

中华人民共和国国家标准

GBxxxx—20xx

食品安全国家标准 蜂产品中磺胺类和磺胺增效剂类药物残留量 的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—

Determination of sulfonamides and sulfonamide potentiators residues in bee products by liquid chromatography–tandem mass spectrometric method

(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/T 18932.17—2003《蜂蜜中16种磺胺残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法》和GB/T 22947—2008《蜂王浆中十八种磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。与GB/T 18932.17—2003、GB/T 22947—2008相比，除结构调整和编辑性改动外，主要变化如下：

- 标准文本格式修改为食品安全国家标准文本格式；
- 标准范围增加药物品种数量；
- 标准灵敏度进一步提高。

本文件及其所替代文件的历次版本发布情况为：

- GB/T 18932.17—2003、GB/T 22947—2008。

食品安全国家标准

蜂产品中磺胺类和磺胺增效剂类药物残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了蜂蜜和蜂王浆中磺胺及其增效剂类药物残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于蜂蜜和蜂王浆中磺胺脒、磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺甲噻二唑、苯甲酰磺胺、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲异嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺氯吡嗪、磺胺喹噁啉、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺苯吡唑、二甲氧苄啶、奥美普林和甲氧苄啶残留量的测定。

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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

蜂蜜试样中残留的磺胺及其增效剂类药物，经乙腈提取，分散固相萃取净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配外标法定量。

蜂王浆试样中残留的磺胺及其增效剂类药物，经乙腈提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配外标法定量。

5 试剂与材料

以下所用试剂，除特殊注明外均为分析纯试剂；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 甲酸（HCOOH）：色谱纯。
- 5.1.3 无水硫酸钠（Na₂SO₄）。
- 5.1.4 氯化钠（NaCl）。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1 mL，用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.2 10%乙腈溶液：取乙腈 10 mL，用水稀释至 100 mL，混匀。

5.3 标准品

磺胺脒、磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺甲噻二唑、苯甲酰磺胺、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲异嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺氯吡嗪、磺胺喹噁啉、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺苯吡唑、二甲氧苄啶、奥美普林和甲氧苄啶，含量均 $\geq 95\%$ ，具体见附录 A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取各标准品约 10 mg，精密称定，加乙腈适量使溶解并稀释定容至 10 mL 容量瓶，配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。 -18°C 以下保存，有效期 6 个月。

5.4.2 混合标准工作液：精密量取标准储备液各 0.1 mL，于 10 mL 容量瓶中，用 10% 乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准工作液。现配现用。

5.5 材料

5.5.1 固相萃取柱¹：增强型脂质去除吸附柱（EMR-Lipid），600 mg/6 mL，或相当者。

5.5.2 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（PSA）：40 μm ~60 μm 。

5.5.3 十八烷基硅烷键合硅胶（C₁₈）：40 μm ~60 μm 。

5.5.4 微孔尼龙滤膜：0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 高速离心机： $\geq 8\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 。

6.4 振荡器。

6.5 涡旋混合器。

6.6 固相萃取装置。

6.7 氮吹仪。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或冷藏的空白或供试蜂产品，如无结晶，将其搅拌均匀。有结晶的蜂蜜，则置于不超过 60°C 的水浴中温热，待样品全部融化后搅匀，并冷却至室温。蜂王浆从冷冻环境中取出，搅拌均匀后取样。

a) 取均匀后的供试样品，作为供试试样；

b) 取均匀后的空白样品，作为空白试样；

c) 取均匀后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

¹注：此处列出的 EMR-Lipid 固相萃取柱是为了提供参考，并非限制用途，其他品牌使用符合相同厂家或型号的固相萃取柱

7.2 试样的保存

蜂蜜样品于室温下避光保存；蜂王浆样品于-18℃下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

8.1.1 蜂蜜

称取蜂蜜试料(5±0.05)g,于50 mL离心管中,加入0.1%甲酸溶液5 mL,涡旋混匀后加入乙腈10 mL,振荡5 min,加入无水硫酸钠4 g和氯化钠1 g,涡旋1 min后8000 r/min离心5 min,取上清液,备用。

8.1.2 蜂王浆

称取蜂王浆试料(1±0.05)g,于50 mL离心管中,加入水2 mL,涡旋混匀后加入乙腈8 mL,振荡10 min,8000 r/min离心5 min,取上清液,备用。

8.2 净化

8.2.1 蜂蜜

吸取备用液,于15 mL离心管中,加入PSA 50 mg、C₁₈ 150 mg、无水硫酸钠900 mg,涡旋1 min,8000 r/min离心5 min,取上层清液2 mL在40℃水浴氮气吹干,残余物中加入10%乙腈溶液1 mL,充分溶解,微孔滤膜过滤,供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.2.2 蜂王浆

