

石墨烯 HF-SPME-HPLC 测定牛奶中 氟喹诺酮类抗生素残留

唐可仁, 张孜彤⁺, 雷 婷, 姜建珂, 李深慧, 雷乐乐, 郭 涛, 方亦可, 樊 靓, 王振忠^{*}

(湖北医药学院药学院, 湖北省药用植物综合利用工程技术研究中心,
武当特色中药研究湖北省重点实验室, 湖北十堰 420000)

摘 要:建立了一种石墨烯中空纤维固相微萃取-高效液相色谱联用测定牛奶中6种氟喹诺酮类药物的方法。以中空纤维为模板, 石墨烯为增强体, 采用溶胶-凝胶法制备了石墨烯中空纤维。以最大峰面积为标准考察了影响萃取效率的因素。结果表明, 最佳实验条件为解析液为乙腈(含5%甲酸)1.0 mL, 样品体积10.0 mL, NaCl 2.0 g, 萃取体系 pH=7, 萃取温度为50℃。在最佳实验条件下, 富集倍数为14.2~30.8, 6种氟喹诺酮类药物线性良好, 方法检出限为0.38~0.70 μg/L, 相对标准偏差为2.4%~8.5%, 牛奶中加标回收率为75.2%~95.4%。在品牌牛奶2和市售鲜奶中分别检出2.1 μg/L 诺氟沙星和4.8 μg/L 沙氟沙星。该样品处理方法基质效应小、灵敏度高、简便、准确, 可用于牛奶中残留氟喹诺酮类药物的检测。

关键词:石墨烯中空纤维, 固相微萃取, 高效液相色谱, 牛奶, 氟喹诺酮, 抗生素

Determination of Fluoroquinolone Antibiotic in Milk with Graphene HF-SPME-HPLC

TANG Ke-ren, ZHANG Zi-tong⁺, LEI Ting, JIANG Jian-ke, LI Shen-hui,
LEI Le-le, GUO Tao, FANG Yi-ke, FAN Jing, WANG Zhen-zhong^{*}

(Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research, Hubei Engineering Technology Center for Comprehensive Utilization of Medicinal Plants, School of Pharmaceutical Sciences of Hubei University of Medicine, Shiyan 420000, China)

Abstract: A method for determination of 6 fluoroquinolones in milk by graphene hollow solid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) was established. Graphene hollow fiber was prepared by sol-gel method using hollow fiber as template and graphene as reinforcement. Taking the maximum chromatographic peak area as an indicator, the factors affecting extraction efficiency were investigated. Results showed that, the best experimental conditions with acetonitrile (1.0 mL, 5% formic acid) as desorption solution, sample solution volume 10 mL, pH7, NaCl 2.0 g, extraction temperature 50℃. Enrichment factor ranged from 14.2 to 30.8. The linear range of 6 fluoroquinolone drugs was 0.38~0.70 μg/L, the relative standard deviation was between 2.4% and 8.5%, and the recovery rate was 75.20%~95.4%. 2.1 μg/L norfloxacin and 4.8 μg/L ofloxacin were detected in brand milk 2 and market fresh milk respectively. This method with low matrix effect is sensitive, simple, accurate, and can be successfully applied to the detection of residual fluoroquinolones in milk.

Key words: graphene hollow fiber; solid-phase microextraction; high performance liquid chromatography; milk; fluoroquinolones; antibiotics

中图分类号: TS252.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)18-0243-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.18.040

引文格式: 唐可仁, 张孜彤, 雷婷, 等. 石墨烯 HF-SPME-HPLC 测定牛奶中氟喹诺酮类抗生素残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 243-249.

收稿日期: 2018-04-25

+ 并列第一作者

作者简介: 唐可仁(1995-), 男, 大学本科, 研究方向: 药物分析技术, E-mail: 15556362867@163.com。

张孜彤(1998-), 男, 大学本科, 研究方向: 药物分析技术, E-mail: 1289787189@qq.com。

* 通讯作者: 王振忠(1982-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 药物分析, E-mail: zone125@163.com。

基金项目: 十堰市科学技术研究与开发项目计划(16Y05, 16Y04); 湖北省教育厅中青年人才项目(Q20182102); 武当特色中药研究湖北省重点实验室开放课题(WDCM2018001); 湖北省大学生创新创业训练计划项目(201710929037); 湖北省大学生创新创业训练计划项目(201810929065)。

氟喹诺酮类药物 (Fluoroquinolones, FQs) 是一类人工合成的重要抗生素, 具有抗菌谱广、杀菌力强的特点。因其吸收快、组织分布广泛, 可治疗各个系统的感染性疾病而被广泛应用于畜牧及水产养殖等领域中^[1-3]。然而抗生素类兽药不规范的滥用, 会对乳制品类、肉类、蛋类等农畜产品造成 FQs 残留污染。长期食用含抗生素残留的动物源食品后, 会使致病细菌产生耐药性, 间接影响人体健康^[4-5]。我国规定动物源食品中环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星、沙氟沙星的最高残留限量不得超过 10~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[6]。牛奶作为人类最常食用的动物源食物之一, 建立价格低廉、高效、灵敏的方法检测牛奶中 FQs 抗生素残留非常重要。

