

T/QAS

团 体 标 准

T/QAS 133—2025

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

2025 - 11 - 11 发布

2025 - 11 - 11 实施

青海省标准化协会 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》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、权婷、赵维章、徐亚鑫、孙小梅、和珊、韩昌秀、吴发艳、贾利蕊、黄俊、黄启文、周措吉、张洁雅、张发玉。

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

本文件规定了牛肉、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。
本文件适用于牛肉、羊肉中十八种磺胺类药物残留量的测定。

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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中磺胺类药物,用提取液经复合净化剂净化,浓缩,定容过滤后,试溶液经高效液相色谱分离、柱后光化学衍生-荧光检测法测定,外标法定量。

5 试剂与材料

5.1 试剂

5.1.1 乙酸(CH_3COOH):色谱纯。

5.1.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.3 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

5.1.4 无水硫酸镁(MgSO_4):分析纯,经 650°C 灼烧4h,置于干燥器中备用。

5.1.5 无水乙酸钠(CH_3COONa)。

5.1.6 十八烷基硅烷键合硅胶(C18):200~300目。

5.1.7 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA):40~60 μm 。

5.1.8 石墨化炭黑(GCB):120~400目。

5.1.9 标准品:磺胺醋酰、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、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、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 $\geq 98\%$ 或经国家认证授予标准证书的标准物质。见附录A。

5.1.10 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。

5.2 试剂配制

5.2.1 0.3 %乙酸溶液：吸取 1.5 mL 乙酸，加水溶解定容至 500 mL。

5.2.2 乙酸-乙腈溶液：(1: 99) 取 1 mL 乙酸置 99 mL 的乙腈中。

5.2.3 复合净化剂制备：

5.2.3.1 牛肉试样净化剂：在 25 mL 离心管加入 750 mg 无水硫酸镁 (4.1.4)，160 mg PSA (4.1.7)，100 mg GCB (4.1.8) 和 50 mg C18 (4.1.6)。

5.2.3.2 羊肉试样净化剂：在 25 mL 离心管加入 750 mg 无水硫酸镁 (4.1.4)，70 mg PSA (4.1.7)，80 mg GCB (4.1.8) 和 100 mg C18 (4.1.6)。

5.2.4 磺胺类药物标准储备液：准确移取 18 种磺胺类标准品甲醇稀释定容至 10 mL，摇匀。该溶液中 18 种磺胺类药物浓度均为 50 $\mu\text{g/mL}$ 。置 4℃ 冰箱中保存，保存期为二个月。

5.2.5 混合标准工作液

5.2.5.1 分别取磺胺嘧啶、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲唑、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、磺胺噻唑啉和磺胺硝苯标准储备液 (4.2.4) 适量，用流动相逐级稀释，得到的浓度为 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ ，贮存于 -18℃ 以下冰箱保存，有效期 1 个月。

5.2.5.2 分别取磺胺醋酰、磺胺噻唑、磺胺二甲异噻唑和苯酰磺胺的标准储备液 (4.2.4) 适量，用流动相逐级稀释，得到浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液，贮存于 -18℃ 以下冰箱保存，有效期 1 个月。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪，配光化学在线衍生器和荧光检测器。

6.2 分析天平：感量为 0.0001 g。

6.3 均质器：配备直径 19 mm 均质刀。

6.4 高速离心机：85000 r/min。

6.5 肉类组织粉碎机。

6.6 漩涡振荡器。

6.7 减压旋转蒸发仪。

6.8 氮吹浓缩仪。

6.9 离心管：具塞，50 mL，25 mL。

6.10 滤膜：0.2 μm ，聚四氟乙烯滤膜。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备：从全部样品中取出有代表性样品约 1 kg，充分搅碎，混匀，均分成两份，分别装入洁净容器内。密封，作为试样，标明标记。在抽样和制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

7.2 试样保存：将试样于 -18℃ 冷冻保存。

8 测定步骤

8.1 试样提取

称取 5.00g 试样置于已预先加入 6.00 g 无水硫酸镁 (4.1.4)、1.5g 无水乙酸钠 (4.1.5) 的 50 mL 离心管中, 准确加入 20 mL 乙酸-乙腈溶液 (4.2.2), 于 18000 r/min 均质 2 min, 4000r/min 离心 5 min, 取上清液待净化。

