

# LC-MS/MS快速检测动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物多残留量

## Rapid determination of tetracyclines, sulfonamides and quinolones residues in animal food by LC-MS / MS

刘青<sup>1</sup>, 陈情<sup>2</sup>, 黄文杰<sup>2</sup>, 李荷香<sup>2</sup>, 杨总<sup>1</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Liu Qing<sup>1</sup>, Chen Qing<sup>2</sup>, Huang Wenjie<sup>2</sup>, Li Henxiang<sup>2</sup>, Yang Zong<sup>1</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

SCIEX Application Support Center, China<sup>1</sup>

Jiangxi Huaxing Testing Co., Ltd<sup>2</sup>

**Keywords:** Tetracyclines; Sulfonamides; Quinolones

### 引言

四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物是目前应用最为广泛的抗菌素类药物，这些药物的应用产生了各种，诸如毒理作用、动物源细菌耐药性、诱导变态反应以及环境污染等危害，因此这几类药物的监管日益重要。在这样的背景下，农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局公告2019年第114号，《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》（GB31650-2019，代替农业部公告第235号中的相应部分）及9项兽药残留检测方法食品安全国家标准颁布实施。同时配套出台的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物的标准GB 31658.17-2021《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》。本文采用高效液相色谱串联质谱建立了对于新颁布实施的GB 31658.17-2021进行了前处理和方法学验证工作，该方法的优势和特点：

- 方法灵敏度高：**所有化合物的灵敏度足以满足GB 31658.17-2021的量限要求；
- 紧扣标准：**与GB 31658.17-2021标准的前处理保持一致，方法实用性强；

### 1 实验方法

#### 1.1 样品前处理

称取试料1 g（精确至±0.01 g），加入Mcllvaine-Na<sub>2</sub>EDTA缓

冲液8 mL，涡旋1 min，超声20 min，-2 °C 10000 r/min离心5 min，收集上清液。残渣中加磷酸盐缓冲液8 mL，重复提取一次，合并两次提取液，混匀，备用。HLB固相萃取柱依次用甲醇5 mL和水5 mL活化，取备用液过SPE柱，依次用水5 mL和20%甲醇水溶液5 mL淋洗，抽干，用洗脱液10 mL洗脱。收集洗脱液，45 °C水浴氮气吹干。加入复溶液1.0 mL，涡旋1 min溶解残余物，14000 r/min离心5 min，微孔滤膜过滤，液相色谱-串联质谱测定。

#### 1.2 液相色谱条件

液相系统：SCIEX ExionLC™ 系统

色谱柱：Phenomenex C18（100×2.1 mm, 1.7 μm）

流动相：A：0.1%甲酸水溶液；

B：甲醇:乙腈（2:8，含0.1%甲酸，v/v）溶液

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

洗脱程序：梯度洗脱

#### 1.3 质谱条件

质谱系统：SCIEX 三重四级杆质谱系统

扫描模式：多反应监测MRM；离子源：ESI源；喷雾电压（IS）：5500V；离子源温度（TEM）：550 °C；气帘气（CUR）：35 psi；碰撞气（CAD）：Medium；雾化气（GS1）：55 psi；辅助雾化气（GS2）：55 psi。MRM离子对见（表1）

