

固相萃取 - 液相色谱串联质谱法同时定量 检测蜂蜜中 28种抗生素类药物残留的研究*

左志辉, 高立勤, 唐素芳

(天津市药品检验所, 天津 300070)

摘要 目的: 建立了固相萃取 - 高效液相色谱 - 串联质谱 (HPLC - MS/MS) 法同时定量检测蜂蜜中 28 种抗生素药物的痕量残留。方法: 样品经固相萃取提取净化、反相液相色谱分离后进行质谱分析。在多反应监测模式 (MRM) 下进行检测。根据保留时间、母离子和特征子离子信息进行定量分析。结果: 28 种抗生素药物中盐酸林可霉素、盐酸克林霉素、氟罗沙星、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺脒、磺胺氯哒嗪、磺胺甲恶唑、环丙沙星、诺氟沙星、洛美沙星、依诺沙星、巴洛沙星、司帕沙星、甲磺酸培氟沙星、氧氟沙星、甲硝唑、替硝唑、4- 差向四环素、土霉素、罗红霉素的检出限 (LOD) 为 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量限 (LOQ) 为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 在 $1.25 \sim 200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 均呈良好线性关系 ($R^2 > 0.99$); 磺胺、青霉素钠、青霉素 V 钾、盐酸四环素、盐酸多西环素、盐酸金霉素、4- 差向金霉素的检出限为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量限为 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 在 $1.25 \sim 200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 均呈良好线性关系 ($R^2 > 0.99$)。研究选择 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $4.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $20.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个添加浓度水平进行加标回收试验, 外标法定量, 3 个水平的平均回收率结果均令人满意。日内精密度小于 8% ($n = 5$), 日间精密度小于 10% ($n = 5$), 满足日常分析的需要。结论: 该方法快速、灵敏、准确, 适用于同时检测蜂蜜中多种抗生素类药物的痕量残留。

关键词: 液相色谱 - 串联质谱; 固相萃取; 抗生素类药物; 残留; 蜂蜜

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254- 1793(2009)07- 1196- 06

Studies on multiresidue determination of 28 antibiotics in honey by solid- phase extraction and high- performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry*

ZUO Zhi- hui, GAO Li- qin, TANG Su- fang

(Tianjin Institute of Drug Control, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective It has been developed an high- performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry (LC - MS/MS) method for the simultaneous determination of twenty- eight antibiotics residues in honey. **Method** A solid- phase extraction was employed in the preparation procedure. The residues of antibiotics were analyzed by reversed- phase high performance liquid chromatography (RP- HPLC) coupled with electrospray tandem mass spectrometry. Multiple reaction monitoring (MRM) mode was employed for the quantitative determination. The chromatographic separation was performed on an Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ column (150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm). **Results** The limits of detect (LOD) about lincomycin hydrochloride, clindamycin hydrochloride, fleroxacin sulfamethoxazole, sulfadimidine, sulfaguanidine, sulfachloropyridazine, sulfamethoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin, imefloxacin, enoxacin, balofloxacin, sparfloxacin, pefloxacin, ofloxacin, metronidazole, tinidazole, 4- chatetracycline hydrochloride, oxytetracycline hydrochloride, roxithromycin was $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, the limits of quantification (LOQ) was $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; the linear ranges were between 1.25 and $200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, and $R^2 > 0.99$. The limits of detect (LOD) about sulfanilamide, benzylpenicillin sodium, phenoxymethyl penicillin potassium, tetracycline hydrochloride, doxycycline hydrate, chlortetracycline hydrochloride, 4- chlorotetracycline hydrochloride was $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, the limits of quantification (LOQ) was $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, the linear ranges were obtained between 1.25 and $200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, and $R^2 > 0.99$. The average spiking recoveries of 28 antibiotics were ranged from 70% to

* 天津市食品药品监督管理局局级课题

第一作者: Tel: (022) 23374074, E- mail: huiz6968@sina.com

110%, with relative standard deviations between 1.0% and 10.0%. Intra-day and inter-day variations of the method were all within the acceptable ranges. **Conclusion** The method is rapid, sensitive, accurate, simple and suitable for the identification and quantification of these antibiotics residues in honey.