8.2 试样净化

取 10mL 上清液置 25 mL 盛有复合净化剂 (4.2.3, 1 或 2) 离心管中, 涡旋混合 2 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于 50 mL 鸡心瓶中 采用旋转蒸发仪于 50℃减压浓缩或氮吹仪浓缩至近干, 残渣用 1 mL 流动相溶解, 过滤, 待测。

8.3 标准曲线制作

取混合标准工作液 (4.2.5 a 和 b) 供高效液相色谱测定。以测得的峰面积为纵坐标, 以对应的标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 求回归方程和相关系数。

8.4 液相色谱参考条件

8.4.1 色谱柱: Eclipse Plus C18, 4.6 mm (内径) × 250 mm, 粒径 5 μm, 或性能相当者。

8.4.2 柱温: 36 ℃。

8.4.3 流速: 0.7 mL/min。

8.4.4 进样量: 20 μL。

8.4.5 检测波长: 激发波长 320 nm, 发射波长 450 nm。

8.4.6 流动相: A: 0.3 %乙酸水溶液, B: 甲醇。

8.4.7 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	0.3%乙酸水溶液/%	甲醇/%
0	80	20
22	63	37
35	40	60
40	20	80
45	80	20
50	80	20

8.4.8 测定方法

取试样溶液和相应的对照溶液, 作单点或多点校准, 按外标法, 以峰面积计算。对照溶液及试样溶液中磺胺类药物的响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述条件下 (8.4) 对照溶液和样品溶液的色谱图见附录 B。

8.4.9 平行试验

按以上步骤，对同一试样进行平行试验测定。

8.4.10 空白试验

除不加试样外，均按上述分析步骤进行。

9 8 结果计算

按照式（1）计算试样中各种磺胺类药物残留的含量：

$$X = \frac{2c \times v}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：X——试样中：中每种磺胺类药物的残留量，单位为毫克每千克（mg/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（μg/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）。

注：结果保留二位有效数字。计算结果应扣除空白值。

10 检测方法灵敏度、准确度、精密度

10.1 灵敏度

本文件的方法检出限和定量限详见附录 C。

10.2 准确度

在添加浓度 0.02mg/kg~1.00mg/kg 时本方法回收率均为 70%~120%。

10.3 精密度

本方法的批内标准偏差≤10%，批间标准偏差≤15%。

附录 A

(资料性)

