

纳米纤维固相萃取-高效液相色谱-荧光检测 麻辣烫汤液中喹诺酮类药物

邓思维¹ 邓剑军² 王婷婷² 王羽¹ 康学军*^{1,3}

¹(东南大学学习科学研究中心, 儿童发展与学习科学教育部重点实验室, 南京 210096)

²(苏州东奇生物科技有限公司, 苏州 215103)

³(东南大学苏州研究院, 苏州市环境与生物安全重点实验室, 苏州 215123)

摘要 建立了固相萃取-高效液相色谱-荧光检测麻辣烫汤液中 5 种喹诺酮类抗生素的分析方法。麻辣烫汤液样品经 EDTA-McIlvaine 缓冲溶液(pH 4) 提取后, 以 HX 固相萃取小柱净化富集, 用水淋洗, 2% 氯化甲醇洗脱。采用高效液相色谱-荧光检测器(HPLC-FLD), 于激发波长 280 nm, 发射波长 450 nm 处进行检测, 流动相为甲醇-水-磷酸(25:75:0.1, V/V, 三乙胺调至 pH 2.8)。麻辣烫汤液样品中氟罗沙星、诺氟沙星、沙拉沙星、环丙沙星、奥比沙星 5 种喹诺酮类抗生素加标回收率为 72.1% ~ 110.3%; 日内相对标准偏差(RSD) 为 1.6% ~ 4.3%, 日间相对标准偏差为 2.0% ~ 4.3%; 检出限(LOD) 为 1.2 ~ 5.4 μg/L; 定量限(LOQ) 为 3.9 ~ 18 μg/L。本方法能够满足实际麻辣烫汤液样品的分析要求。

关键词 麻辣烫汤液; 喹诺酮类抗生素; 固相萃取; 高效液相色谱; 荧光检测

1 引言

喹诺酮类(4-Quinolones), 又称吡酮酸类或吡啶酮酸类, 是一类人工合成的含 4-喹诺酮基本结构抗菌药, 被广泛应用于畜牧养殖业, 主要用于治疗疾病, 促进生长。然而, 近年来畜牧业滥用抗生素现象十分严重^[1], 此类药物不仅残存在动物体内, 逐渐增强细菌的耐药性, 还会通过食物链的富集作用进入人体内, 危害人体健康, 损害消化系统、神经系统、免疫等系统^[2]。

目前, 对生物样品中喹诺酮类抗生素残留的分析方法研究较多^[3-9], 还有水、土壤、肥料等环境样品检测也有报道^[10-13], 主要采用 C₁₈ 柱、HLB 柱固相萃取及液液萃取等前处理方法。在卫生部已发布的被滥用食品添加剂及非法添加物名单中包括喹诺酮类抗生素。麻辣烫原材料可能含有喹诺酮, 不法商家为了防止顾客食用卫生不合格的麻辣烫后可能发生疾病, 人为添加的喹诺酮。由于麻辣烫的原材料经烹煮之后汤液的基质成分复杂、油脂含量高, 目前尚没有合适的检测方法来进行检测, 因此也没有国家标准来对此类食品安全进行监督。国内虽有报道火锅底料中的喹诺酮的检测^[14], 但仅对其中各种食材进行检测, 对其中的药物残留的分析方法尚未见报道。

为了克服复杂基质对目标物检测的干扰, 本研究采用新型纳米纤维固相萃取技术, 结合高效液相色谱法, 直接对麻辣烫汤液中 5 种喹诺酮类药物, 包括氟罗沙星(Fleroxacin, FLX)、诺氟沙星(Norfloxacin, NOR)、沙拉沙星(Sarafloxacin, SAR)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP) 和奥比沙星(Orbifloxacin, ORB) 进行检测。纳米纤维固相萃取技术是本研究组建立的一种快速样品前处理方法, 尤其适合于复杂样品的分析, 此前的研究工作所用的纳米纤维多是单组份的纳米纤维^[15-19], 本研究利用复合组分的纳米纤维对复杂食品样品进行前处理。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司), 包括 RF-10AXL 荧光检测器、LC-20AD 双泵、