乳制品基质复杂, 残留的 FQs 多处于痕量水平, 因此样品前处理是整个测定乳制品中 FQs 分析过程的关键步骤, 目的在于分离和富集样品中的痕量待测组分, 减少基体干扰。中空纤维膜具有多孔性和一定的机械强度, 多被作为微量溶剂的支撑体用于液相微萃取。然而该技术存在有机液膜种类有限、易流失及选择性低等问题。中空纤维固相微萃取 (Hollow solid microextraction, HF-SPME) 是 2004 年由 Lee 等提出的一种新型的样品前处理技术, 和中空纤维液相微萃取相比, 具有选择性高、固定化程度高、可重复使用等特点^[7]。近年来, 以中空纤维作为载体, 其他功能性的固定相为增强体的中空纤维固相微萃取技术被广泛应用于复杂样品的前处理^[8]。石墨烯作为由碳原子的六元环组成的一种新型二维纳米材料, 具有较高比表面积 (理论比表面积 2630 m^2/g), 含有大量可以自由移动的 π 电子, 对含苯环的物质具有强烈的 π - π 堆叠作用, 可作为吸附材料用于样品前处理^[9-10]。

本研究将以中空纤维膜作为模板, 石墨烯作为增强体, 利用溶胶-凝胶物理方法固定于 HF 孔中, 制备新型的石墨烯增强中空纤维 (Graphene reinforced hollow fiber, G-HF), 从而发展集采样、萃取、浓缩于一体的样品前处理技术。此技术与高液相色谱法联用, 优化萃取条件, 实现牛奶中 FQs 分离富集及检测, 预期在乳制品检验、环境分析等领域具有应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

盒装牛奶 十堰市某超市的两种不同品牌纯牛奶, 牛奶在保质期内; 新鲜牛奶 十堰市某市场; 六种氟喹诺酮类药物: 芦氟沙星 (Rufloxacin, Ruf)、左氧氟沙星 (Ofloxacin, Of)、诺氟沙星 (Norfloxacin, Nor)、恩诺沙星 (Enrofloxacin, Enr)、沙氟沙星 (Sarafloxacin, Sar)、培氟沙星 (Pefloxacin, Pef) 美国 Sigma 公司, 纯度均大于 98%, 用 25 mmol/L 磷酸配成 2 mg/mL 标准储备液, 所有样品溶液均避光保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中; 正硅酸乙酯、无水磷酸氢二钠、磷酸、三乙胺、甲酸、氯化钠 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈 色谱纯, 美国 Fisher Scientific 公司; 单层石墨烯粉末 (片径 0.5~5 μm , 厚度 0.8~1.2 nm) 南京先

丰纳米材料科技有限公司; 聚丙烯中空纤维 (内径 700 μm , 壁厚 600 μm , 孔径 0.3 μm) 天津膜天膜科技股份有限公司。

LC-20AT 高效液相色谱仪 (配置紫外可变波长检测器与自动进样器)、intertsil ODS-3 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 日本岛津公司; Millipore Simplicity 185 超纯水机 美国默克密理博公司; KQ3200ES 超声波清洗仪 昆山市超声仪器有限公司; PHS-25 型 pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司; HYQ-2110 涡旋混匀器 南京畅翔仪器设备有限公司; 100 μL 微量进样器 上海高鸽工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 石墨烯中空纤维的制备 根据参考文献[8]制备二氧化硅溶胶, 将 30 mL 正硅酸乙酯加入 30 mL 无水乙醇和 9 mL 去离子水混合溶液中, 在搅拌条件下逐滴加入 1.0 mL 38% 盐酸, 室温下老化 24 h, 待正硅酸乙酯完全水解为二氧化硅溶胶。

准确称取 20 mg 的石墨烯纳米片, 加入到 10 mL 的二氧化硅溶胶中, 搅拌 30 min 形成石墨烯/二氧化硅复合溶胶。将长度为 1 cm 聚丙烯中空纤维完全浸没在石墨烯/二氧化硅复合溶胶中, 在室温下超声 30 min, 石墨烯/二氧化硅复合溶胶通过层层自组装作用, 沉积在聚丙烯中空纤维的多孔表面, 从溶胶中取出中空纤维, 氮气保护 120 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥 30 min。将此操作重复 3 次, 最后得到表面为黑色的石墨烯中空纤维。