吸取备用液,过固相萃取柱,收集流出液,取流出液1.0 mL在40℃水浴氮气吹干,残余物中加入10%乙腈溶液2 mL,涡旋1 min,微孔滤膜过滤,供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液适量,分别加入经提取和净化的蜂蜜或蜂王浆空白试料残渣中,40℃水浴氮气吹干,加入10%乙腈溶液1.0 mL涡旋溶解残余物,配制成浓度为0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L的基质匹配标准工作溶液,微孔滤膜过滤,供液相色谱-串联质谱仪测定。以定量离子对峰面积为纵坐标、标准溶液浓度为横坐标,绘制基质匹配标准曲线。求回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm), 或相当者;
- 流动相: A为0.1%甲酸溶液, B为乙腈, 梯度洗脱程序见表1;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 柱温: 35℃;
- 进样量: 5 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	98	2
1.5	90	10
7.5	87	13
8.0	78	22
9.0	75	25
13.0	2	98
14.0	2	98
14.1	98	2
17.0	98	2

8.4.2 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（MRM）；
- d) 干燥气温度：350 °C；
- e) 干燥气流速：7 L/min；
- f) 雾化器压力：40 psi
- g) 鞘气温度：350 °C；
- h) 鞘气流速：12 L/min；
- i) 毛细管电压：3 500 V；
- j) 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、定量离子对和碰撞能量

化合物名称	定性离子对（碰撞能量） <i>m/z</i> (eV)	定量离子对（碰撞能量） <i>m/z</i> (eV)
磺胺脒	215.0 > 92.0 (30) 215.0 > 156.0 (15)	215.0 > 92.0 (30)
磺胺醋酰	215.0 > 156.0 (10) 215.0 > 108.0 (20)	215.0 > 156.0 (10)
磺胺二甲嘧啶	279.0 > 186.0 (15) 279.0 > 156.0 (20)	279.0 > 186.0 (15)
磺胺嘧啶	251.0 > 156.0 (15) 251.0 > 108.0 (20)	251.0 > 156.0 (15)
磺胺噻唑	256.0 > 156.0 (15) 256.0 > 108.0 (20)	256.0 > 156.0 (15)
磺胺吡啶	250.0 > 156.0 (15) 250.0 > 108.0 (20)	250.0 > 156.0 (15)

表 2 (续)

化合物名称	定性离子对 (碰撞能量) <i>m/z</i> (eV)	定量离子对 (碰撞能量) <i>m/z</i> (eV)
二甲氧苄啶	261.0>245.0 (30) 261.0>123.0 (23)	261.0>245.0 (30)
磺胺甲基嘧啶	265.0>156.0 (18) 265.0>172.0 (18)	265.0>156.0 (18)
甲氧苄啶	291.0>230.0 (25) 291.0>123.0 (25)	291.0>230.0 (25)
磺胺二甲唑	268.0>156.0 (16) 268.0>108.0 (28)	268.0>156.0 (16)
磺胺二甲异嘧啶	279.0>124.0 (20) 279.0>186.0 (20)	279.0>124.0 (20)
奥美普林	275.0>259.0 (30) 275.0>124.0 (28)	275.0>259.0 (30)
磺胺甲氧哒嗪	281.0>156.0 (15) 281.0>126.0 (20)	281.0>156.0 (15)
磺胺甲噻二唑	271.0>156.0 (15) 271.0>108.0 (20)	271.0>156.0 (15)
磺胺对甲氧嘧啶	281.0>156.0 (15) 281.0>126.0 (20)	281.0>156.0 (15)
磺胺间甲氧嘧啶	281.0>156.0 (20) 281.0>126.0 (20)	281.0>156.0 (20)
磺胺氯哒嗪	285.0>156.0 (10) 285.0>108.0 (20)	285.0>156.0 (10)
磺胺邻二甲氧嘧啶	311.0>156.0 (20) 311.0>108.0 (30)	311.0>156.0 (20)
磺胺甲噁唑	254.0>108.0 (10) 254.0>156.0 (25)	254.0>108.0 (10)
磺胺二甲异噁唑	268.0>156.0 (10) 268.0>113.0 (25)	268.0>156.0 (10)
苯甲酰磺胺	277.0>156.0 (8) 277.0>108.0 (25)	277.0>156.0 (8)
磺胺氯吡嗪	285.0>156.0 (18) 285.0>130.0 (30)	285.0>156.0 (18)
磺胺间二甲氧嘧啶	311.0>156.0 (25) 311.0>108.0 (30)	311.0>156.0 (25)
磺胺喹噁啉	301.0>156.0 (15) 301.0>108.0 (25)	301.0>156.0 (15)
磺胺苯吡唑	315.0>158.0 (25) 315.0>108.0 (15)	315.0>158.0 (25)

