ICS 13.060.50
Z 10/39
备案号：

DB44

广　东　省　地　方　标　准

DB 44/T 0000—××××

土壤　抗生素类化合物的测定 超声提取-固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法

Soil—Determination of Antibiotics—Ultrasonic Extraction - Solid Phase Extraction - High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

（征求意见稿）

（2020 年 11 月）

××××－××－××发布　　××××－××－××实施

广东省生态环境厅
广东省市场监督管理局　　发布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　方法和原理 1
4　术语与定义 1
5　干扰和消除 1
6　试剂和材料 2
7　仪器和设备 3
8　样品 3
9　分析步骤 4
10　结果计算与表示 5
11　精密度和准确度 6
12　质量保证和质量控制 6
13　废物处理 7
14　注意事项 7
附录 A（规范性附录）　抗生素类化合物的基本资料 8
附录 B（规范性附录）　方法检出限和测定下限 9
附录 C（资料性附录）　液相色谱参考条件 11
附录 D（资料性附录）　质谱参考条件 12
附录 E（资料性附录）　标准物质和内标物质的谱图 15
附录 F（资料性附录）　方法的精密度和准确度 19

前　　言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》和《中华人民共和国土壤污染防治法》，保护环境，保障人体健康，规范土壤中抗生素类化合物的监测方法，制定本文件。

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。

本文件为首次发布。

本文件由广东省生态环境厅提出并归口。

本文件主要起草单位：广东省环境监测中心和华南师范大学环境研究院。

本文件主要起草人：林玉君，刘思思，肖文，应光国，郑丽敏，刘有胜，赵金平，刘紫怡，吴建刚，陈长二，赵建亮。

本标准 20xx 年 xx 月批准。

本标准自 20xx 年 xx 月起实施。

本文件由广东省环境监测中心解释。

土壤　抗生素类化合物的测定　超声提取-固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法

1　范围

本文件规定了土壤中17种抗生素类化合物的超声提取-固相萃取-高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于土壤中磺胺氯哒嗪、磺胺甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺吡啶、克拉霉素、脱水红霉素、北里霉素、罗红霉素、泰乐菌素、金霉素、土霉素、环丙沙星、诺氟沙星、甲氧苄氨嘧啶和林可霉素17种抗生素（见附录A）的定性和定量检测。

当土壤干重为2.0 g，经提取、净化和浓缩全过程处理后，定容体积为1.0 ml，进样体积为10 μl时，17种抗生素的方法检出限为0.9 μg/kg　～　4.7 μg/kg，测定下限为3.6 μg/kg　～　19 μg/kg。详见附录B。

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，注明日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

HJ 613 土壤　干物质含量和水分的测定　重量法

HJ/T 166 土壤环境监测技术规范

3　术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4　方法和原理

过筛土壤以乙腈-McIlvaine缓冲液为提取剂，采用超声波辅助提取目标抗生素。提取液经固相萃取柱富集、净化、定容后，采用高效液相色谱-三重四极杆质谱检测。根据目标物的保留时间、特征离子对及其丰度定性，采用内标法定量。

5　干扰和消除

四环素类抗生素可与土壤中的金属离子结合形成络合物，干扰提取过程，降低此类化合物的提取效率。在提取过程中，加入金属离子螯合剂乙二胺四乙酸四钠，可抑制金属离子的干扰。

6　试剂和材料

6.1　实验用水为新制备不含目标化合物的纯水。

6.2 **硫酸**：ρ (H_2SO_4) = 1.84 g/ml，分析纯。

6.3 **氢氧化钠**（NaOH）：分析纯。

6.4 **甲醇**（CH_3OH）：色谱纯。

6.5 **乙腈**（CH_3CN）：色谱纯。

6.6 **甲酸**（HCOOH）：色谱纯。

6.7 **乙酸铵**（CH_3COONH_4）：色谱纯。

6.8 **磷酸氢二钠十二水化合物**（Na_2HPO_4•$12H_2O$）：分析纯。

6.9 **柠檬酸一水化合物**（$C_6H_8O_7$•H_2O）：分析纯。

6.10 **乙二胺四乙酸四钠**（Na_4EDTA）：分析纯。

6.11 **硫酸溶液**：c (H_2SO_4)= 4.0 mol/L。量取 22 ml 硫酸（6.2），缓慢加入到纯水中，待温度降至室温后，用纯水定容到 100 ml。室温下保存期为 3 个月。

6.12 **NaOH 溶液**（1.0 mol/L）：称取 4 g 氢氧化钠（6.3）溶于纯水中，定容至 100 ml。室温下保存期为 2 个月。

6.13 **氢氧化钠的甲醇溶液**：量取 1.0 ml 1.0 mol/L 的氢氧化钠溶液（6.12）溶于甲醇（6.4）中，定容至 200 ml。临用现配。

6.14 **甲酸-乙酸铵的水溶液**：量取 1.5 ml 甲酸（5.5）并称取 0.116 g 乙酸铵（6.7），溶于 750 ml 纯水中，制备成 0.2%（V/V）甲酸-2.0 mmol/L 乙酸铵的水溶液。临用现配。

6.15 **甲酸-乙酸铵-乙腈的混合液**：分别量取 90 ml 甲酸-乙酸铵的水溶液（6.14）和 10 ml 乙腈（6.5），混合并摇匀。临用现配。

6.16 **磷酸氢二钠溶液**（0.2 mol/L）：称取 71.628 g 磷酸氢二钠十二水化合物（6.8）溶于纯水中，定容至 1000 ml。室温下保存期为 3 个月。

6.17 **柠檬酸溶液**（0.1 mol/L）：称取 21.014 g 柠檬酸一水化合物（6.9）溶于纯水中，定容至 1000 ml。室温下保存期为 3 个月。

6.18 **McIlvaine 缓冲液**（pH = 4）：分别量取 380 ml 磷酸氢二钠溶液（6.16）和 620 ml 柠檬酸溶液（6.17），混合并摇匀。室温下保存期为 3 个月。