1.2.2 样品前处理 准确量取牛奶样品 10 mL 于 15 mL 离心试管中, 加入 100 μL 的 FQs 标准储备液, 加入 100 μL 36% 醋酸, 涡旋混匀 1 min, 在 5 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 8000 r/min 离心 10 min, 将上清液用 0.45 μm 滤膜过滤, 得澄清溶液, 最后加入蒸馏水将其定容至 10 mL 备用。将处理后的牛奶溶液置于 20 mL 玻璃瓶中, 再加入 1.0 mL 0.05 mol/L 磷酸氢二钠 (pH = 7) 溶液, 2.0 g NaCl, 涡旋使 NaCl 完全溶解, 将中空纤维完全浸入玻璃瓶中, 50 $^{\circ}\text{C}$, 150 W 超声萃取 40 min。萃取结束后, 用镊子取出中空纤维, 置于 1.5 mL 离心管中用乙腈 (含 5% 甲酸) 1.0 mL 超声解析 5 min。用氮气将解析液吹干, 沿管壁加入 100 μL 流动相复溶, 涡旋均匀。用微量进样器吸取 20 μL 注入 HPLC 仪分析。标准混合溶液的萃取步骤同上, 将牛奶溶液替换成标准混合溶液即可。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: intertsil ODS-3 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.5% 三乙胺-磷酸缓冲溶液 (pH = 2.5), 流动相 B 为甲醇, A: B = 68: 32 (V/V); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 280 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 流动相 pH 的选择 由于 FQs 具有两性基团, 在水溶液中通常以离子形式存在。普通的 C18 柱填料表面残存的硅醇基或金属离子此类物质有强烈吸附作用, 导致色谱峰易出现拖尾现象。根据离子对色谱理论, 需要在流动相中加入反离子, 并且在一定酸度条件下进行分离。以三乙胺-磷酸缓冲溶液作

为反离子,添加到甲醇流动相中,并且考察了缓冲溶液分别在 pH2.5、3.5、4.5 时 FQs 的分离情况。

1.2.5 萃取体系 pH 的影响 以石墨烯中空纤维进行固相微萃取,萃取体系 pH 分别选择 4、5、6、7、8、9,以萃取后样品的峰面积为指标,考察不同萃取 pH 环境对 FQs 萃取效率的影响。解析液为乙腈(含 5% 甲酸)1.0 mL,样品体积 10.0 mL,NaCl 2.0 g,萃取温度为 50 ℃,萃取时间 40 min,其它条件同 1.2.2。

1.2.6 萃取时间的影响 以石墨烯中空纤维进行固相微萃取,分别选择 10、20、30、40、50、60 min,以萃取后样品的峰面积为标准考察不同萃取时间对 FQs 萃取效率的影响。解析液为乙腈(含 5% 甲酸)1.0 mL,样品体积 10.0 mL,NaCl 2.0 g,萃取体系 pH = 7,萃取温度为 50 ℃,其它条件同 1.2.2。

1.2.7 萃取温度的影响 以石墨烯中空纤维进行固相微萃取,分别选择 30、40、50、60、70 ℃,以萃取后样品的峰面积为标准考察不同萃取温度对 FQs 萃取效率的影响。解析液为乙腈(含 5% 甲酸)1.0 mL,样品体积 10.0 mL,萃取体系 pH = 7,NaCl 2.0 g,萃取时间 40 min,其它条件同 1.2.2。

1.2.8 离子强度的影响 以石墨烯中空纤维进行固相微萃取,在萃取体系中分别加入 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g NaCl,以萃取后样品的峰面积为标准考察不同离子强度对 FQs 萃取效率的影响。解析液为乙腈(含 5% 甲酸)1.0 mL,样品体积 10.0 mL,萃取体系 pH = 7,萃取温度 50 ℃,萃取时间 40 min,其它条件同 1.2.2。

1.2.9 解析液的考察 以石墨烯中空纤维进行固相微萃取,分别选择体积为 1.0 mL 的 3 种不同溶剂:100% 甲醇、甲醇 + 甲酸(体积比 95:5)、乙腈 + 甲酸(体积比 95:5),以萃取后样品的峰面积为标准考察不同类型解析液对 FQs 解析效率的影响。样品体积 10.0 mL,萃取体系 pH = 7,萃取温度 50 ℃,NaCl 2.0 g,萃取时间 40 min,其它条件同 1.2.2。

1.2.10 方法学考察 配制 1、10、50、200、500、1000 μg/L 系列 FQs 混合标准溶液,按实验方法 1.2.2 进行测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标作图,考察方法的线性范围;检出限以仪器信噪比的 3 倍计算;对 200 μg/L 的 FQs 标准溶液在日内和日间分别平行测定 6 次,考察方法重现性。以分析物被萃取前后色谱峰相对面积之比计算富集倍数。

1.2.11 样品回收率的测定 在牛奶分别中加入一定量的 2000 μg/L 的 FQs 混合标准溶液,最后得到 FQs 分别为 20、100 μg/L 两个质量水平的牛奶溶液,按 1.2.2 方法对牛奶进行预处理,将处理后的牛奶溶液取 10 mL 置于 20 mL 玻璃瓶中,再按 1.2.2 所述方法进行石墨烯中空纤维固相微萃取,计算加标回收率。三种市售牛奶样品预处理后,各取 10 mL 置于 15 mL 具塞玻璃离心管中,再按 1.2.2 所述方法进行处理,计算 FQs 实际含量。

1.3 数据处理

使用 DPS (Data Processing System) 2006 软件进

行单因素方差分析,采用 LSD (Least Significant Difference) 法多重比较模型分析不同样品之间的显著性差异,所得结果用平均值 (AV)、标准差 (SD) 显示于柱状图中,显著度水平设置为 0.05。

