

中华人民共和国国家标准

农业部 1077 号公告—1—2008

水产品中 17 种磺胺类及 15 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Simultaneous determination of 17 sulfonamides and 15 quinolones residues in aquatic products by LC-MS/MS method

2008-08-11 发布

2008-08-11 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：冷凯良、王志杰、孙伟红、翟毓秀。

水产品中 17 种磺胺类及 15 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了水产品中 17 种磺胺(SAs)及 15 种喹诺酮(QNs)类药物残留量的液相色谱-串联质谱测定法。

本标准适用于水产品中 17 种磺胺(磺胺二甲异噁唑、磺胺二甲异噁啉、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺甲噁二唑、磺胺二甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺胍、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺喹噁啉)和 15 种喹诺酮(氟罗沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、恩诺沙星、洛美沙星、丹诺沙星、奥比沙星、双氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、噁喹酸、氟甲喹、培氟沙星)残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SC/T 3016 水产品抽样方法

3 原理

样品采用酸化乙腈提取并浓缩,经正己烷液-液萃取净化后,液相色谱-串联质谱仪测定,内标法定量。

4 试剂

除另有规定外,所用试剂均为分析纯。

4.1 水:试验用水符合 GB/T 6682 一级水指标。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 醋酸铵:色谱纯。

4.5 甲酸:色谱纯。

4.6 无水硫酸钠:650℃灼烧 4 h,冷却后贮于密闭容器中备用。

4.7 酸化乙腈:99 mL 乙腈中加入 1 mL 甲酸。

4.8 0.1%甲酸溶液(含 5.0 mmol/L 醋酸铵):取 0.19 g 醋酸铵、0.5 mL 甲酸,用水溶解并定容至 500 mL。

4.9 20%甲醇溶液:取甲醇 20 mL 用水稀释至 100 mL。

4.10 标准储备液:1 mg/mL,分别称取氟罗沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、恩诺沙星、洛美沙星、丹诺沙星、奥比沙星、双氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、噁喹酸、氟甲喹、培氟沙星对照品约 10 mg,于各自的 10 mL 量瓶中,加甲酸 0.2 mL,用甲醇溶解并稀释至刻度。配制成浓度为 1 mg/mL 的标

准储备液,避光-18℃下保存,有效期 6 个月。

分别称取磺胺二甲异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺胍、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺喹噁啉对照品约 10 mg,于各自的 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度。配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液,避光-18℃下保存,有效期 6 个月。

4.11 氘代同位素内标标准储备液:0.5 mg/mL,分别称取氘代磺胺邻二甲氧嘧啶、氘代磺胺间二甲氧嘧啶内标对照品约 5 mg,于各自的 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度。配制成浓度为 0.5 mg/mL 的同位素内标标准储备液,避光-18℃下保存,有效期 6 个月。

分别称取氘代诺氟沙星、氘代环丙沙星、氘代恩诺沙星内标对照品约 5 mg,于各自的 10 mL 量瓶中,加甲酸 0.2 mL,用甲醇溶解并稀释至刻度。配制成浓度为 0.5 mg/mL 的同位素内标标准储备液,避光-18℃下保存,有效期 6 个月。

4.12 混合标准工作液:准确吸取各磺胺和喹诺酮标准储备液适量,用甲醇稀释分别配成 1.0 μg/mL 和 0.1 μg/mL 混合标准工作液,避光 4℃冷藏保存,有效期 1 个月。

4.13 混合内标标准工作液:准确吸取各氘代同位素内标标准储备液适量,用甲醇稀释配成 1.0 μg/mL 的混合内标标准工作液,避光 4℃下保存,有效期 1 个月。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联四极杆质谱仪:配备电喷雾离子源(ESI)。

5.2 均质机。

5.3 分析天平:感量 0.000 01 g。

5.4 天平:感量 0.01 g。

5.5 涡旋混合器。

5.6 超声波清洗仪。

5.7 离心机:4 000 r/min。

5.8 旋转蒸发器。

6 测定步骤

6.1 样品处理

6.1.1 试样制备

按 SC/T 3016 的规定执行。

6.1.2 提取净化

称取(5±0.02) g 试样,于 50 mL 具塞离心管中,准确加入 50 μL 混合内标标准工作液(4.13),涡旋混合 30 s,避光放置 10 min。加入 10 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,再加入 20 mL 酸化乙腈(4.7),涡旋混合 1 min,超声波提取 10 min。4 000 r/min 离心 5 min,取上清液于 50 mL 梨形瓶中。残渣中加 20 mL 酸化乙腈(4.7),重复提取一次,合并两次提取液,于 40℃水浴旋转蒸发至干。加 1.0 mL 甲醇溶液(4.9)涡旋溶解残留物,再加入 2.0 mL 正己烷涡旋混合 30 s,转入 5 mL 具塞离心管中,以 4 000 r/min 离心 5 min,弃上层液,取下层清液,过 0.2 μm 滤膜,供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.2 标准工作曲线制作

