

高效液相色谱—串联质谱法测定水产品中 19种喹诺酮类药物残留量

钱卓真^{1,3}, 朱世超², 魏博娟², 汤水粉¹, 罗方方², 吴成业^{1*}

(1. 福建省水产研究所 福建 厦门 361012; 2. 集美大学生物工程学院 福建 厦门 361021;
3. 厦门大学材料学院 福建 厦门 361005)

摘要: 建立用高效液相色谱—串联质谱法测定水产品中19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、西诺沙星、奥比沙星、麻保沙星、萘啶酸、氟罗沙星和吡哌酸残留量的方法。用酸化乙腈提取水产品中喹诺酮类药物,正己烷脱脂。采用电喷雾电离源(ESI)正离子扫描模式,选择反应监测模式(SRM)监测,外标法定量。该方法对19种喹诺酮类药物标准曲线的线性回归系数均在0.99以上,线性范围为2~200 ng/mL,氟罗沙星和吡哌酸检出限为1.0 μg/kg,定量限为2.0 μg/kg,其余17种喹诺酮的检出限为0.5 μg/kg,定量限为1.0 μg/kg。19种喹诺酮类药物回收率在76.3%~108%之间,相对标准偏差为0.743%~13.1%。该方法简单、灵敏,结果可靠,可满足实验室批量样品分析的需求。
[中国渔业质量与标准 2012, 2(3): 68-76]

关键词: 高效液相色谱—串联质谱法; 喹诺酮; 水产品; 残留

中图分类号: S912 文献标识码: A 文章编号: 2095-1833(2012)03-0068-09

喹诺酮类药物(Quinolones)是继磺胺之后迅速发展起来的一类十分重要的人工合成抗菌药物,是一类人畜通用的药物。在水产养殖方面,此类药物主要用于预防和治疗鱼类疾病,少量使用还具有一定的促生长作用。若长期食用被此类药物污染的食品,可能会诱导人类病原微生物产生耐药性和抗药性,严重时,会对食用者产生直接毒性及潜在“三致”(致癌、致畸、致突变)作用^[1]。目前,欧盟、日本及我国都对喹诺酮类药物的最大残留量做出了明确的限量规定。欧盟规定在动物肌肉中氟甲喹的最大残留量为200 μg/kg,恩诺沙星(恩诺沙星和环丙沙星总和)为100 μg/kg,双氟沙星为300 μg/kg。日本肯定列表中的相关规定为^[2]: 鳗鱼中氟甲喹最大残留量为600 μg/kg,沙拉沙星为30 μg/kg,丹诺沙星为100 μg/kg,氧氟沙星为100 μg/kg,恩诺沙星为10 μg/kg,噁喹酸为50 μg/kg,麻保沙星为50~100 μg/kg,奥比沙星为20 μg/kg,双氟沙星为300 μg/kg(2008年6月12日起规定为不得检出)。国家农业部235号公告^[3]中规定动物肌肉中该类药物的最

大残留量为: 丹诺沙星 200 μg/kg, 双氟沙星为 300 μg/kg, 恩诺沙星为 100 μg/kg, 氟甲喹为 500 μg/kg, 噁喹酸为 300 μg/kg, 沙拉沙星为 30 μg/kg。

目前水产品中喹诺酮类药物残留量检测的测定方法主要有微生物法^[4]、酶联免疫吸附测定法(ELISA)^[5-6]、高效液相色谱法(HPLC)^[7-12]、高效液相色谱—串联质谱法(HPLC/MS/MS)^[13-20]、电解分析法(AE)^[21]和毛细管电泳法(CE)^[22]。本文在现有研究的基础上,建立可同时检测19种常用喹诺酮类药物的高效液相色谱—串联质谱法(HPLC/MS/MS)。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

噁喹酸(Oxolinic acid)、氟甲喹(Flumequine)、诺氟沙星(Norfloxacin)、依诺沙星(Enoxacin)、环丙沙星(Ciprofloxacin)、培氟沙星(Pefloxacin)、洛美沙星(Lomefloxacin)、丹诺沙星(Danofloxacin)、恩诺沙星

