

动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素残留 检测方法的研究进展

李 妍¹, 闫 蕊^{2*}, 王孝研¹, 张 宁¹, 顾晓雯¹

(1. 黑龙江省质量监督检测研究院, 哈尔滨 150028; 2. 黑龙江省光化学生物材料与储能材料重点实验室,
哈尔滨师范大学化学化工学院, 哈尔滨 150025)

摘 要: 氟喹诺酮类抗生素作为广谱高效抗菌药物应用在动物源性食品生产中。近年来, 动物源性食品中抗生素残留也因其滥用而受到了广泛关注。为此, 监管部门加大了对氟喹诺酮类抗生素残留的监管力度。开展更加快速、高效、高灵敏度、高通量的检测动物源性食品中氟喹诺酮类残留的方法已成为对检测机构的新要求。本文就动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素残留的检验方法的研究进展进行详细阐述, 以期对动物源性食品质量监测、监管以及检测标准方法制定方面提供参考。

关键词: 动物源性食品; 氟喹诺酮类抗生素; 残留; 检测方法

Research advances on detection of fluoroquinolones residues in animal-derived products

LI Yan¹, YAN Rui^{2*}, WANG Xiao-Yan¹, ZHAN Ning¹, GU Xiao-Wen¹

(1. Academy of Quality Inspection and Research in Heilongjiang Province, Harbin 150028, China; 2. Key Laboratory of Photochemical Biomaterials and Energy Storage Materials, Heilongjiang Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

ABSTRACT: Fluoroquinolones are widely used as effective antimicrobial agents in animal-derived products. In recent years, fluoroquinolones antibiotic residues in animal-derived product are also widely concerned due to their abuse. Therefore, the regulatory authorities have strengthened the supervision of fluoroquinolone antibiotic residues. Developing a more rapid, efficient, highly sensitive and high-throughput method for detecting fluoroquinolones antibiotic in animal-derived products has become a new requirement for testing institutions. This review summarized the recent development in sample pretreatment and determination of fluoroquinolone antibiotic residues in animal-derived products, in order to provide a reference for the quality monitoring, supervision and establishment of standard methods in animal-derived products.

KEY WORDS: animal-derived product; fluoroquinolones; residues; detection method

1 引 言

喹诺酮类药物, 特别是氟喹诺酮类抗生素的发展历

史可以追溯到很久以前超过 50 年^[1]。氟喹诺酮类药物又称吡啶酮酸类、沙星类, 属于含氟第三代氟喹诺酮类化学合成抗生素, 是常用的人工合成抗菌药, 是畜牧养殖中常用

*通讯作者: 闫蕊, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全分析检测、样品前处理研究。Email: yanrui-1981@163.com

*Corresponding author: YAN Rui, Ph.D, Senior Engineer, Key Laboratory of Photochemical Biomaterials and Energy Storage Materials, Heilongjiang Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Normal University, Harbin 150025, China. Email: yanrui-1981@163.com

到的三类药物之一。它们具有抗菌、抗支原体、抗球虫等作用。在动物养殖中,氟喹诺酮类抗生素在保证动物源性食品的供应方面发挥着巨大作用,这些药物主要用于预防和治疗畜禽及鱼类的感染性疾病,但由于知识匮乏而造成抗生素类药物过量的使用,甚至在经济利益的驱使下,导致养殖、加工贮存等过程中投入过量的抗菌药物以至于抗生素类药物残留超标^[2]。该残留通过食物链进入人体,可能导致细菌耐药性甚至中毒、过敏、“三致”(致癌、致畸、致突变)等严重伤害,给消费者带来潜在危害^[3]。它们的残留毒性和耐药性也会对食物和环境有显著影响,由于担心药物残留进入食物链并导致细菌耐药性,越来越多的国家正在为氟喹诺酮类药物设定最高残留水平(maximum residue limits, MRLs)和停用期。而我国政策启动较晚,相关监管落实不严,尽管已经发布了《兽药停药期规定》^[4]和《动物源性食品中兽药最高残留限量》等相关法规^[5],仍需要通过检测技术的不断进步和完善,来构筑监测和防控抗生素滥用的健康防线。以保证在动物源性食品进入市场前抗生素残留收到严格控制。2015年我国农业部制定了2292号公告,发布在食品动物中停止使用洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星4种兽药的决定^[6]。今年初,农业部为切实加强兽药残留监控制定发布《2019年动物及动物产品兽药残留监控计划》^[7],开展全国动物及动物产品兽药残留监控工作。在完成抽样检测任务的基础上,要求各地区进一步强化超标产品的后续处理,省级畜牧兽医行政管理部门要做好跟踪督办,样品来源所在地畜牧兽医行政管理部门接到农业农村部门、海关部门反馈的残留超标检测报告后,按《中华人民共和国动物及动物源食品中残留物质监控计划》(农牧发〔1999〕8号)启动追溯程序^[8]。

动物源性食品,是指来源于畜禽类及水产品类动物的肉、蛋、奶及其制品和副产品等。兽药残留是指动物在使用兽药(或药物添加剂)后,蓄积或者储存在动物自身细胞、组织或者器官内,或进入泌乳动物的乳中或者卵生家禽的卵中的药物圆形及其有毒理学意义的代谢物和药物杂质^[9]。根据动物源性食品基质复杂性,过滤、提纯和萃取等步骤通常作为预处理方法。此外,对于痕量的分析还需要通过预富集去除干扰组分,最后使用分析仪器进行定性和定量分析。目前有关动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素的分离和分析方法已较为成熟,近期研究主要集中在探索和发展成本低、操作便捷的分离和测定方法。

本文对近几年发表文献中报道的有关动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素的萃取和检测方法进行了归纳总结。并对相关前处理和检测技术的最新进展进行综述,比较了不同萃取、富集净化方法的优缺点。在增加了新型检测技术综述的基础上,阐述了不同方法与技术的适用范围。最后,展望了动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素前处理技术和检测方法研究的发展趋势,以期对动物源性食品质量监

测、监管以及检测标准方法制定方面提供参考。

2 样品前处理技术

常用于动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素残留的前处理方法有固相萃取法、固相微萃取、基质固相分散萃取法、QuEChERS(quick easy cheap effective rugged safe)前处理法、分子印迹聚合物法等。下面根据不同样品中的多种前处理方法进行系统的比较,从萃取溶剂、萃取方法等方面分析不同前处理方法对氟喹诺酮类抗生素残留的萃取效果。

2.1 固-液萃取法

固-液萃取,也叫浸取,用溶剂分离固体混合物中的组分,是抗生素残留分析传统的前处理方法。该法使用的萃取溶剂需要对目标化合物要有很好的溶解能力。张雪娇等^[10]直接采用了10%三氯乙酸-乙腈(20:80, V:V)作为萃取溶剂,经过重复提取、浓缩过滤后测定了动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素残留。熊春兰等^[11]采用1%乙酸乙腈溶液提取,结合高效液相色谱-串联质谱基质曲线外标法进行测定水产品中喹诺酮类等残留。其他文献^[12,13]中的方法多采用乙腈或酸化乙腈等溶剂作为萃取剂,提取样品中目标物后,使用正己烷进行脱脂,再经浓缩后含量测定。固-液萃取法的操作相对简单、省时,但是存在净化效果相对较差,基质效应影响大的因素,不能满足部分化合物定量检验的要求。而且该法对有机溶剂消耗量大,造成的污染严重,已逐渐被一些新的前处理方法所取代。