准确量取适量混合标准工作液(4.12),用甲醇溶液(4.9)稀释成浓度分别为 0.010 μg/mL、0.020 μg/mL、0.050 μg/mL、0.100 μg/mL 和 0.200 μg/mL 的混合标准工作液,供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.3 测定

6.3.1 色谱条件

色谱柱: C₁₈柱, MG II, 2.1 mm×150 mm, 5 μm; 或相当者;

柱温: 室温;

进样量: 10 μL;

流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液(含 5.0 mmol/L 醋酸铵), B 为甲醇, C 为乙腈; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %	C, %	流速, mL/min
0	78	20	2	0.20
3.0	75	20	5	0.20
6.0	70	20	10	0.20
8.0	40	20	40	0.20
13.0	40	20	40	0.20
13.1	78	20	2	0.20
16.0	78	20	2	0.20

6.3.2 质谱条件

离子化模式: 电喷雾离子源(ESD), 正离子模式;

喷雾电压: 4 500 V;

雾化气压力: 12 L/min;

辅助气流量: 2 L/min;

离子传输管温度: 350℃;

源内碰撞诱导解离电压: 10 V;

扫描模式: 选择反应监测(SRM), 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量见表 2;

Q1 半峰宽: 0.7 Da;

Q3 半峰宽: 0.7 Da;

碰撞气压力: 氩气, 1.5 mTorr。

表 2 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量

目标化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
磺胺二甲异噁唑 Sulfisoxazole	268	108	22
		156*	13
磺胺二甲异噻啉 Sulfisomidin	279	186	17
		156*	19
磺胺噻唑 Sulfathiazole	256	108	22
		156*	16
磺胺吡啉 Sulfapyridine	250	184	18
		156*	16
磺胺间甲氧嘧啶 Sulfamonomethoxine	281	215	17
		156*	17
磺胺甲氧吡嗪 Sulfamethoxypyridazine	281	215	17
		156*	17
磺胺甲噁唑 Sulfamethoxazole	254	108	22
		156*	16

表 2 (续)

目标化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
磺胺甲噁二唑 Sulfamethizol	271	107	30
		156*	14
磺胺二甲基嘧啶 Sulfamethazine	279	186	17
		156*	19
磺胺对甲氧嘧啶 Sulfameter	281	215	17
		156*	17
磺胺甲基嘧啶 Sulfamerazine	265	172	17
		156*	17
磺胺胍 Sulfaguanidine	215	108	22
		156*	12
磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine	311	108	29
		156*	19
磺胺间二甲氧嘧啶 Sulfadimethoxine	311	108	29
		156*	19
磺胺嘧啶 Sulfadiazine	251	108	25
		156*	16
磺胺氯吡嗪 Sulfachloropyridazine	285	108	24
		156*	15
磺胺喹噁啉 Sulfachinoxalin	301	108	25
		156*	17
氟罗沙星 Fleroxacin	370	269	26
		326*	19
氧氟沙星 Ofloxacin	362	261	27
		318*	18
诺氟沙星 Norfloxacin	320	233	24
		276*	16
依诺沙星 Enoxacin	321	232	34
		303*	21
环丙沙星 Ciprofloxacin	332	245	22
		288*	17
恩诺沙星 Enrofloxacin	360	245	26
		316*	9
洛美沙星 Lomefloxacin	352	265	22
		308*	16
丹诺沙星 Danofloxacin	358	283	22
		340*	22
奥比沙星 Orbifloxacin	396	295	24
		352*	17
双氟沙星 Difloxacin	400	299	28
		356*	19
沙拉沙星 Sarafloxacin	386	299	26
		342*	18
司帕沙星 Sparfloxacin	393	292	25
		349*	19
噁唑酸 Oxolinic acid	262	216	29
		244*	18