18 种磺胺类药物化学分子式和 CAS 号

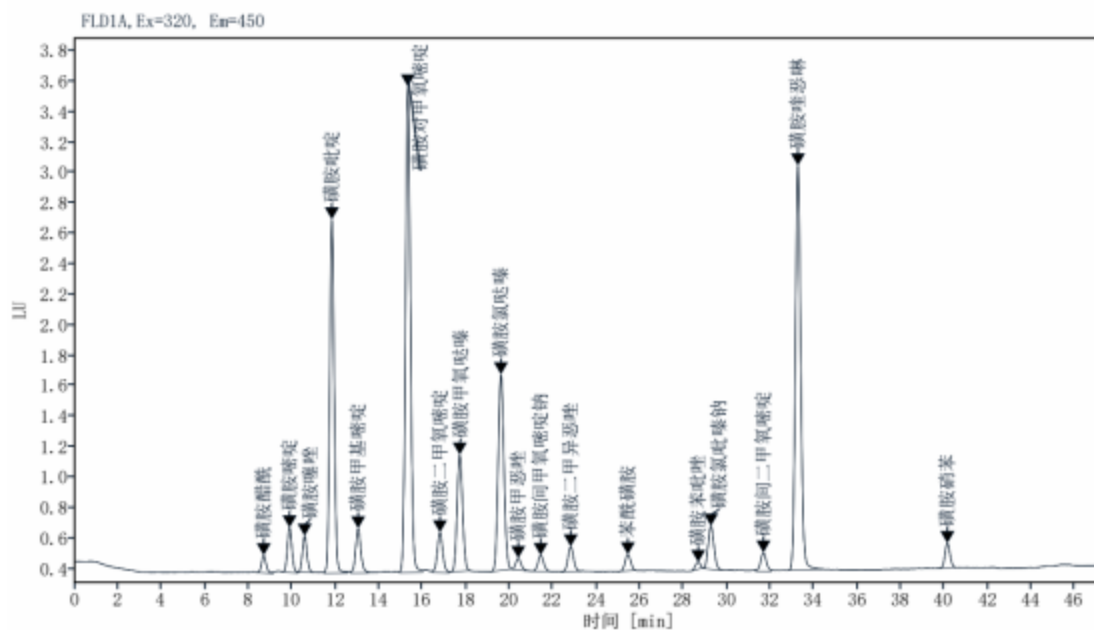
18 种磺胺类药物化学分子式和 CAS 号

药物名称	分子式	CAS 号
磺胺醋酰	$C_8H_{10}N_2O_3S$	144-80-9
磺胺嘧啶	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	68-35-9
磺胺噻唑	$C_9H_9N_3O_2S_2$	72-14-0
磺胺吡啶	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	144-83-2
磺胺甲基嘧啶	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	127-79-7
磺胺对甲氧嘧啶	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	651-06-9
磺胺二甲嘧啶	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	57-68-1
磺胺甲氧哒嗪	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	80-35-3
磺胺氯哒嗪	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	80-32-0
磺胺甲噁唑	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	723-46-6
磺胺间甲氧嘧啶钠	$C_{11}H_{11}N_4O_3NaS$	38006-08-5
磺胺二甲异噁唑	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	127-69-5
苯酰磺胺	$C_{13}H_{12}N_2O_3S$	127-71-9
磺胺苯吡唑	$C_{15}H_{14}N_4O_2S$	526-08-9
磺胺氯吡嗪钠	$C_{10}H_{10}ClN_4NaO_3S$	1392129-96-2
磺胺间二甲氧嘧啶	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	122-11-2
磺胺喹噁啉	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$	59-40-5
磺胺硝苯	$C_{14}H_{13}N_3O_3S$	122-16-7

附录 B

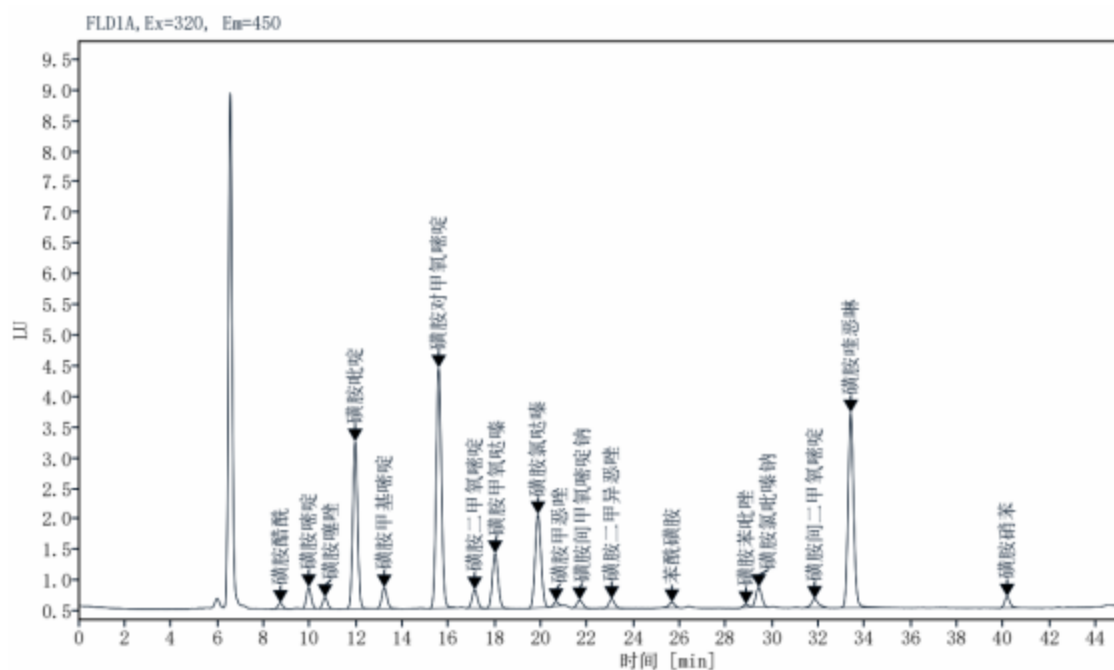
(资料性)

