

水产品中喹诺酮类药物检测方法研究进展

赖长胜, 刘天密*, 林毅, 王安伟

海南省水产品质量安全检测中心, 海南 海口

收稿日期: 2025年2月3日; 录用日期: 2025年2月23日; 发布日期: 2025年3月6日

摘要

喹诺酮类药物作为一种具备高效良好性的抗菌灭毒药物, 在具备抗病毒和抗真菌的作用的同时, 还具有很好的利用度和耐受性, 在水产养殖病害防治领域中广泛使用。随着应用越来越普遍, 喹诺酮的耐药性、药物残留问题屡见不鲜, 给水产养殖业的发展及人类的生活都带来了极大的危害。本文将现有关于喹诺酮类药物残留的检测技术及研究进展做一简单综述和分析, 希望能为今后的水产品安全检测工作提供一些帮助和思考。

关键词

水产品, 喹诺酮, 检测方法

Research Progress on Detection Methods of Quinolone Drugs in Aquatic Products

Changsheng Lai, Tianmi Liu*, Yi Lin, Anwei Wang

Hainan Provincial Aquatic Product Quality and Safety Testing Center, Haikou Hainan

Received: Feb. 3rd, 2025; accepted: Feb. 23rd, 2025; published: Mar. 6th, 2025

Abstract

Quinolones, as highly efficient and effective antibacterial and antiviral drugs, not only have antiviral and antifungal effects, but also have affordable properties with good utilization and tolerance. They are widely used in the field of aquaculture disease prevention and control. With the increasing popularity of quinolone applications, the problems of quinolone resistance and drug residue are not uncommon, which have brought great harm to the development of aquaculture and human life. This article provides a brief review and analysis of the existing detection techniques and research progress on quinolone drug residues, hoping to provide some help and reflection for future aquatic

*通讯作者。

product safety testing work.

Keywords

Aquatic Products, Quinolone, Test Method

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

喹诺酮类, 又名吡酮酸类或吡啶酮酸类, 是一类含 4-喹诺酮基本结构的人工合成抗菌药物。随着我国水产养殖业的迅速发展, 因为喹诺酮类药物能够在细菌 DNA 复制过程中引发解链和重聚异常现象, 进而对细菌造成不可逆的损伤, 所以被广泛应用于预防和治疗水生生物常见的各种细菌性疾病[1]-[3], 包括淡水类出血性败血症、腐皮病、肠炎病、烂鳃病、牛蛙红腿病等。美国 FDA 于 2005 年宣布禁止用于治疗家禽细菌感染的抗菌药物恩诺沙星的销售和使用[4]。我国农业农村部也规定了恩诺沙星、达氟沙星在鱼肉中最大残留限量为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、沙拉沙星在鱼肉中最大残留限量为 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。中华人民共和国农业部公告第 2292 号中规定停止经营、使用用于食品动物的洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星 4 种原料药的各种盐、酯及其各种制剂[5]。因此, 对水产品中喹诺酮类药物进行残留检测研究非常有必要。

2. 检测方法

目前对水产品中喹诺酮类药物的检测方法主要有: 微生物法、高效液相色谱法(HPLC)和超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)、酶联免疫吸附测定法(ELISA)、毛细管电泳法(CE)等。

2.1. 微生物法

微生物法是利用抗生素对微生物的杀死或抑制作用, 来定性或定量样品喹诺酮类药物残留。微生物检测法具有相关性好、检测药物广泛、处理简单、成本低和适用大范围快速筛选等优点。黄晓蓉等[6]介绍了一种采用 E.coli ATCC8739 为检测菌, 检测鳊鱼中喹诺酮类药物残留的微生物抑制试验方法, 该方法检测低限为环丙沙星 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 恩诺沙星 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 其它喹诺酮类药物 50~250 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 6~8 h 即出结果。鳊鱼及其制品的恩诺沙星的回收率为 75.89%~83.12%。由此可见该方法完全能够满足当前对喹诺酮类药物残留初筛检测的要求, 适用于大批量的样品检测。

2.2. 高效液相色谱法(HPLC)

