



中华人民共和国国家标准

GB XXXXX.X—XXXX

代替 GB31656.3-2021

食品安全国家标准
水产品中喹诺酮类药物残留量的测定

National food safety standard-

Determination of quinolones residues in aquatic products

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局

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。

本文件代替GB 31656.3-2021《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》。

与GB 31656.3-2021相比，除结构调整和编辑性改动外，主要增加了方法二 液相色谱-串联质谱法，适用性范围扩大至19种喹诺酮。

本文件及其代替文件的历次版本发布情况为：

——GB 31656.3-2021；

——本文件为第一次修订。

食品安全国家标准

水产品中喹诺酮类药物残留量的测定

方法一 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本文件适用于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。

2 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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 30891 — 2014 水产品抽样规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试料中残留的诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹，经酸化乙腈提取，正己烷脱脂，C₁₈固相萃取柱净化，液相色谱-荧光检测法测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.1.3 正己烷（C₆H₁₄）：色谱纯。

5.1.4 盐酸（HCl）。

- 5.1.5 磷酸 (H_3PO_4)。
- 5.1.6 氨水 ($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$)。
- 5.1.7 氢氧化钠 (NaOH)。
- 5.1.8 二水合磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。
- 5.1.9 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)。
- 5.1.10 四丁基溴化铵 ($\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{BrN}$)。

5.2 标准品

诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹：含量 $\geq 98.0\%$ ，详见附录 A。

5.3 溶液配制

- 5.3.1 盐酸溶液：取盐酸 50 mL，加水稀释至 100 mL，混匀。
- 5.3.2 磷酸溶液：取磷酸 1 mL，加水稀释至 10 mL，混匀。
- 5.3.3 酸化乙腈溶液：取乙腈 250 mL，加盐酸溶液 2 mL，充分混匀。
- 5.3.4 乙腈饱和正己烷溶液：取正己烷 200 mL 于 250 mL 分液漏斗中，加适量乙腈后，剧烈振摇，待分配平衡后，弃去乙腈层，即得。
- 5.3.5 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 9 mL，用水稀释至 1 000 mL。
- 5.3.6 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 4 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 5.3.7 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲溶液：取二水合磷酸二氢钠 1.56 g，加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 79 mL 溶解，用水稀释至 200 mL。
- 5.3.8 0.01 mol/L 四丁基溴化铵溶液 (pH 3.0)：取四丁基溴化铵 3.22g，加水 900 mL 使溶解，用磷酸溶液调节 pH 到 3.0，用水稀释至 1 000 mL。
- 5.3.9 洗脱液：取氨水 25 mL，用甲醇稀释至 100 mL。

5.4 标准溶液制备

- 5.4.1 诺氟沙星、氧氟沙星标准储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：取诺氟沙星、氧氟沙星各约 10 mg，精密称定，用 0.1 mol/L 盐酸溶液 10 mL 使溶解，用乙腈稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶中，摇匀，即得。4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。
- 5.4.2 环丙沙星、恩诺沙星标准储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：取盐酸环丙沙星、恩诺沙星各约 10 mg，精密称定，用甲醇溶解并稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶中，摇匀，即得。4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。
- 5.4.3 噁喹酸、氟甲喹标准储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：取噁喹酸、氟甲喹各约 10 mg，精密称定，用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL 使溶解，加乙腈稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶中，摇匀，即得。4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.4 混合标准工作液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：精密量取诺氟沙星、氧氟沙星标准储备液，环丙沙星、恩诺沙星标准储备液，噁喹酸、氟甲喹标准储备液各 1mL，于 10 mL 棕色容量瓶中，用流动相 A 稀释至刻度，摇匀，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作液。4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 1 个月。