表 2 (续)

目标化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
氟甲喹 Flumequin	262	202	32
		244*	18
培氟沙星 Pefloxacin	334	290	18
		316*	20
氟代磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine - D3	314	156*	17
氟代磺胺间二甲氧嘧啶 Sulfadimethoxine - D6	317	156*	20
氟代诺氟沙星 Norfloxacin - D5	325	307*	22
氟代环丙沙星 Ciprofloxacin - D8	340	322*	21
氟代恩诺沙星 Enrofloxacin - D5	365	321*	19

注：* 为定量碎片离子

6.3.3 定性依据

在同样测试条件下,阳性样品保留时间与标准物质保留时间相对偏差在±5%以内,且检测到的离子的相对丰度,应当与浓度相当的校正标准品相对丰度一致。基峰与次强碎片离子丰度比应符合表 3 要求。标准溶液、空白样品及添加样品的离子流图参见附录 A。

表 3 基峰与次强碎片离子丰度比要求

次强碎片离子相对丰度, %	允许相对偏差, %
>50	±20
20~50(不含 20)	±25
10~20(不含 10)	±30
≤10	±50

6.3.4 定量测定

按 6.3.1 和 6.3.2 仪器的色谱、质谱条件,将混合标准工作液和样品液等体积进样测定,氟罗沙星、氧氟沙星、培氟沙星、依诺沙星和诺氟沙星以氟代诺氟沙星为内标;洛美沙星、奥比沙星、丹诺沙星、双氟沙星和环丙沙星以氟代环丙沙星为内标;恩诺沙星、沙拉沙星、司帕沙星、噁唑酸和氟甲喹以氟代恩诺沙星为内标;磺胺二甲异噁唑、磺胺喹噁啉和磺胺间二甲氧嘧啶以氟代磺胺间二甲氧嘧啶为内标;磺胺二甲异嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺胍、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺嘧啶和磺胺氯哒嗪以氟代磺胺邻二甲氧嘧啶为内标,内标法定量,定量离子采用丰度最大的二级特征离子碎片(见表 2)。

6.4 空白试验

除不加试样外,均按上述测定条件和步骤进行。

7 结果计算

样品中磺胺及喹诺酮类药物残留量按式(1)计算,计算结果需扣除空白值,保留三位有效数字。

$$X_i = \frac{C_i \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

农业部 1077 号公告—1—2008

X_i ——样品中磺胺及喹诺酮类药物残留的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_i ——样品制备液中磺胺及喹诺酮类药物残留的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——样品质量,单位为克(g)。

8 方法灵敏度、准确度和精密度

8.1 灵敏度

本方法的最低检出限均为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$,最低定量限均为 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

8.2 准确度

本方法添加浓度为 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

8.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附录 A
(资料性附录)

