

# LC-MS/MS 测定鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留

LCMSMS-687

**摘要：**本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用测定鸡肉中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的方法，三类化合物在 2 µg/L~500.0 µg/L 浓度范围内线性良好，相关系数  $r$  均在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下，基质标样保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.03%~0.20% 和 0.38%~6.23% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 10、100 和 500 µg/kg 的样品，回收率在 62.3~104.2% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物多残留的准确定量检测。

**关键词：**三重四极杆液质联用仪 鸡肉 四环素类 磺胺类 喹诺酮类

四环素类、磺胺类和喹诺酮类抗生素均为广谱抗生素，且作为兽药使用已有多年历史，耐药性严重程度不容忽视。这些抗生素的不合理使用，将会为食品安全带来隐患。GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》中对牛、猪、家禽和鱼中的四环素类（土霉素、四环素、金霉素和强力霉素）、牛/羊、家禽、猪等动物基质中的喹诺酮类（恩诺沙星、达氟沙星、沙拉沙星、二氟沙星等）抗生素最大残留限量（MRLs）都有明确规定，而磺胺类抗生素在所有食品动物基质的 MRLs 均为 100 µg/kg。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布

了《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》，该方法也是国标中首次跨种类多残留同时检测方法，对兽残检测通量的提高具有积极的意义。

本文参考该标准，建立了鸡肉中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留的检测方法，试样中残留药物，用 McIlvaine-Na<sub>2</sub>EDTA 缓冲液提取，亲水亲脂平衡型固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量。方法快速灵敏，准确度高，可适用于动物性食品中这三类抗生素的同时检测。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：SCL-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40DX3×2

质谱仪：LCMS-8050

柱温箱：CTO-40C

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

在线脱气机：DGU-405

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 µm)

岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30807-02

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液，B 相 -0.1% 甲酸甲醇溶液

柱温：35°C

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 15%，时间程序见表 1

流速：0.3 mL/min

进样体积：1 µL

表 1 梯度洗脱时间程序

Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	30
5.00	Pumps	Pump B Conc.	40
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.50	Pumps	Pump B Conc.	95
8.51	Pumps	Pump B Conc.	15
12.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子源: ESI, 正离子模式

接口电压: 0.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

加热气: 空气 10 L/min

碰撞气: 氩气 (230 kPa)

DL 管温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

接口温度: 300°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见表 2

## ■ 标准品溶液的配制及样品前处理

#### 标准工作溶液配制:

参考《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》中标准溶液的制备方法配制标准储备液及工作液。

#### 样品前处理:

参考《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》中样品的提取及净化方法。

#### 基质匹配校准曲线溶液的制备:

精密量取混合标准工作液适量, 分别加入 6 份经提取和净化的空白试样残渣中, 45°C 氮气吹干, 加入复溶液 1 mL 涡旋溶解, 配制成浓度为 2、10、50、100、250 和 500 μg/L 的基质匹配系列标准工作曲线溶液, 微孔滤膜过滤后上机测定。

表 2 MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	分子式	CAS No.	分子量	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	乙酰磺胺	Sulfacetamide	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	144-80-9	214.2	215.1	108.1*	-13.0	-19.0	-20.0
							156.0	-13.0	-11.0	-29.0
2	磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	515-64-0	278.3	279.1	124.1*	-18.0	-22.0	-25.0
							186.0	-10.0	-17.0	-12.0
3	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	68-35-9	250.3	251.1	92.0*	-16.0	-26.0	-17.0
							156.0	-16.0	-16.0	-30.0
4	磺胺噻唑	Sulfathiazole	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	72-14-0	255.3	256.0	92.0*	-16.0	-26.0	-17.0
							156.0	-16.0	-15.0	-16.0
5	磺胺吡啶	Sulfapyridine	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	144-83-2	249.3	250.1	108.1*	-16.0	-24.0	-20.0
							156.0	-15.0	-16.0	-10.0