表1. 离子对信息

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
445.1	410.2	Tetracycline 1	80	24	31658.17
445.1	427.1	Tetracycline 2	80	19	31658.17
445	410.2	epi-Tetracycline 1	80	24	31658.17
445	427.1	epi-Tetracycline 2	80	19	31658.17
461.2	426.2	Oxytetracycline 1	80	25	31658.17
461.2	443.2	Oxytetracycline 2	80	17	31658.17
479.1	462	Chlortetracycline 1	80	24	31658.17
479.1	444	Chlortetracycline 2	80	28	31658.17
479	462	epi-Chlortetracycline 1	80	24	31658.17
479	444	epi-Chlortetracycline 2	80	28	31658.17
445	428.1	Doxycycline 1	80	24	31658.17
445	154.1	Doxycycline 2	80	35	31658.17
279.1	124.1	Sulfisomidin sodium 2	80	30	31658.17
279.1	186.1	Sulfisomidin sodium 3	80	23	31658.17
251.1	156	Sulfadiazine 1	40	22	31658.17
251.1	92	Sulfadiazine 2	40	38	31658.17
251.1	92.1	Sulfadiazine 3	63	38	31658.17
256	156	Sulfathiazole 1	40	22	31658.17
256	108	Sulfathiazole 2	40	32	31658.17
256.1	92.1	Sulfathiazole 3	60	37	31658.17
250.1	156.1	Sulfapyridine 1	40	23	31658.17
250.1	108	Sulfapyridine 2	40	32	31658.17
250.1	184.1	Sulfapyridine 3	65	23	31658.17
265.2	156.1	Sulfamerazine 1	82	25	31658.17
265.2	172.1	Sulfamerazine 2	82	25	31658.17
265.1	110.1	Sulfamerazine 3	73	31	31658.17
265.1	92.1	Sulfamerazine 4	65	43	31658.17
281.1	156.1	sulfameter 1	70	25	31658.17
281.1	108.1	sulfameter 2	70	35	31658.17
281.1	92.1	Sulfameter 3	68	46	31658.17
279.11	186.1	Sulfamethazine 1	60	23	31658.17
279.1	156	Sulfamethazine 2	60	27	31658.17
279.1	124.1	Sulfamethazine 3	75	35	31658.17
281	156	sulfamethoxy pyridazine 1	75	25	31658.17
281	126.1	sulfamethoxy pyridazine 2	75	27	31658.17
281	108.1	Sulfamethoxy pyridazine 3	75	36	31658.17
271	156.1	Sulfamethizol 1	65	21	31658.17
271	108	Sulfamethizol 2	65	36	31658.17
271	92.1	Sulfamethizol 3	65	40	31658.17
285.1	156	sulfachloropyridazine 1	65	22	31658.17
285.1	108.1	sulfachloropyridazine 2	65	37	31658.17
285.1	92.1	Sulfachloropyridazine 3	65	41	31658.17
311.11	156.1	Sulfadoxine 1	70	30	31658.17
311.1	108.2	Sulfadoxine 2	70	37	31658.17

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
311	92.1	Sulfadoxine 3	80	44	31658.17
254.1	156	Sulfamethoxazole 1	65	22	31658.17
254.1	108	Sulfamethoxazole 2	65	36	31658.17
254.1	188.1	Sulfamethoxazole 3	70	19	31658.17
254	92.1	Sulfamethoxazole 4	63	39	31658.17
281.1	156	sulfamonomethoxine 1	75	25	31658.17
281.1	126.1	sulfamonomethoxine 2	75	30	31658.17
281.1	108.1	Sulfamonomethoxine 3	75	36	31658.17
281.1	92.1	Sulfamonomethoxine 4	68	46	31658.17
268.1	156.1	Sulfisoxazole 1	82	22	31658.17
268.1	113.2	Sulfisoxazole 2	82	25	31658.17
268.1	140	Sulfisoxazole 3	70	21	31658.17
277.1	156	sulfabenzamide 1	60	19	31658.17
277.1	108	sulfabenzamide 2	60	32	31658.17
311.1	156.1	Sulfadimethoxine 1	70	28	31658.17
311.1	218	Sulfadimethoxine 2	70	28	31658.17
311	245.2	Sulfadimethoxine 3	80	27	31658.17
311	108.1	Sulfadimethoxine 4	80	38	31658.17
315	156	Sulfaphenazole 1	90	27	31658.17
315	108	Sulfaphenazole 2	90	40	31658.17
315	222.1	Sulfaphenazole 3	84	28	31658.17
315.1	160.1	Sulfaphenazole 4	85	31	31658.17
215	156	sulphacetamide 1	52	17	31658.17
215	108	sulphacetamide 2	52	29	31658.17
320.1	276.1	Norfloxacin 1	80	26	31658.17
320.1	233.1	Norfloxacin 2	80	35	31658.17
320.1	302	Norfloxacin 3	41	27	31658.17
360.1	316.1	Enrofloxacin 1	80	28	31658.17
360.1	245.1	Enrofloxacin 2	80	36	31658.17
360.2	342	Enrofloxacin 3	41	27	31658.17
386.1	342.1	Sarafloxacin 1	90	28	31658.17
386.1	299.1	Sarafloxacin 2	90	37	31658.17
386.1	368	Sarafloxacin 3	36	29	31658.17
262.1	244.1	Flumequin 1	77	23	31658.17
262.1	202.1	Flumequin 2	77	42	31658.17
262.1	174	Flumequin 3	26	49	31658.17
363.1	320.1	Marbofloxacin 1	80	23	31658.17
363.1	72	Marbofloxacin 2	80	46	31658.17
363.2	345	Marbofloxacin 3	36	25	31658.17
334.1	316.1	Pefloxacin 1	80	27	31658.17
334.1	290.2	Pefloxacin 2	80	25	31658.17
362.2	318.1	Ofloxacin 1	80	26	31658.17
362.2	261.1	Ofloxacin 2	80	38	31658.17
321	303	Enoxacin 1	80	24	31658.17
321	234	Enoxacin 2	80	30	31658.17