2 结果与分析

2.1 流动相 pH 的考察

本实验分别考察了流动相 pH2.5、3.5、4.5 条件下 FQs 的分离情况,结果如图 1 所示。当 pH4.5 时,左氧氟沙星/培氟沙星以及诺氟沙星/恩诺沙星这两对均未达到基线分离,当 pH3.5 时,培氟沙星/诺氟沙星这一对未达到基线分离。而 pH2.5 时,所有样品均达到基线分离。随着 pH 变大,氟喹诺酮的分离变差,色谱峰展宽,灵敏度降低。因此本实验选择 pH2.5 条件下进行分离,可以达到最佳的分离效果。

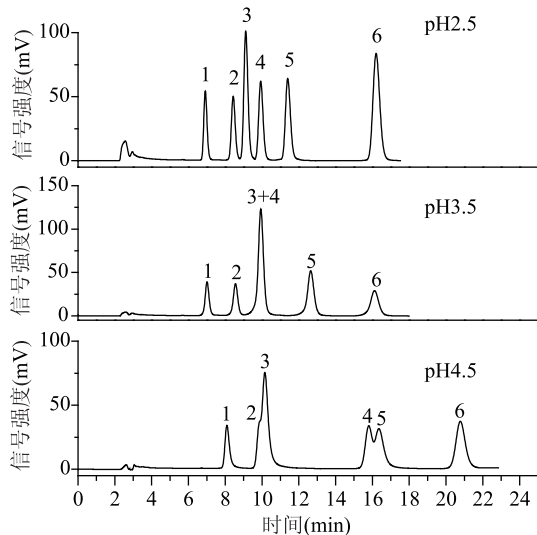


图1 流动相 pH 对分离的影响

Fig.1 Effect of mobile phase pH on the separation

注:1.芦氟沙星;2.左氧氟沙星;3.培氟沙星;

4.诺氟沙星;5.恩诺沙星;6.沙氟沙星;图7同。

2.2 萃取条件的考察

2.2.1 萃取体系 pH 的影响 萃取体系 pH 在 4~9 变化时,萃取效率的变化如图 2 所示,随萃取体系 pH 逐渐升高,6 种 FQ 物质的萃取效率,均呈现“先升后降”的趋势,且在近中性 (pH = 6~8) 时达到最大。左氧氟沙星萃取效率极大值出现在 pH = 6,其它 5 种 FQ 物质均出现在 pH = 7。芦氟沙星的萃取效率在 pH = 7 时显著高于其它 pH 水平。培氟沙星、诺氟沙星萃取效率在 pH = 6~8 三水平之间差异不显著,但仍显著区别于其它 pH 水平。恩诺沙星萃取效率在 pH = 7~8 二水平之间差异不显著,但仍显著区别于其它 pH 水平。左氧氟沙星萃取效率在 pH = 6 时最大,与 pH = 7、8 比较差异不显著,但仍显著区别于其它 pH 水平。沙氟沙星萃取效率在 pH = 5~9 范围内差异不显著。从待分析物结构上看,氟喹诺酮含羧基和哌嗪基,为两性物质。当萃取体系 pH 近中性时,氟喹诺酮以中性分子存在,与石墨烯之间疏水作用和 π - π 电子堆积作用力较强,具有最佳的萃取效果。综合来分析,实验选择样品溶液的 pH 为 7。

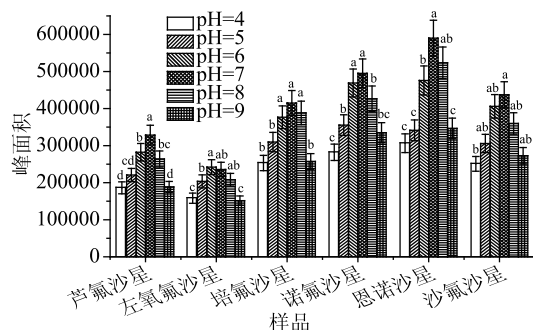


图2 pH对萃取效率的影响

Fig.2 Effects of pH on the extraction efficiency

注:不同小写字母代表不同水平下,

同一 FQ 萃取效率显著性差异 ($P < 0.05$); 图3~图6同。

2.2.2 萃取时间的影响 不同萃取时间对氟喹诺酮类药物的萃取效率的影响,如图3所示。随着萃取时间的延长,6种FQ物质的萃取效率均不断升高,并在一定时间(30~40 min)后趋近稳定。芦氟沙星与诺氟沙星的萃取效率自40 min后的各水平差异不显著。而左氧氟沙星、培氟沙星、恩诺沙星与沙氟沙星4种FQ物质的萃取效率自30 min后的各水平差异不显著。由此可知制备的石墨烯中空纤维对6种FQ物质经过40 min萃取后,即可达到饱和,再延长萃取时间对萃取效率影响较小。故实验选用萃取时间为40 min。

