

蜂产品中喹诺酮类药物多残留的测定 GB-31657.2-2021

1、适用范围

适用于蜂蜜和蜂王浆中恶喹酸、萘啶酸、氟甲喹、西诺沙星、二氟沙星、沙拉沙星、氧氟沙星、恩诺沙星、洛美沙星、培氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、达氟沙星、马波沙星、氟罗沙星、加替沙星、奥比沙星和司帕沙星单个或多个药物残留量的测定。（本实验样品采用蜂蜜）

参考标准：《GB-31657.2-2021 食品安全国家标准 蜂产品中喹诺酮类药物多残留的测定 液相色谱—串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：准确称取标准品各适量，于 10mL 容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度均为 100 μ g/mL 的标准储备液。-18 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期 6 个月。
- 2) 混合标准工作液：准确移取 100 μ g/mL 的标准储备液各 0.1mL，用甲醇稀释至 10mL，得到 1 μ g/mL 的混合标准工作液。4 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期 1 个月。
- 3) 磷酸盐缓冲液：取磷酸氢二钠 7.16g，磷酸二氢钠 3.12g，加水 800mL 使溶解，用磷酸调 pH 至 3.0 \pm 0.05，用水稀释至 1000mL。
- 4) 5%甲酸甲醇溶液：取甲酸 5mL，加甲醇 95mL，混匀。
- 5) 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1mL，加水稀释至 1000mL，混匀。
- 6) 20%乙腈甲酸溶液：取乙腈 20mL，加入 0.1%甲酸溶液 80mL，混匀。

3、提取步骤



蜂蜜：

取试料 2g（准确至±0.02g），于 50mL 聚丙烯离心管中，加磷酸盐缓冲液 20mL，涡旋 1min，振荡 10min，10000r/min 离心 5min，取上清液，备用。

蜂王浆：

取试料 2g（准确至±0.02g），于 50mL 聚丙烯离心管中，加磷酸盐缓冲液 10mL，涡旋 1min，振荡 10min，10000r/min 离心 10min，移取上清液至另一离心管。残渣加磷酸盐缓冲液 10mL 重复提取，合并 2 次上清液，玻璃纤维滤纸过滤，备用。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP，规格：200mg/6mL。

活化：10mL 甲醇、10mL 水，弃去；

上样：取备用液过柱，弃去；

淋洗：5mL 水，抽干；

洗脱：4mL 5%甲酸甲醇、4mL 乙酸乙酯洗脱，抽干并收集于离心管中；

复溶：将收集液体于 40°C 水浴氮气吹至近干，加 20%乙腈甲酸溶液至 1.0mL 溶解残余物，超声 1min，涡旋混匀（蜂王浆样品溶液需在 4°C 下 20000r/min 离心 10min），上清液过 0.22μm 滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平：2.0g 样中加入 0.01/0.02/0.05mL 1μg/mL 标准工作液，因此加标水平为 5/10/25μg/kg，最终机度数为 10/20/50ng/mL。

本实验标准品溶液用空白基质溶液进行配置。



6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱：Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 50mm

流动相：A: 0.1%甲酸水溶液；B: 甲醇

柱温：35 $^{\circ}$ C；流速：0.3mL/min；进样体积：1 μ L

梯度洗脱程序：见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	95	5
1.50	80	20
4.50	60	40
6.50	5	95
7.50	5	95
7.60	95	5
10.00	95	5

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正负离子扫描；

检测方式：多反应监测（MRM）模式；

离子喷雾电压：5500 V；离子源温度：500 $^{\circ}$ C；

气帘气（CUR）10 psi；雾化气（GS1）55 psi；辅助气（GS2）50 psi。

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com



其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能 CE/V
恶喹酸	262.03	215.88*	39
		159.98	34
氟甲喹	262.05	202.00*	32
		126.00	42
西诺沙星	263.03	245.10*	21
		188.98	24
二氟沙星	400.11	356.07*	30
		299.03	26
沙拉沙星	386.09	342.06*	20
		299.02	24
氧氟沙星	362.11	318.08*	26
		261.07	24
恩诺沙星	360.13	316.10*	26
		245.06	24
洛美沙星	352.11	265.06*	22
		308.09	16
培氟沙星	334.12	290.10*	20
		316.09	20
诺氟沙星	320.10	302.00*	25
		233.04	22
环丙沙星	332.10	314.10*	22
		231.01	30
萘啶酸	233.05	214.98*	20
		186.96	24