2.2 固相萃取法

固相萃取,是最常用的样品前处理方法,主要起到净化富集目标物的作用。固相萃取法的原理主要通过目标物与吸附剂之间的疏水作用、离子交换作用、物理吸附等作用力,经活化、上样、淋洗、洗脱的过程来保留或吸附目标物的。孙长华等^[14]建立高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性基质中的氟喹诺酮和四环素类抗生素残留。样品经EDTA-McIlvaine缓冲溶液提取,超低温冷冻离心脱脂,过亲水亲油平衡(hydrophile lipophile balance, HLB)净化柱,采用Agilent C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm),以0.1%甲酸-甲醇为流动相,用多离子反应监测模式进行质谱检测,基质曲线外标法定量。该方法对以上13种抗生素类化合物的线性范围为0.02~20 μg/kg,相关系数(*r*)大于0.9923;氟喹诺酮类抗生素的检出限为0.01~0.15 μg/kg,定量限为0.03~0.40 μg/kg,3个添加水平的回收率为84.1%~105.0%,相对标准偏差为1.15%~7.81%。其他研究^[15,16]同样用EDTA-McIlvaine缓冲溶液提取并选择HLB固相萃取柱作为萃取净化方法。因为样品基质的不同,方法中又增加了不同的净化措施,普遍方法采用正己烷^[17]除去脂肪,对于鸡蛋基质增加了钨酸钠-硫酸溶液去除蛋白^[18],脂肪含量高的基

质增加了超低温冷冻离心法^[14,19]。以上方法均比较简单、快速、干扰小,适合动物源性基质体系中氟喹诺酮类抗生素检测。为了增加萃取效率,Aufartová等^[20]使用微波辅助萃取与固相萃取净化预浓缩相结合,利用超高效液相色谱对5种氟喹诺酮类抗生素进行测定,方法检出限在0.1~6.0 ng/g之间。在25和250 ng/g 2种浓度下,回收率均大于90%,相对标准偏差小于8.7%。已开发的方法已成功地应用于评价在格兰卡纳利亚岛(西班牙)各商业商店购买的水产养殖场的鱼类肌肉样本中是否存在氟喹诺酮类抗生素。针对传统的固相萃取柱价格比较高,具有广谱性等因素,Xiao等^[21]合成了超交联强阴离子交换聚合物树脂,并将其作为固相萃取吸附剂用于乳制品中氟喹诺酮类化合物的萃取,并显示出相比与市场上可用的固相萃取柱更高的选择性。经验证,线性为10~2000 ng/g, $r^2 \geq 0.997$,检出限为2.8~5.1 ng/g,回收率为85.8%~17.9%,RSDs $\leq 7.1\%$ 。赵海香等^[22]采用多壁碳纳米管(multiwalled carbon nanotube, WMCNTs)固相萃取柱净化技术,结合超高效液相色谱-串联质谱法测定了猪肉和鸡肉中3种四环素和2种喹诺酮类抗生素的残留量。方法的分析时间为10 min,线性范围为5~500 $\mu\text{g/L}$ 。在加标水平分别为

50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 时,5种药物的加标回收率为76%~90%,相对标准偏差(RSD)均小于9%。

2.3 固相微萃取

固相微萃取,是20世纪90年代兴起的一项新颖的样品前处理与富集技术,属于非溶剂型选择性萃取法。其作用原理是由于目标物在基体与石英纤维固定相涂层间的非均匀相平衡从而达到分离的目的,萃取模式有直接萃取、顶空萃取和膜萃取3种基本模式。与固相萃取技术相比,具有操作方便,易于携带,费用低廉、增加了回收率等特点,也是目前样品前处理技术中应用最广泛的方法之一。

Christina等^[23]提出了一种用于筛选牛奶样品中氟喹诺酮类化合物的自动化、小型化化学发光方法如图1所示。该方法是以磁分散微固相萃取法为基础,采用化学发光法测定了多泵流动条件下氟喹诺酮类化合物的总含量。在本发明的方法中,Zr-Fe-C磁性纳米颗粒被用作一种有效的分离吸附剂,从样品基质中提取氟喹诺酮类化合物。在分析物存在下, Ce^{4+} - SO_3^{2-} - Tb^{3+} 发光体系的发光强度明显增强。氟喹诺酮类抗生素类的检测器响应在 $5 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 之间呈线性关系,检出限为 $2 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ 。

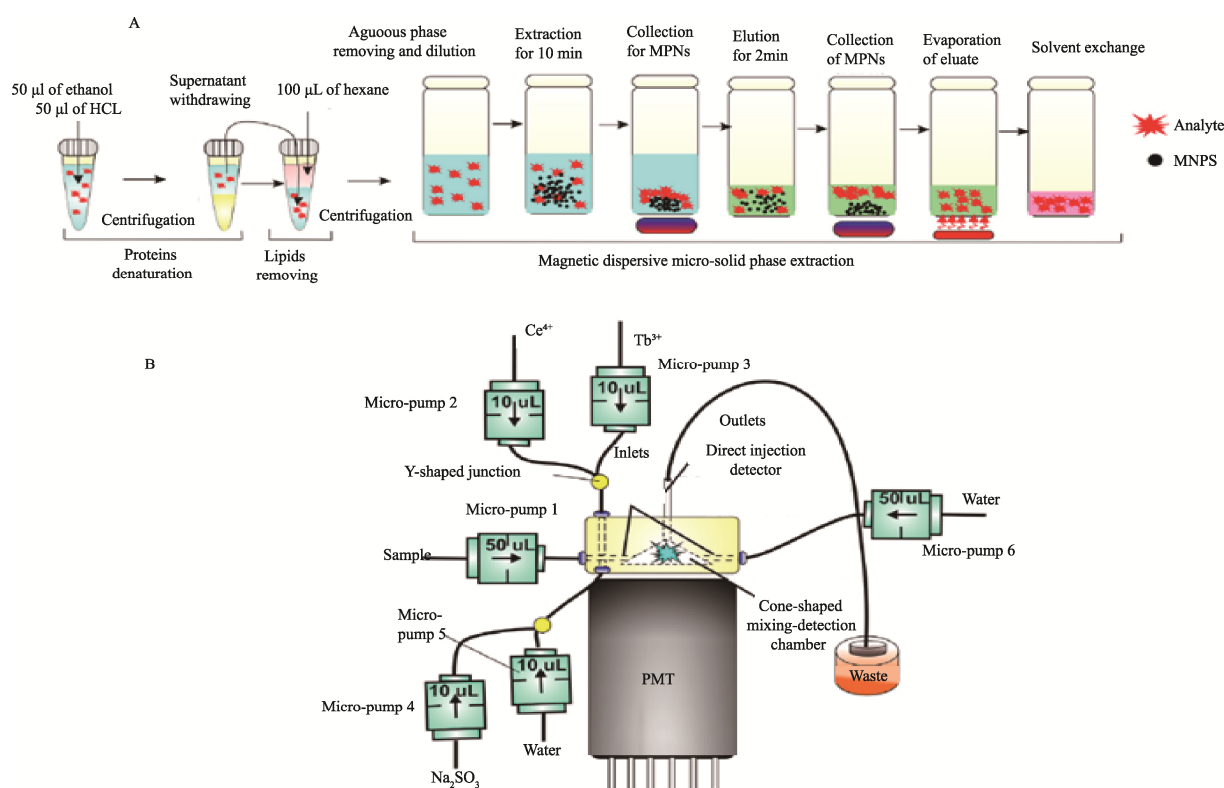


图1 测定牛奶样品中氟喹诺酮类化合物的样品制备程序示意图(A); 基于多泵流量系统对牛奶样品中氟喹诺酮类化合物的筛选(B).
Fig.1 Schematic representation of the sample preparation procedure for the determination of fluoroquinolones in milk samples (A); Manifold for the screening of fluoroquinolones in milk samples based on a multi-pumping flow system (B).

