	1.01	91.8	1.02	92.4
	5.00	4.14	82.7	4.26	85.2	4.80	95.9	4.50	90.0	4.49	89.7	3.92	78.4
	20.00	16.52	82.6	17.64	88.2	17.24	86.2	17.84	89.2	20.60	103.0	18.62	93.1
丹诺沙星	1.00	0.90	82.1	1.14	113.0	0.93	84.4	1.07	97.1	1.12	102.0	0.89	81.2
	5.00	3.91	78.1	5.65	113.0	5.60	112.0	4.53	90.6	4.43	88.6	3.90	78.0
	20.00	15.14	75.7	19.96	99.8	20.20	101.0	17.90	89.5	19.40	97.0	16.12	80.6
恩诺沙星	1.00	0.88	80.0	1.11	101.0	0.89	80.9	1.12	102.0	1.06	96.3	0.85	77.1
	5.00	4.05	81.0	4.23	84.6	4.84	96.7	3.89	77.8	4.54	90.8	4.37	87.3
	20.00	18.02	90.1	16.50	82.5	16.12	80.6	16.70	83.5	16.50	82.5	18.14	90.7
氧氟沙星	1.00	1.11	100.6	1.11	101.0	1.16	114.7	1.11	101.0	0.83	75.5	0.85	77.4
	5.00	4.44	88.7	4.20	84.0	5.10	102.0	4.74	94.7	4.57	91.4	3.82	76.3
	20.00	17.80	89.0	17.68	88.4	15.46	77.3	17.72	88.6	16.68	83.4	14.92	74.6
沙拉沙星	1.00	1.13	102.7	1.19	108.0	1.08	97.8	1.11	101.0	0.89	80.9	0.94	85.1
	5.00	4.30	86.0	3.90	78.0	4.16	83.2	3.85	77.0	3.98	79.6	3.89	77.8
	20.00	15.44	77.2	17.40	87.0	19.30	96.5	15.88	79.4	18.58	92.9	17.36	86.8
司帕沙星	1.00	0.87	79.0	0.87	78.9	1.10	100.0	0.89	80.7	0.89	77.6	0.82	74.6
	5.00	3.95	78.9	4.20	83.8	3.95	79.0	3.75	75.0	4.01	80.2	3.79	75.8
	20.00	16.94	84.7	17.36	86.8	15.14	75.7	15.14	75.7	16.72	83.6	15.36	76.8
双氟沙星	1.00	0.86	78.6	0.86	78.4	0.96	87.0	0.85	77.4	0.77	70.2	0.86	78.4
	5.00	4.34	86.8	4.42	88.4	4.33	86.6	4.09	81.7	3.89	77.8	4.42	88.4
	20.00	16.34	81.7	18.12	90.6	18.50	92.5	18.06	90.3	15.66	78.3	16.12	80.6

选取部分样品,包括鳊鱼、罗非鱼、南美白对虾、草鱼、青蟹、鲍鱼、牡蛎进行测定,结果除少数样品中恩诺沙星和环丙沙星有检出(计算恩诺沙星和环丙沙星残留量总和),鳊鱼和鲍鱼的检出量分别为23.80和16.70 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其他均未有喹诺酮类药物残留检出。

3 结论

该实验建立的方法测得13种喹诺酮类药物残留量的线性关系比之前文献^[15-17]报道的结果更好,结果准确度更高。对于药物残留检测的定量方法一般分为外标法和内标法,通常认为内标法可以避

免一些试样中组分峰的干扰,使结果更准确,但合适的内标物不易选取,且文献报道^[10,17]是多种组分共用一种内标物,在实际检测中相互之间也会有干扰导致结果不稳定;而采用外标法,保证检测限、灵敏度和准确度的同时可以节约成本。本实验用外标法定量,针对不同的水产品进行空白加标试验,结果表明该方法在多种水产品检测中均可适用,而现有文献报道在水产品中的应用多选用单一鱼种或是一种鱼和虾^[17]进行实验。检测限为1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$,与王志杰等^[17]报道的一致,但平均回收率有所提高,为74.6%~113.0%。实验过程中尝试将检测限在现有基础上进一步降低,但经多次测定结果

均不理想,而在 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 作为最低加标浓度可以得到比较好的结果,且低于日本肯定列表的最大残留量的要求,同时也可以达到欧盟、美国以及我国制定的相关限量要求。检测方法简便、快速,准确度和灵敏度高,适用于水产品中多种喹诺酮类药物残留的同时检测。