收稿日期: 2012-02-11; 接收日期: 2012-05-30

资助项目: 福建省海洋与渔业厅重点项目(闽海渔合同[2009]1-17号)

作者简介: 钱卓真(1981-),女,助理研究员,主要从事水产品中兽药、农药残留、有毒有害物质检测方法研究及食品安全评估研究。Email: qianzhuozhen@126.com

通信作者: 吴成业,研究员,主要从事水产品加工及食品安全研究。E-mail: wcy@fjscs.ac.cn

(Enrofloxacin)、氧氟沙星(Ofloxacin)、沙拉沙星(Sarafloxacin)、司帕沙星(Sparfloxacin)、双氟沙星(Difloxacin)、西诺沙星(Cinoxacin)、萘啶酸(Nalidixic acid)、奥比沙星(Orbifloxacin)、麻保沙星(Marbofloxacin)、氟罗沙星(Fleroxacin)、吡哌酸(Pipemidic acid) 购自 Dr 公司(纯度 >92%)。

乙腈、甲酸、正己烷均为色谱纯;无水硫酸钠、乙酸铵均为化学纯;水为 Milli-Q 制备的超纯水;酸化乙腈:99 mL 乙腈中加入 1 mL 甲酸 混匀。

Accela TSQ Quantum Access 液相色谱串联四级杆质谱联用仪(美国 Thermo Fisher 公司);离心机(北京时代北利离心机有限公司);MS2 型旋涡混合器(德国 IKA 公司);旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);氮吹仪(广州智真生物科技有限公司);PL203 型电子分析天平、AB204-E 型电子分析天平(Mettler Toledo 公司)。

1.2 标准溶液配制

1.2.1 储备液

准确称取每种喹诺酮标准品 10.0 mg,加入 200 μ L 甲酸,用乙腈定容至 100 mL 棕色容量瓶中,此溶液浓度为 100 μ g/mL,于 -18 $^{\circ}$ C 下避光保存,有效期 6 个月。

1.2.2 混合标准中间溶液

分别准确移取喹诺酮类药物标准储备液 100 μ L 于 10 mL 容量瓶,用乙腈稀释成 1 μ g/mL 的标准中间溶液,于 4 $^{\circ}$ C 下避光保存,有效期为 1 个月。

1.2.3 混合标准工作曲线工作液

准确吸取一定量的喹诺酮类药物混合标准中间溶液,用空白样品提取液稀释成相应的标准工作液,使用时现配现用。

1.3 样品前处理

称取(5 \pm 0.05) g 试样,于 100 mL 具塞离心管中,加入 10 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,再加入 20 mL 酸化乙腈,以 2 000 r/min 涡旋混合 1 min,超声提取 8 min。于 2 500 r/min 离心 5 min,取上清于分液漏斗内;样品残渣再加入 20 mL 酸化乙腈,重复提取 1 次,合并上清于分液漏斗中。

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 100 mL 梨形瓶中,于 40 $^{\circ}$ C 下旋蒸至近干,再于 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干,1.5 mL 流动相定容,1 mL 乙腈饱和正己烷除脂,13 000 r/min 离心后取下层清液,过 0.22 μ m 滤膜后,供液相色谱-串联质谱测定。

1.4 色谱条件

色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈(150 mm \times 2.1 mm, 5 μ m);柱温为 30 $^{\circ}$ C;流动相:2 mmol/L 乙酸铵-0.2% 甲酸水溶液+乙腈,梯度洗脱(梯度洗脱程序见表 1);流速为 0.25 mL/min;进样量 10 μ L。

表 1 HPLC 流动相梯度洗脱程序
Tab.1 HPLC mobile phase gradients

时间/min Time	2 mmol/L 乙酸铵-0.2% 甲酸水溶液/% 2 mmol/L Ammonium acetate-0.2% Formic acid in water		乙腈/% Acetonitrile
	0.0	85.0	
15.5	81.0		19.0
16.0	60.0		40.0
23.0	60.0		40.0
23.5	85.0		15.0
28.0	85.0		15.0