Chen 等^[24]以聚二乙烯基苯/乙二甲基丙烯酸酯为原料, 合成了一种新型的多单片光纤固相微萃取技术。研究了各工艺参数对萃取效率的影响, 对包括牛奶和蜂蜜样品在内的食品中的超痕量氟喹诺酮类化合物进行敏感检测。方法重现性的相对标准偏差(RSDs)均小于 9%。建立的方法成功地应用于牛奶和蜂蜜样品中氟喹诺酮类抗生素残留量的监测, 回收率在 74.5%~116%之间, 相对标准偏差在 0.9%~9.5%之间。与以往方法相比, 所研制的新方法具有灵敏度高、操作简便、成本效益高、有机溶剂消耗低等优点。

2.4 基质固相分散萃取

基质固相分散萃取, 其主要原理是将涂有多种聚合物的固相萃取材料与待测物一起研磨, 将半干态混合物一并将其作为填料填充柱子, 然后通过淋洗柱子, 将待测物洗脱下来。其优点是将传统的样品前处理中样品均质、组织细胞分裂、提取、净化等过程整合, 避免了样品在处理过程中的损失。He 等^[25]建立了一种基于磁性石墨烯的固相分散萃取方法并结合高效液相色谱法测定动物源性食品中的氟喹诺酮的残留量, 优化了萃取性能(磁性石墨烯用量、样品 pH 值、萃取量)时间和洗脱液, 该萃取方法具有较高的吸附能力, 在牛乳、鸡肉和鸡蛋样品中的检出限为 0.05~0.3 ng/g, 方法回收率为 82.4%~108.5%。Mariana 等^[26]提出了用电基质固相分散法萃取和净化牛乳中 7 种氟喹诺酮类抗生素的新方法。优化了洗脱液的组成、pH 值、外加电势和极性。色谱和电泳机理的结合, 使萃取和净化一步完成, 有机溶剂消耗低, 萃取量高, 洗脱自动化。

2.5 分散液液微萃取

Moema 等^[27]采用分散液-液微萃取作为样品前处理, 建立了从鸡肝样品中提取 6 种氟喹诺酮类化合物的方法。优化了分散剂的种类和体积、萃取溶剂、分散剂中磷酸的浓度、组成及 pH 值等参数, 方法线性为 30~500 g/kg, 相关系数小于 0.9974。检出限为 5~19 g/kg。Xu 等^[28]采用表面活性剂共萃取技术首次报道了以六氟异丙醇为团聚诱导剂, 基于水溶液体系的凝聚和相分离技术, 对牛奶中氟喹诺酮类抗生素进行检测。方法检出限为 0.3~1.4 ng/mL。回收率为 87.8%~109.0%, 相对标准偏差为 5.8%~10.7%。由此可以看出, 六氟异丙醇诱导的月桂酸和十二烷基三甲基氢氧化铵无盐表面活性剂体系具有很广阔的应用前景。

2.6 QuEChERS 前处理方法

QuEChERS 是目前被普遍采用的, 适用于多种兽药残留分析的前处理方法。其原理是利用吸附剂填料与基质中杂质的相互作用, 吸附杂质从而达到净化待测物的目的。QuEChERS 方法更加适合于一些对 pH 值较为敏感的兽药。QuEChERS 方法具有回收率高、精确度和准确度高、可分析的兽药种类范围广、分析速度快、溶剂使用量少, 污染

小、操作简便、装置简单等特点。方从容等^[29]采用冷冻脂质过滤, 结合分散固相萃取净化的 QuEChERS 方法, 建立了超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中喹诺酮类抗生素残留的检测方法。用 70%(V:V) 乙腈-水溶液(含 0.1 mol/L EDTA)提取后, 提取液在-20 °C 冷冻处理 2 h, 再经混合净化剂(50 mg PSA+50 mg C₁₈+250 mg Na₂SO₄)净化, 以超高效液相色谱-串联质谱法测定, 外标法定量。定量限范围为 2.0~60 µg/kg, 回收率在 60.4%~119.3%之间, 相对标准偏差在 0.3%~16.1%之间。张科明等^[30]采用改进的 QuEChERS 方法提取和净化猪肉样品, 建立了同时测定喹诺酮类等 35 种兽药残留的液相色谱-串联质谱检测方法。35 种兽药在 1.0~50.0 µg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.996。在 3 个不同添加水平下的平均回收率为 71.8%~113.5%, 相对标准偏差为 0.6%~9.8%(n=6), 检出限和定量限分别为 0.01~1.01 µg/L 和 0.04~3.37 µg/L。

2.7 超临界流体萃取法

超临界流体萃取是近代化工分离中出现的一种高新技术, 在兽药残留的提取中具有样品前处理简单、萃取时间短、提取效率高、结果准确度高、重现性好等优点。

申京宇等^[31]建立了一种超临界流体萃取-高效液相色谱同时检测鸡肉中 4 种氟喹诺酮类抗生素残留的方法。萃取的适宜条件是温度 80 °C, 系统压力为 100 kg/cm², 总流速为 3 mL/min, 萃取时间为 30 min, 夹带剂甲醇的比率为 30%。线性范围为 2.5~50 µg/L, 相关系数小于 0.9996, 其最低检出限为 10~25 µg/kg。在 25~250 µg/kg 浓度范围内, 平均加标回收率为 56.6%~94.2%, 相对标准偏差在 1.4%~14.1%范围。

2.8 分子印迹法

分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)是模板分子、功能单体和交联剂在致孔剂溶液中通过共聚合作用形成的具有一定刚性的高分子聚合物^[32]。MIPs 对目标物的识别具有选择性、预定性和重复利用性, 因此分子印迹技术与其他技术相结合形成更快速更便捷的检测方法, 也是今后的发展方向。现被广泛应用于手性分离和底物选择性分离、抗体仿生、固相萃取、传感器等领域。目前, 很多研究将氟喹诺酮类化合物作为分子印迹技术研究的目标化合物, 也是因为氟喹诺酮类化合物含有氢键, 易于功能单体结合形成印迹聚合物。马俊琴等^[33]建立一种分子印迹介孔硅胶材料的制备方法, 并用于鲑鱼中氟喹诺酮类药物残留的选择性富集。采用分子印迹技术和共缩聚法合成了苯基和氨基功能化的新型分子印迹杂化介孔硅胶材料。在最佳条件下, 采用固相萃取-高效液相色谱法测定鲑鱼中氧氟沙星、洛美沙星和沙拉沙星 3 种氟喹诺酮类药物残留。在最佳固相萃取条件下, 获得了较高的富集倍数(8.56)。在鱼样中, 3 个添加水平的方法回收率为 79.2%~95.2%, 相对标准

偏差为 2.2%~4.9%，方法检出限和定量限分别为 6.82~14.45 g/kg 和 22.73~48.45 g/kg。该样品处理方法选择性好、简单、快速，可用于鲑鱼中氟喹诺酮类药物残留的分离检测。

3 检测分析方法的研究进展

3.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法具有灵敏、快速、分辨率高、重复性好的特点，已被广泛应用于物质的定量定向分析。在氟喹诺酮类抗生素残留分析中，高效液相色谱法也得到了很好的应用。对于不同动物源性基质样品中的氟喹诺酮类抗生素选择相应的检测器进行检测，通过回收率，检出限和定量限等参数比较检测方法的准确度和灵敏度^[34,35]。表 1 为液相色谱法检测不同动物源性样品基质中氟喹诺酮类抗生素残留的比较，从表 1 中可以看出，应用高效液相色谱法可以获得很好的样品的回收率、检出限、定量限，说明的该检测方法均适合动物源性机制中氟喹诺酮类抗生素的检测。

3.2 液相色谱-串联质谱法

液相色谱-串联质谱法是以液相色谱为分离系统，质谱作为检测系统，经纯化后的样品在液相色谱的质谱部分经过分离和离子化，经由检测器得到质谱图^[47]。因为结合了色谱和质谱的优点，对复杂样品具有高分离能力、高选择性、高灵敏度以及能够提供相对分子量和结构信息的优点，因此液相色谱-串联质谱法成为当前兽药残留等痕量分析的重要手段。表 2 为液相色谱-串联质谱法检测不同动物源性基质中氟喹诺酮类抗生素类残留的比较，从表中可以看出，液相部分流动相的选择多用到甲酸等有机挥发性酸，这是因为氟喹诺酮类抗生素容易多带羟基，容易生成正离子，流动相中加入甲酸、乙酸等，可提高离子化效率。选择合适的酸及添加量可以保证色谱的分离情况以及样品的稳定性。质谱可提供相对分子质量和大量碎片结构信息，除保留时间可以定性外，还可以根据每个保留时间下所对应的质谱图进行定性，定性功能更强大。