参考文献

- [1] 张玉岩,许立春. 喹诺酮类药物的合理应用[J]. 吉林医药, 2008, 29(5): 755-756.
- [2] 姜礼燊,樊俊峰,宗网华,等. 喹诺酮类药物在鱼虾病害防治中的应用[J]. 内陆水产, 2002(12): 22-23.
- [3] 郭少忠,吴晓君. 浅谈渔药喹诺酮类[J]. 海洋与渔业, 2008(7): 17-20.
- [4] 中华人民共和国农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 2002-12-24.
- [5] 日本肯定列表最大残留量[EB/OL]. [2010-03-18]. <http://www.tbtsps.gov.cn/jpmrl/MRLS/Pages/MRLSearch.aspx>.
- [6] 刘欢欢,于学辉. 用 ELIASA 方法检测鸡蛋氟喹诺酮类药物残留的研究[J]. 西南民族大学学报, 2008, 34(6): 1182-1185.
- [7] 潘孝成,赵瑞宏,祈克宗,等. 氟喹诺酮类药物的多残留酶免疫分析研究[J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(11): 126-129.
- [8] 刘慧慧,饶钦雄,刘向明,等. 鱼肉中氟喹诺酮类药物多残留检测方法的建立及恩诺沙星在鲫鱼体内残留消除规律的研究[J]. 中国兽医杂志, 2007, 43(1): 74-76.
- [9] 郭根和,潘葳,苏德森,等. 离子对高效液相色谱法同时测定鱼类中四种喹诺酮类药物的残留[J]. 色谱, 2005, 23(40): 401-403.
- [10] 李佐卿,倪梅林,章再婷,等. 高效液相色谱法检测水产品中喹诺酮类药物残留[J]. 现代科学仪器, 2006(3): 70-71.
- [11] YORKE J C, FROC P. Quantitation of nine quinolones in chicken tissues by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. J Chromatogr A, 2000, 882: 63-77.
- [12] ZENG Zhenling, DONG Aiguo, YANG Guixiang, et al. Simultaneous determination of nine fluoroquinolones in egg white and egg yolk by liquid chromatography with fluorescence detection[J]. J Chromatogr B, 2005, 821(2): 202-209.
- [13] PECORELLI I, GALARINI R, BIBI R, et al. Simultaneous determination of 13 quinolones from feeds using accelerated solvent extraction and liquid chromatography[J]. Anal Chim Acta, 2003, 483: 81-89.
- [14] ZHANG Yanzhen, ZHANG Zhengyi, ZHOU Yanchun, et al. Determination of fluorinated quinolone antibacterials by ion chromatography with fluorescence detection[J]. Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8(5): 302-306.
- [15] 李佐卿,倪梅林,俞雪钧,等. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中磺胺类和喹诺酮类药物残留[J]. 分析测试学报, 2007, 26(4): 508-510.
- [16] 杨方,庞国芳,刘正才,等. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中 15 种喹诺酮残留量[J]. 分析试验室, 2008, 27(12): 27-33.
- [17] 王志杰,冷凯良,孙伟红,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定鳊鱼和虾中残留的 33 种喹诺酮和磺胺类药物[J]. 色谱, 2009, 27(2): 138-143.
- [18] CLEMENTE M, HERMO M P, BARR'ON D, et al. Confirmatory and quantitative analysis using experimental design for the extraction and liquid chromatography-UV, liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry determination of quinolones in turkey muscle[J]. J Chromatogr A, 2006, 1135: 170-178.
- [19] SAMANIDOU V, EVAGGELOPOULOU E, TROTMULLER M, et al. Multi-residue determination of seven quinolones antibiotics in gilthead seabream using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2008, 1203: 115-123.
- [20] JOHNSTON L, MACKAY L, CROFT M. Determination of quinolones and fluoroquinolones in fish tissue and seafood by high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation tandem mass spectrometric detection[J]. J Chromatogr A, 2002, 982: 97-109.
- [21] TOUSSAINT B, BORDIN G, JANOSI A, et al. Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 11 (fluoro)quinolone antibiotics in swine kidney[J]. J Chromatogr A, 2002, 976: 195-206.
- [22] 柯华生. 水产品中氟喹诺酮类多残留检测方法的研究[D]. 扬州:扬州大学, 2006.
- [23] 陈辉华. 水产品中四环素类和氟喹诺酮类药物残留的同时检测[D]. 无锡:江南大学, 2008.
- [24] 叶松生. HPLC-MS/MS 法测定鳊鱼及其制品中三类药物残留[D]. 福州:福建农林大学, 2008.
- [25] 岳振峰,林秀云,唐少冰,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物组织中的 16 种喹诺酮类药物残留[J]. 色谱, 2007, 25(4): 491-495.
- [26] 岳振峰,谢丽琪,陈小霞,等. 牛奶中 16 种喹诺酮类药物残留量的高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(3): 240-243.