6	麻保沙星	Marbofloxacin	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	115550-35-1	362.4	363.1	72.1* 320.0	-13.0 -13.0	-23.0 -17.0	-27.0 -22.0
7	磺胺甲噁啉	Sulfamerazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	127-79-7	264.3	265.0	92.0* 156.0	-16.0 -16.0	-29.0 -16.0	-17.0 -15.0
8	依诺沙星	Enoxacin	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	74011-58-8	320.3	321.1	234.1* 303.1	-11.0 -11.0	-22.0 -15.0	-25.0 -21.0
9	氧氟沙星	Ofloxacin	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	82419-36-1	361.4	362.1	261.1* 318.1	-12.0 -13.0	-27.0 -20.0	-18.0 -22.0
10	培氟沙星	Pefloxacin	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	70458-92-3	333.4	334.1	290.1* 316.0	-20.0 -12.0	-19.0 -21.0	-20.0 -22.0
11	四环素	Tetracycline	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	60-54-8	444.4	445.1	410.1* 427.1	-15.0 -10.0	-21.0 -15.0	-29.0 -30.0
12	诺氟沙星	Norfloxacin	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	70458-96-7	319.3	320.1	233.1* 302.1	-11.0 -11.0	-24.0 -20.0	-25.0 -21.0
13	磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxy-pyridazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	80-35-3	280.3	281.1	92.0* 156.0	-10.0 -10.0	-29.0 -17.0	-17.0 -30.0
14	土霉素	Oxytetracycline	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	79-57-2	460.4	461.1	426.1* 443.1	-10.0 -10.0	-20.0 -14.0	-30.0 -16.0
15	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	144-82-1	270.3	271.1	92.0* 156.0	-12.0 -10.0	-26.0 -14.0	-17.0 -10.0
16	磺胺二甲噁啉	Sulfamethazine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	57-68-1	278.3	279.1	92.0* 186.0	-10.0 -10.0	-31.0 -18.0	-17.0 -12.0
17	环丙沙星	Ciprofloxacin	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	85721-33-1	331.3	332.1	231.0* 314.1	-21.0 -11.0	-35.0 -20.0	-25.0 -22.0
18	磺胺对甲氧噁啉	Sulfameter	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	651-06-9	280.3	281.1	92.0* 156.0	-10.0 -10.0	-30.0 -17.0	-17.0 -16.0
19	恩诺沙星	Enrofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	93106-60-6	359.4	360.1	245.1* 316.1	-12.0 -12.0	-27.0 -20.0	-17.0 -22.0
20	达氟沙星	Danofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	112398-08-0	357.4	358.1	96.1* 340.1	-12.0 -13.0	-25.0 -23.0	-18.0 -24.0
21	洛美沙星	Lomefloxacin	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	98079-51-7	351.4	352.1	265.1* 308.1	-12.0 -12.0	-24.0 -18.0	-18.0 -21.0
22	磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyridazine	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	80-32-0	284.7	285.0	92.0* 156.0	-10.0 -10.0	-27.0 -15.0	-17.0 -16.0
23	二氟沙星	Difloxacin	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	98106-17-3	399.4	400.1	299.1* 356.1	-14.0 -14.0	-28.0 -21.0	-21.0 -25.0
24	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	723-46-6	253.3	254.1	92.0* 156.0	-16.0 -16.0	-28.0 -16.0	-17.0 -16.0
25	沙拉沙星	Sarafloxacin	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	98105-99-8	385.4	386.1	299.1* 342.1	-13.0 -13.0	-29.0 -20.0	-21.0 -24.0

26	磺胺二甲异噁唑	Sulfisoxazole	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	127-69-5	267.3	268.1	92.0* 156.0	-17.0 -17.0	-28.0 -14.0	-25.0 -30.0
27	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	1220-83-3	280.3	281.1	92.0* 156.0	-10.0 -10.0	-29.0 -17.0	-17.0 -29.0
28	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	2447-57-6	310.3	311.10	92.0* 156.0	-19.0 -11.0	-32.0 -19.0	-17.0 -30.0
29	金霉素	Chlortetracycline	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	57-62-5	478.9	479.1	444.0* 462.1	-16.0 -10.0	-23.0 -17.0	-16.0 -17.0
30	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	127-71-9	276.3	277.1	108.0* 156.0	-17.0 -18.0	-22.0 -12.0	-20.0 -16.0
31	酞磺胺噻唑	Phthalylsulfathiazole	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub>	85-73-4	403.4	404.0	149.0* 256.0	-14.0 -14.0	-29.0 -15.0	-28.0 -17.0
32	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	526-08-9	314.4	315.0	92.0* 158.1	-11.0 -11.0	-36.0 -30.0	-17.0 -16.0
33	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	2447-57-6	310.3	311.1	92.0* 156.0	-19.0 -11.0	-32.0 -21.0	-17.0 -16.0
34	多西环素	Doxycycline	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	564-25-0	444.4	445.1	154.1* 428.1	-10.0 -10.0	-28.0 -19.0	-29.0 -30.0
35	噁唑酸	Oxolinic acid	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	14698-29-4	261.2	262.1	216.0* 244.0	-17.0 -16.0	-29.0 -30.0	-23.0 -17.0
36	氟甲喹	Flumequine	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> FNO <sub>3</sub>	42835-25-6	261.3	262.1	202.0* 244.0	-16.0 -16.0	-27.0 -30.0	-21.0 -17.0