表 1 不同动物源性基质中氟喹诺酮类抗生素类残留的高效液相色谱法比较
Table 1 Comparison of HPLC methods for detection of fluoroquinolones residues in different animal-derived matrices

样品	流动相	色谱柱	LOD /(μg/kg)	LOQ /(μg/kg)	回收率/%	检测方法
禽类、畜类	0.1%甲酸-乙腈	Zorbax SB-C ₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm)	2.9~3.5	9.5~11.6	87.9~105.3	HPLC - DAC 徐耐力等 ^[36]
禽类、蛋	0.05 mol/L 磷酸-乙腈(82:18, V:V)	Waters Semmetry C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	0.11~0.5	3.3~17.1	88.7~100.3	HPLC - FLD 胡永萍等 ^[37]
蛋	硫酸/三乙胺(pH 为 2.4)-乙腈(79:21, V:V)	WondaSil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	2~10	—	83.2~97.3	HPLC - FLD 陈小红等 ^[38]
蛋	0.05 mol/L 磷酸(pH 为 2.4)- 乙腈(82:18, V:V)	Purospher STAR LP RP C ₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	0.1~1.08	—	91.5~98.3	HPLC - FLD 刘亚梅等 ^[39]
奶	含 0.1%甲酸的 20 mmol/L 甲酸铵-乙腈	Waters X BridgeTM-C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	0.97~3.9	5.8~19.6	97~100	HPLC - FLD 杨勇等 ^[40]
畜类、禽类、蛋	0.05 mol/L 磷酸三乙胺 (pH 2.4)-乙腈(82:18, V:V)	Hypersil-ODS C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	1.3~1.5	—	> 90	HPLC 池永红等 ^[41]
蛋	0.5%甲酸-乙腈(90:10, V:V)	XBridge Shield RP C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	0.2~1	1~5	80.5~101	HPLC - FLD 程勇翔等 ^[42]
鱼类、虾类	0.1%甲酸-乙腈(87.5:12.5, V:V)	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	5	—	82~106	UPLC - FLD 方益等 ^[43]
禽类	0.1%甲酸-乙腈(86:14, V:V)	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	3	10	67.6~97.1	UPLC - FLD 杨卫军等 ^[44]
蛋	0.1%甲酸-乙腈(82:18, V:V)	Agilent Eclipse Plus C ₁₈ RRHD 柱 (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm)	—	—	73.4~99.1	UPLC - FLD 侯耀杰 ^[45]
蛋	0.05 mol/L 磷酸/三乙胺-乙腈(89:11, V:V)	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	0.02	—	70~100	UPLC 赵芳等 ^[46,47]

表 2 不同动物源性基质中氟喹诺酮类抗生素类残留的液相色谱串联质谱的比较
Tab 2 Comparison of LC-MS/MS methods for detection of fluoroquinolones residues in different animal-derived matrices

样品	流动相	色谱柱	回收率/%	LOD /(μg/kg)	LOQ /(μg/kg)	检测方法
畜类、禽类、鱼	0.1%甲酸-乙腈	C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)	79~115	5	10	LC-MS/MS Barreto ^[48]
畜类	0.1%甲酸-乙腈	Hypersil GOLD 柱 (50 mm×2.1 mm, 1.9 μm)	88~101	10	—	倪永付等 ^[49]
蛋	0.1%甲酸-甲醇	Shim-pack XR-ODS 柱 (75 mm×3.0 mm)	73.5~92.9	0.07~1.05	0.22~3.51	HPLC-MS/MS 李婧妍等 ^[50]
蛋	0.1%甲酸-乙腈	C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)	76.6~102	0.5	1	HPLC-MS/MS 王威利等 ^[51]
禽类、蛋	0.1%甲酸-甲醇	Hypersil Gold C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)	70~100	0.5	—	UPLC-MS/MS 门婷婷等 ^[52]
禽类	0.1%甲酸-乙腈	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	79.2~108.6	0.2~1.4	—	UPLC-MS/MS 郭伟等 ^[53]
奶	0.1%甲酸-0.1%甲酸甲 醇	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	69~92	0.05~3.3	0.5~13.0	UPLC-MS/MS 孟哲等 ^[54]
禽类	0.1%甲酸-乙腈	ACQUITY UPLCTM BEH C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	65.8~112	0.08	0.25	UPLC-MS/MS 杨艳菲等 ^[55]
畜类	0.1%甲酸-乙腈	BEH C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	74.9~112	0.5	—	UPLC-MS/MS 刘冬虹等 ^[56]
禽类	0.1%甲酸-乙腈	Thermo Hypersil Gold C ₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)	70~120	0.2	0.8	UPLC-MS/MS 张颖颖等 ^[57]
奶	0.1%甲酸-0.1%甲酸甲 醇	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ 柱 (50 mm×3.0 mm, 1.7 μm)	77~109	—	—	UPLC-MS/MS Mariana 等 ^[58]

当前, 色谱和串联质谱检测氟喹诺酮类抗生素已经成为常用的方式。选用荧光检测器, 也是基于氟喹诺酮类抗生素具有很好的荧光相应。随着仪器更新, 超高效液相色谱的推广也使得分析过程效率更高、流动相消耗更少、灵敏度更高, 更加适合批量样品分析。但是由于动物源性基质样品中可能含有一些内源性荧光物质, 从而会对目标物分析造成干扰, 所以液相色谱-串联质谱法应用已成为趋势, 尤其是串联质谱可以消除基质干扰, 解决目标物的定性和定量问题, 使检测结果更为准确可靠。

3.3 液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法

飞行时间质谱法具有质谱扫描速度快、高质量准确度、高质量分辨率等特点, 同时还能获得化合物特征碎片离子的精确质量信息, 并通过软件分析出未知化合物可能的分子结构, 可以快速地筛查和鉴定目标物和未知物。孟哲等^[59]利用超高效液相色谱-高分辨四极杆飞行时间质谱, 建立了一种快速筛查乳制品中 8 种氟喹诺酮 5 种磺胺类药物及其 4 种乙酰化代谢物的新方法。采用乙腈-20%三氯乙酸溶液(100:1, V:V, pH 2.0)作溶剂和 Oasis HLB 固相萃取载体作吸附剂, 实现了牛奶样品中 17 种目标物的同时提取

和有效净化。郝杰等^[60]利用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱仪建立了猪肉中喹诺酮等 4 类 29 种抗菌类药物残留的筛查数据库, 并结合快速高通量的前处理方法实现了猪肉中抗菌类药物的快速筛查测定。章红等^[61]以 QuEChERS 做为样品预处理方法、采用四极杆飞行时间高分辨质谱为检测手段, 对典型水产品中的 15 种喹诺酮类药物残留的进行快速筛查。样品采取 5%甲酸乙腈提取, PSA 和 C₁₈ 净化, 飞行时间质谱正离子模式扫描定量, 自建数据库定性。由此可见, 飞行时间质谱会逐渐成为氟喹诺酮类抗生素快速筛查测定的可靠方法。

3.4 免疫学方法

3.4.1 电化学传感器

在分析方法中, 电化学技术因其成本较低、响应速度快、仪器简单、灵敏度高、易于小型化、功耗低等优点而受到越来越多的关注。电化学传感器原理是免疫竞争模式, 是基于抗体对抗原和标记抗原或包衣抗原的特异性竞争识别效果, 是一种典型的对小分子物质有效的检测方法。免疫竞争模式为定量测定提供了一种灵敏、特异、鲁棒的方法。Chen 等^[62]研制了一种基于 CdSe 量子点的竞争性电化

