

ICS 75.160.10

CCS D20/29

团 体 标 准

P/CIQA-141-2023

鲜禽蛋中喹诺酮类和磺胺类药物残留量的 测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of fluoroquinolones and sulfonamides residues in fresh poultry eggs -
LC-MS/MS

(征求意见稿)

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

中国出入境检验检疫协会 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。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国出入境检验检疫协会综合质量服务标准化技术委员会(CIQA/TC12)归口。

本文件起草单位：中检溯源华南技术服务（深圳）有限公司、中检溯源江苏技术服务有限公司、中国检验认证集团湖南有限公司、湖北省阿克瑞德检验检测有限公司、中检集团中原农食产品检测（河南）有限公司、福建中检华日食品安全检测有限公司、中国检验认证集团广西有限公司。

本文件主要起草人：陈坤、彭磊、陈丹华、曾正宏、刘向荣、汤姣、方胜、朱明杰、谢凤慧、苏建峰、解泽峰、林利美、徐淑海文、刘欢群、黄楚明。

鲜禽蛋中喹诺酮类和磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了鲜禽蛋中喹诺酮类和磺胺类药物残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鸡、鸭、鹅、鸽和鹌鹑等家养母禽所产带壳蛋中喹诺酮类和磺胺类药物残留量的测定。

1.1 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于本文件；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 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

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规则和试验方法

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

2 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

3 原理

试样中残留的喹诺酮类和磺胺类药物经1%乙酸乙腈提取，分散固相萃取法（QuEChERS）净化，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 甲醇：色谱纯。

4.3 甲酸：色谱纯。

4.4 乙酸：色谱纯。

4.5 乙酸铵：色谱纯。

4.6 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA)：40 μm~60 μm。

4.7 无水硫酸钠。

4.8 氯化钠。

4.9 氢氧化钠。

4.10 十八烷基硅烷键合硅胶(C18)：40 μm~60 μm。

4.11 乙腈水溶液（3+7，体积比）：取水 70 mL，加 30 mL 乙腈，混匀。

4.12 1% 乙酸乙腈：准确吸取 5 mL 乙酸(4.4)于 500 mL 容量瓶中，加乙腈定容，混匀备用。

4.13 1 mol/L 氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 4 g，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.14 0.03 mol/L 氢氧化钠溶液：取1 mol/L 氢氧化钠溶液 3 mL，用水稀释至 100 mL。

4.15 0.1% 甲酸 - 2 mmol/L 乙酸铵水溶液：准确称取 0.1542 g 乙酸铵(4.5)，用 0.1% 甲酸水溶液溶解并稀释至 1000 mL，摇匀。

4.16 磺胺类：磺胺醋酰、磺胺嘧啶、磺胺索嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、甲氧苄啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺多辛、磺胺异噁唑、磺胺苯酰、磺胺苯吡唑、磺胺地索辛、磺胺喹噁啉含量均 $\geq 95\%$ ，具体见附录A。

4.17 喹诺酮类：氟罗沙星、氧氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、达氟沙星、洛美沙星、奥比沙星、双氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、噁喹酸、氟甲喹含量均 $\geq 95\%$ ，具体见附录A。

4.18 标准储备溶液：准备称取适量上述标准品，磺胺类药物加甲醇配制成 $1000\ \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液；喹诺酮类药物加 $0.03\ \text{mol/L}$ 氢氧化钠溶液配制成 $1000\ \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液， $-18\ ^\circ\text{C}$ 避光保存，有效期为 6 个月。

4.19 标准中间溶液 I：准备吸取适量上述标准储备液（4.18），用甲醇（4.2）配制成浓度为 $10\ \mu\text{g/mL}$ 的标准中间溶液， $-18\ ^\circ\text{C}$ 冰箱保存，有效期 1 个月。

4.20 混合标准中间液 II：分别吸取适量的上述标准中间溶液（4.19），用甲醇（4.2）配制成浓度为 $1\ \mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液， $-18\ ^\circ\text{C}$ 冰箱保存，有效期 1 周。

4.21 微孔尼龙滤膜： $0.22\ \mu\text{m}$ 。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

5.2 电子天平：感量 $0.1\ \text{mg}$ 和 $0.01\ \text{g}$ 。

5.3 高速冷冻离心机。

5.4 匀浆机。

5.5 超声波清洗仪。

5.6 涡旋振荡器。

5.7 氮吹仪。

6 试样的制备与保存

取有代表性样品约 $500\ \text{g}$ ，去壳，将蛋液搅匀，装入洁净容器作为试样，密封并做好标识，于 $-18\ ^\circ\text{C}$ 下条件下保存。

7 测定方法

7.1 提取

称取 $2.00\ \text{g}$ （精确到 $0.01\ \text{g}$ ）试样置于 $50\ \text{mL}$ 聚丙烯塑料离心管中，加入 $2\ \text{mL}$ 水，涡旋混匀 $1\ \text{min}$ ，加入 $8\ \text{mL}$ 1% 乙酸乙腈（4.12），涡旋混匀后超声提取 $15\ \text{min}$ ，加入 $2\ \text{g}$ 氯化钠（4.8），涡旋混匀 $1\ \text{min}$ ， $10000\ \text{r/min}$ （ $4\ ^\circ\text{C}$ ）离心 $5\ \text{min}$ ，上清液待净化。

7.2 净化

移取 $5\ \text{mL}$ 上述上清液于 $10\ \text{mL}$ 离心管中，加入 $250\ \text{mg}$ PSA（4.6）、 $250\ \text{mg}$ 无水硫酸钠（4.7）和 $250\ \text{mg}$ C18（4.8），涡旋振荡 $2\ \text{min}$ ， $10000\ \text{r/min}$ （ $4\ ^\circ\text{C}$ ）离心 $5\ \text{min}$ ，准确取 $4\ \text{mL}$ 上清液， $40\ ^\circ\text{C}$ 氮气吹干，用乙腈水溶液（4.11）定容至 $1\ \text{mL}$ ，过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔尼龙滤膜（4.21），供液相色谱-串联质谱测定。

7.3 基质加标标准工作曲线的制备

将混合标准工作液（4.20）用乙腈水溶液（4.11）稀释成 $1.0 \mu\text{g/L} \sim 50.0 \mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。称取与试样基质相应的阴性样品 2.00 g ，加入标准系列溶液 1.0 mL ，按照 7.1、7.2 与试样同时进行提取和净化。

8 测定

8.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C_{18} ($2.1 \times 50 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$)，或相当者；
- b) 流动相：A相：0.1% 甲酸 - 2 mmol/L 乙酸铵水溶液；B相：甲醇；梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速： 0.30 mL/min ；
- d) 柱温： $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ；
- e) 进样量： $3.0 \mu\text{L}$ 。

表1 梯度洗脱程序

时间, min	0.1% 甲酸 - 2 mmol/L 乙 酸铵水溶液, %	甲醇, %
0.00	95	5
1.00	95	5
4.00	50	50
6.00	20	80
8.00	10	90
8.10	95	5
10.00	95	5

8.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
 - b) 扫描方式：正离子扫描；
 - c) 检测方式：多反应监测（MRM）；
 - d) 毛细管电压： 3500 V ；
 - e) 鞘气温度： $350 \text{ }^\circ\text{C}$ ；
 - f) 鞘气流速： 12 L/min ；
 - g) 干燥气温度： $350 \text{ }^\circ\text{C}$ ；
 - h) 干燥气流速： 6 L/min ；
 - i) 雾化器压力： 45 psi 。
- 化合物定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见附录B。

8.3 液相色谱-串联质谱测定

8.3.1 定性测定

按照上述条件测定样品和混合基质标准溶液，如果样品的质量色谱峰保留时间与混合基质标准溶液的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内；定性离子对的相对丰度与浓度相当的混合基质标准溶液的相对丰度一致，相对丰度偏差不超过表2的规定，则可判断样品中存在相应的被测物。混合基质标准溶液的液相色谱-串联质谱图见附录C。

表2：定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.3.2 定量测定

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按照7.1、7.2部分进行前处理，得到基质空白溶液。根据试样中待测物的含量情况，用基质空白溶液稀释配制响应值适宜的混合基质标准溶液进行液相色谱-质谱联用仪器分析，混合基质标准溶液应有5个浓度水平。混合基质标准溶液和待测液中磺胺类、喹诺酮类药物的响应值应在仪器线性响应范围内。如果样品中待测物含量超过标准曲线的线性范围，稀释至合适浓度后分析。

8.3.3 空白试验

除不加试样外，均按上述操作步骤7.1、7.2进行。

9 结果计算和表达

采用基质加标标准工作曲线定量，试样中喹诺酮类、磺胺类药物残留量的含量由液相色谱-质谱/质谱仪的数据处理软件或按公式(1)计算，计算结果需扣除空白值：

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

式中：

X——试样中被测组分含量，单位为微克每千克(μg/kg)；

C——从基质加标标准工作曲线得到的样液中被测组分溶液浓度，单位为微克每升(μg/L)；

V——最终样液的定容体积，单位为毫升(mL)；

m——试样质量，单位为克(g)；

f——稀释倍数。

注：结果保留三位有效数字。

10 方法灵敏度、回收率和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检出限为 2 μg/kg，定量限为 5 μg/kg。

10.2 回收率

本方法在 5 μg/kg ~ 100.00 μg/kg 添加浓度的范围内，基质加标标准工作曲线校正，其回收率范围为 60 % ~ 120 %。

10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 20\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录A
(资料性附录)

磺胺类、喹诺酮类药物中英文通用名称、化学分子式和CAS号

化合物名称	英文通用名称	化学分子式	CAS号
磺胺醋酰	Sulfacetamide	$C_8H_{10}N_2O_3S$	144-80-9
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	68-35-9
磺胺索嘧啶	Sulfisomidine	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	515-64-0
磺胺噻唑	Sulfathiazole	$C_9H_9N_3O_2S_2$	72-14-0
磺胺吡啶	Sulfapyridine	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	144-83-2
磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	127-79-7
甲氧苄啶	Trimethoprim	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	738-70-5
磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	651-06-9
磺胺二甲唑	Sulfamoxole	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	729-99-7
磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	144-82-1
磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	57-68-1
磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxypyridazine	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	80-35-3
磺胺氯吡嗪	Sulfachlorpyridazine	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	80-32-0
磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	723-46-6
磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	1220-83-3
磺胺多辛	Sulfadoxine	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	80-35-3
磺胺异噁唑	Sulfafurazole	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	127-69-5
磺胺苯酰	Sulfabenzamide	$C_{13}H_{12}N_2O_3S$	127-71-9
磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	$C_{15}H_{14}N_4O_2S$	526-08-9
磺胺地索辛	Sulfadimethoxine	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	122-11-2
磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$	59-40-5
氟罗沙星	Fleroxacin	$C_{17}H_{18}F_3N_3O_3$	79660-72-3
氧氟沙星	Ofloxacin	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	82419-36-1
依诺沙星	Enoxacin	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	74011-58-8
培氟沙星	Pefloxacin	$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	70458-92-3
诺氟沙星	Norfloxacin	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	70458-96-7
环丙沙星	Ciprofloxacin	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	85721-33-1
恩诺沙星	Enrofloxacin	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	93106-60-6
达氟沙星	Danofloxacin	$C_{19}H_{20}FN_3O_3$	112398-08-0
洛美沙星	Lomefloxacin	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	98079-51-7
奥比沙星	Orbifloxacin	$C_{19}H_{20}F_3N_3O_3$	113617-63-3
双氟沙星	Difloxacin	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$	98106-17-3
沙拉沙星	Sarafloxacin	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	98105-99-8
司帕沙星	Sparfloxacin	$C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$	110871-86-8
噁喹酸	Oxolinic acid	$C_{13}H_{11}NO_5$	14698-29-4
氟甲喹	Flumequine	$C_{14}H_{12}FNO_3$	42835-25-6

