

《水产品中多类药物残留量的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法》

编制说明

深圳市农产品质量安全检验检测中心

二〇二〇年十二月

目录

1.工作简况	1
1.1 任务来源、起草单位、起草人	1
1.2 简要起草过程	1
2.制订本标准的意义和目的	1
3.国内有关法律、法规和标准情况的说明	2
4.标准的制（修）订原则	2
5.各项技术内容的依据	3
5.1 样品前处理方法优化	3
5.2 仪器条件优化	3
5.3 标准曲线	5
5.4 方法回收率和精密度	7
5.5 方法检出限确定	12
5.6 鱼虾贝三种基质方法验证	13
5.7 与阳性样品国标/农业部方法检测结果比对	14
5.8 实验室间比对	17
6.重大意见分歧的处理情况	17
7.标准实施建议	17
8.其他需要说明的事项	17

1. 工作简况

1.1 任务来源、起草单位、起草人

为更好发挥市场在标准化资源配置中的决定性作用，增加标准有效供给，根据国务院《深化标准化工作改革方案》、国家质检总局和国家标准委《关于培育和发展团体标准的指导意见》等文件精神，深圳市分析测试协会发布征集分析测试行业团体标准的通知—《深圳市分析测试协会关于征集分析测试行业团体标准的通知》深分析测试（2018）33号。我中心积极响应协会号召，从提升行业技术创新水平为出发点拟建立《水产品中多类药物残留量的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法》

项目负责单位：深圳市农产品质量安全检验检测中心

该项目由负责，主要参加人员有：

1.2 简要起草过程

本标准起草人在充分收集、认真研究了国内外相关标准及资料的基础上，分析对比了国内外标准技术内容方面的差异及原因，在遵循先进性、科学性、实用性的原则下，拟建立水产品中多类药物（三苯甲烷类、酰胺醇类、硝基咪唑类、磺胺类、氟喹诺酮类）残留量的测定团体标准。

本标准规定了检验（测试）方法的步骤、所用到的仪器设备与相关物料、重复性与再现性限等全部技术特征。经实验室论证和分析，该方法技术要素参数的重复性限、再现性限、回收率等技术指标均符合标准编制的要求。

2. 制订本标准的意义和目的

在水产养殖过程中为控制和预防鱼病的发生，会不可避免的使用多种药物，尽管农业部多次发布公告明令禁止使用各类药物，但是在养殖、运输、加工和销售各个环节中均存在不同程度的违法使用禁用药和限用药残留超标的现象。而人类长期食用会严重危害身体的健康，主要表现在：毒性作用、变态反应、耐药性和“三致”作用等。因此，需要不断地提高水产品中各类药物残留检测的技术水平，为社会和政府加强水产品中药物残留的管理和控制提供技术支撑。

氯霉素、硝基咪唑类、磺胺类、氟喹诺酮类等抗生素被广泛用于水产养殖过程中，孔雀石绿等三苯甲烷类因价格低廉常被非法用于水产寄生虫病的防治，或作为消毒剂用于延长鲜活水产品寿命。目前，已有国标、行标和农业部公告等规定了这五类药物残留的检测方法（GB/T 19857-2005、GB/T 20756-2006、GB/T 21318-2007、GB/T 22951-2008、GB/T 20751-2006），或同时测定两类或三类药物的方法（农业部 1077 号公告-1-2008、SN/T 2624-2010、SN/T 3235-2012、SZTT/SATA 03-2017）。在水产养殖过程中同时使用多类药物的现象较为普遍，但同时检测上述五类药物在水产品中的残留方法未见报道，且现有的检测方法多前处理操作繁琐、耗时较长、试剂及材料消耗多、效率较低。因此，建立快速高效的适用于水产品中多类药物同时检测的标准是很有必要的。

本方法拟建立水产品中五类药物（三苯甲烷类、酰胺醇类、硝基咪唑类、磺胺类、氟喹诺酮类）残留同时检测，经 QuEChERS 方法净化除杂后，高效液相色谱串联三重四级杆质谱定量检测。QuEChERS 方法相比于传统的固相萃取法，操作简便快速，净化效率高，不受固相萃取装置限制，可实现大量样品同时进行前处理，且 QuEChERS 吸附剂价格便宜，尤其对于样品量大、检测项目多的任务，本方法可节约大量人力物力成本。

新标准的制定，可满足水产品中多类药物同时检测，一次前处理方法检测五大类药物残留量，实现快速、高效、准确的定性定量，尤其适合大批量样品同时检测，可为政府的监督执法提供更加快速准确的数据支持，提高水产品风险监测水平，保障消费者的食品安全。

3. 国内有关法律、法规和标准情况的说明

目前，国标、行标、农业部公告等规定的五类药物（三苯甲烷类、酰胺醇类、硝基咪唑类、磺胺类、氟喹诺酮类）的检测标准主要有：

GB/T 19857-2005 《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》

GB/T 20756-2006 《可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

GB/T 22959-2008 《河豚鱼、鳗鱼和烤鳗中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

GB/T 21318-2007 《动物源性食品中硝基咪唑残留量检验方法》

GB/T 22951-2008 《河豚鱼、鳗鱼中十八种磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

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》

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 2624-2010 《动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》

SN/T 3235-2012 《出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法 液相色谱-质谱质谱法》

SZTT / SATA 03-2017 《动物源性食品中多种药物（8种 β -类受体激动剂、18种磺胺类药物、14种喹诺酮类药物）残留量的测定 液相色谱—串联质谱法》

这些标准目前无法满足同时检测五大类物质的需求，且方法多前处理操作繁琐、耗时较长、试剂及材料消耗多、效率较低。

4. 标准的制（修）订原则

本标准是按照《深圳市分析测试协会团体标准管理办法》的要求进行编制的，遵循先进性、科学性、实用性的原则对新标准进行编制。本标准注重科学性和可操作性的结合，利于推广应用。

（1）本标准分析过程及主要参数参考国内外相关标准分析方法，确保方法之间衔接和一致性。本着内容准确，数据真实，言简意赅，方案可操作性强的原则制定本标准。

(2) 本标准满足相关标准的工作要求, 确保方法的准确可靠, 满足方法各项特性指标的要求。

5. 各项技术内容的依据

5.1 样品前处理方法优化

本方法采用 QuEChERS 前处理方法, QuEChERS 净化粉中含有 50mg C18, 100mg PSA 和 500mg 硫酸镁, C18 可去除基质中油脂类物质, PSA 可去除色素和脂肪酸等杂质干扰。

为提高五类药物的提取回收率, 本方法选取四种提取试剂进行优化, 分别为乙酸乙酯、乙腈、1%甲酸乙腈和 5%甲酸乙腈, 经过样品前处理后, 选取每一类物质共 16 种药物结果作图, 四种不同提取液的提取效率如图 1 所示, 结果显示综合几类药物回收率 1%甲酸乙腈提取效果最佳, 乙酸乙酯对孔雀石绿、磺胺类和氟喹诺酮类提取效率都较低, 尤其对氟喹诺酮类效果更低, 乙腈对氟喹诺酮类提取效率较低, 1%甲酸乙腈的提取效果略优于 5%甲酸乙腈, 综上所述, 本方法选择 1%甲酸乙腈作为提取试剂。

