



中华人民共和国国家标准

GB 31657.10—2025

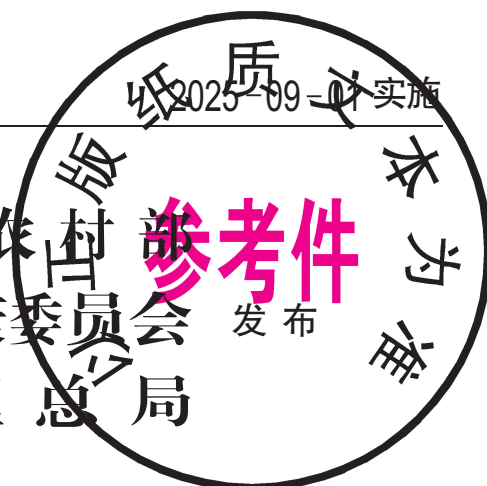
代替 GB/T 18932.17—2003、GB/T 22947—2008

食品安全国家标准 蜂产品中磺胺类药物及抗菌增效剂 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

2025-06-03 发布

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



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：

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

本文件及其所代替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

蜂产品中磺胺类药物及抗菌增效剂残留量的测定

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类药物及抗菌增效剂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类药物及抗菌增效剂，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类药物及抗菌增效剂，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(CH_3CN):色谱纯。

5.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。

5.1.3 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

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 1 000 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,用乙腈稀释至刻度,配制成浓度为 10 µg/mL 的混合标准工作液。-18 °C 以下保存,有效期 1 个月。

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:≥8 000 r/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。

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 °C 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 8 000 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,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液,备用。

① 此处列出 EMR-Lipid 固相萃取柱仅是为了提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的固相萃取柱。

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,8 000 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,向蜂蜜试料残渣中加入 10%乙腈溶液 1.0 mL,向蜂王浆试料残渣中加入 10%乙腈溶液 2.0 mL,涡旋溶解残余物,配制浓度为 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

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

表 1 梯度洗脱程序

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 ℃;
- e) 干燥气流速:7 L/min;
- f) 雾化器压力:40 psi;
- g) 鞘气温度:350 ℃;
- 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、定量离子和碰撞能量

化合物名称	定性离子对(碰撞能量), m/z (eV)	定量离子对(碰撞能量), m/z (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)
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,试样溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂与基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂的保留时间偏差在±0.1 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±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。对于试样中目标药物残留量超过仪器测定线性范围的,在提取时根据药物浓度稀释试样,使试样溶液稀释后目标药物的响应在仪器线性范围内。基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂特征离子质量色谱图见附录 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

试样中磺胺类及抗菌增效剂的残留量按标准曲线或公式:蜂蜜试样按公式(1)计算,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 —— 试样中磺胺类药物及抗菌增效剂残留量的数值,单位为微克每千克(μg/kg);
- A —— 试样溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂的峰面积;
- C_s —— 基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂浓度的数值,单位为微克每升(μg/L);
- V₁ —— 提取液体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₂ —— 分取上清液体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₃ —— 定容体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₄ —— 分取流出液体积的数值,单位为毫升(mL);
- A_s —— 基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂的峰面积;
- m —— 试样质量的数值,单位为克(g)。

注:计算结果以平行测定结果的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

10 方法灵敏度、正确度、重复性和再现性

10.1 灵敏度

本方法在蜂蜜中的检出限为 0.5 μg/kg,定量限为 1 μg/kg;在蜂王浆中的检出限为 5 μg/kg,定量限为 10 μg/kg。

10.2 正确度

本方法在蜂蜜中 1 μg/kg~10 μg/kg 添加浓度水平上的回收率为 60%~110%;在蜂王浆中 10 μg/kg~100 μg/kg 添加浓度水平上的回收率为 70%~120%。

10.3 重复性和再现性

本方法重复性相对标准偏差≤15%,再现性相对标准偏差≤20%。

附 录 A
(资料性)