学发光免疫传感器,用于恩诺沙星的检测。抗原和分析物可以通过金-氮键与抗体连接。被分析物浓度与响应强度之间成反比,响应强度与被分析物浓度在 0.001~20 ng/mL 范围内呈线性关系,检出限为 0.33 pg/mL。Liu 等^[63]报道了一种灵敏的电化学免疫传感器动物源性食品中诺氟沙星含量测定。标记的抗原,作为免疫传感器中的信号标签。方法最低检出限 0.3837 g/L,实际样品回收率为 91.6%~106.1%,为诺氟沙星的合理使用提供了依据动物源性食品中检测灵敏度高、准确度高、稳定性好。Si 等^[64]提出了一种基于电化学技术制备电沉积石墨烯(GR)和氧化锌(ZnO)纳米复合修饰电极(ZnO/GR/GCE)的简便、新颖的氧氟沙星测定方法。通过电流强度与氧氟沙星浓度成正比的关系,确定线性范围为 1~100 $\mu\text{mol/L}$,方法检测极限为 0.33 $\mu\text{mol/L}$ ($S/N=3$)。

3.4.2 免疫传感器

广义上说,免疫传感器利用免疫检测目标物与所捕获的生物标志物浓度相关的光学或电化学信号之间的响应进行检测的。然后,免疫传感器必须具备有效捕获目标抗原并将此信息作为可检测信号有效传递的能力。通常抗体被固定于检测器表面,抗体的类型有多克隆、单克隆等方式。目前,抗体作为生物传感器的主要受体已经在分析领域得到广泛应用,特别是动物源性制品中抗生素残留检测。Pan 等^[65]研制了一种可重复和无标签表面等离子体的开发共振免疫传感器,在动物源性食品中恩诺沙星检测中的得到了很好的应用。每个传感器分析芯片至少可重复使用 100 次,稳定性良好,分析周期较短,方法回收率 84.3~96.6%,相对标准偏差 1.8%~4.6%。Daniel 等^[66]首次建立了安培磁免疫传感器,对牛奶样品中氟喹诺酮类抗生素残留进行了检测。该方法利用氟喹诺酮抗体与生物磁珠结合,采用半抗原化酶和磁性石墨-环氧复合材料作为电极,通过免疫化学反应特异性酶示踪剂,无需样品清理或萃取的步骤,直接对样品进行检测,检出限为 0.74 $\mu\text{g/L}$,定量限为 0.009 $\mu\text{g/L}$ 。Tittlemie 等^[67]针对诺氟沙星制备兔多克隆抗体,通过直接竞争酶联免疫吸附试验对氟喹诺酮类抗生素残留进行了检测,该方法采用简单乙醇/乙酸溶剂萃取,检出限介于 1.0~17 ng/g。Mi 等^[68]在单克隆抗体上合成几种荧光示踪剂,对牛奶和鸡肉样品中氟喹诺酮类抗生素残留进行了分析,该方法加标回收率达 77.8%~116%,相对标准偏差低于 17.4%,该方法可用于食品样品中多种氟喹诺酮类抗生素残留的常规筛选分析。Zeng 等^[69]应用化学发光免疫测定法对牛奶样品中氟喹诺酮类抗生素残留进行检测,回收率达到 84.6%~106.9%,检出限为 0.10~33.83 ng/mL。Chen 等^[70]开发了一种新的基于近红外荧光的多重侧流式免疫检测方法,可以同时检测牛奶中喹诺酮类等其他抗生素残留进行检测,喹诺酮类药物的检出限为 0.08~2.0 ng/mL,回收率介于 93.7%~108.2%之间,相关系数小于 16.3%。说

明单克隆抗体技术作为氟喹诺酮类抗生素的快速筛选工具是有效的,可行的方法。

3.4.3 细胞传感器

细胞传感器以活细胞作为分子识别元件。在目标分析物存在的情况下,诱导基因被激活报道基因对其表达或抑制,这一过程可转化为光信号被测量,基于光学检测的微生物细胞传感器可同时多种分析物进行检测^[71,72],这也是一种利用 DNA 重组技术构建的微生物细胞用于抗生素残留检测的新型传感器^[73]。Cheng 等^[74]构建了一个转基因菌株 pK12,其含有质粒 prec Alux3,该传感器对 11 种氟喹诺酮类抗生素均有很好响应强度,适用于多种动物源性样品的检测。

3.4.4 分子印迹聚合物传感器

分子印迹聚合物传感器是以一些天然化合物或合成化合物模拟的生物体系作为分子识别元件,与近年来研究较热的生物敏感材料相比,分子印迹聚合物敏感材料具有耐高温、高压、酸、碱和有机溶剂,不易被降解破坏,可重复使用,易于保存等优点^[75]。Zdunek 等^[76]制备了一种基于表面印迹纳米丝的光学传感器。该传感器将多孔氧化铝纳米丝作为功能单体,以恩诺沙星为印迹分子,在纳米丝与目标化合物加入到缓冲溶液中后再加入 Eu^{3+} 溶液形成 Eu^{3+} -恩诺沙星复合物,根据稀土离子的发光特性对恩诺沙星进行检测,检出限可达 0.58 $\mu\text{mol/L}$ 。Luo 等^[77]将纳米分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)作为分子识别元件,开发了表面等离子体共振传感器,该传感器对环丙沙星具有高选择性、高灵敏度和良好的稳定性。

针对目前的研究现状,在实际的氟喹诺酮类抗生素的检测应用中,还要对灵敏度,稳定性,选择性等因素进行改进。因此,开发成本更低、选择性更好、灵敏度和稳定性更高的传感器并建立相应的检测方法依旧是今后研究的重点。

3.5 荧光免疫测定法

Xia 等^[78]建立了一种铝敏化分光光度法与盐析辅助液-液相结合的方法测定牛奶中 4 种氟喹诺酮类药物,分析过程包括铝(Al^{3+})与氟喹诺酮络合的荧光增敏、盐析辅助液-液超声萃取、光谱荧光法。考察了盐的种类、盐的用量、pH 值、温度和相体积比等参数对萃取效果的影响。该方法的主要优点是简单、准确、绿色。该方法在分析极性分析物,特别是极性药物在各种样品基质中的应用前景广阔。

4 结论与展望

超声或微波辅助固相萃取技术分别是动物源性基质中喹诺酮类抗生素萃取和富集的最成熟可靠的前处理方法,QuEChERS 技术也渐渐成为炙手可热的前处理方法,其简化样品处理流程、提高处理效率、降低基质干扰等优点值

得大力推广; 开发更新型的高选择性、高吸附性材料使之商业化应用可以弥补常规萃取方法效率低等缺点; 液相色谱与液相色谱-串联质谱作为检测技术也是日常定性和定量分析中使用最广的, 飞行时间质谱主要体现在快速筛查等方面的应用, 在多种药物同时快速筛查方面具有极大的潜力。近年来新开发的方法有免疫分析、传感器技术和电化学分析, 其在动物源性样品中氟喹诺酮类抗生素的快速筛查和在线监测方面具有较为广泛的应用前景。快速检测也成为当前的一种趋势, 尽快地完善方法并使之应用对食品质量监测、监管以及检测标准方法制定方面 also 具有重要的作用。