\* 表示定量离子

## ■ 结果与讨论

### 3.1 四环素、磺胺及喹诺酮标准溶液谱图

配制的 2 ng/mL 混合标准溶液，上机分析，得到 36 种四环素、磺胺及喹诺酮标准溶液的 MRM 色谱图，详见图 1，色谱峰形良好，通道无干扰。

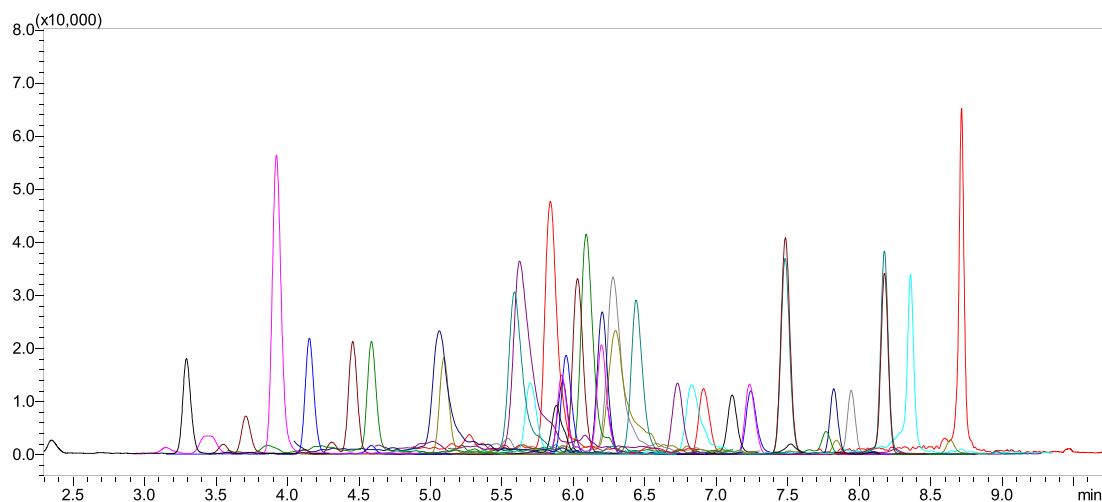


图 1 2 ng/mL 36 种四环素、磺胺及喹诺酮标液的 MRM 色谱图

### 3.2 线性关系

将 2、10、50、100、250 和 500  $\mu\text{g/L}$  的基质混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示（部分）。四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线及检测限、定量限的结果见表 3。