磺胺类药物及抗菌增效剂的中英文名称、化学分子式和 CAS 号

磺胺类药物及抗菌增效剂的中英文名称、化学分子式和 CAS 号见表 A.1。

表 A.1 磺胺类药物及抗菌增效剂的中英文名称、化学分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
磺胺脒	Sulfaguanidine	$C_7H_{10}N_4O_2S$	57-67-0
磺胺醋酰	Sulfacetamide	$C_8H_{10}N_2O_3S$	144-80-9
磺胺吡啶	Sulfapyridine	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	144-83-2
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	68-35-9
磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	723-46-6
磺胺噻唑	Sulfathiazole	$C_9H_9N_3O_2S_2$	72-14-0
磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	127-79-7
磺胺二甲唑	Sulfamoxole	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	729-99-7
磺胺二甲异噁唑	Sulfisoxazole	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	127-69-5
磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	144-82-1
苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	$C_{13}H_{12}N_2O_3S$	127-71-9
磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	57-68-1
磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	515-64-0
磺胺对甲氧嘧啶	Sulfamer	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	651-06-9
磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	1220-83-3
磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxypyridazine	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	80-35-3
磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyridazine	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	80-32-0
磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyrazine	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	102-65-8
磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$	59-40-5
磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	2447-57-6
磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	122-11-2
磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	$C_{15}H_{14}N_4O_2S$	526-08-9
二甲氧苄啶	Diaveridine	$C_{13}H_{16}N_4O_2$	5355-16-8
奥美普林	Ormetoprim	$C_{14}H_{18}N_4O_2$	6981-18-6
甲氧苄啶	Trimethoprim	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	738-70-5

附 录 B
(资料性)