1.5 质谱条件

电喷雾离子源,正离子检测模式,喷雾电压:4 500 V,鞘气压力:2.41 \times 10⁵ Pa,辅气压力:3.45 \times 10⁴ Pa,离子传输毛细管温度:350 $^{\circ}$ C,源内碰撞诱导解离电压:10 V,选择反应监测(SRM),母离子、子离子和碰撞能量见表 2,Q1 半峰宽:0.7 Da,Q3 半峰宽:0.7 Da,碰撞气压力:氦气 0.133 Pa。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

喹诺酮类药物具有两性基团,属于酸碱两性化合物,在水溶液中通常以离子形式存在。通常选用酸性溶液作为流动相的组成部分,再选用适当的离子对试剂和离子抑制试剂,有利于样品分离。根据国内外相关文献报道,在本试验条件下,尝试了乙腈、甲酸、乙酸铵之间多种配比的流动相条件,经过多次比较优化,本试验采用含 2 mmol/L 乙酸铵的 0.2% 甲酸-乙腈溶液,采用梯度洗脱程序,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、西诺沙星、奥比沙星、麻保沙星、萘啶酸、氟罗沙星和吡哌酸在 28 min 内被洗脱且分离良好,峰型尖锐对称。

表2 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量

Tab. 2 The optimization parameters of SRM of the analytes

化合物 Compounds	母离子 (m/z) Parent ion	子离子 (m/z) Product ions	碰撞能量 / eV Collision energy
噁喹酸	262	216	29
		244*	18
氟甲喹	262	202	32
		244*	18
诺氟沙星	320	233	24
		276*	16
依诺沙星	320.9	303*	22
		232	30
环丙沙星	332	230.9	37
		314*	21
培氟沙星	334	290	17
		316*	24
洛美沙星	351.9	265*	20
		308	17
丹诺沙星	358	254.9	37
		340*	22
恩诺沙星	360	244.9	25
		316*	15
氧氟沙星	361.9	261	26
		318*	20
沙拉沙星	386	299*	22
		367	22
司帕沙星	393	292	20
		349*	17
双氟沙星	400	356	21
		382*	19
西诺沙星	263	217*	32
		245	23
萘啶酸	233	187	25
		215*	15
奥比沙星	396	352	19
		295*	25
麻保沙星	363	72*	21
		345	14
氟罗沙星	370	326*	29
		269	39
吡哌酸	304	217*	30
		189	22

注: * 为定量碎片离子。

2.2 质谱条件的优化

为了使19种喹诺酮类药物质谱测试条件达到最佳,以注射泵直接进样,将0.5 μg/mL的19种喹诺酮类药物混合标准品注入质谱离子源中,采用正离子扫描方式能够达到很好的扫描结果,一级质谱图可得到准分子离子峰[M+H]⁺。以分子离子峰为母离子对离子源参数进行优化,如:喷雾电压、鞘气压力、辅气压力、离子传输毛细管温度、碰撞能量。二级质谱中主要是喹诺酮药物脱水峰、脱羧峰以及氟喹诺酮类药物哌嗪环断裂结构重排后产生的离子。LC/MS/MS标准品色谱图见图1。

2.3 样品前处理条件的优化

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。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,添加一定量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。

样品预先加入无水硫酸钠进行彻底混合,有利于脱水和盐析作用,促进提取剂对药物的提取。超声波振荡有效促进细胞破壁,加大样品分散程度,加剧细胞内容物的溶出,从而提高实验提取效率。加标色谱图见图2。

2.4 标准曲线、线性范围、检出限和定量限

用空白样品制备样品空白提取液,用该提取液将标准液稀释成2、5、10、25、50、100、150、200 ng/mL溶液,以各组分浓度(x)与其色谱峰面积(y)进行线性回归,呈良好线性关系(见表3)。以3倍信噪比(S/N)计算,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、西诺沙星、奥比沙星、麻保沙星和萘啶酸检出限为0.5 μg/kg,氟罗沙星和吡哌酸检出限为1.0 μg/kg。以10倍信噪比(S/N)计算,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、西诺沙星、奥比沙星、麻保沙星和萘啶酸定量限为1.0 μg/kg,氟罗沙星和吡哌酸检出限为2.0 μg/kg。