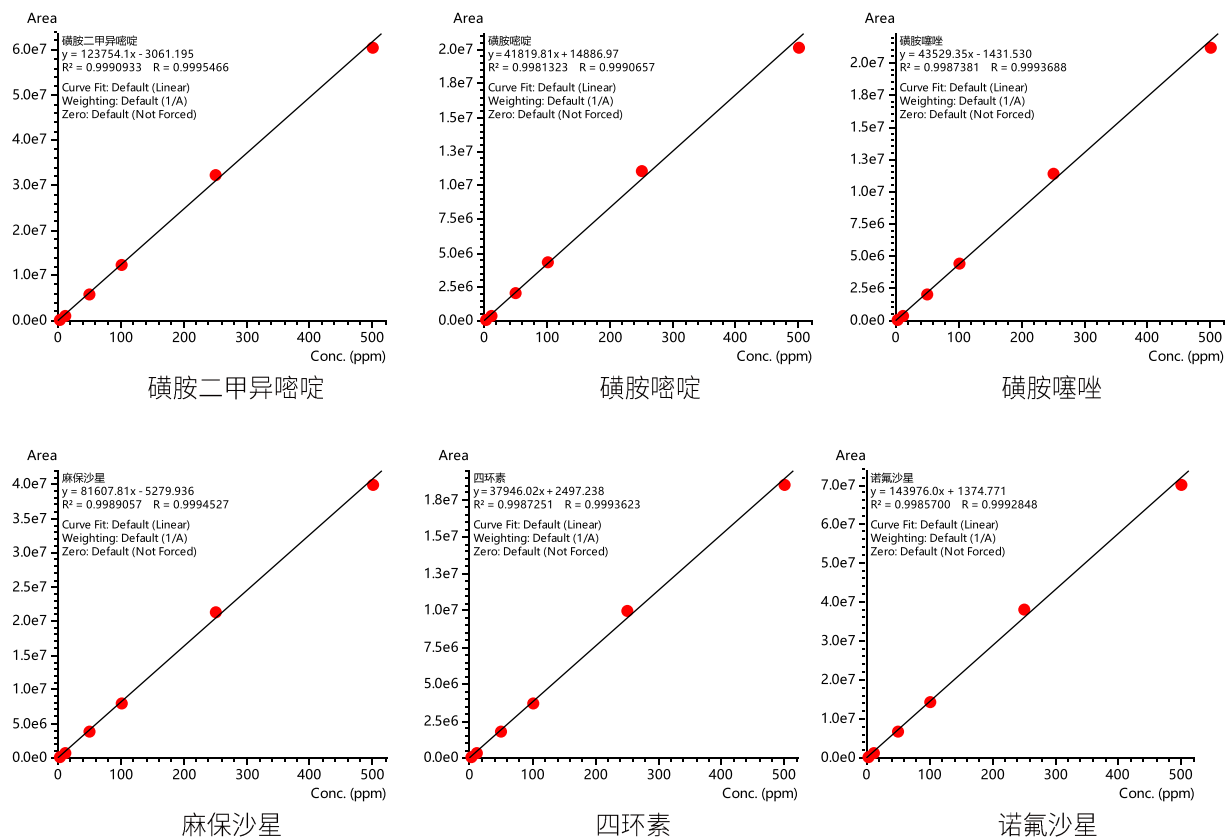


图 2 部分四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线

表 3 36 种四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	乙酰磺胺	$Y = (34215.3)X + (10413.7)$	0.9990	89.7~107.4	0.07	0.20
2	磺胺二甲异噁啉	$Y = (123754)X + (-3061.19)$	0.9995	97.8~105.4	0.15	0.45
3	磺胺嘧啶	$Y = (41819.8)X + (14887.0)$	0.9991	88.8~107.1	0.26	0.78
4	磺胺噻唑	$Y = (43529.3)X + (-1431.53)$	0.9994	95.9~106.2	0.03	0.09
5	磺胺吡啶	$Y = (44262.1)X + (11916.6)$	0.9990	90.7~107.6	0.29	0.86
6	麻保沙星	$Y = (81607.8)X + (-5279.94)$	0.9995	95.4~104.9	0.31	0.93
7	磺胺甲噁啉	$Y = (36805.0)X + (17820.6)$	0.9988	91.3~107.2	0.05	0.14
8	依诺沙星	$Y = (114288)X + (30682.6)$	0.9987	89.5~107.5	0.57	1.72
9	氧氟沙星	$Y = (103346)X + (49520.5)$	0.9985	83.3~109.3	0.06	0.20
10	培氟沙星	$Y = (162706)X + (14369.2)$	0.9992	90.5~107.3	0.28	0.83
11	四环素	$Y = (37946.0)X + (2497.24)$	0.9994	93.7~107.6	0.19	0.56
12	诺氟沙星	$Y = (143976)X + (1374.77)$	0.9993	97.1~106.1	0.18	0.55
13	磺胺甲氧吡嗪	$Y = (34610.2)X + (12869.7)$	0.9993	90.5~105.8	0.05	0.17