磺胺类药物及抗菌增效剂类特征离子质量色谱图

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

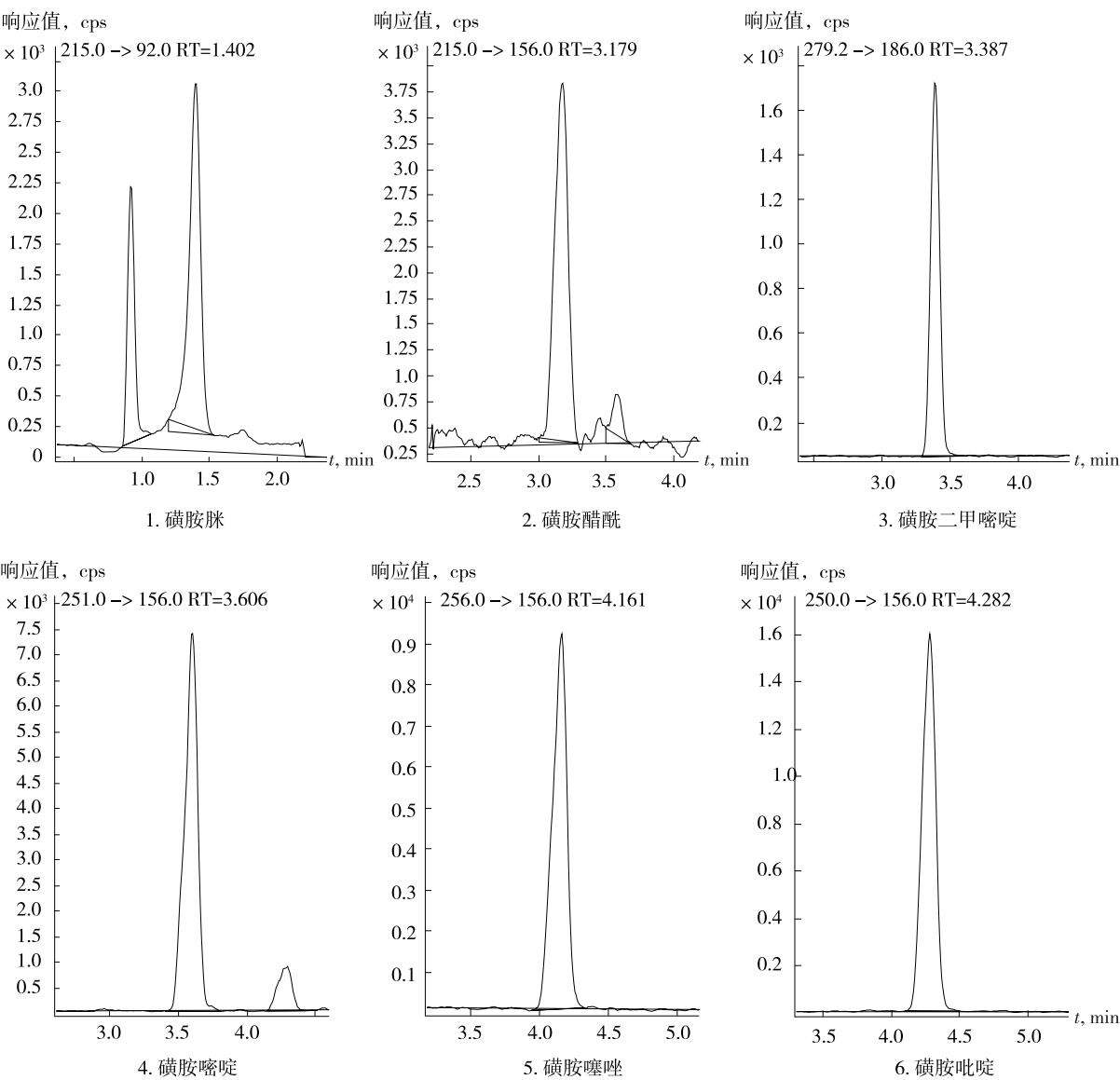


图 B.1 空白蜂蜜基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂特征离子质量色谱图(0.5 $\mu\text{g/L}$)