2014-01-22 收稿; 2014-04-10 接受

本文系国家自然科学基金资助项目(No. 50872042) 资助

* E-mail: xjkang64@163.com

SIL-20AC 自动进样器; 台式离心机(上海安亭科学厂); 梅特勒 AB265-S 分析天平(杭州汇尔仪器设备有限公司); 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); 雷磁 PHSJ-3FpH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司); 阵列式固相萃取仪(苏州东奇生物科技股份有限公司)。

HCX 固相萃取柱(磺化聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮共纺物纤维填充柱, 装量 10mg, 苏州东奇生物科技股份有限公司); 甲醇(色谱纯); 三乙胺、EDTA-2Na、柠檬酸、乙酸、乙酸乙酯、乙腈等均为分析纯(江苏永华精细化学品有限公司); 氟罗沙星、诺氟沙星、沙拉沙星、环丙沙星、奥比沙星标准品(阿拉丁公司); 实验用水为三次蒸馏水。

2.2 标准溶液的配制

准确称取适量氟罗沙星、诺氟沙星、沙拉沙星、环丙沙星和奥比沙星, 加水配制成 1 g/L 的标准储备液, 于 4 °C 保存(有效期 1 个月)。测定前, 用水稀释该储备液, 制备系列标准溶液。

2.3 样品前处理

准确移取麻辣烫汤液 1 mL, 加 0.2 g EDTA-2Na, 超声 10 min, 以 10000 r/min 离心 10 min, 分取上清液; 残渣再加 200 μ L 水超声离心, 合并上清液; 上清液中加入 1 mL EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液, 超声离心; 取 1 mL 上清液加缓冲溶液稀释 1 倍, 过 HCX 固相萃取柱。

操作阵列式固相萃取仪(图 1): 固相萃取柱使用前先用 100 μ L 甲醇活化、200 μ L 蒸馏水冲洗。将样品上清液移入固相萃取柱中, 手动操作阵列式固相萃取仪, 利用空气加压, 使液滴缓慢逐滴被压出。用 200 μ L 水作为淋洗液去除杂质, 再用 100 μ L 2% 氨化甲醇洗脱液洗脱目标物。取 10 μ L 洗脱液进行 HPLC 分析。

2.4 色谱条件

岛津 VP-ODS 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水-磷酸(25:75:0.1, V/V, 以三乙胺调至 pH 2.8), 用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤, 超声脱气; 柱温 30 °C; 流速 1 mL/min; 进样量 10 μ L; 激发波长: 280 nm, 发射波长: 450 nm。

3 结果与讨论

3.1 材料表征

采用 Hitachi S-3000N 扫描电镜观察纳米纤维, 扫描电镜图见图 2。由图 2 可见, 纤维直径约为 400 ~ 600 nm, 表面光滑。

3.2 固相萃取条件优化

3.2.1 提取溶剂的选择

麻辣烫汤液基质成分复杂, 对 HPLC 检测的影响很大。本研究分别选取 1 mL EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液(pH 4)、乙酸乙酯、含 1% 乙酸的乙腈和含 10% HClO₄ 的乙腈作为提取溶剂, 先对麻辣烫汤液中喹诺酮类物质进行提取, 然后进高效液相色谱检测。实验表明, EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液的提取效果最好。继续考察了 EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液加入量的影响, 分别加入 0.50, 1.0 和 2.0 mL 进行提取, 以各目标峰面积相对于 0.50 mL EDTA-Mcllvaine 缓冲溶液提取所得目标峰面积的比值为纵坐标作图。由图 3 可见, 缓冲溶液加入量为 1.0 mL 时提取效果最好。