6.19 **乙腈-McIlvaine 缓冲液的混合液**（1: 1，V/V）：分别量取 10 ml 乙腈（6.5）和 90 ml McIlvaine 缓冲液（6.18），混合并摇匀。临用现配。

6.20 **石英砂**：粒径 150 ～ 250 μm（100 ～ 60 目）。使用前置于马弗炉中 450 °C 烘烤 4 h，冷却后装入磨口玻璃瓶中密封，于干燥器中保存。

6.21 **抗生素标准储备液**：ρ＝100 mg/L（参考浓度）

17种抗生素单标可直接购买市售有证标准溶液，也可用标准物质（纯度≥ 98%）制备。

使用标准物质制备标准储备液的参考方法：准确称取10.0 mg抗生素标准物质，溶于100 ml甲醇（6.4）中，最终浓度为100 mg/L；对于喹诺酮类抗生素，则溶于100 ml氢氧化钠的甲醇溶液（6.13）中。储备液应在−18 ℃以下避光保存3个月或参照制造商的产品说明。使用时应恢复至室温，并摇匀。

6.22 **抗生素标准使用液：**ρ＝1.0 mg/L（**参考浓度**）

将17种抗生素标准储备液（6.21）按需要用甲醇（6.4）稀释。标准使用液在−18 ℃以下避光保存3个月。使用时应恢复至室温，并摇匀。

6.23 **内标物储备液：**ρ＝100 mg/L（**参考浓度**）

8种抗生素内标物为环丙沙星-d_8、脱水红霉素-^{13}C-d_3、林可霉素-d_3、磺胺甲嘧啶-d_4、磺胺二甲嘧啶-$^{13}C_6$、磺胺甲噁唑-d_4、噻苯咪唑-d_4、甲氧苄氨嘧啶-d_3。可直接购买市售有证标准溶液，也可用标准物质（纯度≥ 95%）制备。储备液应在–18 ℃以下避光保存3个月或参照制造商的产品说明。使用时应恢复至室温，并摇匀。每种抗生素对应的内标物详见附录A。其它符合内标物性质的化合物也能够使用。

6.24 **内标物使用液：**ρ＝1.0 mg/L（**参考浓度**）

取8种内标物储备液（6.23）按需要用甲醇（6.4）稀释。内标物使用液在−18 ℃以下避光保存3个月。使用时应恢复至室温，并摇匀。

6.25 **离子交换柱：**填料为高纯硅胶基质上键合三甲基氨丙基的强阴离子交换吸附剂(SAX)或其他等效离子交换柱，参考规格为 500 mg/6 ml。

6.26 **固相萃取柱：**填料为二乙烯苯和 *N*-乙烯基吡咯烷酮共聚物（HLB）或其他等效固相萃取柱，参考规格为 200 mg/6 ml。

6.27 **氮气：**纯度≥ 99.99%。

6.28 **滤膜：**0.22 μm 尼龙滤膜。

7 仪器和设备

7.1 **棕色玻璃瓶：**具塞磨口，250 ml。

7.2 **冷冻干燥机。**

7.3 **球磨机：**配玛瑙球磨罐和不同尺寸的玛瑙球。

7.4 **超声波装置：**水槽式，超声波输出功率不小于 500 W，超声时间可调节。

7.5 **离心机：**4000 r/min 或以上。

7.6 **固相萃取装置：**流速可调节。

7.7 **浓缩装置：**氮吹浓缩仪或性能相当的设备。

7.8 **高效液相色谱-三重四极杆质谱仪：**配有电喷雾离子源（ESI）。

7.9 **色谱柱：**C_{18}或等效反相高效液相色谱柱，参考规格为 100 mm（长度）× 2.1 mm (内径)，1.8 μm (填料粒径)。

7.10　一般实验室常用仪器和设备。

8　样品

8.1　样品的采集与保存

按照HJ/T 166的相关规定进行土壤样品的采集和保存。

样品应保存在洁净的棕色玻璃瓶（7.1）中，运输过程中应避光冷藏。运回实验室后，在0～4 ℃避光保存，并于一周内完成样品前处理。

8.2　试样制备

8.2.1　样品预处理

将新鲜土壤置于不锈钢或聚四氟乙烯盘中，除去树枝、叶子和石子等异物，混匀。取适量的混匀土样，放入冷冻干燥机（7.2）中脱水。冻干后的样品用球磨机（7.3）或玛瑙研钵研磨充分后，过60目（孔径0.25 mm）标准土壤筛，待提取。

8.2.2　提取

称取2 g（精确到0.01 g）预处理后的土样（8.2.1）于50 ml聚丙烯离心管中，加入100 μl内标物使用液（6.24），混匀，于0～4 ℃避光保存12 h，待甲醇挥发。加入0.5 g乙二胺四乙酸四钠（6.10）和20 ml乙腈-McIlvaine缓冲液的混合液（6.19），涡旋震荡20 s，再置于超声波中15 min，4000 r/min室温下离心10 min，收集上清液。

重复提取一次，合并两次提取液，待后续处理。

8.2.3　净化

以1000 ml纯水稀释提取液（8.2.2），并用4 mol/L硫酸（6.11）调节pH值至3左右。

将SAX阴离子交换柱（6.25）与HLB固相萃取柱（6.26）首尾串联，固定在固相萃取装置（7.6）上。依次用10 ml甲醇（6.4）和10 ml纯水（6.1）活化萃取柱，保证柱头浸润。提取液以5～10 ml/min的流速通过小柱。待提取液全部通过小柱后，拆下SAX柱，用10 ml纯水淋洗HLB柱，去除小柱上的乙二胺四乙酸四钠（6.10）。真空抽滤使HLB柱干燥。用5 ml甲醇（6.4）以约0.5 ml/min的流速洗脱两次，收集全部洗脱液。

注：固相萃取净化过程中宜用锡箔纸包裹固相萃取柱避光。

8.2.4　浓缩定容

洗脱液（8.2.3）采用氮气（6.27）在40 °C下缓慢吹至近干，用甲酸-乙酸铵-乙腈的混合液（6.15）定容至1.0 ml，尼龙滤膜（6.28）过滤后，待测。

