

水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定 GB-31656.11-2021

1、适用范围

适用于鱼、虾、蟹、鳖及海参等水产品可食组织中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定。（本实验样品采用鳊鱼）

参考标准：《GB-31656.11-2021 食品安全国家标准 水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定 方法二》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液（100 μ g/mL）：准确称取标准品各适量，于 10mL 容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度均为 100 μ g/mL 的标准储备液。-18 $^{\circ}$ C 以下保存，有效期 1 个月。
- 2) 混合标准中间液（1 μ g/mL）：准确移取 100 μ g/mL 的标准储备液各 0.1mL，用甲醇稀释至 10mL，得到 1 μ g/mL 的混合标准中间液。-18 $^{\circ}$ C 以下保存，有效期 7d。
- 3) Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液（0.1mol/L）：称取柠檬酸 12.9g，磷酸氢二钠 10.9g、乙二胺四乙酸二钠 37.2g，各自加水适量使溶解，混合，用水稀释至 1000mL，用 0.1mol/LHCl 或 0.1mol/L 的 NaOH 调 pH 至（4.0 \pm 0.05）
- 4) 醋酸铅溶液（20.0g/L）：取醋酸铅 20.0g，加水溶解并稀释至 1000mL。
- 5) 甲酸溶液（0.1%）：取甲酸 0.1mL，加水溶解并稀释至 100mL。
- 6) 甲醇溶液：取甲醇 5mL、水 95mL，混匀。
- 7) 甲醇-乙酸乙酯：取甲醇 10mL、乙酸乙酯 90mL，混匀。
- 8) 甲酸溶液（0.1%）-乙腈：取 0.1%甲酸溶液 90mL、乙腈 10mL，混匀。

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园.紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com



3、提取步骤

取试样 2g（准确至 $\pm 0.02\text{g}$ ），加 $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲液 6.0mL、醋酸铅溶液 2.0mL，涡旋 1min，超声 10min 后，在 4°C 下以 8000r/min 离心 5min，移取上清液，残渣分别用 $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲液 6.0mL，重复提取两次，合并 3 次提取液。

4、SPE 净化步骤

向上述提取液中加入正己烷 10mL，涡旋 1min 后，8000r/min 的速率离心 5min，去除上层液，下层溶液待进一步净化（对于鳗鲡、蟹和海参样品，需按照上述方法净化两次）。

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP，规格：60mg/3mL。

活化：5mL 甲醇、5mL 水，弃去；

上样：取 10.0mL 提取液上样，控制流速约 1mL/min，弃去；

淋洗：5mL 水，5mL 甲醇溶液，抽干；

洗脱：5mL 甲醇-乙酸乙酯洗脱，压干并收集于离心管中；

复溶：将收集液体于 40°C 水浴氮气吹至近干，用甲酸溶液（0.1%）-乙腈 1.0mL 溶解残余物，涡旋混匀，过 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜，为防止药物变性，需及时供液相色谱-质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平：2.0g 样中加入 0.1mL $1\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作液，因此加标水平为 $50\mu\text{g/kg}$ ，最终机度数为 $50\mu\text{g/L}$ 。



6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱：Ultimate UHPLC XB-C18, 5 μ m, 2.1 \times 150mm

流动相：A: 0.1%甲酸水溶液；B: 乙腈

柱温：35 $^{\circ}$ C；流速：0.2mL/min；进样体积：2 μ L

梯度洗脱程序：见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	90	10
0.50	90	10
3.00	10	90
6.00	10	90
7.00	90	10
8.00	90	10

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测（MRM）模式；

离子喷雾电压：5500 V；离子源温度：500 $^{\circ}$ C；

气帘气（CUR）10 psi；雾化气（GS1）55 psi；辅助气（GS2）50 psi。

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail: lingyuyu@welchmat.com



其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能 CE/V
四环素	445.0	410.0*	20
		427.0	13
金霉素	479.0	444.0*	21
		154.0	24
土霉素	461.0	426.0*	19
		443.0	12
多西环素	445.0	154.0*	31
		428.0	18