Key words liquid chromatography mass spectrometry solid-phase extraction antibiotics residues honey

中国的蜂蜜质优价廉,已销往世界许多国家。随着需求的急剧增长,抗生素类药物的不合理使用、不遵守休药期等多种原因所导致的蜂蜜中抗生素药物残留问题不断增多。近几年,欧盟等国制定了十分严格的蜂蜜残留限量标准。我国部分出口产品,由于抗生素残留超标,产品质量受到质疑。我国蜂蜜出口面临十分严峻的形势。因此,加强蜂蜜中抗生素药物残留的检测力度,推广快速、准确的检测方法,成为我国检验工作者的一个重大课题。其中一些抗生素的残留限量已接近液相色谱-串联质谱的仪器检出限。我们总结了历年来中国蜂蜜中较易残留的抗生素药物,确定了28种抗生素药物为本课题的研究对象。虽然蜂蜜中不可能同时残留28种抗生素,据文献报道^[1],由于不知道蜂蜜中残留了何种抗生素,均需按照抗生素类别分别进行样品前处理,选择各自的色谱与质谱条件进行检测。固相萃取时需选用不同填料的固相萃取柱及洗脱液,出口蜂蜜检测流程较长,且操作繁琐,大大降低了检测效率。

本实验的难点在于:(1)如何消除蜂蜜的基质干扰;(2)欧盟制定的蜂蜜残留限量极低,已接近LC-MS/MS的最低检出限。因此方法的最低检出限和定量限应达到欧盟的限量要求。选择合适的蜂蜜样品前处理方法与色谱、质谱条件是关键。

通过实验研究建立了一整套较为完善的固相萃取-液相色谱三重四极杆串联质谱体系(LC-MS/MS),可同时定量检测蜂蜜中28种抗生素药物的残留。本项研究的创新点在于,蜂蜜中不论残留哪种抗生素药物,均可一步同时检出。该方法快速、准确、灵敏,能有效提高蜂蜜中抗生素残留检测的工作效率。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

液质联用仪由Agilent 1200型液相色谱系统和Agilent 6410型三重四极杆串联质谱仪组成;美国Sepex公司16通道半自动固相萃取装置;Scientific Industries VORTEX-GENIE 2型涡流振荡器;AutoScience AS10200超声波溶解仪;METTLER TOLEDO AE100型分析天平;METTLER TOLEDO Delta320 μH 计;美国Zymark公司真空氮气吹干仪;安捷伦

Zorbax Eclipse C₁₈柱(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm);安捷伦 Zorbax SBAq C₁₈柱(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm);安捷伦 Zorbax Eclipse Plus 预柱;GELMAN 0.45 μm 、 ϕ 13有机滤膜。磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、碳酸钠、碳酸氢钠均为分析纯,均购自天津市华东试剂厂。

标准品除磺胺氯噻嗪购自Sigma公司外(纯度99.8%),其他标准品均购自中国药品生物制品检定所;甲醇、乙腈均购自美国Tedia公司,色谱纯;艾杰尔Ageh PEP固相萃取柱(500 mg, 6 mL⁻¹)。实验用水均为去离子水。

1.2 标准溶液的配制

28种抗生素混合标准储备溶液:准确称取适量的标准物质,分别用甲醇配成1.0 mg·mL⁻¹的标准储备液(其中,青霉素类用水溶解,喹诺酮类用流动相溶解)。储备液可在温度低于4℃冰箱中保存一个月。

混合标准工作溶液:根据需要吸取适量标准储备溶液,用流动相稀释成适当浓度28种抗生素的混合标准工作溶液,混合标准工作溶液应现用现配。

1.3 液质联用测定条件^[2-4]

1.3.1 液相色谱分离条件

色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈柱(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm);柱温:30℃;流速0.25 mL·min⁻¹;进样量:40 μL 。

流动相A为含0.4%甲酸的甲醇-乙腈(65:35)液,流动相B为0.4%甲酸的水溶液;梯度洗脱程序为:在0~10 min内流动相A从9%线性增加至20% A,在10~15 min时线性增加至35% A,在15~20 min时线性增加至60% A,在20~25 min时线性增加至95% A,在25~30 min时线性减少至9% A,保持15 min。