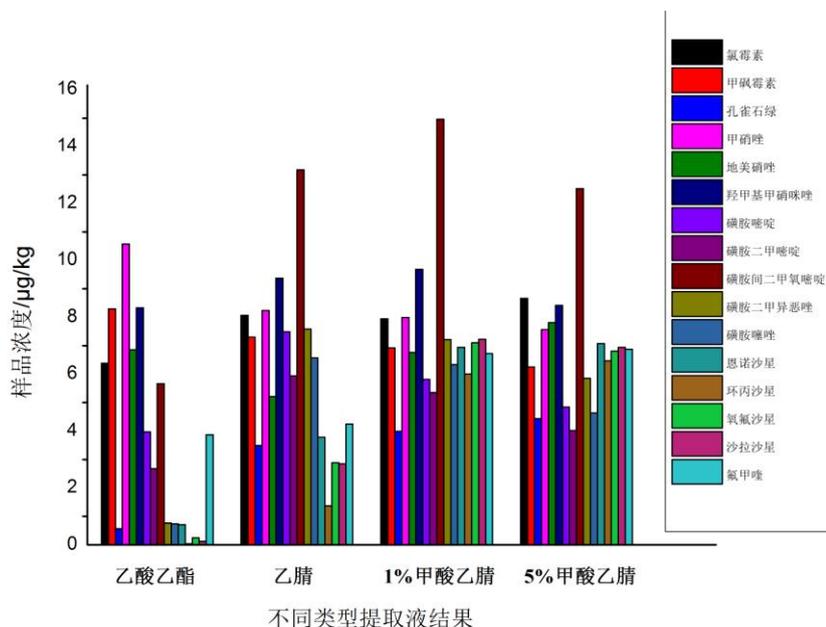


图 1 四种不同类型提取液提取效果

5.2 仪器条件优化

本方法液相色谱条件分两个, 其中三苯甲烷类、硝基咪唑类、磺胺类和氟喹诺酮类项目为一个色谱条件, 正离子模式扫描, 流动相为 0.1%甲酸水和甲醇; 酰胺醇类项目为一个色谱条件, 正负离子模式切换扫描, 流动相为 5mmol/L 乙酸铵溶液和甲醇, 建立此方法考虑的原因在于氟苯尼考胺为正离子模式, 且其为氟苯尼考的残留标记物, 在检测中将氟苯尼考胺与负离子模式的氟苯尼考一同检测更符合实际需求。两个方法的具体流动相梯度如表 1 所示。

为提高各目标物质谱响应强度, 取 100 µg/L 各个药物单标溶液以针泵注射方式优化各分析物的母离子, 定量/定性离子对, 去簇电压 (DP) 和碰撞能量 (CE), 本方法优化参数所使用仪器为 AB 5500 三重四级杆质谱仪, 优化参数结果如表 2 所示:

表1 液相色谱洗脱程序

三苯甲烷类/硝基咪唑类/磺胺类/氟喹诺酮类			酰胺醇类		
时间 (min)	A1 (%)	B (%)	时间	A2 (%)	B (%)
0	90	10	0	90	10
0.5	90	10	2.7	10	90
1.5	80	20	3.0	10	90
4.5	50	50	3.1	90	10
6.5	5	95	5.0	90	10
8.5	5	95			
8.6	90	10			
10	90	10			

表2 多类药物保留时间、定量定性离子对及去簇电压、碰撞能量

药物类别	药物名称	保留时间(min)	定量离子对 (m/z)	定性离子对 (m/z)	去簇电压(V)	碰撞电压(eV)
三苯甲烷类	孔雀石绿	7.91	329.3>313.2	329.3>208.0	80	40/61
	隐色孔雀石绿	8.66	331.4>239.1	331.4>315.4	96	33/42
	D5-孔雀石绿	7.91	334.4>318.2	/	106	50
	D6-隐色孔雀石绿	8.66	337.3>322.0	/	78	38
硝基咪唑类	甲硝唑	3.89	172.1>128.2	172.1>82.1	106	19/31
	地美硝唑	4.30	142.1>96.1	142.1>81.1	130	20/33
	洛硝哒唑	4.03	201.2>140.2	201.2>55.1	104	15/26
	异丙硝唑	6.69	170.1>124.1	170.1>109.2	155	24/31
	羟甲基甲硝唑	3.72	158.0>140.1	158.0>55.1	120	16/25
	羟基甲硝唑	3.20	188.1>123.0	188.1>126.0	104	17/23
	苯硝咪唑	5.38	164.2>118.1	164.2>91.1	130	27/47
	氯甲硝咪唑	4.90	161.9>115.8	161.9>144.8	76	25/22
磺胺类	磺胺嘧啶	3.93	251.1>156.1	251.1>108.0	120	21/31
	磺胺二甲嘧啶	3.96	279.1>156.1	279.1>186.1	150	25/32
	磺胺甲基嘧啶	4.69	265.1>156.1	265.1>172.1	130	23/21
	磺胺甲噁唑	5.78	254.1>156.0	254.1>108.1	130	21/33
	磺胺间二甲氧嘧啶	6.79	310.5>155.9	310.5>108.1	130	26/38
	磺胺喹噁啉	6.96	301.2>156.1	301.2>108.1	150	22/32
	磺胺二甲异噁唑	6.00	268.1>156.0	268.1>108.1	120	18/31

表 2 (续)

药物类别	药物名称	保留时间(min)	定量离子对(m/z)	定性离子对(m/z)	去簇电 压(V)	碰撞电 压(eV)
	磺胺噻唑	4.21	256.1>156.0	256.1>108.1	120	20/30
	磺胺二甲异嘧啶	5.29	278.6>156.0	278.6>186.2	110	27/23
	磺胺吡啶	4.46	250.1>156.1	250.1>184.1	140	21/23
	磺胺间甲氧嘧啶	5.88	281.1>156.0	281.1>215.2	150	24/24
	磺胺甲氧哒嗪	5.41	280.7>156.0	280.7>215.2	110	22/23
	磺胺甲噻二唑	5.17	271.0>156.0	271.0>108.0	80	19/31
	磺胺对甲氧嘧啶	5.09	281.1>156.0	281.1>215.1	150	22/23
	磺胺邻二甲氧嘧啶	6.01	311.1>156.1	311.1>108.1	150	23/33
	磺胺氯哒嗪	5.69	285.0>156.1	285.0>108.1	80	21/32
	磺胺苯吡唑	6.51	315.1>158.1	315.1>160.1	80	39/28
	磺胺苯酰	6.33	277.0>156.0	277.0>108.0	78	17/33
	磺胺氯吡嗪	6.69	285.0>155.9	285.0>108.0	110	21/32
	D3-磺胺邻二甲氧嘧啶	6.01	314.1>156.0	/	160	23
	D6-磺胺间二甲氧嘧啶	6.79	317.2>156.0	/	180	27
	氟喹诺酮类	氧氟沙星	5.15	362.2>318.2	362.2>261.2	150
培氟沙星		5.15	334.2>316.2	334.2>290.2	100	27/18
诺氟沙星		5.31	320.2>302.2	320.2>233.1	190	25/31
依诺沙星		5.18	321.2>303.1	321.2>232.1	36	22/47
氟罗沙星		4.98	370.2>326.1	370.2>269.2	200	25/35
环丙沙星		5.42	332.2>314.2	332.2>245.2	155	30/33
洛美沙星		5.63	352.2>308.2	352.2>265.2	20	19/24
丹诺沙星		5.46	358.3>340.3	358.3>283.2	150	29/30
奥比沙星		5.67	396.2>352.2	396.2>295.2	80	19/27
双氟沙星		5.72	400.2>356.2	400.2>299.1	100	19/32
恩诺沙星		5.45	360.2>316.2	360.2>245.2	160	25/36
沙拉沙星		5.85	386.3>338.2	386.3>342.2	70	34/26
司帕沙星		6.26	392.7>349.2	392.7>292.2	200	27/34
麻保沙星		4.87	363.2>320.2	363.2>345.2	150	20/27
氟甲喹		7.68	262.1>244.2	262.1>202.1	130	23/43
恶喹酸		6.95	262.1>244.1	262.1>216.1	126	24/39
萘啶酸		7.56	233.2>215.1	233.2>187.1	110	19/32

