

基于同步荧光光谱的鸡肉中甲磺酸达氟沙星和 氧氟沙星残留快速检测方法研究

陈健¹, 黄俊仕^{1,2}, 刘木华^{1,2}, 袁海超^{1,2}, 黄双根^{1,2},
赵进辉^{1,2*}, 徐宁¹, 王婷¹, 胡围¹

1. 江西农业大学, 江西省现代农业装备重点实验室, 江西 南昌 330045

2. 江西农业大学, 江西省果蔬采后处理关键技术及质量安全协同创新中心, 江西 南昌 330045

摘要 采用同步荧光技术结合化学计量学方法实现了鸡肉中甲磺酸达氟沙星(DFM)和氧氟沙星(OFL)残留的快速检测。首先,分析了DFM标准溶液、OFL标准溶液、空白鸡肉提取液和含DFM和OFL的鸡肉提取液的同步荧光光谱,确定了鸡肉中DFM和OFL残留的检测波长差($\Delta\lambda$)分别为130和200 nm,荧光激发峰分别为288和325 nm。其次,采用单因素试验考察了氢氧化钠溶液浓度和表面活性剂种类对荧光强度的影响,确定了鸡肉中DFM和OFL残留的最佳检测条件为:氢氧化钠溶液浓度 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和SDS溶液浓度 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最后,利用线性回归和偏最小二乘回归(PLSR)及多元线性回归(MLR)算法分别建立了鸡肉中DFM和OFL残留的预测模型。试验结果表明,与基于线性回归和MLR的DFM残留预测模型相比,基于PLSR的DFM残留预测模型的综合评价更好,其预测集决定系数(R_p^2)为0.978 3,预测集均方根误差(RMSEP)为 $1.934 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,相对预测误差(RPD)为5.876 5。与基于线性回归和PLSR的OFL残留预测模型相比,基于MLR的OFL残留预测模型的综合评价更好,其 R_p^2 为0.895 0, RMSEP为 $3.859 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, RPD为2.509 1。该方法操作简单、耗时短,可用于鸡肉中DFM和OFL残留的快速检测。

关键词 同步荧光光谱法; 鸡肉; 甲磺酸达氟沙星; 氧氟沙星; 回归分析

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)05-1367-06

引言

喹诺酮类抗生素(Quinolones)是一类人工合成的广谱抗生素,在家禽饲养和疾病的防治中被广泛应用^[1]。我国的家禽养殖向着规模化、集约化方向发展,抗生素发挥着越来越重要的作用,但抗生素的不规范、不合理使用导致禽肉抗生素残留的问题也日趋严重^[2]。甲磺酸达氟沙星(danofloxacin mesylate, DFM)和氧氟沙星(ofloxacin, OFL)是常用的喹诺酮类抗生素,其残留进入人体可能引起癌症、基因突变等^[3]。因此,建立一种快速、经济的鸡肉中DFM和OFL残留的检测方法是一项十分有意义的工作。基于对消费者安全的考虑,农业农村部限定了鸡肉中喹诺酮类抗生素的最大残留限量,其中达氟沙星的最大残留限量为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,

OFL被禁用^[4-5]。

目前,液相色谱法^[6-7]、液相色谱和质谱联用法^[8-9]等方法可用于鸡肉中喹诺酮类抗生素残留的检测,这些方法虽然具有较高的灵敏度,但仪器昂贵、运行成本高且需要较高的操作水平^[10]。同步荧光技术同时扫描激发和发射单色器波长,同时利用了化合物的吸收特性和发射特性,具有简化光谱、窄化谱带、减弱背景干扰和降低散射光等优点^[11]。近年来,李月秋等^[12]应用同步荧光技术检测猪肉中头孢噻唑类抗生素的残留量,蔡其洪等^[13]应用同步荧光技术检测火腿肠、猪肉、鱼肉、鸭肉和鸡肉中氟罗沙星类抗生素的残留量。本研究以鸡肉为载体,DFM和OFL抗生素为研究对象,应用同步荧光技术尝试建立一种鸡肉中DFM和OFL残留快速检测的方法。