1.3.2 质谱测定条件

离子源:电喷雾电离(ESI)、正离子、多反应监测(MRM)模式检测;雾化器压力:40 kV;干燥器温度:350℃;氮气流速:10 L·min⁻¹;Delta EMV 80Q 28种抗生素药物分7个时间段同时监测。(0~3.5 min, 3.5~9 min, 9~15 min, 15~20.5 min, 20.5~22.3 min, 22.3~25 min, 25~30 min)。

1.4 样品前处理

称取空白蜂蜜样品 5.0 g 置于 100 mL 锥形瓶中, 分别准确加入不同浓度的混合标准工作溶液 2 mL, 放置 20 min 后, 加入 30 mL 磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH} = 3.0$), 于涡流振荡器上快速混合 5 min, 使试样完全混匀。样液移至下接贮液器的 PEP 柱中, 以小于 $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速通过固相萃取柱 (PEP 柱预先用 5 mL 甲醇和 10 mL 水活化) 后, 用 5 mL 水淋洗, 弃去全部淋洗液。在 65 kPa 的负压下, 减压抽干 20 min, 最后用 6 mL 氨化甲醇 (氨水 - 甲醇 = 1:19, v/v) 洗脱, 收集洗脱液于刻度样品管中, 于 30°C 水浴中用氮气吹干, 残渣溶解于 1 mL 的初始流动相中, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 有机滤膜过滤, 供液相色谱 - 串联质谱分析。

28 种抗生素药物的总离子流色谱图如图 1 所示 (图 1 中 28 种抗生素药物的出峰顺序与保留时间见表 1)。

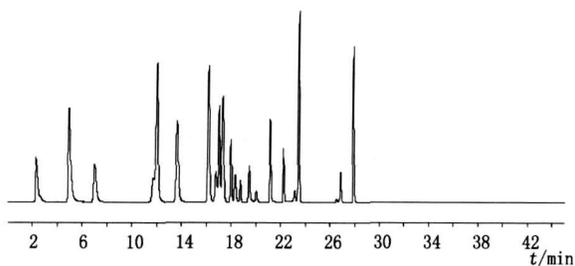


图 1 28 种抗生素标准物质的总离子流图

Fig 1 The total ion chromatography of 28 antibiotics drugs

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

被分离的抗生素药物结构各异, 采用等度流动相系统很难达到较好分离。通过优化梯度洗脱程序, 药物的分离得到明显的改善。有机相及水相中分别加入适量的甲酸可以改变磺胺类药物的保留因子, 使磺胺类药物得到较好的分离。甲酸对电喷雾电离会产生一定影响, 实验结果表明, 甲酸添加量为 0.4% 时方法的灵敏度最高, 分离效率最好; 酸度过高则会抑制部分抗生素药物离子化。流动相中氢离子的存在还可以提高抗生素类药物在 ESI 模式下的离子化效率, 消除抗生素药物在 C_{18} 柱上的拖尾现象。虽然部分药物保留时间十分接近, 但其分子离子峰和碎片离子不同, 因此仍能通过质谱检测器对其进行准确的定性和定量。

2.2 质谱条件的优化

选择最佳的去簇电压, 使被分析样品不发生分解, 确保检测中离子对响应值达到最佳的同时, 尽可

能提高母离子的丰度, 并可以减小化学噪音。实验通过优化质谱条件, 最终确定 28 种抗生素药物的最佳去簇电压和碰撞能量。28 种残留抗生素药物的质谱参数 (名称、各自的保留时间、定量定性离子对、去簇电压 DP 及其碰撞能量 CE) 见表 1。

研究发现雾化器压力和干燥器温度过低, 会使蜂蜜样品去溶剂化不完全, 质谱图中出现许多毛刺, 峰形较差且定量不准确。经实验确定, 选择雾化器压力 40 kV、干燥器温度 350°C 、Delta EMV 设为 800 为本课题的最适质谱条件。28 种药物在酸性溶液中呈阳离子形态, 选用 ESI 源离子化, 离子化效率高。