3.2.2 样液的稀释倍数

加入 EDTA-Mcllvaine 缓

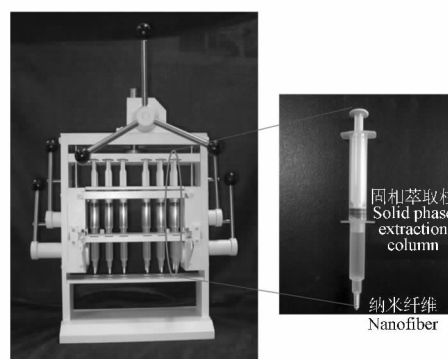


图 1 阵列式固相萃取仪

Fig. 1 Instrument array of solid phase extraction

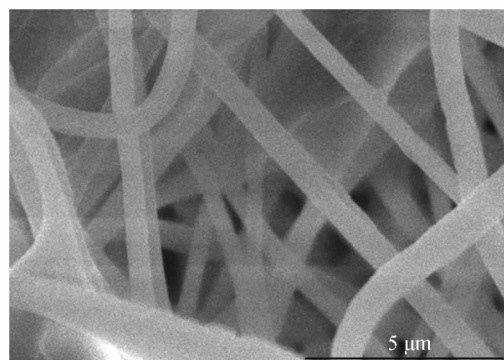


图 2 HCX 柱中纳米纤维扫描电镜图

Fig. 2 Scanning electron microscopy of nanofibers in HCX column

冲溶液稀释样液可以减少杂质浓度,提高吸附剂对目标物的吸附效率。以各目标峰面积相对于稀释 1 倍所得目标峰面积的比值为纵坐标作图。由图 4 可见,样液稀释 1 倍能提高目标物的回收率。

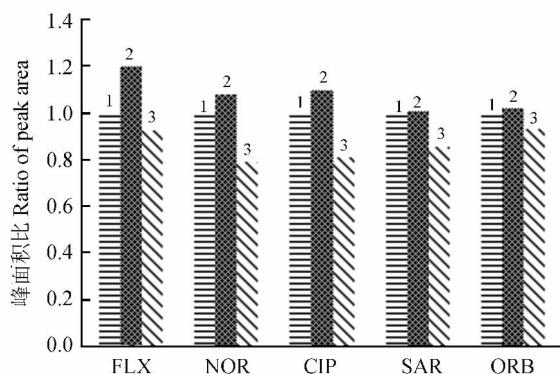


图 3 EDTA-McIlvaine 缓冲溶液加入体积对提取效率影响

Fig. 3 Effect of EDTA-McIlvaine buffer volume on extraction efficiency

1. 0.50 mL; 2. 1.0 mL; 3. 2.0 mL. FLX: fleroxacin; NOR: Norfloxacin; CIP: Ciprofloxacin; SAR: Sarafloxacin; ORB: Orbifloxacin.

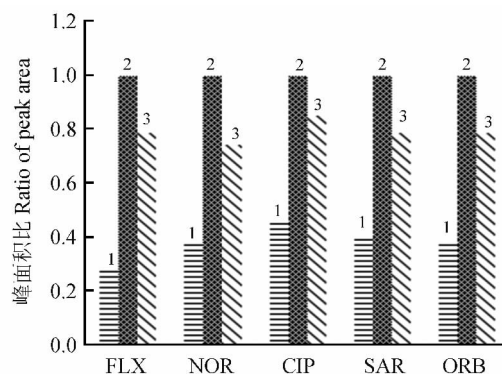


图 4 稀释样液对提取效率影响

Fig. 4 Effect of diluting sample on extraction efficiency

1. 未稀释 (No dilution); 2. 稀释 (Dilution) (1:1); 3. 稀释 (Dilution) (1:2)。

3.2.3 淋洗溶液的选择 选择适当淋洗溶液可以减少杂质,净化色谱图。本研究分别用 200 μL 水、10% 甲醇、25% 甲醇、50% 甲醇进行淋洗,以各目标峰面积相对于水淋洗所得目标峰面积的比值为纵坐标作图。由图 5 可见,水淋洗所致目标物的损失最少。

3.2.4 洗脱溶剂的选择 分别用 100 μL 甲醇、50% 甲醇、2% 氯化甲醇和 2% 氨水作为洗脱溶剂,实验表明,洗脱剂洗脱效率顺序为 2% 氯化甲醇 > 2% 氨水 > 50% 甲醇 > 甲醇,并且 2% 氯化甲醇和 2% 氨水的洗脱率远高于甲醇和 50% 甲醇,说明碱性的洗脱液碱化目标物后有利于解析,因此,本研究选取 2% 氯化甲醇作为洗脱剂。

3.3 方法学考察

3.3.1 方法检出限与定量限 取不含药物的麻辣烫汤液,加入适量 5 种药物混合标准溶液,使其在麻辣烫汤中的浓度范围为 25 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{L}$,参照 2.3 节方法进行样品前处理,在所确定的色谱条件下得到色谱图。以峰面积 (y) 对加标浓度 (x) 回归得工作曲线,结果见表 1。按信噪比 $S/N = 3$ 和 $S/N = 10$ 确定 5 种喹诺酮检出限为 1.2 ~ 5.4 $\mu\text{g}/\text{L}$,定量限为 3.9 ~ 18 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