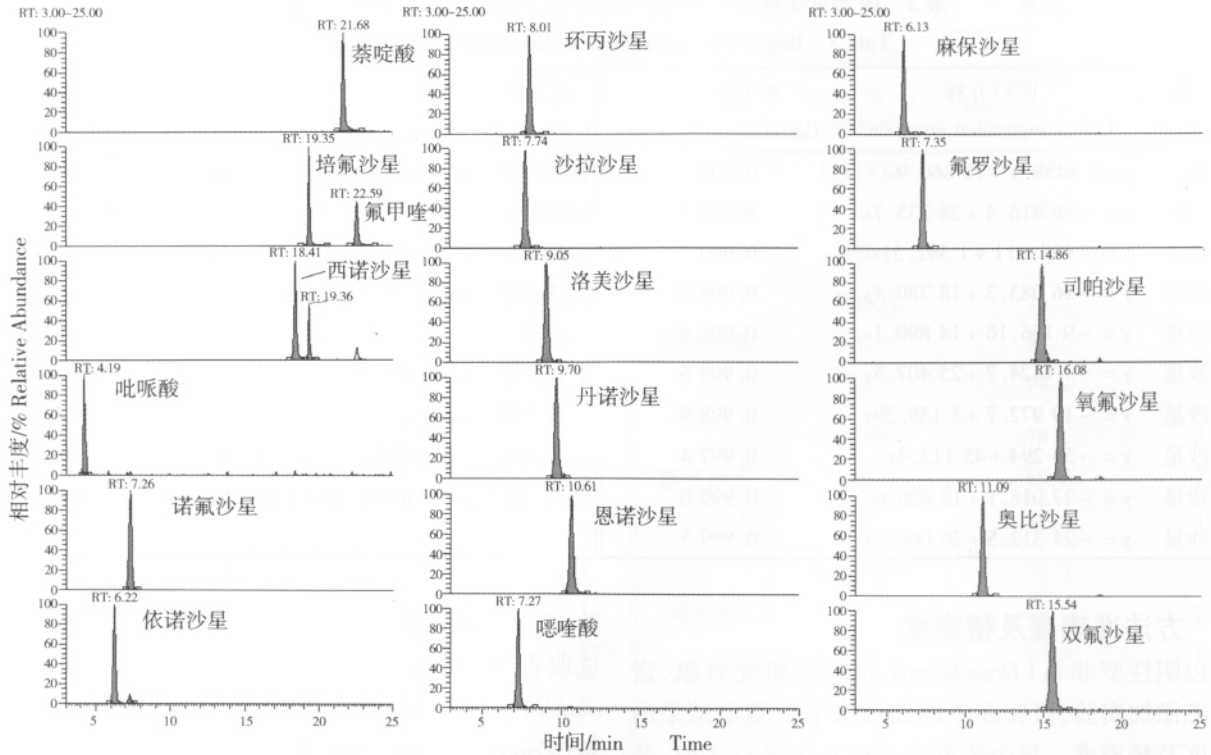


图 1 喹诺酮类药物选择离子流图 ($100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Fig. 1 SRM chromatograms for $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ quinolones stand