收稿日期: 2020-04-21, 修订日期: 2020-07-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660485), 江西省教育厅科技计划项目(GJJ160350)资助

作者简介: 陈健, 1996年生, 江西农业大学工学院硕士研究生 e-mail: 554850830@qq.com

* 通讯作者 e-mail: 9115328@qq.com

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

荧光分光光度计(Cary Eclipse, 美国瓦里安); 电子天平(FA1004B, 上海上平仪器有限公司); 纯水机(全自动 RO, 湖南科尔顿水务有限公司); 超声波清洗器(JK-50B, 合肥金尼克机械有限公司); 漩涡混合器(VORTEX-5, 海门市其林贝尔仪器有限公司); 振荡器(KJ-201BS, 江苏康健医疗用品有限公司); 低速离心机(JW-1024, 安徽嘉文仪器装备有限公司); 组织捣碎匀浆机(JJ-2B, 江苏省金南仪器厂); 石英比色皿(1 cm 光程, 宜兴市晨伟玻璃仪器厂)。

鸡胸肉(南昌市某大型超市); DFM 和 OFL($\geq 98\%$, 上海源叶生物科技有限公司); 乙腈、甲酸和氢氧化钠(分析纯, 西陇科学股份有限公司); 十二烷基硫酸钠(分析纯, SDS, 金克隆北京生物技术有限公司); 溴代十六烷基三甲胺(分析纯, CTAB, 金克隆北京生物技术有限公司); 壬基酚聚氧乙烯醚系列(7)醚(分析纯, NP-7, 上海麦克林生化科技有限公司); 有机相针式滤器(0.45 μm , 上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 样品制备

(1) 抗生素储备液的配制: 取 5.0 mg 的 DFM(或 OFL) 标准品溶于 50 mL 超纯水, 可得到 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DFM(或 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ OFL) 储备液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下储存。

(2) 抗生素工作液的配制: 取 0.15 mL 的 DFM(或 OFL) 储备液, 用超纯水稀释至 15 mL 得到 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DFM(或 OFL) 工作液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下储存。

(3) 根据文献[14]中的快速溶剂萃取法提取空白鸡肉, 略作修改, 具体如下: 称取均质的鸡胸肉 1.0 g, 置于 10 mL 离心管中, 加入 2% 甲酸-乙腈溶液 4 mL, 涡旋 1 min, 然后, 于离心机以上以 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率离心 5 min, 将上清液移入另一个 10 mL 离心管中, 将离心残渣用 4 mL 2% 甲酸-乙腈溶液再提取一次, 合并上清液, 混匀, 过 0.45 μm 滤膜, 用 2% 甲酸-乙腈定容至 10 mL, 得到空白鸡肉提取液。

(4) 根据文献[14]中的快速溶剂萃取法提取鸡肉中 DFM 和 OFL 的残留, 略作修改, 具体如下: ① 加标鸡肉的制备: 称取均质的鸡胸肉 1.0 g, 置于 10 mL 离心管中, 分别添加 0.01, 0.04, 0.08, 0.10, 0.12, 0.16, 0.20, 0.24, 0.28, 0.32, 0.36, 0.40 和 0.44 mL 的 DFM 储备液和 0.01, 0.04, 0.08, 0.10, 0.12, 0.16, 0.20, 0.24, 0.28, 0.32, 0.36, 0.40 和 0.44 mL 的 OFL 储备液, 两者浓度随机组合, 涡旋 1 min。② 鸡肉中抗生素的提取: 再加入 2% 甲酸-乙腈溶液 4 mL, 涡旋 1 min, 然后, 于离心机以上以 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率离心 5 min, 将上清液移入另一个 10 mL 离心管中, 将离心残渣用 4 mL 2% 甲酸-乙腈溶液再提取一次, 合并上清液, 混匀, 过 0.45 μm 滤膜, 用 2% 甲酸-乙腈定容至 10 mL。得到含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液: DFM 浓度为 0.1, 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6, 4.0 和 4.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (分别对应于鸡肉中含有 1.0, 4.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0, 20.0, 24.0, 28.0, 32.0, 36.0, 40.0 和 44.0