5.5 材料

C₁₈ 固相萃取柱：500 mg/3mL，或相当者。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。

6.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 氮吹仪。

6.4 超声波振荡器。

6.5 均质器：15 000 r/min。

6.6 离心机：4 000 r/min。

6.7 尼龙微孔滤膜：0.22 μm 。

6.8 梨形瓶：100 mL。

6.9 分液漏斗：250 mL。

6.10 旋转蒸发器。

6.11 分液漏斗振摇器。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

按 GB/T 30891 — 2014 中附录 B 的要求制样。

a) 取均质的供试样品，作为供试试样；

b) 取均质的空白样品，作为空白试样；

c) 取均质的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存，3 个月内进行分析检测。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试样（5 \pm 0.05）g，加酸化乙腈溶液 20 mL、无水硫酸钠 10g，高速均质 1 min~2 min，3 000 r/min 离心 5 min，取上清液至分液漏斗，用酸化乙腈溶液 20 mL，清洗刀头并溶解沉淀，重复提取 2 次，合并上

清液。加乙腈饱和正己烷溶液60 mL，置分液漏斗振摇器（150 r/min）上振荡20 min，静置，取下层乙腈至梨形瓶，40℃旋转蒸发至干。加磷酸盐缓冲液4 mL，超声振荡1 min，静置30 s，溶液转移至15 mL离心管。再重复提取残余物2次，溶液转移至同一离心管，合并3次残余物溶解液，3 000 r/min离心5 min，取上清液，备用。

8.2 净化

取C₁₈固相萃取柱，依次用甲醇、水、磷酸盐缓冲液各3 mL活化。取上述备用液过柱，流速控制为每秒一滴。水3 mL淋洗，抽干，加洗脱液5 mL，收集洗脱液，50℃氮气吹干，加流动相A 1.0 mL使溶解，过0.22 μm微孔滤膜，高效液相色谱测定。

8.3 标准曲线的制备

分别精密量取混合标准工作液适量，用流动相A稀释成浓度分别为10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1 000 ng/mL、2 000 ng/mL的系列标准溶液，供高效液相色谱分析；现用现配。以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，制作标准曲线。

8.4 测定

8.4.1 色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈色谱柱（150 mm×4.6 mm, 5 μm），或相当者；
- b) 流动相：A：0.01 mol/L四丁基溴化铵溶液-乙腈（94:6，V/V），B：乙腈，梯度洗脱程序见表1；

表1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	100	0
14	100	0
15	60	40
24	60	40
25	100	0
30	100	0

- c) 流速：0.9 mL/min；
- d) 柱温：35℃；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 检测波长：时间程序见表2。

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

8.4.2 测定法

取试料溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，以相应药物的保留时间定性，被测试样中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹色谱峰保留时间与相应标准溶液色谱峰的保留时间相比，相差应在 $\pm 0.1\text{min}$ 内。按外标法以峰面积计算。标准溶液及试料溶液中6种喹诺酮类药物响应值均应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下，标准溶液高效液相色谱图见附录B。

8.5 空白试验

取空白试样，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中待测药物的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X ——试样中被测组分的残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- C_s ——标准工作液测得的相应被测组分溶液浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- A ——试料溶液中相应被测组分峰面积；
- A_s ——标准溶液中相应被测组分峰面积
- V ——试料溶液定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——试料质量，单位为克（ g ）。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星的检测限为 $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，噁喹酸、氟甲喹的检测限为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星的定量限为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，噁喹酸、氟甲喹的定量限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星在 $5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，添加浓度的回收率为 $70\% \sim 120\%$ ；噁喹酸、氟甲喹在 $10 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，添加浓度的回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

10.3 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 $\leq 15\%$ 。

方法二 液相色谱-串联质谱法

11 范围

本文件规定了水产品中噁喹酸、氟甲喹、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、培氟沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、二氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、奥比沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、虾、蟹、贝、蛙、鳖、海参可食组织中噁喹酸、氟甲喹、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、培氟沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、二氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、奥比沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸残留量的检测。

12 原理

试样中残留的喹诺酮类药物，用酸化乙腈提取，正己烷除脂，亲水亲脂固相萃取净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质校准内标法定量。