2.3 固相萃取柱的选择

实验选用 PEP 固相萃取柱的填料是改性的聚苯乙烯 / 乙炔苯, 引入了吡咯烷酮极性官能团, 极性较强, 对各类极性、非极性化合物具有均衡吸附作用, 克服了传统 C_{18} 固相萃取柱对极性化合物保留不足、对碱性化合物回收不足的缺点。且 C_{18} 柱对操作要求较高, 如果柱子中的液体流干会严重影响提取回收率, 而 PEP 柱则操作简单, 净化效果和回收率较好。因此本实验选择 PEP 柱进行固相萃取净化^[5]。

2.4 样品溶剂的选择

样品溶剂的合适与否是提取的关键。由于 28 种抗生素药物的酸碱性各异, 而蜂蜜中含有的多糖和有机酸类物质易与残留的药物形成离子, 干扰测定。通过控制样品溶剂的 pH 值, 可使药物以分子形式吸附到固相萃取柱上, 而蜂蜜中的有机酸类物质以离子形式被淋洗弃除, 再选用适宜的洗脱液将药物洗脱下来。实验比较了 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH} = 3$)、磷酸溶液 ($\text{pH} = 2$)、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 碳酸钠 - 碳酸氢钠缓冲溶液 ($\text{pH} = 9.0$)、乙酸乙酯、流动相初始组成、水等溶剂, 结果表明: $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH} = 3$) 净化提取效果最佳。

2.5 淋洗溶剂的选择

选择适当的淋洗溶剂, 可将固相萃取柱中残存的杂质除去, 降低蜂蜜样品的背景干扰, 提高方法的灵敏度。以不同配比的甲醇和水的混合溶剂淋洗固相萃取柱, 混合溶剂分别为: 甲醇 - 水 (3:7)⁻ 水、甲醇 - 水 (3:7)、甲醇 - 水 (5:95) 和水。实验表明, 淋洗溶剂中含有甲醇时, 许多药物在柱上不能完全保留, 有穿漏现象, 因此选择水作为淋洗溶剂, 可将杂质除去, 且抗生素药物的提取回收率较好。

表 1 28种抗生素药物的质谱参数
Tab 1 MS parameters for the detection of 28 antibiotics

抗生素 (antibiotics)	保留时间 (retention time/min)	定量离子对 (transitions for quantitation)	定性离子对 (transitions for confirmation)	去簇电压 (DP/V)	碰撞能量 (CE/V)
磺胺脒 (sulfaguanidine)	2.268	214.9/156.0	214.9/108.0	110	10
磺胺 (sulfanilamide)	2.631	173.0/156.0	173.0/93.1	100	3
甲硝唑 (metronidazole)	4.925	172.0/128.1	172.0/82.1	110	10
磺胺嘧啶 (sulfamethoxazole)	6.981	250.9/156.0	250.9/108.2	130	10
替硝唑 (tinidazole)	11.673	248.1/128.1	248.1/121.2	100	20
盐酸林可霉素 (lincomycin hydrochloride)	11.987	406.9/126.1	406.9/359.2	130	30
磺胺二甲嘧啶 (sulfadimidine)	13.620	278.9/186.0	278.9/124.1	140	10
4-差向四环素 (4-Chlortetracycline Hydrochloride)	13.663	444.8/409.8	444.8/153.9	130	15
氟罗沙星 (floxacin)	16.143	369.9/325.9	369.9/268.9	140	15
土霉素 (oxytetracycline hydrochloride)	16.200	460.8/425.9	460.8/380.8	140	10
依诺沙星 (enoxacin)	16.731	320.9/231.9	320.9/302.9	120	30
盐酸四环素 (tetracycline hydrochloride)	16.858	444.8/409.8	444.8/153.9	140	15
氧氟沙星 (ofloxacin)	17.022	361.9/317.9	361.9/260.9	100	10
甲磺酸培氟沙星 (pefloxacin)	17.268	333.9/316.0	333.9/70.2	140	15
诺氟沙星 (norfloxacin)	17.357	319.9/301.9	319.9/281.9	140	15
环丙沙星 (ciprofloxacin)	17.978	331.9/313.9	331.9/230.9	100	15
磺胺氯吡嗪 (sulfachloropyridazine)	18.322	284.8/156.0	284.8/108.2	130	10
洛美沙星 (lomefloxacin)	18.725	351.9/333.9	351.9/265.0	110	15
磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole)	19.449	254.0/156.0	254.0/108.1	130	10
4-差向金霉素 (4-Chlortetracycline Hydrochloride)	19.654	478.7/443.7	478.7/461.8	140	15
青霉素钠 (benzylpenicillin sodium)	20.024	334.9/288.9	334.9/160.0	120	25
Sparfloxacin (司帕沙星)	21.153	392.9/348.9	392.9/291.9	100	20
盐酸金霉素 (chlortetracycline hydrochloride)	21.498	478.7/443.7	478.7/153.9	140	15
巴洛沙星 (balofloxacin)	22.220	389.9/371.9	389.9/358.9	110	15
盐酸多西环素 (doxycycline hydrochloride)	23.127	444.8/427.8	444.8/320.9	140	15
盐酸克林霉素 (clindamycin hydrochloride)	23.427	429.9/126.1	429.9/377.1	130	30
青霉素 V 钾 (phenoxymethylpenicillin potassium)	26.725	350.8/160.0	350.8/114.1	110	4
罗红霉素 (roxithromycin)	26.828	837.6/679.5	837.6/558.4	120	20

