

三维荧光二阶校正法用于水样中培氟沙星和氧氟沙星的同时测定

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2021.04.004

谢丽霞^{1,2} 李志能^{1,2}
汤建新^{1,2} 谭益民^{1,2}
郑思乡³ 廖晓珊³

1. 湖南工业大学
生命科学与化学学院
湖南 株洲 412007
2. 百合种质资源创新与深加工
湖南省工程研究中心
湖南 株洲 412007
3. 株洲市农业科学研究所
湖南 株洲 412007

摘要: 提出三维荧光二阶校正法,用于环境水样中氟喹诺酮类抗生素培氟沙星和氧氟沙星的同时定量分析。即在激发波长为230~400 nm,发射波长为360~580 nm范围内,测定样品(包含校正样、验证样、测试样)的三维荧光光谱,构建三维荧光响应数据阵;经数据处理后,采用交替三线性分解算法进行分解,得到与物质相关的相对激发、相对发射和相对浓度谱信息;通过对浓度信息进行单变量校正,获得校正曲线,进一步预测真实浓度。结果表明,培氟沙星和氧氟沙星的平均回收率分别为(101.1±5.3)%、(99.7±4.7)%,检测限分别为2.14、4.34 ng/mL,定量限分别为6.49、13.16 ng/mL。三维荧光二阶校正法可以在未知干扰物共存下,同时定量分析环境水样中培氟沙星和氧氟沙星,实现二阶优势。

关键词: 三维荧光;二阶校正;培氟沙星;氧氟沙星;未知干扰

中图分类号: X832 **文献标志码:** A

文章编号: 1674-7100(2021)04-0024-08

引文格式: 谢丽霞,李志能,汤建新,等.三维荧光二阶校正法用于水样中培氟沙星和氧氟沙星的同时测定[J].包装学报,2021,13(4):24-31.

1 研究背景

氟喹诺酮类(fluoroquinolones)抗生素如氟氧沙星、培氟沙星、依诺沙星、氧氟沙星等,是一类人工合成的广谱抗菌药,通过抑制细菌的DNA解旋酶II和拓扑异构酶IV来影响细菌的DNA复制^[1-2]。氟喹诺酮类抗生素广泛用于治疗家禽家畜疾病(由细菌、支原体感染引起的消化、呼吸等系统疾病)^[3],但是,滥用抗生素现象较严重。抗生素的不合理使用不仅危害动物健康,而且未被家禽家畜吸收的抗生素会随排

泄物进入环境水体,给人类的健康和生态环境造成威胁^[4-7]。因此,迫切需要建立一种简单有效且可以实现环境水样中多种氟喹诺酮类药物同时检测的方法,以满足环境水体中痕量抗生素的监测需求。

目前,氟喹诺酮类药物的检测方法以液相色谱与各种检测器联用为主,如紫外检测器^[8-9]、荧光检测器^[10-11]、质谱检测器^[12-14]。用液相色谱与检测器联用法时,需要对样品进行繁杂的预处理(如液液萃取、膜分离等),对液相色谱分离条件进行优化,这会消耗大量的有机溶剂,且繁杂的预处理势必会损失目

收稿日期:2021-04-14

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21806034);湖南省教育厅科学研究基金资助项目(19C0603);株洲市科技人才托举工程基金资助项目(2019TJ-06)

作者简介:谢丽霞(1988-),女,湖南郴州人,湖南工业大学讲师,博士,主要从事高维生物传感中多维校正基础理论及其在复杂生物环境体系中的静态和动态定量分析应用研究,E-mail:546541362@qq.com

标分析物,使其定量分析不准确。此外,毛细管电泳法^[15]、酶联免疫法^[16]检测氟喹诺酮类抗生药的研究也有报道,但是毛细管电泳法灵敏度(sensitivity, SEN)低、检测限(limit of detection, LOD)高,酶联免疫法存在有机物间的交叉反应,因而两者在氟喹诺酮类抗生药定量分析中的应用受到一定限制。

直接用荧光检测技术定量分析复杂环境体系中氟喹诺酮类抗生药时,氟喹诺酮类抗生药之间的光谱重叠^[17]以及自然水体中存在的内源荧光物质会对测定结果产生干扰,因而需要其他手段或方法进行辅助。化学计量学二阶校正方法具有二阶优势,以数学分离有效地代替复杂的物理分离,可以在有未知干扰存在的情况下获取目标物的定性定量信息^[18-21]。因此,本研究拟以培氟沙星和氧氟沙星为目标物,采用三维荧光结合二阶校正法进行同时定量测定。

2 方法原理

2.1 三线性成分模型

经三维荧光测量,单个样本可以得到一个大小为 $I \times J$ 的激发发射荧光矩阵, I 、 J 分别为激发、发射波长通道数。将 K 个样本测量得到的荧光矩阵在第三维上进行组合,可以得到一个三维荧光响应数据阵 $\underline{X}(I \times J \times K)$ 。由于物质的荧光强度与浓度符合朗伯-比尔定律,因此,理想情况下 \underline{X} 满足三线性成分模型,模型中元素 x_{ijk} 为

$$x_{ijk} = \sum_{n=1}^N a_{in} b_{jn} c_{kn} + e_{ijk}, i=1, 2, \dots, I, \\ j=1, 2, \dots, J, k=1, 2, \dots, K. \quad (1)$$

