

ICS 67.100

CCS C 144

T/NAIA

团体标准

T/NAIA 0376—2025

牛奶和奶粉中 22 种磺胺类残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of twenty-two sulfonamides residues in milk and
milk powder by HPLC-MS/MS

2025-03-17 发布

2025-03-31 实施

宁夏化学分析测试协会 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》规定编写。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监督管理总局重点实验室（枸杞及葡萄酒质量安全））、宁夏计量质量检验检测研究院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：朱燕燕、马桂娟、郭阳、姚博伟、张学玲、陈盼盼、刘继辉、孙少忆、高永梅、何卉、吕毅、吴明、张小飞。

牛奶和奶粉中 22 种磺胺类残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛奶和奶粉中 22 种磺胺（磺胺醋酰（SAA）、磺胺苯酰（SBA）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺二甲基嘧啶（SDM）、磺胺地索辛（SDT）、磺胺多辛（SDX）、磺胺嘧啶（SDZ）、磺胺异恶唑（SFZ）、磺胺脒（SGN）、磺胺索嘧啶（SIM）、磺胺对甲氧嘧啶（SMD）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺二甲唑（SMO）、磺胺甲氧嗪（SMP）、磺胺甲嘧啶（SMR）、磺胺甲噻二唑（SMT）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺苯吡唑（SPA）、磺胺吡啶（SPD）、磺胺喹恶啉（SQX）、磺胺噻唑（STZ）、甲氧苄啶（TMP））的液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用牛奶和奶粉中 22 种磺胺的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经 1%的甲酸乙腈溶液提取，采用分散固相萃取净化，经反相色谱柱分离，供液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈：色谱纯。

5.1.2 甲酸：优级纯。

5.1.3 氯化钠：分析纯。

5.1.4 十八烷基（C₁₈）粉末：粒径 50 μ m。

5.1.5 N-丙基乙二胺(N-primary secondary amine, PSA)粉末：粒径 50 μ m。

5.1.6 1%甲酸乙腈溶液：取 10.0mL 甲酸（5.1.2），用乙腈（5.1.1）定容到 1000mL，混匀。

5.1.7 0.1%甲酸水溶液：取 1mL 甲酸（5.1.2），用水定容到 1000mL，混匀。

5.1.8 0.1%甲酸乙腈溶液：取 1mL 甲酸（5.1.2），用乙腈（5.1.1）定容到 1000mL，混匀。

5.2 标准品

22 种磺胺标准品名称、化学分子式、CAS 号和纯度见附录表 A。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液(1.0mg/mL)：分别准确称取 22 种磺胺 10.00mg,用乙腈(5.1.1)溶解并定容至 10mL, 避光冷冻贮存, 有效期 3 个月。

5.3.2 混合标准储备液 (10.0 μ g/mL)：分别移取 22 种标准储备液 (5.3.1) 100 μ L, 混合后用乙腈 (5.1.1)定容至 10mL, 避光冷冻贮存, 有效期 1 个月。

5.3.3 混合标准工作溶液：采用空白样品基质配制成浓度为 0.2ng/mL、0.5ng/mL、1.0ng/mL、2.0ng/mL、5.0ng/mL、10.0ng/mL、20.0ng/mL 的标准工作溶液, 临用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源。

6.2 天平：感量 0.01mg 和 0.01g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 高速离心机：转速不低于 8000r/min。

6.5 超声波清洗器。

6.6 氮吹仪。

6.7 有机微孔滤膜, 孔径 0.22 μ m, 或相当者。

7 分析步骤

7.1 制备与贮存

取适量新鲜或解冻的牛奶, 混匀, 于-18 $^{\circ}$ C 避光贮存。

取适量奶粉, 混匀, 常温避光贮存。

7.2 提取与净化

称取 5g 牛奶或 1g 奶粉 (精确到 0.01g), 置于 50mL 具塞离心管中, 加入 10g 氯化钠 (5.1.3) 和 10mL 甲酸乙腈 (5.1.6), 高速涡旋 5min, 8000r/min 离心 5min, 取上清液; 残渣再加 10mL 的甲酸乙腈 (5.1.6) 重复提取一次, 合并上清液, 待净化。

