

动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 GB-31658.17-2021

1、适用范围

适用于牛、羊、猪和鸡的鸡肉、肝脏和肾脏组织中四环素类（四环素、金霉素、土霉素、多西环素）、磺胺类（乙酰磺胺、磺胺吡啶、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺噻唑、磺胺甲嘧啶、磺胺二甲异噻唑、磺胺甲噻二唑、苯甲酰磺胺、磺胺二甲异嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺苯吡唑、酞磺胺噻唑）和喹诺酮类（诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、培氟沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、麻保沙星、沙拉沙星、二氟沙星、恶喹酸、氟甲喹）药物残留量的测定。（本实验样品采用鸡肉）

参考标准：《GB-31658.17-2021 食品安全国家标准 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液（1mg/mL）：准确称取标准品各适量，于10mL容量瓶中，四环素类、磺胺类药物加甲醇溶解并稀释至刻度；喹诺酮类药物加0.03mol/L氢氧化钠溶液溶解并稀释至刻度，配制成浓度均为1mg/mL的标准储备液。
-18℃以下保存，有效期6个月。
- 2) 混合标准工作液（10μg/mL）：准确移取1mg/mL的标准储备液各0.1mL，用甲醇稀释至10mL，得到10μg/mL的混合标准工作液。-18℃以下保存，有效期1个月。
- 3) 混合标准工作液（1μg/mL）：准确移取10μg/mL的混合标准工作液1mL，用甲醇稀释至10mL，得到1μg/mL的混合标准工作液。-18℃以下保存，有效期1个月。



- 4) 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液：取磷酸二氢钠·二水 7.8g，用水溶解并稀释至 1000mL。
- 5) 0.05mol/L 磷酸氢二钠溶液：取磷酸氢二钠·十二水 17.9g，用水溶解并稀释至 1000mL。
- 6) 磷酸盐缓冲液：取 0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 190mL，用 0.05mol/L 磷酸氢二钠溶液稀释至 1000mL。
- 7) 1mol/L 氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 4g，用水溶解并稀释至 100mL。
- 8) 0.03mol/L 氢氧化钠溶液：取 1mol/L 氢氧化钠溶液 3mL，用水稀释至 100mL。
- 9) McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液：取柠檬酸·一水 12.9g，磷酸氢二钠·十二水 10.9g、乙二胺四乙酸二钠·二水 39.2g，加水 900mL，用 1mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 至 5.0 ± 0.2 ，用水稀释至 1000mL。
- 10) 洗脱液：取甲醇 150mL，加乙酸乙酯 150mL、浓氨水 6mL，混匀。
- 11) 复溶液：取水 40mL，加甲醇 5mL、乙腈 5mL、甲酸 0.05mL，混匀。

3、提取步骤

称取试料 1g（准确至 $\pm 0.01\text{g}$ ），加 McIlvaine- Na_2EDTA 缓冲液 8mL，涡旋 1min，超声 20min， -2°C 、10000r/min 离心 5min，收集上清液，残渣中加磷酸盐缓冲液 8mL，重复提取一次，合并 2 次提取液，混匀，备用。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP，规格：200mg/6mL。

活化：5mL 甲醇、5mL 水，弃去；

上样：取备用液过柱，弃去；



淋洗：5mL 水，5mL 10%甲醇水溶液，抽干；

洗脱：10mL 洗脱液洗脱，压干并收集于离心管中；

复溶：将收集液体于 45°C 水浴氮气吹干，加复溶液至 1.0mL，涡旋 1min 溶解残余物，14000r/min 离心 5min，过 0.22 μ m 滤膜，液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平：1.0g 样中加入 0.05mL 1 μ g/mL 混合标准工作液，因此加标水平为 50 μ g/kg，最终机度数为 50 μ g/L。

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

保护柱柱芯：Ultimate UHPLC XB-C18，超高压柱芯: 2.1 \times 5mm

流动相：A: 0.1%甲酸水溶液；B: 甲醇-乙腈溶液（2:8，含 0.1%甲酸，体积比）

柱温：35°C；流速：0.3mL/min；进样体积：2 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
2.00	85	15