式中: N 为测量体系中所有具有响应信号的组分数,包含感兴趣目标分析物、未知干扰成分及噪声等;

a_{in} 、 b_{jn} 、 c_{kn} 分别为具有物理意义的相对激发光谱矩阵 $\underline{A}(I \times N)$ 、相对发射光谱矩阵 $\underline{B}(J \times N)$ 和相对浓度矩阵 $\underline{C}(K \times N)$ 中的元素;

e_{ijk} 为三维荧光残差数据阵 \underline{E} 中的元素。

此外,沿着三维数据阵 \underline{X} 的3个方向进行切片,三维荧光三线性成分模型还可以通过以下3个切片矩阵进行表述,

$$\underline{X}_{i..} = \underline{B} \text{diag}(\underline{a}_i) \underline{C}^T + \underline{E}_{i..}, \quad (2)$$

$$\underline{X}_{.j.} = \underline{C} \text{diag}(\underline{b}_j) \underline{A}^T + \underline{E}_{.j.}, \quad (3)$$

$$\underline{X}_{..k} = \underline{A} \text{diag}(\underline{c}_k) \underline{B}^T + \underline{E}_{..k}. \quad (4)$$

式(2)~(4)中: $\underline{X}_{i..}$ 、 $\underline{X}_{.j.}$ 和 $\underline{X}_{..k}$ 分别为三维荧光数

据阵 \underline{X} 在 I 、 J 和 K 方向的切片矩阵;

$\underline{E}_{i..}$ 、 $\underline{E}_{.j.}$ 和 $\underline{E}_{..k}$ 分别为三维荧光残差数据阵 \underline{E} 在 I 、 J 和 K 方向的切片矩阵;

\underline{a}_i 、 \underline{b}_j 和 \underline{c}_k 分别为相对谱矩阵 \underline{A} 、 \underline{B} 和 \underline{C} 的行矢量;
 $\text{diag}(\cdot)$ 为构造对角矩阵函数。

若矩阵 \underline{A} 、 \underline{B} 和 \underline{C} 的秩 r 满足条件 $r_A + r_B + r_C \geq 2N+2$,那么三线性成分模型的分解将是唯一的。

2.2 交替三线性分解算法

交替三线性分解算法^[22](alternating trilinear decomposition, ATLD)由吴海龙提出,用于解析三维数据阵,对三线性成分模型的3个切片矩阵进行迭代最小二乘求解,结果如下:

$$\underline{a}_{(i)}^T = \text{diagm}(\underline{B}^+ \underline{X}_{i..} (\underline{C}^T)^+), \quad (5)$$

$$\underline{b}_{(j)}^T = \text{diagm}(\underline{C}^+ \underline{X}_{.j.} (\underline{A}^T)^+), \quad (6)$$

$$\underline{c}_{(k)}^T = \text{diagm}(\underline{A}^+ \underline{X}_{..k} (\underline{B}^T)^+). \quad (7)$$

通过使用ATLD算法对获得的三维荧光数据阵进行三线性成分分解,可以获得与物质信息相关的谱图矩阵,即相对激发矩阵、相对发射矩阵和相对浓度矩阵。再将校正集中感兴趣组分对应的相对浓度与真实浓度进行一元线性回归,得到单变量校正曲线,可以进一步预测感兴趣组分在预测样中的浓度。

2.3 品质因子

品质因子是用于评估三维荧光校正方法性能的参数。而预测均方根误差(root mean square error of prediction, RMSEP)^[23]可用于评价预测结果的准确度,其计算式为

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{P} \sum_{p=1}^P (y_p - \hat{y}_p)^2}, \quad (8)$$

式中: P 为样本总数目;

y_p 和 \hat{y}_p 分别为某个组分的真实浓度和预测浓度。

灵敏度^[24]可用于评价方法的敏感程度,其计算式为

$$SEN_n = \frac{k_n}{\sqrt{((\underline{A}_{ex}^T (\underline{I} - \underline{A}_{un} \underline{A}_{un}^+) \underline{A}_{ex}) * (\underline{B}_{ex}^T (\underline{I} - \underline{B}_{un} \underline{B}_{un}^+) \underline{B}_{ex}))^{-1}}),_{mm}}, \quad (9)$$

式中: k_n 为单位浓度待分析物的纯信号,即单变量校正曲线中的斜率;

\underline{A}_{ex} 和 \underline{B}_{ex} 分别为所有已校正组分在激发通道和发射通道上的相对光谱矩阵;

\underline{A}_{un} 和 \underline{B}_{un} 分别为所有未校正组分在激发通道和

发射通道上的相对光谱矩阵;