B.1 18 种磺胺类药物对照样品色谱图

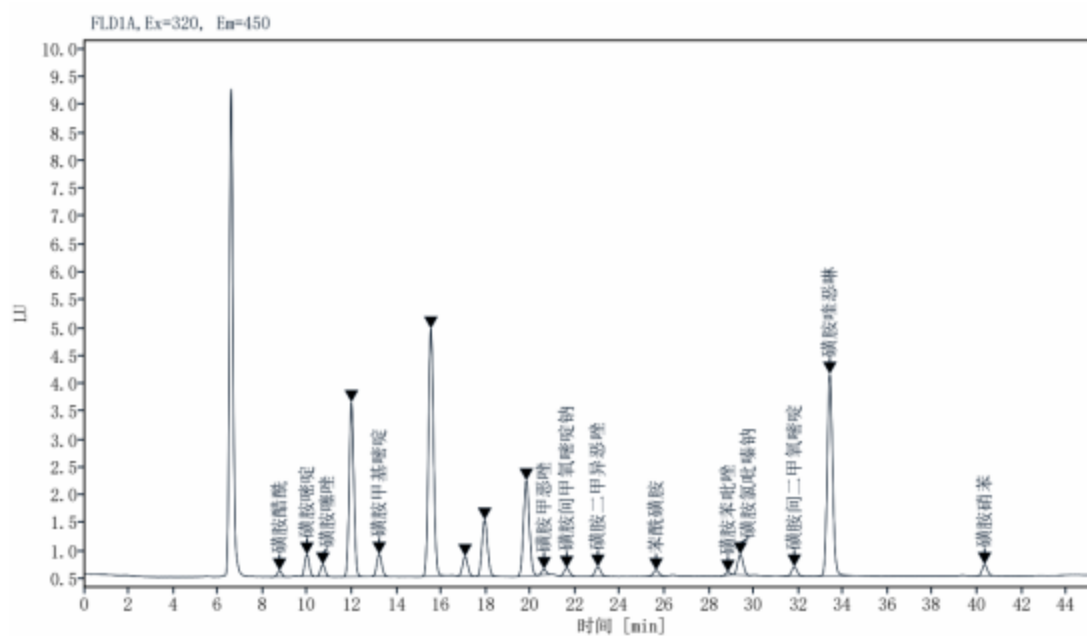


注：出峰顺序磺胺醋酰；磺胺嘧啶；磺胺噻唑；磺胺吡啶；磺胺甲基嘧啶；磺胺对甲氧嘧啶；磺胺二甲嘧啶；磺胺甲氧哒嗪；磺胺氯哒嗪；磺胺甲噁唑；磺胺间甲氧嘧啶钠；磺胺二甲异噁唑；苯酰磺胺；磺胺苯吡唑；磺胺氯吡嗪钠；磺胺间二甲氧嘧啶；磺胺喹噁啉；磺胺硝苯。

B.2 羊肉组织空白添加磺胺类药物试样色谱图



B.3 牛肉组织空白添加磺胺类药物试样色谱图



附录 C

(资料性)

18 种磺胺类药物方法检出限和定量限

附录 C18 种磺胺类药物方法检出限和定量限

药物名称	方法检出限 (mg/kg)	方法定量限 (mg/kg)
磺胺醋酞	0.20	0.50
磺胺嘧啶	0.040	0.10
磺胺噻唑	0.20	0.50
磺胺吡啶	0.020	0.050
磺胺甲基嘧啶	0.040	0.10
磺胺对甲氧嘧啶	0.020	0.050
磺胺二甲嘧啶	0.20	0.50
磺胺甲氧哒嗪	0.10	0.30
磺胺氯哒嗪	0.020	0.050
磺胺甲噁唑	0.20	0.50
磺胺间甲氧嘧啶钠	0.20	0.50
磺胺二甲异噁唑	0.20	0.50
苯酰磺胺	0.20	0.50
磺胺苯吡唑	0.20	0.50
磺胺氯吡嗪钠	0.20	0.50
磺胺间二甲氧嘧啶	0.20	0.50
磺胺喹噁啉	0.020	0.050
磺胺硝苯	0.20	0.50