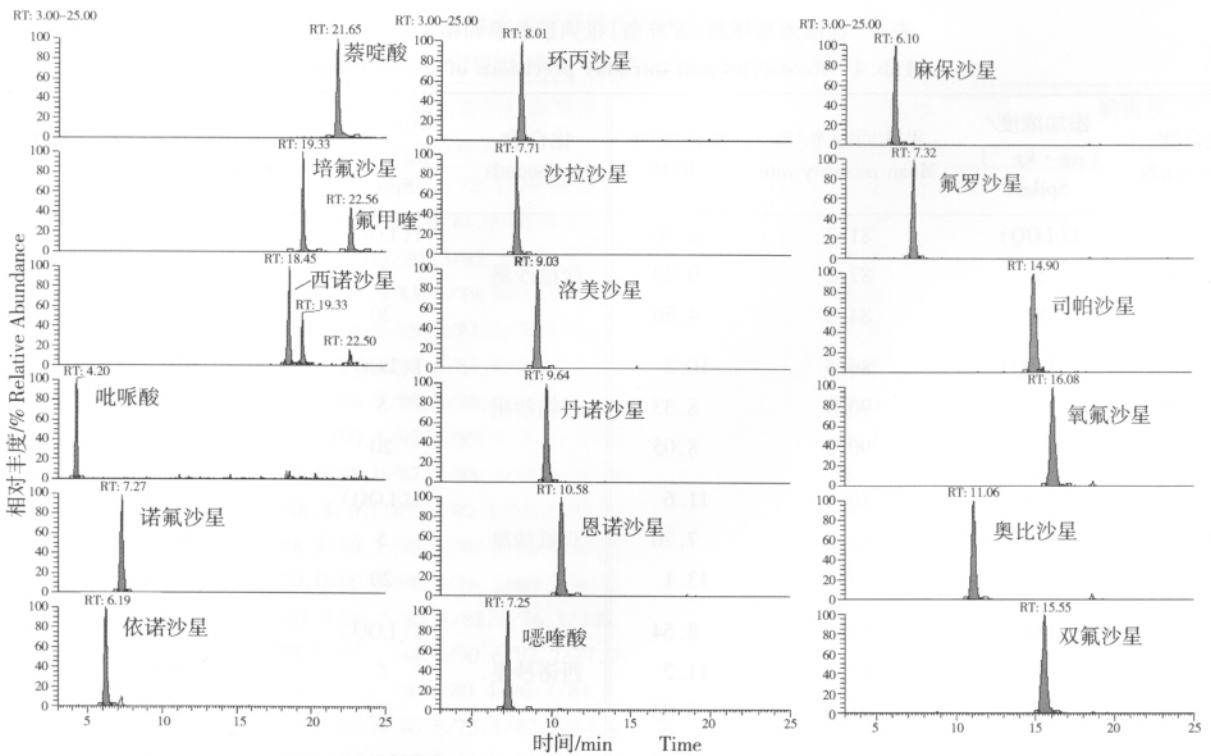


图 2 罗非鱼加标样的选择离子流图 ($5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Fig. 2 SRM chromatograms for $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ spiked tissue

表3 19种喹诺酮类药物基质标准溶液测得回归方程及相关系数

Tab.3 Regression analysis and correlation coefficient

化合物 Compounds	回归方程 Linear regression equation	相关系数/ R^2 Correlation coefficient	化合物 Compounds	回归方程 Linear regression equation	相关系数/ R^2 Correlation coefficient
噁喹酸	$y = 9\ 4458.1 + 79\ 860.9x$	0.999 4	沙拉沙星	$y = -6\ 772.17 + 1\ 413.96x$	0.997 3
氟甲喹	$y = -16\ 816.4 + 28\ 235.7x$	0.999 3	司帕沙星	$y = -37\ 216.2 + 18\ 059.8x$	0.999 2
诺氟沙星	$y = -898.911 + 1\ 592.51x$	0.999 7	双氟沙星	$y = -16\ 529.5 + 7\ 734.54x$	0.999 9
依诺沙星	$y = -26\ 083.3 + 18\ 389.1x$	0.999 5	西诺沙星	$y = -29\ 293.7 + 8\ 618.96x$	0.999 6
环丙沙星	$y = -9\ 166.16 + 14\ 890.1x$	0.998 6	萘啶酸	$y = -9\ 210 + 98\ 812.3x$	0.999 8
培氟沙星	$y = -3\ 1424.7 + 25\ 407.5x$	0.999 6	奥比沙星	$y = -120\ 950 + 35\ 222.4x$	0.999 8
洛美沙星	$y = -19\ 972.7 + 5\ 138.29x$	0.998 9	麻保沙星	$y = -84\ 268 + 13\ 257.4x$	0.997 5
丹诺沙星	$y = -55\ 294 + 45\ 112.4x$	0.997 4	氟罗沙星	$y = -132\ 472 + 17\ 514.9x$	0.998 2
恩诺沙星	$y = -27\ 018.1 + 12\ 426.6x$	0.999 0	吡哌酸	$y = -6\ 955.75 + 1\ 774.5x$	0.996 5
氧氟沙星	$y = -24\ 312.3 + 26\ 069.3x$	0.999 5			