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

5.00	60	40
7.00	5	95
7.10	95	5
9.00	95	5

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正离子扫描；

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°C；

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

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
四环素	445.1	410.2*	19
		427.2	13
金霉素	479.1	444.2*	24
		462.2	27
土霉素	461.1	426.2*	20
		443.2	13
多西环素	445.1	410.2*	19
		428.2	24
乙酰磺胺	215.0	156.0*	18

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



		108.0	11
磺胺吡啶	250.0	156.0*	25
		108.0	16
磺胺嘧啶	251.0	156.0*	27
		92.0	15
磺胺甲恶唑	254.0	156.0*	16
		92.0	26
磺胺噻唑	256.0	156.0*	25
		92.0	15
磺胺甲嘧啶	265.0	156.0*	28
		92.0	15
磺胺二甲异恶唑	268.0	156.0*	28
		92.0	16
磺胺甲塞二唑	271.0	92.0*	30
		156.0	15
苯甲酰磺胺	277.0	156.0*	22
		108.0	10
磺胺二甲异嘧啶	279.0	124.0*	21
		186.0	17
磺胺二甲嘧啶	279.0	186.0*	28
		92.0	16
磺胺间甲氧嘧啶	281.0	156.0*	31
		92.0	22
磺胺甲氧哒嗪	281.0	156.0*	30
		92.0	17
磺胺对甲氧嘧啶	281.0	156.0*	29
		92.0	17
磺胺氯哒嗪	285.0	156.0*	28
		92.0	15
磺胺邻二甲氧嘧啶	311.0	156.0*	32



		92.0	17
磺胺间二甲氧嘧啶	311.0	156.0*	32
		92.0	21
磺胺苯吡唑	315.0	158.0*	42
		92.0	28
酞磺胺噻唑	404.0	256.0*	32
		149.0	15
噁嗪酸	262.0	244.0*	28
		216.0	18
氟甲喹	262.0	244.0*	32
		202.0	18
诺氟沙星	320.1	302.0*	25
		233.0	19
依诺沙星	321.1	303.0*	23
		234.0	31
环丙沙星	332.1	314.1*	22
		231.1	38
培氟沙星	334.1	290.1*	20
		316.1	18
洛美沙星	352.1	265.1*	22
		308.1	16
达氟沙星	358.2	340.2*	25
		96.0	23
恩诺沙星	360.2	316.1*	26
		245.0	20
氧氟沙星	362.1	318.1*	26
		261.1	20
麻保沙星	363.1	320.0*	21
		72.0	15
沙拉沙星	386.2	342.1*	20