高效液相色谱法是基于药物分子在色谱柱中的不同分离特性, 结合紫外(UV)或荧光检测器, 对药物进行定量分析。高效液相色谱法具有分离度好、灵敏度高, 重复性好等优点。童文羽等[7]改进了农业部 783 号公告-2-2006 水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星残留量的高效液相色谱法, 对样品的提取条件和色谱方法进行了优化分析。结果显示方法漂移率小, 对三种喹诺酮类药物标准曲线回归系数在 0.999 以上, 线性范围 1~1000 $\mu\text{g}/\text{L}$, 定量限 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。对草鱼、对虾样品进行三种喹诺酮类药物加标回收率的验证实验, 回收率在 79.2%~105.0%之间, 相对标准偏差在 0.83%~9.85%之间, 批次间标准偏差在 5.00%~10.57%之间, 该方法前处理提取效率和准确度满足我国现行兽药残留检测分析要求, 可用于水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星药物残留量的测定。

2.3. 超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)

超高效液相色谱-串联质谱是一种先进分析技术,将超高效液相和串联质谱相结合,能够快速准确检测和定量复杂化合物。前端超高效液相负责分离样品分子,将其引入串联质谱进行检测和分析。在串联质谱中,离子化技术对分子进行离子化,质谱分析器将其进行质量分析和定量分析。相比其他方法,具有更好灵敏度和分辨率是近些年实验室最为常用检测方法。张莉等[8]建立了改良 Qu ECh ERS 结合超高效液相色谱-串联质谱方法检测市售淡水鱼中 11 种喹诺酮类抗生素残留。对提取液体系、用量、净化条件及色谱质谱条件等方面进行优化,最终选取冰乙酸-乙腈-水(1+89+10, 体积比)作为提取液,无水硫酸钠脱水, C18 吸附剂净化, UPLC-MS/MS 检测,同时基质匹配标准曲线降低样品中基质效应的影响,使方法的准确度、精密度、灵敏度、重现性均能满足分析要求,节省成本,适用于大批量实际样品的快速检测。

2.4. 酶联免疫吸附(ELISA)

酶联免疫吸附法它是将可溶性抗原(抗体)吸附到某种固相表面,并保持抗原(抗体)免疫活性,这样在与标本中抗体(抗原)反应后,只需经过固相的洗涤,就可以达到抗原抗体复合物与其他物质的分离。ELISA 法样品前处理简便,同时可分析多个样品,分析时间短,且敏感度高,特别适于做日常大量样品的筛选工作,同时也减少由于采用 HPLC、GC 检测而使用的甲醇,乙腈等有机溶剂对环境的污染[9]。郑百芹等[10]利用酶联免疫技术研制了一种快速检测鱼肉中的喹诺酮类药物试剂盒,经过测试,该试剂盒对鱼肉样本中氧氟沙星、环丙沙星、氟喹沙星等 3 种喹诺酮类药物的检测限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,批内、批间相对标准偏差均小于 10%;稳定性测试结果表明,试剂盒能够在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 12 个月, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 7 d 喹诺酮类药物单克隆抗体与氧氟沙星、环丙沙星、氟喹沙星的交叉反应率均为 100%。该方法准确,可靠,使用简便,适合大量样品中氧氟沙星、环丙沙星、氟喹沙星现场检测。

2.5. 毛细管电泳法(CE)

毛细管电泳(CE)又称高效毛细管电泳(HPCE),是一种基于带电溶质在电场中迁移行为的差异而进行分离分析的方法,与高效液相色谱相比,具有快速、简便、低耗、抗污染及抗干扰能力强的特点,已用于药物和临床分析[11]。毛细管电泳具有仪器简单,易于实现自动化,分析速度快,分离效率高,样品和试剂用量少,经济环保等许多突出的优点[12]。陈宗宝[13]等建立了一种利用改性纳米金粒子富集与毛细管电泳-电化学发光(CE-ECL)法测定水产品中 4 种氟喹诺酮(环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星)类药物残留的分析方法。结果表明,在最优条件下,经改性金纳米粒子富集后的 4 种分析物在 0.05~10.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 浓度范围内,其峰高与浓度呈现良好的线性关系,检出限($S/N=3$)可达 0.2 $\mu\text{mol}/\text{L}$,4 种目标物的富集倍数达 104~127 倍。该方法用于鳊鱼样品的分析,回收率为 94.5%~112%,相对标准偏差(RSD)均不大于 6.3%。应用于实际鳊鱼样品的检测,效果良好。