* 表示 Hadamard 积;

nn 为 (n, n) 处元素, 表示第 n 个待分析物。

采用检测限和定量限^[25]评价方法的检测和定量能力, 其计算式如下:

$$LOD=3.3 \times s(0), \quad (10)$$

$$LOQ=3.3 \times s(0). \quad (11)$$

式中 $s(0)$ 为采用该方法进行定量分析时, 空白样本中感兴趣目标物预测浓度的标准误差, 其计算式为

$$s(0) = \sqrt{h_0 s_c^2 + h_0 \frac{s_x^2}{SEN^2} + \frac{s_x^2}{SEN^2}}, \quad (12)$$

其中, h_0 为所用方法空白样的杠杆;

s_c^2 和 s_x^2 分别为校正浓度方差、仪器信号方差;

SEN 为该方法的灵敏度。

3 实验部分

3.1 试剂与仪器

试剂: 培氟沙星(质量分数为 99%)、氧氟沙星(质量分数为 99%)、氢氧化钠、醋酸钠和醋酸, 均购买自 Aladdin; 环境水样来源于长沙湘江岳麓区段。所有溶液均用超纯水配制。

仪器: 荧光光谱仪, F-7000 型, 日立; 超纯水 Milli-Q A10 系统, 默克集团; pH 酸度计, PHS-3C, 上海雷磁仪器有限公司。

3.2 样品配制与检测

精确称取一定量的培氟沙星和氧氟沙星, 分别经浓度为 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶解后, 用醋酸钠/醋酸缓冲液(pH 值为 4)在 10 mL 棕色容量瓶中定容, 使其质量浓度分别为 2, 4 $\mu\text{g/mL}$; 再置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光稳定储存 30 d。使用时, 先用醋酸钠/醋酸缓冲液(pH 值为 4)稀释一定倍数, 再用于样品制备。

校正集由 7 个已知浓度的标准样本构成。校正集中感兴趣的目标物培氟沙星和氧氟沙星的浓度水平依据 $U_7(7^2)$ 均匀实验设计^[26]确定。校正样本配制步骤如下: 根据均匀实验设计的浓度, 分别准确移取一定体积的培氟沙星和氧氟沙星稀释液于 10 mL 棕色容量瓶中, 用醋酸钠/醋酸缓冲液(pH 值为 4)定容至 10 mL, 摇匀备用。

预测集由 5 个加标的湘江水样本(以下简称加标样本)和 3 个未加标的湘江水样本(以下简称未加标样本)构成。加标样本配制步骤如下: 分别准确移取

一定体积的培氟沙星和氧氟沙星稀释液于 10 mL 棕色容量瓶中, 再准确移取 1 mL 湘江水于该棕色容量瓶中, 最后用醋酸钠/醋酸缓冲液(pH 值为 4)定容至 10 mL, 摇匀备用。除了未加待分析物, 3 个未加标样本与加标样本的制备方法一样。同时, 配制了 3 个方法空白样本以及 1 个培氟沙星参考样本(ref01)和 1 个氧氟沙星参考样本(ref02)。所有样本的详细浓度设计见表 1。

所有样本的荧光测量使用 F-7000 荧光光谱仪, 以氙灯作为光源, 室温下在 10 mm 荧光比色皿中进行。测量荧光的激发波长和发射波长范围分别为 230~400 nm, 360~580 nm(间隔均为 2 nm)。激发和发射狭缝宽度设置为 5 nm, 扫描速度固定为 12 000 nm/min, 检测电压为 500 V。所用数据在 Matlab 软件上进行处理, 相关程序用 Matlab 语言编写。

表 1 培氟沙星和氧氟沙星的浓度设计

Table 1 The concentration designs of pefloxacin and ofloxacin in samples

类型	编号	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)		湘江水体积/mL
		培氟沙星	氧氟沙星	
校正样本	cal01	80.0	280.0	
	cal02	170.0	100.0	
	cal03	20.0	400.0	
	cal04	110.0	220.0	
	cal05	200.0	40.0	
	cal06	50.0	340.0	
	cal07	140.0	160.0	
加标样本	spik01	20.0	40.0	1.00
	spik02	65.0	130.0	1.00
	spik03	110.0	220.0	1.00
	spik04	155.0	310.0	1.00
	spik05	200.0	400.0	1.00
未加标样本	unspik01			1.00
	unspik02			1.00
	unspik03			1.00
参考样本	ref01			
	ref02	110.0	220.0	

4 实验结果与讨论

4.1 待分析物和体系的光谱属性

图 1 为培氟沙星参考样本、氧氟沙星参考样本和湘江水样的三维激发发射矩阵(excitation-emission matrix, EEM)荧光图以及加标样本 spik01 的二维 EEM 投影图。

