

## 动物源性食品中磺胺类药物残留的测定(执行国标 GB/T 21316-2007 和 GB/T 20759-2006)

### 1.适用范围

本方法适用于动物源性食品中磺胺类药物残留的测定。实验以 10 种典型的磺胺类药物为例，包括：磺胺嘧啶，磺胺噻唑，磺胺吡啶，磺胺甲基嘧啶，磺胺-5-甲氧嘧啶，磺胺二甲基嘧啶，磺胺甲氧哒嗪，磺胺氯哒嗪，磺胺异恶唑，磺胺苯甲酰。本方法不代表仅能做 10 种磺胺类药物残留的测定。

### 2.原理

2.1: 动物源性食品磺胺类药物用乙腈提取，离心后，上清液用旋转蒸发器浓缩至近干，残渣用流动相溶解，并用正己烷脱脂后，样品溶液供液相色谱-柱后光化学衍生器-荧光检测器检测，外标法定量。

2.2: 试样中加入 C18 填料后研磨均匀，其中磺胺类药物残留用乙腈-水在微波辐照辅助下进行提取，用乙腈饱和的正己烷液液分配净化，用液相色谱-柱后光化学衍生器-荧光检测器检测。本方法的最大优势是方法步骤简单，用荧光检测器测定磺胺类的灵敏度完全可以与质谱检测器相媲美，且比用质谱检测器进行检测步骤要简单得多。

### 3.前处理步骤

按照国标 GB/T 21316-2007 和 GB/T 20759-2006 进行样品前处理。

**磺胺标准储备溶液的配制：**分别精密称取上述 10 种物质的标准品，用甲醇溶解稀释至每 1ml 中含 1.0 mg 的溶液，作为标准储备溶液，放置冰箱-18 度保存。

**各种磺胺单标溶液的配制：**精密移取上述各物质的标准储备溶液 1.0 ml 至 100 ml 容量瓶中，用流动相 A 稀释至刻度，即得。

**10 种磺胺混标溶液的配制：**精密移取适量标准储备溶液，用流动相 A 溶解稀释至每 1ml 分别含各种物质 0.01 $\mu$ g 的混合溶液。

#### 4、色谱条件

光化学衍生器：月旭 ToxinStar<sup>TM</sup> 光化学柱后衍生反应器

色谱柱：月旭 Ultimate<sup>®</sup> XB-C18(4.6 $\times$ 250 mm, 5  $\mu$ m)

流动相 A：15%甲醇(含 0.2%乙酸)，具体配置过程：将甲醇和水混合好后再加入乙酸，即得。

流动相 B：乙腈(含 0.2%乙酸)

柱温：35  $^{\circ}$ C

流速：1.0 ml/min

荧光检测器：激发波长 EX=248 nm，发射波长 EM=350 nm

发射波长 EX=248 nm，发射波长 EM=412 nm

注意：各磺胺药物的最佳激发波长在 235~260nm 之间，最佳发射波长在 320~460 nm 之间，综合考虑，确定磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲异噁唑和磺胺苯甲酰的激发波长为 248 nm，发射波长为 350 nm；磺

胺嘧啶、磺胺吡啶、磺胺氯哒嗪、磺胺甲氧哒嗪和磺胺-5-甲氧嘧啶的激发波长为 248 nm ， 发射波长为 312 nm。

梯度程序：

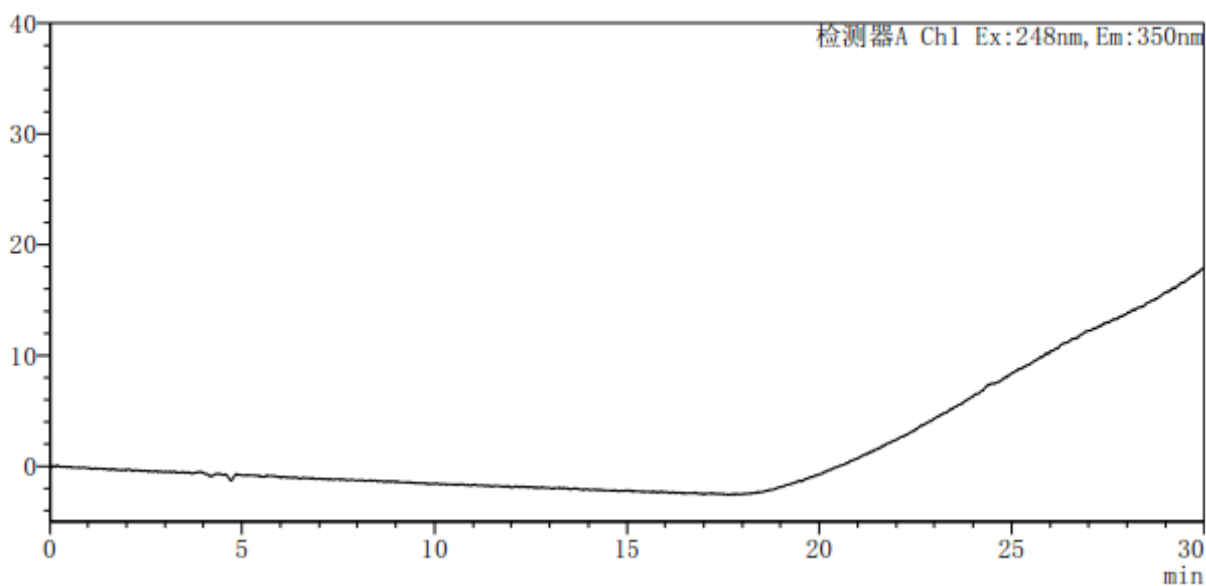
时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	95	5
12	95	5
28	68	32
30	95	5
40	95	5



