

不同标准中喹诺酮类兽药残留检测标准解读

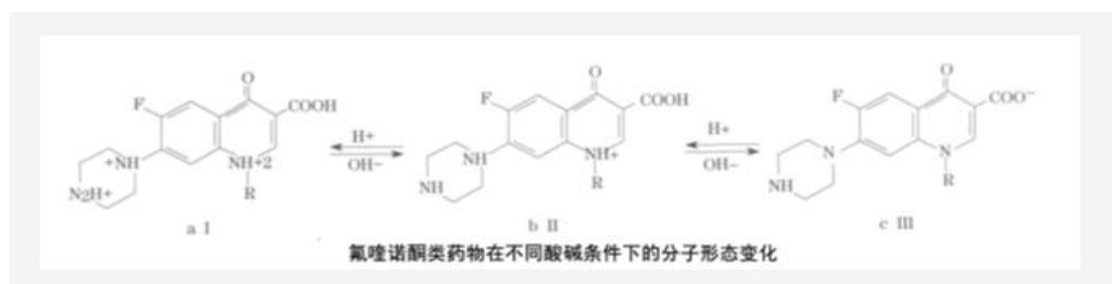
黄凤妹

(福建省南平市食品药品检验检测中心, 福建 南平 353000)

摘要: 喹诺酮类药物为两性化合物, 本文针对它们的两性结构从喹诺酮类所涉及的比较典型的检测方法标准(如 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、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 23412-2009 蜂蜜中 19 种喹诺酮类药物残留量的测定方法 液相色谱-质谱质谱法、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、SN/T 1751.2-2007 进出口动物源食品中喹诺酮类药物残留量检测方法 第 2 部分: 液相色谱-质谱/质谱法、GB/T 20751-2006 鳗鱼及制品中十五种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法)以及最新实施标准: GB 31656.3-2021 食品安全国家标准 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-串联质谱法这几个标准分别从提取溶剂、净化方法、定量方式、方法定量限讲述喹诺酮类兽药残留检测注意事项。

关键词: 喹诺酮类;相关标准;提取溶剂;净化方法

喹诺酮类药物分子结构(以恩诺沙星、环丙沙星为例): 氟喹诺酮类药物的结构形态受酸碱度的影响非常显著。在酸性介质($\text{pH}=3\sim 5$)中氟喹诺酮以两性离子(分子形态)存在于溶液中; 当 pH 为中性时, 氟喹诺酮为弱阳离子形式存在; 在碱性条件($\text{pH}=12\sim 13$)时氟喹诺酮为阴离子形式存在于溶液中, 正是由于喹诺酮类化合物的两性结构性质决定既可以用酸性溶剂、中性溶剂及碱性溶液来提取。



1 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 方法提要

用 0.1mol/L EDTA-Mellvaine 缓冲液(pH4.0)提取样品中的喹诺酮类抗生素,经过滤和离心后,上清液经 HLB 固相萃取柱净化。高效液相色谱-质谱/质谱测定,用阴性样品基质加标外标法定量。

提取溶剂: 用 0.1mol/L EDTA 与磷酸氢二钠、柠檬酸组成的 pH=4.0 的缓冲液提取样品中的喹诺酮类药物。

净化方式: 用 HLB 亲水亲油固相萃取柱(要求目标物以分子形式存在)净化。用甲醇、水活化,提取样液过柱,弃去样液,用 5%甲醇水溶液淋洗,弃去淋洗液,抽干,用 6%甲醇洗脱并收集洗脱液。

定量方法: 空白基质外标法定量,曲线范围(2.5~100ng/mL)

检出限和定量限: 14 种喹诺酮检出限 0.5~3.0 μ g/kg,定量限 2~10 μ g/kg。

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 标准解读

3 原理

试样中喹诺酮类残留,采用甲酸-乙腈提取,提取液用正己烷净化。液相色谱-串联质谱仪测定,外标法定量。

4.12 11 种喹诺酮类混合标准工作溶液:准确量取适量的喹诺酮类标准中间溶液(4.11),用甲酸-乙腈溶液(4.8)配制成浓度系列为 5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、25.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100.0 ng/mL、250.0 ng/mL、500.0 ng/mL 的喹诺酮类混合标准工作溶液(4℃保存可使用 1 周)。