表 2 (续)

药物类别	药物名称	保留时间(min)	定量离子对(m/z)	定性离子对(m/z)	去簇电压(V)	碰撞电压(eV)
氟喹诺酮类	D5-恩诺沙星	5.45	365.2>321.2	/	166	27
	D8-环丙沙星	5.42	340.3>322.3	/	166	31
	D5-诺氟沙星	5.31	325.2>307.2	/	136	30
酰胺醇类	氯霉素	3.73	321.0>152.0	321.0>257.1	-110	-23/-16
	甲砒霉素	3.18	354.0>185.1	354.0>290.0	-120	-28/-18
	氟苯尼考	3.42	356.0>336.0	356.0>185.0	-120	-13/-28
	氟苯尼考胺	2.11	247.7>230.2	247.7>130.1	80	24/31
	D5-氯霉素	3.73	326.2>157.2	/	-142	-23

5.3 标准曲线

按方法条件设置仪器参数，将空白样品按照方法进行前处理。

配制一系列浓度的三苯甲烷类标准样品溶液(0.500 μ g/L, 1.00 μ g/L, 2.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，孔雀石绿、隐色孔雀石绿相关系数分别为 $r=0.998$, $r=0.998$;

配制一系列浓度的氯霉素标准样品溶液(0.100 μ g/L, 0.500 μ g/L, 1.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，氯霉素的相关系数 $r=0.9998$;

配制一系列浓度酰胺醇类(除氯霉素)标准样品溶液(1.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L, 50.0 μ g/L, 100 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺相关系数分别为 $r=0.9996$, $r=0.99990$, $r=0.998$;

配制一系列浓度的硝基咪唑类标准样品溶液(0.500 μ g/L, 1.00 μ g/L, 2.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，甲硝唑、地美硝唑、洛硝哒唑、异丙硝唑、羟甲基甲硝咪唑、羟基甲硝唑、苯硝咪唑、氯甲硝咪唑相关系数分别为 $r=0.9995$, $r=0.998$, $r=0.9997$, $r=0.9990$, $r=0.9992$, $r=0.997$, $r=0.9997$, $r=0.99991$;

配制一系列浓度的磺胺类标准样品溶液(1.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L, 50.0 μ g/L, 100 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉、磺胺二甲异噁唑、磺胺噻唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺吡啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噻二唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺苯吡唑、磺胺苯酰、磺胺氯吡嗪相关系数分别为 $r=0.99994$, $r=0.9994$, $r=0.99990$, $r=0.9995$, $r=0.9998$, $r=0.9998$, $r=0.9996$, $r=0.9998$, $r=0.9994$, $r=0.99997$, $r=0.9997$, $r=0.998$, $r=0.9998$, $r=0.9994$, $r=0.99991$, $r=0.9991$, $r=0.9991$, $r=0.9993$, $r=0.998$;

配制一系列浓度的氟喹诺酮类标准样品溶液(1.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L, 50.0 μ g/L, 100 μ g/L)，待仪器稳定后，进行上机测定，绘制标准曲线，氧氟沙星、培氟沙星、诺氟沙星、依

诺沙星、氟罗沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、奥比沙星、双氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星、司帕沙星、麻保沙星、氟甲喹、恶喹酸、萘啶酸相关系数分别为 $r=0.998$, $r=0.9991$, $r=0.9997$, $r=0.9998$, $r=0.9990$, $r=0.99994$, $r=0.997$, $r=0.9992$, $r=0.998$, $r=0.998$, $r=0.9992$, $r=0.9995$, $r=0.9992$, $r=0.998$, $r=0.9996$, $r=0.9998$, $r=0.99990$ 。

5.4 方法回收率和精密度

以空白鱼肉样为基质, 进行加标回收试验, 三苯甲烷类药物的加标浓度分别为 $0.500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1.50\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $5.00\mu\text{g}/\text{kg}$; 酰胺醇类药物的加标浓度分别为 $0.100\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.300\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ (氯霉素), $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ (甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺); 硝基咪唑类药物的加标浓度分别为 $0.500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1.50\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $5.00\mu\text{g}/\text{kg}$; 磺胺类药物的加标浓度分别为 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{kg}$; 氟喹诺酮类药物的加标浓度分别为 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 。将上述加标样品和空白样品按方法进行前处理, 上机测试。分别计算不同浓度样品的平均值、相对标准偏差、平均回收率, 实验结果记录表见表 3-表 19。

结果表明:

加标浓度为 $0.500\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 三苯甲烷类的平均回收率在 102%-109%之间, 相对标准偏差在 6.38%-9.20%之间; 加标浓度为 $1.50\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 101%-111%之间, 相对标准偏差在 8.64%-13.8%之间; 加标浓度为 $5.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 104%-106%之间, 相对标准偏差在 8.22%-12.1%之间。

加标浓度为 $0.100\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 氯霉素的平均回收率为 100%, 相对标准偏差为 10.2%; 加标浓度为 $0.300\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率为 98.0%, 相对标准偏差为 5.13%。加标浓度为 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 4 种酰胺醇类的平均回收率在 92.1%-107%之间, 相对标准偏差在 3.31%-4.57%之间; 加标浓度为 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 3 种酰胺醇类的平均回收率在 89.3%-112%之间, 相对标准偏差在 5.70%-10.2%之间; 加标浓度为 $50.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 96.2%-106%之间, 相对标准偏差在 4.05%-4.27%之间;

加标浓度为 $0.500\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 8 种硝基咪唑类的平均回收率在 92.4%-112%之间, 相对标准偏差在 3.92%-12.2%之间; 加标浓度为 $1.50\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 92.7%-108%之间, 相对标准偏差在 3.16%-9.91%之间; 加标浓度为 $5.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 86.4%-101%之间, 相对标准偏差在 3.38%-8.08%之间;

加标浓度为 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 19 种磺胺类的平均回收率在 83.8%-110%之间, 相对标准偏差在 1.06%-14.1%之间; 加标浓度为 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 83.3%-109%之间, 相对标准偏差在 5.50%-13.8%之间; 加标浓度为 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 78.0%-105%之间, 相对标准偏差在 3.30%-8.39%之间;

加标浓度为 $1.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 17 种喹诺酮类的平均回收率在 78.6%-113%之间, 相对标准偏差在 3.90%-12.0%之间; 加标浓度为 $3.00\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 79.6%-106%之间, 相对标准偏差在 5.57%-12.2%之间; 加标浓度为 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平均回收率在 90.7%-113%之间, 相对标准偏差在 1.48%-6.42%之间;

表 3：三苯甲烷类浓度 0.50μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	孔雀石绿	0.504	0.466	0.456	0.506	0.574	0.555	0.510	102	9.20
2	隐色孔雀石绿	0.533	0.542	0.534	0.492	0.588	0.576	0.544	109	6.42