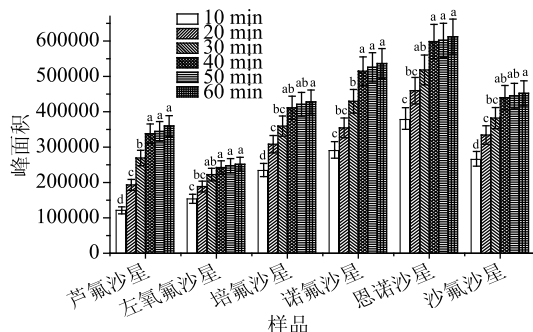


图3 时间对萃取效率的影响

Fig.3 Effects of extraction time on the extraction efficiency

2.2.3 萃取温度的影响 本实验考察了不同萃取温度对氟喹诺酮类药物的萃取效率的影响,如图4。随萃取温度逐渐升高,6种FQ物质的萃取效率,均出现先上升后下降的趋势,且均在50℃时达到最大。各物质的萃取效率在40~60℃三水平内差异不显著。从中空纤维-固相微萃取机理分析,被分析物在样品和中空纤维涂层间分配平衡,温度的增高会提高分析物的扩散系数,有利于分析物从样品溶液向萃取纤维的表面扩散,从而可以提高纤维的萃取效率,因此从30℃上升至50℃,各物质萃取效率会上升;温度的继续上升会降低分析物在萃取纤维中的分配系数,从而降低纤维对分析物的吸附能力,因此从50℃开始,各物质萃取效率反而下降。因此,本实验选择的最佳萃取温度为50℃。

2.2.4 离子强度 本实验采用加入不同质量的NaCl考察离子强度对萃取效率的影响,结果如图5所示,

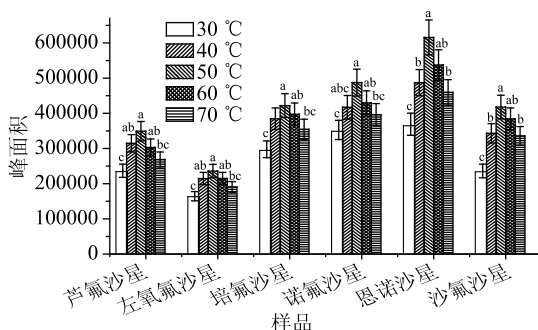


图4 温度对萃取效果的影响

Fig.4 Effects of extraction temperature on the extraction efficiency

随加入NaCl逐渐增多,离子强度增大,6种FQ物质的萃取效率,均出现先上升后下降的趋势,且均在NaCl为2.0 g时达到最大。培氟沙星的萃取效率在NaCl在1.5~2.0 g二水平差异不显著,恩诺沙星的萃取效率在NaCl在1.5~2.5 g四水平均差异不显著。由于盐析效应,盐离子在水溶液中具有竞争作用,而导致水溶液中溶解的有机物浓度会有一定程度的降低^[12-13]。因此离子强度增大,盐析效应逐渐增强,分析物在水中的溶解度降低,在纤维上的分配系数增大,从而有利于萃取效率的提高,表现出NaCl从0.5 g增加至2.0 g时,6种FQ物质萃取效率的显著上升,盐析效应占主导作用;但是随着离子强度持续增大,溶液的粘度和密度增大,传质阻力增大的同时会降低分析物的传质效率,并带来更强的竞争吸附,不利于萃取^[12-13],因此自NaCl 2.0 g继续加大,6种FQ物质萃取效率出现微弱下降趋势,说明存在着传质阻力及竞争吸附。综合考虑两方面因素,本实验选择的工作溶液中加入NaCl的质量为2.0 g。

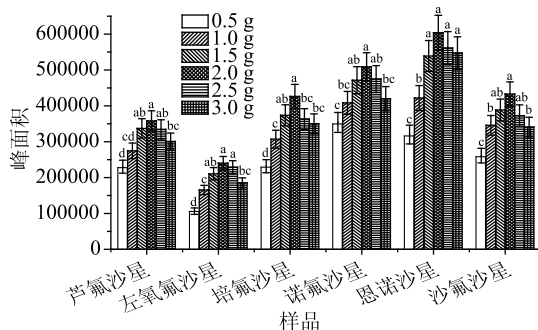


图5 离子强度对萃取效率的影响

Fig.5 Effects of salt addition on the extraction efficiency

2.2.5 解析液的考察 本实验分别选择(a)甲醇(1.0 mL)、(b)甲醇(1.0 mL,含5%甲酸)、(c)乙腈(1.0 mL,含5%甲酸)三种解析液考察不同类型解析液对FQs解析效率的影响,结果如图6所示。6种FQ物质的萃取效率均是采用乙腈(1.0 mL,含5%甲酸)时最高。除芦氟沙星的萃取效率在使用解析液甲醇(1.0 mL,含5%甲酸)时与解析液乙腈(1.0 mL,含5%甲酸)差异不显著,其它5种FQ物质相较其它两种解析液差异显著,表明甲醇与乙腈因官能团和粘

表1 6种FQs的线性范围、检出限、精密度和富集倍数
Table 1 Linear equation, limit of detection, RSD and enrichment factor for six FQs