标准溶液、空白样品及添加样品的离子流图

A.1 磺胺及喹诺酮混合标准溶液的总离子流图

磺胺及喹诺酮混合标准溶液(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的总离子流图见图 A.1。

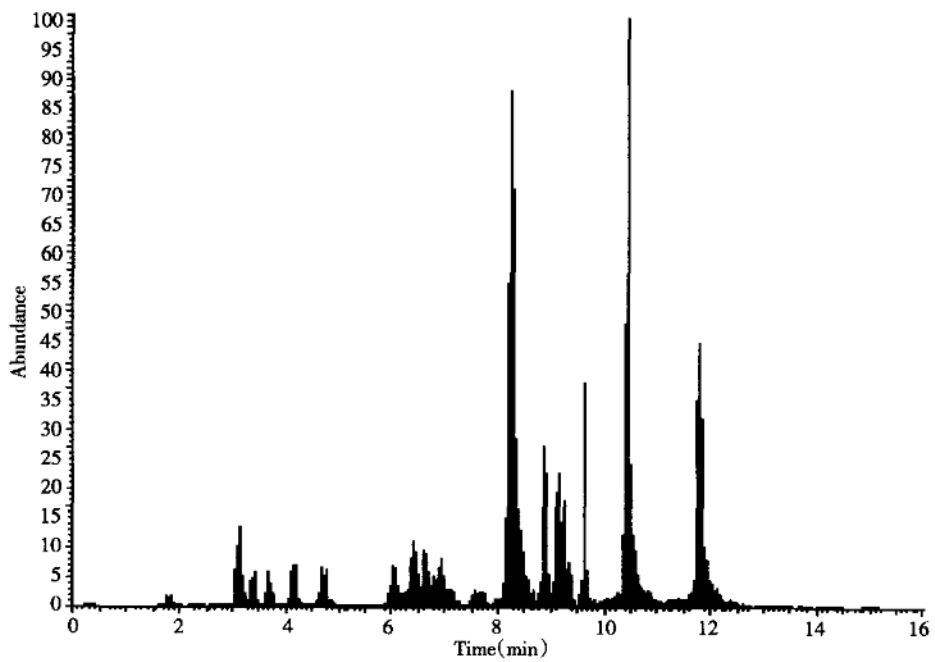


图 A.1 磺胺及喹诺酮混合标准溶液(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的总离子流图

A. 2 磺胺及喹诺酮混合标准溶液的选择离子流图

磺胺及喹诺酮混合标准溶液(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的选择离子流图见图 A. 2。