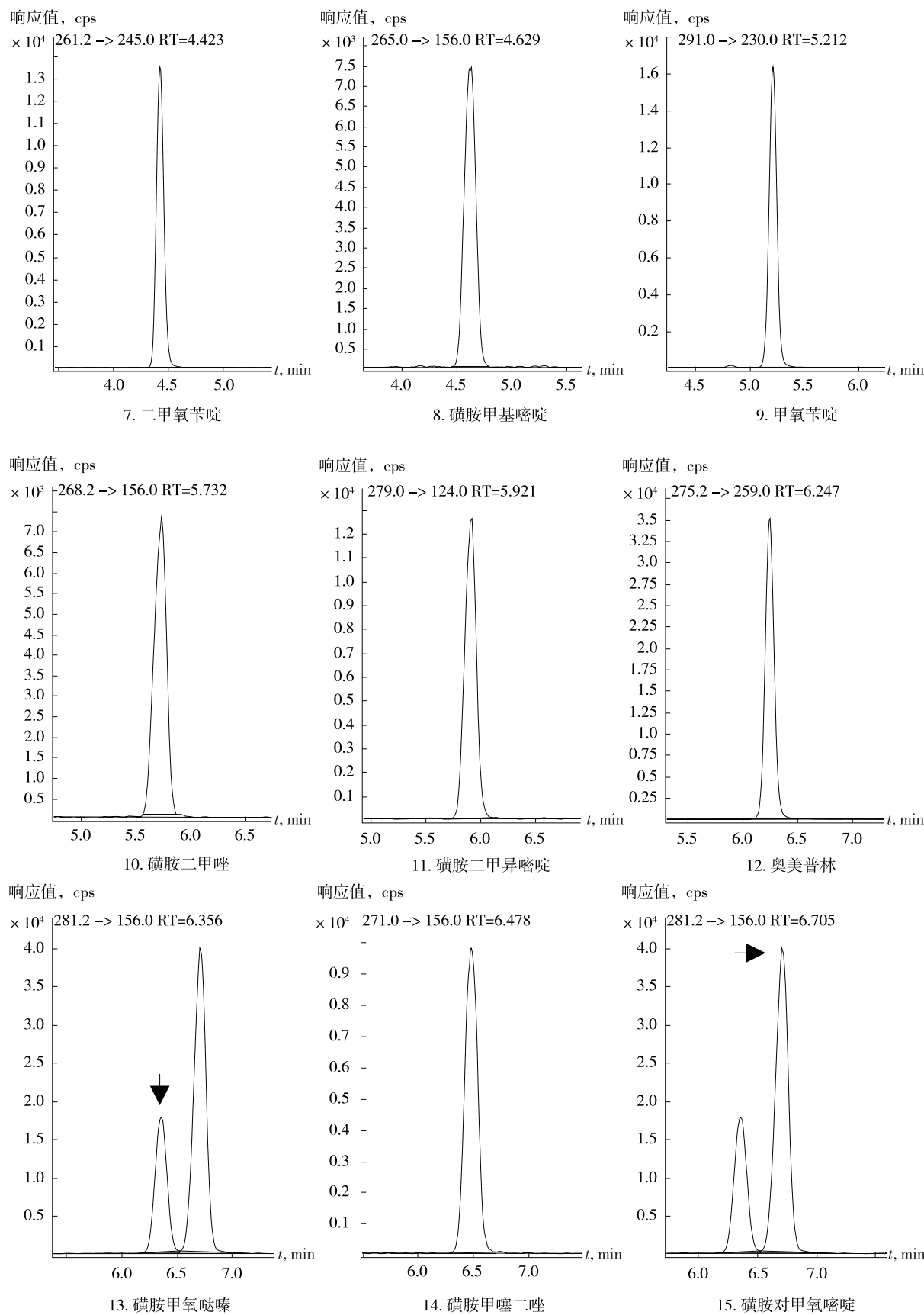


图 B.1 (续)