13 试剂与材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

13.1 试剂

13.1.1 乙腈 (CH_3CN)：色谱纯。

13.1.2 正己烷 (C_6H_{14})：色谱纯。

13.1.3 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

13.1.4 乙酸铵 ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)。

13.1.5 磷酸 (H_3PO_4)。

13.1.6 氨水 ($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$)。

13.1.7 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

13.1.8 氢氧化钠 (NaOH)。

13.1.9 磷酸二氢钠 (NaH_2PO_4)。

13.1.10 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)：经 550 °C 灼烧 4 h，冷却 4 h 后，贮于密闭容器中备用。

13.2 溶液配制

13.2.1 酸化乙腈：99 mL 乙腈中加入 1 mL 甲酸，混合均匀。

13.2.2 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 4.00 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL。

13.2.3 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH7.0)：取磷酸二氢钠 1.56 g，加入氢氧化钠溶液 79 mL，混匀，用水稀释至 200 mL。

13.2.4 氨化甲醇：取氨水 25 mL，用甲醇稀释至 100 mL。

13.2.5 乙腈饱和正己烷：取正己烷 200 mL 于 250 mL 分液漏斗中，加入适量乙腈后，剧烈振摇，待分配平衡后，弃去下层即得。

13.2.6 0.1%甲酸水溶液（含 0.002 mol/L 乙酸铵）：取乙酸铵 1.54 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL。从中取 100 mL 乙酸铵溶液，取甲酸 1 mL，再用水稀释至 1 000 mL。

13.2.7 复溶液：取乙腈 15 mL，取 0.1%甲酸水溶液（含 0.002 mol/L 乙酸铵）85 mL，混合均匀。

13.3 标准品

13.3.1 噁唑酸、氟甲喹、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、二氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、奥比沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸含量均 $\geq 97.0\%$ ，培氟沙星含量 $\geq 92.0\%$ ，具体见附件 A。

13.3.2 诺氟沙星-D5、环丙沙星-D8、恩诺沙星-D5 含量均 $\geq 99.0\%$ ，具体见附件 A。

13.4 标准溶液制备

13.4.1 标准储备液：取噁唑酸、氟甲喹、诺氟沙星、依诺沙星、环丙沙星、培氟沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、司帕沙星、二氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、奥比沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸标准品各适量（相当于各活性成分 10 mg），精密称定，在加入 200 μL 甲酸溶液条件下用乙腈溶解稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，配制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准储备液。—18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 6 个月。

13.4.2 混合标准中间液：分别精密量取标准储备液 1 mL，于 10 mL 棕色量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准中间液。—18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。

13.4.3 混合标准工作液：精密量取标准中间液 1 mL，于 10 mL 棕色量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作液；4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 1 个月。

13.4.4 内标标准储备液：取氘代诺氟沙星、氘代环丙沙星、氘代恩诺沙星各 10 mg，精密称定，在加入 200 μL 甲酸溶液条件下用乙腈溶解稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，配制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标标准储备液。—18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 6 个月。

13.4.5 混合内标标准中间液：分别精密量取内标标准储备液 1 mL，于 10 mL 棕色量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标标准中间液。—18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。

13.4.6 混合内标标准工作液：精密量取内标标准中间液 1 mL，于 10 mL 棕色量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合内标标准工作液。4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 1 个月。

13.5 材料

13.5.1 反相混合型亲水亲脂固相萃取柱：60mg/3mL，或相当者。

13.5.2 尼龙微孔滤膜：0.22 μm 。

14 仪器和设备

14.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

14.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和 0.01g。

- 14.3 超声波清洗仪。
- 14.4 低速离心机：转速可达 4 000 r/min。
- 14.5 高速离心机：转速可达 15 000 r/min。
- 14.6 移液枪：200 μ L，1 mL，5 mL。
- 14.7 旋转蒸发仪。
- 14.8 旋涡混合器。
- 14.9 氮吹仪。
- 14.10 分液漏斗：250 mL。
- 14.11 梨形瓶：100 mL。