表 4：三苯甲烷类浓度 1.50μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	孔雀石绿	1.68	1.67	1.51	1.52	1.50	1.23	1.52	101	10.7
2	隐色孔雀石绿	1.75	1.63	1.74	1.78	1.66	1.39	1.66	111	8.64

表 5：三苯甲烷类浓度 5.00μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	孔雀石绿	4.75	4.63	5.43	5.61	5.64	5.22	5.22	104	8.22
2	隐色孔雀石绿	4.47	5.04	5.38	5.77	5.75	5.37	5.30	106.	9.21

表 6：氯霉素浓度 0.10μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氯霉素	0.0809	0.101	0.0977	0.103	0.108	0.109	0.100	100	10.2

表 7：氯霉素浓度 0.30μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氯霉素	0.293	0.285	0.318	0.277	0.306	0.287	0.294	98.0	5.13

表 8：酰胺醇类浓度 1.00μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氯霉素	0.975	1.06	1.02	1.00	0.948	1.02	1.00	100	3.89
2	甲砒霉素	1.07	1.09	1.07	1.09	1.09	0.987	1.07	107	3.75
3	氟苯尼考	1.00	0.952	1.00	0.973	0.922	0.891	0.956	96.0	4.57
4	氟苯尼考胺	0.960	0.915	0.880	0.915	0.904	0.954	0.921	92.1	3.31

表 9：酰胺醇类浓度 3.00μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	甲砒霉素	3.42	3.52	3.47	3.51	3.16	3.05	3.36	112	5.96
2	氟苯尼考	3.27	3.16	3.05	3.13	2.55	2.62	2.96	98.7	10.2
3	氟苯尼考胺	2.49	2.80	2.50	2.81	2.81	2.68	2.68	89.3	5.70

表 10：酰胺醇类浓度 50μg/kg 加标样品精密度和回收率实验记录表（单位：μg/kg）

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	甲砒霉素	52.7	52.4	56.0	54.7	49.5	52.0	52.9	106	4.27
2	氟苯尼考	52.0	50.3	52.9	51.6	47.0	50.8	50.8	102	4.05
3	氟苯尼考胺	49.2	49.4	49.7	49.0	44.8	46.3	48.1	96.2	4.20

表 11: 硝基咪唑类浓度 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	甲硝唑	0.483	0.558	0.586	0.572	0.544	0.576	0.553	111	6.76
2	地美硝唑	0.464	0.529	0.582	0.538	0.485	0.467	0.511	102	9.15
3	洛消哒唑	0.497	0.523	0.579	0.506	0.539	0.490	0.522	104	6.32
4	异丙硝唑	0.553	0.578	0.587	0.556	0.485	0.589	0.558	112	6.97
5	羟甲基甲硝咪唑	0.477	0.453	0.499	0.440	0.468	0.435	0.462	92.4	5.23
6	羟基甲硝唑	0.510	0.421	0.529	0.406	0.532	0.539	0.490	98.0	12.2
7	苯硝咪唑	0.541	0.528	0.563	0.559	0.512	0.564	0.544	109	3.92
8	氯甲硝咪唑	0.498	0.515	0.582	0.590	0.483	0.493	0.527	105	8.93

表 12: 硝基咪唑类浓度 1.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	甲硝唑	1.31	1.50	1.49	1.56	1.60	1.72	1.53	102	8.90
2	地美硝唑	1.61	1.44	1.43	1.39	1.37	1.38	1.44	96.0	6.22
3	洛消哒唑	1.54	1.59	1.65	1.60	1.68	1.65	1.62	108	3.16
4	异丙硝唑	1.52	1.44	1.34	1.36	1.36	1.31	1.39	92.7	5.59
5	羟甲基甲硝咪唑	1.20	1.48	1.59	1.44	1.60	1.46	1.46	97.3	9.91
6	羟基甲硝唑	1.50	1.57	1.50	1.63	1.59	1.78	1.60	107	6.52
7	苯硝咪唑	1.36	1.59	1.50	1.47	1.53	1.57	1.50	100	5.51
8	氯甲硝咪唑	1.53	1.51	1.66	1.51	1.60	1.67	1.60	107	4.11

表 13: 硝基咪唑类浓度 5.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	甲硝唑	4.36	4.26	3.92	4.46	4.60	4.98	4.43	88.6	7.99
2	地美硝唑	4.71	4.98	5.13	5.02	5.26	4.75	4.65	93.0	4.29
3	洛消哒唑	4.33	4.33	4.55	4.67	4.86	5.19	4.66	93.2	7.13
4	异丙硝唑	5.00	5.01	5.25	5.20	4.87	4.83	5.03	101	3.38
5	羟甲基甲硝咪唑	4.53	5.00	4.19	3.94	4.60	4.67	4.32	86.4	7.38
6	羟基甲硝唑	4.12	4.52	4.90	4.64	4.86	5.19	4.70	94.0	7.83
7	苯硝咪唑	4.04	4.69	4.62	4.46	4.71	5.00	4.59	91.8	6.98
8	氯甲硝咪唑	4.11	4.28	4.66	4.39	4.98	4.99	4.57	91.4	8.08

表 14: 磺胺类浓度 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	磺胺嘧啶	1.03	0.878	1.00	1.03	1.11	0.979	1.00	100	7.60
2	磺胺二甲嘧啶	1.01	0.913	1.13	1.17	1.15	0.943	1.05	105	10.6
3	磺胺甲基嘧啶	0.935	0.949	1.04	0.898	0.814	0.963	0.933	93.3	8.02
4	磺胺甲噁唑	1.10	0.938	1.07	0.931	0.821	0.905	0.961	96.1	11.0
5	磺胺间二甲氧嘧啶	1.11	1.09	1.10	1.08	1.10	1.11	1.10	110	1.06
6	磺胺喹噁啉	1.02	0.984	1.14	1.14	1.13	0.946	1.06	106	8.23
7	磺胺二甲异噁唑	0.934	0.851	0.879	0.915	1.04	0.954	0.929	92.9	7.10
8	磺胺噻唑	0.982	0.927	1.05	0.907	0.993	0.876	0.956	95.6	6.70
9	磺胺二甲异噁啶	1.10	1.07	0.948	1.14	1.02	0.984	1.04	104	6.96
10	磺胺吡啶	0.939	1.00	0.969	0.966	0.998	1.11	0.997	99.7	6.00
11	磺胺间甲氧嘧啶	0.871	0.932	0.788	0.889	0.810	0.832	0.854	85.4	6.28
12	磺胺甲氧哒嗪	1.10	1.07	0.971	1.15	1.02	0.943	1.04	104	7.57
13	磺胺甲噻二唑	0.984	0.842	1.10	1.16	0.998	1.04	1.02	102	10.7
14	磺胺对甲氧嘧啶	1.03	0.920	1.04	1.05	0.887	1.02	0.991	99.1	7.00

表 14 (续)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
15	磺胺邻二甲氧嘧啶	0.939	0.963	1.05	1.03	0.956	0.829	0.961	96.1	8.14
16	磺胺氯哒嗪	0.999	1.00	0.913	0.996	0.807	1.00	0.952	95.2	8.31
17	磺胺苯吡唑	1.05	0.906	0.872	1.10	1.01	0.960	0.983	98.3	8.83
18	磺胺苯酰	0.804	0.745	0.923	0.933	0.879	0.743	0.838	83.8	10.2
19	磺胺氯吡嗪	0.904	0.765	0.969	1.08	0.748	0.949	0.902	90.2	14.1