2.6 固相萃取洗脱溶剂的选择

由于 28 种抗生素药物的酸碱性各异, 使用单一的洗脱剂很难将蜂蜜中残留的不同类别的抗生素药物完全洗脱下来。曾使用乙酸乙酯、流动相初始溶液等为洗脱溶剂, 回收率都很低。改用氨化甲醇 (氨水 - 甲醇 = 1: 19, v/v) 为洗脱溶剂, 大部分药物的回收率比较满意。以不同配比的氨水和甲醇的混合溶剂洗脱目标化合物, 结果发现当氨水的比例小于 5% 时, 目标化合物的回收率普遍较低; 当氨水的比例大于 5% 时, 目标化合物的回收率不再增加, 而洗脱下来的杂质会增多, 因此选择氨水 - 甲醇 = 1: 19 (v/v) 为洗脱溶剂。实验结果表明, 洗脱溶剂为 6 mL 时可固相萃取柱上的残留药物完全洗脱下来, 且杂质最少。

2.7 上机样品溶剂的选择

使用流动相初始溶液来稀释标准品和定容供试样品, 在保证色谱峰保留时间一致性的同时, 提高了分析物的离子化效率, 增强了仪器的响应值, 且质谱图峰形较佳。

2.8 线性范围、标准曲线、检测限和定量限

以质量浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 为横坐标, 定量离子对的峰面积为纵坐标, 绘制 28 种抗生素的标准工作曲线, 其线性方程及相关系数见表 2。28 种抗生素药物中盐酸林可霉素、盐酸克林霉素、氟罗沙星、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺脒、磺胺氯吡嗪、磺胺甲恶唑、环丙沙星、诺氟沙星、洛美沙星、依诺沙星、巴洛沙星、司帕沙星、甲磺酸培氟沙星、氧氟沙星、甲硝唑、替硝唑、4-差向四环素、土霉素、罗红霉素的检

出限为 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量限为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 在 $1.25 \sim 200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 均呈良好线性关系 ($R^2 > 0.99$); 磺胺、青霉素钠、青霉素 V 钾、盐酸四环素、盐酸多西环素、盐酸金霉素、4- 差向金霉素的检出限为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量限为 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 在 $1.25 \sim 200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 均呈良好线性关系 ($R^2 > 0.99$)。

2.9 回收率和精密度

据文献报道^[6], 添加浓度小于 $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,

回收率应在 $50\% \sim 120\%$; 添加浓度在 $1 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 回收率应在 $60\% \sim 120\%$; 添加浓度在 $10 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 回收率应在 $70\% \sim 110\%$ 。实验选择 $1.0, 4.0, 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个浓度添加水平进行加标回收试验, 每个浓度 5 份, 以各自的定量碎片离子进行外标法定量, 28 种抗生素药物的加标回收试验结果见表 2。3 个水平的平均回收率均可达到上述要求, 结果均令人满意。日内精密度小于 8% , 日间精密度小于 10% , 满足日常分析的需要。