8.3　空白试样

以石英砂（6.20）代替实际样品，按照与试样制备（8.2）相同操作步骤，制备空白试样。

8.4　干物质含量测定

另称取一份冷冻干燥后的样品进行干物质含量的测定，具体要求按照HJ 613执行。

9　分析步骤

9.1 液相色谱参考条件

流动相：流动相A为0.2%（V/V）甲酸-2.0 mmol/L乙酸铵的水溶液（6.14），流动相B为乙腈（6.5），梯度洗脱程序见附录C。流速：0.3 ml/min。柱温：40 °C。进样体积：10 µl。

9.2 质谱参考条件

正离子模式，干燥气温度和流速分别为280 °C和11 L/min，雾化器压力20 psi，鞘气温度和流速分别为250 °C和11 L/min，毛细管电压3000 V。检测方式为多反应监测，母离子、子离子、碎裂电压、碰撞能和相对丰度等参数详见附录D。

注：对于不同质谱仪器，参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

9.3 仪器调谐

按照仪器使用说明书，在规定时间和频次内，对高效液相色谱-三重四极杆质谱仪（7.8）进行仪器质量数和灵敏度校正，以确保仪器处于最佳测试状态。在仪器使用过程中，如发现仪器质量数出现明显偏差或灵敏度大幅度下降时，应立即对仪器重新进行质量数和灵敏度校正。

9.4 标准曲线的绘制

分别取10 µl、50 µl、100 µl、500 µl、1 ml、2 ml、5 ml抗生素标准使用液（6.22）于7个10 ml容量瓶中，用甲醇（6.4）稀释至刻度，摇匀，制备至少7个浓度的标准系列，使抗生素类化合物的质量浓度分别为1.0 µg/L、5.0 µg/L、10 µg/L、50 µg/L、100 µg/L、200 µg/L和500 µg/L（参考浓度）。

从各瓶中分别取1 ml稀释液于棕色进样瓶中，加入100 µl内标物使用液（6.24）（内标参考浓度：100 µg/L）。混合液于氮气（6.27）下缓慢吹至近干，以甲酸-乙酸铵-乙腈的水溶液（6.15）重新定容至1.0 ml。按照仪器分析条件（9.1和9.2），由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样测定。

以标准系列溶液中目标化合物的浓度与内标物浓度的比值为横坐标，以其对应的峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标，建立标准曲线。

注：标准曲线应现用现配。当样品测量浓度超出标准曲线线性范围上限时，应适当稀释后重新测量。

9.5 试样测定

按照与绘制标准曲线相同的仪器分析条件（9.1和9.2）进行测定。

9.6 空白试样测定

按与试样测定相同的仪器分析条件（9.1和9.2）进行测定。

10 结果计算与表示

10.1 定性分析

每种待测组分选择1个母离子和2个对应的子离子进行监测。在相同的实验条件下，试样中待测组分的保留时间与混合标准溶液中对应待测组分保留时间的相对偏差应在±2.5%之内；各组分定性子离子的相对丰度（K）与标准溶液中对应定性子离子的相对丰度的相对偏差不超过表1规定的范围，则可判定为样品中存在对应的目标组分。17种抗生素及8种内标物的多反应监测谱图参见附录F。

表 1　定性分析时离子相对丰度的最大允许相对偏差

标准溶液中某组分定性子离子的相对丰度（K）的范围	$K > 50\%$	$20 < K \leq 50\%$	$10 < K \leq 20\%$	$K \leq 10\%$
样品中某组分定性子离子相对丰度（K）允许的最大相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

10.2　定量分析

目标化合物经定性鉴别后，根据定量离子的峰面积，用内标法定量。

目标化合物的定量分析可在相应的定量软件中进行分析，分析时选择内标法。或者用内标法按式(1)来定量计算土壤中抗生素的质量浓度。

$$w_i = \frac{\left(\frac{A_i}{A_{is}} - a\right) \cdot \rho_{is} \cdot V_i}{b \cdot M} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

w_i——土样中目标组分i的质量浓度，μg/kg；

A_i——土样中目标组分i的峰面积；

A_{is}——土样中目标组分i对应内标物的峰面积；

ρ_{is}——土样中目标组分i对应内标物的上机浓度，ng/ml；

a——标准曲线的截距；

b——标准曲线的斜率；

V_i——定容体积，ml；

M——土样的干重质量，g。

10.3　结果表示

当测定结果大于或等于100 μg/kg时保留三位有效数字；当结果小于100 μg/kg且大于或等于1.0 μg/kg时，保留两位有效数字；当结果小于1.0 μg/kg，保留至小数点后一位。

11　精密度和准确度

11.1　精密度

6家实验室对含17种抗生素浓度范围为10～150 μg/kg三个不同浓度水平的统一土壤样品进行了6次平行测定。低、中、高三个浓度水平下实验室内相对标准偏差范围分为2.1%～46%、2.1%～32%、1.8%～33%，实验室间相对标准偏差分别为9.2%～48%、15%～39%、11%～39%。每种目标组分相对标准偏差、重复性限和再现性限参见附录G。

11.2　准确度

6家实验室对含17种抗生素的统一样品进行了低、中和高三个不同含量水平的加标分析测定，加标浓度范围为10～150 μg/kg。加标回收率范围参见表2，每种目标组分回收率数据详见附录G。

表 2　17 种目标组分准确度测试结果

土壤类型	砂土	壤土	粘土
低浓度加标回收率范围/%	44～160	47～188	46～177
中浓度加标回收率范围/%	38～165	42～198	32～165
高浓度加标回收率范围/%	38～155	40～188	35～165

12　质量保证和质量控制

12.1　标准曲线

标准曲线的相关系数应≥ 0.99。

12.2　内标稳定性

样品中内标物响应值与同批次样品中内标物平均响应值的相对偏差应≤ 50%。

12.3　空白分析

每批次（≤ 20个样品）分析至少做一组空白试验，目标组分的浓度应低于检出限。

12.4　平行样测定

每批次（≤ 20个样品）应进行至少5%的平行样品（不少于1个）测定。当测定结果为10倍检出限以内（含10倍检出限），平行样的相对偏差应≤ 50%；当测定结果大于10倍检出限，平行样的相对偏差应≤ 40%。