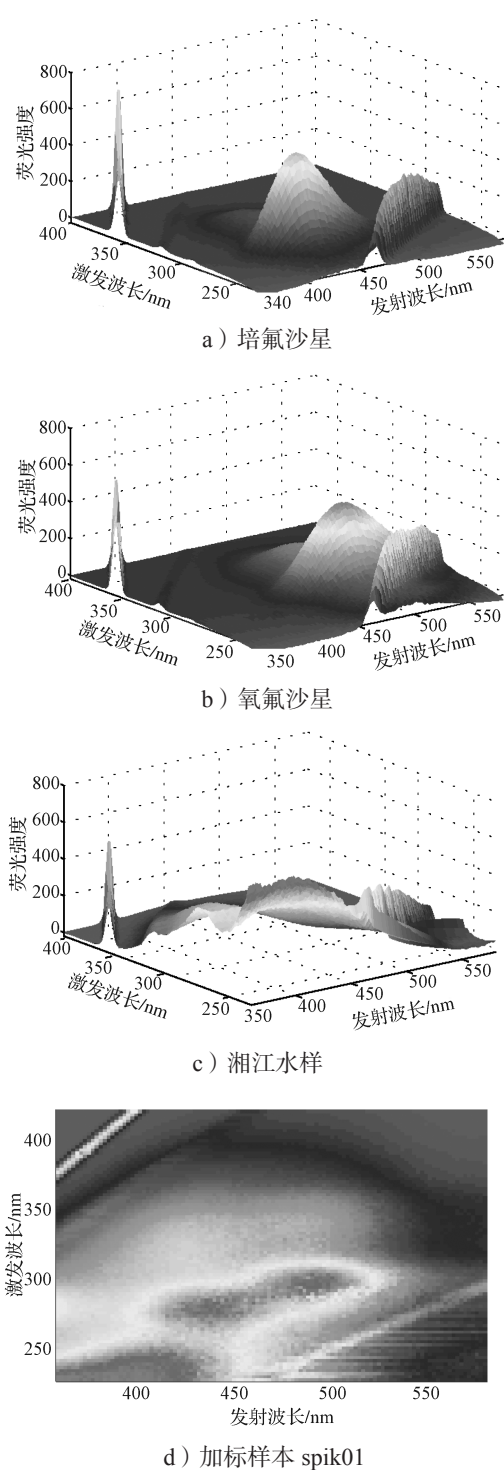


图1 培氟沙星、氧氟沙星和湘江水样的三维 EEM 荧光图和 spik01 的 EEM 二维投影图

Fig. 1 The EEM fluorescence spectra for pefloxacin, ofloxacin and the sample from Xiangjiang River, and the two-dimension contour for the spik01 sample



彩图

由图 1 可知, 在所选择的光谱区域内, 培氟沙星在 278 nm 处有最大激发峰, 在 449 nm 处有最大发射峰, 且在 315 nm 处存在一个较弱的激发荧光峰; 而氧氟沙星在 295 nm 处有最大激发峰, 在 504 nm 处有最大发射峰, 且在 330 nm 处存在一个较弱的激发荧光峰; 对于湘江水样, 体系中包含具有自发荧光的有机质; 培氟沙星、氧氟沙星和背景体系中的未知干扰物之间存在严重的荧光光谱重叠现象, 待分析物的荧光光谱不具有完全选择性。

在激发波长为 230~400 nm、发射波长为 360~580 nm 范围内, 存在严重的瑞利散射和拉曼散射。这两类散射对应的数据不具有三线性结构, 导致测量的三维 EEM 荧光数据偏离三线性成分模型, 致使 ATLD 算法不能正确地解析出各个方向上的相对轮廓矩阵。为此, 本研究采用插值法^[27]处理受瑞利散射和拉曼散射影响的数据区域, 将处理后的三维数据阵用于三线性成分模型。

4.2 组分数选择

将 7 个校正样本、5 个加标样本、3 个未加标样本和 3 个方法的空白样本激发发射荧光数据在样品维上依次排列, 可以得到一个激发-发射-样本三维荧光数据阵, 其大小为 $18 \times 86 \times 111$ 。三线性分解之前, 先采用核一致诊断 (core consistency diagnostic) 方法^[28]对三维荧光数据阵中的组分数进行估计, 防止欠拟合或过拟合现象。在核一致诊断方法中, 以核一致数值为考察对象, 其定义为 Tucker3 核数阵与理论超对角单位数阵一致的方差百分比。当核一致数值由一个较大数值骤然减小为一个较小数值时, 表明合适的组分数已被估计出。

图 2 所示为激发-发射-样本三维荧光数据阵的核一致诊断结果。

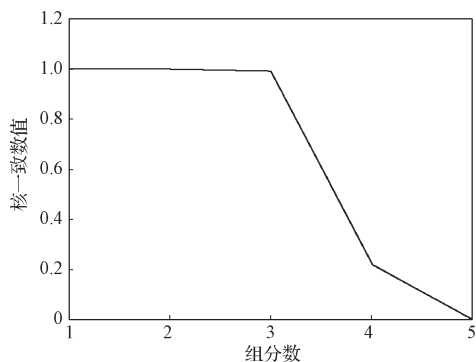


图2 三维荧光数据阵的核一致诊断结果

Fig. 2 The result of three-dimension fluorescence spectra matrix of core-consistency diagnosis