附录B
(资料性附录)

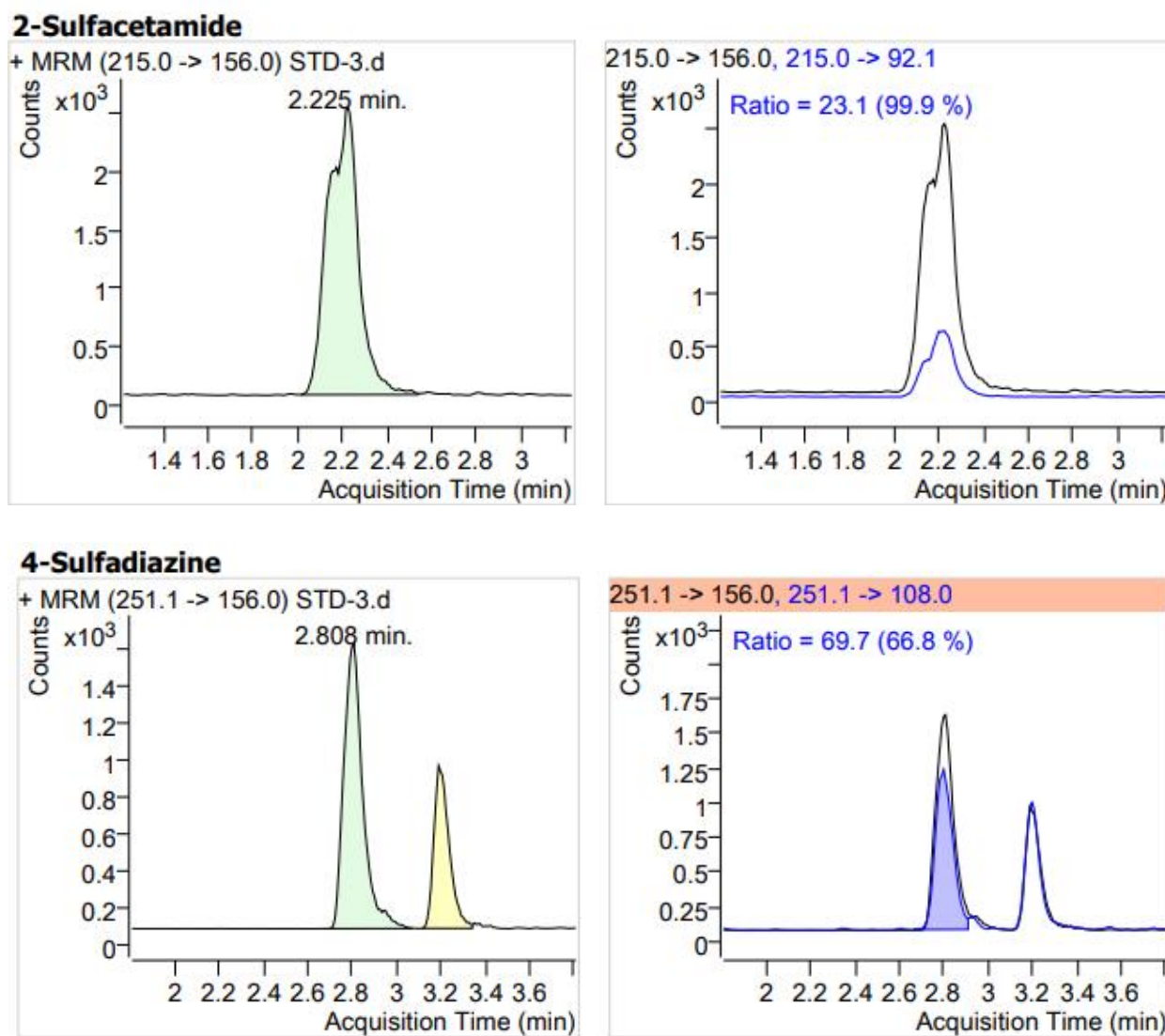
表B.1 定性离子对、定量离子对和碎裂电压、碰撞能量

项目	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碎裂电压 V	碰撞能量 eV
磺胺醋酰	215>156	215>156	65	5
	215>92.1			20
磺胺嘧啶	251.1>156	251.1>156	100	10
	251.1>108			22
磺胺索嘧啶	279>186	279>124	105	12
	279>124			19
磺胺噻唑	256.1>156	256.1>156	100	10
	256.1>108			22
磺胺吡啶	250.1>184	250.1>108	90	14
	250.1>108			22
磺胺甲基嘧啶	265.1>172	265.1>156	120	14
	265.1>156			13
甲氧苄啶	291.1>261.1	291.1>230	110	23
	291.1>230			22
磺胺对甲氧嘧啶	281.1>214.8	281.1>156	115	12
	281.1>156			13
磺胺二甲唑	268>156	268>156	95	8
	268>92.1			16
磺胺甲噻二唑	271>156	271>156	115	10
	271>108			22
氟罗沙星	369.9>325.9	369.9>325.9	150	18
	369.9>268.9			25
磺胺二甲嘧啶	279.1>124	279.1>124	120	21
	279.1>92			22
磺胺甲氧哒嗪	281.1>156	281.1>156	125	14
	281.1>108			22
氧氟沙星	362>318	362>318	130	18
	362>260.9			27
依诺沙星	320.9>303	320.9>303	120	20
	320.9>231.9			35
培氟沙星	333.9>315.9	333.9>290	130	20
	333.9>290			15
诺氟沙星	320>302	320>276	130	16
	320>276			12
磺胺氯哒嗪	285>156	285>156	95	10
	285>108			29
环丙沙星	332.1>314	332.1>314	110	14
	332.1>231			39
磺胺甲噁唑	254>156	254>92	100	10
	254>92			26

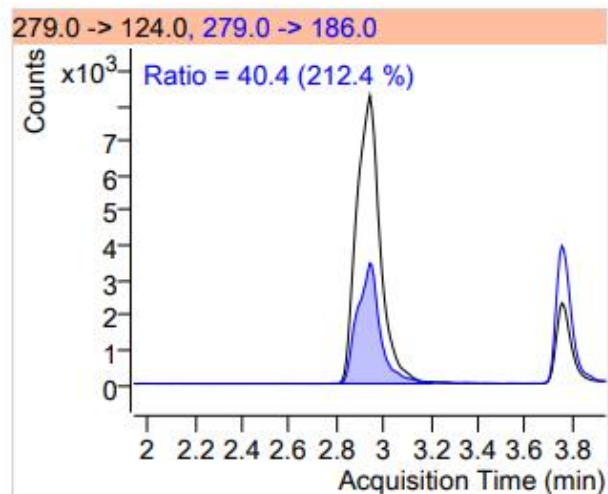
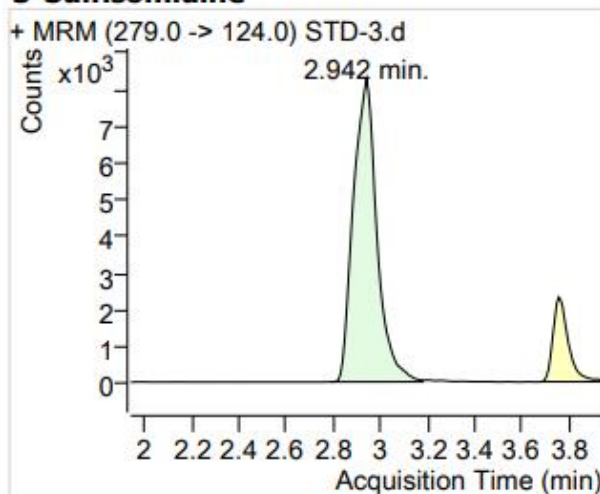
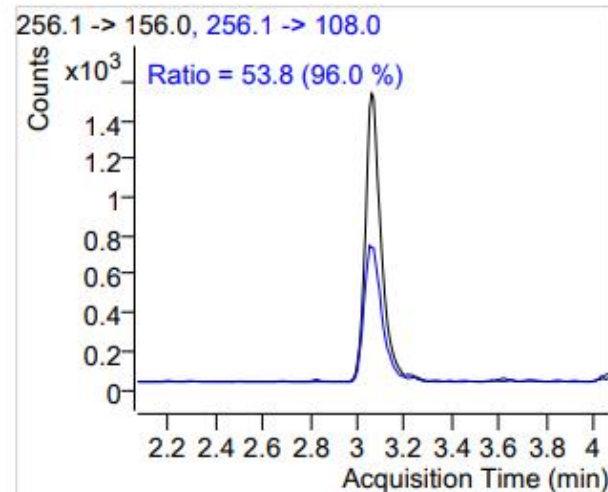
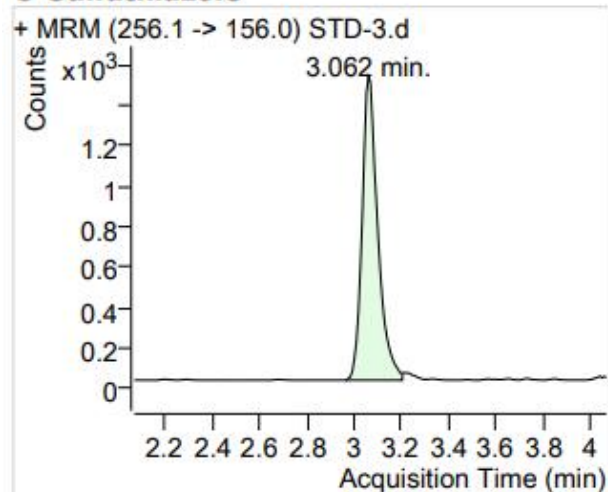
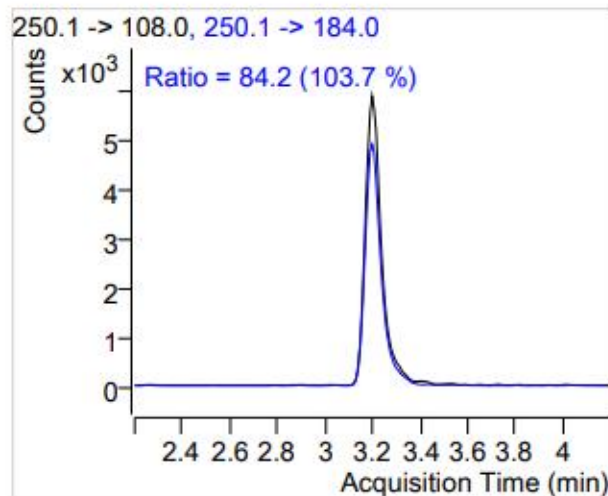
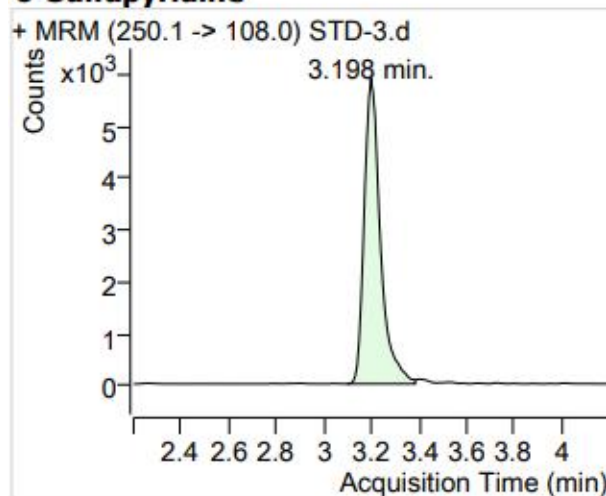
恩诺沙星	360.2>316.2	360.2>316.2	100	16
	360.2>245.1			27
达氟沙星	358>340.1	358>340.1	170	20
	358>82.2			52
洛美沙星	352>308	352>265	130	12
	352>265			20
磺胺间甲氧嘧啶	281.1>156	281.1>156	120	14
	281.1>108			26
奥比沙星	396>352.2	396>352.2	130	16
	396>295.2			24
双氟沙星	400>382	400>382	150	20
	400>355.9			15
磺胺多辛	311.1>156	311.1>156	125	12
	311.1>108			22
磺胺异噁唑	268>156	268>156	95	8
	268>92.1			16
沙拉沙星	386>368	386>299	120	17
	386>299			24
磺胺苯酰	277>155.9	277>155.9	85	8
	277>92.1			28
司帕沙星	393.1>375	393.1>349	140	8
	393.1>349			16
磺胺苯吡唑	315>160	315>158	120	29
	315>158			31
磺胺地索辛	311>156	311>156	125	17
	311>108			26
磺胺喹噁啉	300.9>156	300.9>156	110	11
	300.9>92			29
噁喹酸	262>244.1	262>244.1	90	10
	262>160			40
氟甲喹	262.2>244.1	262.2>244.1	85	12
	262.2>202			36