3. 结语

近些年来,水产养殖业中对喹诺酮类药物使用十分广泛,不规范用药导致的喹诺酮残留对人们的身体健康是危害很大的。因此,对水产品中喹诺酮类药物进行残留检测的研究越来越重要,其中微生物法处理简单、成本低和适用大范围快速筛选等优点,但存在检出限过高、存在假阳性等缺点;高效液相色谱法具有分离度好、灵敏度高,重复性好等优点,但对前处理要求较高,分析多种成分效果一般,不适用于大规模样品检测;超高效液相色谱-串联质谱法是近些年实验室常用检测方法,具有灵敏度好、选择性好,但购置设备和维护运行费用比较高,对基层检测机构来说压力会很大;酶联免疫吸附(ELISA)法

样品前处理简单, 分析时间短、灵敏度高, 特别适合做日常大量样品的筛查工作, 但不能同时分析多种成分, 对试剂的选择性较高; 毛细管电泳法具有操作简便、成本低、低损耗等优点, 但检出限高, 灵敏度低, 目前相关的应用案例和文献都比较少; 在实际检测工作中, 我们可以根据不同的检测目的和检测机构的实际情况, 来选择最合适的检测方法。比如, 针对基层的大量样品快速筛查, 可以用酶联免疫吸附(ELISA)法, 考虑其存在假阳性结果的可能, 对于超出限量的样品再用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)进行确证分析, 是比较高效又准确的办法。对于确证分析工作, 优先选择超高效液相色谱-串联质谱法, 由于其具有前处理简单、灵敏度高、回收率好, 也是未来水产品中喹诺酮类药物检测一个重要发展方向。

参考文献

- [1] Huan, L.L., Mo, Y.M., Wu, Z.Q., *et al.* (2020) Occurrence, Distribution, and Health Risk Assessment of Quinolone Antibiotics in Water, Sediment, and Fish Species of Qingshitian Reservoir, South China. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 15777.
- [2] He, X., Deng, M., Wang, Q., Yang, Y., Yang, Y. and Nie, X. (2016) Residues and Health Risk Assessment of Quinolones and Sulfonamides in Cultured Fish from Pearl River Delta, China. *Aquaculture*, **458**, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.006>
- [3] Jin, Y., Zhang, W.Y., Wang, Q., Yang, Y.Q., Liang, L.Y. and Yan, S.J. (2014) Determination of Fluoroquinolones Residual in Freshwater Fish by Hplc. *Advanced Materials Research*, **1033**, 634-637. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1033-1034.634>
- [4] (2006) FDA: More Efficient Drug Review. *Emergency Medicine News*, **28**, 32. <https://doi.org/10.1097/00132981-200606000-00028>
- [5] 高志存, 石露莎, 余舒宁, 等. 动物源性食品中 8 种氟喹诺酮类药物多残留高效液相色谱检测方法的建立[J]. 中国动物检疫, 2023, 40(7): 116-120.
- [6] 黄晓蓉, 郑晶, 李寿崧, 等. 鳊鱼及其制品中喹诺酮类药物残留的微生物快速检测方法研究[J]. 淡水渔业, 2005, 35(4): 3-6.
- [7] 童文羽, 朱志强, 曾智. 高效液相色谱法检测水产品中三种喹诺酮类药物残留量方法研究[J]. 渔业致富指南, 2018(16): 59-64.
- [8] 张莉, 吴莉, 李爽, 等. 改良 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱同时检测淡水鱼中 11 种喹诺酮类抗生素残留[J]. 河南预防医学杂志, 2022, 33(10): 757-760, 780.
- [9] 叶玫, 吴成业, 刘海新, 等. 酶联免疫吸附法在水产品安全检测中的应用[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(2): 171-175.
- [10] 郑百芹, 罗晓琴, 冯才伟, 等. 一种喹诺酮类药物的酶联免疫快速检测试剂盒的研制[J]. 中国酿造, 2014, 33(2): 130-133.
- [11] Petersen, J.R., Okorodudu, A.O., Mohammad, A. and Payne, D.A. (2003) Capillary Electrophoresis and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clinica Chimica Acta*, **330**, 1-30. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(03\)00006-8](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(03)00006-8)
- [12] 陈义. 毛细管电泳技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [13] 陈宗保, 王星, 尹月春, 等. 改性纳米金富集-毛细管电泳电化学发光法测定水产品中 4 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 分析测试学报, 2019, 38(2): 176-181.