12.5　基体加标

每批次（≤ 20个样品）应进行至少5%的基体加标样（不少于1个）测定，实际样品加标回收率应在32%～198%以内。

12.6　中间浓度检验

每连续分析20个样品进行1次标准曲线中间浓度点分析，其测定结果与实际浓度值的相对偏差应≤ 20%。若超出允许范围，应重新配制标准储备液，绘制标准曲线。

13　废物处理

实验操作过程产生的有机溶剂废液、使用过的标准物质不能随意倾倒，应集中存放，并交有资质的机构处置。

14　注意事项

本方法所用的溶剂和试剂均具有一定的毒性，对健康具有潜在的危害，应尽量避免与这些化学品的直接接触。实验操作过程中应按规定要求佩戴防护器具。

附　录　A
（规范性附录）
抗生素类化合物的基本资料

表 A.1　17 种抗生素的英文名称、CAS 号及其对应的内标物质

序号	化合物	英文名称	CAS号	分子式	所属类别	内标物质
1	磺胺氯哒嗪	Sulfachloropyridazine	80-32-0	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	磺胺类	磺胺甲噁唑-d_4
2	磺胺甲嘧啶	Sulfamerazine	127-79-7	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	磺胺类	磺胺甲嘧啶-d_4
3	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	651-06-9	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	磺胺类	磺胺二甲嘧啶-$^{13}C_6$
4	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	57-68-1	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	磺胺类	磺胺二甲嘧啶-$^{13}C_6$
5	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	磺胺类	磺胺甲噁唑-d_4
6	磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	磺胺类	磺胺二甲嘧啶-$^{13}C_6$
7	环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	氟喹诺酮类	环丙沙星-d_8
8	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	氟喹诺酮类	环丙沙星-d_8
9	克拉霉素	Clarithromycin	81103-11-9	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	大环内酯类	脱水红霉素-^{13}C-d_3
10	脱水红霉素	Erythromycin-H_2O	23893-13-2	$C_{37}H_{65}NO_{12}$	大环内酯类	脱水红霉素-^{13}C-d_3
11	北里霉素	Leucomycin	1392-21-8	$C_{39}H_{65}NO_{14}$	大环内酯类	脱水红霉素-^{13}C-d_3
12	罗红霉素	Roxithromycin	80214-83-1	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	大环内酯类	脱水红霉素-^{13}C-d_3
13	泰乐菌素	Tylosin	1401-69-0	$C_{46}H_{77}NO_{17}$	大环内酯类	脱水红霉素-^{13}C-d_3
14	金霉素	Chlotetracycline	57-62-5	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$	四环素类	噻苯咪唑-d_4
15	土霉素	Oxytetracycline	79-57-2	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	四环素类	噻苯咪唑-d_4
16	甲氧苄氨嘧啶	Trimethoprim	738-70-5	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	其他类	甲氧苄氨嘧啶-d_3
17	林可霉素	Lincomycin	154-21-2	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	其他类	林可霉素-d_3

附　录　B
（规范性附录）
方法检出限和测定下限

表 B.1　17 种抗生素的检出限和测定下限

序号	化合物	检出限 μg/kg	测定下限 μg/kg
1	磺胺吡啶	1.6	6.4
2	磺胺甲噁唑	1.2	4.8
3	磺胺甲嘧啶	0.9	3.6
4	磺胺二甲嘧啶	1.9	7.6
5	磺胺对甲氧嘧啶	1.3	5.2
6	磺胺氯哒嗪	1.0	4.0
7	甲氧苄氨嘧啶	1.7	6.8
8	诺氟沙星	3.8	15
9	环丙沙星	2.2	8.8
10	林可霉素	3.0	12
11	土霉素	4.7	19
12	金霉素	2.8	11
13	脱水红霉素	2.5	10
14	克拉霉素	1.5	6.0
15	北里霉素	0.9	3.6
16	罗红霉素	1.9	7.6
17	泰乐菌素	2.3	9.2

附　录　C
（资料性附录）
液相色谱参考条件

表 C.1　液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间/min	0.2%（V/V）甲酸-2.0 mmol/L乙酸铵的水溶液（A）	乙腈（B）
0	90%	10%
5	85%	15%
7	80%	20%
11	60%	40%
15	40%	60%
20	90%	10%
注：对于不同仪器或色谱柱，洗脱程序应针对目标化合物进行优化后确定。		

附　录　D
（资料性附录）
质谱参考条件

表 D.1　目标化合物及其内标的多离子反应监测条件

序号	化合物	保留时间 min	母离子 *m/z*	子离子 *m/z*	碎裂电压 V	碰撞能 eV	相对丰度 [b] %
1	磺胺氯哒嗪	7.82	285.0	155.9 [a] 91.9	380	17 29	66
2	磺胺甲嘧啶	4.12	265.1	156 [a] 108	380	37 17	61
3	磺胺对甲氧嘧啶	5.85	281.1	156 [a] 91.9	380	17 37	91
4	磺胺二甲嘧啶	5.56	279.1	186 [a] 92	380	17 33	59
5	磺胺甲噁唑	8.74	254.1	155.9 [a] 92.1	380	17 37	85
6	磺胺吡啶	3.64	250.1	155.9 [a] 92.1	380	17 37	81
7	克拉霉素	12.6	748.5	157.9 [a] 590.3	380	33 21	42
8	脱水红霉素	12.2	716.5	158 [a] 115.9	380	29 49	28
9	北里霉素	12.3	772.5	109 [a] 174	380	50 37	83
10	罗红霉素	12.8	837.5	158.1 [a] 679.2	380	37 25	83
11	泰乐菌素	11.7	916.5	173.8 [a] 43.1	380	41 50	18
12	金霉素	7.81	479.1	462 [a] 444	380	17 17	0.4
13	土霉素	5.26	461.2	426.2 [a] 201.1	380	17 41	22
14	环丙沙星	5.91	332.1	314.3 [a] 230.8	380	25 45	69
15	诺氟沙星	5.43	320.1	302 [a] 231	380	21 45	26
16	甲氧苄氨嘧啶	4.46	291.2	230 [a] 261	380	25 25	66
17	林可霉素	3.32	407.2	126.1 [a] 359.3	380	41 17	8.5
18	环丙沙星-d_8	5.84	340.2	322.2 [a] 235	380	21 41	69
19	脱水红霉素-^{13}C-d_3	12.2	720.6	162 [a] 562.3	380	17 33	72
20	林可霉素-d_3	3.32	410.6	129.1 [a] 73.1	380	29 69	2.7