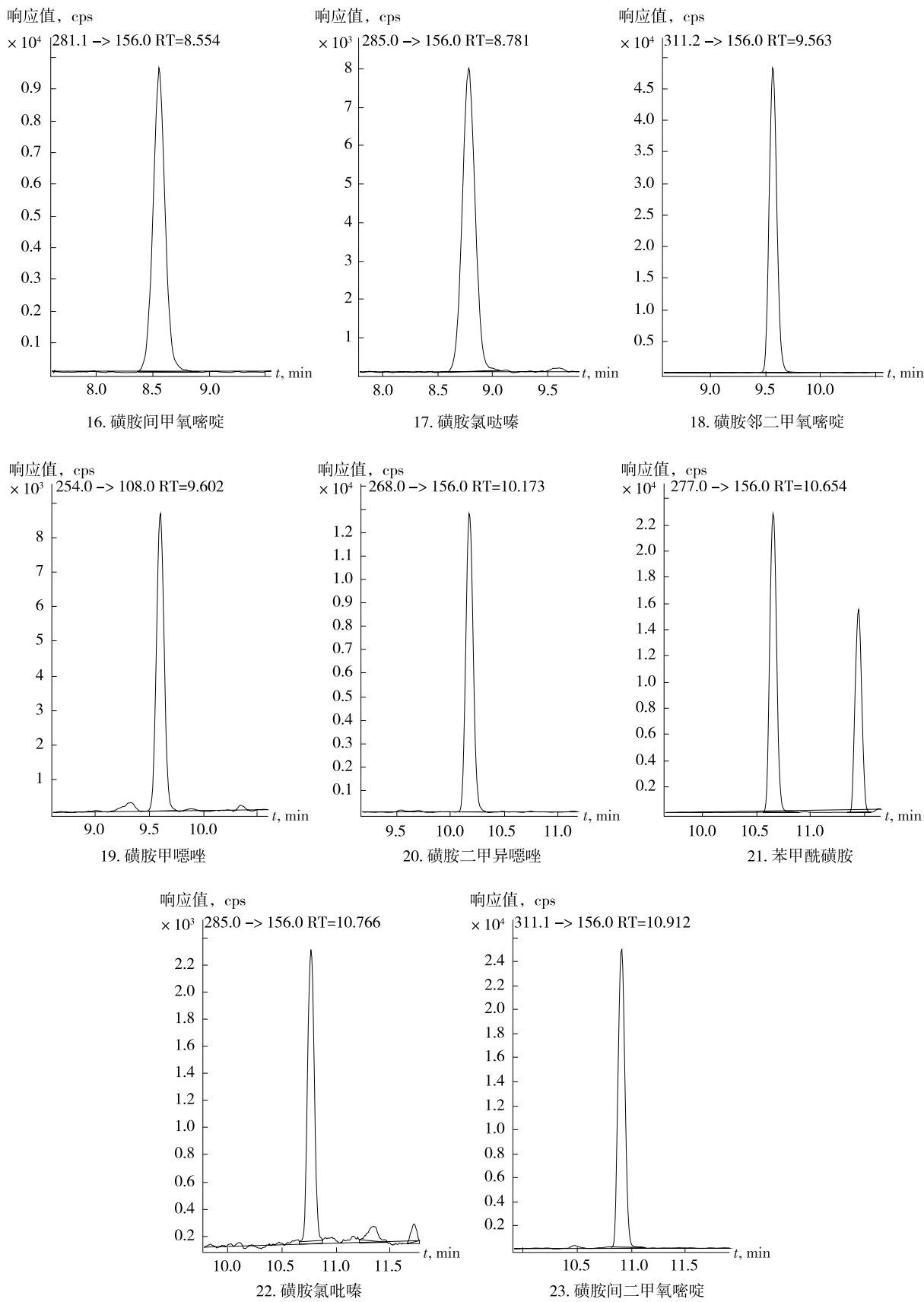


图 B.1 (续)

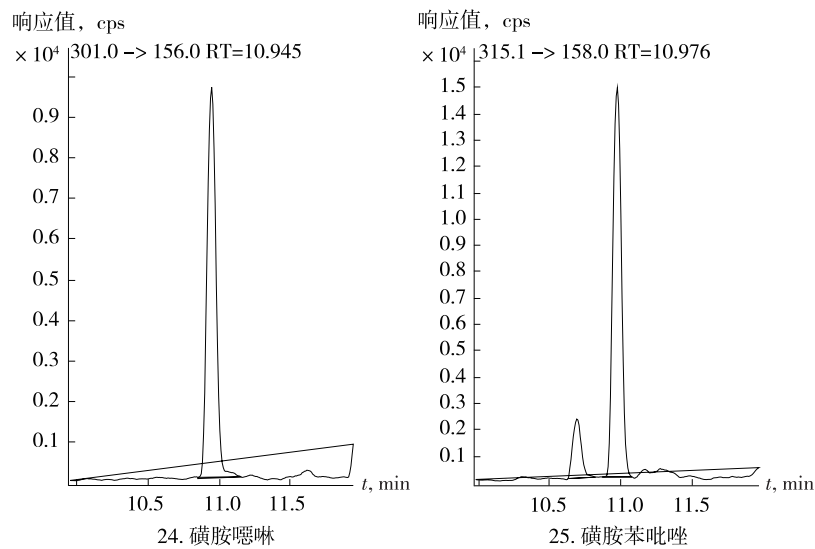


图 B. 1 (续)

