

T/QAS

团 体 标 准

T/XXX XXX—XXXX

牛羊肉中十八种磺胺类药物残留量的测定 高效液相色谱-荧光法

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

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。

请注意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。

本文件由青海谱测检测有限公司提出。

本文件由青海省标准化协会归口。

本文件起草单位：青海谱测检测有限公司、青海省农产品质量安全检测中心、格尔木市农畜产品质量安全检验检测中心、海西州农畜产品质量安全检验检测中心。

本文件主要起草人：李林、包温奎、何晓洁、王烈煜、王希琴、肖远灿、权婷、赵维章、徐亚鑫、孙小梅、和珊、韩昌秀、唐伯红、贾利蕊、黄俊、黄启文、周措吉、张洁雅。

牛羊肉中十八种磺胺类药物残留量的测定高效液相色谱-荧光法

1 范围

本标准规定了牛肉、羊肉中十八种磺胺类药物残留量的高效液相色谱-荧光测定方法。

本标准适用于牛肉、羊肉中十八种磺胺类药物残留量的测定。

本标准的方法检出限：磺胺吡啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺氯吡嗪钠、磺胺对甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉为 $1.0 \mu\text{g/kg}$ ，磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺硝苯为 $2.5 \mu\text{g/kg}$ ，磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶钠和磺胺苯吡唑为 $5.0 \mu\text{g/kg}$ ，磺胺噻唑和磺胺二甲异噁唑为 $10.0 \mu\text{g/kg}$ ，磺胺酞酰和苯酰磺胺为 $15.0 \mu\text{g/kg}$ 。

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

牛羊肉中磺胺类药物残留用 1%冰乙酸-乙腈溶液高速匀浆提取，离心后，上清液采用复合净化剂涡旋混合净化后离心，上清液用旋转蒸发器浓缩近干，残余物用初始流动相溶解，微孔滤膜过滤后，样品溶液供光化学衍生后经高效液相色谱-荧光检测法测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水符合 GB/T 6682 中一级水的规定。

5.1 乙酸：色谱纯。

5.2 乙腈。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 无水硫酸镁：经 650°C 灼烧 4h，置于干燥器中备用。

5.5 无水乙酸钠。

5.6 十八烷基硅烷键合硅胶(C18)，200~300目。

5.7 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA)，40~60 μm 。

5.8 石墨化炭黑(GCB)，120~400目。

5.9 0.3%乙酸溶液：吸取1.5mL乙酸，加水溶解定容至500mL。

5.10 1%乙酸-乙腈溶液：1:99。

5.11 磺胺类药物标准物质：磺胺醋酐、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧吡嗪、磺胺氯吡嗪、磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺二甲异噁唑、苯酰磺胺、磺胺苯吡唑、磺胺氯吡嗪钠、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉、磺胺硝苯，纯度 $\geq 98\%$ 。

5.12 磺胺类药物标准溶液

5.12.1 磺胺类药物标准贮备液：准确称取十八种磺胺类标准物质各10.0mg，分别放入100mL的容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，摇匀。该溶液中十八种磺胺类药物浓度均为0.1mg/mL。置4℃冰箱中保存，保存期为二个月。

5.12.2 磺胺类药物混合标准工作液：取上述每种磺胺标准贮备液适量，用流动相逐级稀释，得到磺胺嘧啶、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧吡嗪、磺胺氯吡嗪、磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺苯吡唑、磺胺氯吡嗪钠、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉和磺胺硝苯的浓度为0.1、0.2、0.8、2.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ ；磺胺醋酐、磺胺噻唑、磺胺二甲异噁唑和苯酰磺胺的浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液。贮存于4℃冰箱中，有效期一周。

5.13 滤膜：0.2 μm 。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪，配备荧光检测器。

6.2 光化学在线衍生器：衍生管长度24m，内径0.25 μm 。

6.3 分析天平：感量为0.0001g。

6.4 均质器。

6.5 离心机。

6.6 涡旋混匀器。

6.7 旋转蒸发仪。

6.8 移液管：1mL，10mL。

6.9 离心管：50mL，15mL。

6.10 鸡心瓶：50mL。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取匀质的牛肉或羊肉肌肉组织试样 5.00g (精确到 0.01g) 于 50 mL 预先加入 6.00 g 无水硫酸镁、1.5g 无水乙酸钠的离心管准确加入 20 mL 1% 乙酸-乙腈溶液, 用均质器于 18000r/min 下均质 2 min, 4000r/min 离心 5 min, 上清液待净化。