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DFM), OFL 浓度为 0.1, 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6, 4.0 和 4.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (分别对应于鸡肉中含有 1.0, 4.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0, 20.0, 24.0, 28.0, 32.0, 36.0, 40.0 和 44.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OFL)。

1.3 标准溶液以及鸡肉提取液的同步荧光光谱的采集

为了采集标准溶液以及鸡肉提取液的同步荧光光谱, 分别取 500 μL DFM 标准溶液(1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、OFL 标准溶液(1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、空白鸡肉提取液和含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液(1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DFM, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OFL) 于不同的石英比色皿中, 再先后加入 130 μL SDS 缓冲液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 670 μL 氢氧化钠溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 采集波长差 $\Delta\lambda=130$ 和 200 nm 处的同步荧光光谱。

1.4 定性试验设计方案

(1) 为了探究不同氢氧化钠溶液浓度对同步荧光强度的影响, 向石英比色皿中依次加入 500 μL 含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液(1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DFM, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OFL), 130 μL SDS 溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 670 μL 氢氧化钠溶液(0.001, 0.01, 0.1, 0.2, 0.3 和 0.4 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 设置 5 个平行组, 采集 $\Delta\lambda=130$ 和 200 nm 处的同步荧光光谱。

(2) 为了探究不同表面活性剂对同步荧光强度的影响, 向石英比色皿中依次加入 500 μL 含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液(1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DFM, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OFL), 130 μL CTAB 表面活性剂(0.019 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 SDS 表面活性剂溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 NP-7 表面活性剂(5.33 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 670 μL 氢氧化钠溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 设置 5 个平行组, 采集 $\Delta\lambda=130$ 和 200 nm 处的同步荧光光谱。

1.5 定量试验设计方案

向石英比色皿中依次分别加入 500 μL 的含不同浓度 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液, 130 μL SDS 溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 670 μL 氢氧化钠溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 设置 5 个平行组, 采集 $\Delta\lambda=130$ 和 200 nm 处的同步荧光光谱。

1.6 荧光光谱仪参数设置

荧光光谱仪参数设置如下: 激发波长扫描范围为 240~450 nm, 激发、发射狭缝宽度均为 5 nm, PMT 电压为 700 V。

1.7 数据处理方法

在建立预测模型之前, 使用 The Unscrambler X 10.4 (挪威 CAMO 公司) 软件对原始光谱进行基线偏移, 以消除原始光谱的基线漂移。其次, 使用该软件对基线偏移后的光谱进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 以减少模型输入变量的个数。为了建立线性回归模型, 拟合鸡肉中 DFM 残留浓度和荧光激发峰强度($\Delta\lambda=130$ nm, 荧光激发峰 288 nm) 之间的关系、拟合鸡肉中 OFL 残留浓度和荧光激发峰强度($\Delta\lambda=200$ nm, 荧光激发峰 325 nm) 之间的关系。此外, 使用 The Unscrambler X 10.4 软件, 以前 3 个主成分得分作为输入, 分别建立基于偏最小二乘回归(partial least squares regression, PLSR) 和多元线性回归(multiple linear regression, MLR) 算法的鸡肉中 DFM 残留的预测模型; 以前 3 个主成分得分作为输入, 分别建立基于 PLSR 和 MLR 算法的鸡肉中 OFL 残留的预测模型。其中, PLSR 采用交叉验

证(cross validation)结合 Kernel PLS 算法;采用基于杠杆率校正(leverage correction)的 MLR 算法。计算预测集决定系数(coefficient of determination for the prediction set, R_p^2)、预测集均方根误差(root mean square error for the prediction set, RMSEP)和相对预测误差(ratio of prediction to deviation, RPD)以评估预测模型性能。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液以及鸡肉提取液的同时荧光光谱