提取溶剂: 试样中喹诺酮类残留,采用 2%甲酸-乙腈提取。

净化方式: 提取液用正己烷液液分配萃取净化除脂净化。

定量方法: 溶剂(2%甲酸-乙腈(相当于是纯溶剂)不介意使用,要注意溶剂效应的问题;

检测时改用 20%乙腈水作为稀释标准溶液的溶剂)外标法定量,曲线范围(5.0~500ng/mL)

检出限和定量限: 11 种喹诺酮检出限 0.1 或 0.5 μ g/kg,定量限均为 1.0 μ g/kg。

2 GB/T 23412-2009 蜂蜜中 19 种喹诺酮类药物残留量的测定方法液相色谱-质谱质谱法标准解读

3 方法提要

试样加入内标后,氢氧化钠溶液溶解蜂蜜样品,离子化的喹诺酮类残留物经过阴离子交换固相萃取柱富集净化,用液相色谱-质谱/质谱法测定,梯度洗脱,内标法定量。

提取溶剂：用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液（pH=13）溶解蜂蜜样品。

净化方式：离子化的喹诺酮类残留物经过阴离子交换固相萃取柱(PAX 柱)富集净化；依次用 3mL 甲醇和 3mL 水活化固相萃取小柱，将样品溶液转移到小柱上，依次用水、甲醇淋洗，弃去上述滤液。用 5%甲酸-甲醇溶液 3mL 洗脱，收集洗脱液。

定量方法：溶剂（20%甲醇水）内标法定量，曲线范围（1~60ng/mL）

检测低限：1.0ug/kg。

3 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-串联质谱法标准解读

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。

提取溶剂：用 1%酸化乙腈提取样品中的喹诺酮类化合物。

净化方式：正己烷液液分配萃取除脂肪净化。

定量方法：溶剂（20%甲醇水），内标法定量，曲线范围（10~200ng/mL）

检出限和定量限：15 种喹诺酮检出限 1.0 μ g/kg,定量限均为 2.0 μ g/kg。

4 SN/T 1751.2-2007 进出口动物源食品中喹诺酮类药物残留量检测方法液相色谱-质谱/质谱法标准解读

4 方法提要

试样中的喹诺酮类药物残留用酸性乙腈溶液提取，经正己烷脱脂净化，浓缩、定容后，用液相色谱-质谱/质谱仪测定，外标法定量。

提取溶剂：用 1%酸化乙腈提取样品中的喹诺酮类化合物。

净化方式：正己烷液液分配萃取除脂肪净化。

定量方法：空白样品基质外标法定量，曲线范围根据样液浓度待定。

测定低限：10.0ug/kg。

5 GB/T 20751-2006 鳗鱼及制品中十五种喹诺酮类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法标准解读

3 原理

试样中残留的喹诺酮类药物采用乙腈提取，提取液经正己烷液液分配脱脂后，以强阳离子固相萃取小柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量。

提取溶剂：试样中残留的喹诺酮类药物采用乙腈提取。

净化方式：提取液经正己烷液液分配脱脂后,以强阳离子固相萃取小柱（SCX）净化：用前依次以 3mL 甲醇、3mL 水、3mL10mmol/L 乙酸铵缓冲液(pH4.6)活化，保持柱体湿润。样液经正己烷液液分配脱脂，氮吹干，以 3mL10mmol/L 乙酸铵缓冲液(pH4.6)溶液上 SCX 柱，以约 1mL/min 的流速全部通过强阳离子交换柱,抽干,先后以 1.5mL 甲醇、3mL 25%氨水-甲醇洗脱,合并洗脱液。

定量方法：空白样品基质外标法定量，曲线范围根据样液浓度待定。

测定低限：15 种喹诺酮类均为 5.0ug/kg。

6 GB 31656.3-2021 食品安全国家标准 水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定高效液相色谱法标准解读

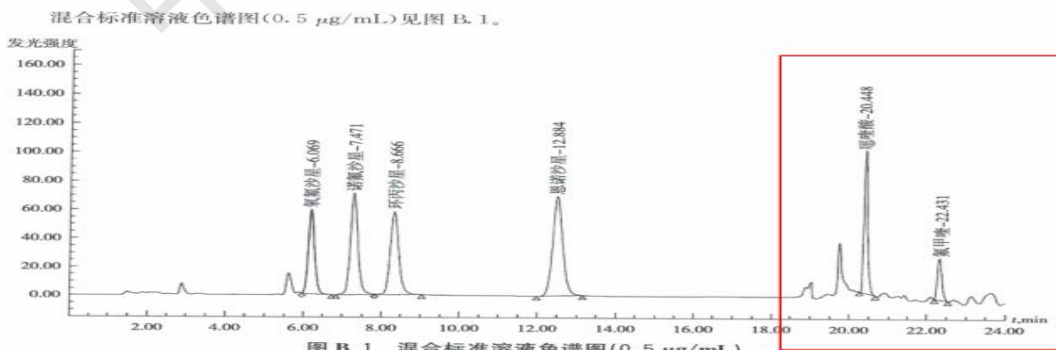
适用范围：水产品中鱼类肌肉组织，虾、蟹、贝类的可食组织中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的检测。

