



# 高效液相色谱测定蜂蜜中10种喹诺酮类药物残留

No.LC-032

**摘要：**使用高效液相色谱检测了蜂蜜中10种喹诺酮类药物的残留。对阴性和阳性样品做了检测，发现阴性样品中含有3种药物残留分别是噁喹酮、萘啶酮和氟甲酮，阳性药品存在5种药物的残留分别是噁喹酮、萘啶酮、氟甲酮、氟哌酸和环丙沙星。

喹诺酮类药物是人工合成的含4-喹诺酮母核的抗菌药物，其对细菌的DNA螺旋酶（DNA-gyrase）具有选择性抑制作用，从而抑制细菌的DNA合成，导致DNA降解及死亡。该类物质因其抗菌谱广，抗菌活性强，不良反应少等优点，临床上得到了广泛应用。2005年，欧盟等国对蜂蜜中该物质残留提出了检测要求。2006年7月美国、日本也对蜂蜜中的该物质残留提出了每批检验的要求。2006年我国也指定了《蜂蜜中十四种喹诺酮类物质残留的测定》（GB/T 20757-2006）。

**关键词：**蜂蜜 喹诺酮 残留

## 材料与方 法

### 1. 试剂与仪器

标准品：使用加藤美蜂园制作的混标加入10mM甘氨酸盐酸（pH2.0）稀释成100倍。

试剂：乙腈，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；磷酸二氢钠，AR；磷酸，AR；十二烷基磺酸钠（SDS），AR；Tween-20，AR；甘氨酸盐酸盐，AR。所有试剂和样品需用0.45 μm以下滤膜过滤。

仪器：Shimadzu UFLC。具体配置为：输液泵LC-20AD，脱气机DGU-20A5，自动进样器SIL-20A，检测器RF-10Ax1，柱温箱CTO-20A，控制器CBM-20A，工作站LCSolution。

### 2. 色谱条件

色谱柱：Inertsil ODS-2 150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μL；流动相：含有3.5mmol十二烷基磺酸钠的0.05 mol/L磷酸缓冲液（pH2.5）与乙腈的混合液（70：30）；流速：0.5mL/min；柱温：40℃；进样量：25 μL；波长：Ex=325nm，Em=365nm（0-20min）→ Ex=278nm，Em=445nm（20-60min）；进样体积20 μL。洗脱方式：等度洗脱。

1000mL含有SDS的0.05mol/L磷酸缓冲液（pH2.5）：称量磷酸二氢钠7.8g和SDS1.005g加入1000mL水中，混合均匀后用磷酸调pH至2.5。