分析物	线性范围 (μg/L)	R ²	检出限 (μg/L)	富集倍数	重现性 RSD(%)			其他方法比较检出限 (μg/L)
					日内 n=6	日间 n=6	不同批次 纤维间 n=3	
Ruf	1~1000	0.9962	0.45	30.8	2.4	5.4	8.5	25.7 LE ^[18]
Ofl	1~1000	0.9929	0.70	20.0	4.3	5.7	6.4	6.8 SPE ^[15]
Pef	1~1000	0.9873	0.40	17.8	3.4	4.2	4.8	0.8SPE ^[16]
Nor	1~1000	0.9942	0.40	30.3	4.8	3.7	4.2	1.1PMME ^[17] 0.8SPE ^[16]
Enr	1~1000	0.9923	0.38	28.5	2.8	3.9	6.7	0.6LLME ^[14] LE 5 ^[19]
Sar	1~1000	0.9886	0.55	14.2	3.2	4.5	5.9	3.9LE ^[20] LE 5 ^[19]

度等不同带来的溶剂效应对芦氟沙星的萃取影响较弱,而对其它5种FQ物质影响较大。诺氟沙星与沙氟沙星的萃取效率采用解析液甲醇(1.0 mL)与甲醇(1.0 mL,含5%甲酸)时差异不显著,其它4种FQ物质的萃取效率采用解析液甲醇(1.0 mL)与甲醇(1.0 mL,含5%甲酸)均显著,说明添加剂5%甲酸提供的质子作用于甲醇与FQ的质子效应对诺氟沙星与沙氟沙星的萃取影响微弱,而对其它4种FQ物质影响较大。因此,本实验选择的解析溶液为乙腈(含5%甲酸)。

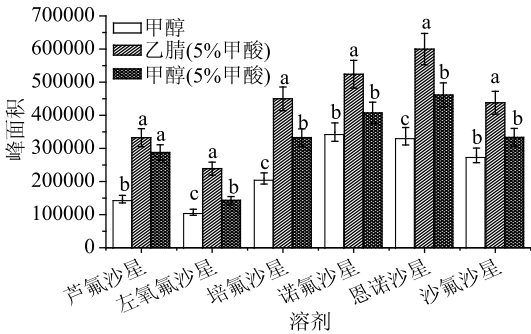


图6 不同解析液对萃取效率的影响
Fig.6 Effects of salt addition on the extraction efficiency

2.3 线性范围、检出限、精密度、富集倍数

线性范围、检出限、方法重现性(RSD)、不同批次石墨烯中空纤维间的重复性结果见表1。与液相微萃取法(LLME)^[14]法、固相萃取法(SPE)^[15-16]、聚合物整体柱微萃取(PMME)^[17]、常规的液相萃取(LE)^[18-20]比较了分析灵敏度。结果显示,6种标准品的线性范围为1~1000 μg/L,线性相关性较好(R²>0.9873),日内日间RSD 2.4%~5.7%,不同纤维间RSD 4.2%~8.5%,方法的精密度较好。方法检出限为0.38~0.70 μg/L,和上述其他前处理方法相比灵敏度较高,说明通过石墨烯中空纤维对FQS较强吸附,以及解析液经氮气吹干再用微量流动性复溶,FQS被成功富集,富集倍数为14.21~30.80。

2.4 样品测定

考察了两种不同品牌的盒装牛奶和市售鲜奶的回收率,结果见表2。实际样品中6种氟喹诺酮类药物的加标回收率为75.2%~95.4%,取得了较高的回收率,满足国标对残留分析的要求,当加标量小于0.1 mg/kg时,回收率介于60%~120%之间可认为样品基质对实验并无显著影响^[21]。盒装牛奶和鲜牛奶中均检出部分FQS残留,其中市售鲜奶中沙氟沙星检出4.8 μg/L,残留量低于国标规定的最高限量30 μg/L^[6],品牌牛奶2中检出国标禁用的诺氟沙星

表2 样品测定结果
Table 2 Analytical results of samples

分析物	加标量 (μg/L)	回收率(%, n=5)			检出值(μg/L)		
		品牌牛奶1	品牌牛奶2	市售鲜奶	品牌牛奶1	品牌牛奶2	市售鲜奶
芦氟沙星	20	78.8	83.5	85.2	ND	ND	ND
	100	90.8	92.0	95.4			
左氧氟沙星	20	87.4	82.1	82.4	ND	ND	ND
	100	84.5	83.8	91.4			
培氟沙星	20	86.4	77.9	83.7	ND	ND	ND
	100	92.7	93.2	95.1			
诺氟沙星	20	89.2	87.5	86.2	ND	2.1	ND
	100	93.8	75.2	84.7			
恩诺沙星	20	92.4	88.7	78.2	ND	ND	ND
	100	88.6	83.9	93.9			
沙氟沙星	20	93.4	82.2	83.7	ND	ND	4.8
	100	87.4	91.6	89.2			

