



中华人民共和国国家标准

GB/T 19542—202×

代替GB/T 19542—2007和GB/T 8381.10—2005

饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串 联质谱法

Determination of sulfonamides in feeds—Liquid chromatography-tandem
mass spectrometry

(征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会

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》的规定起草。

本文件代替GB/T 19542—2007《饲料中磺胺类药物的测定高效液相色谱法》和GB/T 8381.10—2005《饲料中磺胺喹恶啉的测定高效液相色谱法》，与GB/T 19542—2007和GB/T 8381.10—2005相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

a) 将GB/T 19542—2007中5种磺胺类药物的测定与GB/T 8381.10—2005中磺胺喹恶啉的测定增加至29种磺胺类药物的测定；

b) 适用范围增加了混合型饲料添加剂；

c) 将液相色谱法修改为液相色谱-串联质谱法；

d) 增加多重杂质吸附的净化方法。

请注意本文件某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、广州汇标检测技术中心、河南中标检测服务有限公司、山东晟华检测技术有限公司

本标准主要起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2004年首次发布为GB/T 19542—2004；

——2007年首次修订为GB/T 19542—2007；

——本次为第二次修订。

饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了饲料中29种磺胺类药物测定的液相色谱串联质谱方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料及精料补充料、混合型饲料添加剂中磺胺米隆、磺胺胍、磺胺醋酰、磺胺二甲异嘧啶、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、二甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲嘧啶、三甲氧苄氨嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲基嘧啶、二甲氧甲基苄胺嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲恶唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺二甲异恶唑、磺胺苯酰、磺胺苯吡唑、磺胺氯吡嗪、磺胺吡唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹恶林、磺胺硝苯的测定。

本方法检出限为0.01 mg/kg，定量限为0.05 mg/kg。

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，仅所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试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

饲料样品经提取液提取后，用多重杂质吸附净化，液相色谱-串联质谱仪检测，基质曲线校正、外标法定量。

5 试剂或材料

5.1 水：GB/T 6682、一级水。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 样品提取溶液：取甲酸溶液 10 mL，加入乙腈 990 mL，混匀。

5.5 样品稀释溶液：取甲酸 0.1 mL，甲醇 10 mL 加入 90 mL 水，混匀。

5.6 磺胺标准储备溶液：精密称取适量磺胺米隆、磺胺胍、磺胺醋酰、磺胺二甲异嘧啶、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、二甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲嘧啶、三甲氧苄氨嘧啶、磺胺二甲唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲基嘧啶、二甲氧甲基苄胺嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲恶唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺二甲异恶唑、磺胺苯酰、磺胺苯吡唑、磺胺氯吡嗪、磺胺吡

唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹恶林、磺胺硝苯标准品（纯度 $\geq 97\%$ ，相关信息见附录 B）分别至不同棕色容量瓶中，用甲醇分别配成浓度各约为 1 mg/mL 的贮备液， $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏保存，有效期六个月。

5.7 磺胺标准中间溶液：准确移取适量磺胺标准储备溶液（5.6）分别至棕色容量瓶中，用甲醇配成浓度约为 $100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的中间溶液， $2 \text{ }^\circ\text{C} \sim 8 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏保存，有效期 1 个月。

5.8 磺胺混合标准工作溶液：分别吸取磺胺标准中间液（5.7），用样品稀释溶液（5.5）稀释成浓度为 $5 \text{ } \mu\text{g/L} \sim 500 \text{ } \mu\text{g/L}$ 的对照品工作液。当日使用。

5.9 滤膜： $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ ，有机系。

5.10 SAX 填料：粒径 $40 \text{ } \mu\text{m}$ ，或其他性能类似者。

5.11 C18 填料：粒径 $50 \text{ } \mu\text{m}$ ，或其他性能类似者。

5.12 弗洛里硅土：粒径 $50 \text{ } \mu\text{m}$ ，或其他性能类似者。

5.13 多重吸附前处理吸附材料：称取 2 g SAX 填料（5.10）、 3 g C18 填料（5.11）、 3 g 弗洛里硅土（5.12）于 50 mL 三角瓶中，混合均匀，备用。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾电离源。