表 15: 磺胺类浓度 3.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	磺胺嘧啶	3.41	2.69	2.72	2.91	2.97	2.86	2.93	97.7	8.90
2	磺胺二甲嘧啶	3.27	3.04	2.71	2.61	2.80	3.21	2.94	98.0	9.29
3	磺胺甲基嘧啶	2.85	2.58	2.65	2.39	3.28	2.99	2.79	93.0	11.4
4	磺胺甲噁唑	2.90	3.09	3.37	3.36	3.49	3.46	3.28	109	7.11
5	磺胺间二甲氧嘧啶	3.11	3.21	2.77	2.84	3.33	3.55	3.14	105	9.43
6	磺胺喹噁啉	3.34	3.24	2.90	2.84	3.41	3.32	3.18	106	7.66
7	磺胺二甲异噁唑	2.91	2.76	3.10	3.31	3.30	3.42	3.13	104	8.22
8	磺胺噻唑	3.19	2.68	2.61	2.58	3.27	3.04	2.90	96.7	10.6
9	磺胺二甲异嘧啶	2.85	3.28	2.33	2.84	3.34	3.21	2.98	99.3	12.9
10	磺胺吡啶	2.90	2.45	2.58	2.37	2.92	3.08	2.72	90.7	10.6
11	磺胺间甲氧嘧啶	2.26	2.41	2.36	2.32	2.80	2.82	2.50	83.3	9.98
12	磺胺甲氧哒嗪	2.90	2.82	2.80	2.66	3.27	3.38	2.97	99.0	9.64
13	磺胺甲噻二唑	3.09	2.87	2.61	2.62	3.24	2.95	2.90	96.7	8.70
14	磺胺对甲氧嘧啶	3.08	2.85	2.80	2.56	3.18	3.25	2.95	98.3	8.89
15	磺胺邻二甲氧嘧啶	3.08	2.66	2.90	2.40	3.19	3.20	2.90	96.7	11.0
16	磺胺氯哒嗪	3.08	2.71	2.86	2.56	3.14	3.35	2.95	98.3	9.95
17	磺胺苯吡唑	2.96	2.80	2.25	2.45	3.08	3.18	2.79	93.0	13.2
18	磺胺苯酰	2.44	2.15	3.08	3.06	2.99	2.88	2.77	92.3	13.8
19	磺胺氯吡嗪	3.06	2.80	3.25	3.06	3.16	2.89	3.04	101	5.50

表 16: 磺胺类浓度 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	磺胺嘧啶	76.9	81.0	79.7	84.0	89.5	87.2	83.0	83.0	5.72
2	磺胺二甲嘧啶	84.7	82.5	78.3	77.0	84.4	78.8	81.0	81.0	4.12
3	磺胺甲基嘧啶	77.9	85.1	82.7	90.6	94.4	87.3	86.3	86.3	6.76
4	磺胺甲噁唑	83.2	82.0	81.1	85.9	88.7	84.1	84.2	84.2	3.30
5	磺胺间二甲氧嘧啶	104	94.5	101	106	104	109	103	103	4.82
6	磺胺喹噁啉	103	97.7	107	111	105	109	105	105	4.49
7	磺胺二甲异噁唑	85.8	88.9	88.0	103	95.3	104	94.2	94.2	8.39
8	磺胺噻唑	87.1	90.9	89.8	98.1	93.5	101	93.4	93.4	5.64
9	磺胺二甲异嘧啶	81.0	90.2	86.9	94.1	89.9	99.3	92.2	92.2	6.90
10	磺胺吡啶	79.8	85.0	84.2	86.8	85.2	91.7	85.4	85.4	4.52
11	磺胺间甲氧嘧啶	75.6	79.8	76.1	81.3	78.7	85.9	79.6	79.6	4.76
12	磺胺甲氧哒嗪	86.7	90.0	89.4	101	95.9	98.4	93.6	93.6	6.07
13	磺胺甲噻二唑	89.2	92.6	90.7	95.6	96.9	103	94.7	94.7	5.29
14	磺胺对甲氧嘧啶	89.7	80.0	87.8	93.1	97.3	96.8	92.4	92.4	4.27
15	磺胺邻二甲氧嘧啶	86.9	90.2	89.7	96.0	96.4	102	93.5	93.5	5.97
16	磺胺氯哒嗪	86.8	94.4	93.7	94.3	103	104	96.0	96.0	6.72
17	磺胺苯吡唑	93.4	91.6	92.2	103	107	107	99.0	99.0	7.51
18	磺胺苯酰	96.5	94.2	89.8	84.3	97.6	87.1	91.6	91.6	5.85
19	磺胺氯吡嗪	101	100	87.0	82.0	97.6	95.8	93.9	93.9	8.17

表 17: 氟喹诺酮类浓度 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氧氟沙星	1.15	1.15	1.15	0.957	1.18	1.17	1.13	113	7.44
2	培氟沙星	0.939	0.914	0.837	0.840	0.950	0.900	0.897	89.7	5.40
3	诺氟沙星	0.922	0.854	0.792	0.755	0.854	0.772	0.825	82.5	7.65
4	依诺沙星	0.792	0.882	0.951	0.823	0.828	0.793	0.845	84.5	7.28
5	氟罗沙星	1.01	1.01	0.806	0.878	1.07	0.942	0.953	95.3	10.2
6	环丙沙星	0.879	0.789	0.747	0.793	0.934	0.849	0.832	83.2	8.24
7	洛美沙星	1.19	1.04	1.09	1.05	1.14	1.09	1.10	110	5.14
8	丹诺沙星	0.819	0.804	0.727	0.751	0.792	0.820	0.786	78.6	4.87
9	奥比沙星	1.13	1.02	1.12	1.08	1.14	1.16	1.11	111	4.58
10	双氟沙星	0.998	1.16	1.06	0.872	1.02	1.06	1.03	103	9.20
11	恩诺沙星	0.972	0.855	0.897	0.805	0.978	0.884	0.898	89.8	7.48
12	沙拉沙星	1.07	1.09	1.11	0.923	1.17	1.17	1.09	109	8.37
13	司帕沙星	0.957	0.946	0.888	0.878	1.02	1.07	0.960	96.0	7.77
14	麻保沙星	0.799	0.960	0.730	0.891	0.747	0.952	0.846	84.6	12.0
15	氟甲喹	0.996	1.06	0.985	0.981	1.08	1.12	1.04	104	5.59
16	恶喹酸	1.18	1.11	1.12	1.03	1.13	1.13	1.12	112	4.37
17	萘啶酸	1.12	1.08	1.01	1.03	1.07	1.10	1.07	107	3.90