移取 10.0mL 上清液至装有 80mg C₁₈ (5.1.4) 和 50mg PSA (5.1.5) 离心管中, 涡旋 5min, 8000 r/min 离心 5min, 移取 5.0mL 上清液氮吹至近干, 1.0mL 初始流动相复溶, 过 0.22 μ m 滤膜 (6.7), 供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: C₁₈, 2.1mm \times 150mm, 粒径 3.5 μ m 或性能相当。

b) 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

c) 流动相: A: 0.1%的甲酸水溶液 (5.1.7), B: 0.1%甲酸乙腈溶液 (5.1.8); 梯度洗脱见表 1。

d) 流速: 0.3mL/min。

e) 进样量: 5 μ L。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

| 时间/min | 流速/(mL/min) | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
|--------|-------------|---------|---------|
| 0.00 | 0.3 | 90 | 10 |
| 3.00 | 0.3 | 90 | 10 |
| 3.01 | 0.3 | 50 | 50 |
| 8.00 | 0.3 | 30 | 70 |
| 12.00 | 0.3 | 10 | 90 |
| 12.01 | 0.3 | 90 | 10 |
| 15.00 | 0.3 | 90 | 10 |

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- b) 扫描方式：正离子扫描。
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- d) 鞘气温度：375°C。
- e) 鞘气流速：12.0L/min。
- f) 雾化气压力：310kPa。
- g) 喷嘴电压：500V。
- h) 毛细管电压：3000V。
- i) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量等参数参见附录 B。

7.4 定性确证

7.4.1 保留时间

被测物质色谱峰保留时间与标准物质色谱峰保留时间相比较，相对误差应在 $\pm 2.5\%$ 以内。

7.4.2 离子丰度比

相同实验条件下进行样品测定时，如果检出色谱峰的保留时间与标准品一致，并且在样品质谱图中，所选择的离子均出现。而且样品化合物的离子丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，相似度的允许偏差不超过表 2 规定的范围，则可判定样品中存在目标组分。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

| | | | | |
|---------|------------|------------|------------|-------------|
| 相对离子丰度 | >50% | >20%至 50% | >10%至 20% | $\leq 10\%$ |
| 允许的相对偏差 | $\pm 20\%$ | $\pm 25\%$ | $\pm 30\%$ | $\pm 50\%$ |

7.5 定量测定

采用基质标准溶液校准曲线外标法定量，待测试液中目标物的响应值应在仪器检测的定量线性范围内，超过线性范围时应进行适当倍数稀释后再进行分析。22 种磺胺的定量离子对典型色谱图参见附录 C。

7.6 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 结果计算

试样中 22 种磺胺的含量按式 (1) 进行计算：

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中各化合物含量，单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)；
- C —— 由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；
- V —— 试样的最终定容体积，单位为毫升 (mL)；
- m —— 试样质量，单位为克 (g)。
- f —— 稀释倍数。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 定量限

磺胺醋酰、磺胺苯酰、磺胺氯哒嗪、磺胺二甲基嘧啶、磺胺地索辛、磺胺多辛、磺胺嘧啶、磺胺异恶唑、磺胺脒、磺胺索嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺甲氧嘧啶、磺胺甲嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺甲恶唑、磺胺苯吡唑、磺胺吡啶、磺胺喹恶啉、磺胺噻唑、甲氧苄啶的定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A
(资料性)