表 2 28 种抗生素药物的线性方程、相关系数与加标回收率

Tab 2 Linear equations, correlation coefficients and spiked recoveries for the detection of 28 antibiotics

抗生素药物 (antibiotics)	线性方程 (linear equation)	R^2	加标浓度	加标浓度	加标浓度
			(spiked level of $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	(spiked level of $4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	(spiked level of $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
磺胺脒 (sulfaguanidine)	$Y = 256.93X - 321.47$	0.9998	124.8	102.6	96.4
磺胺 (sulfanilamide)	$Y = 63.856X + 392.99$	0.9923	106.7	82.7	114.9
甲硝唑 (metronidazole)	$Y = 1050.5X - 349.7$	0.9992	118.6	109.2	101.4
磺胺嘧啶 (sulfamethoxazole)	$Y = 1898.4X + 1699.4$	0.9999	123.8	102.3	98.6
替硝唑 (tinidazole)	$Y = 566.75X - 120.1$	0.9999	122.3	103.0	103.3
盐酸林可霉素 (lincomycin hydrochloride)	$Y = 1805.4X + 146.57$	0.9992	77.9	94.1	102.7
磺胺二甲嘧啶 (sulfadimidine)	$Y = 5480.8X - 7533.7$	0.9998	63.7	88.4	100.5
4- 差向四环素 (4-Chlortetracycline hydrochloride)	$Y = 1101.1X + 2463.6$	0.9973	69.6	83.3	106.3
氟罗沙星 (fleroxacin)	$Y = 4284.1X - 4430.9$	1.000	103.4	92.5	103.8
土霉素 (oxytetracycline hydrochloride)	$Y = 1655.8X + 391.94$	0.9939	55.4	76.2	104.4
依诺沙星 (enoxacin)	$Y = 1566.4X - 2006.1$	0.9998	121.6	96.2	103.4
盐酸四环素 (tetracycline hydrochloride)	$Y = 1169.5X + 1763$	0.9950	55.5	68.9	93.4
氧氟沙星 (Ofloxacin)	$Y = 2701.5X - 1176.8$	0.9979	94.0	92.5	99.2
甲磺酸培氟沙星 (pefloxacin)	$Y = 5283.4X + 22006$	0.9994	119.8	98.4	96.8
诺氟沙星 (norfloxacin)	$Y = 3429.8X - 10019$	0.9995	113.2	87.2	94.2
环丙沙星 (ciprofloxacin)	$Y = 4185.2X - 5859.6$	0.9991	122.3	86.9	105.0
磺胺氯吡嗪 (sulfachloropyridazine)	$Y = 1027.9X + 1349.2$	0.9998	120.6	116.2	106.7
洛美沙星 (lomefloxacin)	$Y = 1724.1X - 16950$	0.9931	116.9	114.0	96.3
磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole)	$Y = 1011.5X - 279.46$	0.9998	120.0	117.6	107.5
4- 差向金霉素 (4-Chlortetracycline Hydrochloride)	$Y = 27.493X - 216.57$	0.9816	128.7	95.2	94.0
青霉素钠 (benzylpenicillin Sodium)	$Y = 711.51X - 3066.2$	0.9996	69.1	73.4	104.6
司帕沙星 (sparfloxacin)	$Y = 2192.2X - 697.76$	0.9991	137.9	94.7	101.4
盐酸金霉素 (chlorotetracycline hydrochloride)	$Y = 85.127X - 223.27$	0.9822	131.2	100.4	79.2
巴洛沙星 (balofloxacin)	$Y = 1548.2X - 2098.4$	0.9992	110.1	90.1	97.2
盐酸多西环素 (doxycycline hyclate)	$Y = 630.85X + 1486.3$	0.9979	114.3	82.0	116.1
盐酸克林霉素 (clindamycin hydrochloride)	$Y = 8891.6X - 93.492$	0.9999	109.2	95.7	100.8
青霉素 V 钾 (phenoxymethylpenicillin Potassium)	$Y = 116.6X + 1.4984$	0.9915	74.9	75.0	79.9
罗红霉素 (roxithromycin)	$Y = 4340.1X - 1380.1$	0.9988	60.3	79.3	98.0