图 1：液相色谱-柱后光化学衍生-荧光检测器检测磺胺装置连接图

## 5、色谱图或加标回收率结果

mV



mV

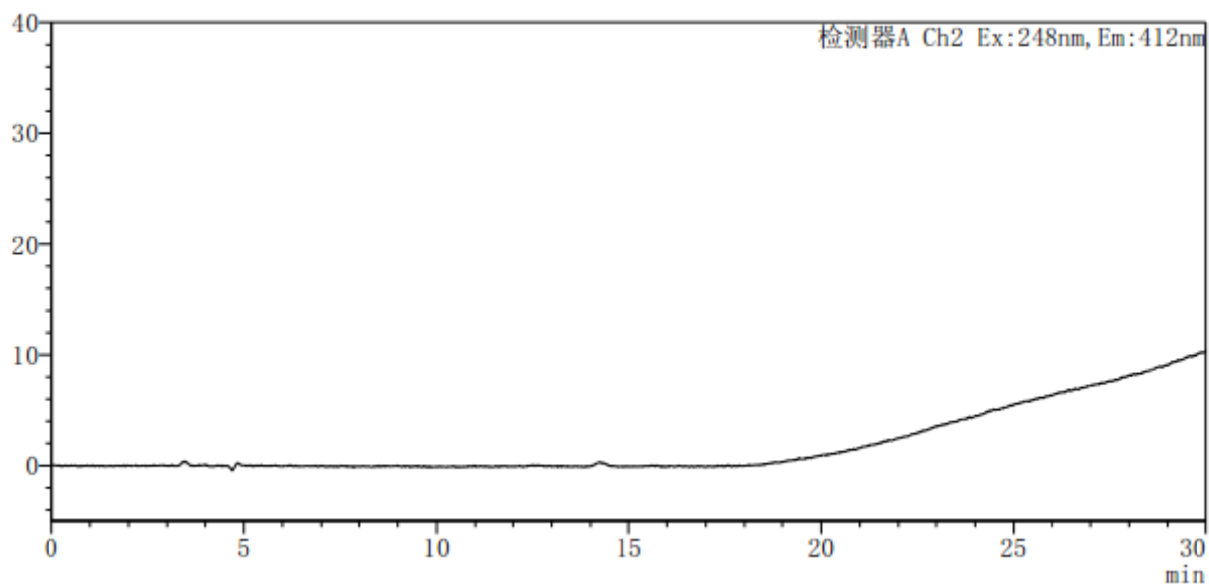


图 2: 空白溶液色谱图

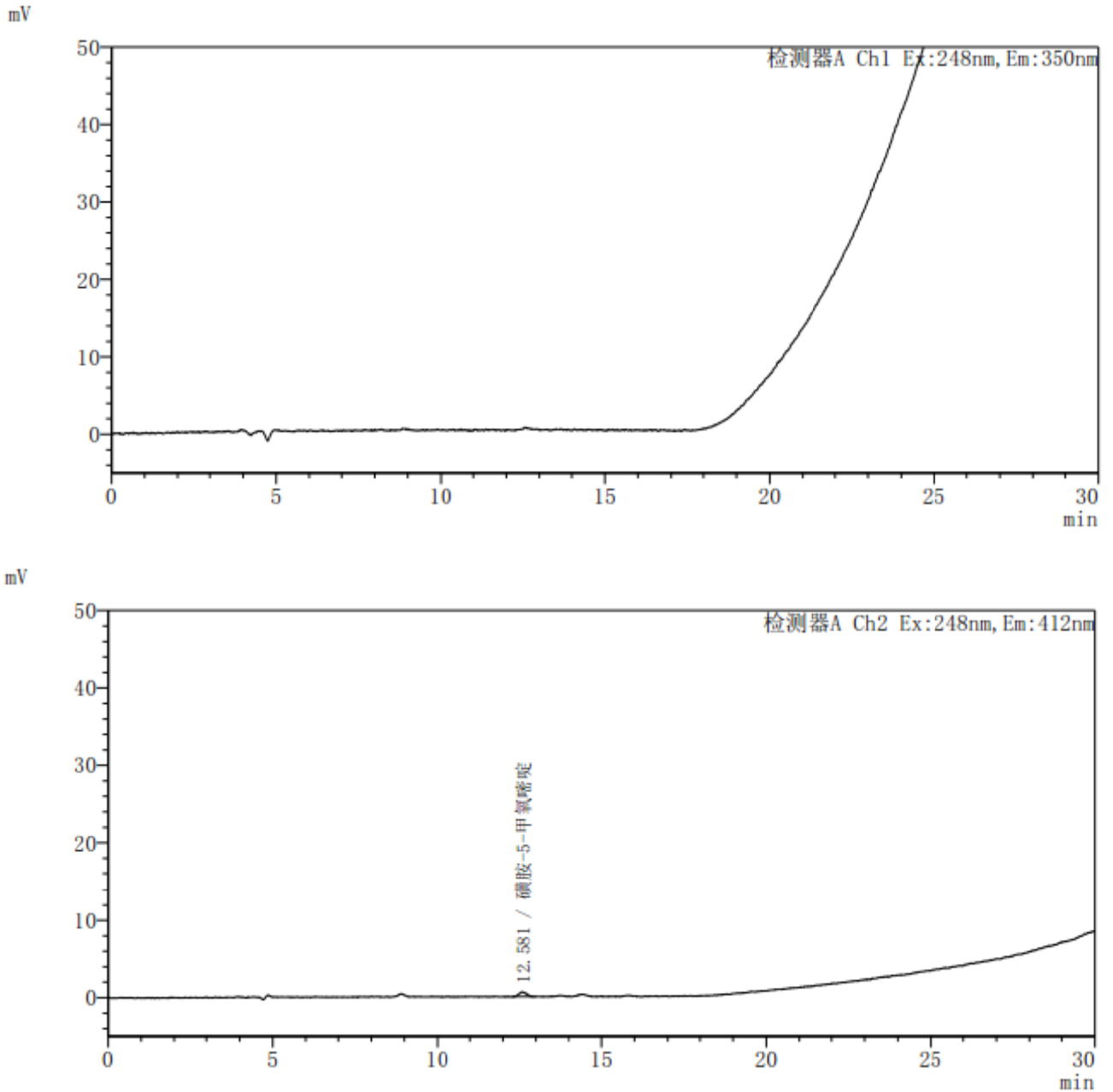
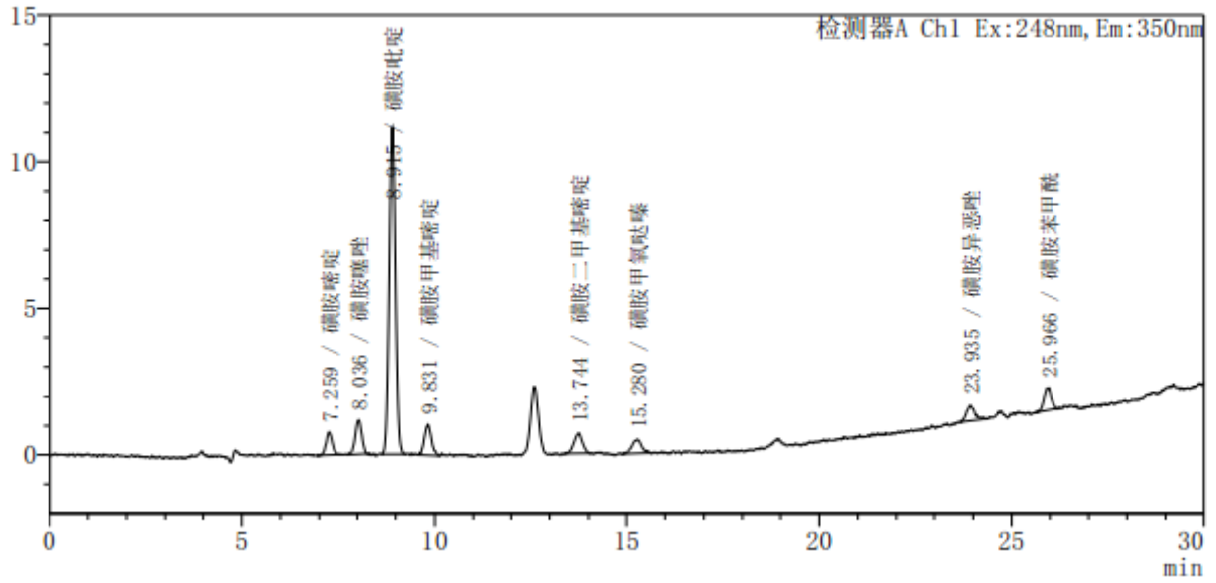
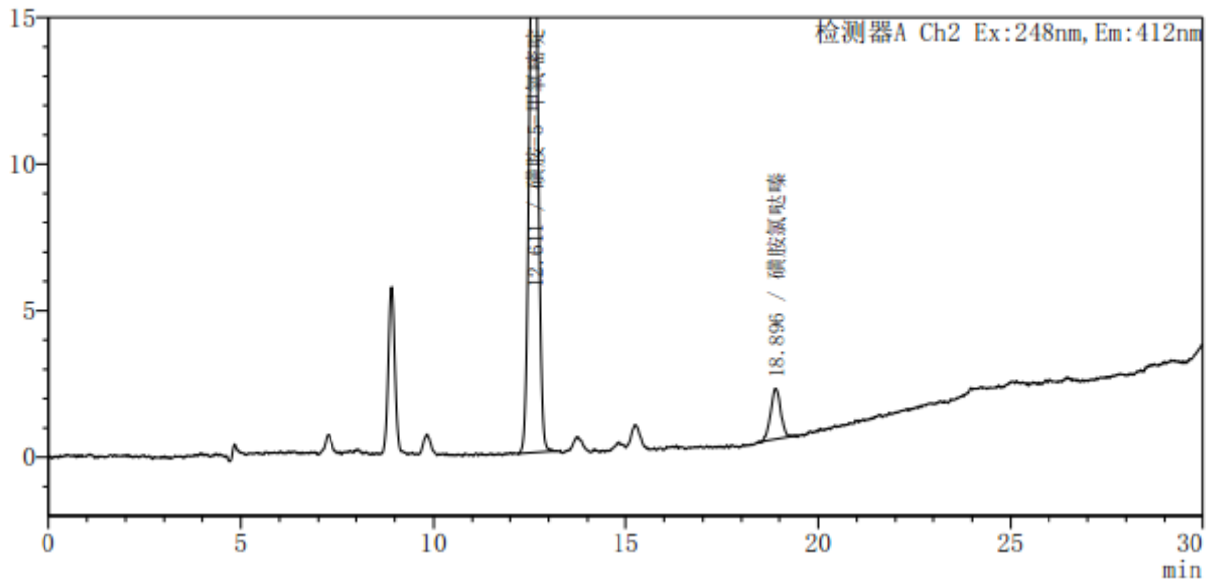


图 3: 10 种磺胺类混标溶液未进行光化学衍生的色谱图(混标溶液浓度为 10 ppb)

mV



mV



峰号	保留时间	化合物名	面积	高度	理论塔板数(USP)	分离度(USP)	S/N
1	7.259	磺胺嘧啶	8764	782	8999	--	11.51
2	8.036	磺胺噻唑	14055	1168	9837	2.466	17.20
3	8.915	磺胺吡啶	126288	11146	13530	2.788	164.16
4	9.831	磺胺甲基嘧啶	13234	1049	12608	2.788	15.45
5	13.744	磺胺二甲基嘧啶	10437	692	17085	10.154	10.20
6	15.280	磺胺甲氧吡嗪	8310	477	19594	3.585	7.03
7	23.935	磺胺异恶唑	7862	512	68341	21.559	7.54
8	25.966	磺胺苯甲酰	9809	734	88124	5.673	10.81
总计			198758	16560			