附录C
(资料性附录)
喹诺酮类和磺胺类药物特征离子质量色谱图

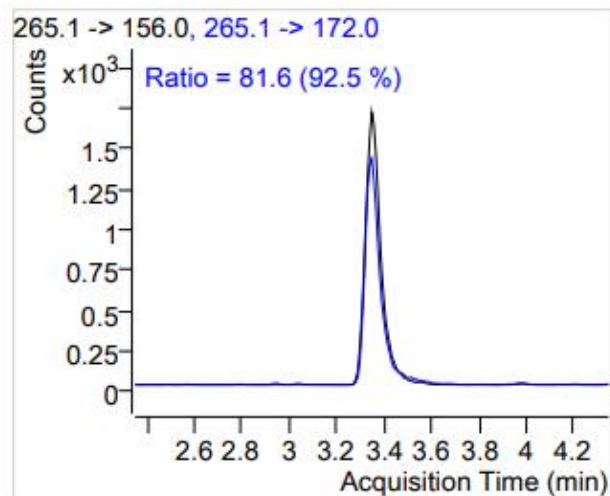
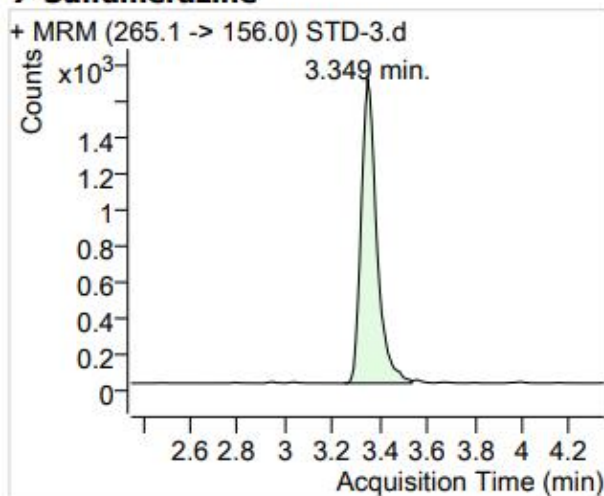
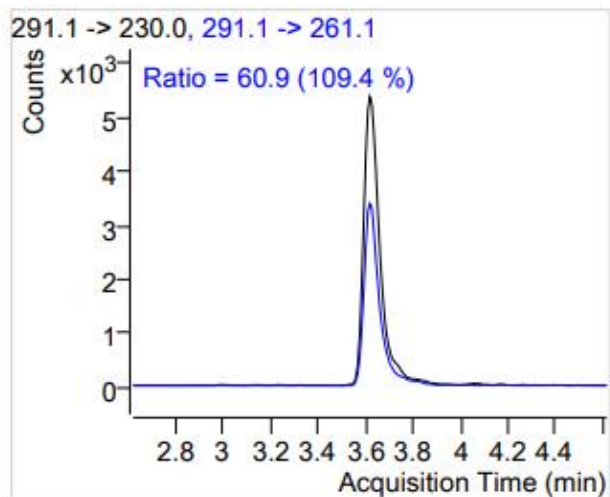
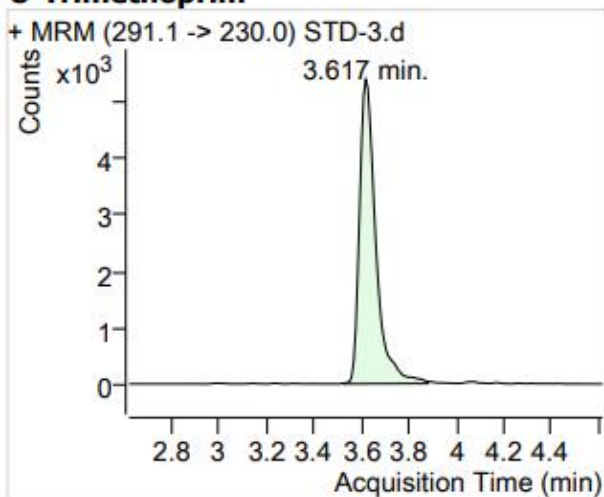
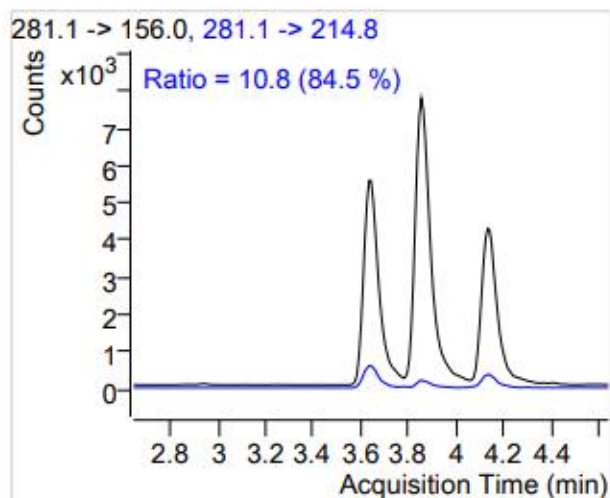
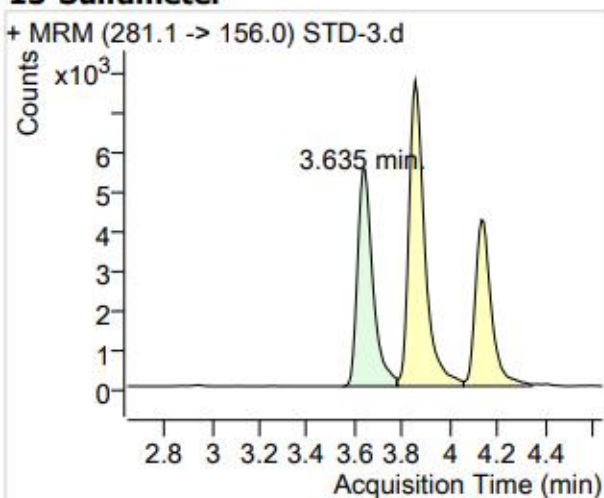
喹诺酮类和磺胺类药物特征离子质量色谱图见图 C.1



图C.1 磺胺类和喹诺酮类药物特征离子质量色谱图 (5 μ g/kg)

3-Sulfisomidine**5-Sulfathiazole****6-Sulfapyridine**

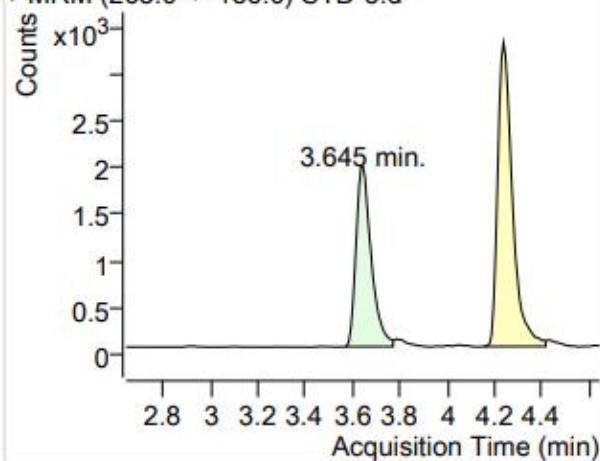
图C.1 (续)

7-Sulfamerazine**8-Trimethoprim****13-Sulfameter**

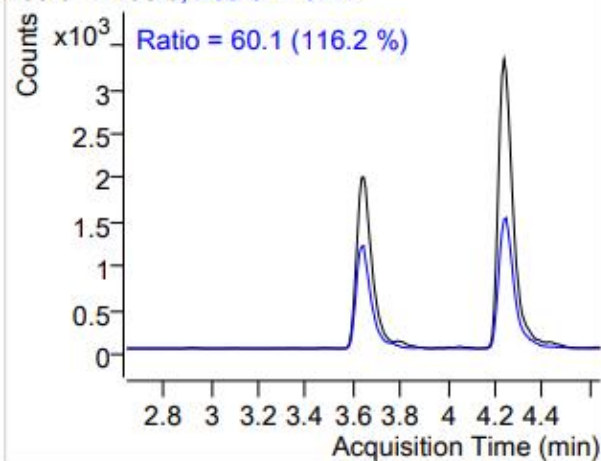
图C.1 (续)