DFM 和 OFL 具有相似的化学结构,进而有类似的荧光特性。为了实现辨别的目的,须要找到合适的 $\Delta\lambda$ 。图 1 给出了 DFM 和 OFL 标准溶液的同时荧光光谱图,从中看出,DFM 和 OFL 荧光光谱有明显区别,在 $\Delta\lambda=130\text{ nm}$ 时,可由 282 nm 处宽谱峰辨别出 DFM。在 $\Delta\lambda=200\text{ nm}$ 时,可由 318 nm 处宽谱峰辨别出 OFL。图 2 给出了鸡肉提取液的同时荧光光谱图。从中看出,鸡肉中 DFM 和 OFL 的荧光激发峰相对标准溶液中 DFM 和 OFL 的荧光激发峰发生红移现象。含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液在 $\Delta\lambda=130\text{ nm}$ 处有位于 288 nm 处 DFM 的荧光激发峰,在 $\Delta\lambda=200\text{ nm}$ 处有位于 325 nm 处

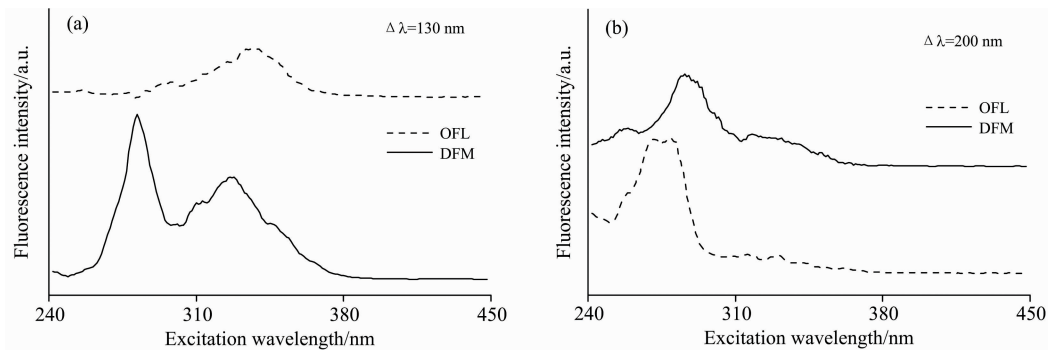


图 1 DFM 和 OFL 标准溶液的同时荧光光谱图

Fig. 1 Synchronous fluorescence spectra of DFM and OFL standard solutions

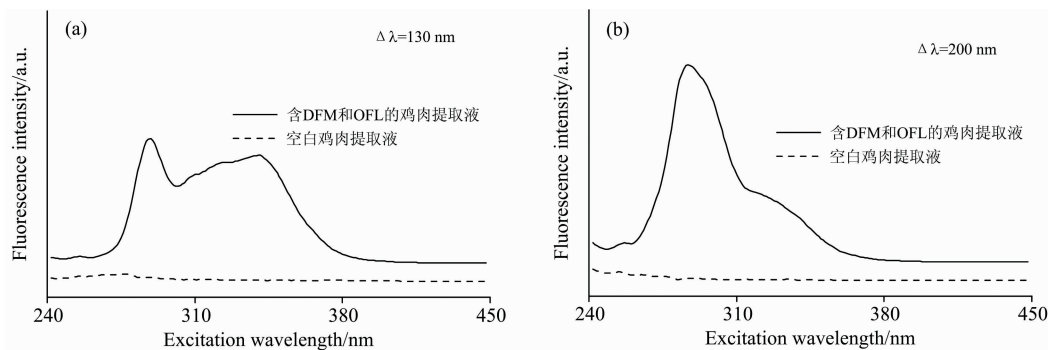


图 2 鸡肉提取液的同时荧光光谱图

Fig. 2 Synchronous fluorescence spectra of chicken extract

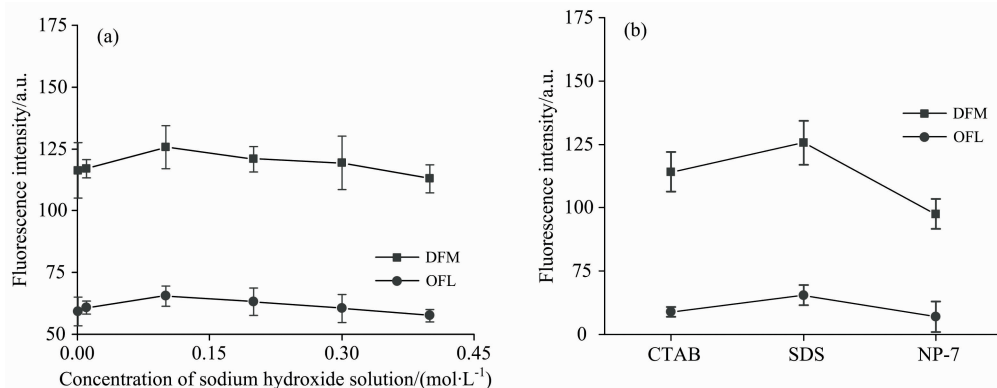


图 3 不同条件对荧光强度的影响

(a): 氢氧化钠溶液浓度; (b): 表面活性剂

Fig. 3 Effects of difference conditions on the fluorescence intensities

(a): Concentration of sodium hydroxide solution; (b): Surfactants

OFL 的荧光激发峰,而空白鸡肉提取液在这些位置处未出现宽谱峰。综上所述,鸡肉中 DFM 和 OFL 残留可通过 $\Delta\lambda$ /激发波长 130/288 nm 和 200/325 nm 实现同时检测。