检测器A Ch2 Ex:248nm, Em:412nm

峰号	保留时间	化合物名	面积	高度	理论塔板数(USP)	分离度(USP)	S/N
1	12.611	磺胺-5-甲氧嘧啶	331737	22610	16389	--	261.94
2	18.896	磺胺氯吡嗪	30976	1723	26279	14.611	19.97
总计			362713	24333			

图 4: 10 种磺胺类混标溶液进行光化学衍生的色谱图(混标溶液浓度为 10 ppb, 从左到右峰依次为磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基吡啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺异恶唑、磺胺苯甲酰)

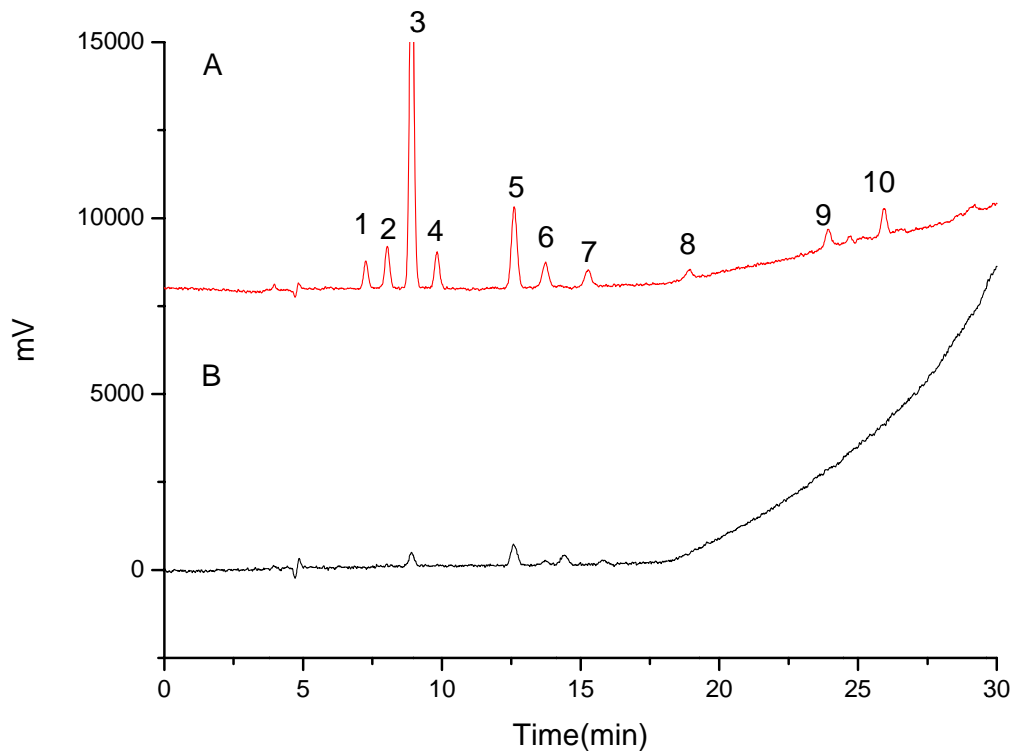


图 5: 10 种磺胺类目标物衍生和未衍生的色谱图(混标溶液浓度为 10 ppb ;  
A,经过光化学衍生; B,未经过光化学衍生)

mV

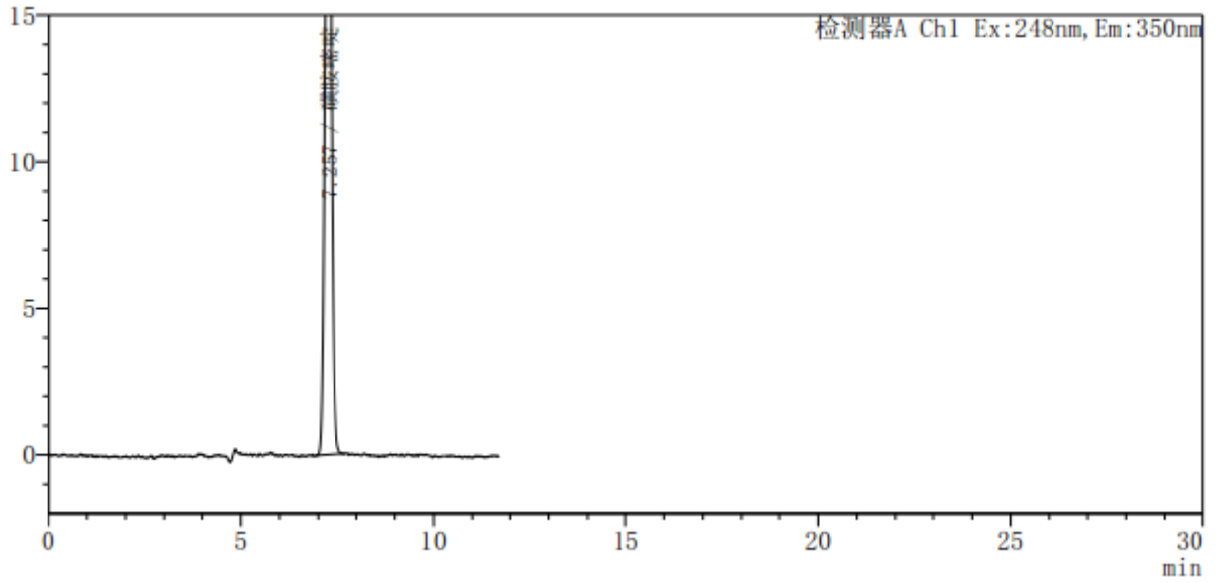


图 6: 磺胺嘧啶标准溶液色谱图 (进样浓度 10 ppm,保留时间=7.257 min)