参考文献

- [1] Vakh C, Alaboud M, Lebedinets S, *et al.* An automated magnetic dispersive micro-solid phase extraction in a fluidized reactor for the determination of fluoroquinolones in baby food samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1001: 59–69.
- [2] 张家禾, 孟婷, 周作红, 等. 动物性食品中氟喹诺酮类药物残留检测方法的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(5): 262–266.
Zhang JH, Meng T, Zhou ZH, *et al.* Research progress on detection method for fluoroquinolones residues in edible animal products [J]. *China Anim Husb Vet Med*, 2014, 41(5): 262–266.
- [3] 杨萍, 刘阳, 徐丹先, 等. 2016 年云南省部分地区鸡蛋中兽药及禁用药物残留监测结果分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(10): 3854–3857.
Yang P, Liu Y, Xu DX, *et al.* Analysis of monitoring results of veterinary drugs and banned drugs in eggs in some areas of Yunnan province in 2016 [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(10): 3854–3857.
- [4] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 278 号[EB/OL]. [2003-05-22]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2003/snqi/201711/t20171126_5919564.htm.
Ministry of agriculture. Announcement No. 278rd of the Ministry of agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2011-04-22]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2003/snqi/201711/t20171126_5919564.htm.
- [5] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号[EB/OL]. [2002-12-24]. http://www.moa.gov.cn/zwllm/nybz/200803/t20080304_1028649.htm.
Ministry of agriculture. Announcement No. 235th of the Ministry of agriculture of the People's Republic of China, [EB/OL]. [2002-12-24]. http://www.moa.gov.cn/zwllm/nybz/200803/t20080304_1028649.htm.
- [6] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 2292 号[EB/OL]. [2015-09-01]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2015/jiuqi/201712/t20171219_6103873.htm.
Ministry of agriculture. Announcement No. 2292th of the Ministry of agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2015-09-01]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2015/jiuqi/201712/t20171219_6103873.htm.
- [7] 农业部. 农业农村部关于印发《2019 年动物及动物产品兽药残留监控计划》的通知(农牧发[2019]13 号). [EB/OL]. [2019-04-03]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201904/t20190410_6178507.htm.
Ministry of agriculture. Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Areas on Printing and distributing and monitoring plan for veterinary drug residues in animals and animal products in 2019 (No. 13 [2019] of the Ministry of Agriculture and Animal Husbandry). [EB/OL]. [2019-04-03]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201904/t20190410_6178507.htm.
- [8] 农业部. 中华人民共和国动物及动物源食品中残留物质监控计划(农牧发[1999]8 号). [EB/OL]. [1999-05-11]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201904/t20190410_6178507.htm.
Monitoring plan for residues in animals and animal-derived foods of the People's Republic of China (No.8 [1999] of the Ministry of Agriculture and Animal Husbandry). [EB/OL]. [1999-05-11]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201904/t20190410_6178507.htm.
- [9] 高洁, 苗红. 兽药残留检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(1): 12–18.
Gao J, Miao H. Recent development of analytical methods for veterinary drug residues [J]. *J Food Saf Food Qual*, 2013, 4(1): 12–18.
- [10] 张雪娇, 于雷, 陈洋, 等. UPLC-MS-MS 法测定动物源食品中 42 种兽药残留[J]. *现代畜牧兽医*, 2015, (4): 9–22.
Zhang XJ, Yu L, Chen Y, *et al.* Determination of 42 drugs residues in animal derived food by UPLC-MS/MS [J]. *Mod Anim Husb*, 2015, (4): 9–22.
- [11] 熊春兰, 郭平, 占春瑞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 8 类 38 种兽药残留[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2): 193–198.
Xiong CL, Guo P, Zhan CR, *et al.* Simultaneous determination of 8 kinds of 38 veterinary drug residues in aquatic products by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(2): 193–198.
- [12] Zhang JH, Meng T, Zhou ZH, *et al.* Research progress on detection method for fluoroquinolones residues in edible animal products [J]. *China Anim Husb Vet Med*, 2014, 41(5): 262–266.
- [13] Zhan J, Zhong YY, Yu XJ, *et al.* Multi-class method for determination of veterinary drug residues and other contaminants in infant formula by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, 138: 827–834.
- [14] 孙长华, 闫蕊, 李妍. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性基质中氟喹诺酮及四环素类抗生素残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(5): 1829–1837.
Sun CH, Yan R, Li Y. Determination of fluoroquinolones and tetracyclines antibiotics residues in animal-derived matrix by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Food Qual*, 2017, 8(5): 1829–1837.
- [15] 孟娟, 杨永红. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中 7 种四环素和 14 种喹诺酮类药物残留[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(6): 546–549.
Meng J, Yang YH. Simultaneous determination of tetracyclines and quinolones residues in milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2012, 24(6): 546–549.
- [16] 王敏娟, 胡佳薇, 田丽, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中 21 种喹诺酮及四环素类抗生素残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(4): 473–476.
Wang MJ, Hu JW, Tian L, *et al.* Simultaneous determination of quinoline and tetracycline residues in eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2017, 27(4): 473–476.
- [17] 郭黎明, 朱奎, 江海洋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肝中残留的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物[J]. *色谱*, 2009, 27(4): 412–416.