2.5 方法准确度及精密度

以阴性罗非鱼(*Oreochromis spp*)为研究对象,进行标准添加实验,研究在不同加标水平下测定结果的准确度及精密度。每个浓度水平做6个平行实验,并考察批内加标回收率及相对标准偏差,测定结果见表4。18 d内在 $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度下进行6次标准添加实

验,考察方法的批间相对标准偏差,测定结果见表5。选取青蟹(*Scylla serata*)、南美白对虾(*Penaeus vannamei*)、鳗鲡(*Anguilla japonicus*)、鲍(*Haliotis discus*)、鳖(*Trionyx sinensis*)和牡蛎(*Crassostrea gigas*),考察方法适用性,测定结果见表6。

表4 标准添加样品(罗非鱼)批内回收率和精密度($n=6$)

Tab.4 Recoveries and intraday precisions of spiked tissue

化合物 Compounds	添加浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Spiked	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	化合物 Compounds	添加浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Spiked	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD
噁喹酸	1(LOQ)	81.3	8.56	沙拉沙星	1(LOQ)	100	11.2
	5	82.2	9.28		5	81.3	3.80
	20	84.2	4.56		20	84.7	10.1
氟甲喹	1(LOQ)	86.6	10.2	司帕沙星	1(LOQ)	79.7	9.08
	5	90.3	8.33		5	88.9	10.1
	20	90.2	8.05		20	90.8	6.34
诺氟沙星	1(LOQ)	86.6	11.6	双氟沙星	1(LOQ)	78.9	7.28
	5	81.0	7.70		5	86.1	4.65
	20	85.5	13.1		20	91.6	9.49
依诺沙星	1(LOQ)	105	8.54	西诺沙星	1(LOQ)	78.9	6.28
	5	82.4	11.2		5	86.8	2.73
	20	91.1	6.03		20	94.4	3.75
环丙沙星	1(LOQ)	76.3	3.88	萘啶酸	1(LOQ)	81.3	5.20
	5	86.9	4.72		5	86.5	2.54
	20	88.9	3.89		20	92.3	4.24

续表4, Tab. 4 Continued

化合物 Compounds	添加浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Spiked	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	化合物 Compounds	添加浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Spiked	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD
培氟沙星	1(LOQ)	85.6	11.3	奥比沙星	1(LOQ)	76.5	3.03
	5	78.6	9.22		5	92.3	2.38
	20	89.7	8.39		20	93.1	2.24
洛美沙星	1(LOQ)	105	9.53	麻保沙星	1(LOQ)	78.2	2.31
	5	84.0	10.1		5	87.5	2.68
	20	91.7	10.3		20	94.2	2.02
丹诺沙星	1(LOQ)	92.2	5.37	氟罗沙星	2(LOQ)	78.7	3.74
	5	88.1	9.68		5	89.6	2.85
	20	95.4	10.7		20	95.4	1.33
恩诺沙星	1(LOQ)	98.0	12.1	吡哌酸	2(LOQ)	77.7	2.03
	5	79.4	6.14		5	87.0	2.27
	20	80.9	0.873		20	95.9	1.18
氧氟沙星	1(LOQ)	102	11.8				
	5	88.7	9.05				
	20	98.0	10.2				

注: LOQ 为定量限。

表5 标准添加样品批间回收率和精密度($n=6$)