7.2 试样净化

将 12 mL 上清液置于 15mL 离心管中, 牛肉试样的离心管中预先加入 750mg 无水硫酸镁, 160mg PSA, 100mg GCB 和 50mg C18, 羊肉试样的离心管中预先加入 750 mg 无水硫酸镁, 70 mg PSA, 80mg GCB 和 100mg C18。将离心管剧烈涡旋混 2min, 4000r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于 50 mL 鸡心瓶中, 用旋转蒸发器于 50℃ 水浴浓缩至近干, 残渣用 1 mL 流动相溶解, 过 0.2 μm 滤膜, 待 HPLC 测定。

7.3 色谱条件

7.3.1 色谱柱: Eclipse Plus C18 5 μm 250 × 4.6 mm, 或性能相当者。

7.3.2 柱温: 36℃。

7.3.3 流速: 0.7 mL/min。

7.3.4 进样量: 20 μL。

7.3.5 检测波长: 激发波长 320 nm, 发射波长 450nm。

7.3.6 流动相: A: 0.3% 乙酸水溶液, B: 甲醇。

7.3.7 流动相梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	甲醇/%	0.3%乙酸水溶液/%
0	20	80
22	37	63
35	60	40
40	80	20
45	20	80

7.4 标准曲线制作

色谱条件测定见 5.12.2, 浓度由低到高进样检测, 以磺胺类药物各组分的峰面积为纵坐标, 以标准工作液的浓度 (μg/mL) 为横坐标作图, 得到标准曲线回归方程。

7.5 定量测定

外标法定量。7.3 测定试样溶液, 记录相应的色谱峰峰面积, 从标准曲线中查得试样溶液中各种磺胺类药物浓度。

7.6 平行试验

按以上步骤, 对同一试样进行平行试验测定。

7.7 空白试验

除不加试样外, 均按上述分析步骤进行。

8 7 结果计算

按照公式计算试样中各种磺胺类药物残留的含量：

$$X = \frac{2c \times v}{m}$$

式中：

X—— 试样中每种磺胺类药物的残留量，单位为毫克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

c—— 从标准曲线中得到的试样溶液中每种磺胺类药物浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）；

v—— 试样最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m—— 称取的试样重量，单位为克（ g ）；

平行测定结果用算术平均值表示，保留三位有效数字；

注：计算结果应扣除空白值。

9 检测方法

9.1 灵敏度

本标准的方法检出限：磺胺吡啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺氯嘧啶、磺胺氯吡嗪钠、磺胺对甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉为 $1.0\mu\text{g}/\text{kg}$ ，磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺硝苯为 $2.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ，磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶钠和磺胺苯吡唑为 $5.0\mu\text{g}/\text{kg}$ ，磺胺噻唑和磺胺二甲异噁唑为 $10.0\mu\text{g}/\text{kg}$ ，磺胺酞酰和苯酰磺胺为 $15.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