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

		299.1	27
二氟沙星	400.2	356.1*	30
		299.0	19

7、色谱图或者加标回收率结果

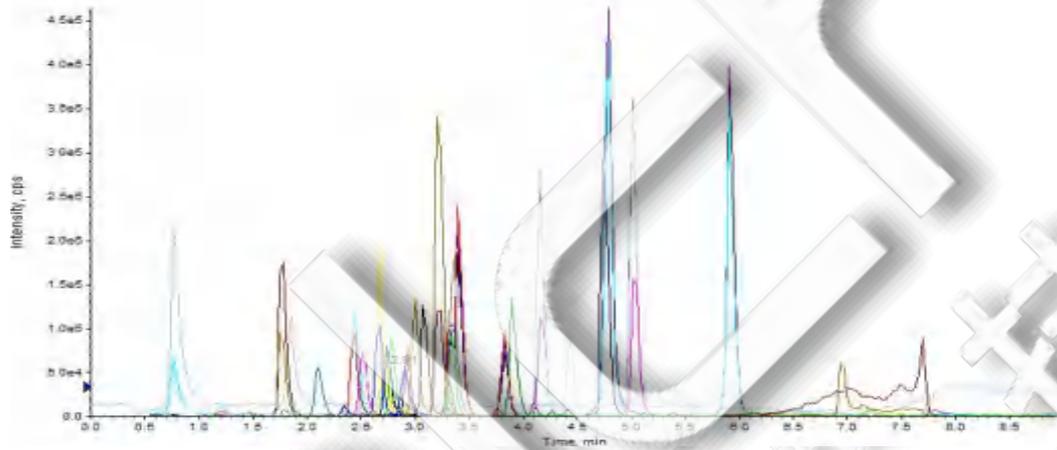
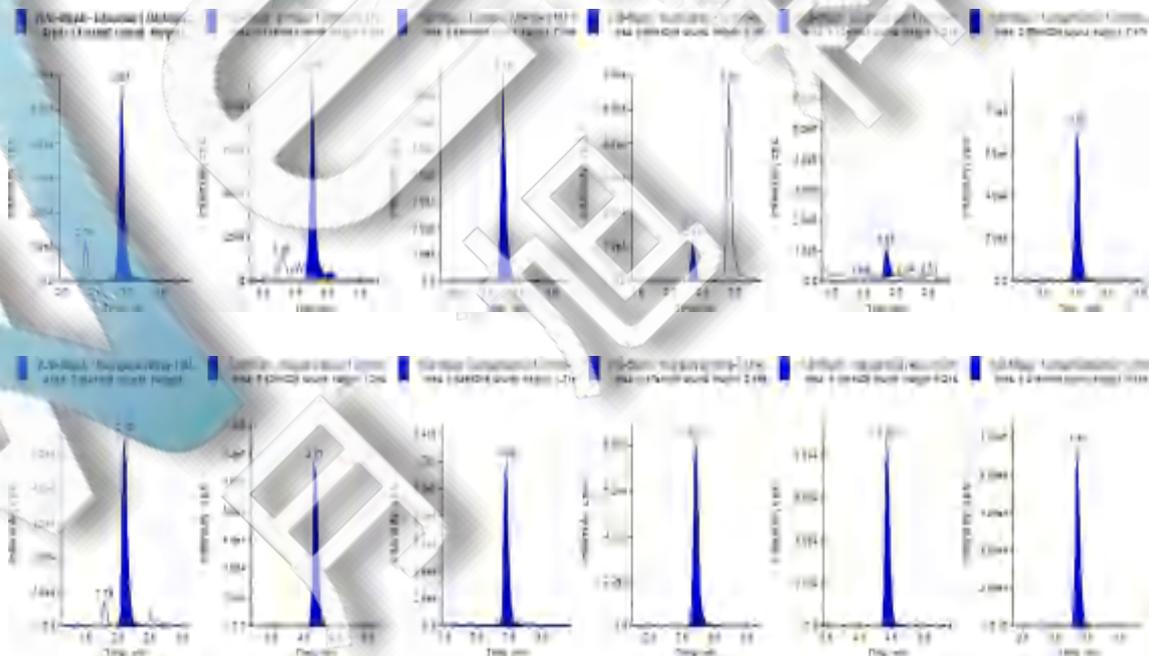