依诺沙星	321.16	303.10*	32
		232.04	32
达氟沙星	358.18	340.13*	25
		82.08	38
马波沙星	363.17	320.08*	21
		72.05	18
氟罗沙星	370.16	326.16*	21
		269.04	24
加替沙星	376.19	332.19*	24
		261.10	28
奥比沙星	396.18	352.13*	21
		295.09	22
司帕沙星	393.01	349.08*	21
		292.07	24

7、色谱图或者加标回收率结果

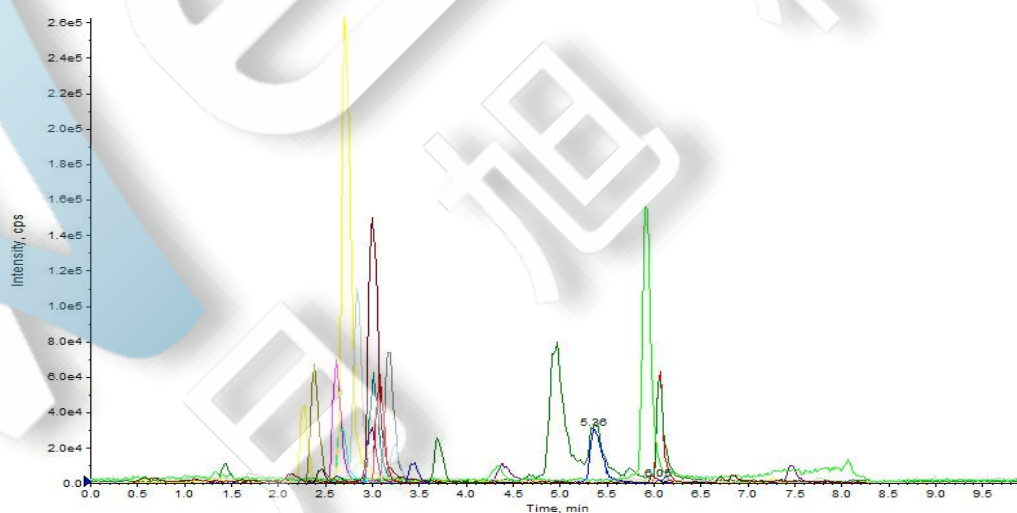


图 1. 基质混合对照溶液 50ng/mL 图谱



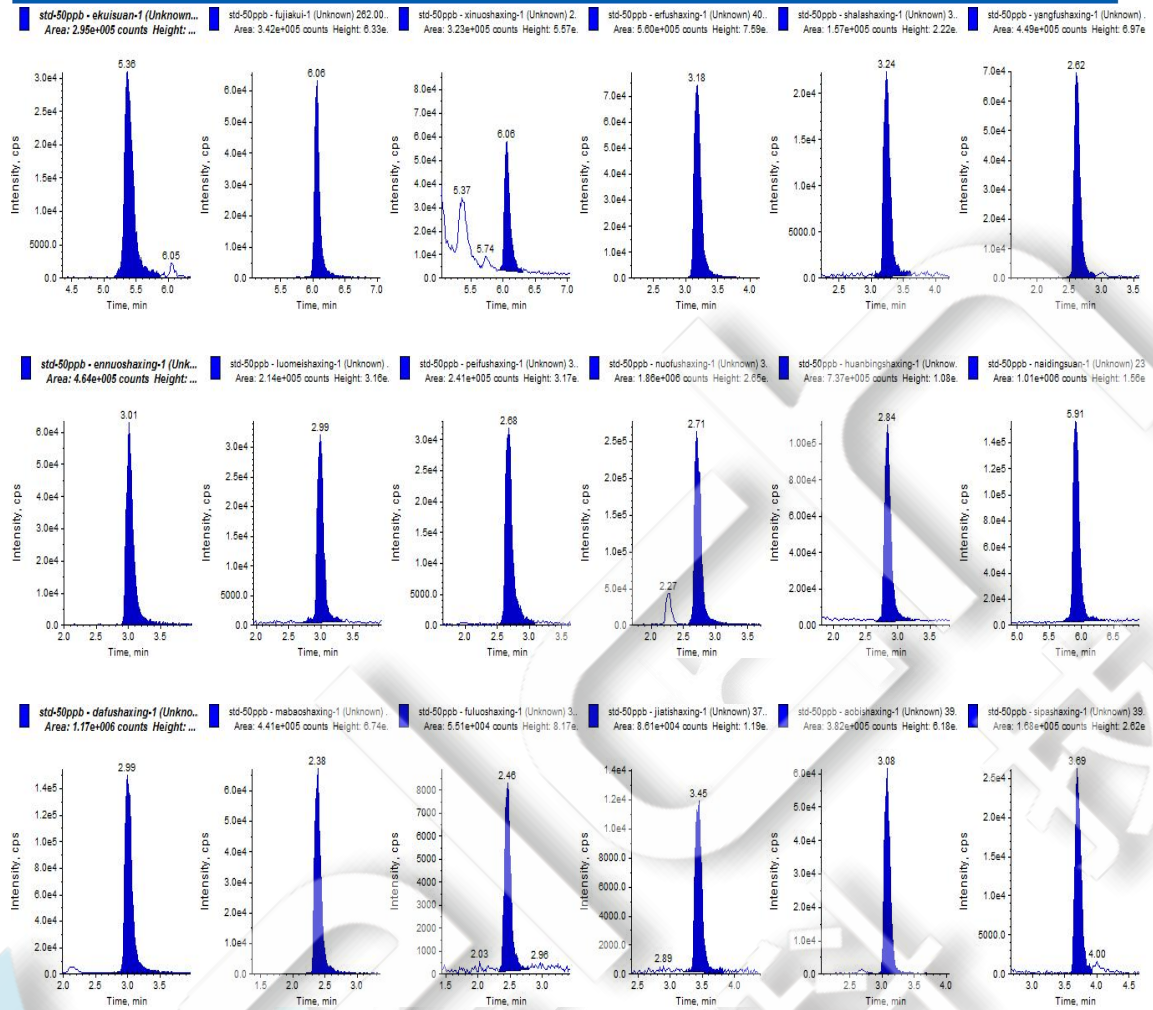


图 2. 基质混合对照溶液 50µg/L 各目标物图谱

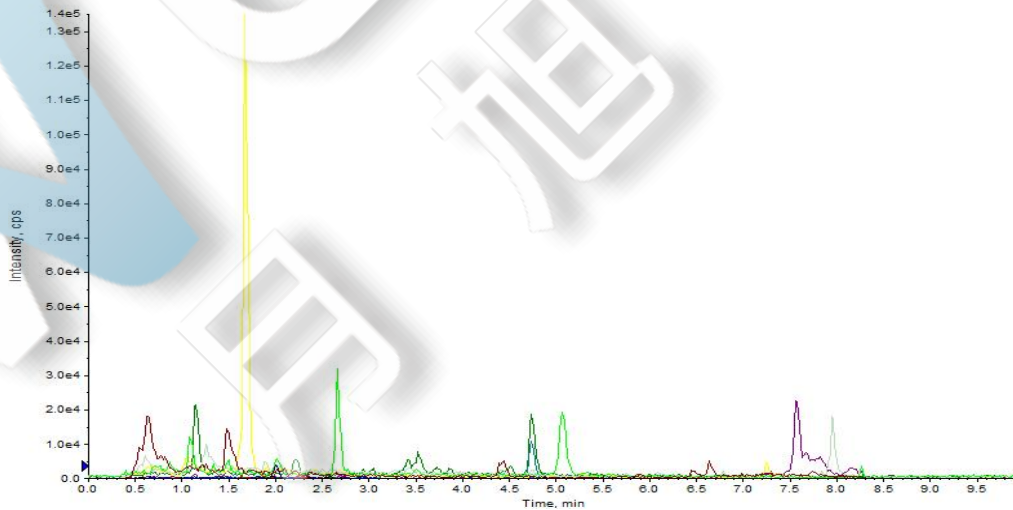


图 3. 蜂蜜样品空白图谱



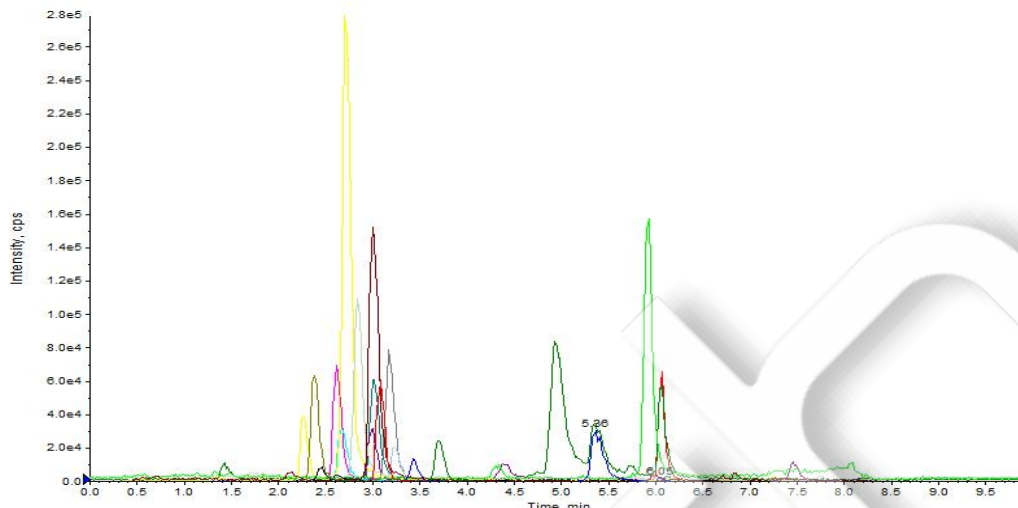


图 4. 蜂蜜样品加标 25µg/kg 图谱

表 2. 加标回收率表

峰号	物质	加标水平 (5µg/kg)		加标水平 (10µg/kg)		加标水平 (25µg/kg)	
		平均回收率	RSD 值	平均回收率	RSD 值	平均回收率	RSD 值
1	恶喹酸	96%	1.05%	95%	1.77%	102%	1.82%