表 D.1　目标化合物及其内标的多离子反应监测条件（续）

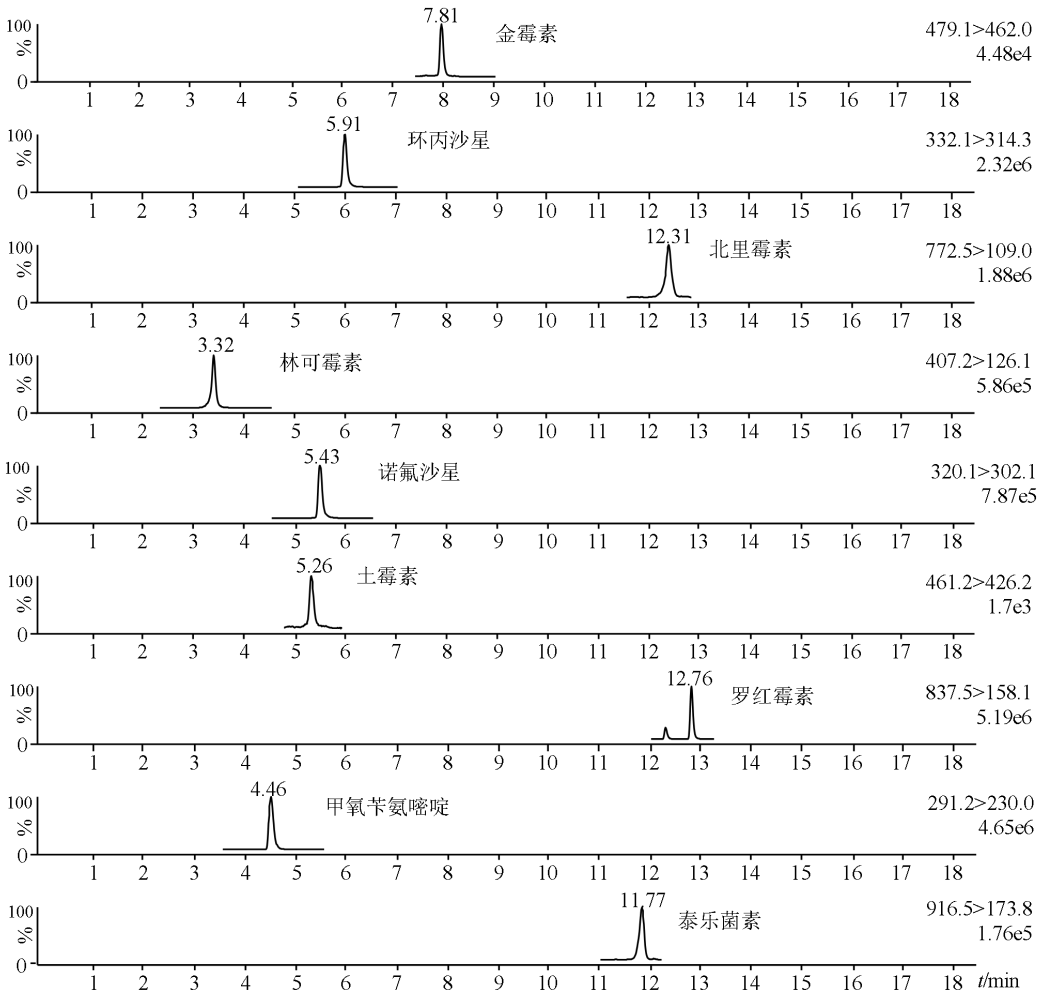
序号	化合物	保留时间 min	母离子 *m/z*	子离子 *m/z*	碎裂电压 V	碰撞能 eV	相对丰度 [b] %
21	磺胺甲嘧啶-d_4	4.14	269.1	160 [a] 112	380	12 16	93
22	磺胺二甲嘧啶-$^{13}C_6$	5.56	285.3	186.1 [a] 97.9	380	17 33	57
23	磺胺甲噁唑-d_4	8.68	258.1	160.1 [a] 95.9	380	17 29	93
24	噻苯咪唑-d_4	3.41	206.1	178.7 [a] 135	380	33 45	92
25	甲氧苄氨嘧啶-d_3	4.38	294.4	230 [a] 123	380	21 49	71