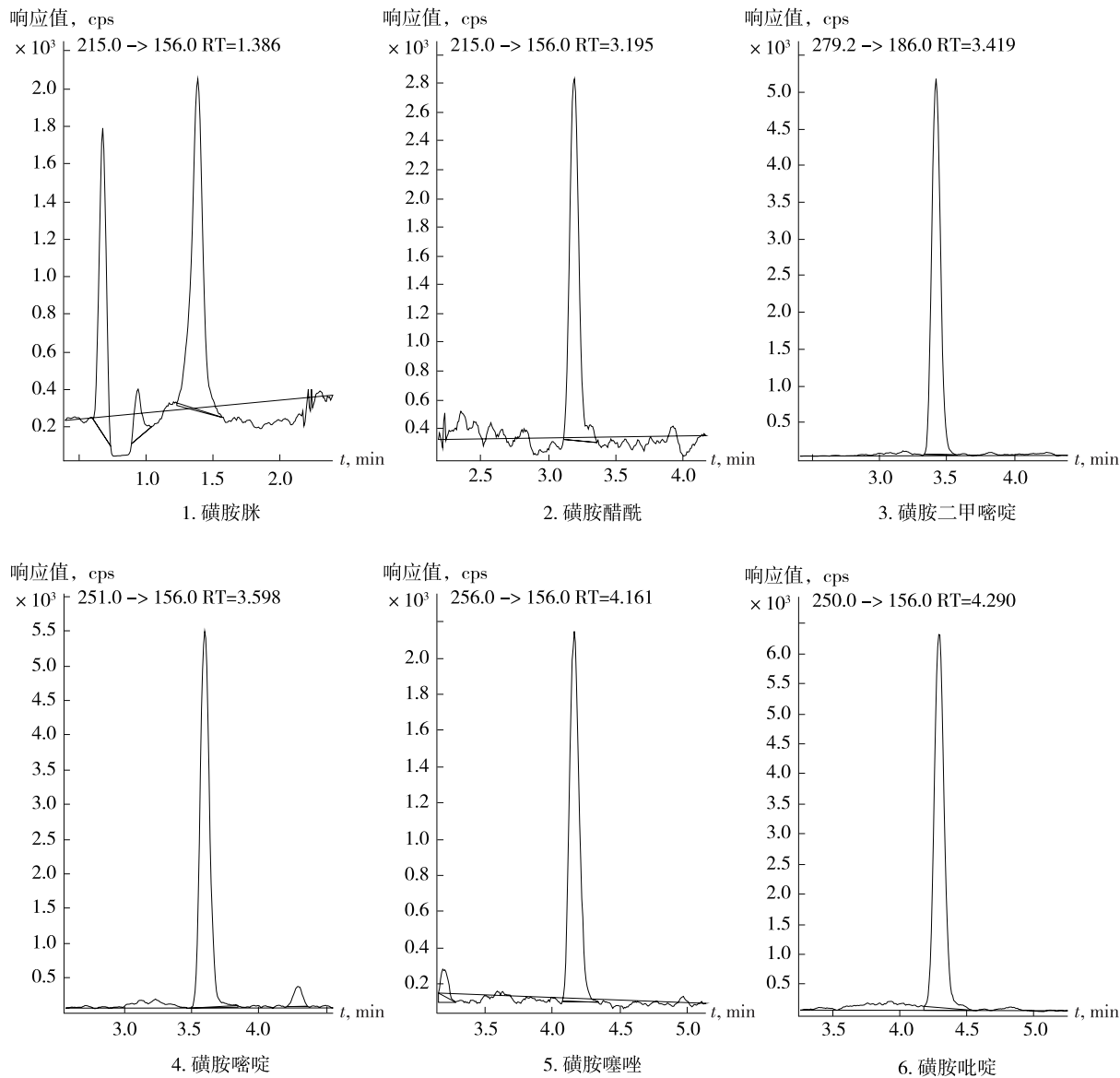


图 B. 2 空白蜂王浆基质匹配标准溶液中磺胺类药物及抗菌增效剂特征离子质量色谱图(0.5 μg/L)

