



中华人民共和国国家标准

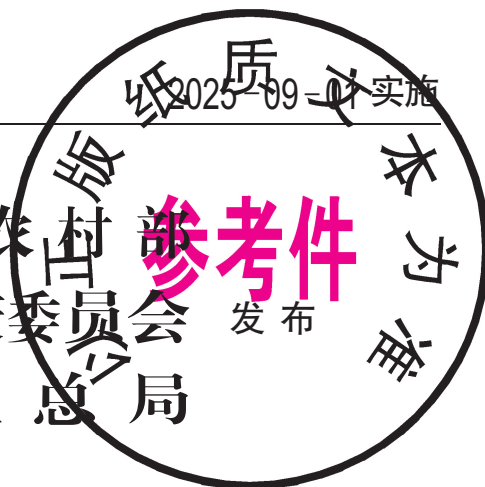
GB 31657.9—2025

食品安全国家标准 蜂产品中酞丁安残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of ftibamzone residue in honey by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry 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。



食品安全国家标准

蜂产品中酞丁安残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了蜂产品中酞丁安残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于蜂蜜中酞丁安残留量的测定。

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 分析实验室用水规则和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

蜂蜜中残留的药物用水提取,固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱法检测,外标法定量。

5 试剂和材料

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 中规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

5.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。

5.1.3 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.4 *N,N*-二甲基甲酰胺($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$,DMF):色谱纯。

5.1.5 二氯甲烷(CH_2Cl_2)。

5.2 溶液配制

5.2.1 甲醇溶液:取甲醇 10 mL,用水稀释至 100 mL。

5.2.2 二氯甲烷-乙腈溶液:取二氯甲烷 20 mL,用乙腈稀释至 100 mL。

5.3 标准品及其纯度

酞丁安(ftibamzone, $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}_2$,CAS 号:210165-00-7)纯度 $\geq 95\%$ 。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 酞丁安标准储备液:精密称取适量的酞丁安标准品,加入 DMF 0.5 mL 使其完全溶解,加入乙腈定容至 10 mL,配制成 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下避光保存,有效期 1 个月。

5.4.2 酞丁安标准工作液:吸取酞丁安标准储备液 100 μL ,于 10 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度,配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的酞丁安标准工作液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下避光保存,有效期 1 个月。

5.5 材料

5.1 苯基固相萃取柱:200 mg/6 mL,或相当者。

5.2 聚四氟乙烯滤膜: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。
- 6.2 涡旋振荡器。
- 6.3 高速离心机:8 000 r/min 或以上。
- 6.4 水浴振荡器。
- 6.5 氮吹仪。
- 6.6 分析天平:感量 0.01 mg 和 0.01 g。
- 6.7 移液器:10 μ L、20 μ L、200 μ L、1 000 μ L、5 000 μ L。
- 6.8 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试蜂蜜,将其搅拌均匀。对有结晶的蜂蜜样品,在密闭情况下,置于不超过 60 $^{\circ}$ C 的水浴中解晶,待样品全部融化后搅匀,冷却至室温。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并做上标记。

- a) 取均质后的供试样品,作为供试试样;
- b) 取均质后的空白样品,作为空白试样;
- c) 取均质后的空白样品,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。

8 测定步骤

8.1 提取

称取蜂蜜试料(5.0 $\pm$ 0.05)g 于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 10 mL 水,振荡 5 min,于 4 $^{\circ}$ C 下 8 000 r/min 离心 10 min,上清液备用。

8.2 净化

苯基固相萃取柱预先用 10 mL 甲醇和 10 mL 水活化,备用液以 $\leq$ 1 滴/s 流速过固相萃取柱,待完全流出后,用 10 mL 甲醇水溶液淋洗,弃去全部流出液,负压抽干,10 mL 二氯甲烷-乙腈溶液洗脱,洗脱液收集于 15 mL 离心管中,于 40 $^{\circ}$ C 下氮吹至近干,准确加入 1.0 mL 乙腈复溶,经 0.22 μ m 滤膜过滤后,供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 标准曲线的制备

准确移取酞丁安标准工作液适量,用乙腈溶液配制成浓度分别为 5 μ g/L、10 μ g/L、50 μ g/L、100 μ g/L、200 μ g/L、500 μ g/L、1 000 μ g/L 的系列标准溶液,供液相色谱-串联质谱测定。以待测物的峰面积为纵坐标、相应的标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算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: C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 3.0 mm,2.7 μ m)或相当者;
- b) 流动相:A 为 0.1%甲酸水溶液,B 为乙腈,梯度洗脱程序见表 1;