由图2可知,此体系中,当选取组分数为1,2,3时,核一致数值都对应于100%;组分数大于3时,核一致数值开始减小;当组分数为5时,核一致数值减小为0。考虑到ATLD算法解析数据时对组分数不敏感,多余的组分数可以拟合数据中的噪声,因此本研究采用组分数为4进行数据处理,4个组分分别为培氟沙星、氧氟沙星、水样中的未知干扰和噪声。

4.3 三线性分解

本研究选取组分数为4,采用ATLD算法对激发-发射-样本三维数据阵进行解析。图3为用ATLD算法分辨体系中具有荧光响应信号物质的相对激发光谱、相对发射光谱和相对浓度图,以及两个感兴趣组分在各个光谱方向上的真实谱图。

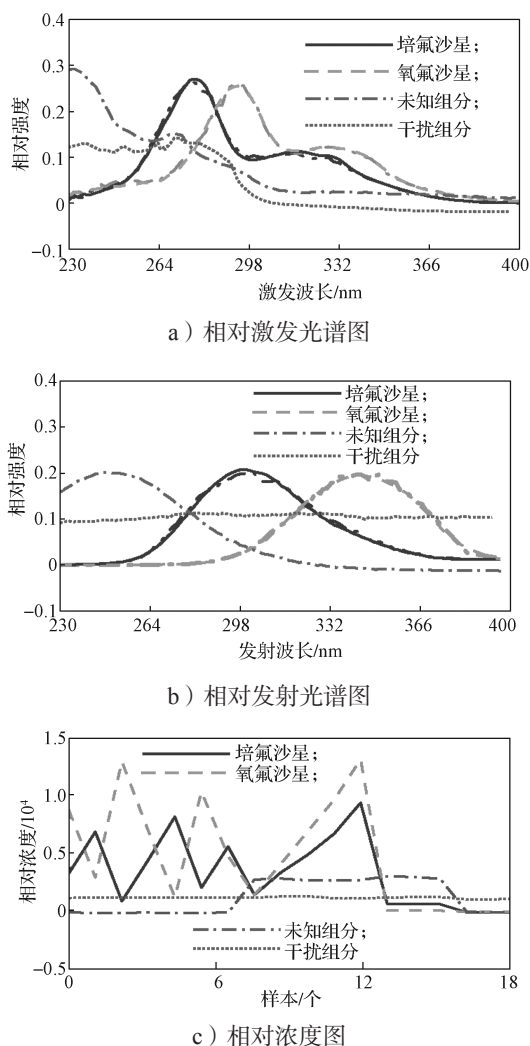


图3 ATLD算法解析结果

Fig. 3 The results obtained from the ATLD algorithm

由图3可知,培氟沙星、氧氟沙星和湘江水样中

存在的荧光干扰物质的光谱相互重叠;培氟沙星的相对激发光谱和相对发射光谱与实际测量的归一化标准谱图之间的相关系数分别为0.9974和0.9959,氧氟沙星的相对激发光谱和相对发射光谱与实际测量的归一化标准谱图之间的相关系数分别为0.9969和0.9947。上述结果表明,分解所得培氟沙星和氧氟沙星的荧光激发和发射谱图与实际谱图具有高度一致性,这说明采用ATLD算法解析本研究体系中的三维荧光数据阵,可以准确地分辨出培氟沙星和氧氟沙星在各个方向上的谱图信息。

4.4 定量结果

用上述解析得到的校正样本中培氟沙星和氧氟沙星的相对浓度信息分别与其真实质量浓度进行单变量线性回归,建立相应的线性回归方程。之后,将预测样本中培氟沙星和氧氟沙星的相对浓度分别代入方程中,即得预测样本中目标物的定量分析结果。图4所示为待分析物培氟沙星和氧氟沙星的一元校正曲线。

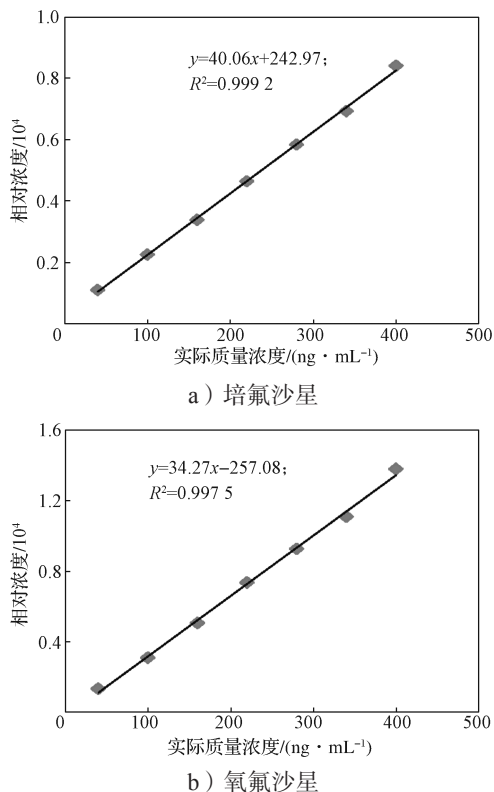


图4 基于ATLD算法的三维荧光二阶校正法的线性回归结果

Fig. 4 The univariate regression in three-dimensional fluorescence spectra coupled with second-order calibration method based on the ATLD algorithm