6.2 天平：精度 0.01 g 和 0.00001 g 。

6.3 离心机：转速不低于 8000 r/min 。

6.4 粉碎机。

6.5 旋涡振荡器。

6.6 超声清洗器

6.7 氮吹仪。

7 样品

按照 GB/T 20195 制备样品，粉碎过 0.425 mm 孔径筛，混合均匀，备用。

8 试验步骤

8.1 提取

称取配合饲料 5 g ，浓缩饲料、添加剂预混合饲料及精料补充料 2 g （精确至 0.01 g ）样品于 50 mL 离心管中，准确加入 20 mL 样品提取溶液（5.4），漩涡混合 30 s ，超声提取 30 min ，然后于 8000 r/min 离心 5 min ，取上清液备用。

8.2 净化

取 5 mL 上清液于 10 mL 离心管中，加入 100 mg 多重吸附前处理吸附材料，漩涡混合 30 s ，于 10000 r/min 离心 2 min 。将上清液转移至 10 mL 离心管中， $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 氮气吹干，加入 0.5 mL 样品稀释溶液（5.5），漩涡混合 30 s ，过 $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ 滤膜，上机测定。

8.3 空白基质曲线的制备

选取与待测饲料样品类型相近、混合均匀程度较高的空白饲料，称取 6 份，每份 $2 \sim 5 \text{ g}$ （精确至 0.001 g ），于 50 mL 离心管中，分别添加适量的混合标准溶液，配置成不同浓度（ $5 \text{ } \mu\text{g/L} \sim 00 \text{ } \mu\text{g/L}$ ）的基

质添加标准曲线或双平行单点校正点。按7.1和7.2 步骤处理，供液相色谱串联质谱测定，通过扣除待测样品检测值进行定量。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：C18柱长150 mm，内径3.0 mm，粒径1.7 μm。或性能相当者；

b) 柱温：30 °C；

c) 进样量：10 μL。

流动相及流速见表1。

表 1 流动相梯度条件

时间 (min)	流速(mL/min)	0.1 甲酸水溶液(%)	0.1 甲酸甲醇(%)
Time	Flow	formic acid	formic methanol
0	0.3	90	10
1	0.3	90	10
3.5	0.3	75	25
6.5	0.3	70	30
8	0.3	20	80
9	0.3	10	90
9.1	0.3	90	10
10	0.3	90	10

8.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

a) 离子源：电喷雾离子源。

b) 扫描方式：正离子模式。

c) 检测方式：多反应监测。

d) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气及其他合适气体，使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求。

毛细管电压、解离电压、碰撞能量等电压值应优化至最佳灵敏度。

定性离子对、定量离子对及对应的解离电压和碰撞能量见表2。

表 2 药物的定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞电压的参考值

药物名称	参考出峰时间	离子对	解离电压	碰撞能
磺胺醋酰 Sulphacetamide	2.85	215.0 >92.0	12	24
		215.0 >108.0*		14
磺胺胍 Sulfaguanidine	1.82	215.0 >92.0	12	24
		215.0 >108.0*		14
磺胺 sulfanilamide	2.08	173.0 >92.0	22	24
		173.0 >156.0*		14
磺胺米隆 Mafenide	1.42	187.0 >76.6	13	16
		187.0 >105.8*		12
磺胺吡啶 Sulfapyridine	3.52	250.0 >92.0	12	24