22 种磺胺标准品名称、化学分子式、CAS 号和纯度

表 A.1 22 种磺胺标准品名称、化学分子式、CAS 号和纯度

| 序号 | 名称 | 化学分子式 | CAS 号 | 纯度 (%) |
|----|---------|-----------------------|-----------|--------|
| 1 | 磺胺醋酰 | $C_8H_{11}N_2NaO_4S$ | 144-80-9 | 99.6 |
| 2 | 磺胺苯酰 | $C_{13}H_{12}N_2O_3S$ | 127-71-9 | 98.7 |
| 3 | 磺胺氯哒嗪 | $C_{10}H_9ClN_4O_2S$ | 80-32-0 | 99.0 |
| 4 | 磺胺二甲基嘧啶 | $C_6H_9N_3O_2S$ | 57-68-1 | 99.2 |
| 5 | 磺胺地索辛 | $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ | 122-11-2 | 98.6 |
| 6 | 磺胺多辛 | $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ | 2447-57-6 | 99.1 |
| 7 | 磺胺嘧啶 | $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ | 68-35-9 | 98.0 |
| 8 | 磺胺异恶唑 | $C_{11}H_{13}N_3O_3S$ | 127-69-5 | 99.3 |
| 9 | 磺胺脒 | $C_7H_{10}N_4O_2S$ | 57-67-0 | 98.8 |
| 10 | 磺胺索嘧啶 | $C_{12}H_{14}N_4O_2S$ | 515-64-0 | 99.2 |
| 11 | 磺胺对甲氧嘧啶 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | 651-06-9 | 99.5 |
| 12 | 磺胺间甲氧嘧啶 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | 1220-83-3 | 98.9 |
| 13 | 磺胺二甲唑 | $C_{11}H_{13}N_3O_3S$ | 729-99-7 | 98.7 |
| 14 | 磺胺甲氧嗪 | $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ | 80-35-3 | 99.4 |
| 15 | 磺胺甲嘧啶 | $C_{11}H_{12}N_4O_2S$ | 127-79-7 | 99.7 |
| 16 | 磺胺甲噻二唑 | $C_9H_{10}N_4O_2S_2$ | 144-82-1 | 99.2 |
| 17 | 磺胺甲恶唑 | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ | 723-46-6 | 98.5 |
| 18 | 磺胺苯吡唑 | $C_{15}H_{14}N_4O_2S$ | 526-08-9 | 99.4 |
| 19 | 磺胺吡啶 | $C_{11}H_{11}N_3O_2S$ | 144-83-2 | 99.6 |
| 20 | 磺胺喹恶琳 | $C_{14}H_{12}N_4O_2S$ | 59-40-5 | 99.3 |
| 21 | 磺胺噻唑 | $C_9H_9N_3O_2S_2$ | 72-14-0 | 98.0 |
| 22 | 甲氧苄啶 | $C_{14}H_{18}N_4O_3$ | 738-70-5 | 99.6 |