3.3.2 回收率与精密度 取加标麻辣烫汤液 1 mL,参照 2.3 节方法进行样品前处理,每个添加水平平行测定 6 次,计算回收率和日内相对标准偏差;连续测定 6 d,计算回收率和日间相对标准偏差。结果见表 2。

3.3.3 可能的萃取机理 喹诺酮类药物是一类极性相对较大的化合物,

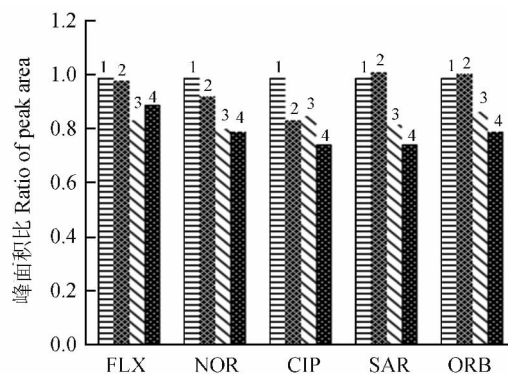


图 5 不同淋洗溶液对提取效率影响

Fig. 5 Effect of different rinse solution on extraction efficiency

1. H_2O ; 2. 10% C_3OH ; 3. 25% CH_3OH ; 4. 50% CH_3OH .

表 1 麻辣烫中 5 种喹诺酮类化合物的检出限和定量限 ($n=5$)

Table 1 Limit of detection and limit of quantitation of quinolone antibiotics in spicy soup ($n=5$)

| 喹诺酮 Quinolones | 线性范围 Linear rang ($\mu\text{g}/\text{L}$) | 相关系数 Correlation coefficient (R) | 检出限 LOD ($\mu\text{g}/\text{L}$) | 定量限 LOQ ($\mu\text{g}/\text{L}$) |
|-------------------|---|--|--|--|
| 氟罗沙星 FLX | 25 ~ 500 | 0.996 | 1.2 | 3.9 |
| 诺氟沙星 NOR | 25 ~ 500 | 0.998 | 2.3 | 7.6 |
| 环丙沙星 CIP | 25 ~ 500 | 0.998 | 3.0 | 9.8 |
| 沙拉沙星 SAR | 25 ~ 500 | 0.995 | 3.6 | 12 |
| 奥比沙星 ORB | 25 ~ 500 | 0.997 | 5.4 | 18 |

本实验结果表明, HCX 固相萃取柱在优化条件下能有效富集麻辣烫中喹诺酮类抗生素, 该柱的填料为磺化聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮共纺物纤维, 装量仅为 10 mg, 就可以满足复杂样液中目标物的提取, 并且操作中试剂用量较常见方法显著减少, 省略了加热、氮吹、复溶等步骤, 简化了操作环节, 且对目标物有富集、浓缩、净化作用。这些优点都得益于纳米纤维填料优异的吸附/脱附特性。本研究根据 HCX 固相萃取柱填料的成分, 推测其提取喹诺酮类抗生素机理如图 6 所示, 其吸附目标物的作用可能如下: ①磺化后的聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮共纺物亲水性增加, 利于与极性较大的喹诺酮分子相互作用, 增加了纤维的吸附效率; ②聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮上的羰基可与喹诺酮上的羧基形成氢键, 加强吸附剂与目标分子相互间的吸引; ③目标物在弱酸性条件下吸附效率高, 的事实说明此时喹诺酮分子上的氨基为阳离子时, 有利于固相萃取, 而纤维上磺酸基的存在显然是该相互作用(离子交换)发生的必需基团; ④喹诺酮类药物与聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮上均有苯环, 相互间的 $\pi-\pi$ 作用加强了吸附作用。因此多重相互作用是提取效率提高的保障, 而静电纺丝显然是制备具有多重相互作用官能团新材料的一种有效而方便的技术。