15 试样的制备与保存

15.1 试样的制备

按GB/T 30891 — 2014 中附录B的要求制样。

- d) 取均质的供试样品，作为供试试样；
- e) 取均质的空白样品，作为空白试样；
- f) 取均质的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

15.2 试样的保存

—18℃以下保存。

16 测定步骤

16.1 提取

称取试料（ 5 ± 0.05 ）g，于50 mL离心管，加入内标标准工作溶液25 μ L，涡旋混合30 s，避光放置10 min；加入无水硫酸钠5 g，涡旋混匀，再加入酸化乙腈20 mL，于旋涡混合器上以2 000 r/min旋涡1 min，超声8 min，以3 500 r/min离心5 min，取上清液，于100 mL离心管内。残渣再加酸化乙腈20 mL，重复提取一次，合并两次上清液于100 mL离心管，备用。

16.2 净化

16.2.1 鳗鲡、大黄鱼类等油脂含量高、虾蟹等色素含量高的水产品

100 mL离心管中加入乙腈饱和正己烷30 mL，剧烈振摇2 min，静置，取下层清液于梨形瓶中，40 ℃下旋蒸至干。加入磷酸盐缓冲液4 mL溶解残余物，振荡1 min，残余物溶解液转移至15 mL离心管。再重复提取残余物两次，溶解液转移至同一离心管。合并三次残余物溶解液，3 000 r/min离5 min，上清液备用。

固相萃取柱依次用甲醇3 mL、水3 mL、磷酸盐缓冲液3 mL活化，取备用液过柱，流干，流速控制为每秒一滴；水3 mL淋洗，抽干，依次用氨化甲醇6 mL、甲醇4 mL洗脱，收集洗脱液于15 mL离心管中，50 ℃下氮吹至干。复溶液1.0 mL溶解残余物，过0.22 μ m滤膜，供液相色谱-串联质谱测定。

16.2.2 其他类水产品

100 mL离心管中加入乙腈饱和正己烷30 mL, 剧烈震荡2 min, 静置, 取下层清液于梨形瓶中; 40 °C下旋蒸至干, 复溶液1.0 mL溶解残余物, 加乙腈饱和正己烷1 mL, 转至5 mL离心管中, 涡旋混合30 s, 13 000 r/min离心3min, 取下层清液过0.22 μm滤膜, 供液相色谱-串联质谱测定。

16.3 基质匹配标准曲线的制备

分别取适量混合标准工作液于5 mL玻璃离心管中, 加入内标标准工作溶液25 μL, 50°C下氮吹至干, 分别加入经8.1和8.2步骤处理所得的基质空白液1.0 mL, 涡旋混匀1 min, 过0.22 μm滤膜, 配制成喹诺酮类药物浓度为2.5 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL和200 ng/mL的系列基质匹配标准溶液; 现配现用。以目标物和内标物的特征离子质量色谱峰面积比值为纵坐标, 基质匹配标准溶液质量浓度为横坐标, 绘制基质匹配标准曲线。求回归方程和相关系数。

16.4 测定

16.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: 端基封尾C₁₈色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 5 μm) 或相当者;
- b) 流动相: A: 0.1%甲酸水溶液 (含0.002 mol/L乙酸铵), B: 乙腈, 梯度洗脱程序应符合表1的要求;
- c) 流速: 0.25 mL/min;
- d) 柱温: 35 °C;
- e) 进样量: 10 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间, min	0.1%甲酸水溶液 (含 0.002 mol/L 乙酸铵), %	乙腈, %
0.0	85.0	15.0
15.5	81.0	19.0
16.0	60.0	40.0
23.0	60.0	40.0
23.5	85.0	15.0
28.0	85.0	15.0

