

中华人民共和国国家标准

GB 29694—2013

食品安全国家标准

动物性食品中 13 种磺胺类药物多残留的 测定 高效液相色谱法

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

食品安全国家标准

动物性食品中 13 种磺胺类药物多残留的 测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中磺胺类药物残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于猪和鸡的肌肉和肝脏组织中的磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、苯酰磺胺、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噻唑、磺胺异噻唑、磺胺二甲氧哒嗪和磺胺吡唑单个或多个药物残留量的检测。

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试验方法

3 原理

试料中残留的磺胺类药物,用乙酸乙酯提取,0.1 mol/L 盐酸溶液转换溶剂,正己烷除脂,MCX 柱净化,高效液相色谱-紫外检测法测定,外标法定量。

4 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 规定的一级水。

4.1 磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺甲氧哒嗪、苯酰磺胺、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噻唑、磺胺异噻唑、磺胺二甲氧哒嗪、磺胺吡唑对照品:含量 $\geq 99\%$;磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶:含量 $\geq 98\%$ 。

4.2 乙酸乙酯:色谱纯。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 甲醇:色谱纯。

4.5 盐酸。

4.6 正己烷。

4.7 甲酸:色谱纯。

4.8 氨水。

4.9 MCX 柱:60 mg/3 mL,或相当者。

4.10 0.1%甲酸溶液:取甲酸 1 mL,用水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.11 0.1%甲酸乙腈溶液:取 0.1%甲酸 830 mL,用乙腈溶解并稀释至 1 000 mL。

4.12 洗脱液:取氨水 5 mL,用甲醇溶解并稀释至 100 mL。

4.13 0.1 mol/L 盐酸溶液:取盐酸 0.83 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

4.14 50% 甲醇乙腈溶液:取甲醇 50 mL,用乙腈溶解并稀释至 100 mL。

4.15 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 磺胺类药物混合标准贮备液:精密称取磺胺类药物标准品各 10 mg,于 100 mL 量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的磺胺类药物混合标准贮备液。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期 6 个月。

4.16 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 磺胺类药物混合标准工作液:精密量取 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 磺胺类药物混合标准贮备液 5.0 mL,于 50 mL 量瓶中,用乙腈稀释至刻度,配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的磺胺类药物混合标准工作液。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期 6 个月。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.2 分析天平:感量 0.000 01 g。

5.3 天平:感量 0.01 g。

5.4 涡动仪。

5.5 离心机。

5.6 均质机。

5.7 旋转蒸发仪。

5.8 氮吹仪。

5.9 固相萃取装置。

5.10 鸡心瓶:100 mL。

5.11 聚四氟乙烯离心管:50 mL。

5.12 滤膜:有机相,0.22 μm 。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织,绞碎,并使均质。

——取均质后的供试样品,作为供试试料。

——取均质后的空白样品,作为空白试料。

——取均质后的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 5 g \pm 0.05 g,于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中,加乙酸乙酯 20 mL,涡动 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液于 100 mL 鸡心瓶中,残渣中加乙酸乙酯 20 mL,重复提取一次,合并两次提取液。

7.2 净化

鸡心瓶中加 0.1 mol/L 盐酸溶液 4 mL,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 下旋转蒸发浓缩至少于 3 mL,转至 10 mL 离心管

中。用 0.1 mol/L 盐酸溶液 2 mL 洗鸡心瓶,转至同一离心管中。再用正己烷 3 mL 洗鸡心瓶,将正己烷转至同一离心管中,涡旋混合 30 s,3 000 r/min 离心 5 min,弃正己烷。再次用正己烷 3 mL 洗鸡心瓶,转至同一离心管中,涡旋混合 30 s,3 000 r/min 离心 5 min,弃正己烷,取下层液备用。

MCX 柱依次用甲醇 2 mL 和 0.1 mol/L 盐酸溶液 2 mL 活化,取备用液过柱,控制流速 1 mL/min。依次用 0.1 mol/L 盐酸溶液 1 mL 和 50% 甲酸乙腈溶液 2 mL 淋洗,用洗脱液 4 mL 洗脱,收集洗脱液,于 40℃ 氮气吹干,加 0.1% 甲酸乙腈溶液 1.0 mL 溶解残余物,滤膜过滤,供高效液相色谱测定。

7.3 标准曲线制备

精密量取 10 μg/mL 磺胺类药物混合标准工作液适量,用 0.1% 甲酸乙腈溶液稀释,配制成浓度为 10、50、100、250、500、2 500 和 5 000 μg/L 的系列混合标准溶液,供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标,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。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

7.4.1.1 色谱柱: ODS-3C₁₈ (250 mm×4.5 mm, 粒径 5 μm), 或相当者。

7.4.1.2 流动相: 0.1% 甲酸 + 乙腈, 梯度洗脱见表 1。

7.4.1.3 流速: 1 mL/min。

7.4.1.4 柱温: 30℃。

7.4.1.5 检测波长: 270 nm。

7.4.1.6 进样体积: 100 μL。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	0.1% 甲酸 %	乙腈 %
0.0	83	17
5.0	83	17
10.0	80	20
22.3	60	40
22.4	10	90
30.0	10	90
31.0	83	17
48.0	83	17