3.3.4 与其它固相萃取方法比较 本方法与文献已报道的固相萃取方法相比(表 3), 所用纳米纤维装量少, 操作时间短, 消耗的试剂少, 回收率指标也符合要求。因此本方法更加快速、简便且绿色环保。

3.4 样品分析

以本方法对市场上数份样品进行检测, 均未检出目标成分, 取一份样品按照 2.3 节所述方法进行标准加入实验, 所得色谱图见图 7。从图 7 可见, 各目标组分分离良好, 未见显著干扰。

实验结果表明, 本方法的回收率、检出限、精密度等指标均符合食品检测要求, 方法简便和环保, 适

表 3 不同固相萃取方法比较

Table 3 Comparison of different solid phase extraction

| 样品 Sample | 萃取方法 Extraction method | 前处理时间 Time of pretreatment | 有机溶剂用量 Organic solvent (mL) | 氮吹 Evaporation under nitrogen stream | 回收率 Recovery (%) | 参考文献 Ref. |
|-----------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---|---------------------|------------------|
| 蔬菜 Vegetables | HLB Column | >1 h | 12 | yes | 61 ~ 90 | [8] |
| 动物肌肉 Animal muscle | HLB Column | >40 min | 3 | yes | 70 ~ 103 | [6] |
| 动物肌肉 Animal muscle | HLB Column | >50 min | 5 | yes | 70 ~ 106 | [20] |
| 麻辣烫汤液 Spicy soup | HXC Column | 40 min | 0.2 | no | 72 ~ 110 | 本方法 This work |

表 2 麻辣烫汤液中 5 种喹诺酮类药物的加标回收率及相对标准偏差(RSD, $n=6$)

Table 2 Recoveries of spiked quinolones in spicy soup and relative standard deviations (RSD, $n=6$)

| 喹诺酮 Quinolones | 加标量 Added (ng) | 日内 intra-day | | 日间 inter-day | |
|-------------------|-------------------|--------------|---------|--------------|---------|
| | | Recovery (%) | RSD (%) | Recovery (%) | RSD (%) |
| 氟罗沙星 FLX | 25 | 95.2 | 3.0 | 94.0 | 3.2 |
| | 100 | 105.3 | 2.1 | 103.1 | 2.0 |
| | 500 | 98.7 | 2.7 | 106.8 | 4.3 |
| 诺氟沙星 NOR | 25 | 81.5 | 2.2 | 85.8 | 3.5 |
| | 100 | 87.7 | 1.8 | 82.1 | 2.3 |
| | 500 | 76.6 | 3.0 | 78.4 | 2.7 |
| 环丙沙星 CIP | 25 | 94.8 | 1.9 | 93.1 | 2.5 |
| | 100 | 95.1 | 3.0 | 97.1 | 3.1 |
| | 500 | 102.2 | 1.6 | 95.6 | 2.9 |
| 沙拉沙星 SAR | 25 | 104.8 | 3.0 | 110.3 | 3.7 |
| | 100 | 99.4 | 4.3 | 101.8 | 3.8 |
| | 500 | 96.4 | 4.3 | 92.6 | 3.0 |
| 奥比沙星 ORB | 25 | 72.1 | 4.0 | 80.5 | 4.2 |
| | 100 | 75.7 | 2.4 | 74.7 | 2.1 |
| | 500 | 90.2 | 3.2 | 88.8 | 3.7 |

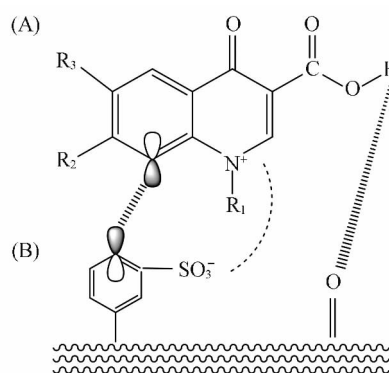


图 6 (A) 喹诺酮类药物与 (B) 磺化聚苯乙烯-聚乙烯吡咯烷酮共纺物纤维相互作用示意图

Fig. 6 Schematic diagram of the interaction between (A) quinolones and (B) sulfonated polystyrene-polyvinylpyrrolidone co-spinning nanofibers

