

# 团体标准

T/ NAIA×××-××××

## 动物源性食品中 4 种喹诺酮类残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of 4 quinolones residues in animal derived foods, LC-MS/MS

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

宁夏化学分析测试协会发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出、归口并实施。

本文件起草单位：宁夏菲杰特检测有限公司、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：朱斐全、雷希荣、李亚辉、张金霞、张小飞。

# 动物源性食品中 4 种喹诺酮类残留量的测定

## 液相色谱-质谱/质谱法

### 1 范围

本标准规定了动物源性食品中 4 种喹诺酮类残留量的测定方法。

本标准适用于动物源性食品牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉、鱼肉、鸡蛋中 4 种喹诺酮类残留量的测定，其它动物源性食品可参照执行。

本方法动物源性食品取样量为 5.0 g 时，恩诺沙星（ENR）、达氟沙星（DAN）的方法检出限为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，沙拉沙星（SAR）、环丙沙星（CIP）的方法检出限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件。不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》。

NY/T 3304-2018《农产品检测样品管理技术规范》。

GB/T 20366-2006《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。

GB/T 21312-2007《动物源性食品中 14 种喹诺酮药物残留检测方法》液相色谱-质谱/质谱法。

### 3 原理

试样中喹诺酮类药物残留，采用甲酸-乙腈进行提取，提取液浓缩后经乙腈饱和的正己烷脱脂后；经高效液相色谱-质谱/质谱法进行测定，外标法定量。

### 4 试剂与材料

#### 4.1 试剂

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682-2008 中规定的一级水。

4.1.1 乙腈（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$ ）：色谱纯。

4.1.2 甲酸（ $\text{CH}_2\text{O}_2$ ）：色谱纯。

4.1.3 无水硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ）。

4.1.4 正己烷（ $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ）：色谱纯。

#### 4.2 试剂配制

4.2.1 甲酸-乙腈溶液（1%）：取 1 mL 甲酸加入到 99 mL 乙腈中，混匀备用。

4.2.2 无水硫酸钠：经 650℃灼烧 4h 后，置于干燥器中备用。

4.2.3 乙腈饱和的正己烷：取适量正己烷于 250 mL 分液漏斗中，加过量乙腈，剧烈振摇后，静置分层，去上层正己烷层，备用。

4.2.4 流动相 A（0.1%甲酸水）：取 1 mL 甲酸加入到适量水中，并定容至 1000mL；混匀，经过滤、超声脱气后备用。

4.2.5 流动相 B（0.1%甲酸-乙腈溶液）：取 1 mL 甲酸加入到适量水中，并定容至 1000mL；混匀，经过滤、超声脱气后备用。

### 4.3 标准品

4.3.1 恩诺沙星（ENR）标准品（ $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ ，CAS 号：93106-60-6）：纯度 $\geq 98.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.3.2 环丙沙星（CIP）标准品（ $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ ，CAS 号：85721-33-1）：纯度 $\geq 98.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.3.1 沙拉沙星（SAR）标准品（ $C_{20}H_{17}N_3O_3F_2$ ，CAS 号：98105-99-8）：纯度 $\geq 98.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.3.1 达氟沙星（DAN）标准品（ $C_9H_2FN_3O_3$ ，CAS 号：112398-08-0）：纯度 $\geq 98.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 4.4 标准溶液配制

4.4.1 四种喹诺酮类标准储备液：分别称取恩诺沙星（ENR）、环丙沙星（CIP）、沙拉沙星（SAR）、达氟沙星（DAN）标准品 10 mg（精确到 0.0001g），用乙腈溶液溶解，并定容至 10 mL 棕色容量瓶中，既得 1 mg/mL 的标准储备液，冷冻保存。

4.4.2 四种喹诺酮类标准中间液：精密移取 0.1 mL 四种喹诺酮类标准储备液于 10 mL 容量瓶中，用乙腈稀释并定容至刻度，摇匀既得 10  $\mu\text{g/mL}$  的标准中间液，冷冻保存。

4.4.3 四种喹诺酮类标准使用液：精密移取 0.1 mL 四种喹诺酮类标准中间液于 10 mL 容量瓶中，用甲酸-乙腈溶液（1%）稀释并定容至刻度，摇匀既得 1  $\mu\text{g/mL}$  的标准使用液，冷冻保存。

4.4.4 种喹诺酮类系列标准工作液：分别精密移取一定量的四种喹诺酮类标准使用液于 10 mL 容量瓶中，用空白样品基质稀释并定容至刻度；配成最终浓度为 1.0 ng/mL、2.5 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、100.0 ng/mL 的系列标准工作溶液，供高效液相色谱-质谱/质谱仪测定，并制备标准曲线。（临用现配）