表 18: 氟喹诺酮类浓度 3.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氧氟沙星	3.45	3.51	2.83	3.20	3.03	3.05	3.18	106	8.25
2	培氟沙星	2.98	3.08	2.34	2.48	2.62	2.34	2.64	88.0	12.2
3	诺氟沙星	2.79	2.94	2.34	2.28	2.52	2.36	2.54	84.7	10.6
4	依诺沙星	2.90	2.75	2.45	2.56	2.55	2.44	2.61	87.0	6.95
5	氟罗沙星	2.97	2.95	2.50	2.52	2.74	2.47	2.69	89.7	8.50
6	环丙沙星	2.80	2.77	2.39	2.24	2.32	2.21	2.46	82.0	10.7
7	洛美沙星	3.28	3.21	2.60	2.83	2.95	2.69	2.93	97.7	9.39
8	丹诺沙星	2.87	2.87	2.30	2.44	2.18	2.50	2.53	84.3	11.4
9	奥比沙星	3.05	3.11	2.51	2.90	2.66	2.40	2.77	92.3	10.6
10	双氟沙星	3.17	2.99	2.52	2.80	2.63	2.39	2.75	91.7	10.7
11	恩诺沙星	2.91	2.60	2.39	2.45	2.46	2.31	2.52	84.0	8.47
12	沙拉沙星	2.99	2.62	2.49	2.48	2.57	2.81	2.66	88.7	7.56
13	司帕沙星	2.44	2.60	2.26	2.42	2.16	2.20	2.35	78.3	7.18
14	麻保沙星	2.63	2.62	2.21	2.49	2.31	2.17	2.40	80.0	8.45
15	氟甲喹	2.82	2.65	2.43	2.43	2.43	2.36	2.52	84.0	7.03
16	恶喹酸	3.08	2.88	2.63	2.79	2.80	2.63	2.80	93.3	6.03
17	萘啶酸	2.92	2.70	2.55	2.69	2.68	2.49	2.67	89.0	5.57

表 19: 氟喹诺酮类浓度 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品精密度和回收率实验记录表 (单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
1	氧氟沙星	106	113	102	112	106	96.7	106	106	5.78
2	培氟沙星	93.4	106	92.0	96.8	97.7	90.5	96.1	96.1	5.82
3	诺氟沙星	104	107	98.9	105	107	101	104	104	3.16
4	依诺沙星	101	112	99.3	109	109	95.1	104	104	6.42
5	氟罗沙星	107	111	104	112	112	102	108	108	4.01
6	环丙沙星	98.7	97.7	87.8	95.3	102	93.0	95.8	95.8	5.17
7	洛美沙星	103	98.2	91.6	100	111	98.4	100	100	6.39
8	丹诺沙星	104	100	94.3	98.7	108	99.2	101	101	4.70
9	奥比沙星	103	99.7	101	98.0	106	106	102	102	3.24

表 19 (续)

序号	项目	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	平均回收率 (%)	RSD/%
10	双氟沙星	106	100	95.3	97.1	106	97.9	100	100	4.59
11	恩诺沙星	87.4	93.9	89.2	90.3	91.1	92.2	90.7	90.7	2.51
12	沙拉沙星	111	113	111	114	115	114	113	113	1.48
13	司帕沙星	98.3	106	93.8	101	98.3	105	100	100	4.57
14	麻保沙星	103	105	103	105	104	113	106	106	3.58
15	氟甲喹	94.9	104	93.1	97.8	96.4	105	98.5	98.5	4.96
16	恶喹酸	90.8	95.1	89.3	91.2	92.4	97.5	92.7	92.7	3.28
17	萘啶酸	93.0	99.5	90.5	94.2	93.6	100	95.1	95.1	3.99

5.5 方法检出限确定

取空白样品，按照方法全过程进行预处理和测定，平行样品 n=6。

添加浓度为 0.50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出孔雀石绿、隐色孔雀石绿的检出限分别为 0.133 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.101 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ；

添加浓度为 0.10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出氯霉素检出限为 0.0319 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ；

添加浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺的检出限分别为 0.109 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.139 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.0975 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ；

添加浓度为 0.50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出甲硝唑、地美硝唑、洛硝哒唑、异丙硝唑、羟甲基甲硝咪唑、羟基甲硝唑、苯硝咪唑、氯甲硝咪唑的检出限分别为 0.108 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.136 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.0936 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.112 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.0858 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.181 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.0570 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.136 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ；

添加浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉、磺胺二甲异噁唑、磺胺噻唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺吡啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噻二唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺苯吡唑、磺胺苯酰、磺胺氯吡嗪的检出限分别为 0.226 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.323 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.244 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.331 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.0319 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.246 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.213 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.194 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.209 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.178 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.186 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.230 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.324 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.207 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.243 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.237 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.264 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.311 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.148 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ；

添加浓度为 0.50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ，根据各样品检测值，计算出平均值 X 及标准偏差 Sb，当被分析物的回收率在 60-120%之间时，可计算出氧氟沙星、培氟沙星、诺氟沙星、依诺沙星、氟罗沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、奥比沙星、双氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星、司帕沙星、麻保沙星、氟甲喹、恶喹酸、萘啶酸的检出限分别为 0.220 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.159 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.223 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.220 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.302 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.242 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.154 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.142 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.137 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.278 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、0.228 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 、

0.254μg/Kg、0.230μg/Kg、0.356μg/Kg、0.164μg/Kg、0.131μg/Kg、0.117μg/Kg。

计算公式如下：

检出限 (MDL) = (k × Sb × C) / X, 其中 k 为置信因子，一般取 3。

5.6 鱼虾贝三种基质方法验证

分别以鱼、虾和贝三种空白样品为基质，进行加标回收试验，2 种三苯甲烷类药物的加标浓度分别为 0.500μg/kg、1.00μg/kg、5.00μg/kg；4 种酰胺醇类药物的加标浓度分别为 0.100μg/kg、0.500μg/kg、1.00μg/kg（氯霉素），1.00μg/kg、5.00μg/kg、10.0μg/kg（甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺）；8 种硝基咪唑类药物的加标浓度分别为 0.500μg/kg、1.00μg/kg、5.00μg/kg；19 种磺胺类药物的加标浓度分别为 1.00μg/kg、5.00μg/kg、10.0μg/kg；17 种氟喹诺酮类药物的加标浓度分别为 1.00μg/kg、5.00μg/kg、10.0μg/kg。每个样品每个浓度梯度三平行，将上述加标样品和空白样品按方法进行前处理，上机测试。分别计算不同基质不同加标浓度样品的平均回收率和相对标准偏差 (RSD) 如表 20 所示。结果表明，各基质各项目的标准添加回收率范围为 60%~120%，相对标准偏差≤15%。

表 20：三种基质三个水平加标回收平均回收率和相对标准偏差记录表

序号	项目	加标浓度 μg/Kg	鱼		虾		贝	
			平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)
1	孔雀石绿	0.500	115	3.89	114	4.67	84.6	0.98
		1.00	109	3.77	110	3.76	101	5.18
		5.00	82.0	7.43	83.2	4.16	100	1.04
2	隐色孔雀石 绿	0.500	107	7.27	109	1.03	87.9	4.37
		1.00	98.7	7.00	99.3	0.71	83.3	0.78
		5.00	79.0	3.16	82.9	0.95	82.2	0.55
3	氯霉素	0.100	108	3.40	114	4.32	106.8	5.57
		0.500	90.2	1.93	97.7	1.39	96.9	2.85
		1.00	102	4.06	97.2	0.30	97.9	6.11
4	甲砒霉素	1.00	110	1.80	103	1.28	113	1.79
		5.00	96.3	2.32	73.8	0.31	100	2.36
		10.0	100	1.98	97.5	0.91	99.2	3.13
5	氟苯尼考	1.00	104	1.14	94.9	1.43	79.9	2.59
		5.00	91.9	2.80	71.2	1.94	72.4	0.99
		10.0	97.8	1.66	87.4	1.84	72.6	2.41
6	氟苯尼考胺	1.00	111	8.69	113	4.31	94.2	6.72
		5.00	83.2	5.21	82.4	2.71	65.0	4.38
		10.0	74.9	1.40	77.6	5.99	68.1	6.43
7	甲硝唑	0.500	92.2	8.48	94.0	3.05	96.2	2.96
		1.00	104	1.32	85.5	4.65	94.8	4.21
		5.00	97.3	4.33	70.8	3.24	78.2	3.30
8	地美硝唑	0.500	105	4.76	104	5.15	109	6.74
		1.00	106	4.37	105	6.55	103	7.11
		5.00	86.7	7.77	74.0	4.42	88.1	4.11
9	洛消啉唑	0.500	87.3	13.3	86.0	14.2	93.5	4.14
		1.00	105	9.26	96.9	3.31	89.4	10.0
		5.00	90.5	9.34	78.3	8.40	74.1	3.33
10	异丙硝唑	0.500	91.3	2.94	89.5	3.16	96.5	1.01
		1.00	101	7.55	92.3	3.66	94.3	10.7
		5.00	93.2	9.51	66.5	3.35	79.0	1.23
11	羟甲基 甲硝唑	0.500	87.2	8.33	69.1	4.57	106.8	10.3
		1.00	90.3	11.3	85.2	8.72	78.8	10.6
		5.00	79.6	2.14	67.2	7.25	72.9	7.48