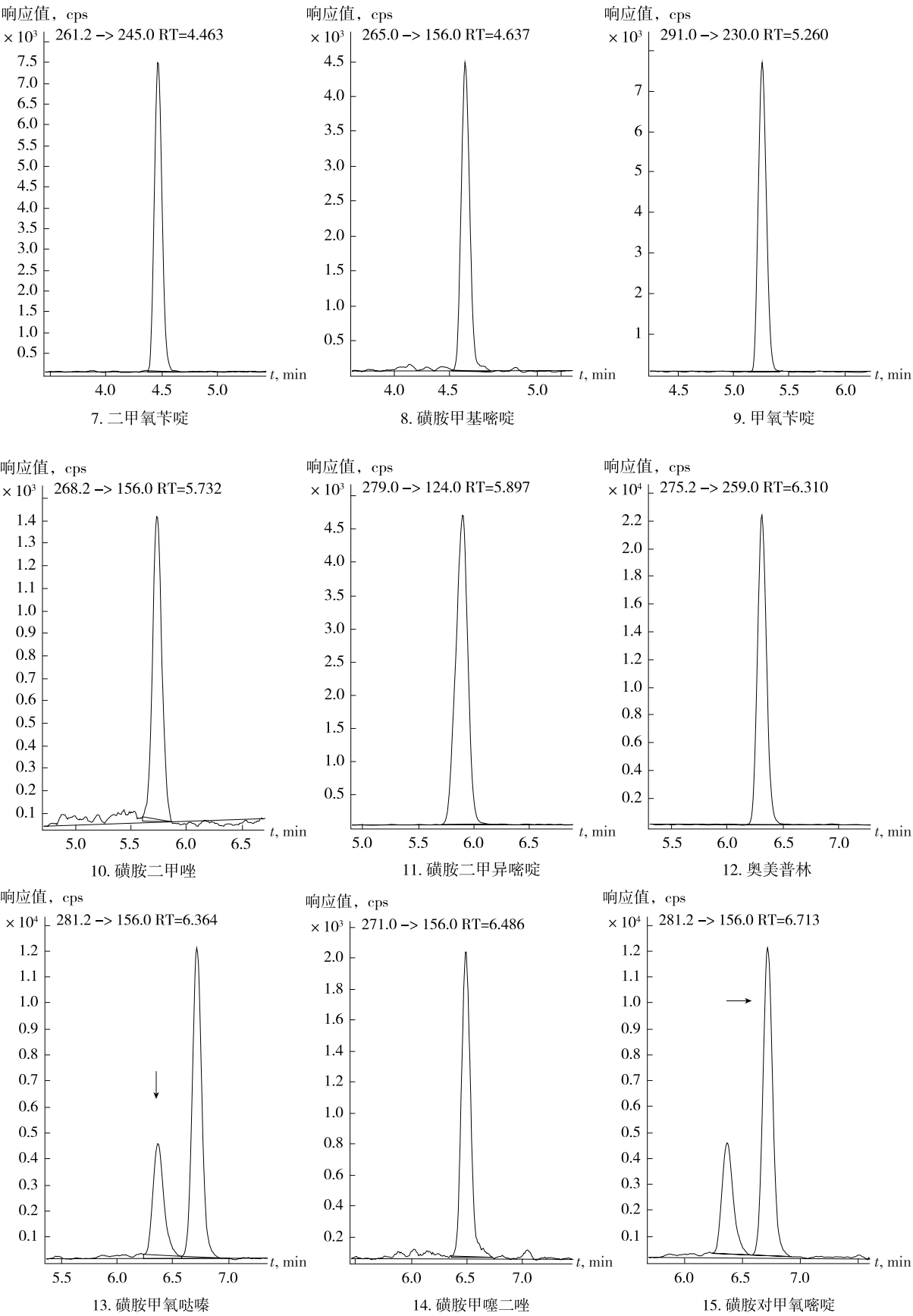


图 B.2 (续)