2.2 同步荧光光谱检测条件优化

由图 3(a)可知,随着氢氧化钠溶液浓度增加,DFM 的荧光强度呈先增强,后减弱的趋势。对于 OFL 而言,荧光强度也呈先增强,后减弱的趋势。产生荧光强度变化的原因可能是氢氧化钠溶液浓度的增加,体系 pH 会升高,进而影响了 DFM 和 OFL 的质子离解平衡^[15],影响了它们的荧光强度。在氢氧化钠溶液浓度为 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,DFM 和 OFL 的荧光强度最大。因此, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为氢氧化钠溶液最佳的加入浓度。

表面活性剂具有荧光增敏的效果,被广泛应用于荧光检测。表面活性剂达到临界胶束浓度时能形成胶束,使 DFM 和 OFL 分子处于有序的微环境,减少了分子间的碰撞概率^[16]。在本试验中 SDS 在体系中浓度为 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,大于其临界胶束浓度 $8.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[17]。由图 3(b)可知,在加入 SDS 表面活性剂时,DFM 络合物的荧光强度最大。另一方面,在加入 SDS 表面活性剂时,OFL 络合物的荧光强度最大。因此,选用 SDS 表面活性剂。

2.3 主成分分析

PCA 是一种经典的多元统计分析技术,其中心目的是

将光谱的数据降维。表 1 给出了前 4 个主成分的方差贡献率和累计方差贡献率。从中可见,DFM 和 OFL 前 3 个主成分的累计方差贡献率均达到了 90%。随着主成分数增大,其方差贡献率逐渐减小。通常主成分数大于 90% 的累计方差贡献率就能代表原始变量的大部分信息^[18]。因此,选择前 3 个主成分进行 PLSR 和 MLR 分析。

表 1 前 4 个主成分的方差贡献率和累计方差贡献率
Table 1 Variance contribution rate and cumulative variance contribution rate for the first four principal component

