



蜂蜜中喹诺酮类兽药残留的快速检测

No.LC-020

摘要： 本文介绍了一种采用包含在线前处理设计的高效液相色谱系统进行蜂蜜中9种喹诺酮类兽药残留的快速检测方法。该方法可以简化传统分析方法中的复杂的前处理过程，节省分析时间。9种喹诺酮的回收率为92 – 101%，检测限为0.22–3.78 ng/mL，线性相关系数均大于0.9997。

关键词： 喹诺酮 蜂蜜 在线前处理 超快速液相

喹诺酮类化合物是一类光谱抗生素，广泛应用于兽药领域，如猪、牛、蜜蜂等的疾病防治。由于喹诺酮对人体免疫力的影响，其在农产品里的兽药残留成为非常重要的检测项目。采用传统方法检测蜂蜜中的喹诺酮，需要复杂的前处理过程，且色谱分析周期时间较长，耗时耗力。采用在线前处理设计与岛津公司的超快速液相色谱联用，可以简化样品分析过程，节省分析时间，提高工作效率。前处理流路与分析流路通过一个六通阀连接。前处理柱采用10mm长的C18色谱柱，快速富集待分析组分，去除杂质。分析柱采用岛津快速液相色谱柱，缩短分析时间。

实验条件

分析流路色谱条件：

分析柱：shim-pack XR-ODS
2.2 μm 3.0mm I.D. x 75mm L.
流动相：A：SDS溶液(1.0 mmol/L SDS，
30 mmol/L 磷酸缓冲液，pH 2.5)
B：乙腈 A/B = 75/25
流速：1.0ml/min 柱温：40℃
检测：荧光检测器，激发325nm 发射365nm
(oxolinic acid, nalidixic acid, flumequine);
激发295nm 发射445nm
(norfloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin,
enrofloxacin, orbifloxacin, difloxacin).

前处理流路色谱条件：

前处理柱：Shim-pack G-ODS
5 μm 4.6mm I.D. x 10mm L.
样品流动相：95% 乙腈
样品流速：0.1 ml/min
稀释流动相：SDS溶液
稀释流速：1.9 ml/min
进样体积：100 μl
富集时间：2 min

样品制备：

取蜂蜜样品用SDS溶液稀释至0.1mg/mL，过滤。

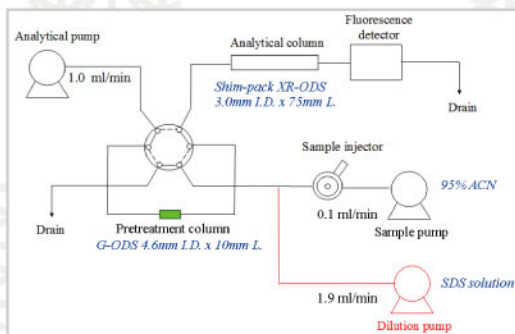


图1 在线前处理高效液相色谱系统流程图

结果与讨论

取9种喹诺酮混合标准样品，进样100 μL ，得到色谱结果如图2。校准曲线线性、检测限和回收率结果见表1。保留时间和峰面积重现性结果见表2。

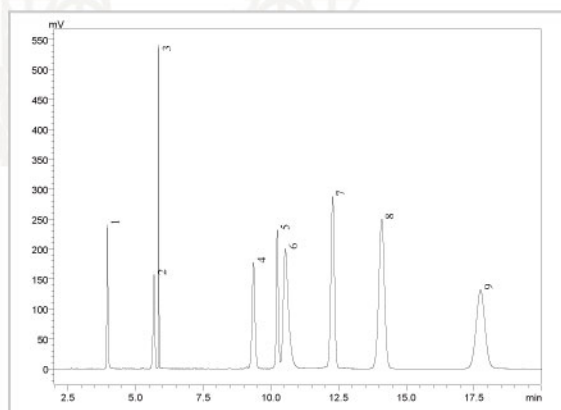


图2 9种喹诺酮标准样品色谱图

- 1 oxolinic acid 2 nalidixic acid 3 flumequine
4 norfloxacin 5 ciprofloxacin 6 danofloxacin
7 enrofloxacin 8 orbifloxacin 9 difloxacin

表1 校准曲线线性、检测限和回收率结果
(1.0–100.0 ng/mL, 进样100 μL)

化合物	相关系数 (r^2)	检测限 (ng/mL)	回收率 (%)
oxolinic acid	0.9999	0.44	94.5
nalidixic acid	0.9999	3.78	98.9
flumequine	0.9999	0.22	101.0
norfloxacin	0.9998	2.10	92.2
ciprofloxacin	0.9999	1.59	95.8
danofloxacin	0.9999	0.41	95.5
enrofloxacin	0.9999	1.73	93.1
orbifloxacin	0.9999	1.05	99.3
difloxacin	0.9999	1.91	96.7

结论

采用在线前处理设计与超快速液相色谱系统联用，进行蜂蜜中喹诺酮类兽药残留检测，可以简化前处理过程，节省分析时间，是一种可靠快速的检测方法。

表2 喹诺酮重现性 (100 ng/mL, 进样100 μL , n=5)

化合物	RSD (%)	
	保留时间	峰面积
oxolinic acid	0.128	0.254
nalidixic acid	0.125	0.316
flumequine	0.132	0.188
norfloxacin	0.083	0.665
ciprofloxacin	0.253	0.293
danofloxacin	0.143	0.539
enrofloxacin	0.094	0.877
orbifloxacin	0.129	0.465
difloxacin	0.194	0.229

取市场上销售的两种品牌的蜂蜜产品，用SDS溶液稀释10倍，过滤，进样100 μL 。结果见图3和表3。

图3 两种品牌蜂蜜产品色谱图

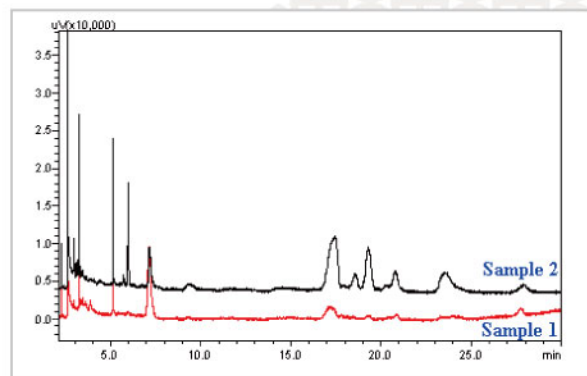


表3 两种品牌蜂蜜产品检测结果

	浓度 (ng/g)	
	Sample 1	Sample 2
norfloxacin	-	23.1 / 21.9 *