3 结论

通过大量的实验研究, 首次建立了一整套快速有效的液相色谱 - 串联质谱体系, 可同时定量检测蜂蜜中痕量残留的 28 种抗生素类药物, 并首次建立

一整套较为完善的蜂蜜样品前处理体系, 可同时将蜂蜜中残留的 28 种抗生素类药物提取出来。目前据国内外文献报道, 蜂蜜中残留的多种抗生素药物需按照不同的前处理方法, 分别进行检测。固相萃

取时需选用不同填料的固相萃取柱, 出口蜂蜜检测周期较长, 操作较为繁琐、费时、检测成本高^[12]。本研究建立的方法, 提高了工作效率, 简化了蜂蜜中残留药物的检测方法, 降低了检测成本。

该方法灵敏度达到了欧盟的痕量要求, 提高了我国蜂蜜残留的检测水平, 该项研究也是一次新的大胆尝试。该方法灵敏、快速、简便, 是复杂基质蜂蜜中多种抗生素类药物痕量残留检测的有效手段。

参考文献

- 1 LIXiao-yu(李晓瑜). Introduction and development of food standards in China(我国食品卫生标准的现状与发展趋势). *Food Sci* (食品科学), 2006 27(9): 275
- 2 DING Tao(丁涛), XU Jing-zhong(徐锦忠), SHEN Chong-yu(沈崇钰), *et al*. Determination of three nitroimidazole in royal jelly by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(高效液相色谱-串联质谱联用测定蜂王浆中的三种硝基咪唑类残留). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2006 24(4): 331
- 3 XU Jin-zhong(徐锦忠), WU Bin(吴斌), DING Tao(丁涛), *et*

- al*. Determination of Lincosamide Residues in Honey using high performance liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry(高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定蜂蜜的林可胺类抗生素残留). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2006 24(5): 436
- 4 XE Wen(谢文), DING Hui-ying(丁慧瑛), XI Jun-yang(奚君阳), *et al*. Determination of five macrolide antibiotic residue in royal jelly samples by using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry(蜂王浆产品中5种大环内酯类抗生素残留量的高效液相色谱-质谱/质谱检测方法). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2007, 25(3): 404
- 5 TANG Yao(汤瑶), HE Hua(何华), WU Bing(吴斌), *et al*. Determination of 10 sulfonamide residues Residues in Honey using high performance liquid chromatography by solid phase extraction(固相萃取-HPLC法测定蜂蜜中残留的10种磺胺类药物). *J Ins Anal* (分析测试学报), 2005 24(1): 96
- 6 YANG Ai-jun(杨爱君). Determination methods for antibiotics residues(抗生素残留的集中常用检测方法). *Chin Food Ind* (中国食品工业), 2004, (10): 60

(本文于2008年12月3日收到)

华南、中南地区药物分析专题研讨会在海口市召开

中国药学会药物分析专业委员会《药物分析杂志》于2009年7月4日在美丽的海南岛举办了《华南、华中地区药物分析专题研讨会》, 来自华南、中南地区有关大学、制药企业、药检所等单位, 近80人出席了会议。

《药物分析杂志》编委, 江苏省食品药品检验所副所长王玉研究员做了题为《拉曼光谱及其在药物分析中的应用》专题报告, 来自浙江大学药学院中药系主任、药物分析博士生导师瞿海斌教授做了题为《近红外技术在制药行业中的应用》专题报告。本次会议由赛默飞世尔科技协办, 该公司的应用专家刘全先生、张衍亮博士分别作了有关专题报告, 会场学术气氛热烈, 提问者踊跃, 通过研讨, 大家对拉曼光谱技术和近红外技术有了更深入的了解。随着国内外新药物的研发与生产技术的发展, 分子光谱技术在药物研究和质量过程控制中的应用日趋广泛。特别是近几年快速无损检测、PAT在线质量检测技术(Process Analytical Technology)不断涌现, 为药物分析领域的发展提供了新的思路和应用方向。与会者对该检测技术能帮助制药行业解决实时药物质量安全控制问题, 表现出了浓厚的兴趣, 并表示出了应用此技术进行本单位具体试验操作的渴望。

与会者认为: 今后应多组织应用与实践相结合的学术活动, 为药物分析领域引进更多、更有实效的先进技术。

(张爱琴供稿)