mV

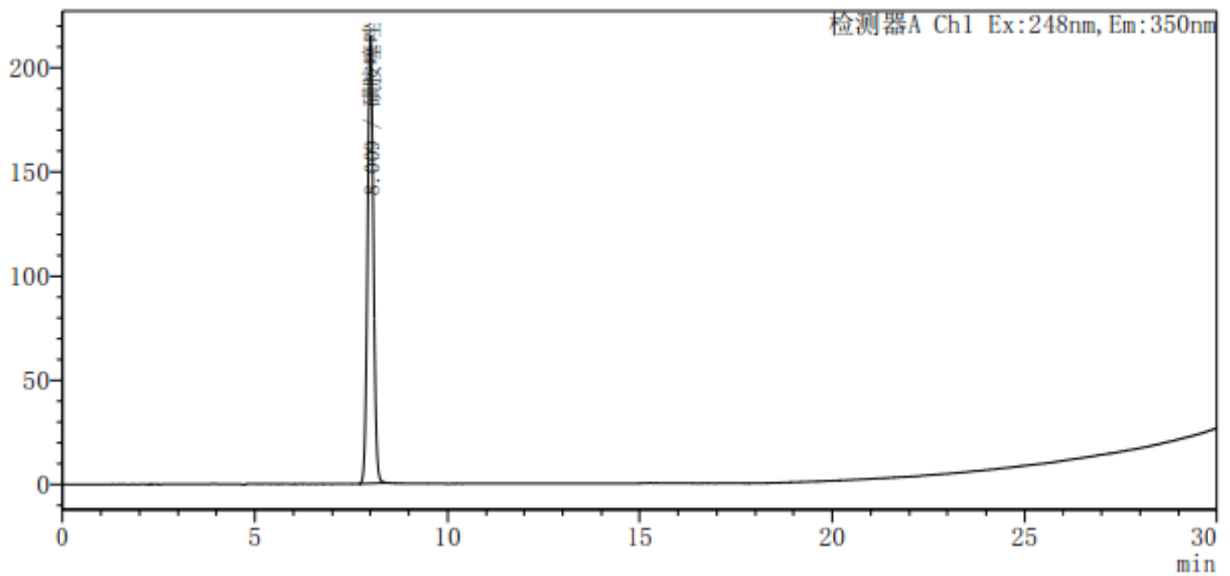


图 7: 磺胺噻唑标准溶液色谱图 (进样浓度 10 ppm, 保留时间=8.009 min)



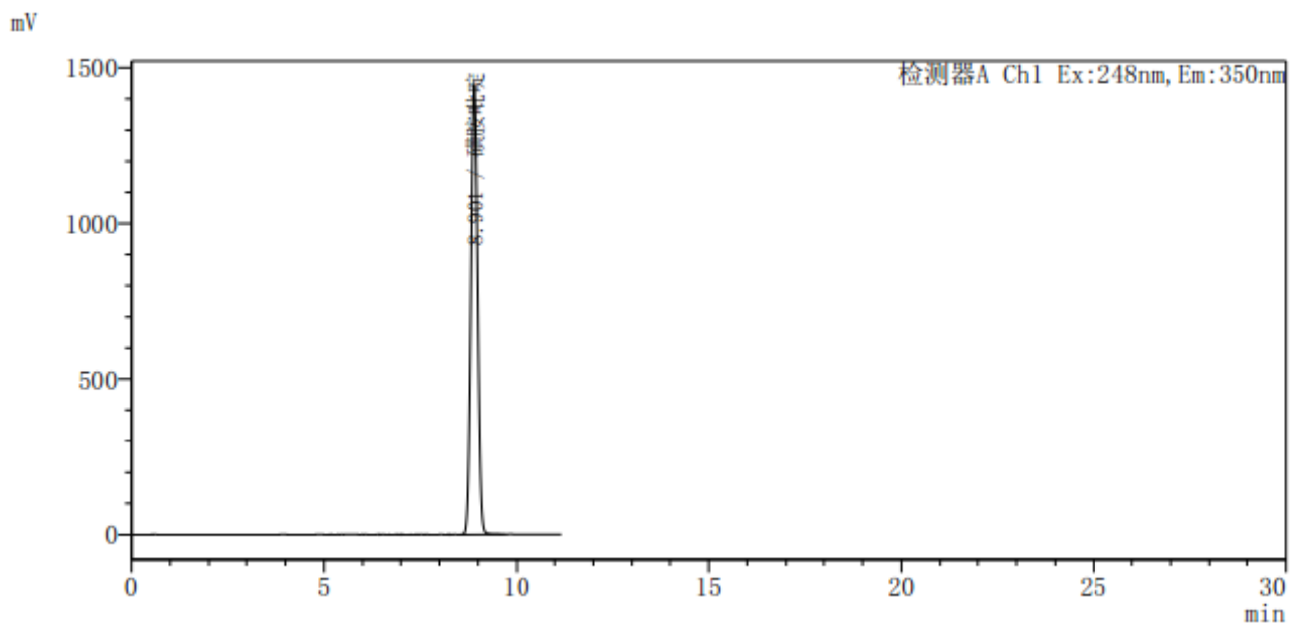


图 8: 磺胺吡啶标准溶液色谱图 (进样浓度 10 ppm, 保留时间=8.801 min)