9-Sulfamoxole

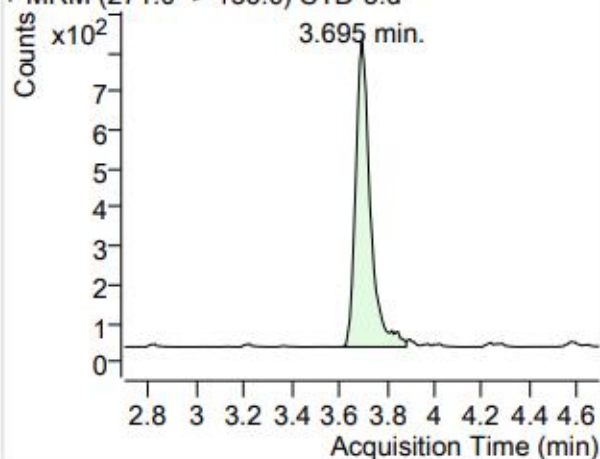
+ MRM (268.0 → 156.0) STD-3.d



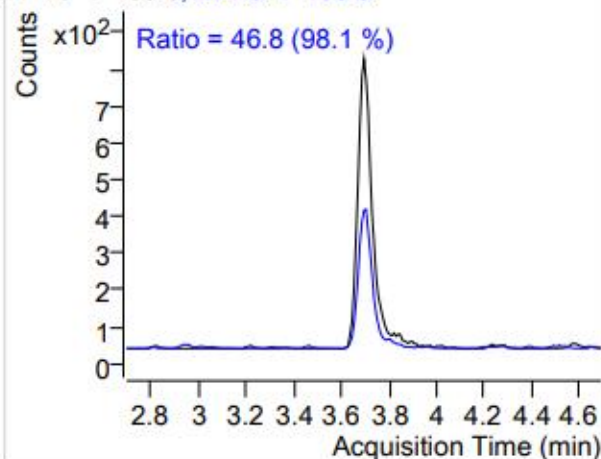
268.0 → 156.0, 268.0 → 92.1

**12-Sulfamethizole**

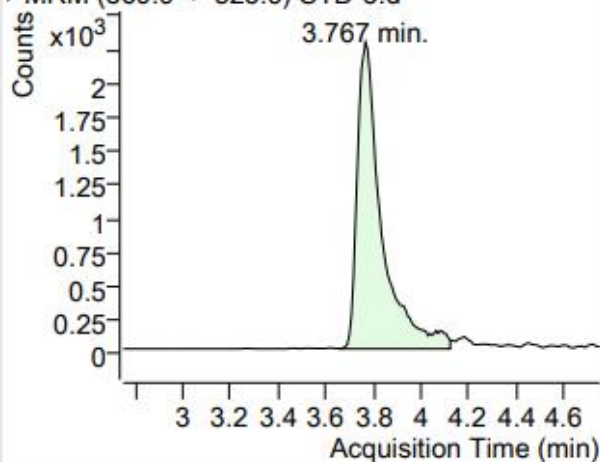
+ MRM (271.0 → 156.0) STD-3.d



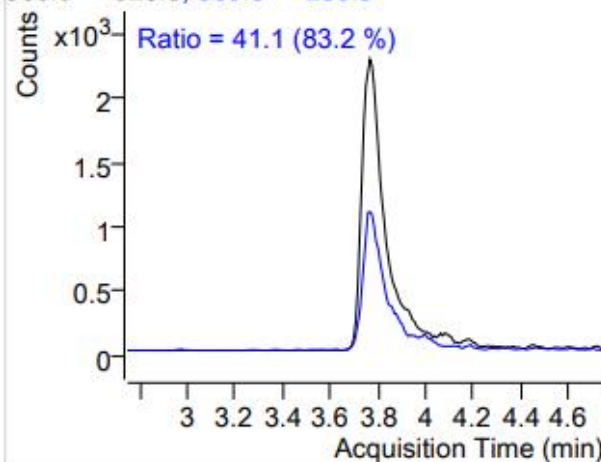
271.0 → 156.0, 271.0 → 108.0

**fleroxacin**

+ MRM (369.9 → 325.9) STD-3.d



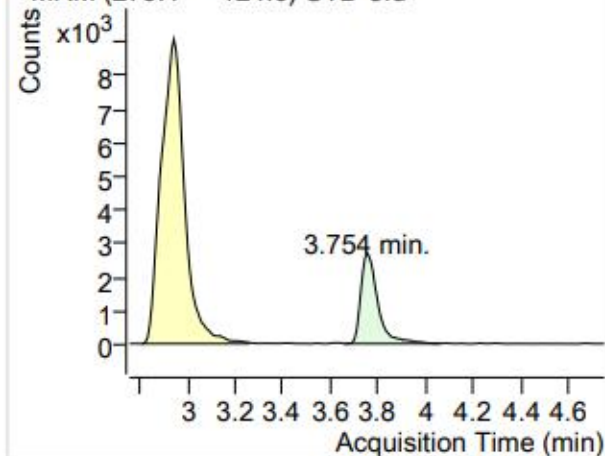
369.9 → 325.9, 369.9 → 268.9



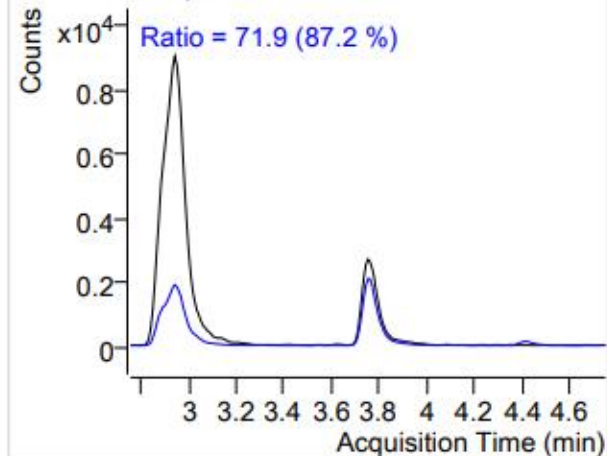
图C.1 (续)