注：对于不同的质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应优化质谱参数。

[a] 为定量子离子。

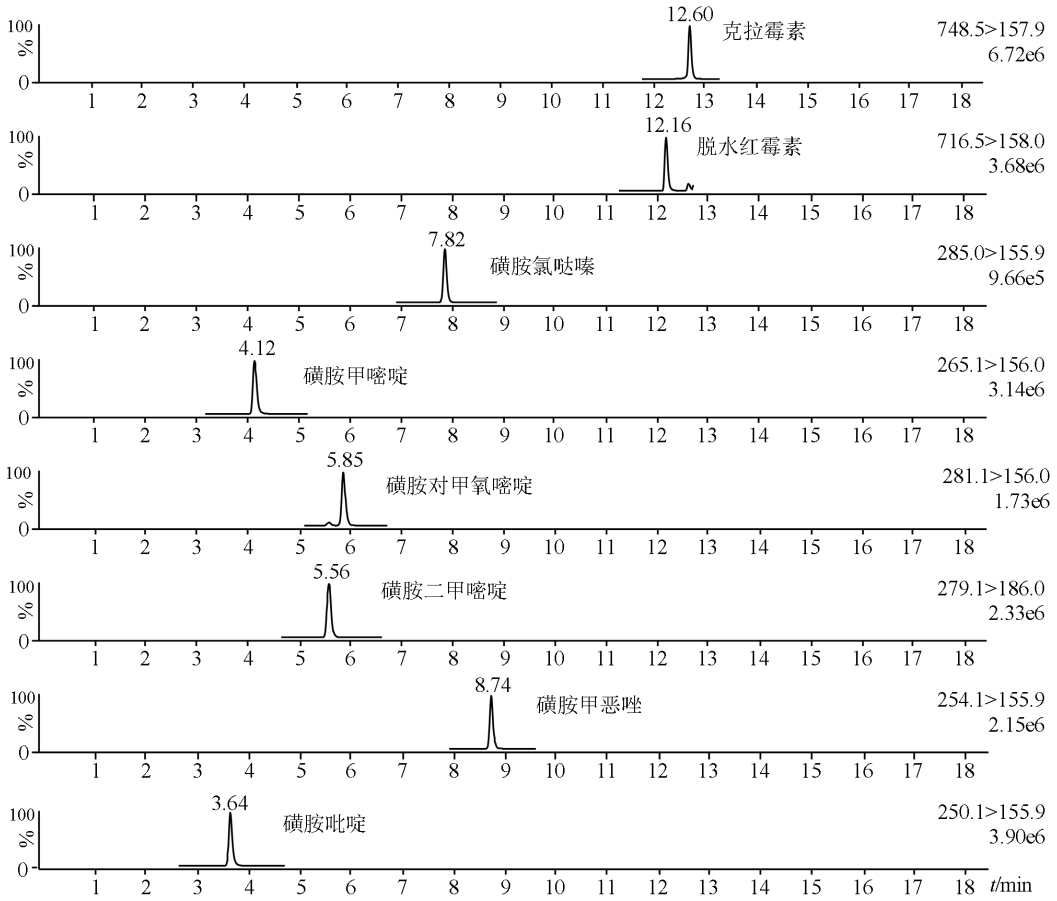
[b] 相对丰度(%)=(定性子离子峰面积/定量子离子峰面积)×100。

附　录　E
（资料性附录）
标准物质和内标物质的谱图



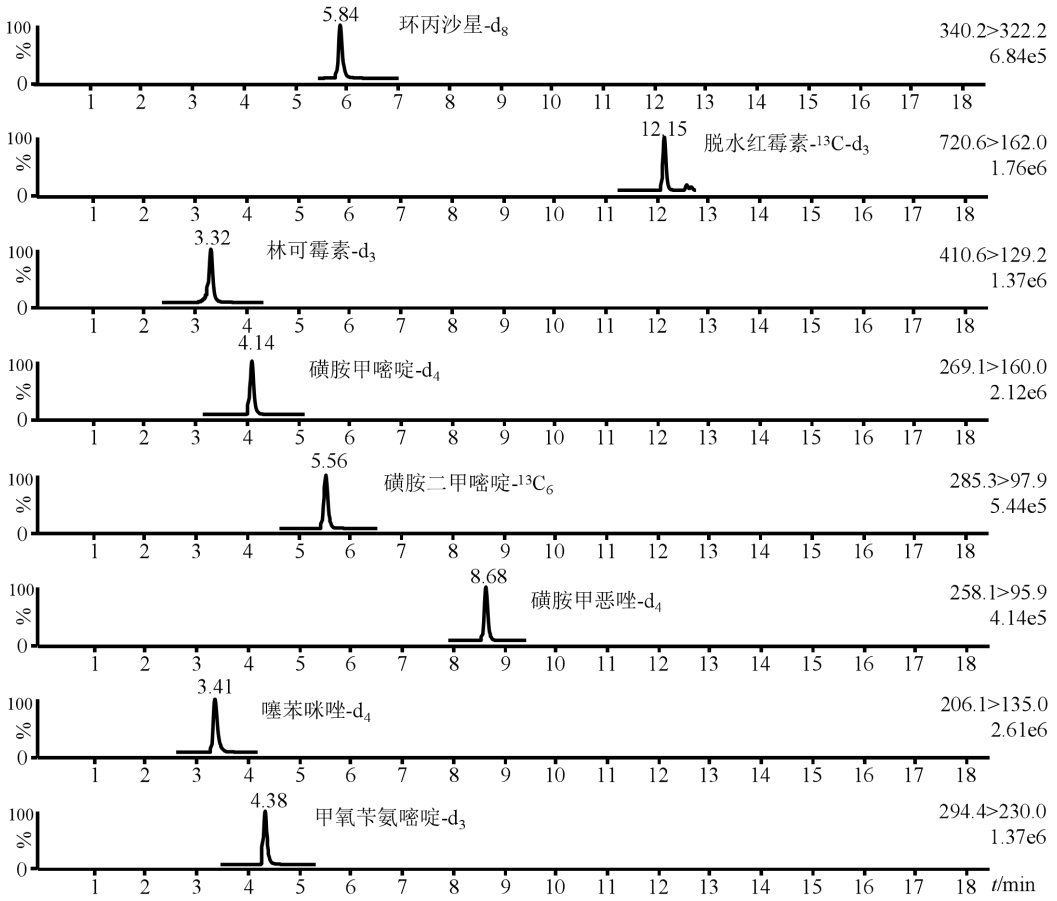
注：对于不同的质谱仪器和色谱柱，保留时间、母离子>子离子、峰面积可能存在差异。

图 E.1　100 μg/L 标准物质的多重反应监测谱图



注：对于不同的质谱仪器和色谱柱，保留时间、母离子>子离子、峰面积可能存在差异。

图 E.1　100 μg/L 标准物质的多重反应监测谱图（续）



注：对于不同的质谱仪器和色谱柱，保留时间、母离子>子离子、峰面积可能存在差异。

图 E.2　100 μg/L 内标物质的多重反应监测谱图

附　录　F
（资料性附录）
方法的精密度和准确度

表 F.1　方法精密度汇总表

序号	化合物	本底值 μg/kg	加标量 μg/kg	总均值 μg/kg	实验室内相对标准偏差 %	实验室间相对标准偏差 %	r^a μg/kg	R^b μg/kg
1	磺胺吡啶	ND[c]	10	5.3	3.7~18	11	1.7	2.2
		ND[c]	50	26	5.1~10	19	6.3	15
		ND[c]	150	72	5.6~10	27	16	56
2	磺胺甲噁唑	7.2±2.1	-	11	7.6~13	9.2	3.3	4.2
		ND[c]	50	50	3.8~10	15	8	23
		ND[c]	150	144	3.0~11	15	24	64
3	磺胺甲嘧啶	8.9±1.0	-	7.9	5.1~24	22	3.1	5.6
		37±12	-	43	5.0~13	22	11	29
		ND[c]	150	151	2.2~15	13	38	64
4	磺胺二甲嘧啶	ND[c]	10	11	3.5~10	15	2.3	5.1
		51±5	-	53	2.1~8.6	15	9.1	24
		126±18	-	115	8.4~11	21	32	74
5	磺胺对甲氧嘧啶	16±1.1	-	14	5.0~24	31	5.2	13
		86±17	-	96	5.4~13	15	24	46
		138±14	-	117	4.6~12	24	28	83
6	磺胺氯哒嗪	ND[c]	10	7.4	5.2~10	21	1.4	4.5
		ND[c]	50	44	3.7~11	19	9	24
		ND[c]	150	134	3.9~13	13	38	61
7	甲氧苄氨嘧啶	ND[c]	20	20	2.1~27	28	8.3	17
		43±3.8	-	37	5.1~24	26	16	31
		ND[c]	150	161	1.8~30	12	55	73
8	诺氟沙星	ND[c]	10	9.4	2.8~19	18	3	5.5
		45±5.1	-	44	3.2~18	32	14	41
		ND[c]	100	74	6.8~25	39	22	84
9	环丙沙星	ND[c]	10	10	5.0~24	27	4.2	8.5
		42±3.4	-	45	4.6~22	34	13	44
		ND[c]	100	100	4.3~22	28	29	82
10	林可霉素	ND[c]	10	11	10~23	19	5.1	7.5
		66±4.6	-	63	3.4~28	18	23	38
		ND[c]	150	168	4.4~22	15	61	89

表 F.1　方法精密度汇总表（续）

序号	化合物	本底值 μg/kg	加标量 μg/kg	总均值 μg/kg	实验室内相对标准偏差 %	实验室间相对标准偏差 %	*r* μg/kg	*R* μg/kg
11	土霉素	22±7.1	-	16	8.3~15	18	4.8	9.2
		54±5.2	-	63	3.2~27	25	32	53