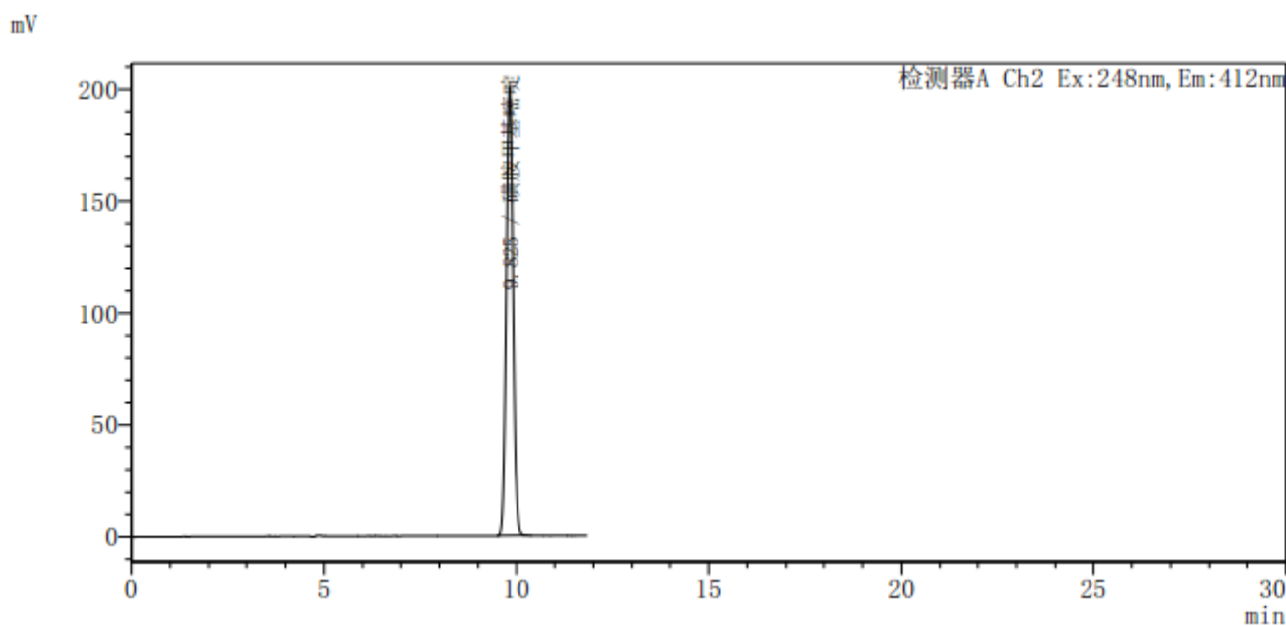


图 9: 磺胺甲基嘧啶标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=9.825 min)

mV

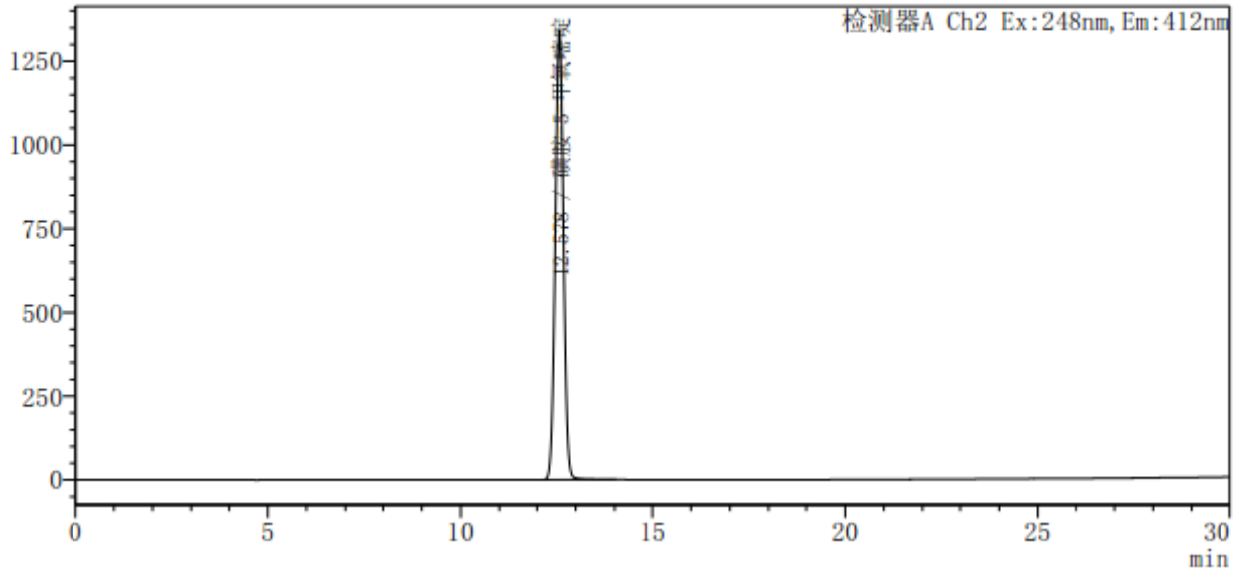


图 10: 磺胺对甲氧嘧啶标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=12.578 min)