药物名称	参考出峰时间	离子对	解离电压	碰撞能
		250.0 > 156.0*		14
磺胺嘧啶 Sulfadiazine	3.09	251.0 > 92.0	12	24
		251.0 > 155.9*		14
磺胺甲恶唑 sulfamethoxazole	6.35	254.0 > 92.1	22	26
		254.0 > 155.9*		14
磺胺噻唑 sulfathiazole	3.25	256.0 > 92.0	12	24
		256.0 > 155.9*		14
磺胺甲噻唑 sulfamerazine	3.79	265.1 > 92.0	36	26
		265.1 > 156.0*		14
磺胺二甲唑 Sulfafurazole	4.37	268.0 > 92.0	12	24
		268.0 > 155.9*		12
磺胺间二甲氧嘧啶 sulfadimethoxine	8.87	311.0 > 92.0	12	28
		311.0 > 155.9*		18
磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine	7.10	311.1 > 92.0	20	28
		311.1 > 155.9*		16
磺胺甲噻二唑 Sulfamethizole	4.63	271.1 > 92.0	12	24
		271.1 > 155.9*		12
磺胺苯酰 Sulfabenzamide	8.31	277.0 > 92.0	14	24
		277.0 > 155.9*		10
磺胺二甲异噻唑 Sulfisomidine	3.05	279.0 > 124.0	12	20
		279.0 > 186.0*		14
磺胺二甲基噻唑 Sulfamethazine	4.81	279.0 > 92.0	12	28
		279.0 > 186.0*		16
磺胺对甲氧嘧啶 Sulfametoxydiazine	4.44	281.0 > 92.0	12	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺甲氧吡嗪 Sulfamethoxypridazine	5.20	281.0 > 92.0	13	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺间甲氧嘧啶 sulfamonomethoxine	6.62	281.0 > 92.0	12	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺氯吡嗪 sulfachloropyridazine	5.96	285.0 > 92.0	14	26
		285.0 > 156.0*		12
磺胺氯吡嗪 sulfachloropyrazine	8.76	285.0 > 92.0	14	26
		285.0 > 156.0*		12
磺胺喹恶林 Sulfaquinoxaline	8.97	301.1 > 92.0	12	26
		301.1 > 155.9*		14
磺胺硝苯 Sulfanitran	9.31	336.1 > 156.0*	20	20
		336.1 > 294.0		10
磺胺苯吡唑 Sulfaphenazole	8.67	315.3 > 158.2*	12	15
		315.3 > 160.0		10
磺胺吡唑 sulfapyrazole	8.84	329.0 > 156.2*	11	12
		329.0 > 294.0		10
磺胺二甲异恶唑 Sulfisoxazole	7.49	268.0 > 92.0	12	24
		268.0 > 155.9*		12

药物名称	参考出峰时间	离子对	解离电压	碰撞能
三甲氧苄氨嘧啶 Trimethoprim	3.91	291.1>261.2*	9	15
		291.1>230.2		12
二甲氧苄氨嘧啶 Diaveridine	3.62	261.1>123.1*	20	35
		261.1>245.2		22
二甲氧甲基苄胺嘧啶 Ormetoprin	5.10	275.1>123.2*	19	35
		275.1>259.2		22

*定量离子

8.4.3 定性测定

选择1个母离子和2个子离子,在相同实验条件下,样品中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在±2.5%之内;且样品质谱图中定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较,若偏差不超过表3规定的范围,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表3 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	20~50 (含)	10~20 (含)	≤10
最大允许偏差 (%)	±30	±30	±30	±30

8.4.4 定量测定

在仪器最佳工作条件下,依次测定基质标准系列溶液(7.3)和试样溶液(7.2),可采用单点或多点校准,外标法定量。多点校准时,其基质匹配标准曲线的相关系数应大于或等于0.99;单点校准时,试样溶液中磺胺类药物的响应值应与校准溶液中的该响应值接近(即差值在±30%之内)。试样溶液中待测物的响应值均应在标准曲线的线性范围内,如果超出标准曲线线性范围,试样溶液和基质标准溶液应做相应稀释,重新测定。标准溶液特征离子质量色谱图参见附录A。