Tab. 5 Recoveries and interday precisions of spiked tissue

化合物 Compounds	6次标准添加实验的回收率/% Recovery rate	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD
噁喹酸	90.2/78.4/80.1/72.1/79.5/98.4	83.1	11.4
氟甲喹	101/80.4/82.9/81.7/85.0/83.2	85.7	8.93
诺氟沙星	80.4/89.2/90.5/83.3/103/92.7	89.9	8.82
依诺沙星	90.4/90.6/85.6/79.9/93.0/91.2	88.0	5.52
环丙沙星	80.2/94.5/89.2/81.2/79.9/90.1	85.9	7.23
培氟沙星	80.6/91.4/92.6/81.9/82.7/83.5	85.5	6.06
洛美沙星	96.1/98.7/89.8/80.4/82.1/88.4	89.0	8.21
丹诺沙星	87.7/90.1/92.5/89.7/78.5/89.9	88.1	5.59
恩诺沙星	87.6/98.0/87.2/88.4/79.1/92.3	88.8	7.04
氧氟沙星	98.4/101/87.5/90.1/93.5/94.8	94.0	5.35
沙拉沙星	88.4/89.1/90.5/89.2/92.4/86.1	89.3	2.36
司帕沙星	79.0/90.5/98.2/86.5/80.7/82.2	86.2	8.38
双氟沙星	97.7/90.5/84.1/83.9/76.1/102	89.1	10.8
西诺沙星	79.0/90.1/84.4/90.6/92.7/77.0	85.6	7.65
萘啶酸	96.0/105/79.4/80.4/90.7/84.6	89.4	11.1
奥比沙星	80.2/93.8/96.5/75.1/82.0/84.1	85.3	9.67
麻保沙星	80.4/86.4/82.1/90.7/91.5/88.7	86.6	5.27
氟罗沙星	78.1/89.5/97.2/90.9/98.2/84.2	89.7	8.56
吡哌酸	89.3/80.4/90.6/92.4/88.0/78.6	86.6	6.56

表6 不同样品加标回收率
Tab.6 Recoveries of different samples

化合物 Compounds	青蟹 <i>Scylla serata</i>		南美白对虾 <i>Penaeus vannamei</i>		鳗鲡 <i>Anguilla japonicus</i>		鲍鱼 <i>Haliotis discus</i>		鳖 <i>Trionyx sinensis</i>		牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	
	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD	平均回收率/% Mean recovery rate	精密度/% RSD
噁唑酸	82.5	7.51	87.2	11.8	80.3	1.70	88.4	4.70	86.5	9.10	89.4	8.10
氟甲唑	81.3	7.82	90.8	3.60	82.1	2.02	84.7	9.67	87.4	5.51	80.4	5.08
诺氟沙星	81.4	7.43	88.1	10.8	85.6	2.09	87.0	7.50	87.2	9.33	87.4	3.89
依诺沙星	80.4	11.9	90.2	2.90	95.7	2.07	90.2	12.6	87.6	6.41	87.8	6.08
环丙沙星	79.9	4.94	108	4.36	82.5	3.58	85.6	6.42	87.3	3.43	89.4	1.82
培氟沙星	79.8	9.40	89.0	5.48	83.6	0.915	87.6	8.90	88.6	3.21	85.3	5.70
洛美沙星	82.7	8.09	85.9	12.5	90.0	7.40	88.4	9.60	88.4	3.17	89.7	5.40
丹诺沙星	88.1	10.2	87.0	3.52	90.6	8.18	88.0	9.58	77.6	3.89	85.9	3.39
恩诺沙星	81.0	7.78	86.7	8.13	77.8	5.88	79.6	8.88	89.9	9.18	78.4	7.70
氧氟沙星	88.7	10.7	82.0	6.48	84.7	3.23	84.3	9.72	80.2	4.89	85.2	7.10
沙拉沙星	86.0	3.44	83.2	11.2	80.5	8.79	87.8	9.41	84.5	3.75	79.9	3.39
司帕沙星	88.9	6.18	89.8	4.62	83.8	4.76	83.8	4.44	80.5	3.39	87.3	9.80
双氟沙星	86.8	5.20	86.6	9.51	81.7	0.743	88.4	2.09	87.4	5.79	79.5	4.60
西诺沙星	88.2	2.07	87.0	11.2	80.8	1.72	88.4	1.73	90.8	1.40	86.9	2.57
茶啶酸	88.4	2.80	86.8	11.8	80.3	1.69	86.8	2.68	88.4	2.65	88.7	2.39
奥比沙星	83.3	5.30	87.2	11.0	80.0	1.73	86.4	4.81	89.0	0.999	87.9	2.32
麻保沙星	88.5	3.77	77.2	10.9	79.5	1.66	86.4	4.72	87.2	1.21	90.1	2.29
氟罗沙星	85.6	3.00	87.2	9.40	80.7	1.70	89.4	3.99	90.2	1.12	89.9	2.53
吡啶酸	87.0	2.16	87.9	1.71	87.8	1.50	86.4	4.70	87.8	1.09	87.9	2.01