7、色谱图或者加标回收率结果

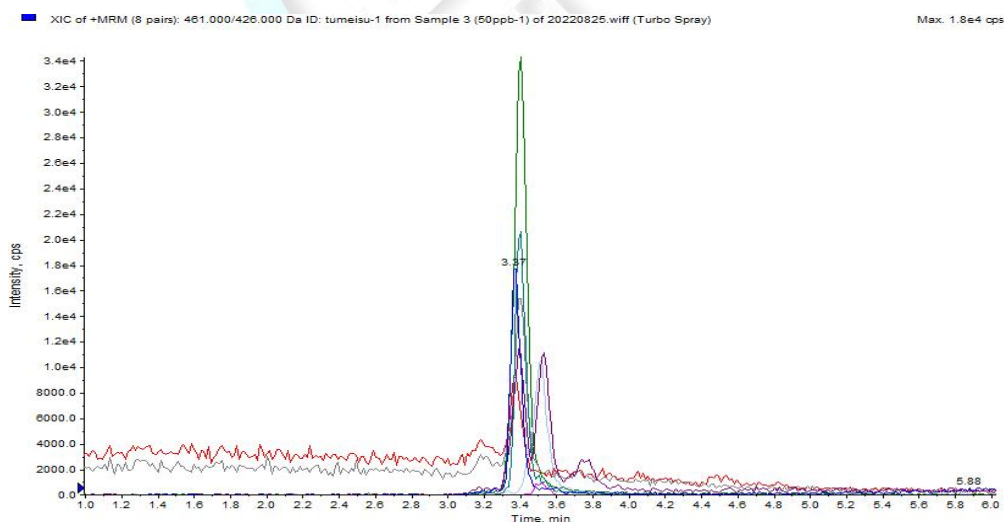


图 1. 混合对照溶液 50μg/L 图谱



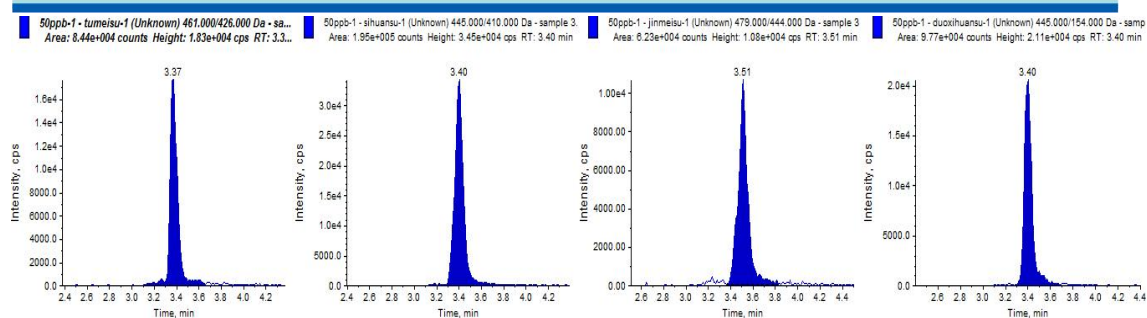


图 2. 混合对照溶液 50µg/L 各目标物图谱

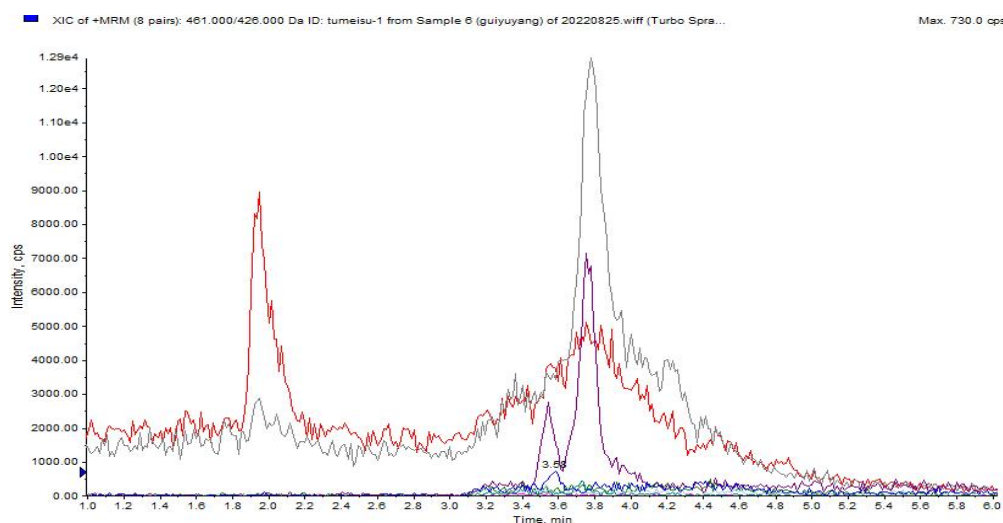


图 3. 鳊鱼样品空白图谱

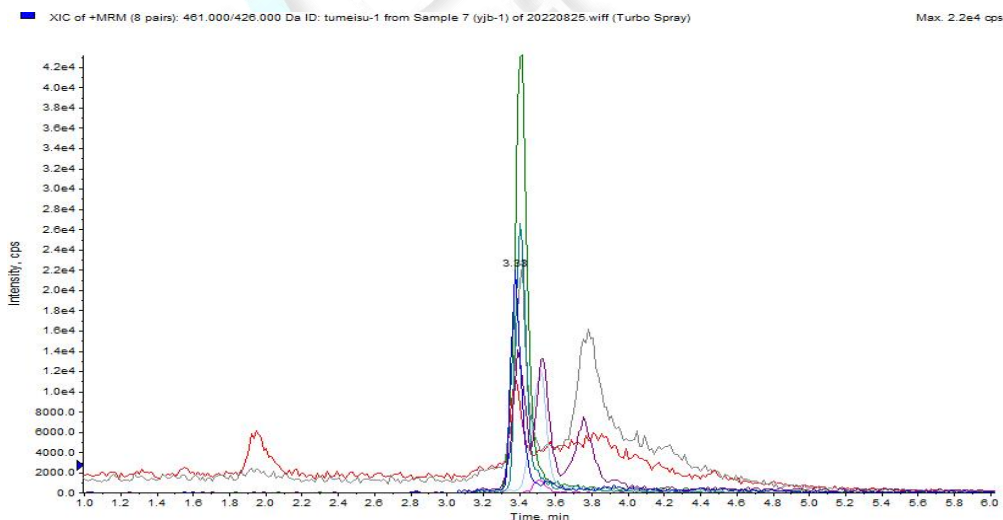


图 4. 鳊鱼样品加标 50µg/kg 图谱

表 3. 加标回收率表（加标水平为 50µg/kg）



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

峰号	物质	平均回收率	RSD 值
1	四环素	104%	1.28%
2	金霉素	114%	2.72%
3	土霉素	106%	3.94%
4	多西环素	124%	0.63%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20009	SPE 小柱	Welchrom® BRP,60mg/3mL,50pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底,RCF12000xg, 袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底,RCF12000xg, 袋装,未灭菌, 15mL, 50/包
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31014	分析柱	Ultimate XB-C18, 5μm, 2.1×150mm
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22μm,100pk