用于麻辣烫汤液中喹诺酮类药物的检测。

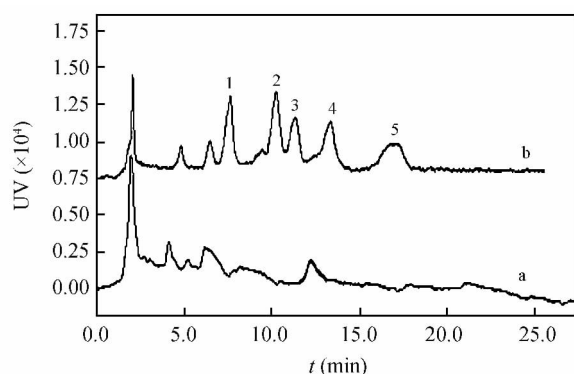


图7 某麻辣烫汤液样品检测色谱图: (a) 汤液空白样品; (b) 汤液加标 25 $\mu\text{g/L}$ 样品: (1) 氟罗沙星, (2) 诺氟沙星, (3) 沙拉沙星, (4) 环丙沙星, (5) 奥比沙星。

Fig. 7 Chromatogram of (a) blank samples and (b) spicy soup sample spiked with 25 $\mu\text{g/L}$ of quinolones (1) Fleroxacin, (2) Norfloxacin, (3) Sarafloxacin, (4) Ciprofloxacin, (5) Orbifloxacin.

References

- Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. *Chemosphere*, **2006**, 65(5): 725-759
- ZHONG Zhao-Jin. *Capital Medical*, **2001**, 8(2): 39-40
仲兆金. *首都医药*, **2001**, 8(2): 39-40
- PAN Yuan, NIU Hua, CHENG Xiao-Yun, ZHU Hong-Kun, LI Bo, FENG Lei, ZHU Na, NIU Zhi-Rui. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, **2011**, 45(4): 28-32
潘媛, 牛华, 程晓云, 祝红昆, 李波, 冯雷, 朱娜, 牛之瑞. *中国兽药杂志*, **2011**, 45(4): 28-32
- JIAO Hao-Yan, XU Feng-Guo, TIAN Yuan, ZHANG Zun-Jian. *Journal of China Pharmaceutical University*, **2009**, 40(1): 62-66
焦豪妍, 许风国, 田媛, 张尊建. *中国药科大学学报*, **2009**, 40(1): 62-66
- Beltran J L, Jimenez-Lozano E, Barron D, Barbosa J. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 501(2): 137-141
- Tang H P O, Ho C, Lai S S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, 20(17): 2565-2572
- Juan-Garcia A, Font G, Pico Y. *Electrophoresis* **2006**, 27(11): 2240-2249
- WU Xiao-Lian, XIANG Lei, MO Ce-Hui, LI Yan-Wen, JIANG Yuan-Neng, YAN Qing-Yun, LÜ Xuan, HUANG Xian-Pei. *Chinese J. Anal. Chem.* **2013**, 41(6): 876-881
吴小莲, 向垒, 莫测辉, 李彦文, 姜元能, 严青云, 吕旋, 黄献培. *分析化学*, **2013**, 41(6): 876-881
- LI Gui-Zhi, GAO Fu-Kai, ZHANG Xing-Mei, LIU Yong-Ming. *Chinese J. Anal. Chem.* **2013**, 41(10): 1592-1596
李桂芝, 高福凯, 张兴梅, 刘永明. *分析化学*, **2013**, 41(10): 1592-1596
- MA Li-Li, GUO Chang-Sheng, HU Wei, SHA Jian, ZHU Xing-Wang, RUAN Yue-Fei, WANG Yu-Qiu. *Chinese J. Anal. Chem.* **2010**, 38(1): 21-26
马丽丽, 郭昌胜, 胡伟, 沙健, 朱兴旺, 阮悦斐, 王玉秋. *分析化学*, **2010**, 38(1): 21-26
- TAI Yi-Ping, MO Ce-Hui, LI Yan-Wen, BAO Yan-Ping, ZHANG Yan, YAO Yuan, LUO Xiao-Dong. *Chinese J. Anal. Chem.* **2009**, 37(12): 1733-1737
邵义萍, 莫测辉, 李彦文, 包艳萍, 张艳, 姚圆, 罗晓栋. *分析化学*, **2009**, 37(12): 1733-1737
- Prat M D, Ramil D, Compano R, Hernandez-Arteseros J A, Granados M. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, 567(2): 229-235
- Turiel E, Martin-Esteban A, Tadeo J L. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 562(1): 30-35
- CAO Peng, MU Yan, GAO Fei, GENG Jin-Pei, ZHANG Xi-Qing, SUI Tao, LING Jun-Ni, SHA Mei-Lan, GUAN Li-Li. *Chinese Journal of Chromatography*, **2013**, 31(9): 862-868
曹鹏, 牟妍, 高飞, 耿金培, 张禧庆, 隋涛, 梁君妮, 沙美兰, 关丽丽. *色谱*, **2013**, 31(9): 862-868
- Kang X J, Pan C, Zhang Y Y, Gu Z Z. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 587(1): 75-81
- SUN Jing, MA Yu-Qin, KANG Xue-Jun. *Environment Chemistry*, **2010**, 29(1): 105-108
孙静, 马玉琴, 康学军. *环境化学*, **2010**, 29(1): 105-108
- QU Zi-Jian, KANG Xue-Jun, WU Wei-Wei, CHEN Bao-An, GU Zhong-Ze. *Chinese J. Anal. Chem.* **2011**, 39(3): 312-316
曲子健, 康学军, 吴玮玮, 陈宝安, 顾忠泽. *分析化学*, **2011**, 39(3): 312-316