3 结论

作为人畜共用的喹诺酮类药物,目前广泛应用于鱼类病害的治疗和预防,使用的药物品种已高达19种。人类若长期食用含有此类药物的水产品,容易产生抗药性。自2006年以来,此类药物一直是水产品中药残监控的重点,但现有适用于水产品的国内标准最多只能检测16种喹诺酮类药物,不利于人民身体健康。本研究建立了水产品中19种喹诺酮类药物的液相色谱-串联质谱法,可涵盖所有用于鱼类病害防治和治疗的喹诺酮类药物,有利于健全水产品中此类药残监控体系。该方法前处理简单、快速,方法灵敏度、精密度高,重现性好,方法的检测限和定量限低,能满足国家现行兽药残留检测分析的要求,可用于水产品中19种喹诺酮类药物残留的确证检测。

参考文献:

- [1] 钱卓真. 动物性食品中喹诺酮类药物残留检测技术研究进展[J]. 福建水产, 2007(4): 61-65.
- [2] WTO/TBT-SPS 国家通报咨询中心. 日本肯定列表最大残留量查询[EB/OL]. [2010-03-18]. <http://www.tbt-sps.gov.cn/jpmrl/MRLS/Pages/MRLSearch.aspx>.
- [3] 中华人民共和国农业部. 农业部235号公告 动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 2002-12-24.
- [4] 朱蓓蕾. 动物性食品药物残留[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1994: 115.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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, 16(3): 70-71.
- [9] 钱卓真, 苏秀华, 魏博娟, 等. 超高效液相色谱法同时测定水产品中6种喹诺酮药物的残留[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 185-189.
- [10] 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(1): 63-77.
- [11] Zeng Z L, Dong A G, Yang G X, 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.
- [12] 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(1/2): 81-89.
- [13] 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.
- [14] 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]. 分析实验室, 2008, 27(12): 27-33.
- [15] 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.
- [16] Clemente M, Hermo M P, Barrón 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(2): 170-178.
- [17] Samanidou V, Evaggelopoulos E, Trotsmuller 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(2): 115-123.
- [18] 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(1): 97-109.
- [19] 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(1/2): 195-206.
- [20] 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.
- [21] Beltagi A M. Determination of the antibiotic drug pefloxacin in bulk form, tablets and human serum using square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry [J]. J

- Pharm Biomed Anal, 2003, 31(6): 1079 – 1088.
- [22] Barbosa J, Barrón D, et al. Determination of difloxacin and sarafloxacin in chicken muscle using solid – phase extraction and capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr B, 2002, 767(2): 313 – 319.

Determination of nineteen quinolones in fishery products by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry

QIAN Zhuozhen^{1,3}, ZHU Shichao², WEI Bojuan², TANG Shuifen¹, LUO Fangfang², WU Chengye^{1*}

1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012, China;
2. College of Engineering Technology, Jimei University, Xiamen 361021, China;
3. College of Materials, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

Abstract: A method has been developed for detecting nineteen quinolones including oxolinic acid, flumequine, norfloxacin, enoxacin, ciprofloxacin, pefloxacin, lomefloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, ofloxacin, sarafloxacin, sparfloxacin, difloxacin, cinoxacin, orbifloxacin, marbofloxacin, nalidixic acid, fleroxacin and pipemidic acid by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry. Samples were extracted with acidified acetonitrile, cleaned up with hexane. Analyte identification and quantification were performed using selected reaction monitoring (SRM) with one precursor ion and two product ions as identifiers and electrospray ionization in positive mode. There are good linear correlations between the peak areas and concentrations of quinolones (the calibration coefficients are above 0.99), the dynamic linear range is 2 – 200 ng/mL. The limits of detection are 0.5 µg/kg for quinolones and the limits of quantification is 1.0 µg/kg. The average recoveries ranged from 76.3% to 108% and their relative standard deviations were between 0.743% and 13.1%. The method can be used to identify and quantify the metabolites of quinolones in aquatic products with satisfactory sensitivity, accuracy and precision. [Chinese Fishery Quality and Standards, 2012, 2(3): 68 – 76]

Key words: high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry; quinolones; fishery products; residues

Corresponding author: WU Chengye. E – mail: wcy@fiscs.ac.cn