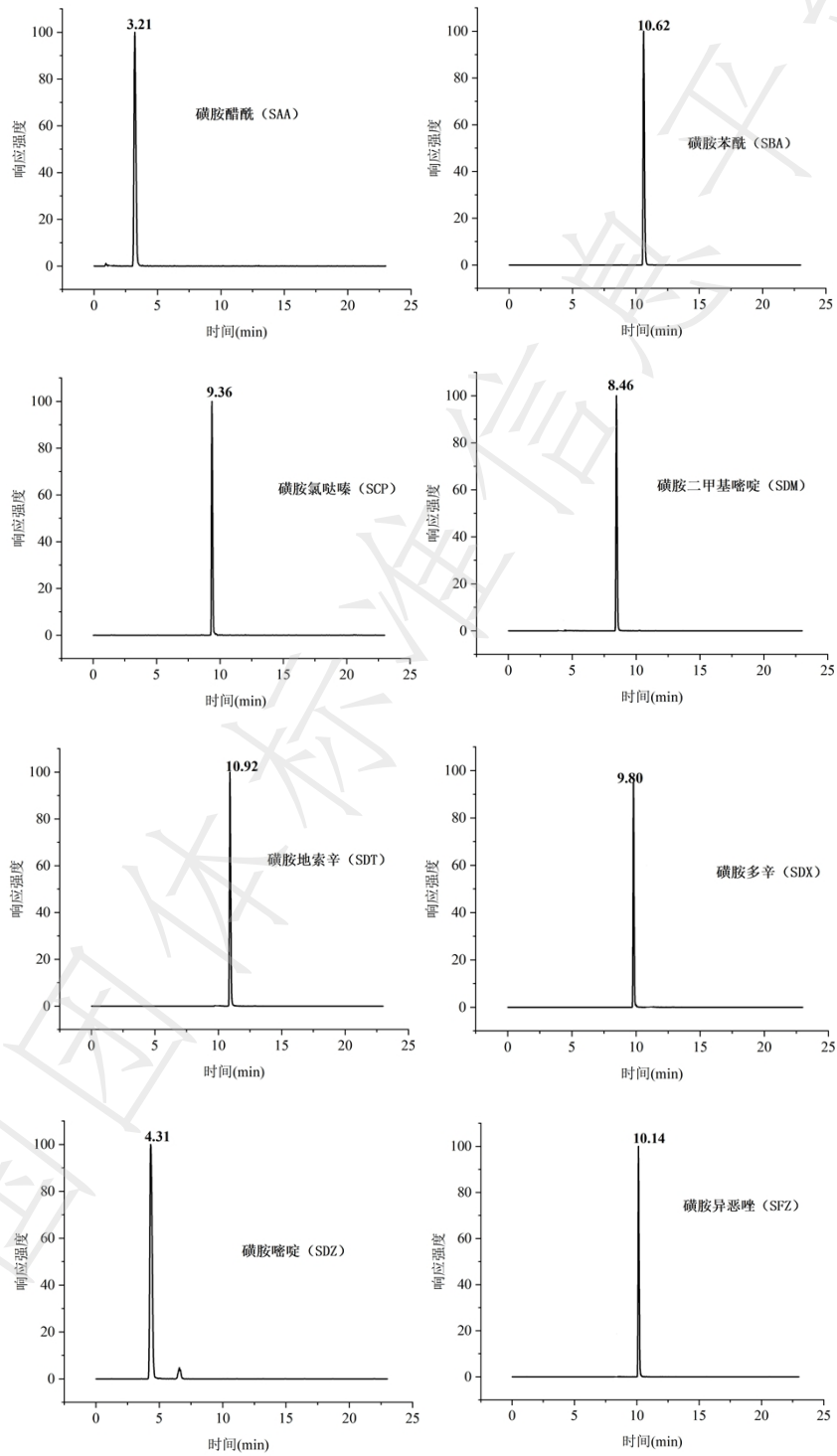
附录 B
(资料性)
22 种磺胺的质谱参数

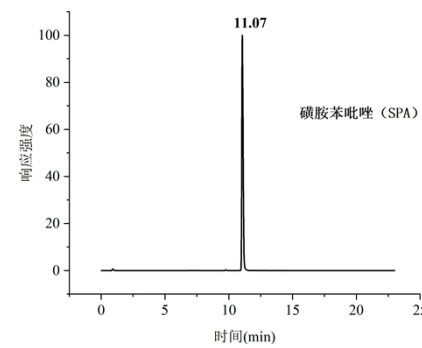
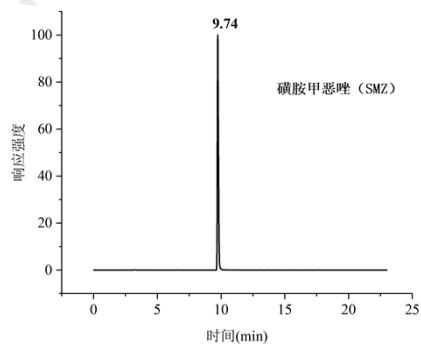
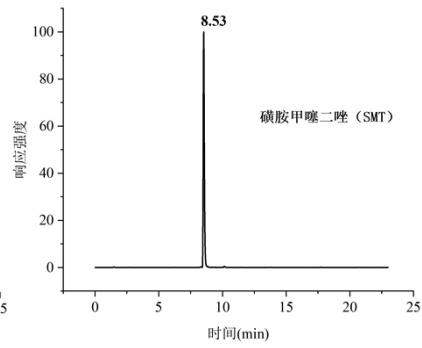
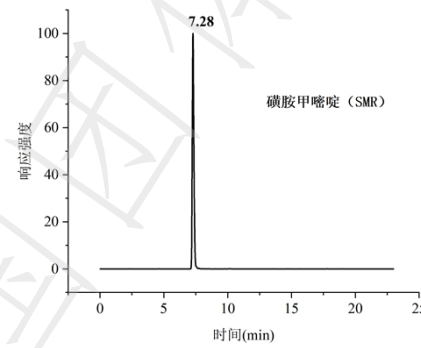