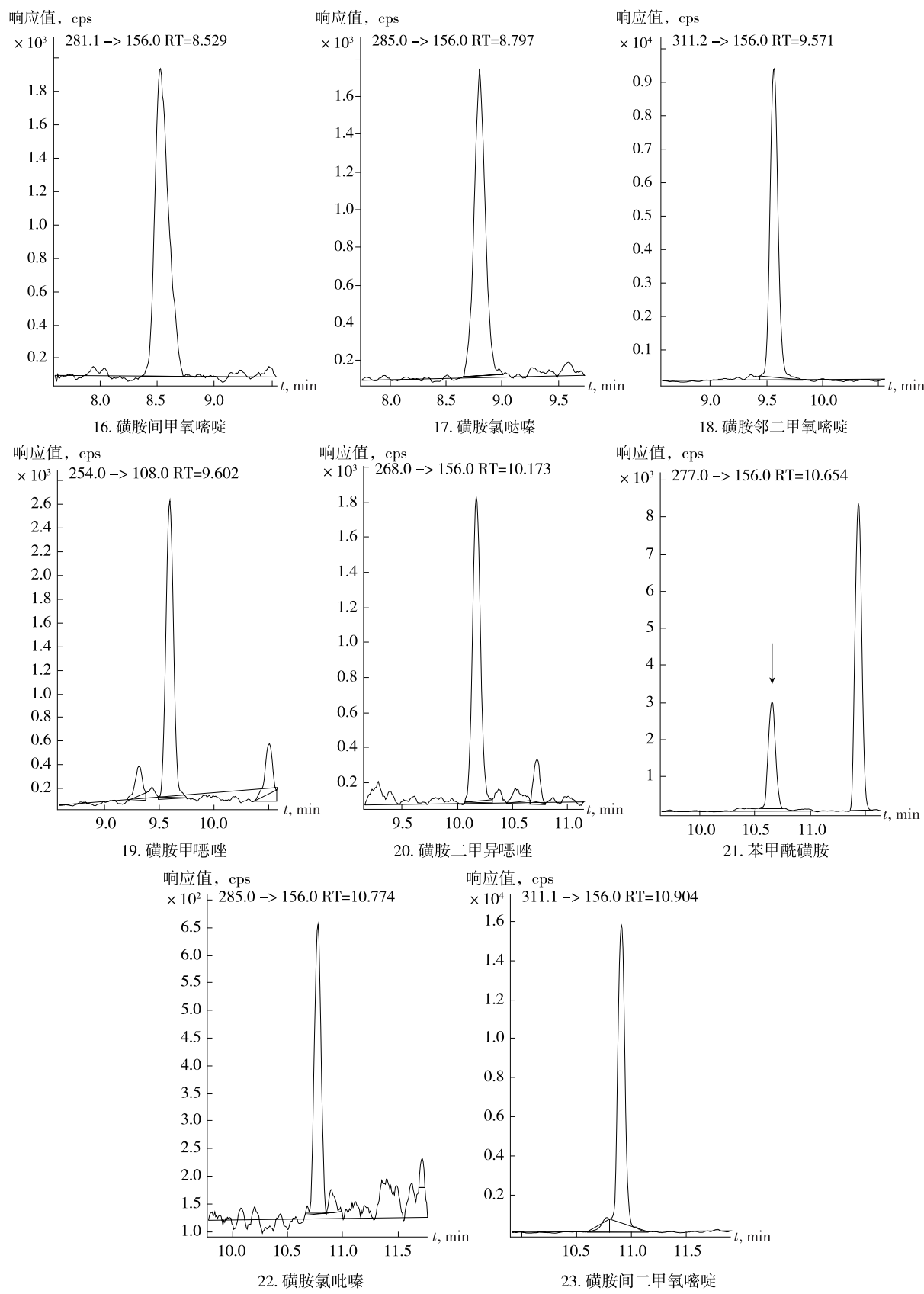


图 B.2 (续)

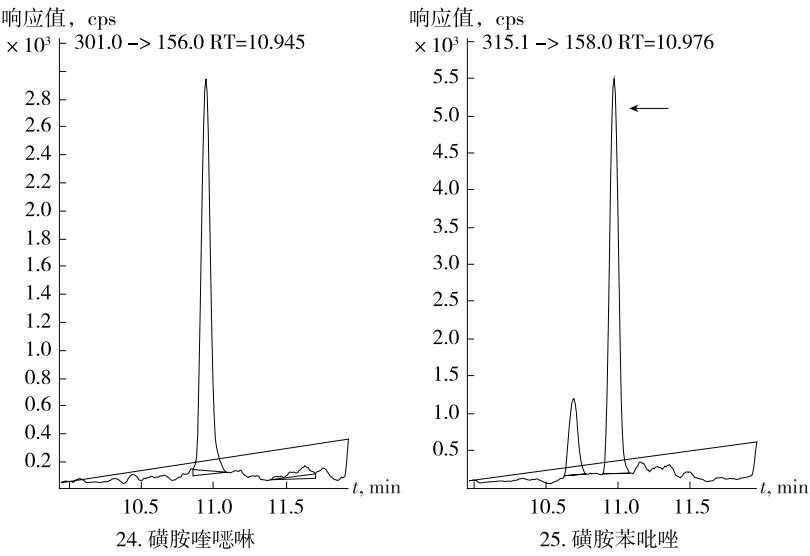


图 B. 2 (续)