表 20 (续)

序号	项目	加标浓度 μg/Kg	鱼		虾		贝	
			平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
12	羟基甲硝唑	0.500	96.4	7.21	87.2	7.32	104	10.4
		1.00	105	9.61	107	2.98	82.7	9.23
		5.00	91.0	6.45	67.6	11.3	75.9	5.98
13	苯硝咪唑	0.500	95.4	6.31	95.3	7.04	109	0.87
		1.00	102	2.01	95.3	5.36	99.3	7.44
		5.00	98.0	4.19	77.2	1.49	84.8	84.8
14	氯甲硝咪唑	0.500	93.9	9.32	88.2	4.65	99.1	7.59
		1.00	101	6.72	105	9.30	91.0	9.36
		5.00	94.7	2.58	76.3	1.37	73.6	1.75
15	磺胺嘧啶	1.00	81.5	9.36	91.3	8.61	91.3	10.6
		5.00	96.7	3.09	67.8	6.09	71.9	3.88
		10.0	98.1	3.82	92.2	5.70	73.7	2.50
16	磺胺二甲嘧啶	1.00	96.5	6.56	113	3.63	104	1.16
		5.00	86.5	7.50	105	10.1	80.1	6.19
		10.0	93.5	6.71	117	2.11	77.4	1.57
17	磺胺甲基嘧啶	1.00	99.2	10.3	113	4.75	105	5.99
		5.00	90.9	2.14	78.4	10.3	87.4	2.26
		10.0	98.7	5.79	117	1.84	90.5	6.47
18	磺胺甲噁唑	1.00	93.9	2.39	91.8	12.1	99.3	1.04
		5.00	101	3.03	73.6	2.19	81.4	2.90
		10.0	105	2.89	81.3	2.26	81.3	4.86
19	磺胺间二甲氧嘧啶	1.00	108	10.1	114	6.11	104	5.33
		5.00	103	4.33	106	7.84	91.7	4.50
		10.0	111	2.87	114	4.62	91.5	6.09
20	磺胺喹噁啉	1.00	88.4	6.59	96.9	10.9	97.8	4.86
		5.00	86.5	3.69	84.1	5.83	78.9	5.72
		10.0	84.5	3.70	90.3	6.17	70.8	6.23
21	磺胺二甲异噁唑	1.00	94.9	5.53	78.6	6.97	89.7	5.32
		5.00	86.1	6.35	67.2	3.18	66.6	3.68
		10.0	89.5	5.52	75.6	3.63	78.0	7.47
22	磺胺噻唑	1.00	105	5.96	113	8.77	94.5	8.54
		5.00	87.3	5.02	70.3	10.1	68.6	4.36
		10.0	97.6	4.88	95.7	5.01	77.7	3.36
23	磺胺二甲异嘧啶	1.00	101	13.8	114	4.71	111	6.80
		5.00	109	4.94	114	6.12	106	0.73
		10.0	116	1.76	118	2.19	116	1.99
24	磺胺吡啶	1.00	101	7.08	111	3.70	84.7	2.11
		5.00	88.2	8.19	83.0	5.97	68.5	1.75
		10.0	96.7	3.78	112	3.30	73.0	2.53
25	磺胺间甲氧嘧啶	1.00	101	6.89	112	5.30	80.7	12.0
		5.00	91.6	5.70	80.8	7.76	102	3.84
		10.0	99.4	3.25	105	2.74	99.9	4.40
26	磺胺甲氧哒嗪	1.00	109	8.13	116	3.96	110	5.80
		5.00	108	8.32	84.8	13.1	101	3.74
		10.0	108	2.00	111	1.23	99.7	0.48
27	磺胺甲噻二唑	1.00	101	10.3	102	12.2	85.4	3.85
		5.00	99.6	5.13	77.4	8.20	72.8	0.47
		10.0	104	4.31	98.4	6.90	77.0	4.31
28	磺胺对甲氧嘧啶	1.00	109	7.21	100	9.36	106	6.12
		5.00	107	2.31	78.5	4.63	93.4	7.77
		10.0	105	5.22	97.9	0.35	102	4.97
29	磺胺邻二甲氧嘧啶	1.00	101	9.57	87.4	7.96	112	3.99
		5.00	93.3	3.82	69.8	4.83	95.0	2.09
		10.0	98.5	0.83	87.6	4.05	101	0.67
30	磺胺氯哒嗪	1.00	97.8	9.46	108	4.98	100	5.56
		5.00	91.7	2.02	85.2	5.43	83.1	2.22
		10.0	101	3.27	95.3	3.22	84.8	4.08

表 20 (续)