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中磺胺及其增效剂类药物与基质匹配标准溶液中磺胺及其增效剂类药物的保留时间偏差在 $\pm 0.1\text{min}$ 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溶液相对离子丰度一致。其允许偏差为 $\pm 40\%$ 。

8.4.3.2 定量测定

取试样溶液和基质匹配标准工作液，作单点或多点校准，按外标法以色谱峰面积定量。基质匹配标准溶液及试样溶液中目标药物的特征离子质量色谱峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。磺胺及其增效剂类药物基质匹配标准溶液特征离子色谱图见附录B。

8.5 空白试验

取空白试样，除不加药物外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中磺胺及其增效剂类药物的残留量按标准曲线或公式：蜂蜜试样按公式（1），蜂王浆试样按公式（2）计算：

$$X = \frac{A \times C_s \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

$$X = \frac{A \times C_s \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_4 \times m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- X ——试样中磺胺及其增效剂类药物残留量，单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)；
- A ——试样溶液中磺胺及其增效剂类药物的峰面积；
- C_s ——基质匹配标准溶液中磺胺类药物及其增效剂浓度，单位为微克每升 ($\mu\text{g}/\text{L}$)；
- V_1 ——提取液体积，单位为毫升 (mL)；
- V_2 ——分取上清液体积，单位为毫升 (mL)；
- V_3 ——定容体积，单位为毫升 (mL)；
- V_4 ——分取流出液体积，单位为毫升 (mL)；
- A_s ——基质匹配标准溶液中磺胺类和磺胺增效剂类药物的峰面积；
- 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

本方法在蜂蜜中的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；在蜂王浆中的检出限为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在蜂蜜中1~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为60%~110%；在蜂王浆中10~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为60%~120%。

10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 20\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

征求意见稿

附录 A

(资料性)

磺胺及其增效剂类药物的英文名称、分子式和CAS号

磺胺及其增效剂类药物的英文名称、分子式和CAS号见表A. 1。

表 A. 1 磺胺类药物及其增效剂的英文名称、分子式和 CAS 号

化合物名称	英文名称	分子式	CAS 号
磺胺脒	sulfaguanidine	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	57-67-0
磺胺醋酰	sulfacetamide	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃ S	144-80-9
磺胺吡啶	sulfapyridine	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	144-83-2
磺胺嘧啶	sulfadiazine	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	68-35-9
磺胺甲噁唑	sulfamethoxazole	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	723-46-6
磺胺噻唑	sulfathiazole	C ₉ H ₆ N ₃ O ₂ S ₂	72-14-0
磺胺甲基嘧啶	sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	127-79-7
磺胺二甲唑	sulfamoxole	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	729-99-7
磺胺二甲异噁唑	sulfisoxazole	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	127-69-5
磺胺甲噻二唑	sulfamethizole	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	144-82-1
苯甲酰磺胺	sulfabenzamide	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	127-71-9
磺胺二甲嘧啶	sulfamethazine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1
磺胺二甲异嘧啶	sulfisomidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	515-64-0
磺胺对甲氧嘧啶	sulfameter	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	651-06-9
磺胺间甲氧嘧啶	sulfamonomethoxine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	1220-83-3
磺胺甲氧吡嗪	sulfamethoxy pyridazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	80-35-3
磺胺氯吡嗪	sulfachloropyridazine	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	80-32-0
磺胺氯吡嗪	sulfachloropyrazine	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	102-65-8
磺胺喹噁啉	sulfaquinoxaline	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	59-40-5
磺胺邻二甲氧嘧啶	sulfadoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6
磺胺间二甲氧嘧啶	sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	122-11-2
磺胺苯吡唑	sulfaphenazole	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	526-08-9

表 A. 1 (续)

中文通用名称	英文通用名称	化学分子式	CAS 号
二甲氧苄啶	diaveridine	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₂	5355-16-8
奥美普林	ormetoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₂	6981-18-6
甲氧苄啶	trimethoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	738-70-5

征求意见稿

附录 B

(资料性)