提取液：用 1% 酸化乙腈提取。

净化：C₁₈柱净化，依次用甲醇、水、磷酸盐缓冲液各 3mL 活化。取样液过柱，流速控制为每秒 1 滴。水 3mL 淋洗，抽干，加洗脱液 5mL（25% 氨水甲醇液），收集洗脱液。

表 2 检测波长时间程序

时间 min	激发波长 nm	发射波长 nm
0	280	480
18.5	325	365



要注意噁喹酸与氟甲喹的色谱行为，不要随意去更改流动相的比例，因为噁喹酸与氟甲喹的荧光检测条件与前面四个沙星类的检测条件不一样。

7 总结

提取溶剂:

1. EDTA-McIlvaine缓冲液 (pH4.0) (GB/T 21312-2007)
2. 2%甲酸乙腈 (GB/T 20366-2006)
3. 0.1mol/L氢氧化钠溶液 (GB/T 23412-2009)
4. 1%甲酸乙腈 (农业部1077号公告-1-2008)
5. 1%乙酸乙腈 (SN/T 1751.2-2007)
6. 乙腈 (GB/T 20751-2006)

净化:

1. 固相萃取 (HLB) (GB/T 21312-2007)
2. 液液萃取: 乙腈饱和正己烷 (GB/T 20366-2006)
3. 固相萃取 (PAX) (GB/T 23412-2009)
4. 液液萃取: 正己烷 (农业部1077号公告-1-2008)
5. 液液萃取: 正己烷 (SN/T 1751.2-2007)
6. 固相萃取 (SCX) (GB/T 20751-2006)

定量或校正:

1. 基质加标标准工作曲线 (外标法, 2.5ng/mL-100ng/mL) (GB/T 21312-2007)
2. 甲酸乙腈配制标准曲线 (外标法, 5ng/mL-500ng/mL) (GB/T 20366-2006)
3. 内标法 (20%甲醇水) (GB/T 23412-2009)
4. 内标法 (20%甲醇水) (农业部1077号公告-1-2008)
5. 空白样品基质溶液配制 (外标法, SN/T 1751.2-2007)
6. 空白样品基质溶液配制 (外标法, GB/T 20751-2006)

检出限和定量限

1. 14种喹诺酮类检出限: 0.5-3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限2-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (GB/T 21312-2007)
2. 11种喹诺酮类检出限为0.1或0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限均为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (GB/T 20366-2006)
3. 19种喹诺酮类检测下限均为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (GB/T 23412-2009)
4. 15种喹诺酮类检出限为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限均为2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (农业部1077号公告-1-2008)
5. 16种喹诺酮类测定下限为10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (SN/T 1751.2-2007)
6. 15种喹诺酮类检出限为5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (GB/T 20751-2006)

通过对这几个相关的喹诺酮类标准的检测标准解读, 对喹诺酮类药物的提取, 可以使用 EDTA-McIlvaine 缓冲液 (pH4.0), 甲酸乙腈 (1%~2%) (pH3~5), 纯乙腈 (pH=7), 还可以使用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 (pH=13), 是因为喹诺酮类药物为两性化合物, 不同的 pH 溶液提取决定了其在溶液中的存在形式不同, 如果用 pH3~5 酸性溶液来提取的话, 此

时喹诺酮类药物以分子形式存在于溶液中，净化的方式则可以采用过 HLB、C₁₈、或正己烷液液分配萃取净化；如果是采用乙腈来提取的话，则喹诺酮类药物以阳离子形式存在于溶液中，因此净化方式要采用阳离子交换柱来净化；如果采用碱性溶液来提取的话，此时喹诺酮类药物以阴离子的形式存在于溶液中，此时则要相应的采用阴离子交换柱来净化。

中国仪器仪表学会