序号	项目	加标浓度 μg/Kg	鱼		虾		贝	
			平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)
31	磺胺苯吡唑	1.00	85.0	3.36	96.8	10.5	84.9	6.71
		5.00	96.8	4.75	75.4	3.27	77.8	3.27
		10.0	99.1	1.07	88.9	3.15	82.0	3.34
32	磺胺苯酰	1.00	100	4.49	105	10.6	101	7.26
		5.00	97.5	1.22	86.8	8.59	81.2	0.37
		10.0	101	4.65	94.8	1.05	85.3	1.41
33	磺胺氯吡嗪	1.00	99.1	7.47	94.8	8.76	96.1	6.31
		5.00	90.1	7.21	77.6	6.80	80.9	7.59
		10.0	102	3.24	85.6	4.88	78.5	5.03
34	氧氟沙星	1.00	97.5	7.62	96.4	6.40	104	12.9
		5.00	91.6	2.15	70.4	7.27	86.6	5.02
		10.0	99.9	5.87	76.7	5.07	92.2	1.88
35	培氟沙星	1.00	96.5	6.10	87.8	3.48	102	12.8
		5.00	90.7	0.38	79.2	6.19	91.0	4.24
		10.0	96.5	0.86	97.0	5.66	115	5.53
36	诺氟沙星	1.00	88.6	6.51	80.5	4.91	99.7	10.2
		5.00	90.9	6.62	66.6	6.26	92.6	2.85
		10.0	99.0	1.13	83.6	3.48	97.1	2.08
37	依诺沙星	1.00	93.8	11.6	78.1	3.58	87.5	2.62
		5.00	93.9	2.59	71.3	5.82	94.5	1.10
		10.0	103	1.39	90.4	1.78	115	1.42
38	氟罗沙星	1.00	96.7	5.88	82.6	1.92	105	6.70
		5.00	96.6	1.58	62.6	3.21	82.7	0.95
		10.0	104	1.80	78.5	2.43	85.2	5.27
39	环丙沙星	1.00	86.4	1.90	91.0	4.68	111	7.08
		5.00	92.8	0.77	79.9	0.84	107	5.57
		10.0	103	2.25	106	3.51	115	3.47
40	洛美沙星	1.00	107	9.27	87.4	4.36	106	6.24
		5.00	89.7	8.45	60.7	0.88	72.0	4.58
		10.0	94.2	2.10	73.6	5.21	83.6	5.69
41	丹诺沙星	1.00	78.9	4.17	83.7	3.12	93.0	8.10
		5.00	92.3	1.97	81.2	3.65	114	2.50
		10.0	98.6	1.95	111	3.74	111	1.44
42	奥比沙星	1.00	104	5.26	85.1	3.60	103	4.88
		5.00	83.3	2.06	61.4	2.29	90.3	6.56
		10.0	95.7	1.39	74.2	2.11	98.2	4.90
43	双氟沙星	1.00	103	3.58	95.8	2.20	106	9.62
		5.00	90.6	0.86	66.7	4.02	103	13.2
		10.0	96.0	3.21	80.3	8.19	100	6.90
44	恩诺沙星	1.00	110	4.34	82.6	5.06	113	3.19
		5.00	91.0	1.11	63.1	1.84	98.1	5.59
		10.0	98.8	0.50	85.6	5.42	98.2	5.26
45	沙拉沙星	1.00	108	1.89	95.8	8.70	90.0	0.65
		5.00	96.6	4.14	79.7	3.62	101	5.70
		10.0	99.1	2.40	101	4.69	95.2	6.40
46	司帕沙星	1.00	104.3	4.89	115	4.75	106	10.9
		5.00	99.9	7.88	71.5	3.93	95.2	2.98
		10.0	112	4.33	99.5	3.52	96.4	6.31
47	麻保沙星	1.00	80.2	5.00	92.4	4.74	104	5.12
		5.00	93.6	6.90	74.6	10.1	110	2.41
		10.0	99.8	4.35	92.2	4.24	108	6.12
48	氟甲喹	1.00	106	5.4	102	5.70	116	2.18
		5.00	97.6	3.53	88.8	1.46	114	2.43
		10.0	100	0.85	109	2.62	117	2.02
49	恶喹酸	1.00	105	0.42	95.4	2.91	107	2.78
		5.00	90.7	0.79	80.2	2.15	107	7.35
		10.0	99.0	2.61	96.4	3.21	109	4.35

表 20 (续)

序号	项目	加标浓度 μg/Kg	鱼		虾		贝	
			平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)	平均回 收率(%)	RSD(%)
50	萘啶酸	1.00	103	4.91	96.6	2.10	105	6.97
		5.00	88.9	2.57	81.3	1.09	103	7.04
		10.0	92.4	1.73	98.9	4.33	113	3.14

5.7 与阳性样品国标/农业部方法检测结果比对

现有 3 个孔雀石绿阳性样品，全部检出隐色孔雀石绿，测定依据为 GB/T 19857-2005，测定值分别为 1.38、2.40 和 1.76μg/Kg。经本方法测定，全部检出隐色孔雀石绿，测定值分别为 1.10、2.53 和 2.06μg/Kg，与 GB/T 19857-2005 的检测偏差分别为-20.3%、5.4%和 17.0%。

现有 3 个氯霉素阳性样品，测定依据为 GB/T 20756-2006，测定值分别为 2.37×10³、2.03 和 1.33μg/Kg。经本方法测定，测定值分别为 2.26×10³、1.78 和 1.23μg/Kg，与 GB/T 20756-2006 的检测偏差分别-4.6%、-12.3%和-7.5%。

现有 4 个氟喹诺酮类阳性样品，测定依据为农业部 1077 号公告-1-2008，两个检出恩诺沙星和环丙沙星，恩诺沙星和环丙沙星之和分别为 159 和 484μg/Kg，两个检出氧氟沙星，测定值分别为 11.8 和 98.8μg/Kg。经本方法测定，恩诺沙星和环丙沙星之和分别 187 和 496μg/Kg，氧氟沙星测定值分别为 12.2 和 107μg/Kg，与农业部 1077 号公告-1-2008 的检测偏差分别为 17.6%、2.5%、3.4%和 8.3%。

现有 2 个磺胺类阳性样品，测定依据为农业部 1077 号公告-1-2008，一个检出磺胺嘧啶，测定值为 880μg/Kg，一个检出磺胺二甲基嘧啶，测定值为 430μg/Kg。经本方法测定，磺胺嘧啶和磺胺二甲基嘧啶测定值分别为 1.08×10³μg/Kg 和 442μg/Kg，与农业部 1077 号公告-1-2008 的检测偏差分别为 22.7%和 2.8%。

结果详见表 21。

表 21 孔雀石绿、氯霉素、氟喹诺酮类和磺胺类药物阳性样品测定比较记录表 (单位: μg/Kg)

样品编号	样品名称	检出项目	标准方法测定 值	本方法测定 值	差值	偏差
1	黄颡鱼	孔雀石绿	1.38	1.10	-0.28	-20.3%
2	黄颡鱼	孔雀石绿	2.40	2.53	0.13	5.4%
3	鳊鱼	孔雀石绿	1.76	2.06	0.30	17.0%
4	花甲	氯霉素	2.37×10 ³	2.26×10 ³	-110	-4.6%
5	青口	氯霉素	2.03	1.78	-0.25	-12.3%
6	沙甲	氯霉素	1.33	1.23	-0.10	-7.5%
7	福寿鱼	恩诺沙星	159	187	28.0	17.6%
8	鲈鱼	恩诺沙星	462	473	11.0	2.4%
		环丙沙星	22.2	23.4	1.20	5.4%
9	乌鳢	氧氟沙星	11.8	12.2	0.40	3.4%
10	生鱼	氧氟沙星	98.8	107	8.20	8.3%
11	罗非鱼	磺胺嘧啶	880	1.08×10 ³	200	22.7%
12	乌鳢	磺胺二甲基嘧啶	430	442	12.0	2.8%

5.8 实验室间比对

分别组织华测检测认证集团股份有限公司、深圳市英思太检验检测有限公司和深圳凯吉星农产品检测认证有限公司对标准方法进行实验室间认证，方法验证主要包括：以空白鱼肉为基质，进行加标回收试验，三苯甲烷类药物的加标浓度分别为 0.500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；酰胺醇类药物的加标浓度分别为 0.100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （氯霉素），1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （甲矾霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺）；硝基咪唑类药物的加标浓度分别为 0.500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；磺胺类药物的加标浓度分别为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；氟喹诺酮类药物的加标浓度分别为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。每个浓度梯度六平行，将加标样品和空白样品按标准方法进行前处理，上机测试，分别计算不同浓度样品的平均回收率和相对标准偏差（RSD），结果见水产品中多种药物残留量的测定标准验证实验记录表。结果表明，三个单位各项目的标准添加回收率范围均为 60%~120%，相对标准偏差 \leq 15%。

6. 重大意见分歧的处理情况

无重大意见分歧。

7. 标准实施建议

无

8. 其他需要说明的事项

本标准符合我国现行《标准化法》和《质量法》等法律法规要求，与现行法律法规及 GB 11887 无冲突和违背情况。