主成分 因子数	方差贡献率/%		累计方差贡献率/%	
	DFM	OFL	DFM	OFL
1	74.45	76.25	74.45	76.25
2	9.36	8.22	83.81	84.47
3	6.81	5.72	90.63	90.19
4	2.90	1.95	93.53	92.14

2.4 预测模型的建立和预测结果的分析

含 DFM 和 OFL 的鸡肉提取液样本共 13 个,随机选取 7 个样本作为训练集,以建立预测模型,剩余 6 个作为预测集,以分析模型预测结果,预测集的数据都落在训练集的范围之内,如表 2 所示。

表 2 鸡肉中 DFM 和 OFL 残留的样本统计结果

Table 2 Statistical results of samples of DFM and OFL residues in chicken

样本集	样本数	浓度值/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		平均值/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		标准偏差/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	
		DFM	OFL	DFM	OFL	DFM	OFL
训练集	7	1.00~44.00	1.00~44.00	21.57	25.57	16.47	16.02
预测集	6	4.00~36.0	4.00~32.00	20.67	16.00	12.24	10.43

MLR 是一种经典的多元校正方法,以多个变量的光谱矩阵为基础建立模型。PLSR 是一种应用广泛的多元校正方法,在分解光谱矩阵和浓度矩阵时,考虑了两者相互之间的关系^[19]。为了评价鸡肉中 DFM 和 OFL 的残留,分别建立了基于线性回归、PLSR 和 MLR 算法的鸡肉中 DFM 和 OFL 残留的预测模型,并进行验证,3 种模型预测统计结果如表 3 所示。由表可见,基于线性回归的 DFM 残留预测模型的 R_p^2 (0.983 9)最大,比基于 PLSR 和 MLR 的 DFM 残留预测模型的 R_p^2 分别大了 0.005 6 和 0.006 1,表明采用线性回归算法可以加强预测集的真实值和预测值之间的线性关系,但改善效果有限。基于 PLSR 的 DFM 残留预测模型的 RMSEP

($1.934 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)最小,RPD(5.876 5)最大,比基于线性回归和 MLR 的 DFM 残留预测模型的 RMSEP 分别小了 0.808 7 和 $0.015 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,RPD 分别大了 1.732 6 和 0.046 4,表明采用 PLSR 算法可以有效的提高预测模型的准确度和预测能力。此外,基于 MLR 的 OFL 残留预测模型的 R_p^2 (0.895 0)和 RPD(2.509 1)最大,RMSEP($3.859 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)最小,表明采用 MLR 算法可以加强预测集的真实值和预测值之间的线性关系,改善预测模型的预测能力和准确度。

综合上述的信息得出基于 PLSR 的 DFM 残留预测模型和基于 MLR 的 OFL 残留预测模型的综合评价更好,因此本

表 3 鸡肉中 DFM 和 OFL 残留的模型预测统计结果

Table 3 Statistical results of prediction model of DFM and OFL residues in chicken

评价指标	DFM 的建模算法			OFL 的建模算法		
	线性回归	PLSR	MLR	线性回归	PLSR	MLR
R_p^2	0.983 9	0.978 3	0.977 8	0.872 1	0.883 1	0.895 0
RMSEP/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	2.742 9	1.934 2	1.949 6	4.039 2	4.123 5	3.859 8
RPD	4.143 9	5.876 5	5.830 1	2.397 7	2.348 7	2.509 1

试验分别用PLSR和MLR算法建立鸡肉中DFM和OFL残留的预测模型,检测鸡肉中DFM和OFL残留的检出限均可达 $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,并绘制了鸡肉中DFM和OFL残留的样