14	土霉素	$Y = (27978.1)X + (2602.01)$	0.9995	88.1~107.7	0.15	0.47
15	磺胺甲噁二唑	$Y = (49595.4)X + (-2624.08)$	0.9992	96.9~106.2	0.06	0.19
16	磺胺二甲嘧啶	$Y = (82445.6)X + (13146.9)$	0.9990	92.5~107.1	0.03	0.10
17	环丙沙星	$Y = (129676)X + (-13828.2)$	0.9992	96.3~106.5	0.14	0.43
18	磺胺对甲氧嘧啶	$Y = (64216.5)X + (29170.6)$	0.9985	85.5~107.7	0.04	0.12
19	恩诺沙星	$Y = (66875.0)X + (82884.6)$	0.9993	85.8~112.1	0.20	0.61
20	达氟沙星	$Y = (134665)X + (-29033.4)$	0.9996	94.2~105.0	0.13	0.40
21	洛美沙星	$Y = (86893.5)X + (-10470.1)$	0.9994	95.4~105.8	0.14	0.43
22	磺胺氯哒嗪	$Y = (34767.4)X + (955.326)$	0.9991	95.9~107.3	0.14	0.42
23	二氟沙星	$Y = (53107.6)X + (-2452.48)$	0.9994	92.8~106.7	0.29	0.87
24	磺胺甲噁唑	$Y = (30504.4)X + (3200.24)$	0.9991	96.3~106.6	0.05	0.17
25	沙拉沙星	$Y = (27307.0)X + (-1978.41)$	0.9991	94.6~106.0	0.15	0.47
26	磺胺二甲异噁唑	$Y = (33647.0)X + (706.782)$	0.9989	94.9~106.9	0.05	0.16
27	磺胺间甲氧嘧啶	$Y = (31679.2)X + (5365.68)$	0.9993	91.3~105.9	0.04	0.13
28	磺胺邻二甲氧嘧啶	$Y = (92175.1)X + (17811.5)$	0.9989	89.3~107.0	0.03	0.08
29	金霉素	$Y = (11831.5)X + (-5528.24)$	0.9995	92.4~111.0	0.20	0.60
30	苯甲酰磺胺	$Y = (22821.9)X + (1318.69)$	0.9992	92.6~106.9	0.01	0.02
31	酞磺胺噻唑	$Y = (5390.01)X + (-602.739)$	0.9993	95.8~106.9	0.12	0.37
32	磺胺苯吡唑	$Y = (21282.5)X + (11444.5)$	0.9982	84.0~107.5	0.06	0.19
33	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y = (71374.8)X + (5593.66)$	0.9994	95.9~106.1	0.02	0.06
34	多西环素	$Y = (24425.1)X + (50766.2)$	0.9999	87.0~116.1	0.06	0.19
35	噻啶酸	$Y = (78764.2)X + (82889.8)$	0.9989	82.2~106.2	0.03	0.08
36	氟甲喹	$Y = (67376.8)X + (47990.8)$	0.9990	89.5~106.4	0.05	0.14

### 3.3 精密度

浓度为 2、50 和 250  $\mu\text{g/L}$  基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~0.20% 和 0.38%~6.23% 之间，仪器精密度良好。

### 3.4 回收率

取空白鸡肉 1 g，加入混标工作液，使加标浓度为 10、100 和 500  $\mu\text{g/kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定四环素、磺胺和喹诺酮的加标回收率，平行测定 3 次。结果显示，高、中、低三个浓度水平的加标回收率均满足标准 GB 31658.17-2021 中关于回收率在 60%~110% 之间的要求，具体结果见表 4。

表 4 四环素、磺胺及喹诺酮药物的回收率结果

药物种类	10 $\mu\text{g/kg}$		100 $\mu\text{g/kg}$		500 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
喹诺酮类	76.6~97.6	3.7~8.5	82.6~104.2	0.2~5.6	83.8~103.0	0.1~2.3
四环素	62.3~71.3	2.7~12.9	67.7~68.3	2.8~4.9	64.9~80.9	1.9~3.9
磺胺类	65.6~94.8	1.1~8.7	63.2~97.0	0.4~3.5	67.3~99.3	1.2~4.3

## ■ 结论

依据国家标准《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》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪同时测定鸡肉中四环素、磺胺和喹诺酮药物多残留的方法。四环素类抗生素易光解，在酸及碱性条件下都不够稳定，且易与金属离子反应，在实验中进样小瓶建议选择 PP 材质的样品瓶。这三类抗生素在 2 μg/L~500.0 μg/L 浓度范围内线性良好，相关系数  $r$  均在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下，基质标样的峰面积的 RSD% 在 0.38%~6.23% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 10、100 和 500 μg/kg 的样品，回收率在 62.3~104.2% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物多残留的准确定量检测。

岛津应用云