- Guo LM, Zhu K, Jiang HY, *et al.* Simultaneous determination of tetracyclines, sulfonamides and quinolones residues in chicken livers by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 27(4): 473–476.
- [18] 倪海平, 朱宝立, 朱鸿儒. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 15 种药物残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(9): 3549–3555.
- Ni HP, Zhu BL, Zhu HR. Simultaneous determination of 15 drugs residues in eggs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Food Qual*, 2017, 8(9): 3549–3555.
- [19] Jia Z, Ying YZ, Xue JR, *et al.* Multi-class method for determination of veterinary drug residues and other contaminants in infant formula by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, (138): 827–834.
- [20] Aufartová J, Brabcová I, Torres-Padrón ME, *et al.* Determination of fluoroquinolones in fishes using microwave-assisted extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography and fluorescence detection [J]. *J Food Compos Anal*, 2017, (56): 140–146.
- [21] Xiao PL, Ping H, Hong YZ, *et al.* Hypercrosslinked strong anion-exchange polymers for selective extraction of fluoroquinolones in milk samples [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, (166): 379–386.
- [22] 赵海香, 孙艳红, 丁明玉, 等. 多壁碳纳米管净化/超高效液相色谱串联质谱同时测定动物组织中四环素与喹诺酮多残留[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(6): 635–639.
- Zhao HX, Sun YH, Ding MY, *et al.* Simultaneous determination of tetracyclines and quinolones residues in animal tissue by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and multiwalled carbon nanotubes cleaning [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(6): 635–639.
- [23] Christina V, Aleksei P, Stanislawa K, *et al.* A chemiluminescence method for screening of fluoroquinolones in milk samples based on a multi-pumping flow system [J]. *Food Chem*, 2019, (270): 10–16.
- [24] Chen L, Huang X. Sensitive monitoring of fluoroquinolones in milk and honey using multiple monolithic fiber solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(45): 86–84.
- [25] He X, Wang GN, Yang K, *et al.* Wang magnetic graphene dispersive solid phase extraction combining high performance liquid chromatography for determination of fluoroquinolones in foods [J]. *Food Chem*, 2017, 221: 1226–1231.
- [26] Mariana CS, Ricardo MO, Adriana FF. Electrical field assisted matrix solid phase dispersion as a powerful tool to improve the extraction efficiency and clean-up of fluoroquinolones in bovine milk [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1461: 27–34.
- [27] Moema D, Nindi M, Dube S. Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of fluoroquinolones in chicken liver by high performance liquid chromatography [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 730: 80–86.
- [28] Xu J, Li X, Li C, *et al.* Hexafluoroisopropanol-induced salt-free cationic surfactant coacervate extraction method for determination of fluoroquinolones in milk samples [J]. *Food Chem*, 2018, 242: 122–130.
- [29] 方从容, 高洁, 王雨昕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 125 种兽药残留[J]. *色谱*, 2018, 36(11): 1119–1131.
- Fang CR, Gao J, Wang YX, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, 36(11): 1119–1131.
- [30] 张科明, 梁飞燕, 邓鸣, 等. QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法快速测定猪肉中多类兽药残留[J]. *色谱*, 2016, 34(9): 860–867.
- Zhang KM, Liang FY, Deng F, *et al.* Multi-residue determination of veterinary drugs in porcine muscle by QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2016, 34(9): 860–867.
- [31] 申京宇, 尹花仙, 沈在漠. 超临界流体萃取和高效液相色谱同时测定鸡肉中 4 种氟喹诺酮类药物残留[J]. *食品科技*, 2007, (10): 210–212.
- Shen JY, Yin HX, Shen ZH. Simultaneous determination of four fluoroquinolone residues in chicken muscle by supercritical fluid extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Food Sci Technol*, 2007, (10): 210–212.
- [32] 吴世康, 汪鹏飞. 分子印迹学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- Wu SK, Wang PF. Molecular imprinting [M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [33] 马俊琴, 于小慧, 贾翠玲, 等. 分子印迹杂化介孔硅胶材料的制备及固相萃取-高效液相色谱法测定鳕鱼中氟喹诺酮类兽药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(3): 540–546.
- Ma JQ, Yu XH, Jia CL, *et al.* Preparation of molecularly imprinted hybrid mesoporous silica materials for determination of fluoroquinolone veterinary drug residues in codfish by solid-phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Food Qual*, 2018, 9(3): 540–546.
- [34] Sun P, Qiao S, Guo XJ, *et al.* Determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in liquid milk by ionic liquid-based dispersive liquid-phase microextraction coupled with HPLC [J]. *J Pharm Anal*, 2017, 37(1): 111–116.
- [35] Vardali SC, Samanidou VF, Kotzamanis YP. Rapid confirmatory method for the determination of danofloxacin and n-desmethyl danofloxacin in European seabass by UPLC-PDA [J]. *Curr Anal Chem*, 2018, 14(7): 68–74.
- [36] 徐耐力, 裴稳, 张凯丽, 等. 基于离子液体的基质固相分散萃取高效液相色谱法测定肌肉组织中的氟喹诺酮类抗生素[J]. *食品科学*, 2016, 38(16): 210–215.
- Xu WL, Nie W, Zhang KL, *et al.* Determination of fluoroquinolones in muscle samples by ionic liquid-based matrix solid phase dispersion extraction coupled with high-performance liquid chromatography [J]. *Food Sci*, 2016, 38(16): 210–215.
- [37] 胡永萍, 徐克功, 余舒宁, 等. 高效液相色谱荧光法测定鸡肉及鸡蛋中 4 种喹诺酮类药物残留量的研究[J]. *畜牧与兽医*, 2017, 49(11): 47–51.
- Hu YP, Xu KG, Yu SN, *et al.* Determination of four kinds of fluoroquinolone residues in the chicken or egg by high performance liquid chromatography with fluorescence [J]. *Anim Husb Vet Med*, 2017, 49(11): 47–51.
- [38] 陈小红, 张顺喜, 李少杰. 液相色谱法检测鸡蛋中四种氟喹诺酮类药物残留前处理方法探讨[J]. *畜禽业*, 2017, (10): 19–20.
- Chen XH, Zhang SX, Li SJ. Pretreatment of four Fluoroquinolones Residues in eggs by liquid chromatography [J]. *Livest Poult Ind*, 2017, (10): 19–20.
- [39] 刘亚梅, 闵盛. 高效液相色谱法同时测定禽蛋中环丙沙星、达氟沙星和

- 恩诺沙星的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2016, 152(3): 305–307.
- Liu Y M, Min S. Simultaneous determination of the residues of ciprofloxacin, danofloxacin and enrofloxacin in eggs by HPLC [J]. *Phys Test Chem Anal B*, 2016, 152(3): 305–307.
- [40] 杨勇, 罗奕, 苏菊, 等. 高效液相色谱荧光检测器测定氟喹诺酮类药物残留方法的建立[J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(2): 176–181.
- Yang Y, Luo Y, Su J, *et al.* A method for determination of fluoroquinolone residues by HPLC with fluorescence detector [J]. *J Agric Sci Technol*, 2016, 18(2): 176–181.
- [41] 池永红, 云雅光. SPE-HPLC 检测动物源性食品中 3 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(20): 152–155.
- Chi YH, Yun YG. Determination of three fluoroquinolones in animal-derived food by combining SPE with HPLC [J]. *Food Res Dev*, 2015, 36(20): 152–155.
- [42] 程勇翔, 夏曦, 张鹏春, 等. 环境友好的 HPLC 方法检测鸡蛋中 6 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(4): 109–119.
- Chen YX, Xia X, Zhang PC, *et al.* Development of environment-friendly HPLC method for simultaneous determination of six fluoroquinolones in eggs [J]. *J China Agric Univ*, 2017, 22(4): 109–119.
- [43] 方益, 严忠雍, 喻亮, 等. 水产品中氟喹诺酮类药物残留的测定[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(28): 92–93.
- Fang Y, Yan ZY, Yu L, *et al.* Determination of quinolones residues in aquatic products [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2016, 44(28): 92–93.
- [44] 杨卫军, 李曼, 曹秀梅, 等. 超高效液相色谱法检测鸡肉中氟喹诺酮类药物残留[J]. 现代畜牧兽医学, 2016, (4): 8–12.
- Yang WJ, Li M, Cao XM, *et al.* Discussion on determination of fluoroquinolones residues in chicken by ultra-performance liquid chromatography [J]. *Mod J Anim Husb Vet Med*, 2016, (4): 8–12.
- [45] 侯耀杰. 超高效液相色谱法检测鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留[J]. 家禽科学, 2018, (1): 11–13.
- Hou YJ. The determination of fluoroquinolones residues in egg by ultra performance liquid chromatography method [J]. *Poult Sci*, 2018, (1): 11–13.
- [46] 赵芳, 李研东, 霍惠玲. UPLC 法测定鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留[J]. 今日畜牧兽医, 2017, (6): 9–10.
- Zhao F, Li YD, Huo HL. Determination of fluoroquinolone residues in eggs by UPLC [J]. *Today Anim Husb Vet Med*, 2017, (6): 9–10.
- [47] 郭亚文, 卜晓娜, 刘楚君, 等. 动物源性食品中氟喹诺酮类药物残留色谱质谱检测技术研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(1): 64–76.
- Guo YW, Bu XN, Liu CJ, *et al.* Research status on chromatographic and mass spectrometry analytical methods for the detection of fluoroquinolones residues in animal food [J]. *Chin J Vet Drugs*, 2019, 53(1): 64–76.
- [48] Barreto F, Ribeiro CBD, Hoff R, *et al.* Development and validation of a high-throughput method for determination of nine fluoroquinolones residues in muscle of different animal species by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with low temperature clean up [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1521: 131–139.
- [49] 倪永付, 朱莉萍, 王勇, 等. 微波辅助萃取-液相色谱-串联质谱法检测猪肉中四种氟喹诺酮类药物残留[J]. 肉类工业, 2012, (9): 42–44.
- Ni YF, Zhu LP, Wang Y, *et al.* Determination of four fluoroquinolones residues in pork by LC-MS/MS using microwave-assisted extraction [J]. *Meat Ind*, 2012, (9): 42–44.
- [50] 李婧妍, 郭春锋, 崔立辉, 等. 分散固相萃取法结合高效液相色谱-串联质谱法测定禽蛋中喹诺酮类兽药残留量[J]. 中国家禽, 2016, 38(14): 31–35.
- Li J Y, Guo CF, Cui LH, *et al.* Determination of quinolones residues in eggs with dispersive solid phase extraction and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *China Poult*, 2016, 38(14): 31–35.
- [51] 王威利, 吴维辉, 何绮霞, 等. 高效液相-串联质谱法同时检测鸡蛋中金刚烷胺与四种氟喹诺酮类药物残留的研究[J]. 中国家禽, 2016, 38(2): 29–32.
- Wang WL, Wu WY, He QX, *et al.* Simultaneous determination of amantadine and four kinds of quinolones in eggs by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *China Poult*, 2016, 38(2): 29–32.
- [52] 门婷婷, 刘晨, 刘珂飞. UPLC-MS/MS 法测定鸡蛋、鸡肉中 4 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 天津农业科学, 2017, 23(6): 34–36.
- Men TT, Liu C, Liu KF. UPLC-MS/MS method for determination of four fluoroquinolones drug residues in eggs and chicken [J]. *Tianjin Agric Sci*, 2017, 23(6): 34–36.
- [53] 郭伟, 刘永, 刘宁, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时分析鸡肉中 7 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 色谱, 2009, 27(4): 406–411.
- Guo W, Liu Y, Liu N, *et al.* Simultaneous analysis of 7 fluoroquinolone residues in chicken muscle by ultra-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2009, 27(4): 406–411.
- [54] 孟哲, 石志红, 石运开, 等. 超高效液相色谱-高分辨四极杆飞行时间质谱法快速筛查乳制品中磺胺类与氟喹诺酮类药物[J]. 分析化学, 2014, 42(10): 1493–1500.
- Meng Z, Shi ZH, Shi YK, *et al.* Rapid screening of fluoroquinolones and sulfonamides in dairy products using ultra performance liquid chromatography coupled to high-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42(10): 1493–1500.
- [55] 杨艳菲, 曹旭敏, 李雪莲, 等. 分子印迹固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中 9 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 色谱, 2016, 34(11): 1063–1069.
- Yang YF, Cao XM, Li XL, *et al.* Determination of nine fluoroquinolone residues in chicken by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with molecularly imprinted solid phase extraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2016, 34(11): 1063–1069.
- [56] 刘冬虹, 吴玉鑫, 王斌, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱测定肉制品中 5 类药物残留[J]. 现代食品科技, 2016, 32(10): 290–296.
- Liu DH, Wu YL, Wang B, *et al.* Analysis of five types of veterinary drug residues in meat products by dispersive solid phase extraction-UPLC-MS/MS [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2016, 32(10): 290–296.
- [57] 张颖颖, 李莹莹. 超高效液相色谱-串联质谱测定猪肉中 16 种喹诺酮类药物残留量[J]. 肉类研究, 2016, 35(5): 36–41.
- Zhang YY, Li YY. Determination of sixteen quinolones residues in pork by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Meat Res*, 2016, 35(5): 36–41.
- [58] Marilena E, Dasenaki, Nikolaos S, *et al.* Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography-tandem mass