10-Sulfamethazine

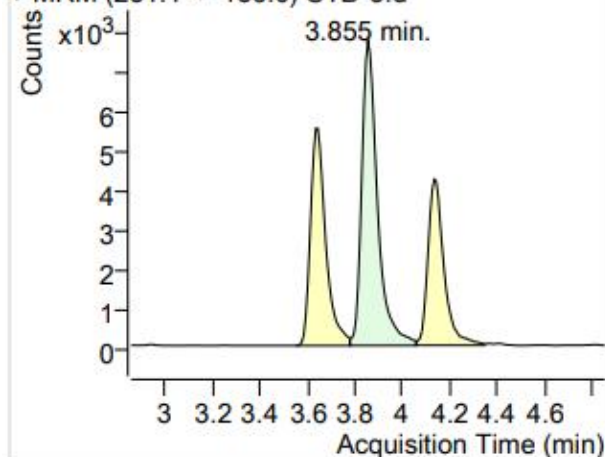
+ MRM (279.1 → 124.0) STD-3.d



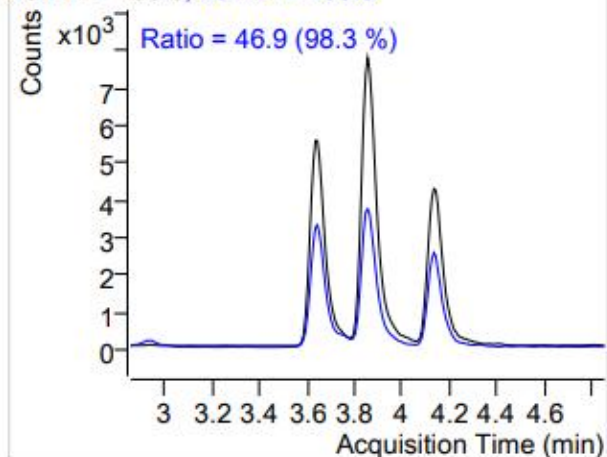
279.1 → 124.0, 279.1 → 92.0

**11-Sulfamethoxypyridazine**

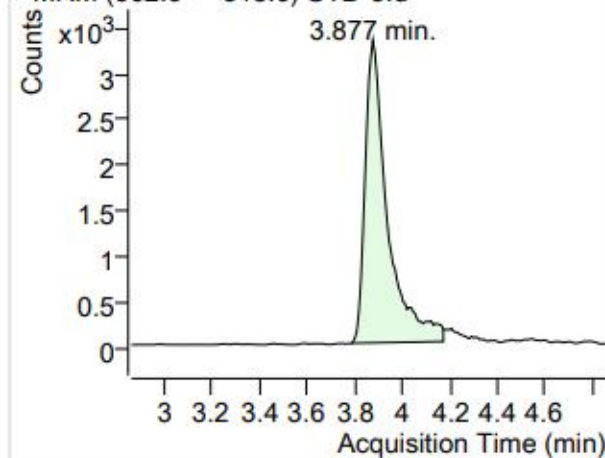
+ MRM (281.1 → 156.0) STD-3.d



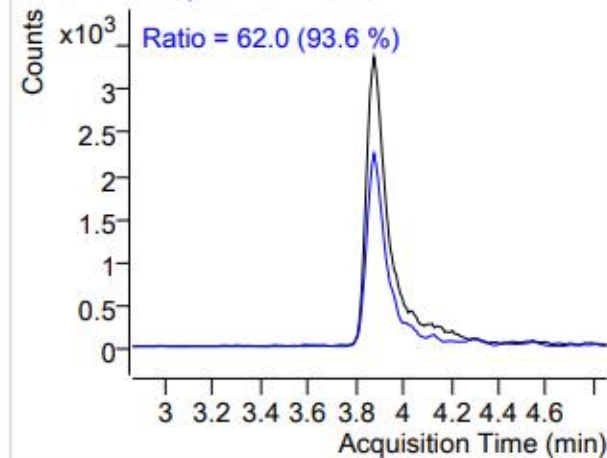
281.1 → 156.0, 281.1 → 108.0

**Ofloxacin**

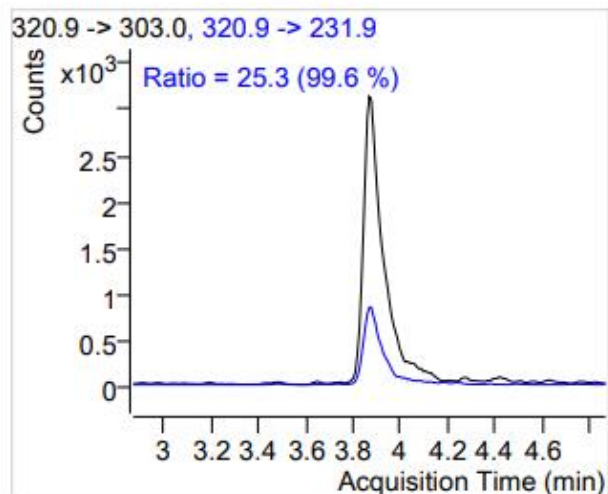
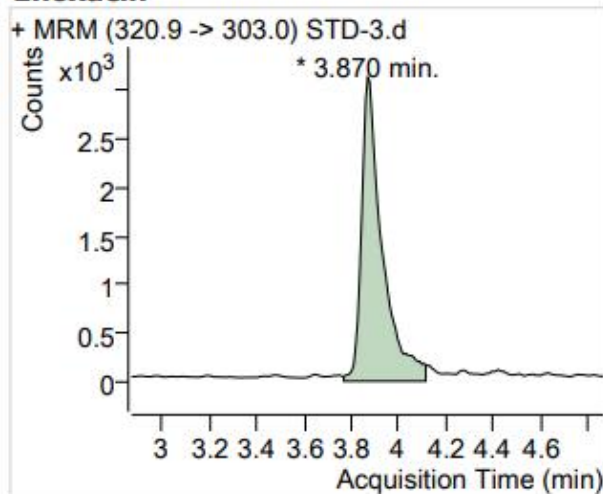
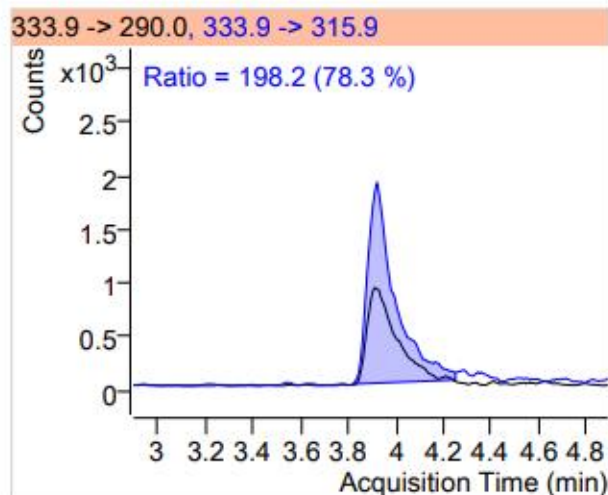
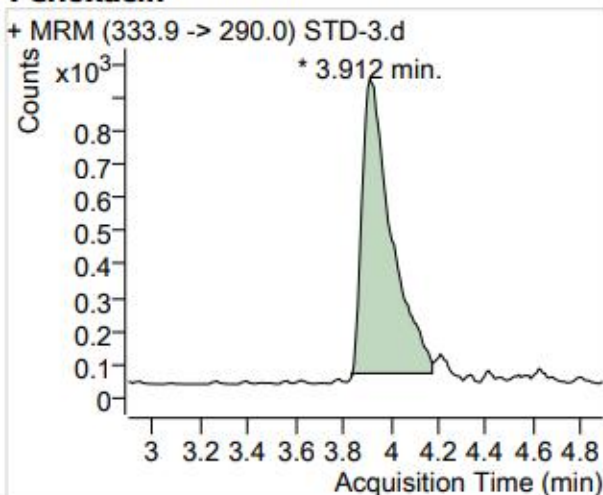
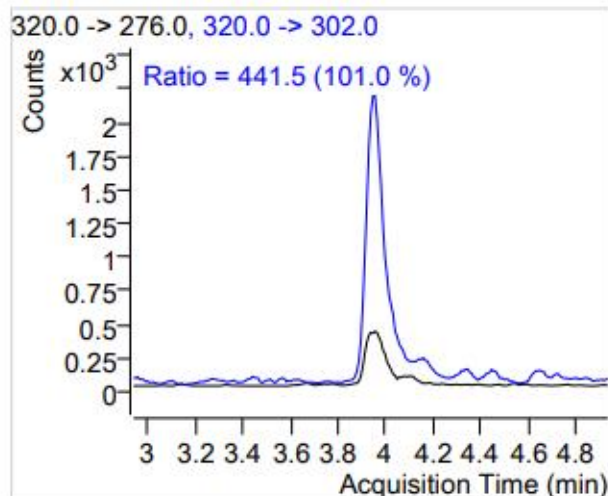
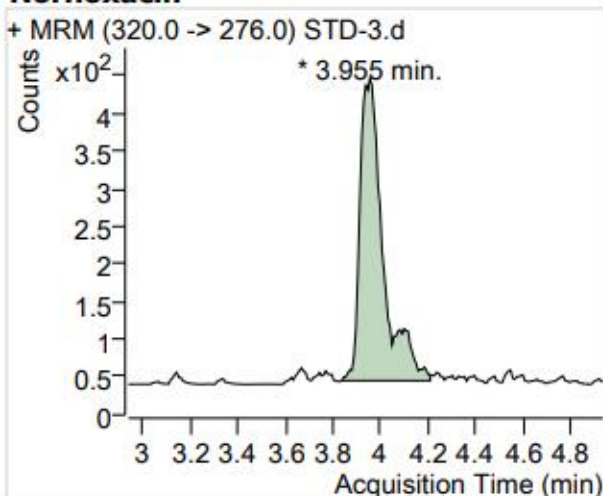
+ MRM (362.0 → 318.0) STD-3.d



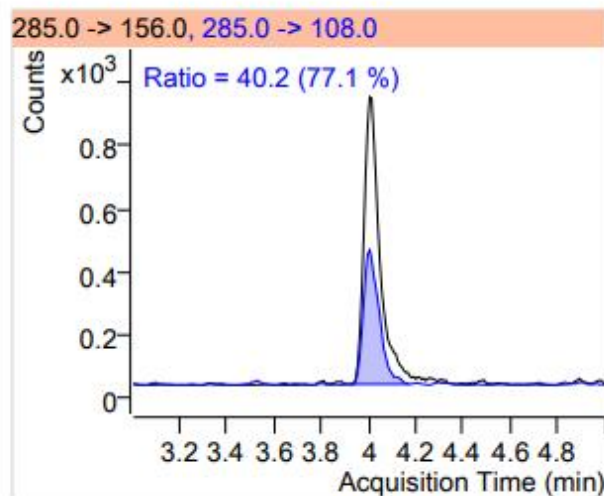
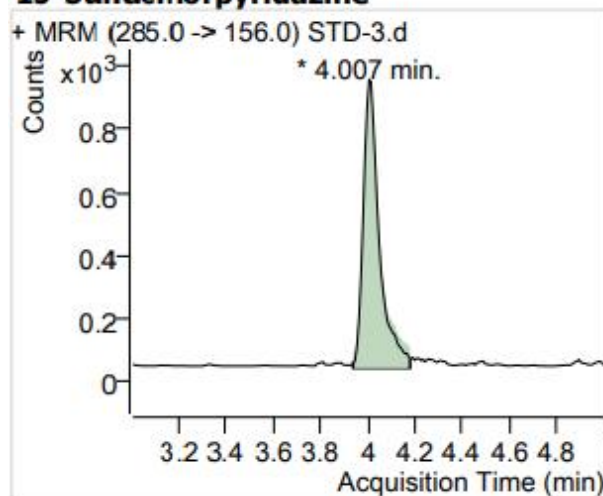
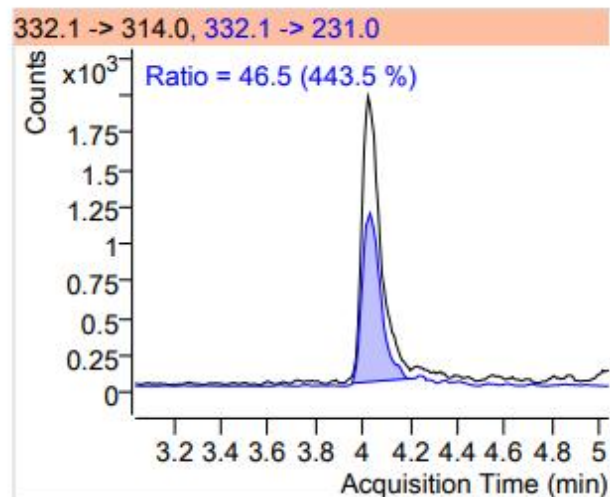
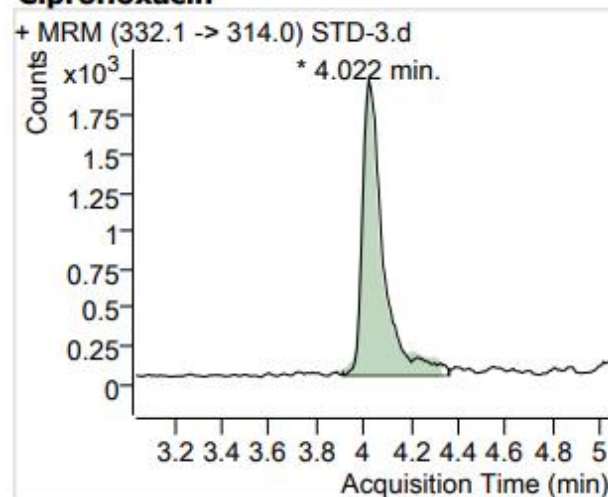
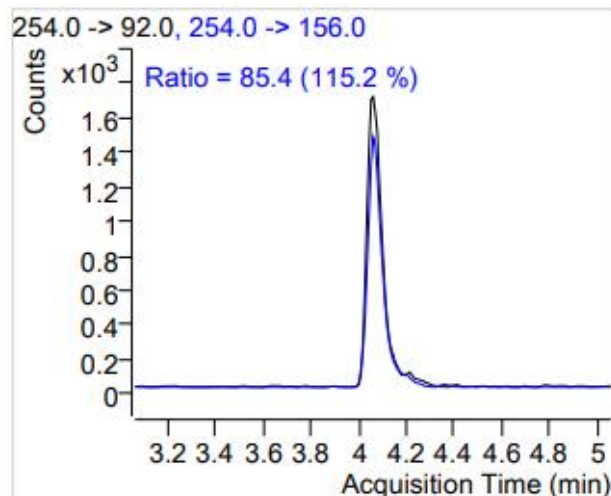
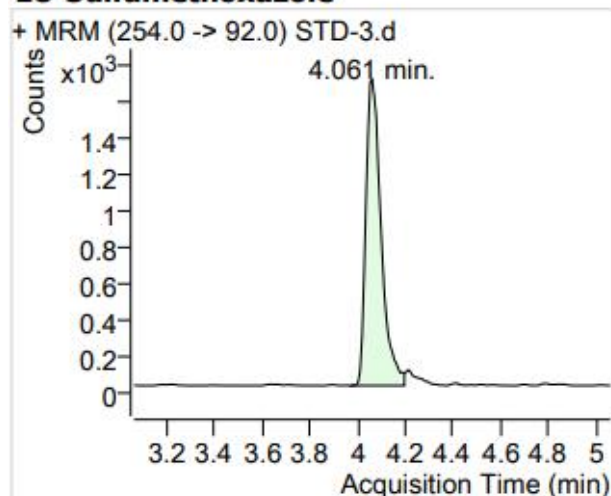
362.0 → 318.0, 362.0 → 260.9