16.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾 (ESI) 离子源;
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测;
- d) 喷雾电压: 3 500 V;
- e) 离子传输毛细管温度: 350 °C;
- f) 雾化气压力: 241 KPa;
- g) 辅助气流量: 2 L/min;
- h) 定性离子对、定量离子对和碰撞能量见表2。

表 2 定性离子对、定量离子和碰撞能量

化合物名称	定性离子对及碰撞能量, eV	定量离子对及碰撞能量, eV
噁嗪酸	262/216 (29) 262/244 (18)	262/244 (18)
氟甲唑	262/202 (32) 262/244 (18)	262/244 (18)
诺氟沙星	320/233 (24) 320/276 (18)	320/276 (18)
依诺沙星	321/303 (21) 321/232 (34)	321/303 (21)
环丙沙星	332/245 (22) 332/288 (17)	332/288 (17)
培氟沙星	334/290 (18) 334/316 (21)	334/316 (21)
洛美沙星	352/265 (22) 352/308 (16)	352/308 (16)
达氟沙星	358/314 (18) 358/340 (22)	358/340 (22)
恩诺沙星	360/245 (26) 360/316 (18)	360/316 (18)
氧氟沙星	362/261 (27) 362/318 (18)	362/318 (18)
沙拉沙星	386/299 (26) 386/342 (18)	386/342 (18)
司帕沙星	393/292 (25) 393/349 (19)	393/349 (19)
二氟沙星	400/356 (19) 400/299 (28)	400/356 (19)
西诺沙星	263/217 (23) 263/245 (17)	263/217 (23)
萘啶酸	233/187 (25) 233/215 (14)	233/215 (14)
奥比沙星	396/352 (18) 396/295 (23)	396/352 (18)
马波沙星	363/72 (23) 363/345 (21)	363/72 (23)
氟罗沙星	370/326 (19) 370/269 (25)	370/326 (19)
吡哌酸	304/217 (24) 304/189 (31)	304/217 (24)
氘代诺氟沙星	325/307 (21)	325/307 (21)
氘代环丙沙星	340/322 (21)	340/322 (21)
氘代恩诺沙星	365/321 (19)	365/321 (19)

16.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样测试条件下，试料溶液中喹诺酮类药物和其内标物的保留时间与基质匹配标准工作液中喹诺酮类药物和其内标物的保留时间之比偏差在 1% 以内，且检测到的相对离子丰度，应与浓度相当的基质匹配标准工作液相对离子丰度一致。其允许偏差为±40%。

8.4.3.2 定量测定

取试料溶液和基质匹配标准工作液，作单点或多点校准，以色谱峰面积定量，按内标法计算，其中诺氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、氧氟沙星、司帕沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸以氟代诺氟沙星为内标；环丙沙星、洛美沙星、达氟沙星、沙拉沙星、二氟沙星、奥比沙星以氟代环丙沙星为内标；西诺沙星、噁喹酸、氟甲喹、恩诺沙星、萘啶酸以氟代恩诺沙星为内标。基质匹配标准工作液及试料溶液中喹诺酮类药物的响应值均应在仪器检测的线性范围之内。标准溶液特征离子质量色谱图参见附录B。

16.5 空白试验

取空白试样，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

17 结果计算和表述

试样中待测药物的残留量按标准曲线法或公式（1）计算：

$$X = \frac{A_i \times A'_{is} \times C_s \times C_{is} \times V}{A_s \times A_s \times C'_{is} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中被测组分的残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- C_s —— 基质匹配标准溶液中被测组分浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- C_{is} —— 试料溶液中内标浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- C'_{is} —— 基质匹配标准溶液中内标浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- A_i —— 试料溶液中被测组分的峰面积；
- A_{is} —— 试料溶液中被测组分对应内标的峰面积；
- A_s —— 基质匹配标准溶液中被测组分的峰面积；
- A'_{is} —— 基质匹配标准溶液中被测组分对应内标的峰面积；
- V —— 试料溶液定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m —— 试料质量，单位为克（ g ）。