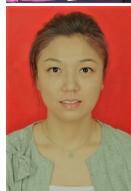
- spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 880: 103–121.
- [59] 孟哲, 石志红, 吕运开, 等. 超高效液相色谱-高分辨四极杆飞行时间质谱法快速筛查乳制品中磺胺类与氟喹诺酮类药物[J]. *分析化学*, 2014, 42(10): 1493–1500.
- Meng Z, Shi ZH, Lv YK, *et al.* Rapid screening of fluoroquinolones and sulfonamides in dairy products using ultra performance liquid chromatography coupled to high resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42(10): 1493–1500.
- [60] 郝杰, 姜洁, 邵瑞婷, 等. 冯楠超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱快速筛查猪肉中 29 种抗菌药物的残留[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(10): 293–304.
- Hao J, Jiang J, Shao RT, *et al.* Rapid screening of 29 kinds of antibacterial drugs in pork by UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 37(10): 293–304.
- [61] 章红, 易路遥, 熊雯, 等. QuEChERS-四极杆飞行时间高分辨质谱法快速筛查典型水产品中的喹诺酮类药物残留[J]. *农产品质量与安全*, 2017, (4): 70–74.
- Zhang H, Yi LY, Xiong W, *et al.* Rapid screening residue of quinolones in aquatic products by QuEChERS-quadrupole flight time tandem mass spectrometry [J]. *Qual Saf Agric*, 2017, (4): 70–74.
- [62] Chen WL, Zhou R, Yao X, *et al.* Sensitive detection of enrofloxacin using an electrochemiluminescence immunosensor based on gold-functionalized C60 and Au@BSA nanoflowers [J]. *New J Chem*, 2018, (42): 14142–14148.
- [63] Liu B, Li M, Zhao YS, *et al.* A Sensitive electrochemical immunosensor based on pamam dendrimer-encapsulated au for detection of norfloxacin in animal-derived [J]. *Foods Sens*, 2018, 18: 1946–1957.
- [64] Si XJ, Wei YL, Wang CL. A sensitive electrochemical sensor for ofloxacin based on a graphene/zinc oxide composite film [J]. *Anal Methods*, 2018, (10): 1961–1967.
- [65] Pan MF, Li SJ, Wang JP, *et al.* Development and validation of a reproducible and label-free surface plasmon resonance immunosensor for enrofloxacin detection in animal-derived foods [J]. *Sens*, 2017, (17): 1984.
- [66] Daniel G, Pinacho, Francisco SB, *et al.* Electrochemical detection of fluoroquinolone antibiotics in milk using a magneto immunosensor [J]. *Sens*, 2014, 14: 15965–15980.
- [67] Tittlemie SA, Gelinas JM, Dufesne G, *et al.* Development of a direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of fluoroquinolone residues in shrimp [J]. *Food Anal Method*, 2008, 1(1): 28–35.
- [68] Mi TJ, Wang ZH, Eremin SA, *et al.* Simultaneous determination of multiple (fluoro) quinolone antibiotics in food samples by a one-step fluorescence polarization immunoassay [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(39): 9347–9355.
- [69] Zeng HP, Chen JH, Zhang CJ, *et al.* Broad specificity chemiluminescence enzyme immunoassay for (fluoro) quinolones: Hapten design and molecular modeling study of antibody recognition [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(7): 3909–3916.
- [70] Chen YP, Chen Q, Han MM, *et al.* Near-infrared fluorescence-based multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous detection of four antibiotic residue families in milk [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 79(4): 430–434.
- [71] Blanco S, Pitelli A, Blanco MS. Estimativa da área foliar de Brachiaria plantaginea usando dimenses lineares do limbo foliar [J]. *Planta Daninha*, 2005, 23(4): 597–601.
- [72] Hansen LH, Srensen SJ. The use of whole-cell biosensors to detect and quantify compounds or conditions affecting biological systems [J]. *Microb Ecol*, 2001, 42(4): 483–494.
- [73] Ting C, Cheng GY, Ahmed S, *et al.* New methodologies in screening of antibiotic residues in animal-derived foods: Biosensors [J]. *Talanta*, 2017, (175): 435–442.
- [74] Cheng GY, Dong XB, Wang YL, *et al.* Development of a novel genetically modified bioluminescent-bacteria-based assay for detection of fluoroquinolones in animal-derived foods [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(30): 7899–7910.
- [75] Bruggemann O, Haupt K, Ye L, *et al.* New configurations and applications of molecularly imprinted polymers [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 889(1/2): 15–24.
- [76] Zdunek J, Benito PE, Linares A, *et al.* Surface-imprinted nanofilaments for europium-amplified luminescent detection off luoroquinolone antibiotics [J]. *Chem Eur J*, 2013, 19(31): 10209–10216.
- [77] Luo QH, Yu N, Shi CF, *et al.* Surface plasmon resonance sensor for antibiotics detection based on photo-initiated polymerization molecularly imprinted array [J]. *Talanta*, 2016, (161): 797–803.
- [78] Xia QH, Yang YL, Liu MS. Aluminium sensitized spectrofluorimetric determination of fluoroquinolones in milk samples coupled with salting-out assisted liquid–liquid ultrasonic extraction [J]. *Spectrochim Acta A*, 2012, 96: 358–364.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



李 妍, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全分析检测。
E-mail: 48022246@qq.com



闫 蕊, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全分析检测、样品前处理研究。
E-mail: yanrui-1981@163.com