### 4.5 材料

4.5.1 一次性针式微孔滤头：0.22 μm，有机系。

## 5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-质谱/质谱仪。

5.2 分析天平：感量 0.001g 和 0.0001 g。

5.3 多管涡旋振荡提取仪：≥2500 r/min。

5.4 离心机：转速≥8000 r/min。

5.5 旋转蒸发仪。

## 6 试样制备与处理

制样操作过程中应防止样品受到污染或残留物含量发生变化。

样品制备应按照 NY/T 3304-2018 《农产品检测样品管理技术规范》中相关技术规范进行操作。

## 7 分析步骤

### 7.1 样品前处理

称取已制备好的试样 5.0 g（精确到 0.001g），于 50mL 棕色离心管中，加入 20mL 1% 甲酸-乙腈溶液，涡旋混匀，浸泡放置 10 min；加入 10 g 无水硫酸钠，涡旋混匀，高速震荡提取 10 min；取出后 6000 r/min 冷冻离心 5 min，上清液于 150 mL 棕色鸡心瓶中，残渣再加入 20 mL 1%甲酸-乙腈溶液重复提取一次；合并两次提取液，于 40 °C 旋转蒸发至近干；准确加入 1 mL 0.1% 甲酸-乙腈溶液进行复溶，并转移至 5 mL 离心管中，加入 2 mL 乙腈饱和的正己烷，涡旋 1 min，于 4000 r/min 离心 5 min，取下层乙腈层溶液，过 0.22 μm 有机系滤头，供高效液相色谱-质谱/质谱仪进行测定。

### 7.2 色谱参考条件

7.2.1 色谱柱：C18（2.1×50 mm 1.8 μm）反向色谱柱，或具有同等性能的色谱柱。

7.2.2 流动相：梯度洗脱程序见表 A.1 。

表 A.1 4 种喹诺酮类梯度洗脱程序

T/min	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.0	98	2
0.4	98	2
6.0	85	15
6.1	5	95

8.0	5	95
8.1	98	2
15.0	98	2

7.2.3 流速：300  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

7.2.4 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

7.2.5 进样量 10 $\mu\text{L}$ 。

### 7.3 质谱参考条件

7.3.1 离子源：ESI 离子源。

7.3.2 气流量：10.5 L/min。

7.3.3 压力：35 psi。

7.3.3 扫描模式：正离子扫描。

7.3.4 反应模式：MRM。

7.3.5 喷雾电压、碰撞能量等质谱参数应优化至最优灵敏度。

7.3.6 其他质谱参考参数见表 B. 1。

**表 B. 1 4 种喹诺酮的主要质谱参考参数**

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	喷雾电压/eV	碰撞能量/CE
沙拉沙星 (SAR)	386>367.9	386>299.0	83	42
	386>299.0			45
恩诺沙星 (ENR)	360>316.0	360>244.9	90	29
	360>244.9			40
达氟沙星 (DAN)	358.3>340.3	358.3>82.0	38	25
	358.3>82.0			42
环丙沙星 (CIP)	332>314.0	332>230.9	92	32
	332>230.9			53

## 7.4 测定

### 7.4.1 标准曲线的制作

系列标准工作溶液由低到高浓度依次进样检测，以峰面积为纵坐标-浓度为横坐标作图，得到标准曲线回归方程。

### 7.4.2 试样溶液的测定

待测溶液中待测化合物的响应值应在标准曲线线性范围内，浓度超过线性范围的样品则

应稀释后重新进行分析。

#### 7.4.3 空白试验

不称取试样的情况下，按 7.1 的步骤做空白试验。

### 8 结果计算合表述

按式 (1) 计算试样中 4 种喹诺酮的含量。

$$X = C \times \frac{V}{m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

X——试样中 4 种喹诺酮的残留量，单位为 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。

V——最终定容体积 (mL)。

m——样品称样量 (g)。

C——曲线中查得的 4 种喹诺酮含量 (ng/mL)。

1000——单位换算系数。

计算结果需扣除空白值，测定结果保留两位有效数字。

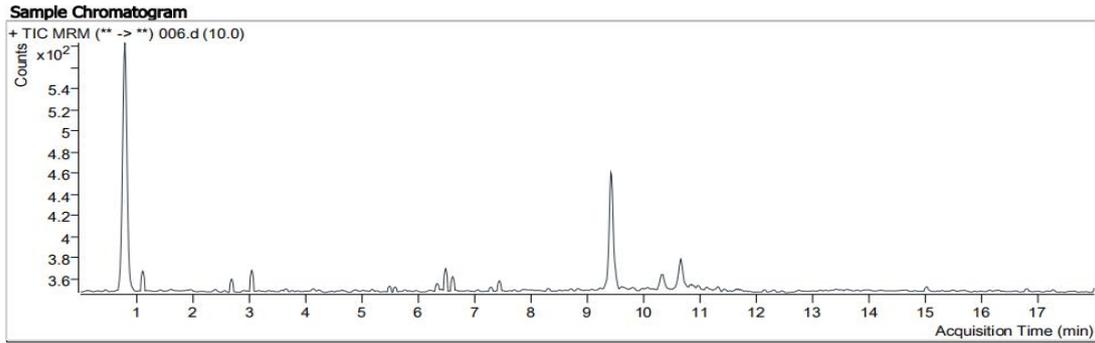
### 9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过其算数平均值的 10%。