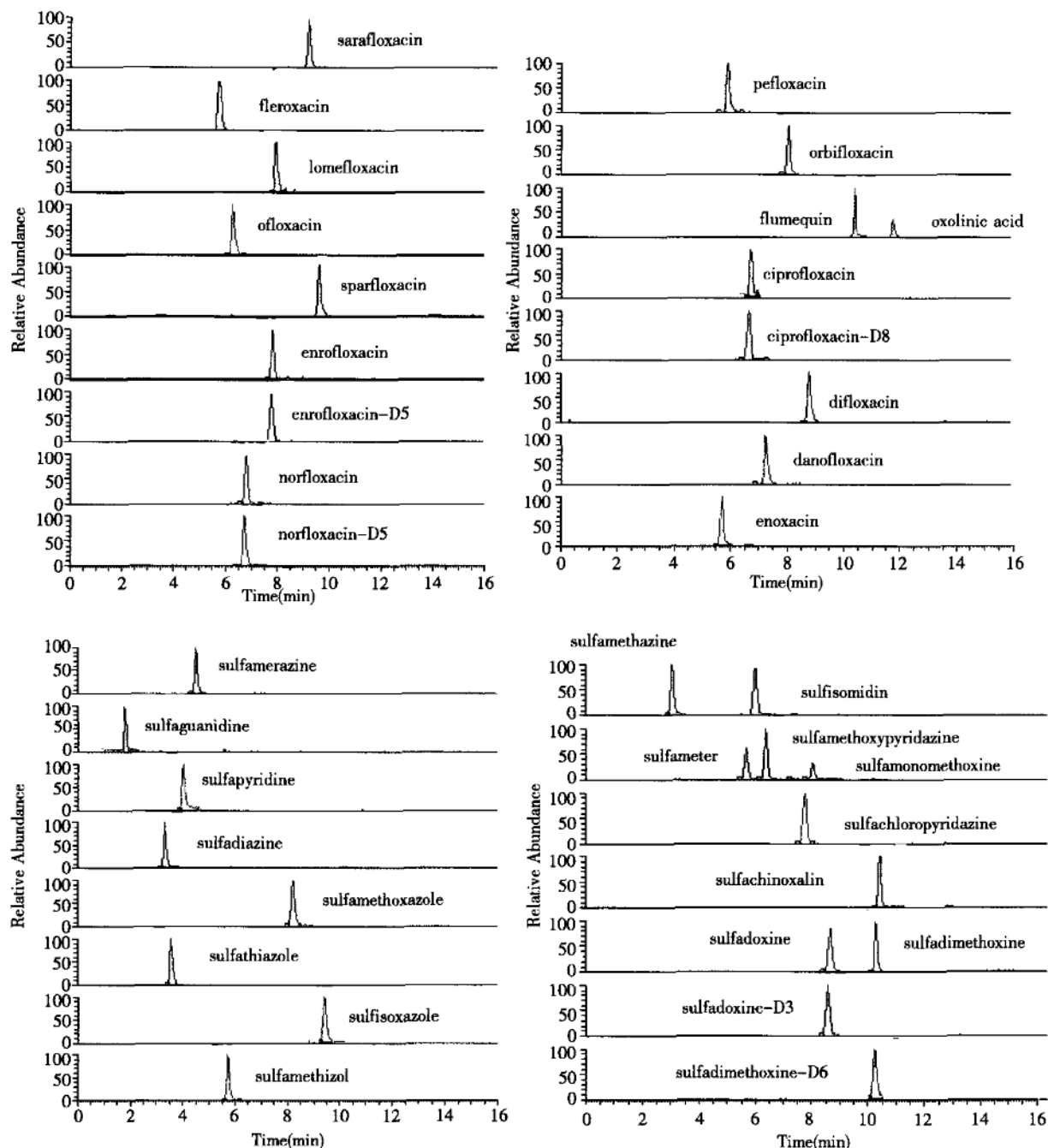


图 A. 2 磺胺及喹诺酮混合标准溶液(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的选择离子流图

A.3 空白鳊鱼的选择离子流图

空白鳊鱼的选择离子流图见图 A.3。

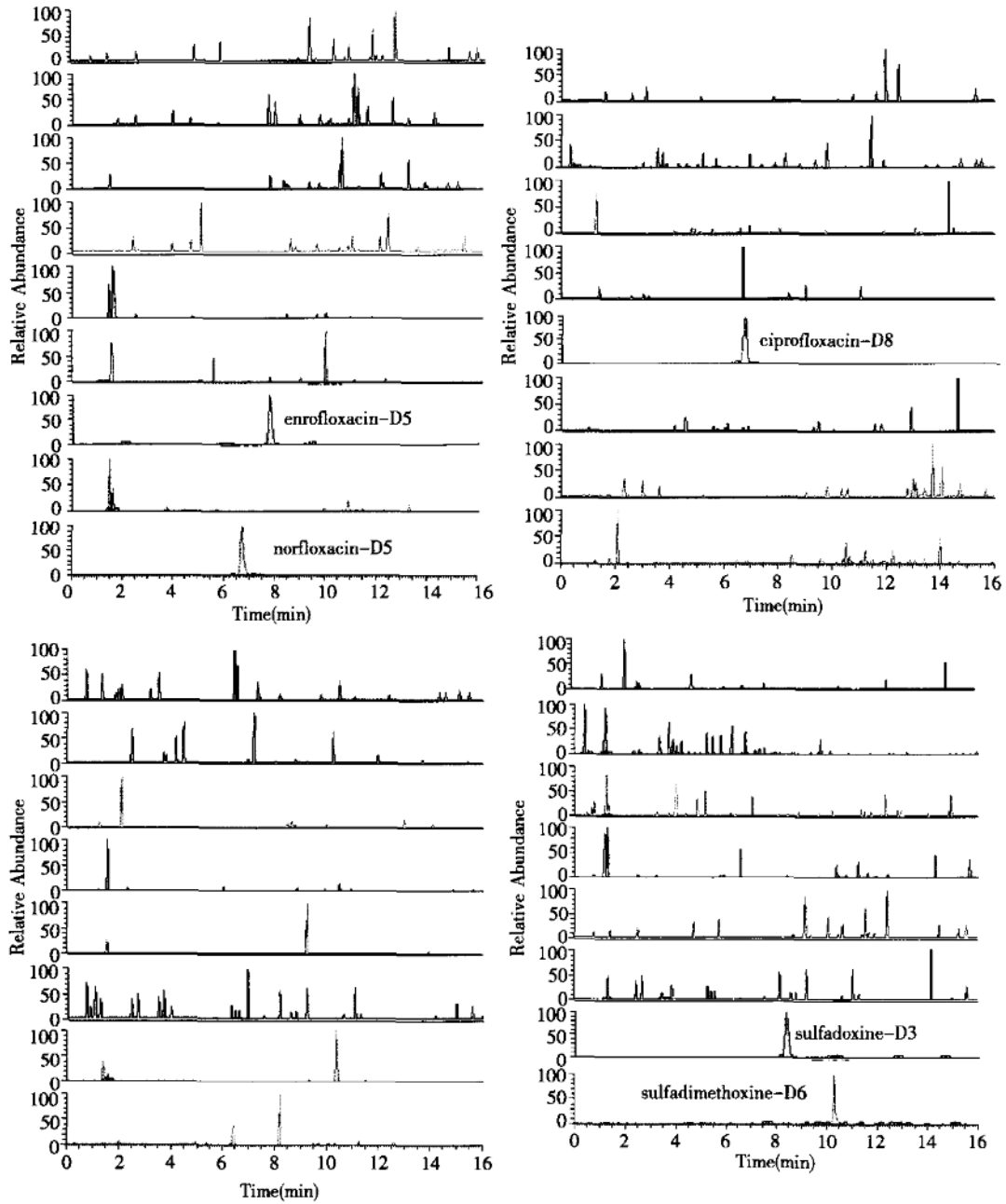


图 A.3 空白鳊鱼的选择离子流图