9 试验数据处理

试样中待测物含量以质量分数 w_i 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示。多点校准按式(1)计算;单点校准按式(2)计算:

$$w_i = \frac{\rho_i \times V_1 \times V_3}{V_2 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ρ_i ——由标准曲线得到的试样溶液中待测物质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V_1 ——试样提取溶液总体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——净化、氮气吹至近干后复溶试样溶液定容体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——净化用试样提取溶液体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

1 000——换算系数。

$$w_i = \frac{A_i \times c_s \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

A_r ——试样溶液待测物色谱峰面积；

C_s ——标准溶液组分 i 的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V_1 ——试样提取溶液总体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——净化、氮气吹至近干后复溶试样溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

A_s ——标准溶液待测物色谱峰面积；

V_2 ——净化用试样提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

1 000——换算系数。

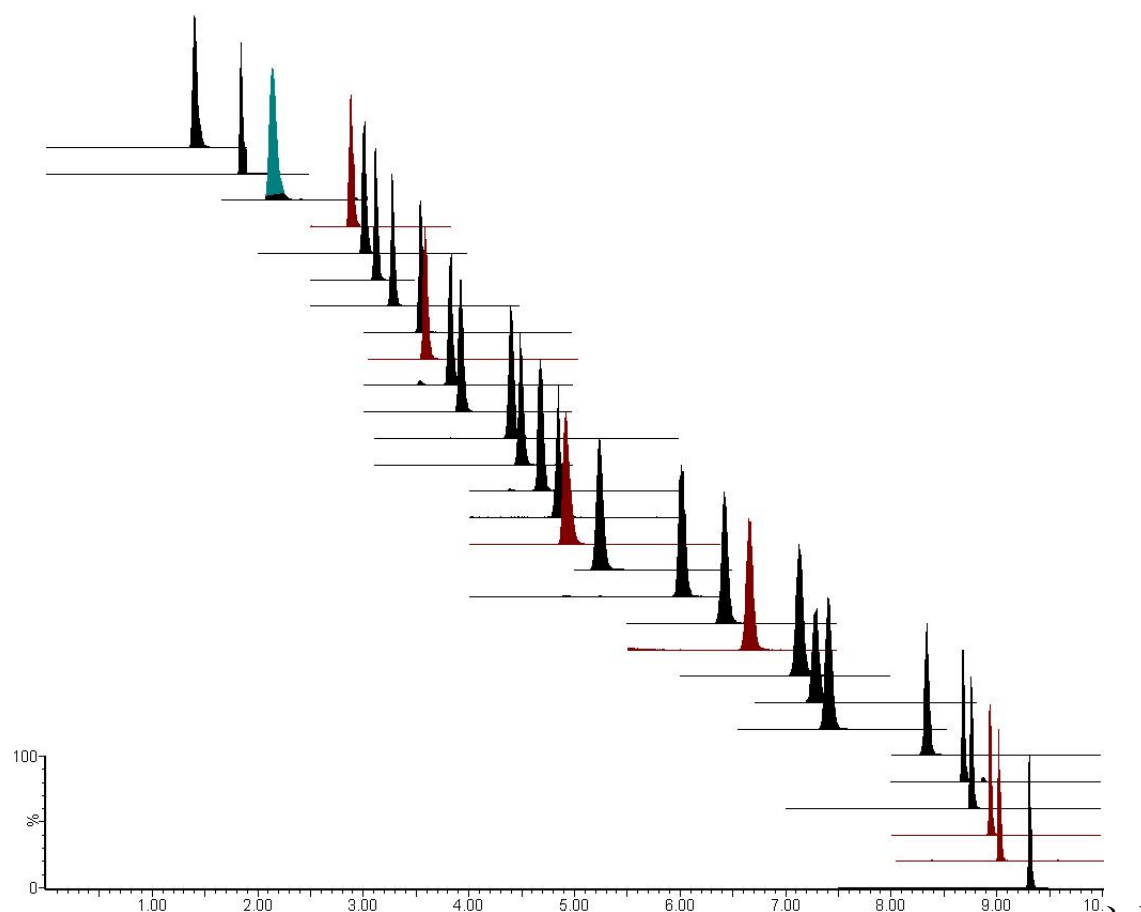
测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 20%。