mV

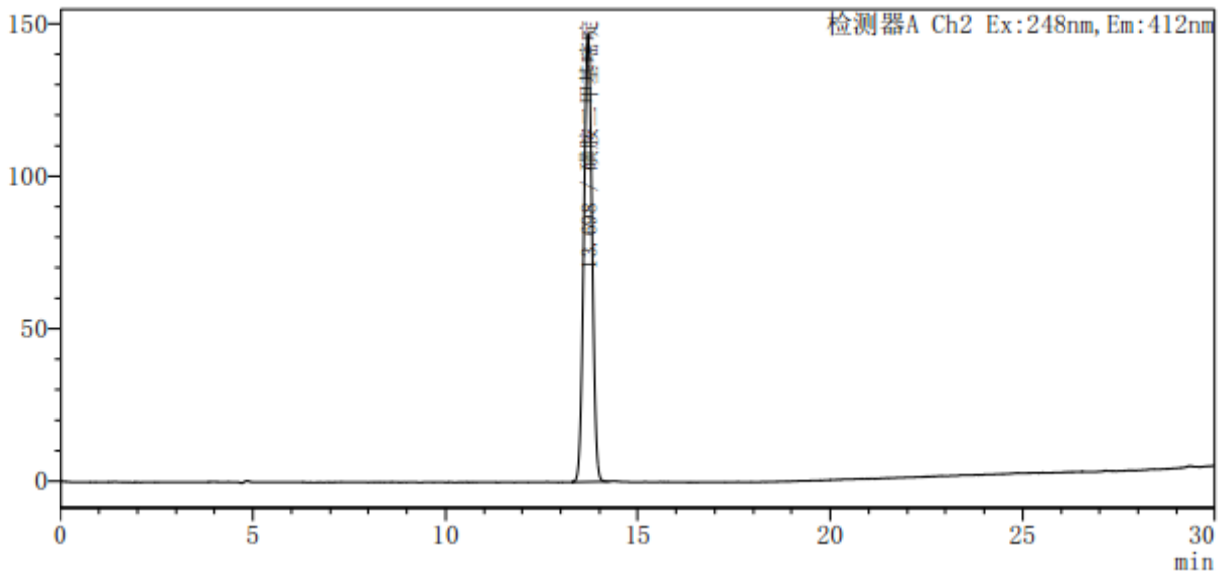


图 11: 磺胺二甲基嘧啶标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时=13.698 min)

mV

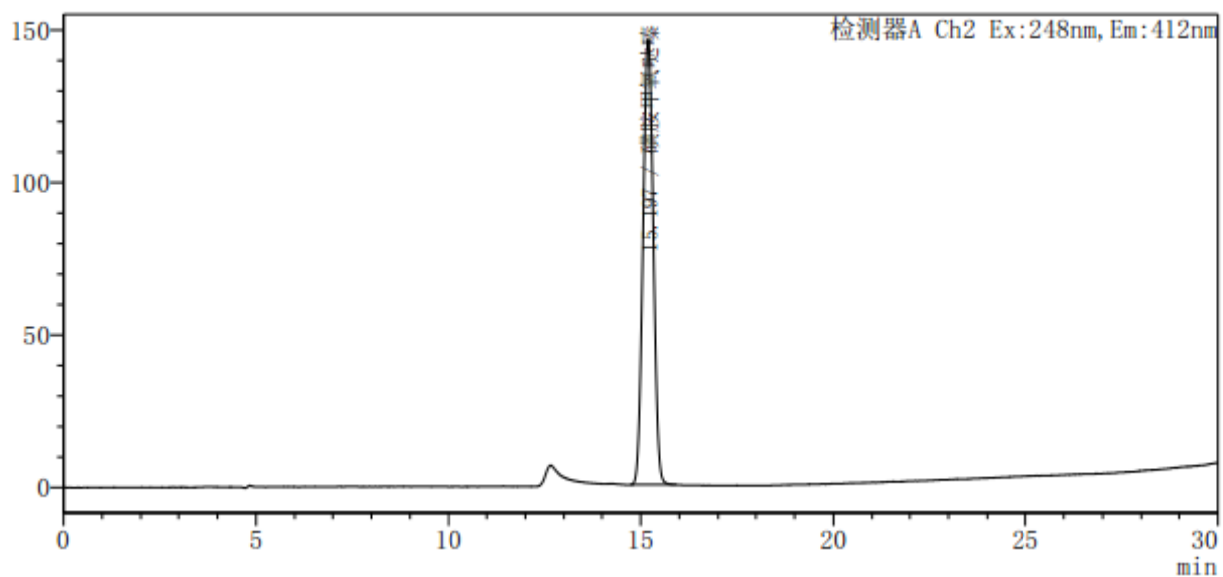


图 12: 磺胺甲氧哒嗪标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=15.197min)

mV

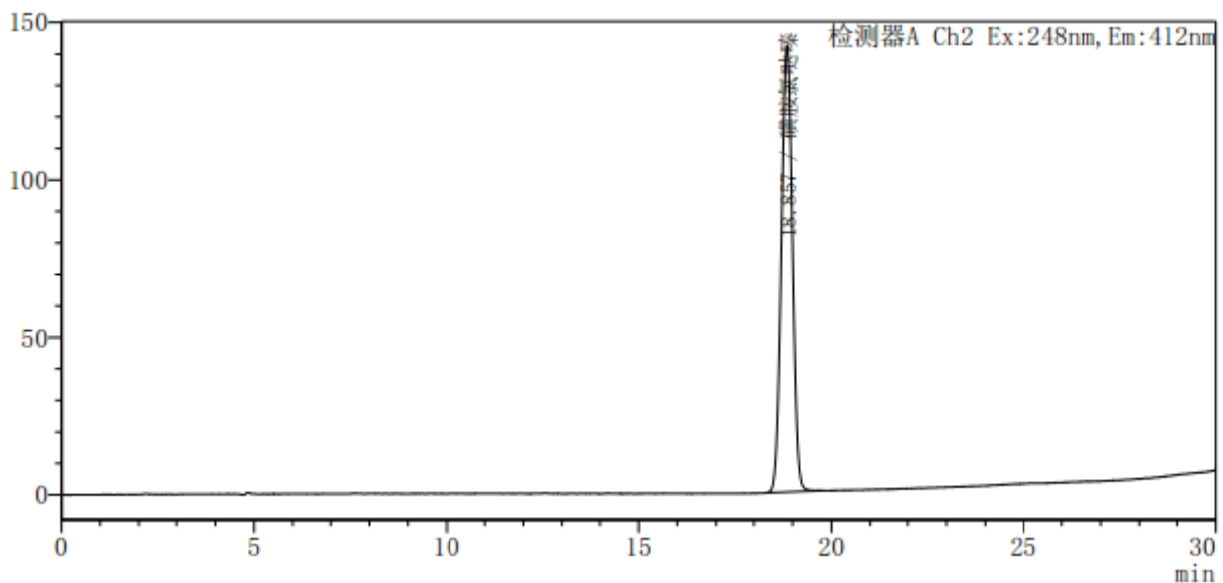


图 13: 磺胺氯哒嗪标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=18.857min)