A. 4 空白鳊鱼添加样品的选择离子流图

空白鳊鱼中添加样品 (5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的选择离子流图见图 A. 4。

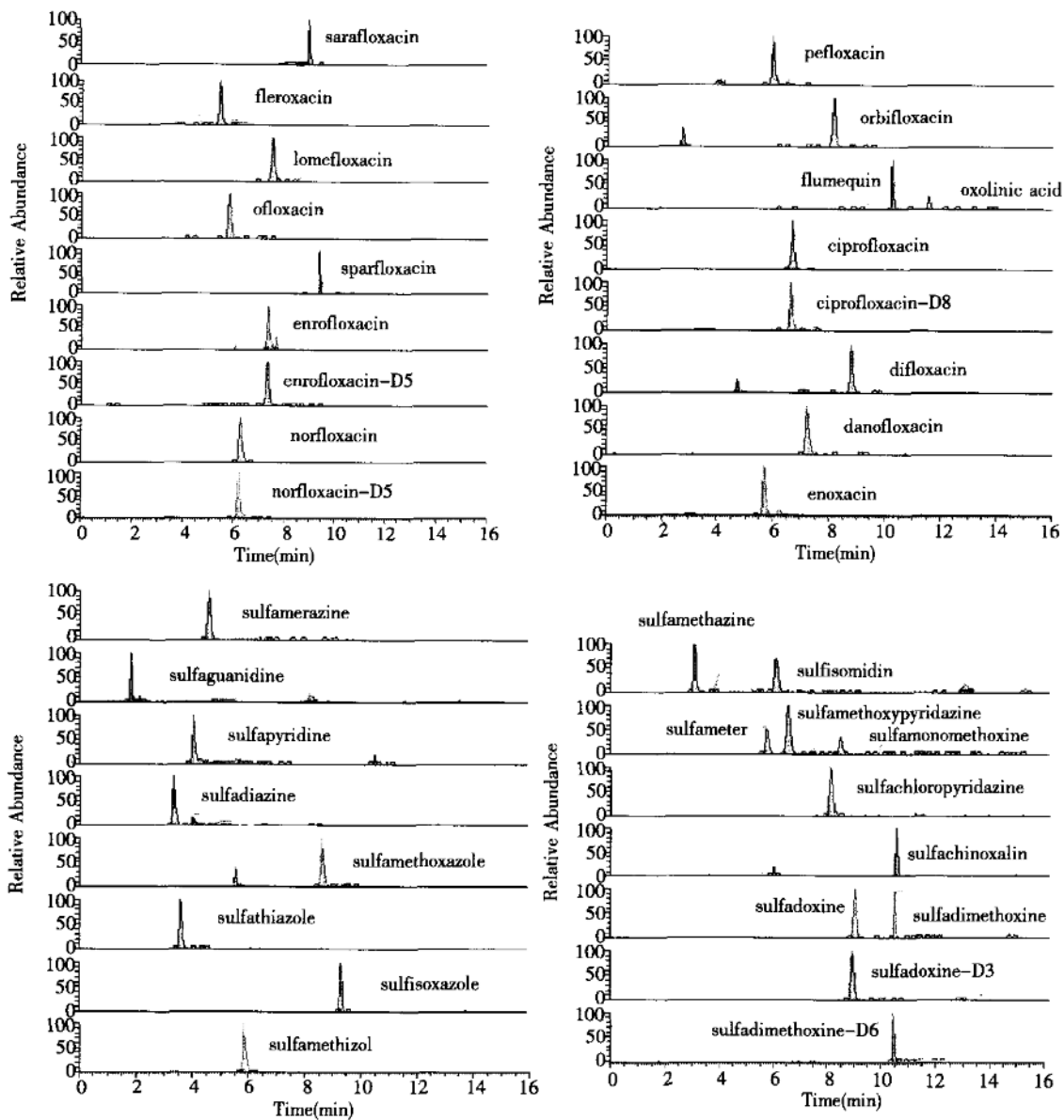


图 A. 4 空白鳊鱼中添加样品 (5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的选择离子流图