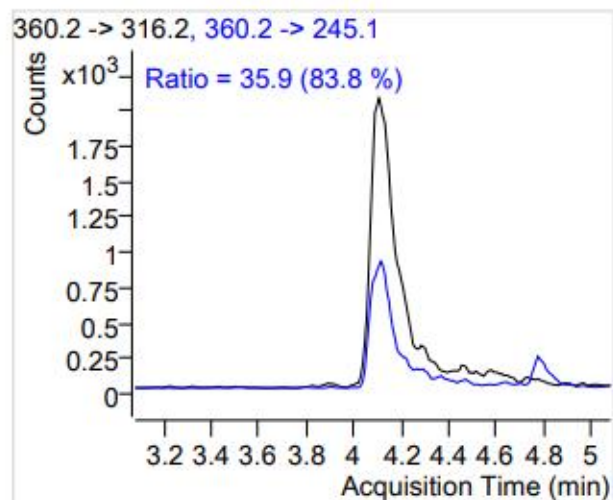
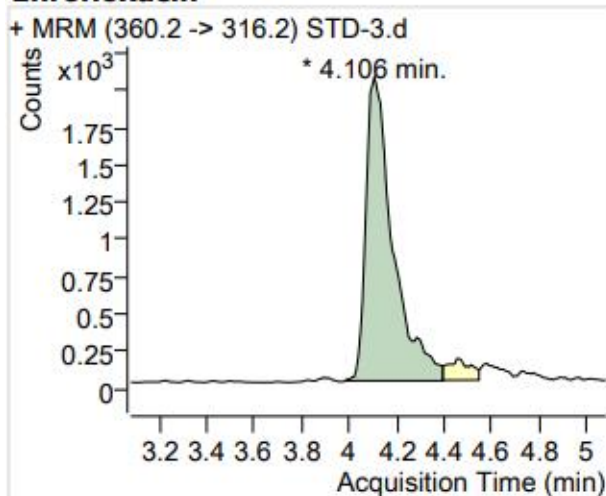
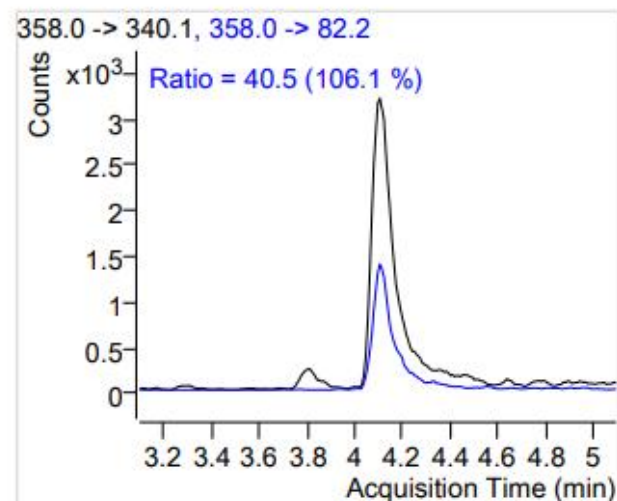
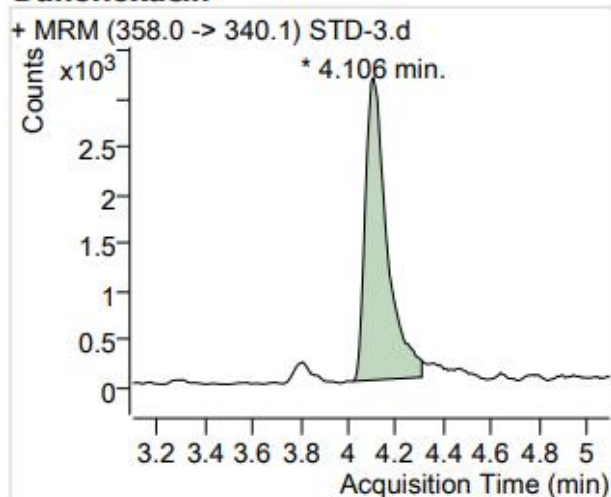
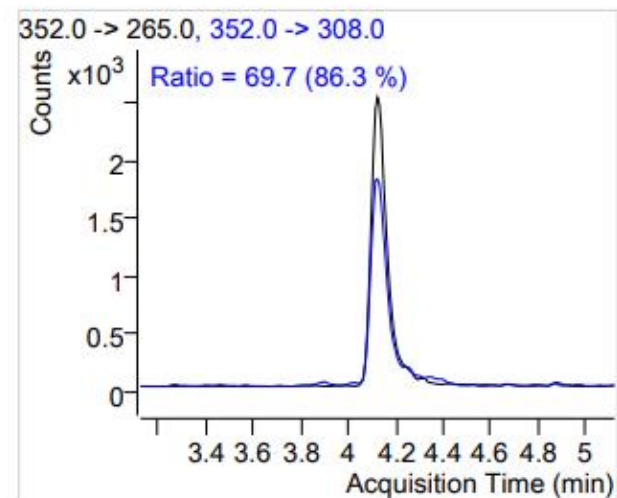
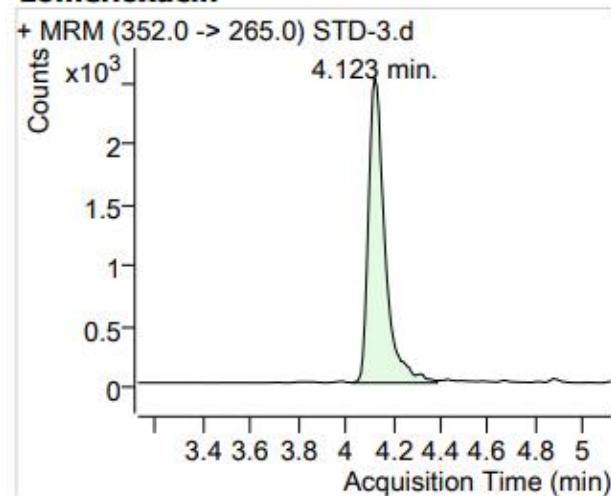
图C.1 (续)

Enoxacin**Pefloxacin****Norfloxacin**

图C.1 (续)

15-Sulfachlorpyridazine**Ciprofloxacin****18-Sulfamethoxazole**

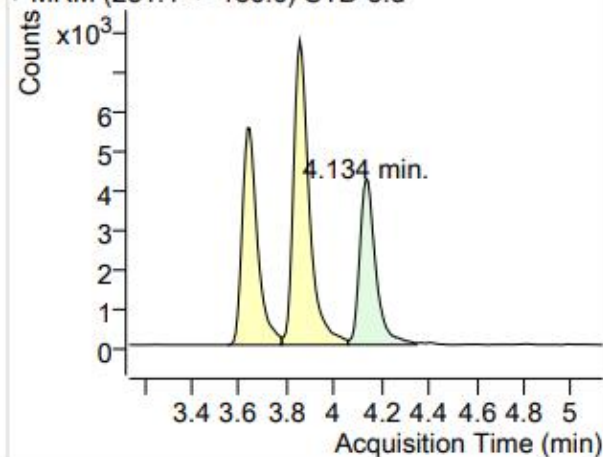
图C.1 (续)

Enrofloxacin**Danofloxacin****Lomefloxacin**

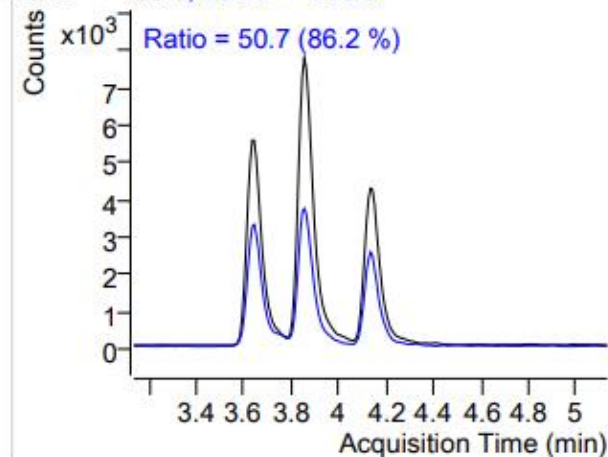
图C.1 (续)