- 18 CHEN Li-Qin , KANG Xue-Jun , YAN Yan , GU Zhong-Ze , LU Zu-Hong. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2012** , 40(1) : 124-128
陈利琴,康学军,晏 嫣,顾忠泽,陆祖宏. 分析化学, **2012** , 40(1) : 124-128
- 19 Yan Y , Deng J J , Deng S W , Wang Y , Wang F , Xiao M , Kang X J. *Journal of Southeast University (English Edition)* , **2012** , 28(4) : 464-468
- 20 ZHAO Si-Jun , LI Cun , JIANG Hai-Yang , LI Bing-Yu , SHEN Jian-Zhong. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2007** , 35(3) : 786-790
赵思俊,李 存,江海洋,李炳玉,沈建忠. 分析化学, **2007** , 35(3) : 786-790

Determination of Quinolones in Spicy Soup Using Packed Fiber Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography-Fluorimetric Detection

DENG Si-Wei¹ , DENG Jian-Jun² , WANG Ting-Ting³ , WANG Yu¹ , KANG Xue-Jun^{* 1 3}

¹(Key Laboratory of Child Development and Learning Science (Ministry of Education) , Research Center for Learning Science , Southeast University , Nanjing 210096 , China)

²(Suzhou Dongqi Biological Technology Co. LTD , Suzhou 215103 , China)

³(Laboratory of Environment and Biosafety , Research Institute of Southeast University , Suzhou 215103 , China)

Abstract An analytical method for simultaneous determination of five quinolones in spicy soup was developed. Spicy soup samples were firstly extracted by EDTA-McIlvaine buffer at pH 4 , then purified and concentrated by a novel Packed fiber solid phase extraction (PFSPE) column. The extracted liquid supernatant was loaded onto the column , rinsed with water , and then eluted with 2% ammoniated methanol. The mobile phase was methanol-water-phosphoric acid (25 : 75 : 0. 1 , V/V , adjusting the pH to 2. 8 with triethylamine) . These analytes were quantified by high performance liquid chromatography-fluorimetric detector(HPLC-FLD) at excitation and emission wavelength of 280 nm and 450 nm respectively. Recoveries of spiked quinolone antibiotics in spicy soup were from 72. 1% to 110. 3% with intraday relative standard deviation (RSD) between 1. 6% and 4. 3% and inter-day RSD from 2. 0% to 4. 3% . Limit of detection (LOD) and limit of quantitation(LOQ) were from 1. 2 to 5. 4 $\mu\text{g/L}$ and from 3. 9 to 18 $\mu\text{g/L}$, respectively. The method could be applied to determine the quinolones in spicy soup.

Keywords Spicy soup; Quinolones; Packed fiber solid phase extraction; High performance liquid chromatography; Fluorimetric detection

(Received 22 January 2014; accepted 6 April 2014)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81172720 and No. 21307086)