注:ND:未检出。

2.1 $\mu\text{g/L}$ ^[22],空白牛奶样品加标萃取后的色谱图如图7所示。

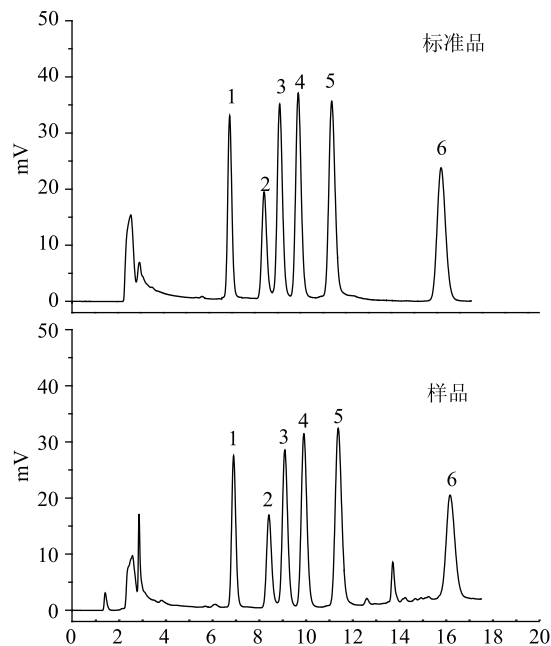


图7 空白牛奶样品加标及标准品溶液萃取后色谱图

Fig.7 Chromatograms by extraction of blank milk adding standard and standard solution

注:样品加标为 200 $\mu\text{g/L}$ 。

3 结论

本研究以中空纤维膜作为模板,石墨烯作为增强体,利用溶胶-凝胶物理方法固定于 HF 孔中,制备了新型的石墨烯增强中空纤维(Graphene reinforced hollow fiber, G-HF)。在最佳萃取条件下,建立了一种石墨烯增强中空纤维固相微萃取(G-HF-SPME)同时测定牛奶中 6 种 FQs 的方法,该方法对 6 种 FQs 线性良好,检出限为 0.38~0.70 $\mu\text{g/L}$,相对标准偏差 不高于 8.5%,加标回收率可达 75.2%~95.4%,并成功用于牛奶中氟喹诺酮残留的测定,在品牌牛奶 2 和市区鲜奶中分别检出 2.1 $\mu\text{g/L}$ 诺氟沙星和 4.8 $\mu\text{g/L}$ 沙氟沙星。本研究在一定程度上消除了复杂样品基质对测定的干扰,提高了测试液中目标物的浓度及检测灵敏度,并且避免了常规固相萃取法耗材昂贵的缺点,在乳制品中 FQs 残留分析有一定的推广应用价值。

参考文献

- [1] 张俊丰,陈琳.氟喹诺酮类药物在兽医临床的应用[J].兽药与饲料添加剂,2002(7):13-15.
- [2] Hu G, Sheng W, Zhang Y, et al. A novel and sensitive fluorescence immunoassay for the detection of fluoroquinolones in animal-derived foods using upconversion nanoparticles as labels[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(28): 8487-8496.
- [3] Song J S, Park S J, Choi J Y, et al. Development of analytical method and monitoring of veterinary drug residues in Korean animal products[J]. Korean Journal For Food Science of Animal Resources, 2016, 36(3): 319-325.

- [4] De L V, Fantin B. Impact of fluoroquinolones on human microbiota. Focus on the emergence of antibiotic resistance[J]. Future Microbiol, 2015, 10(7): 1241-1255.
- [5] Kamath A. Fluoroquinolone induced neurotoxicity: A review[J]. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research, 2013, 3(1): 16-19.
- [6] 中华人民共和国农业部 2002 年第 235 号公告:动物性食品中兽药最高残留限量[EB]. 2002.
- [7] Xu L, Lee H K. Zirconia hollow fiber: Preparation, characterization, and microextraction application[J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(14): 5241-5248.
- [8] Li J, Su Q, Li K Y, et al. Rapid analysis of phthalates in beverage and alcoholic samples by multi-walled carbon nanotubes/silica reinforced hollow fiber-solid phase microextraction[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 784-790.
- [9] Liu Q, Shi J B, Zeng L X, et al. Evaluation of graphene as an advantageous adsorbent for solid-phase extraction with chlorophenols as model analytes[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(2): 197-204.
- [10] Wang Y K, Gao S T, Zang X H, et al. Graphene-based solid-phase extraction combined with flame atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of trace amounts of lead in environmental water and vegetable samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 716: 112-118.
- [11] Babić S, Horvat A J M, Pavlović D M, et al. Determination of pK_a values of active pharmaceutical ingredients[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2007, 26(11): 1043-1061.
- [12] Fan J, Dong Z L, Qi Meiling, et al. Monolithic graphene fibers for solid-phase microextraction[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1320: 27-32.
- [13] 张琦,孙源海,苏岩,等.盐析顶空气相色谱法分析废水中醇类污染物[J].环境研究与检测,2007,20(2):30-31.
- [14] 孙鹏,乔石,郭秀娟,等.离子液体分散液相微萃取 HPLC 法测定液体奶中恩诺沙星和环丙沙星[J].药物分析杂志, 2017, 37(1): 111-116.
- [15] 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.
- [16] 邹晨阳,韩小江. HPLC 法同时测定牛奶中 7 种磺胺类药物和 4 种氟喹诺酮类药物[J].中国卫生检验杂志, 2011, 21(2): 353-355.
- [17] 黄京芳,冯钰琦,林幸华.聚合物整体柱管内固相微萃取-高效液相色谱在线联用测定血浆中的氟喹诺酮类药物[J].中国药理学杂志,2009,44(12):941-945.
- [18] 孙鹏,乔石,郭秀娟,等.离子液体分散液相微萃取 HPLC 法测定液体奶中恩诺沙星和环丙沙星[J].药物分析杂志, 2017, 37(1): 111-116.
- [19] 廖洁丹,李智丽,张济培,等.高效液相色谱荧光检测法测定牛奶中 4 种氟喹诺酮类药物残留[J].中国兽医杂志, 2018, 54(3): 104-108.
- [20] 杨勇,姚天月,龚兴旺. HPLC-DAD 法测定牛奶中 6 种氟喹诺酮类药物残留的研究[J].卫生职业教育,2017,35(17): 97-99.