18 检测方法灵敏度、准确度和精密度

18.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

18.2 准确度

在 $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 20\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度，诺氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、洛美沙星、氧氟沙星、司帕沙星、西诺沙星、萘啶酸、奥比沙星、马波沙星、氟罗沙星、吡哌酸的回收率为70%~120%；在 $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 30\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度，沙拉沙星的回收率为70%~120%；在 $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度，环丙沙星、恩诺沙星、达氟沙星、噁喹酸的回收率为70%~120%； $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 300\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度，二氟沙星的回收率为70%~120%； $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 500\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度，氟甲喹的回收率为70%~120%。

18.3 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 $\leq 15\%$ 。

征求意见稿

附录A
(资料性)
喹诺酮类药物的中英文名称、化学分子式和CAS号

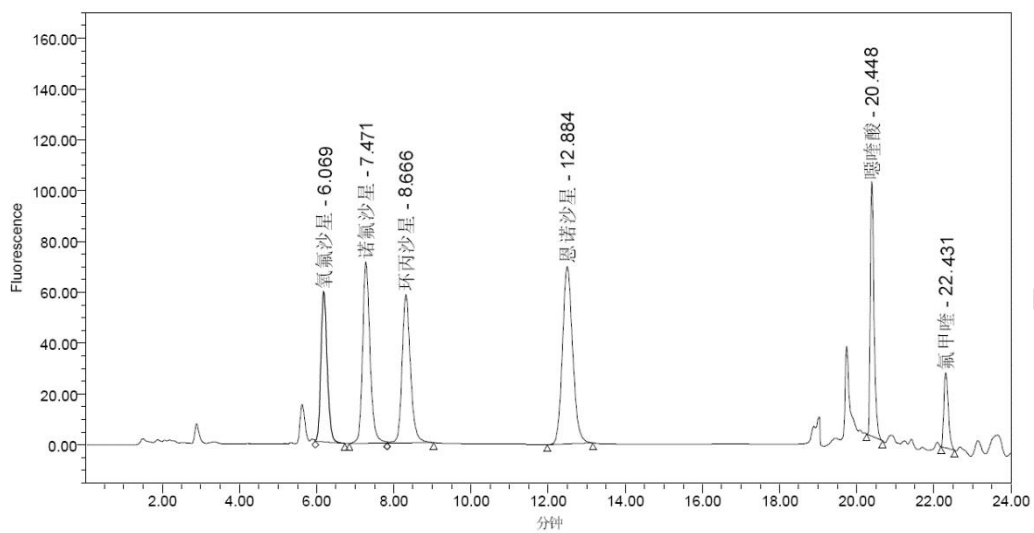
喹诺酮类药物的中英文名称、化学分子式和CAS号见表A.1。

表 A.1 喹诺酮类药物的中英文名称、分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
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
诺氟沙星	Norfloxacin	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	70458-96-7
依诺沙星	Enoxacin	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O ₃	74011-58-8
环丙沙星	Ciprofloxacin	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	85721-33-1
培氟沙星	Pefloxacin	C ₁₇ H ₂₀ FN ₃ O ₃	70458-92-3
洛美沙星	Lomefloxacin	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98079-51-7
达氟沙星	Danofloxacin	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	112398-08-0
恩诺沙星	Enrofloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	93106-60-6
氧氟沙星	Ofloxacin	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	82419-36-1
沙拉沙星	Sarafloxacin	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	98105-99-8
司帕沙星	Sparfloxacin	C ₁₉ H ₂₂ F ₂ N ₄ O ₃	110871-86-8
二氟沙星	Difloxacin	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98106-17-3
西诺沙星	Cinoxacin	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₅	28657-80-9
萘啶酸	Nalidixic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	389-08-2
奥比沙星	Orbifloxacin	C ₁₉ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₃	113617-63-3
马波沙星	Marbofloxacin	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄	115550-35-1
氟罗沙星	Fleroxacin	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	79660-72-3
吡哌酸	Pipemidic acid	C ₁₄ H ₁₇ N ₅ O ₃	51940-44-4
氘代诺氟沙星	Norfloxacin-D5	C ₁₆ H ₁₃ D ₅ FN ₃ O ₃	1015856-57-1
氘代环丙沙星	Ciprofloxacin-D8	C ₁₇ H ₁₀ D ₈ FN ₃ O ₃	1130050-35-9
氘代恩诺沙星	Enrofloxacin-D5	C ₁₉ H ₁₇ D ₅ FN ₃ O ₃	1173021-92-5