本关系图(见图4)。本方法能够满足鸡肉中DFM和OFL残留快速同时检测要求,对后续研究具有一定的参考价值。

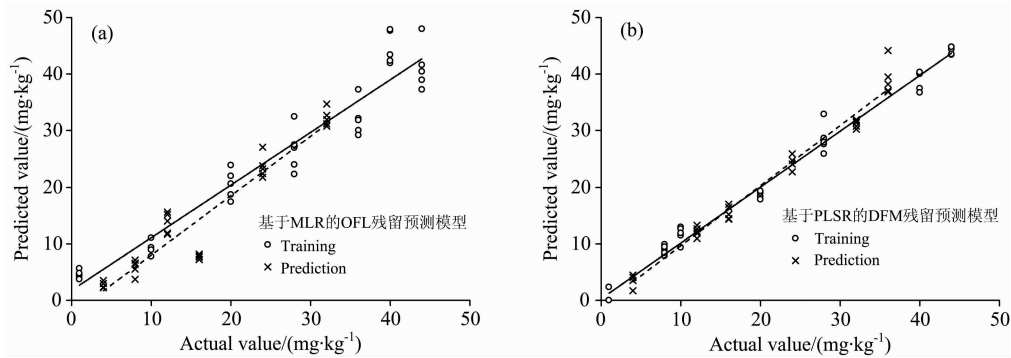


图4 鸡肉中DFM和OFL残留的样本关系图

Fig. 4 Plots of the relationship between the actual and predicted values of DFM and OFL residues in chicken for the training and prediction samples

3 结论

采用同步荧光技术结合化学计量学方法,建立了鸡肉中

DFM和OFL残留快速检测的方法。试验结果表明,采用同步荧光技术可有效的分辨出鸡肉提取液、DFM和OFL的荧光特征峰,使鸡肉中DFM和OFL残留被同时检测,简化了检测步骤,为鸡肉中抗生素残留的快速检测提供技术支持。

References

- [1] LI Jing-yan, GUO Chun-feng, CUI Li-hui, et al(李婧妍, 郭春锋, 崔立辉, 等). Food Research and Development(食品研究与开发), 2016, 37(22): 153.
- [2] YE Sheng-qiang, YANG Yu, WANG Li-xia, et al(叶胜强, 杨宇, 王丽霞, 等). China Poultry(中国家禽), 2017, 39(16): 69.
- [3] WANG Rui, XU Jun, ZHANG Rui-liang, et al(王瑞, 徐军, 张瑞良, 等). Journal of Analytical Science(分析科学学报), 2019, 35(2): 152.
- [4] GB 31650—2019. National Food Safety Standard—Maximum Residue Limits for Veterinary Drugs in Foods(食品安全国家标准—食品中兽药最大残留限量). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准).
- [5] Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China(中华人民共和国农业农村部). Gazette of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China(中华人民共和国农业部公报), 2015, (9): 61.
- [6] Moghadam N R, Arefhosseini S R, Javadi A, et al. Iran J. Pharm. Res., 2018, 17(4): 1182.
- [7] XU Wei-li, NIE Wen, ZHANG Kai-li, et al(徐耐力, 聂稳, 张凯丽, 等). Food Science(食品科学), 2017, 38(16): 210.
- [8] Martins M, Barreto F, Hoff R, et al. Food Addit. Contam Part A, 2015, 32: 333.
- [9] HUANG Kun, WU Wan-qin, LUO Tong, et al(黄坤, 吴婉琴, 罗彤, 等). Meat Research(肉类研究), 2019, 33(3): 40.
- [10] DAI Ting-ting, LIN Hua-ping, DUAN Jie, et al(代婷婷, 林华萍, 段婕, 等). Chinese J. Anal. Chem.(分析化学), 2016, 44(5): 747.
- [11] ZHUANG Yu, MA Chao-qun, WANG Xiao-han, et al(庄宇, 马超群, 王小晗, 等). Laser Technology(激光技术), 2017, 41(4): 489.
- [12] LI Yue-qiu, DOU Hai-yang, WU Jin-tao, et al(李月秋, 窦海洋, 吴锦涛, 等). Food Research and Development(食品研究与开发), 2017, 38(10): 113.
- [13] CAI Qi-hong, XU Duan-fang, RUAN Li-qin, et al(蔡其洪, 许锻芳, 阮丽琴, 等). Modern Chemical Industry(现代化工), 2012, 32(10): 98.
- [14] GB/T 20366—2006. Method for the Determination of Quinolones in Animal Tissues-LC MS/MS Method(动物源产品中喹诺酮类残留量的测定液相色谱-串联质谱法). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准).
- [15] LI Tong-tong(李彤彤). Spectroscopy Studys on the Mechanism of Cefepime with Bovine Serum Albumin and Fluorescence Properties of Sarafloxacin(光谱法研究蛋白与头孢吡肟的作用机理及沙拉沙星荧光性质). Hebei: Hebei University(河北: 河北大学), 2017. 7.
- [16] XU Jin-gou, WANG Zun-ben(许金钧, 王尊本). Fluorescence Analysis(荧光分析法). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2006. 44.
- [17] LIU Tian-qing, GUO Rong, SHEN Ming, et al(刘天晴, 郭荣, 沈明, 等). Acta Physico-chimica Sinica(物理化学学报), 1996, (4): 337.