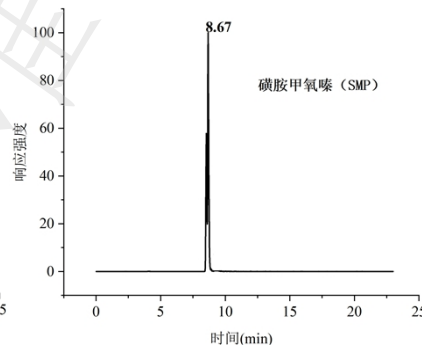
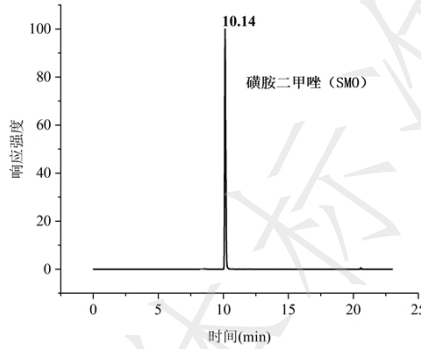
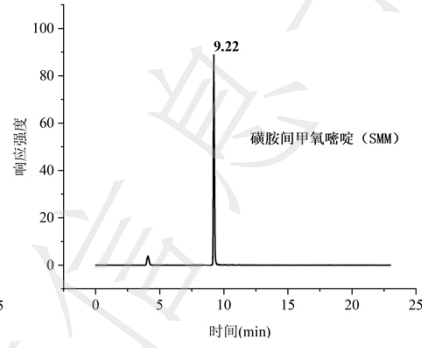
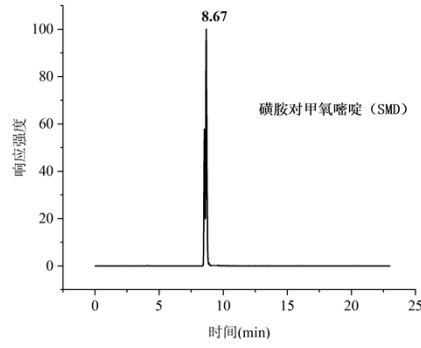
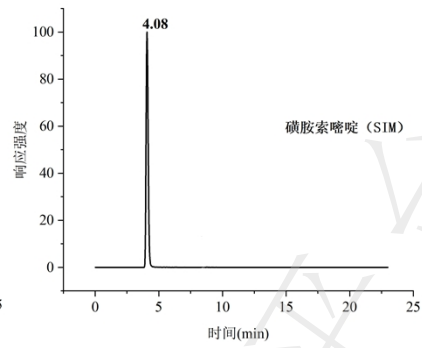
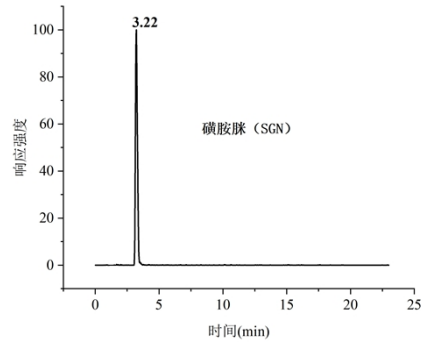
表 B.1 22 种磺胺的质谱参数