磺胺及其增效剂类药物特征离子质量色谱图

基质匹配标准溶液中磺胺及其增效剂类药物特征离子质量色谱图见图B. 1和B. 2。

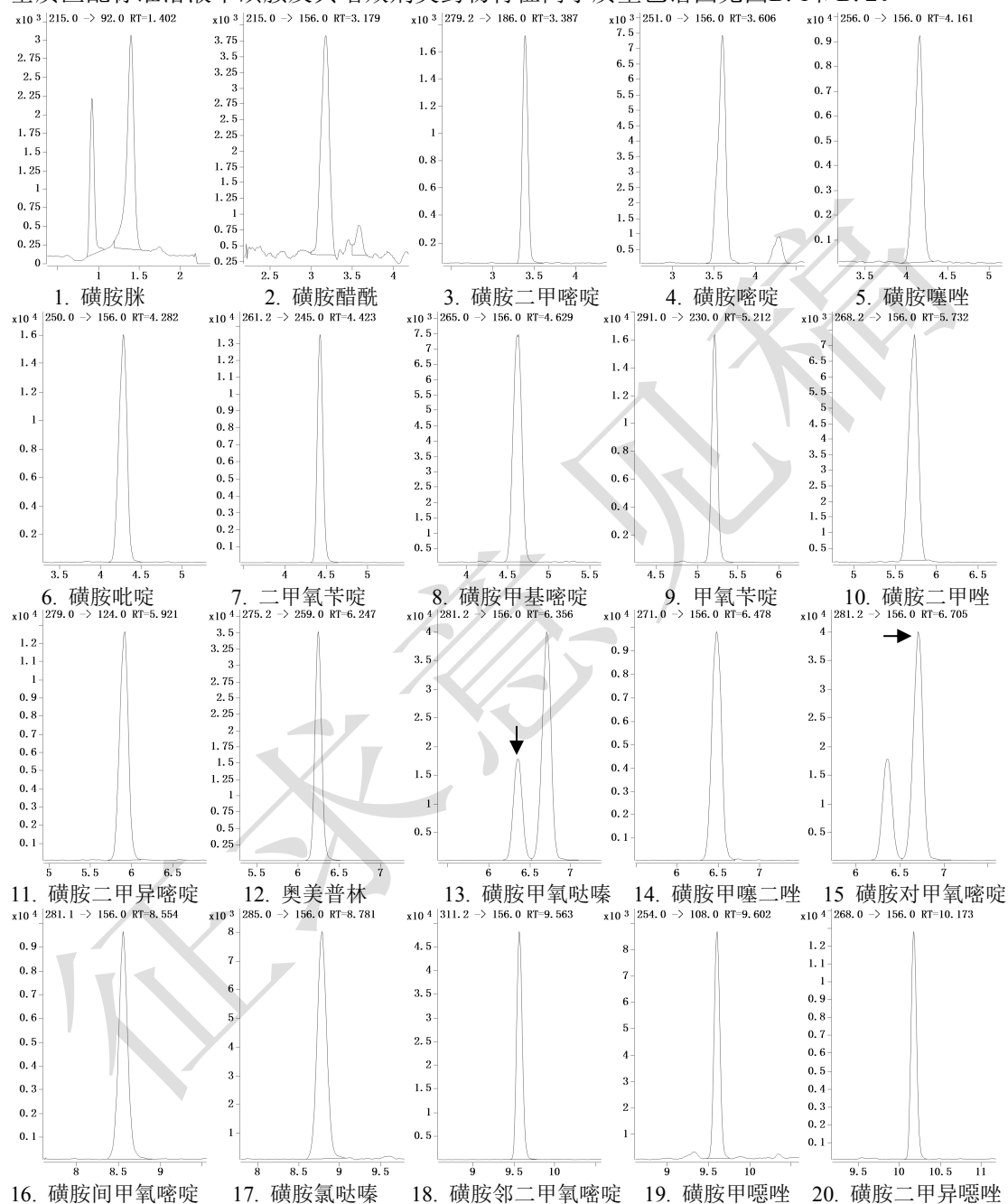


图 B.1 蜂蜜基质匹配标准溶液中磺胺及其增效剂类药物特征离子质量色谱图 (0.5 μg/L)

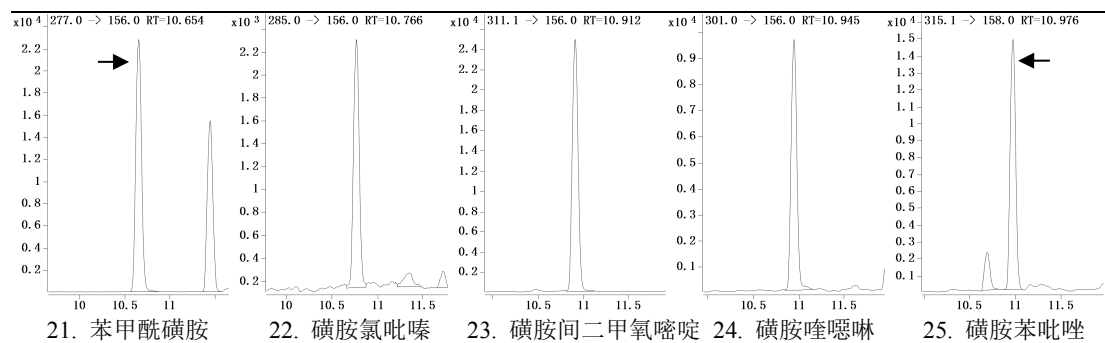


图 B.1 (续)

征求意见稿