### 10 色谱图见附录 A

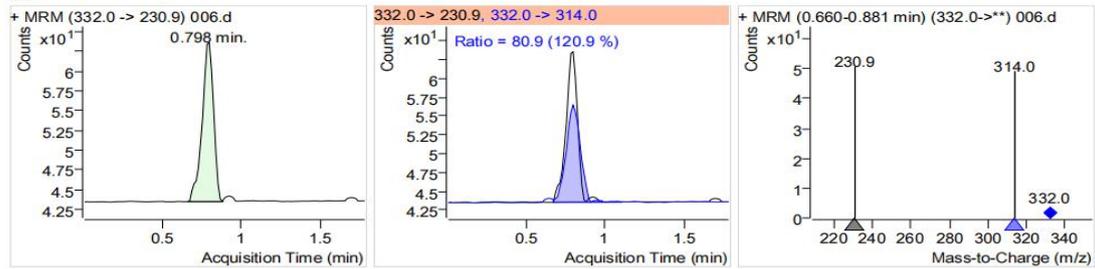
## 附 录 A

(资料性附录)

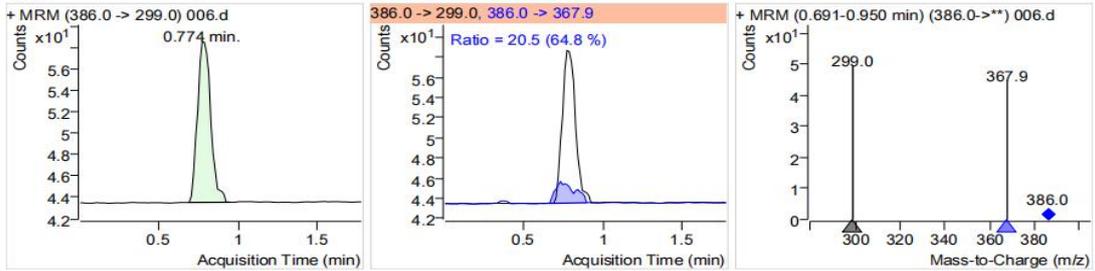


Compound	Transition	RT	Resp.	Final Conc.	Units
CIP	332.0 -> 230.9	0.798	101	9.0542	ng/ml
SAR	386.0 -> 299.0	0.774	88	10.6842	ng/ml
ENR	360.0 -> 244.9	0.791	119	12.1645	ng/ml
DAN	358.3 -> 82.0	0.795	601	8.7523	ng/ml

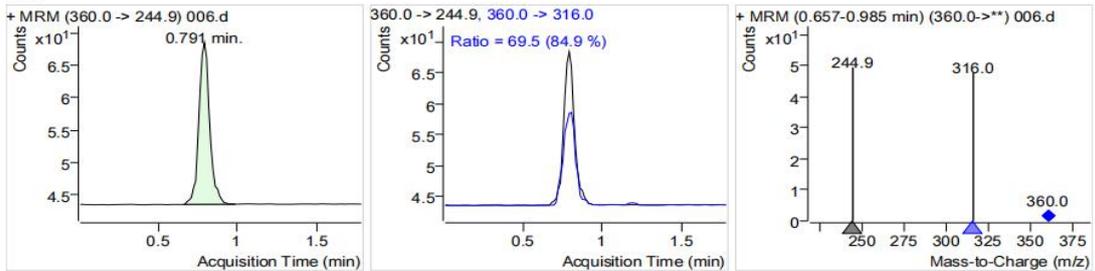
**CIP**



**SAR**



**ENR**



**DAN**

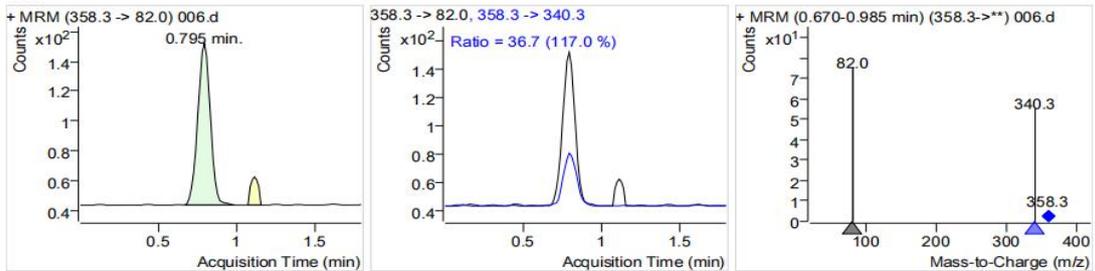


图 A4种喹诺酮标准溶液特征离子色谱图 (10.0 ng/mL)