由图 4 可得, 两种分析物的回归方程分别为 $y = 40.06x + 242.97$ 和 $y = 34.27x - 257.08$, 二者的相关系数分别为 0.999 2 和 0.997 5。该结果说明, 培氟沙星和氧氟沙星在其校正浓度范围内都具有良好的线性关系, 进一步说明了基于 ATLD 算法的校正模型是准确的。

表 2 中列出了基于 ATLD 算法的三维荧光二阶校正法, 对加标样本中培氟沙星和氧氟沙星的定量分析结果。为了进一步评价本文所提方法的性能和可行性, 本研究计算了其灵敏度 (SEN)、选择性 (SEL)、检测限 (LOD)、定量限 (LOQ) 等品质因子 (见表 2)。

表 2 三维荧光二阶校正法对加标预测集的定量分析结果和品质因子

Table 2 The quantitative results obtained from three-dimension fluorescence spectra coupled with second-order calibration method in spiked samples and the figures of merit

编号	真实质量浓度 / (ng·mL ⁻¹)		预测质量浓度 / (ng·mL ⁻¹) [回收率 / %]	
	PEF	OFL	PEF	OFL
spik01	20.0	40.0	19.8[99.1]	42.9[107.1]
spik02	65.0	130.0	67.7[104.2]	125.9[96.9]
spik03	110.0	220.0	105.4[95.8]	213.0[96.9]
spik04	155.0	310.0	151.0[97.4]	298.1[96.2]
spik05	200.0	400.0	217.3[108.7]	406.2[101.5]
RMSEP/(ng·mL ⁻¹)			8.29	7.13
平均加标回收率 / %			101.1 ± 5.3	99.7 ± 4.7
SEN/(mL·ng ⁻¹)			8.05	8.25
SEL			25.06	15.26
LOD/(ng·mL ⁻¹)			2.14	4.34
LOQ/(ng·mL ⁻¹)			6.49	13.16

由表 2 可知:

1) 加标样本中培氟沙星和氧氟沙星的预测均方根误差 (root mean square error of prediction, RMSEP) 分别为 8.29, 7.13 ng/mL, 平均加标回收率 (均值 ± 标准偏差) 分别为 (101.1 ± 5.3)%, (99.7 ± 4.7)%。可见定量分析结果符合要求, 表明基于 ATLD 算法的三维荧光二阶校正法可以实现环境水样中培氟沙星和氧氟沙星的准确定量分析。

2) 对于待检测分析物培氟沙星和氧氟沙星, 本方法的灵敏度分别为 8.05, 8.25 ng/mL, 检测限分别为 2.14, 4.34 ng/mL, 定量限分别为 6.49, 13.16 ng/mL。虽然在纯溶液中, 单位浓度下培氟沙星荧光强度大于氧氟沙星的, 但是在复杂体系中未知干扰物的荧光

光谱与培氟沙星光谱重叠, 导致用本方法检测培氟沙星的灵敏度比氧氟沙星略低。

5 结论

本研究提出了基于 ATLD 算法的三维荧光二阶校正法, 用于环境水样中两种氟喹诺酮类抗生素培氟沙星和氧氟沙星的同时快速定量分析。实验结果表明: 本方法能在光谱重叠以及存在未知干扰物的情况下, 准确获取待分析物的激发光谱、发射光谱和相对浓度信息, 能对环境水样中培氟沙星和氧氟沙星进行定量分析, 实现环境质量实时监控。三维荧光二阶校正法是一种准确、灵敏、经济、高效和绿色的定量分析方法。

参考文献:

- [1] WOLFSON J S. Quinolone Antimicrobial Agents: Adverse Effects and Bacterial Resistance[J]. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1989, 8(12): 1080-1092.
- [2] HOOPER D C, WOLFSON J S. The Fluoroquinolones: Pharmacology, Clinical Uses, and Toxicities in Humans[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1985, 28(5): 716-721.
- [3] ZHANEL G, ENNIS K, VERCAIGNE L. A Critical Review of the Fluoroquinolones: Focus on Respiratory Tract Infections[J]. Drugs, 2002, 62(6): 944.
- [4] TANDAN M, CORMICAN M, VELLINGA A. Adverse Events of Fluoroquinolones Vs. Other Antimicrobials Prescribed in Primary Care: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2018, 52(5): 529-540.
- [5] 刘晓琰, 孙黎, 施安国. 新氟喹诺酮类抗生素的不良反应[J]. 药学服务与研究, 2004, 4(2): 178-180.
LIU Xiaoyan, SUN Li, SHI Anguo. The Adverse Reactions of New Fluoroquinolones[J]. Pharmaceutical Care and Research, 2004, 4(2): 178-180.
- [6] 黄玫, 曲晶. 氟喹诺酮类药物不良反应与发生机制的研究进展[J]. 中国实用医药, 2008, 3(35): 217-218.
HUANG Mei, QU Jing. Research Progress on Adverse Reaction and Mechanism of Fluoroquinolones[J]. China Practical Medicine, 2008, 3(35): 217-218.
- [7] 孟磊, 杨兵, 薛南冬. 氟喹诺酮类抗生素环境行为及其生态毒理研究进展[J]. 生态毒理学报, 2015,