		ND[c]	150	144	3.2~18	21	45	94
12	金霉素	7.7±1.4	-	10	11~29	29	6.1	10
		87±5.1	-	93	5.0~19	24	33	69
		ND[c]	150	158	5.1~28	16	70	96
13	脱水红霉素	8.4±0.3	-	8.5	10~17	43	3.3	11
		67±4.9	-	49	4.5~15	39	13	54
		ND[c]	100	79	2.9~8.6	24	13	47
14	克拉霉素	ND[c]	10	12	11~22	21	5.5	8.8
		73±6.7	-	68	4.6~10	30	16	59
		ND[c]	150	181	6.0~27	13	70	91
15	北里霉素	ND[c]	10	9.4	8.5~15	24	2.9	6.7
		ND[c]	50	56	5.4~11	29	14	48
		ND[c]	150	160	4.8~15	20	41	97
16	罗红霉素	ND[c]	20	19	4.2~8.1	12	3.4	7.2
		69±5	-	60	3.6~26	37	23	65
		ND[c]	150	166	2.1~12	11	32	58
17	泰乐菌素	ND[c]	10	10	2.3~46	48	4	14
		26±6.1	-	30	4.1~32	16	14	19
		53±8.3	-	50	4.3~33	18	19	30

[a] *r* 表示重复性限。

[b] *R* 表示重复性限。

[c] ND 表示未检出。

表 F.2　方法准确度汇总表

序号	化合物	样品类型	本底值 μg/kg	加标浓度 μg/kg	加标回收率范围 %	$\overline{P}$ [a] %	$\overline{P} \pm 2S_{\overline{P}}$ [b] %
1	磺胺吡啶	壤土	ND[c]	10	47~72	55	55±19
				50	42~65	52	52±19
				150	40~73	51	51±26
		砂土	ND[c]	10	44~70	53	53±20
				50	39~58	51	51±16
				150	38~69	50	50±22
		粘土	ND[c]	10	46~64	52	52±13
				50	37~55	48	48±14
				150	37~59	47	47±17
2	磺胺甲噁唑	壤土	7.2±2.1	10	79~105	92	92±21
				50	80~122	106	106±29
				150	64~130	102	102±44
		砂土	ND[c]	10	73~99	87	87±23
				50	76~114	99	99±25
				150	64~120	97	97±38
		粘土	ND[c]	10	70~99	86	86±22
				50	69~106	91	91±25
				150	59~107	89	89±33
3	磺胺甲嘧啶	壤土	8.9±1.0	10	92~127	102	102±25
				50	85~117	105	105±23
				150	74~132	108	108±44
		砂土	ND[c]	20	62~112	96	96±38
				50	62~112	96	96±38
				150	75~134	104	104±40
		粘土	37±12	20	53~112	88	88±42
				50	60~102	88	88±32
				150	60~98	85	85±29
4	磺胺二甲嘧啶	壤土	126±18	10	48~125	90	90±53
				50	66~134	97	97±45
				150	74~113	94	94±32
		砂土	51±5	20	64~132	105	105±51
				50	80~114	95	95±28
				150	61~108	90	90±37
		粘土	ND[c]	10	78~121	93	93±30
				50	83~130	103	103±39
				150	83~136	108	108±47