### 3. 实验方法

样品前处理方法由日本Sakura公司提供，具体步骤如图1所示。

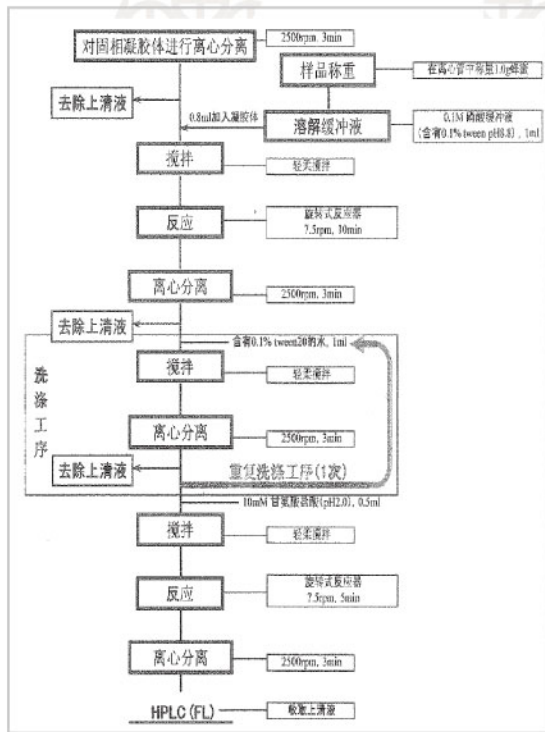


图1 前处理步骤

标准品使用加藤美峰园制作的混标加入10mM甘氨酸盐酸 (pH2.0) 稀释100倍。采用单点外标法做校准曲线。

表1. 混标中各组分的含量

No	名称	英文名称	含量 (µg/L)
1	噁喹酸	Oxolinic acide	80
2	萘啶酸	Nalidixic acid	80
3	氟甲喹	Flumequine acid	80
4	氟哌酸	Norfloxacin	20
5	环丙沙星	Ciprofloxacin	20
6	达诺沙星	Danofloxacin	10
7	恩诺沙星	Enrofloxacin	20
8	奥比沙星	Orbifloxacin	20
9	沙拉沙星	Sarafloxacin	20
10	双氟沙星	Difloxacin	20

## 结果与讨论

标准样品的色谱图见图2, 10种喹诺酮类药物均得到了较好的分离。

阴性样品的色谱图见图3, 检测到了噁喹酸、萘啶酸和氟甲喹共3种喹诺酮类药物, 含量分别是2.605 µg/L, 3.34 µg/L 3和4.114 µg/L。

阳性样品的的色谱图见图4, 检测到了5种喹诺酮类药物, 分别是噁喹酸、萘啶酸、氟甲喹、氟哌酸和环丙沙星, 其含量分别见表2。

同时对各样品做了比较, 见图5。

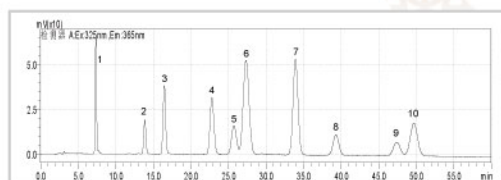


图2. 标准样品的色谱图

1-噁喹酸; 2-萘啶酸; 3-氟甲喹; 4-氟哌酸; 5-环丙沙星; 6-达诺沙星; 7-恩诺沙星; 8-奥比沙星; 9-沙拉沙星; 10-双氟沙星

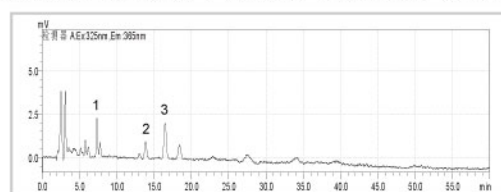


图3 阴性样品的色谱图

1-噁喹酸; 2-萘啶酸; 3-氟甲喹;

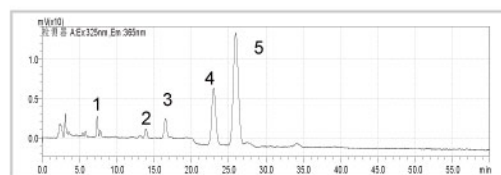


图4. 阳性样品的色谱图

1-噁喹酸; 2-萘啶酸; 3-氟甲喹; 4-氟哌酸; 5-环丙沙星

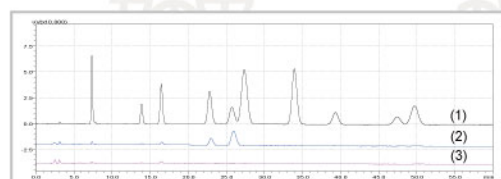


图5. 标准样品 (1), 阳性样品 (2) 和阴性样品 (3) 的对比谱图。

No	Name	RT(min)	Area (uv.S)	Concentration (µg/L)	
				Negative	Positive
1	Oxolinic acide	7.348	827742	2.605	2.934
2	Nalidixic acid	13.872	374047	3.343	4.945
3	Flumequine acid	16.466	880858	4.114	4.822
4	Norfloxacin	22.811	1156239	-	4.513
5	Ciprofloxacin	25.735	756416	-	17.292
6	Danofloxacin	27.349	2863712	-	-
7	Enrofloxacin	33.937	2459340	-	-
8	Orbifloxacin	39.294	601209	-	-
9	Sarafloxacin	47.452	490398	-	-
10	Difloxacin	49.704	1255198	-	-

## 结论

使用高效液相色谱能够对蜂蜜中10中喹诺酮类药物的残留进行有效的检测。检测方法简单, 操作方便。