- 10(2): 76-88.
- MENG Lei, YANG Bing, XUE Nandong. A Review on Environmental Behaviors and Ecotoxicology of Fluoroquinolone Antibiotics[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(2): 76-88.
- [8] 徐万帮, 张莉, 刘亚雄, 等. 一步提取-HPLC检测化妆品中氟喹诺酮类抗生素研究[J]. *广州化工*, 2012, 40(7): 128-129, 135.
- XU Wanbang, ZHANG Li, LIU Yaxiong, et al. Determination and Extracted Directly of Fluoroquinolone in Cosmetics by HPLC[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2012, 40(7): 128-129, 135.
- [9] 徐尉力, 聂稳, 张凯丽, 等. 基于离子液体的基质固相分散萃取结合高效液相色谱法测定肌肉组织中的氟喹诺酮类抗生素[J]. *食品科学*, 2017, 38(16): 210-215.
- XU Weili, NIE Wen, ZHANG Kaili, et al. Determination of Fluoroquinolones in Muscle Samples by Ionic Liquid-Based Matrix Solid Phase Dispersion Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography[J]. *Food Science*, 2017, 38(16): 210-215.
- [10] 张敏, 刘庆玉, 敖永华. 高效液相色谱-荧光检测畜禽粪污中四种氟喹诺酮类抗生素残留[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(3): 602-604.
- ZHANG Min, LIU Qingyu, AO Yonghua. Determination of Four Kinds of Fluoroquinolones Antibiotics Residues in Livestock Feces by High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detection[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(3): 602-604.
- [11] 戴晓虎, 薛勇刚, 刘华杰, 等. 基于固相萃取及高效液相色谱-荧光检测分析的污泥中氟喹诺酮类抗生素研究方法的开发[J]. *环境科学*, 2016, 37(4): 1553-1561.
- DAI Xiaohu, XUE Yonggang, LIU Huajie, et al. Development of Determination Method of Fluoroquinolone Antibiotics in Sludge Based on Solid Phase Extraction and HPLC-Fluorescence Detection Analysis[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(4): 1553-1561.
- [12] 李玉静, 陈志冉, 王雪平. 高效液相色谱法快速筛查环境水体中16种氟喹诺酮类抗生素及质谱确证[J]. *现代化工*, 2018, 38(9): 237-241.
- LI Yujing, CHEN Zhiran, WANG Xueping. Rapid Determination of 16 Fluoroquinolones in Environmental Water by High Performance Liquid Chromatography and Their Verification by Mass Spectrometry[J]. *Modern Chemical Industry*, 2018, 38(9): 237-241.
- [13] 郭欣妍, 王娜, 郝利君, 等. 超高效液相色谱/串联质谱法同时测定水、土壤及粪便中25种抗生素[J]. *分析化学*, 2015, 43(1): 13-20.
- GUO Xinyan, WANG Na, HAO Lijun, et al. Simultaneous Detection of 25 Kinds of Veterinary Antibiotics in Soil, Manure and Water Samples Using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(1): 13-20.
- [14] 杨路平, 焦燕妮, 邵立君, 等. 超高效液相色谱-质谱法测定饮用水中14种氟喹诺酮类抗生素的残留量[J]. *理化检验: 化学分册*, 2016, 52(4): 397-401.
- YANG Luping, JIAO Yanni, SHAO Lijun, et al. UPLC-MS Determination of Residual Amounts of 14 Fluoroquinolone Antibiotics in Drinking Water[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis*, 2016, 52(4): 397-401.
- [15] SCHMITT-KOPPLIN P, BURHENNE J, FREITAG D, et al. Development of Capillary Electrophoresis Methods for the Analysis of Fluoroquinolones and Application to the Study of the Influence of Humic Substances on Their Photodegradation in Aqueous Phase[J]. *Journal of Chromatography A*, 1999, 837(1/2): 253-265.
- [16] IWASAKI Y, ITO T, KITAMURA W, et al. Analysis of Fluoroquinolones in Meat Samples by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and HPLC[J]. *Bunseki Kagaku*, 2006, 55(12): 943-948.
- [17] 杨亚莉, 胡昌勤, 金少鸿. 4种氟喹诺酮类抗生素水溶液的光稳定性研究[J]. *药物分析杂志*, 2004, 24(1): 71-74.
- YANG Yali, HU Changqin, JIN Shaohong. Study on the Photostability of Four Fluoroquinolones in Aqueous Solutions[J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2004, 24(1): 71-74.
- [18] 吴海龙, 俞汝勤. 化学多维校正的若干新进展[J]. *化学通报*, 2011, 74(9): 771-782.
- WU Hailong, YU Ruqin. Aspects of Recent Developments of Chemical Multiway Calibration Methodologies[J]. *Chemistry*, 2011, 74(9): 771-782.
- [19] WU H L, WANG T, YU R Q. Recent Advances in Chemical Multi-Way Calibration with Second-Order or Higher-Order Advantages: Multilinear Models, Algorithms, Related Issues and Applications[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 130: 115954.
- [20] WU H L, NIE J F, YU Y J, et al. Multi-Way Chemometric Methodologies and Applications: A Central Summary of Our Research Work[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 650(1): 131-142.
- [21] LIU Y J, WU H L, NIE J F, et al. Simultaneous Determination of Dextromethorphan and Its Metabolite