附 录 A
(资料性)
29 种磺胺类药物定量离子色谱图

29 种磺胺类药物的液相色谱串联质谱图见图 A1。



注：29 种药物由上向下分别为：1 磺胺米隆 Mafenide，2 磺胺胍 Sulfaguanidine，3 磺胺 sulfanilamide，4 磺胺醋酰 Sulphacetamide，5 磺胺二甲异噻啉 Sulfisomidine，6 磺胺嘧啶 Sulfadiazine，7 磺胺噻唑 sulfathiazole，8 磺胺吡啶 Sulfapyridine，9 二甲氧苄氨嘧啶 Diaveridine，10 磺胺甲嘧啶 sulfamerazine，11 三甲氧苄氨嘧啶 Trimethoprim，12 磺胺二甲唑 Sulfafurazole，113 磺胺对甲氧嘧啶 Sulfametoxydiazine，14 磺胺甲噻二唑 Sulfamethizole，15 磺胺二甲基嘧啶 Sulfamethazine，16 二甲氧甲基苄胺嘧啶 Ormetoprin，17 磺胺甲氧吡嗪 Sulfamethoxyypyridazine，18 磺胺氯吡嗪 sulfachloropyridazine，19 磺胺甲恶唑 sulfamethoxazole，20 磺胺间甲氧嘧啶 sulfamonomethoxine，21 磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine，22 磺胺二甲异恶唑 Sulfisoxazole，23 磺胺苯酰 Sulfabenzamide，24 磺胺苯吡唑 Sulfaphenazole，25 磺胺氯吡嗪 sulfachloropyrazine，26 磺胺吡唑 sulfapyrazole，27 磺胺间二甲氧嘧啶 sulfadimethoxine，28 磺胺喹恶林 Sulfaquinoxaline，29 磺胺硝苯 Sulfanitran

附录 B

(资料性)

磺胺标准品的中英文名称、化学分子式和 CAS 号

磺胺标准品的中英文名称、化学分子式和 CAS 号见表 B.1。

表 B.1 标准品中英文名称、化学分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
磺胺醋酰	Sulphacetamide	C ₆ H ₇ NO ₃	144-80-9
磺胺胍	Sulfaguanidine	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	57-67-0
磺胺	sulfanilamide	C ₆ H ₈ N ₂ O ₂ S	63-74-1
磺胺米隆	Mafenide	C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	138-39-6
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
磺胺甲恶唑	sulfamethoxazole	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	723-46-6
磺胺噻唑	sulfathiazole	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	72-14-0
磺胺甲噻唑	sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	127-79-7
磺胺二甲唑	Sulfafurazole	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	729-99-7
磺胺间二甲氧嘧啶	sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	155-91-9; 122-11-2
磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6
磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	144-82-1
磺胺苯酰	Sulfabenzamide	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	127-71-9
磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	515-64-0
磺胺二甲基嘧啶	Sulfamethazine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1
磺胺对甲氧嘧啶	Sulfametoxydiazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	651-06-9
磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxyipyridazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	80-35-3
磺胺间甲氧嘧啶	sulfamonomethoxine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	1220-83-3
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
磺胺喹恶林	Sulfaquinoxaline	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	59-40-5
磺胺硝苯	Sulfanitran	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₅ S	122-16-7
磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	526-08-9
磺胺吡唑	sulfapyrazole	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₂ S	852-19-7
磺胺二甲异恶唑	Sulfisoxazole	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	127-69-5
三甲氧苄氨嘧啶	Trimethoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	738-70-5
二甲氧苄氨嘧啶	Diaveridine	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₂	5355-16-8
二甲氧甲基苄胺嘧啶	Ormetoprin	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₂	6981-18-6