在添加浓度 $0.02\text{mg}/\text{kg} \sim 1.00\text{mg}/\text{kg}$ 时回收率均为 70%~120%。

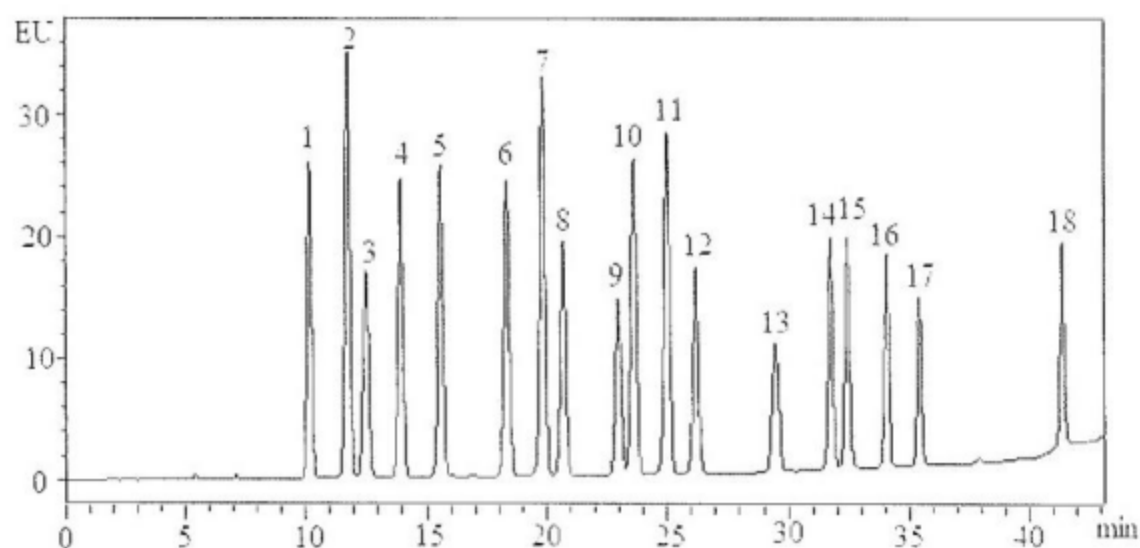
9.3 精密度

本方法的批内标准偏差 $\leq 10\%$ ，批间标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附录 A

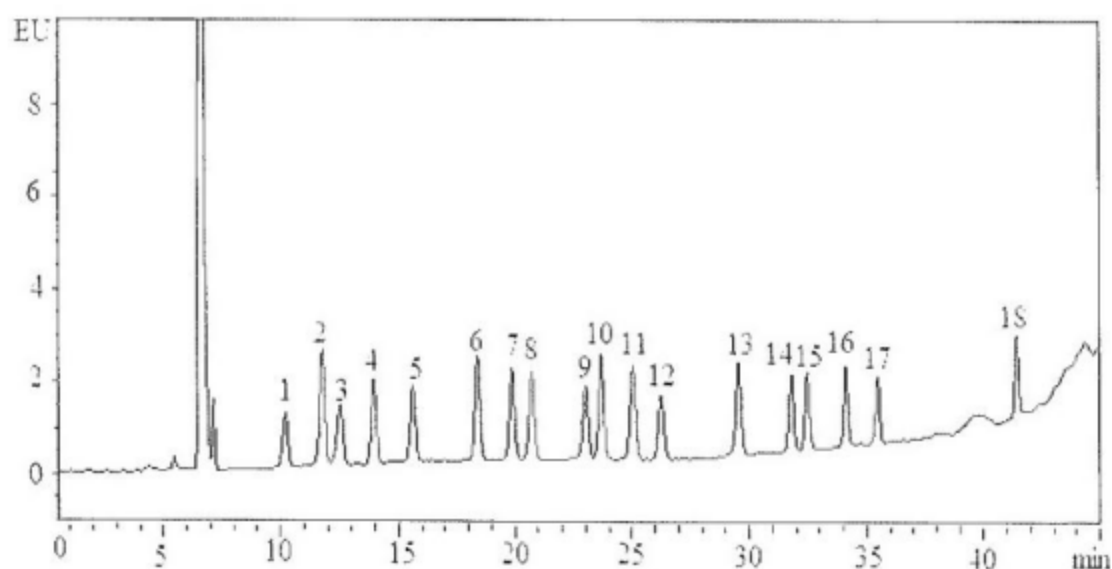
(资料性)

A.1 18 种磺胺类药物对照样品色谱图



注：1—磺胺醋酰；2—磺胺嘧啶；3—磺胺噻唑；4—磺胺吡啶；5—磺胺甲基嘧啶；6—磺胺对甲氧嘧啶；7—磺胺二甲嘧啶；8—磺胺甲氧哒嗪；9—磺胺氯哒嗪；10—磺胺甲噁唑；11—磺胺间甲氧嘧啶钠；12—磺胺二甲异噁唑；13—苯酰磺胺；14—磺胺苯吡唑；15—磺胺氯吡嗪钠；16—磺胺间二甲氧嘧啶；17—磺胺喹噁啉；18—磺胺硝苯。

A.2 羊肉组织空白添加磺胺类药物试样色谱图



A.3 牛肉组织空白添加磺胺类药物试样色谱图