- Dextrorphan in Plasma Samples Using Second-Order Calibration Coupled with Excitation-Emission Matrix Fluorescence[J]. *Analytical Sciences*, 2011, 27(6): 663.
- [22] WU H L, SHIBUKAWA M, OGUMA K. An Alternating Trilinear Decomposition Algorithm with Application to Calibration of HPLC-DAD for Simultaneous Determination of Overlapped Chlorinated Aromatic Hydrocarbons[J]. *Journal of Chemometrics*, 1998, 12(1): 1–26.
- [23] GEMPERLINE P J. Future Trends in Chemometrics[M]// GEMPERLINE P J. *Practical Guide to Chemometrics*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2006: 509–520.
- [24] OLIVIERI A C, FABER N M. A Closed-Form Expression for Computing the Sensitivity in Second-Order Bilinear Calibration[J]. *Journal of Chemometrics*, 2005, 19(11/12): 583–592.
- [25] OLIVIERI A C, FABER N M. Standard Error of Prediction in Parallel Factor Analysis of Three-Way Data[J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2004, 70(1): 75–82.
- NIE Jinfang, WU Hailong, ZHANG Yun, et al. Removal of First-Order Rayleigh Scatter Nonlinear Interference in Multi-Way Calibration of Excitation-Emission Matrix Fluorescence Spectra with the Use of Trilinear Decomposition Methods[J]. *Scientia Sinica: Chimica*, 2011, 41(11): 1740–1749.
- [26] FANG K T, LIN D K J, WINKER P, et al. Uniform Design: Theory and Application[J]. *Technometrics*, 2000, 42(3): 237–248.
- [27] BAHRAM M, BRO R, STEDMON C, et al. Handling of Rayleigh and Raman Scatter for PARAFAC Modeling of Fluorescence Data Using Interpolation[J]. *Journal of Chemometrics*, 2006, 20(3/4): 99–105.
- [28] BRO R, KIERS H A L. A New Efficient Method for Determining the Number of Components in PARAFAC Models[J]. *Journal of Chemometrics*, 2003, 17(5): 274–286.

(责任编辑: 邓 彬)

Simultaneous Determination of Pefloxacin and Ofloxacin in the Environmental Water Using Three-Dimension Fluorescence Spectra Coupled with Second-Order Calibration Method

XIE Lixia^{1,2}, LI Zhineng^{1,2}, TANG Jianxin^{1,2}, TAN Yimin^{1,2}, ZHENG Sixiang³, LIAO Xiaoshan³

(1. College of Life Sciences and Chemistry, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China; 2. Hunan Provincial Engineering Research Center of Lily Germplasm Resource Innovation and Deep Processing, Zhuzhou Hunan 412007, China; 3. Agricultural Science Research Institute of Zhuzhou, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: A novel method was proposed for the simultaneous determination of pefloxacin and ofloxacin in the environmental water using three-dimension fluorescence spectra coupled with second-order calibration method. All the samples were measured at excitation wavelengths from 230 nm to 400 nm and the emission wavelengths from 360 nm to 580 nm. A three-way data array was generated and then subjected to dealing with the alternating trilinear decomposition algorithm, thus resulting in relative excitation, emission and concentration profiles related to target components and unknown interference(s). These results suggested that a univariate calibration curve associated with component of interest was obtained by the relative concentrations vs the actual concentrations in calibration samples, and further used to predict content in test samples. The average recoveries of pefloxacin and ofloxacin were $(101.1 \pm 5.3)\%$ and $(99.7 \pm 4.7)\%$, with limit of detection being 2.14, 4.34 ng/mL, and limit of quantitation 6.49, 13.16 ng/mL, respectively. The proposed method could be applied to simultaneous determination of pefloxacin and ofloxacin in the environmental water even in the presence of unknown interference(s), and realize the second-order advantage.

Keywords: three-dimension fluorescence; second-order calibration; pefloxacin; ofloxacin; unknown interference