2	氟甲喹	102%	5.53%	97%	2.46%	105%	2.22%
3	西诺沙星	112%	0.15%	90%	5.02%	104%	4.17%
4	二氟沙星	99%	1.03%	91%	2.27%	99%	2.08%
5	沙拉沙星	95%	0.90%	88%	1.81%	96%	2.00%
6	氧氟沙星	95%	3.25%	91%	1.23%	103%	1.84%
7	恩诺沙星	101%	2.83%	92%	0.85%	106%	3.05%
8	洛美沙星	93%	9.53%	92%	2.02%	103%	1.81%
9	培氟沙星	96%	4.64%	80%	2.17%	102%	0.61%
10	诺氟沙星	100%	2.44%	95%	0.78%	101%	0.27%
11	环丙沙星	88%	1.33%	91%	2.58%	103%	2.97%
12	萘啶酸	101%	1.33%	96%	7.82%	104%	0.95%
13	达氟沙星	92%	1.74%	91%	3.30%	99%	0.43%



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路85号启迪漕河泾(中山)科技园·紫荆园10号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街168号

Tel:400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

14	马波沙星	96%	2.68%	93%	0.92%	100%	2.03%
15	氟罗沙星	107%	7.60%	92%	5.13%	105%	2.07%
16	加替沙星	94%	0.00%	91%	4.58%	99%	1.76%
17	奥比沙星	93%	2.33%	93%	2.78%	102%	0.26%
18	司帕沙星	105%	3.86%	82%	1.58%	103%	0.87%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20014	Welchrom SPE 柱	BRP, 200mg/6ml, 30/pk
00837-05006	离心管	一次性离心管, 平盖, 锥形底, RCF12000xg, 袋装, 未灭菌, 50ml, 50/pk
00837-05002	离心管	一次性离心管, 平盖, 锥形底, RCF12000xg, 袋装, 未灭菌, 15ml, 50/pk
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm, 100/pk
00821-40927	进样瓶	2ml 透明短螺纹广口进样瓶带书写处 9-425 11.6*32mm 新包装 一级水解玻璃, 100/pk
00201-11010	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 50mm
00802-02201	针头式过滤器	NY 13mm*0.22 μ m 100/pk