14-Sulfamonomethoxine

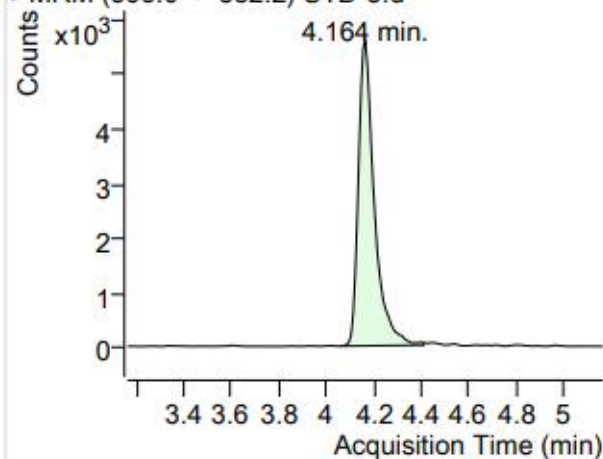
+ MRM (281.1 → 156.0) STD-3.d



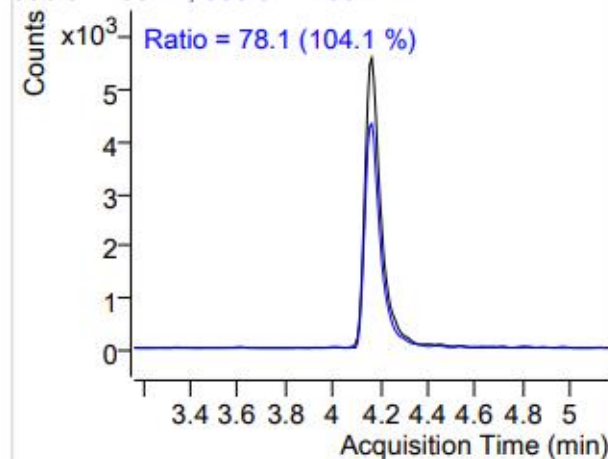
281.1 → 156.0, 281.1 → 108.0

**Orbifloxacin**

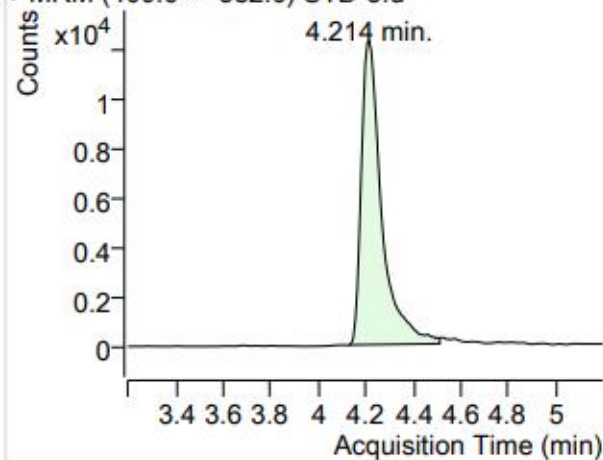
+ MRM (396.0 → 352.2) STD-3.d



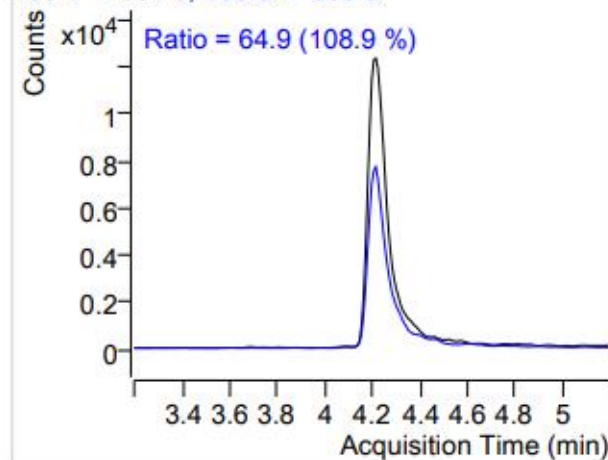
396.0 → 352.2, 396.0 → 295.2

**Difloxacin**

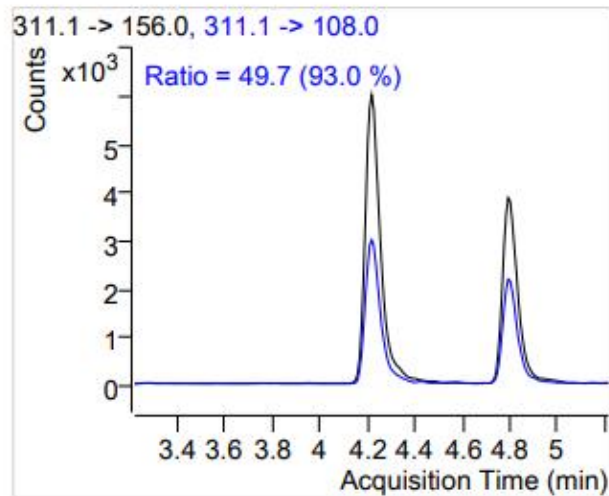
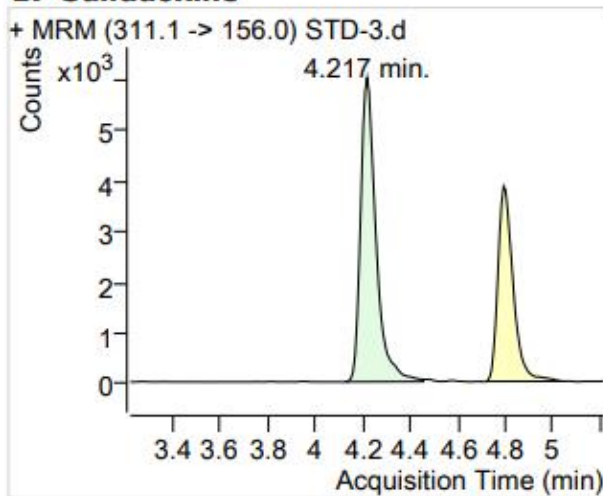
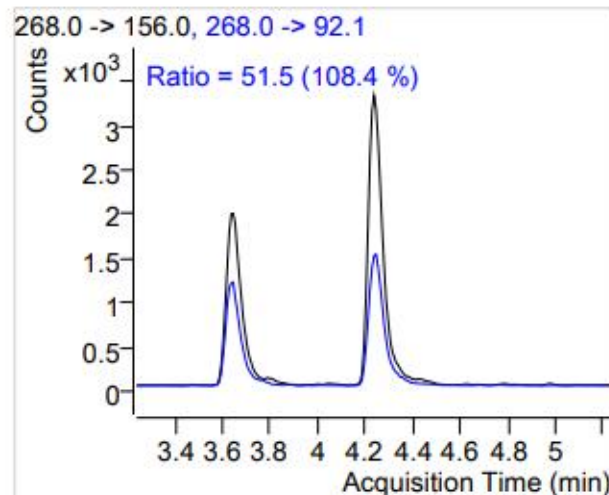
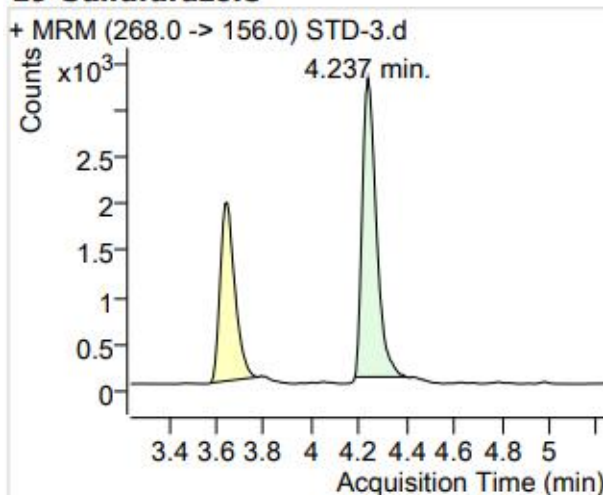
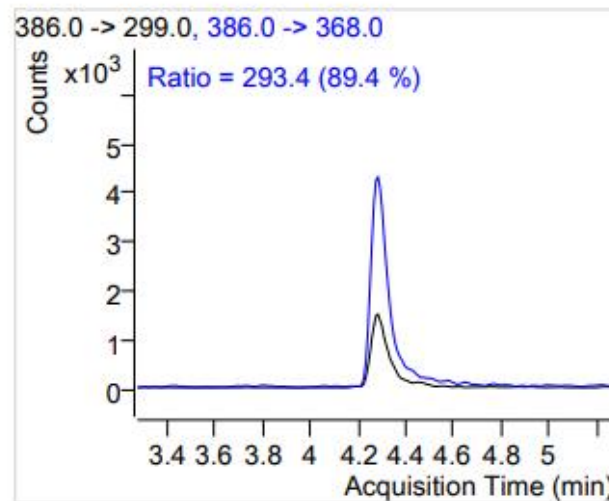
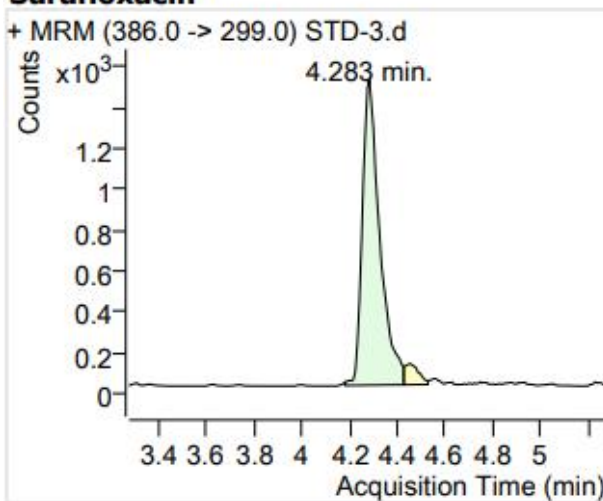
+ MRM (400.0 → 382.0) STD-3.d



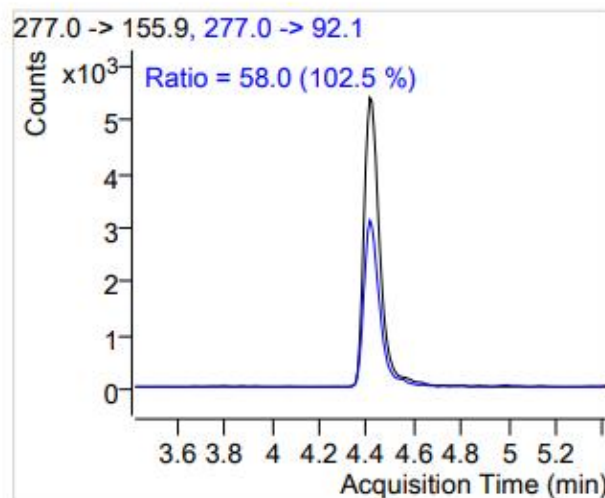
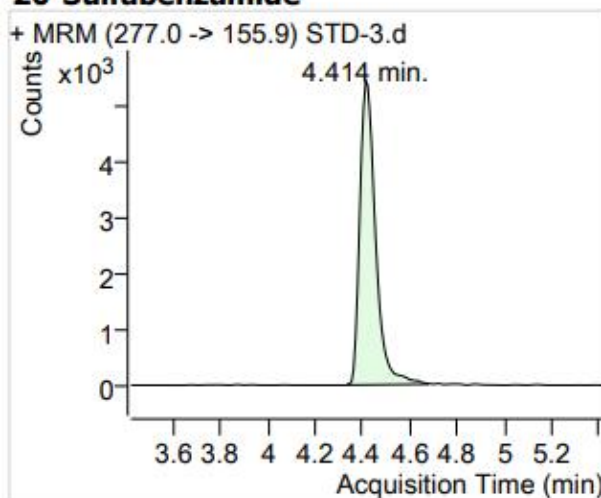
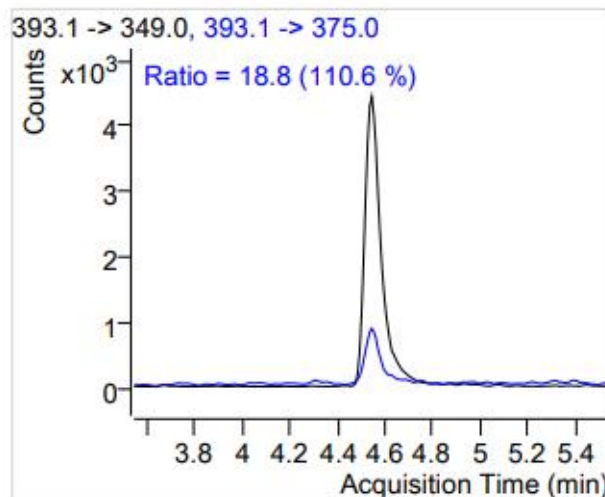
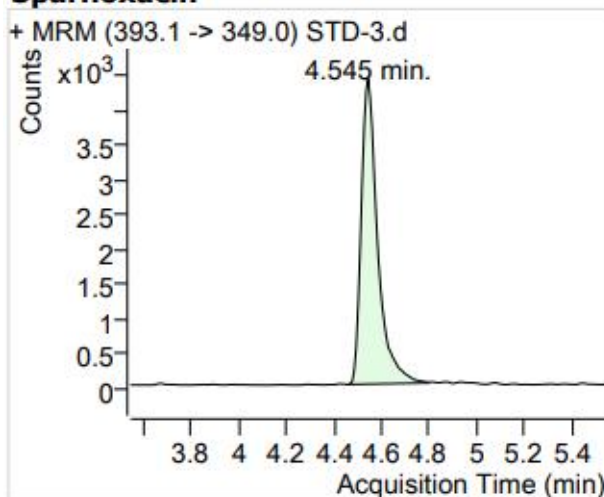
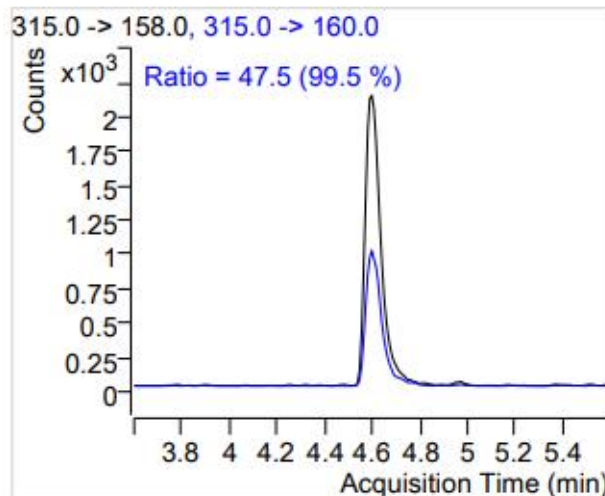
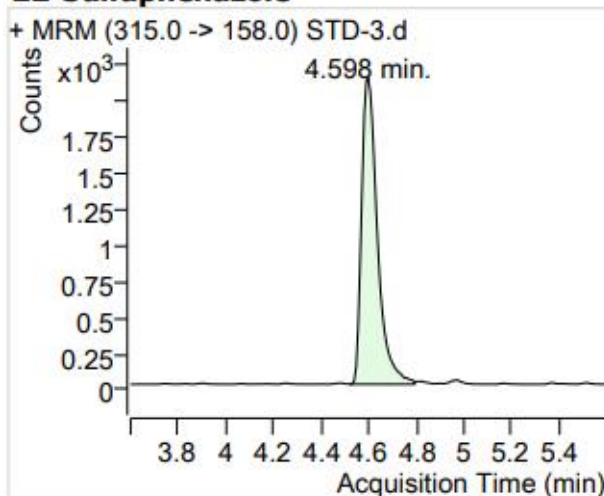
400.0 → 382.0, 400.0 → 355.9