附录B
(资料性)

标准溶液高效液相色谱图见图B.1。

图 B.1 标准溶液高效液相色谱图 (0.5 $\mu\text{g/mL}$)

喹诺酮类药物标准溶液的特征离子质量色谱图见图B.2。

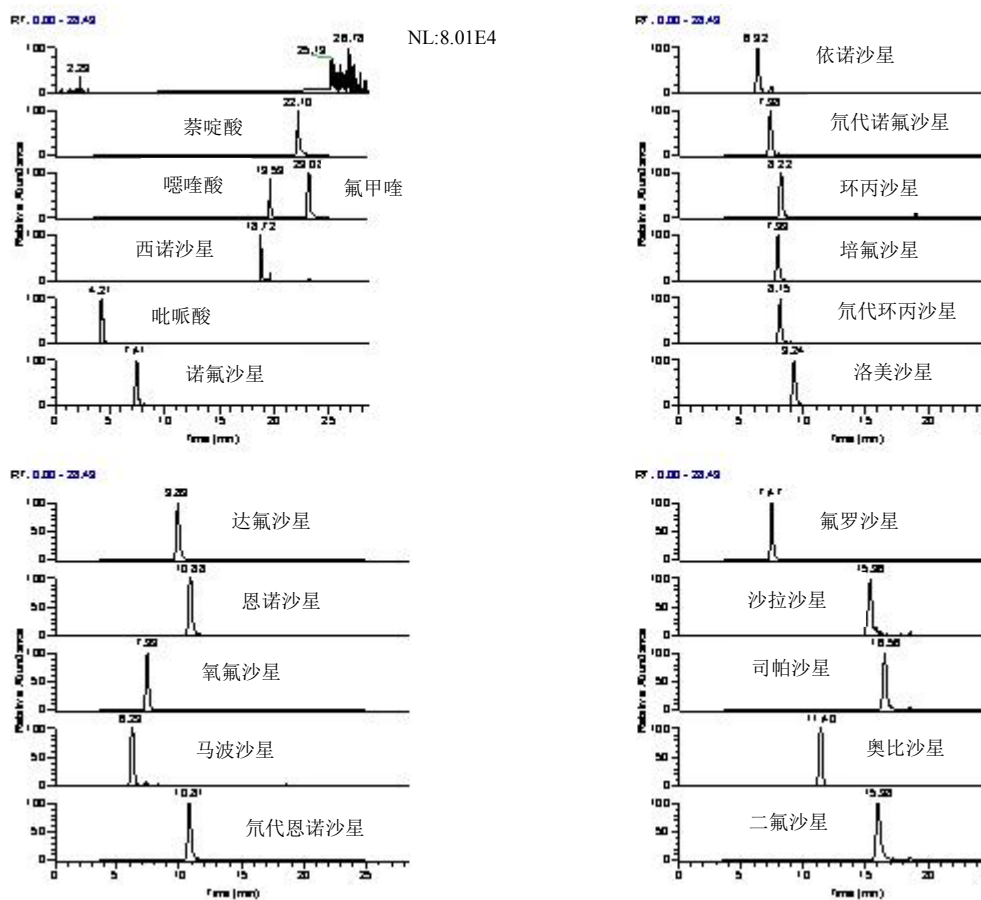


图 B.2 喹诺酮类药物标准溶液的特征离子质量色谱图 (10 ng/mL)