| 序号 | 组分 | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | 碎裂电压(v) | 碰撞能量(ev) |
|----|---------------|----------|--------------|---------|----------|
| 1 | 磺胺醋酰 (SAA) | 215.1 | 156.0*,92.0 | 70 | 5,20 |
| 2 | 磺胺苯酰 (SBA) | 277.1 | 156.0*,108.0 | 80 | 10,25 |
| 3 | 磺胺氯哒嗪 (SCP) | 285.0 | 156.0*,108.0 | 100 | 22,25 |
| 4 | 磺胺二甲基嘧啶 (SDM) | 279.1 | 186.1*,156.1 | 120 | 15,16 |
| 5 | 磺胺地索辛 (SDT) | 311.0 | 156.0*,108.0 | 130 | 20,32 |
| 6 | 磺胺多辛 (SDX) | 311.1 | 156.0*,92.0 | 120 | 15,32 |
| 7 | 磺胺嘧啶 (SDZ) | 251.1 | 156.0*,108.0 | 100 | 10,21 |
| 8 | 磺胺异恶唑 (SFZ) | 268.1 | 156.0*,113.0 | 100 | 10,25 |
| 9 | 磺胺脒 (SGN) | 215.0 | 156.0*,108.1 | 70 | 10,20 |
| 10 | 磺胺索嘧啶 (SIM) | 279.0 | 124.0*,186.0 | 100 | 15,20 |
| 11 | 磺胺对甲氧嘧啶 (SMD) | 281.0 | 156.0*,108.0 | 110 | 15,25 |
| 12 | 磺胺间甲氧嘧啶 (SMM) | 281.0 | 156.1*,108.1 | 100 | 15,26 |
| 13 | 磺胺二甲唑 (SMO) | 268.0 | 156.0*,113.0 | 100 | 13,10 |
| 14 | 磺胺甲氧嗪 (SMP) | 281.1 | 156.0*,108.0 | 105 | 15,25 |
| 15 | 磺胺甲嘧啶 (SMR) | 265.0 | 172.0*,156.1 | 110 | 20,20 |
| 16 | 磺胺甲噻二唑 (SMT) | 271.0 | 156.0*,108.0 | 90 | 10,22 |
| 17 | 磺胺甲恶唑 (SMZ) | 254.1 | 156.0*,108.0 | 100 | 100,25 |
| 18 | 磺胺苯吡唑 (SPA) | 315.0 | 158.0*,222.0 | 130 | 22,15 |
| 19 | 磺胺吡啶 (SPD) | 250.0 | 156.0*,184.0 | 100 | 22,15 |
| 20 | 磺胺喹恶啉 (SQX) | 301.1 | 156.0*,108.0 | 130 | 11,26 |
| 21 | 磺胺噻唑 (STZ) | 255.9 | 155.9*,108.0 | 100 | 10,15 |
| 22 | 甲氧苄啶 (TMP) | 291.1 | 230.2*,123.2 | 120 | 25,25 |

注：*为定量离子

附录 C
(资料性)
22 种磺胺的量离子对典型色谱图





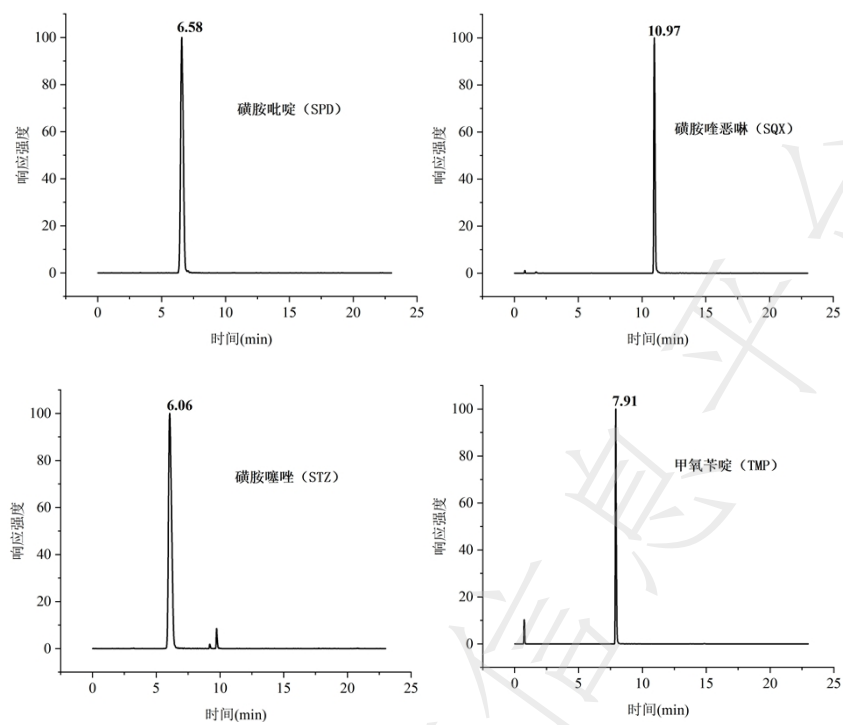


图 C.1 22 种磺胺的量离子对典型色谱图