表 1 梯度洗脱程序

时间,min	A,%	B,%
0	55	45
2	0	100

表 1（续）

时间,min	A,%	B,%
3	0	100
3.1	55	45
6	55	45

- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 进样量:5 μL。

8.4.2 质谱参考条件

- 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(MRM);
- d) 干燥气温度:150 ℃;
- e) 干燥气流速:13 L/min;
- f) 雾化器压力:30 psi;
- g) 鞘气温度:325 ℃;
- h) 鞘气流速:11 L/min;
- i) 毛细管电压:3 500 V。

选择离子参数设定见表 2。

表 2 选择离子参数设定

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)
酞丁安	378.1>287.1(10) 378.1>318.9(6)	378.1>287.1(10)

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下,试样溶液中酞丁安与校正标准溶液中酞丁安的保留时间偏差在±0.1 min 以内;且检测到的相对离子丰度,应与浓度相当的校正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

分别取适量试样溶液和相应浓度的标准工作液,作单点校准或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。标准工作液及试样液中药物的响应值均应在仪器检测的线性范围内,试样液进样过程中应穿插标准工作液,以便准确定量。对于试样中酞丁胺残留量超过仪器测定线性范围的,应进行适当倍数稀释后再进行分析。酞丁安标准溶液特征离子谱图见附录 A。

8.5 空白试验

取空白试样,除不加试样外,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

试样中酞丁安的残留量按标准曲线或公式(1)计算:

$$X = \frac{C_s \times A \times V \times 1000}{A_s \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中相应的酞丁安残留量的数值,单位为微克每千克(μg/kg);
- C_s —— 标准溶液中相应的酞丁安浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A_s —— 标准溶液中相应的酞丁安峰面积;

A ——试样中相应的酞丁安峰面积；

V ——溶解残留物溶液体积的数值，单位为毫升(mL)；

m ——试料质量的数值，单位为克(g)；

1 000 ——换算系数。

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 检测方法的灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法检出限为 $2\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $5\ \mu\text{g}/\text{kg} \sim 200\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内，其回收率范围为 $70\% \sim 110\%$ 。

10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附 录 A
(资料性)

酞丁安标准溶液特征离子质量色谱图

酞丁安标准溶液特征离子质量色谱图见图 A. 1。

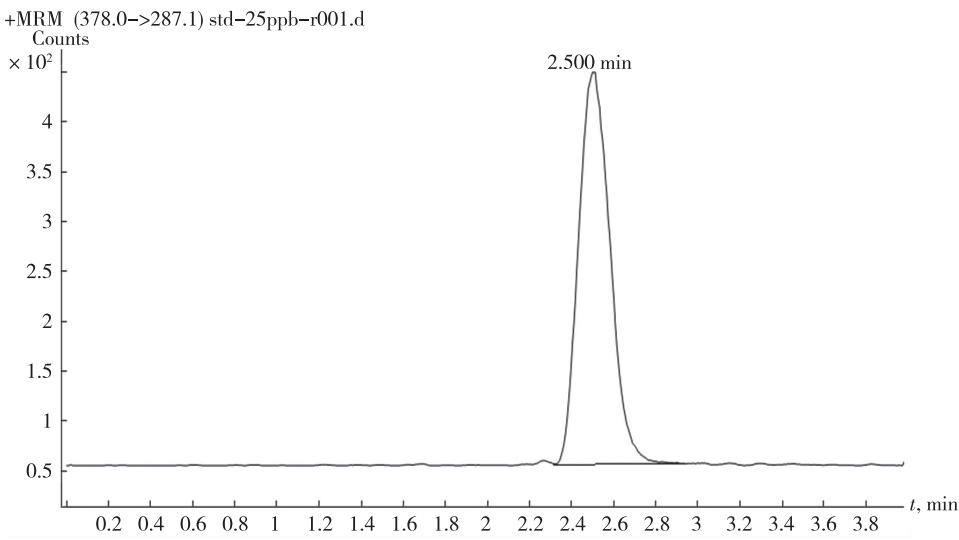


图 A. 1 酞丁安标准溶液特征离子质量色谱图 (25 ng/mL)