表1. 离子对信息 (续)

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	化合物名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	标准编号
321.1	277	Enoxacin 3	36	21	31658.17
321.1	234	Enoxacin 4	36	31	31658.17
332.1	288.1	Ciprofloxacin 1	80	25	31658.17
332.1	245.1	Ciprofloxacin 2	80	33	31658.17
332.1	314	Ciprofloxacin 3	46	25	31658.17
352	265	Lomefloxacin 1	80	33	31658.17
352	308.1	Lomefloxacin 2	80	28	31658.17
352.2	237	Lomefloxacin 3	36	43	31658.17
358.1	340.1	Danofloxacin 1	77	30	31658.17
358.1	314.1	Danofloxacin 2	77	24	31658.17
358.2	314	Danofloxacin 3	56	23	31658.17
400.1	356.1	Difloxacin 1	80	28	31658.17
400.1	299.1	Difloxacin 2	80	41	31658.17
400.2	382	Difloxacin 3	46	29	31658.17
262	244.1	Oxolinic acid 1	70	26	31658.17
262	216.1	Oxolinic acid 2	70	40	31658.17
262.1	160	Oxolinic acid 3	26	47	31658.17
403.9	256	Phthalylsulfathiazole 1	96	21	31658.17
403.9	156	Phthalylsulfathiazole 2	96	29	31658.17
334.1	290.2	Pefloxacin 2	80	25	31658.17
362.2	318.1	Ofloxacin 1	80	26	31658.17
362.2	261.1	Ofloxacin 2	80	38	31658.17
321	303	Enoxacin 1	80	24	31658.17
321	234	Enoxacin 2	80	30	31658.17
321.1	277	Enoxacin 3	36	21	31658.17
321.1	234	Enoxacin 4	36	31	31658.17
332.1	288.1	Ciprofloxacin 1	80	25	31658.17
332.1	245.1	Ciprofloxacin 2	80	33	31658.17
332.1	314	Ciprofloxacin 3	46	25	31658.17
352	265	Lomefloxacin 1	80	33	31658.17
352	308.1	Lomefloxacin 2	80	28	31658.17
352.2	237	Lomefloxacin 3	36	43	31658.17
358.1	340.1	Danofloxacin 1	77	30	31658.17
358.1	314.1	Danofloxacin 2	77	24	31658.17
358.2	314	Danofloxacin 3	56	23	31658.17
400.1	356.1	Difloxacin 1	80	28	31658.17
400.1	299.1	Difloxacin 2	80	41	31658.17
400.2	382	Difloxacin 3	46	29	31658.17
262	244.1	Oxolinic acid 1	70	26	31658.17
262	216.1	Oxolinic acid 2	70	40	31658.17
262.1	160	Oxolinic acid 3	26	47	31658.17
403.9	256	Phthalylsulfathiazole 1	96	21	31658.17
403.9	156	Phthalylsulfathiazole 2	96	29	31658.17

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 色谱条件优化

实验详细优化了色谱条件，由于磺胺类药物同分异构体较多，比较了不同品牌、不同型号的色谱柱以及流动相，不仅可以分离所有的同分异构体而且保证所有的化合物有着尖锐的峰形，同时有效的避开基质干扰，让定量结果更加准确。