mV

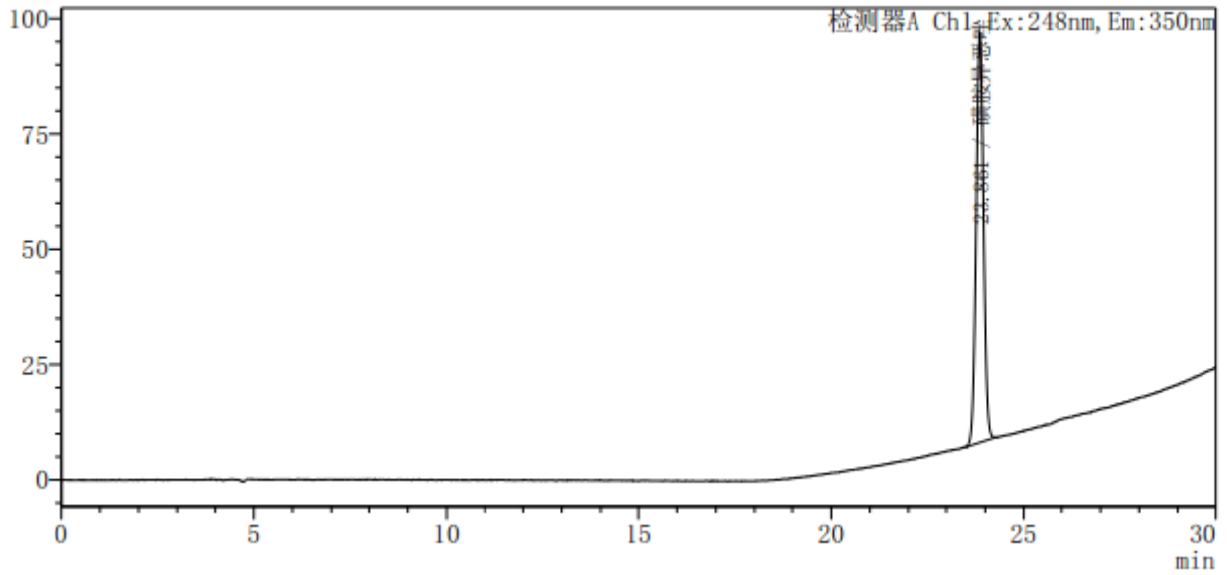


图 14: 磺胺异恶唑标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=23.861 min)

mV

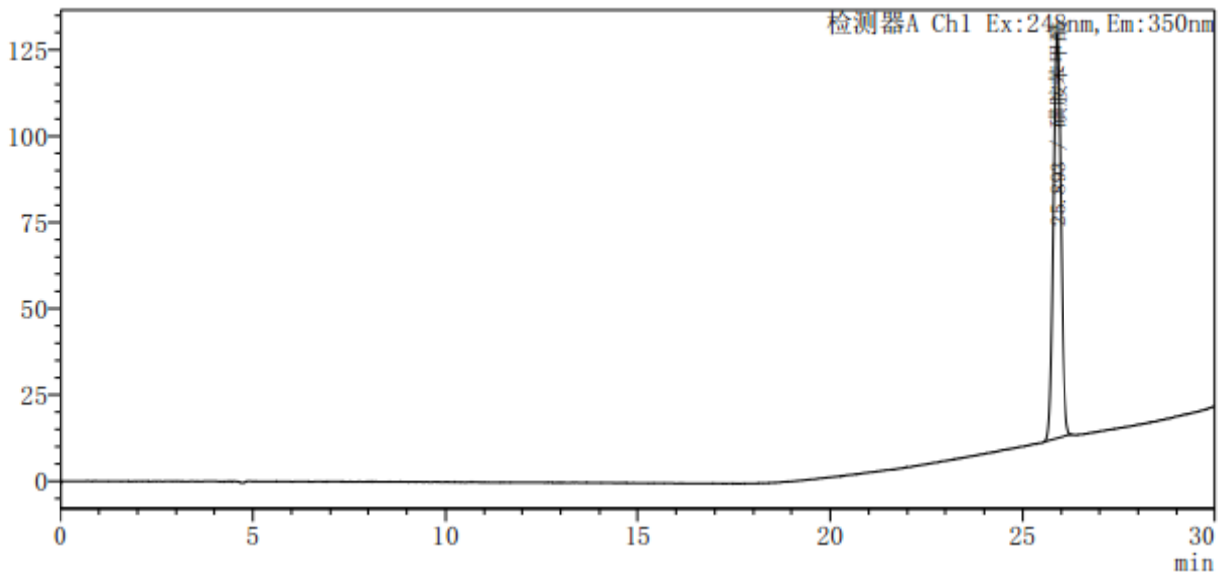


图 15: 磺胺苯甲酰标准溶液色谱图(进样浓度 10 ppm, 保留时间=25.893 min)

## 6、结论

GB/T 21316-2007 和 GB/T 20759-2006 采用液相色谱-串联质谱法对磺胺类药物残留进行测定，其定量限为 10~50 $\mu$ g/kg。本方法采用光化学衍生



-荧光检测器检测的方法的定量限为 **10  $\mu\text{g}/\text{kg}$** ，其灵敏度不弱于甚至优于液相色谱-串联质谱的方法，且方法远比液相色谱-串联质谱法简单，因此值得推广和应用。