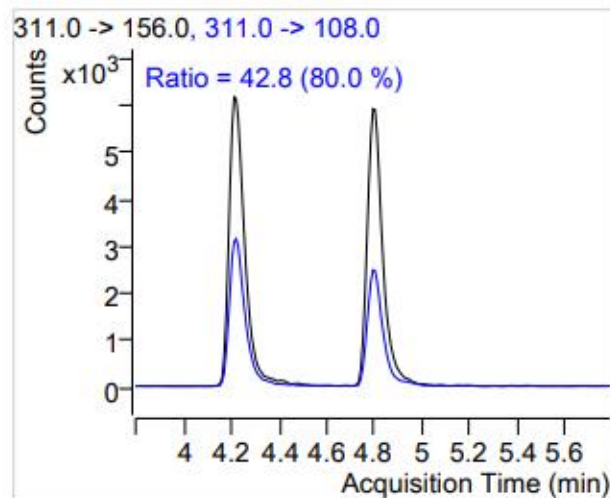
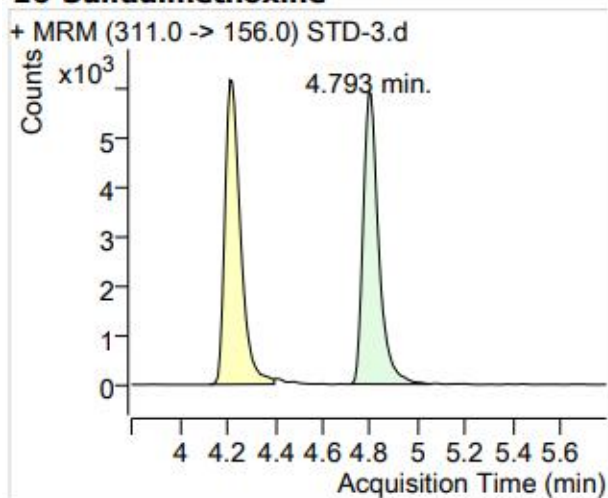
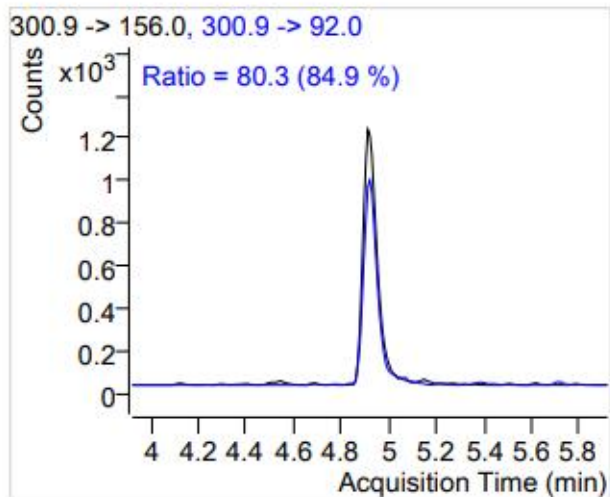
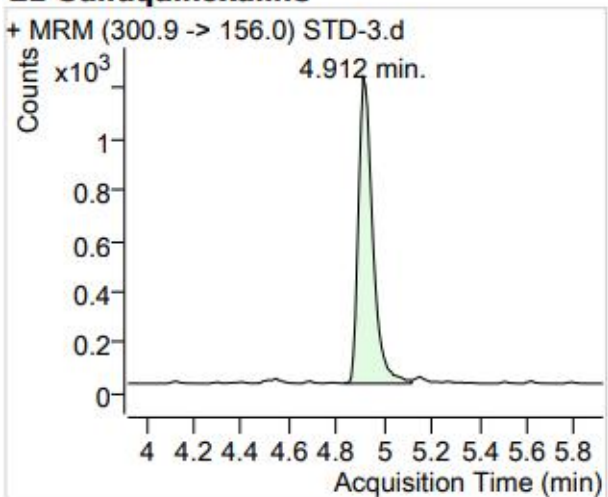
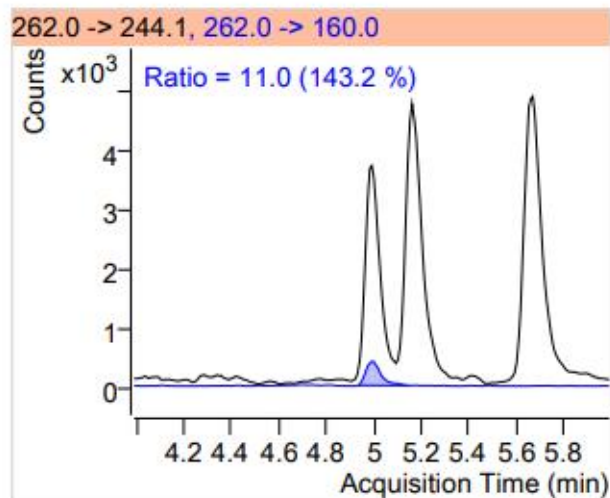
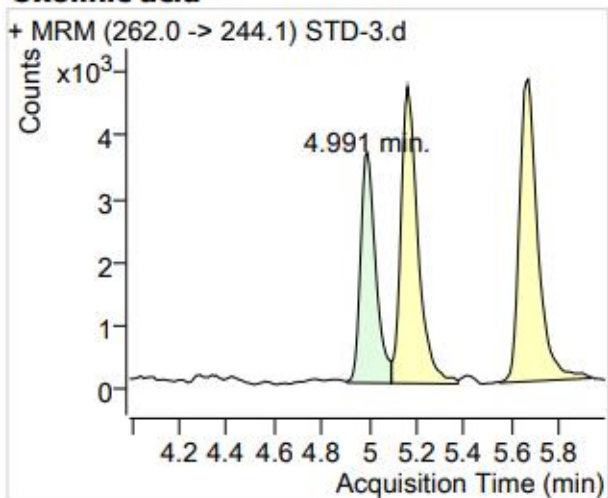
图C.1 (续)

17-Sulfadoxine**19-Sulfafurazole****Sarafloxacin**

图C.1 (续)

20-Sulfabenzamide**Sparfloxacin****22-Sulfaphenazole**

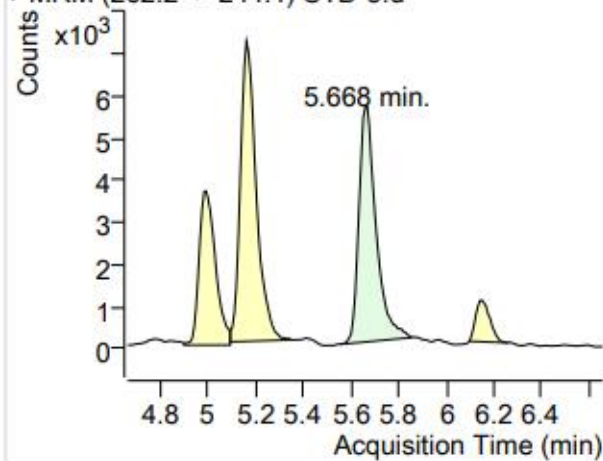
图C.1 (续)

16-Sulfadimethoxine**21-Sulfaquinoxaline****Oxolinic acid**

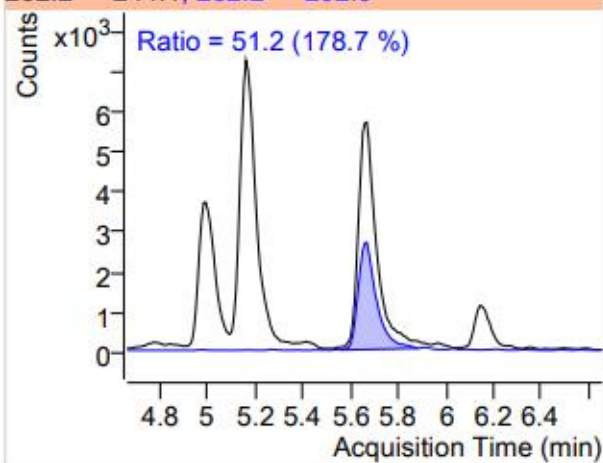
图C.1 (续)

Flumequine

+ MRM (262.2 → 244.1) STD-3.d



262.2 → 244.1, 262.2 → 202.0



图C.1 (续)