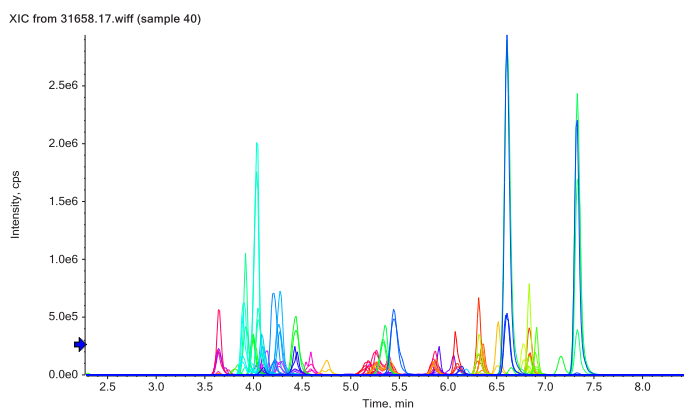


图1. 猪肉基质加标31658.17种36种兽药提取离子流图

### 2.2 方法考察了重复性、线性等

实验分别按照前述前处理方法，选取猪肉空白基质添加1倍和5倍地定量限两个浓度，每个浓度重复6次，准确度在85.51%-107.16%之间 (n=6)，相对标准偏差小于2.28% (表2)，实验结果表明该方法具有较好的准确度以及良好的稳定性。基质加标曲线相关系数均大于 $r>0.995$  (图2)，表明线性良好。该实验方法完全满足标准定量检测的要求。

Calibration for Tetracycline 1:  $y = 647.16...99976$ ,  $r^2 = 0.99952$  (weighting:  $1/x$ )

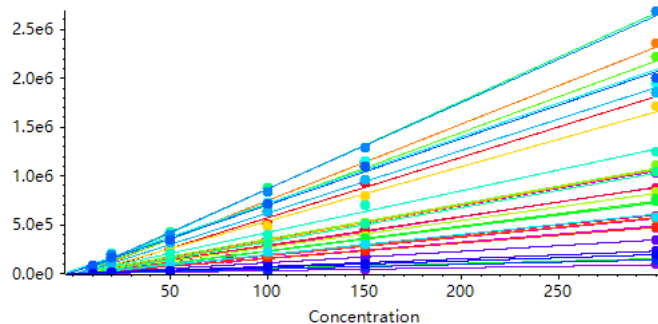


图2. 线性回归曲线

表2. 回收率及重复性实验 ( n=6 )

	化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均 回收率(%)	相对标准 偏差(%)
1	Tetracycline	10	95.33	2.00
		50		
2	Oxytetracycline	10	98.49	2.01
		50		
3	Chlortetracycline	10	92.29	0.90
		50		
4	Doxycycline	10	96.00	1.42
		50		
5	Sulfisomidin sodium	10	89.73	0.70
		50		
6	Sulfadiazine	10	95.20	0.89
		50		
7	Sulfathiazole	10	96.33	1.63
		50		
8	Sulfapyridine	10	97.19	1.90
		50		
9	Sulfamerazine	10	96.79	1.26
		50		
10	sulfameter	10	99.53	2.34
		50		
11	Sulfamethazine	10	88.51	0.91
		50		
12	sulfamethoxypridazine	10	98.76	1.97
		50		
13	Sulfamethizol	10	94.48	1.67
		50		
14	sulfachloropyridazine	10	92.22	1.20
		50		
15	Sulfadoxine	10	98.31	1.42
		50		
16	Sulfamethoxazole	10	100.03	1.72
		50		
17	Sulfamethoxypyridazine	10	101.16	1.32
		50		
18	sulfamonomethoxine	10	101.81	1.38
		50		

	化合物名称	添加浓度 (µg/kg)	平均 回收率(%)	相对标准 偏差(%)
19	Sulfisoxazole	10	96.68	2.01
		50		
20	sulfabenzamide	10	93.34	1.74
		50		
21	Sulfadimethoxine	10	98.11	0.60
		50		
22	Sulfaphenazole	10	104.39	1.25
		50		
23	sulphacetamide	10	91.22	2.07
		50		
24	Norfloxacin	10	90.61	1.92
		50		
25	Enrofloxacin	10	89.72	1.45
		50		
26	Sarafloxacin	10	93.69	2.09
		50		
27	Flumequin	10	98.78	1.81
		50		
28	Marbofloxacin	10	96.14	1.19
		50		
29	Pefloxacin	10	90.96	2.26
		50		
30	Enoxacin	10	89.18	0.75
		50		
31	Ciprofloxacin	10	89.58	0.94
		50		
32	Lomefloxacin	10	95.25	2.28
		50		
33	Danofloxacin	10	107.16	1.45
		50		
34	Difloxacin	10	98.49	1.42
		50		
35	Oxolinic acid	10	95.64	2.04
		50		
36	Phthylsulfathiazole	10	89.34	1.57
		50		

### 3 小结

本文建立了高效液相色谱-串联三重四极杆质谱快速定量分析检测三类兽药的方法。实验严格按照GB31650-2019配套的检测标准GB 31658.17-2021《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》进行，确保了实验结果的有效性，定量结果更准确，在动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的分析检测具有重要的参考意义。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14907-ZH-A



#### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7200  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：SCIEX-China