电商物流包装贮运 对‘翡翠’荔枝贮藏品质的影响

蒋依辉,黄泽鹏,刘伟,凡超,金峰,向旭*

(广东省农业科学院果树研究所,农业部亚热带果树生物技术
与遗传资源利用重点实验室,广东省热带亚热带果树研究重点实验室,广东广州 510640)

摘要:本文以荔枝新品种‘翡翠’、传统大宗品种‘桂味’为试材,分析了运用冰袋结合电商包装的物流包装贮运方法下荔枝果实采后生理及贮藏品质变化,同时也探究了‘翡翠’品种的贮藏特性。结果表明,电商物流包装贮运方式显著($P < 0.05$)降低了荔枝果实的呼吸强度、相对电导率;减缓了荔枝可溶性固形物(TSS)、可滴定酸(TA)及 V_C 含量的下降,并抑制了 ΔE^* 值的上升和 L^* 值的下降,保持了较好的果实感官品质。电商物流包装贮运方式还显著($P < 0.05$)降低了贮运期间特别是贮运中后期荔枝的失重率、褐变指数,并维持了较高的好果率,因此电商物流包装贮运方式可延缓果实衰老,延长贮藏期。同时,与‘桂味’相比,荔枝新品种‘翡翠’显示出更低的呼吸强度、相对电导率、 ΔE^* 值及感官品质变化。此外,‘翡翠’荔枝的失重率、褐变指数低于‘桂味’,好果率及贮藏期均高于‘桂味’,表明‘翡翠’荔枝有着较好的持水性和耐贮性。

关键词:电商物流,‘翡翠’荔枝,贮运,包装,采后生理,品质

Effect of E-commerce Logistics Packaging and Transportation on the Storage Quality of ‘Feicui’ Litchi

JIANG Nong-hui, HUANG Ze-peng, LIU Wei, FAN Chao, JIN Feng, XIANG Xu*

(Guangdong Province Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Key Laboratory of South Subtropical Fruit Biology and Genetic Resource Utilization, Ministry of Agriculture, Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this paper, the changes of physiological and storage quality in postharvest fruits under logistics packaging and storage using ice bag combined with e-commerce packaging were analyzed with the new litchi variety ‘Feicui’ and the traditional variety ‘Guiwei’ as test materials, and the storage characters of the new cultivar ‘Feicui’ was explored. The results showed that, e-commerce logistics packaging and storage significantly ($P < 0.05$) reduced the respiratory intensity and relative conductivity of litchi fruit, delayed the decreasing of soluble solids (TSS), titratable acid (TA) and V_C contents, inhibited the increasing of ΔE^* value and the decreasing of L^* value, maintained a good sensory quality of litchi fruit. The weight loss rate and browning index of litchi during storage, especially in the middle and late stages of storage, were significantly ($P < 0.05$) reduced, and the good fruit rate was maintained. Therefore, e-commerce logistics packaging and storage mode could delay fruit senescence and prolong storage period. At the same time, compared with ‘Guiwei’, the new litchi variety ‘Feicui’ showed lower respiratory intensity, relative conductivity, ΔE^* value and sensory quality changes. In addition, the weight loss rate and browning index of ‘Feicui’ were lower than ‘Guiwei’, and the good fruit rate and storage period were higher, which indicated that ‘Feicui’ litchi had better water holding capacity and storage resistance.

Key words: e-commerce logistics; ‘Feicui’ litch; storage; packing; postharvest physiology; quality

收稿日期:2019-01-24

作者简介:蒋依辉(1973-),女,硕士,副研究员,研究方向:南方果树栽培育种及保鲜技术研究, E-mail: jiangnonghui2002@163.com。

*通讯作者:向旭(1964-),男,博士,研究员,主要从事荔枝栽培育种方面的研究, E-mail: 1175628924@qq.com。

基金项目:广东省科技厅公益研究与能力建设(2017A030303042);广东省科技厅公益研究与能力建设项目(2017A070702005);广东省农业科学院学科团队建设项目(201626TD);中山市社会公益科技研究项目(2018C2001)。

[21] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[22] 中华人民共和国农业部. 2015 年第 2292 号公告: 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[EB]. 2015.