7.4.2 测定法

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响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下,对照溶液和试样溶液的高效液相色谱图见附录 A。

7.5 空白试验

除不加试料外,采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

试料中磺胺类药物的残留量按式(1)计算:

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

式中:

X ——供试试料中相应的磺胺类药物的残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

c ——试样溶液中相应的磺胺类药物浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V ——溶解残余物所用 0.1%甲酸乙腈溶液体积,单位为毫升(mL);

m ——供试试料质量,单位为克(g)。

注:计算结果需扣除空白值,测定结果用平行测定后的算术平均值表示,保留三位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

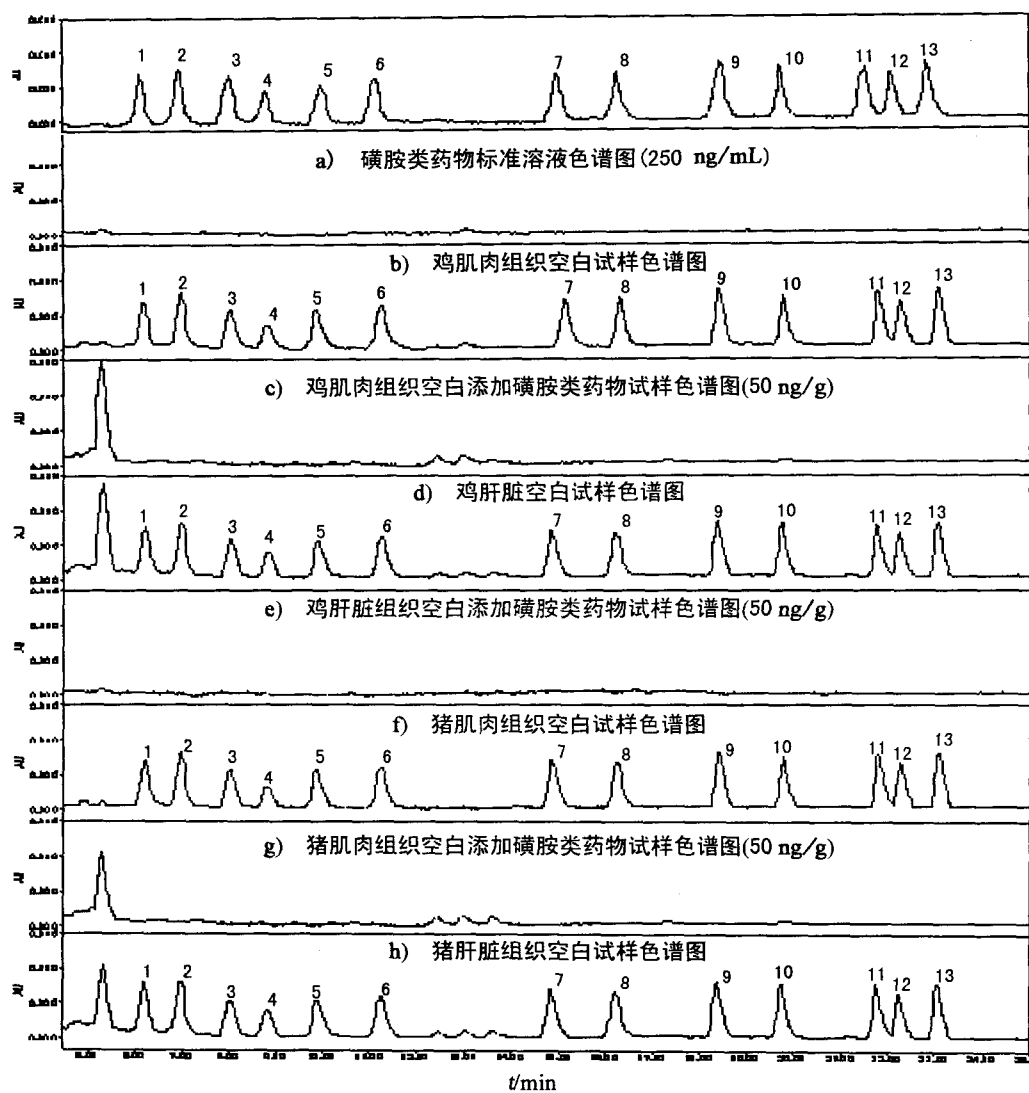
本方法猪和鸡的肌肉组织的检测限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$;猪和鸡的肝脏组织的检测限为 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法肌肉组织在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝脏组织在 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度添加水平上的回收率为 60%~120%。

9.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A
色谱图

i) 猪肝组织空白添加磺胺类药物试样色谱图(50 ng/g)

说明:

1—磺胺醋酰;

2—磺胺吡啶;

3—磺胺噁唑;

4—磺胺甲基嘧啶;

5—磺胺二甲基嘧啶;

6—磺胺甲氧嘧啶;

7—苯酰磺胺;

8—磺胺间甲氧嘧啶;

9—磺胺氯哒嗪;

10—磺胺甲噁唑;

11—磺胺异噁唑;

12—磺胺二甲氧哒嗪;

13—磺胺吡唑。

图 A.1 色谱图