图 1. 基质混合对照溶液 50µg/L 图谱



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

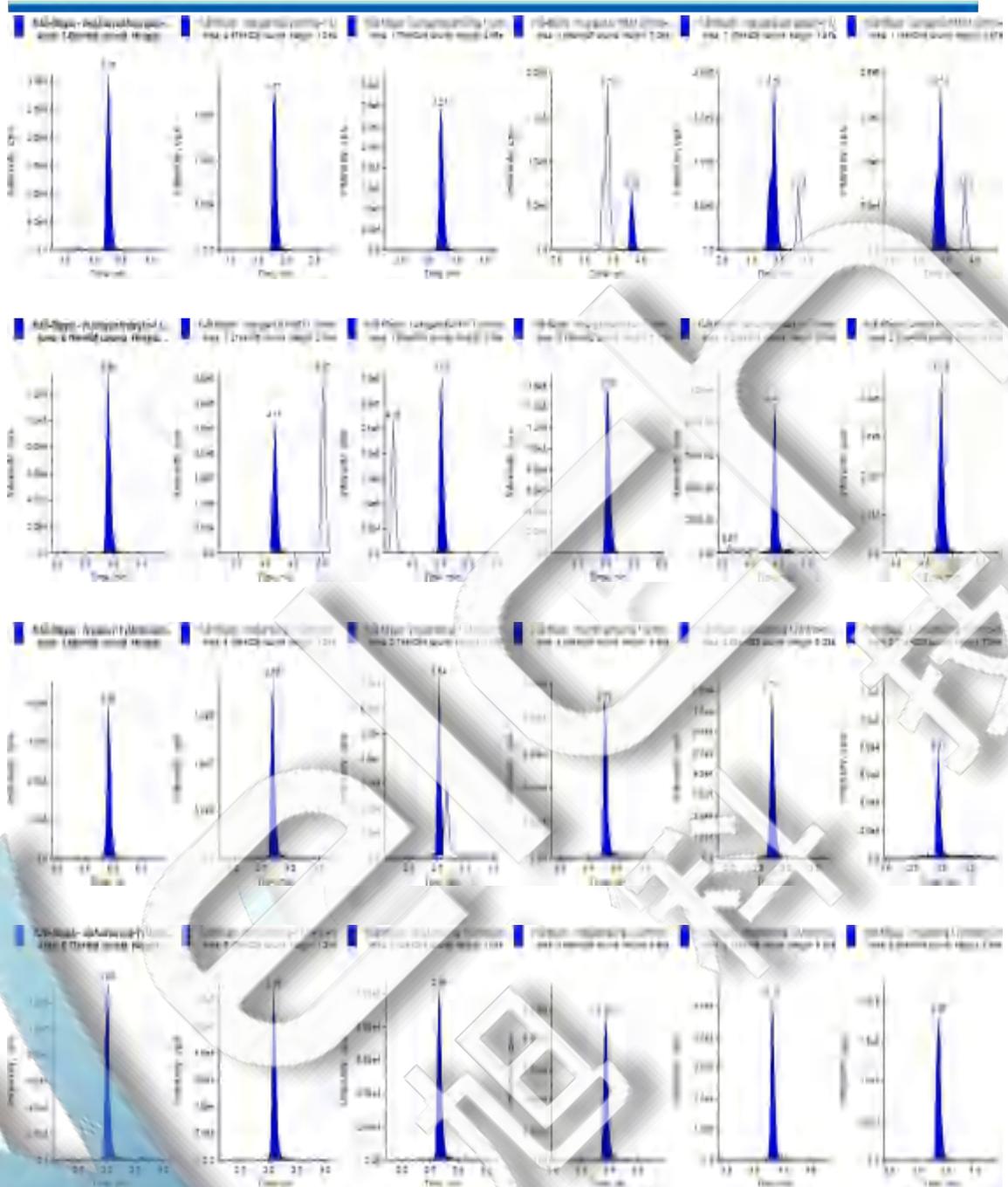


图 2. 基质混合对照溶液 50µg/L 各目标物图谱



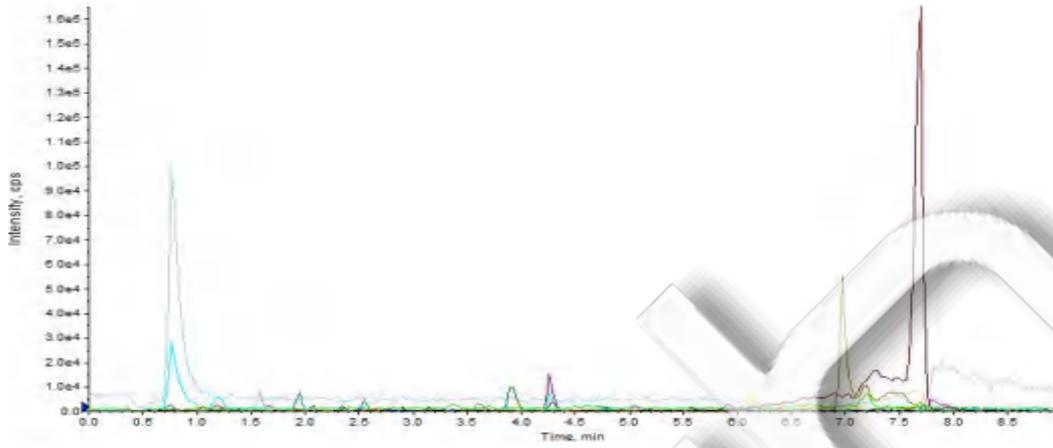


图 3. 鸡肉样品空白图谱

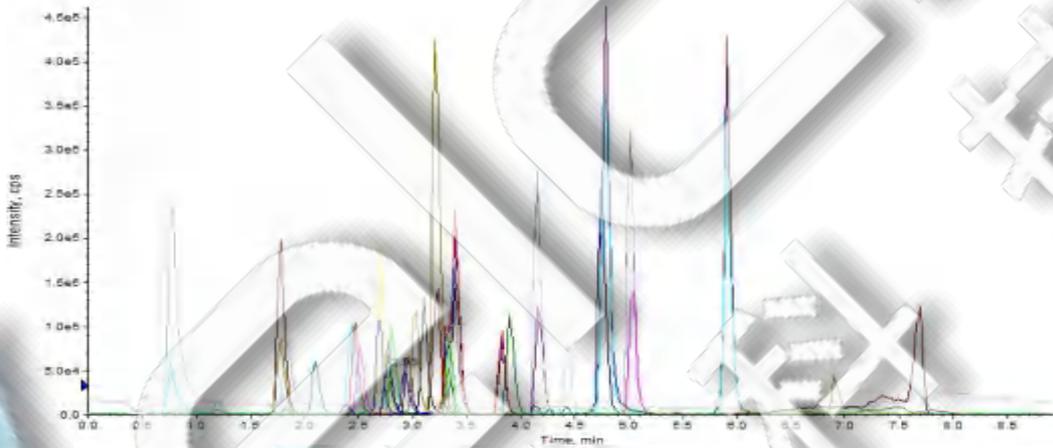


图 4. 鸡肉样品加标 50µg/kg 图谱

表 3. 加标回收率表（加标水平为 50µg/kg）

峰号	物质	平均回收率	RSD 值
1	四环素	92.77%	1.91%
2	金霉素	94.73%	2.45%
3	土霉素	85.55%	0.46%
4	多西环素	107.57%	3.44%
5	乙酰磺胺	85.49%	5.28%
6	磺胺吡啶	106.64%	3.43%
7	磺胺嘧啶	106.54%	2.15%



8	磺胺甲恶唑	106.53%	3.23%
9	磺胺噻唑	93.71%	3.09%
10	磺胺甲嘧啶	107.09%	0.85%
11	磺胺二甲异恶唑	94.63%	4.16%
12	磺胺甲塞二唑	99.42%	5.48%
13	苯甲酰磺胺	89.26%	3.76%
14	磺胺二甲异嘧啶	104.68%	1.92%
15	磺胺二甲嘧啶	118.44%	3.30%
16	磺胺间甲氧嘧啶	107.28%	1.06%
17	磺胺甲氧哒嗪	103.04%	8.86%
18	磺胺对甲氧嘧啶	103.04%	8.86%
19	磺胺氯哒嗪	99.75%	3.86%
20	磺胺邻二甲氧嘧啶	112.81%	8.42%
21	磺胺间二甲氧嘧啶	99.37%	5.06%
22	磺胺苯吡唑	87.87%	1.33%
23	酞磺胺噻唑	89.24%	7.81%
24	噁嗪酸	93.13%	3.23%
25	氟甲喹	95.38%	0.28%
26	诺氟沙星	96.89%	3.21%
27	依诺沙星	100.73%	4.71%
28	环丙沙星	106.40%	3.01%
29	培氟沙星	102.84%	1.50%
30	洛美沙星	89.89%	1.05%
31	达氟沙星	100.00%	5.48%
32	恩诺沙星	92.86%	0.35%
33	氧氟沙星	104.02%	0.28%
34	麻保沙星	105.96%	0.48%



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

35	沙拉沙星	103.00%	4.25%
36	二氟沙星	95.80%	0.47%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20009	SPE 小柱	Welchrom® BRP,60mg/3mL,50pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌,50mL,50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌,15mL,50/包
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 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-11010	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 50mm
U808-201-25	保护柱柱芯	Ultimate UHPLC XB-C18, 超高压柱芯: 2.1 \times 5mm
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22 μ m,100pk