表 F.2　方法准确度汇总表（续）

序号	化合物	样品类型	本底值 μg/kg	加标浓度 μg/kg	加标回收率范围 %	$\overline{P}$ [a] %	$\overline{P} \pm 2S_{\overline{P}}$ [b] %
5	磺胺对甲氧嘧啶	壤土	86±17	20	73~114	95	95±38
				50	60~131	101	101±53
				150	68~144	107	107±49
		砂土	16±1.1	20	85~155	117	117±54
				50	77~155	126	126±57
				150	88~144	130	130±43
		粘土	138±14	20	63~105	87	87±34
				50	63~144	96	96±56
				150	56~117	86	86±51
6	磺胺氯哒嗪	壤土	ND [c]	10	66~122	88	88±44
				50	72~166	109	109±66
				150	76~138	103	103±50
		砂土	ND [c]	10	61~109	86	86±37
				50	55~115	86	86±44
				150	60~111	86	86±41
		粘土	ND [c]	10	60~167	89	89±79
				50	78~121	91	91±34
				150	61~102	81	81±29
7	甲氧苄氨嘧啶	壤土	ND [c]	20	73~140	112	112±53
				50	64~130	111	111±50
				150	63~151	109	109±65
		砂土	ND [c]	20	107~126	115	115±16
				50	62~118	99	99±41
				150	62~144	96	96±64
		粘土	43±3.8	20	94~141	115	115±40
				50	79~109	101	101±23
				150	76~113	93	93±27
8	诺氟沙星	壤土	ND [c]	10	82~114	97	97±22
				50	69~133	112	112±51
				100	55~156	115	115±71
		砂土	45±5.1	20	67~138	111	111±49
				50	78~121	101	101±28
				100	50~131	105	105±60
		粘土	ND [c]	10	53~108	88	88±40
				50	32~107	85	85±54
				100	35~120	90	90±60

表 F.2　方法准确度汇总表（续）

序号	化合物	样品类型	本底值 μg/kg	加标浓度 μg/kg	加标回收率范围 %	$\overline{P}$ [a] %	$\overline{P} \pm 2S_{\overline{P}}$ [b] %
9	环丙沙星	壤土	ND[c]	10	73~147	97	97±55
				50	48~103	88	88±44
				100	57~169	114	114±78
		砂土	42±3.4	10	70~133	112	112±46
				50	90~123	105	105±25
				100	68~155	117	117±62
		粘土	ND[c]	10	64~107	91	91±29
				50	44~118	89	89±49
				100	57~141	115	115±63
10	林可霉素	壤土	ND[c]	20	91~125	109	109±30
				50	89~130	111	111±33
				150	75~139	120	120±47
		砂土	ND[c]	20	79~160	117	117±53
				50	65~129	105	105±46
				150	87~155	125	125±47
		粘土	66±4.6	20	90~123	101	101±27
				50	94~143	113	113±42
				150	96~122	110	110±17
11	土霉素	壤土	54±5.2	20	85~126	105	105±27
				50	77~149	115	115±54
				150	79~116	93	93±30
		砂土	ND[c]	20	71~147	114	114±56
				50	45~151	107	107±79
				150	42~148	91	91±74
		粘土	22±7.1	10	75~135	110	110±46
				50	87~131	110	110±32
				150	56~140	93	93±55
12	金霉素	壤土	87±5.1	10	81~159	120	120±59
				50	60~169	126	126±77
				150	47~149	101	101±71
		砂土	ND[c]	10	84~144	113	113±38
				50	59~166	110	110±68
				150	59~138	97	97±53
		粘土	7.7±1.4	10	92~124	107	107±28
				50	76~134	104	104±43
				150	69~121	94	94±36

表 F.2　方法准确度汇总表（续）

序号	化合物	样品类型	本底值 μg/kg	加标浓度 μg/kg	加标回收率范围 %	$\overline{P}$ [a] %	$\overline{P} \pm 2S_{\overline{P}}$ [b] %
13	脱水红霉素	壤土	67±4.9	10	62~188	110	110±85
				50	63~135	101	101±51
				100	53~158	109	109±86
		砂土	8.4±0.3	10	76~124	102	102±34
				50	39~125	94	94±59
				100	54~113	90	90±42
		粘土	ND [c]	10	99~154	119	119±54
				50	43~105	82	82±42
				100	52~116	94	94±45
14	克拉霉素	壤土	ND [c]	10	86~153	117	117±54
				50	86~167	133	133±68
				150	83~165	124	124±58
		砂土	73±6.7	10	80~130	100	100±38
				100	81~108	97	97±19
				150	88~135	107	107±35
		粘土	ND [c]	10	95~149	116	116±40
				50	83~144	123	123±55
				150	71~146	120	120±59
15	北里霉素	壤土	ND [c]	10	75~123	99	99±31
				50	76~162	121	121±59
				150	79~156	112	112±64
		砂土	ND [c]	10	75~131	103	103±43
				50	79~130	104	104±37
				150	73~148	116	116±58
		粘土	ND [c]	10	70~116	97	97±30
				50	71~145	111	111±52
				150	70~130	108	108±45
16	罗红霉素	壤土	ND [c]	20	95~136	110	110±29
				50	79~198	120	120±94
				150	72~188	106	106±91
		砂土	69±5	10	52~138	99	99±59
				50	93~144	112	112±39
				150	85~140	107	107±42
		粘土	ND [c]	20	83~177	109	109±73
				50	70~165	109	109±78
				150	91~165	109	109±56

表 F.2　方法准确度汇总表（续）

序号	化合物	样品类型	本底值 μg/kg	加标浓度 μg/kg	加标回收率范围 %	$\overline{P}$ [a] %	$\overline{P}\pm 2S_{\overline{P}}$ [b] %
17	泰乐菌素	壤土	26±6.1	10	64~118	91	91±40
				25	55~115	91	91±49
				50	40~113	93	93±56
		砂土	53±8.3	10	85~153	116	116±44
				25	74~118	101	101±34
				50	82~138	114	114±38
		粘土	ND [c]	10	48~140	108	108±68
				25	75~132	101	101±41

[a] $\overline{P}$ 表示 6 个验证实验室加标回收率的均值。
[b] $S_{\overline{P}}$ 表示 6 个验证实验室加标回收率的标准偏差。
[c] ND 表示未检出。