- [18] CHU Xiao-li(褚小立). Molecular Spectroscopy Analytical Technology Combined with Chemometrics and Its Applications(化学计量学方法与分子光谱分析技术). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2011. 56.
- [19] ZHAO Xian-de, CHEN Xiao, DONG Da-ming(赵贤德, 陈肖, 董大明). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2019, 39(9): 2907.

Study on Rapid Detection Method of Danofloxacin Mesylate and Ofloxacin Residues in a Chicken Based on Synchronous Fluorescence Spectrum

CHEN Jian¹, HUANG Jun-shi^{1, 2}, LIU Mu-hua^{1, 2}, YUAN Hai-chao^{1, 2}, HUANG Shuang-gen^{1, 2}, ZHAO Jin-hui^{1, 2*}, XU Ning¹, WANG Ting¹, HU Wei¹

1. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China
2. Jiangxi Provincial Collaborative Innovation Center of Key Technologies and Quality and Safety in Post-Harvest Processing of Fruits and Vegetables, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

Abstract The rapid detection for danofloxacin mesylate (DFM) and ofloxacin (OFL) residues in chicken were achieved through synchronous fluorescence technology coupled with chemometric methods. First of all, the synchronous fluorescence spectra of DFM standard solution, OFL standard solution, chicken extract without antibiotics and chicken extract containing DFM and OFL were analyzed, and the wavelength difference ($\Delta\lambda$) of DFM and OFL were respectively determined as 130 and 200 nm, and the fluorescence excitation peaks of DFM and OFL were respectively determined as 288 and 325 nm for the detection of DFM and OFL in chicken, respectively. Subsequently, the effects of the concentrations of sodium hydroxide solution and the type of surfactant on the fluorescence intensities were investigated through the single factor test. The best detection conditions of DFM and OFL residues in chicken were as follows: the concentration of sodium hydroxide solution of $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the concentration of SDS solution of $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Finally, the prediction models of DFM and OFL residues in chicken were established using linear regression, partial least squares regression (PLSR), and multiple linear regression (MLR), respectively. The experimental results showed that the comprehensive evaluation of DFM residues' prediction model of based on the PLSR algorithm was best among these algorithms. The coefficient of determination for the prediction set (R_p^2) and the root mean square error for the prediction set (RMSEP) were 0.978 3 and $1.934 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The ratio of prediction to deviation (RPD) was 5.876 5. The comprehensive evaluation of the prediction model of OFL residues based on the MLR algorithm was best among these algorithms. The R_p^2 , RMSEP, and RPD were 0.895 0, $3.859 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and 2.509 1, respectively. The adopted method was simple and fast, and could to realize the rapid detection of DFM and OFL residues in chicken.

Keywords Synchronous fluorescence spectrometry; Chicken; Danofloxacin mesylate; Ofloxacin; Regression analysis

(Received Apr. 21, 2020; accepted Jul. 16, 2020)

* Corresponding author