

ICS65.150

B50

备案号:

# DB33

## 浙 江 省 地 方 标 准

DB33/T 563—2005

---

### 水产品中磺胺类残留量的测定 液相色谱法

Determination of sulfonamide residues in aquatic product

Liquid Chromatography

2005-06-30 发布

2005-07-15 实施

---

浙江省质量技术监督局 发布

## 前 言

本标准附录A为资料性附录。

本标准由浙江省海洋与渔业局提出并归口。

本标准起草单位：农业部渔业环境及水产品质量中心（舟山）。

本标准主要起草人：郑斌、陈雪昌、刘士忠、金彩杏、钟志、刘琴。

# 水产品中磺胺类残留量的测定 液相色谱法

## 1 范围

本标准规定了水产品中磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶和磺胺甲基异噁唑残留量的液相色谱测定方法。

本标准适用于水产品中磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶和磺胺甲基异噁唑残留量的测定，其它磺胺类药物的测定可以参照本标准。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 原理

用乙酸乙酯提取，稀盐酸反提取，正己烷脱脂，荧光胺衍生，反相色谱柱分离，荧光检测器检测，磺胺 5-甲氧嘧啶为内标物，内标法定量。

## 4 试剂

- 4.1 本标准所用试剂在磺胺类药物出峰处应无干扰峰，实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水标准。
- 4.2 标准品：磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲基异噁唑，磺胺 5-甲氧嘧啶，纯度均大于 98.0%。
- 4.3 丙酮：色谱纯。
- 4.4 正己烷：色谱纯。
- 4.5 乙酸乙酯：色谱纯。
- 4.6 乙腈：色谱纯。
- 4.7 甲醇：色谱纯。
- 4.8 荧光胺：纯度大于 99.0%。
- 4.9 乙酸钠：分析纯。
- 4.10 冰乙酸：优级纯。
- 4.11 盐酸溶液：2mol/L，量取 180mL 盐酸，加适量水并稀释至 1000mL。
- 4.12 乙酸钠溶液：3.5mol/L，称取 28.7g 无水乙酸钠溶于蒸馏水中，定容至 100mL。
- 4.13 荧光胺溶液：2mg/L，称取 0.03g 荧光胺，加 15mL 丙酮，振摇至完全溶解，存放在暗处。现配现用。
- 4.14 标准储备液：100mg/L，称取标准品 10mg（称准至 0.1mg），用甲醇溶解并定容至 100mL。避光冷藏保存，保存期为一个月。
- 4.15 混合标准中间液：1mg/L，移取标准储备液各 1.00mL，用甲醇稀释并定容至 100mL，在室温下混匀。
- 4.16 内标储备液：100mg/L，称取磺胺 5-甲氧嘧啶标准品 10mg（称准至 0.1mg），用甲醇溶解并定容至 100mL。避光冷藏保存，保存期为一个月。

- 4.17 内标中间液：1mg/L，移取内标储备液 1.00mL，用甲醇稀释并定容至 100mL，在室温下混匀。
- 4.18 混合标准使用液：取混合标准中间液 20  $\mu$ L、40  $\mu$ L、100  $\mu$ L、200  $\mu$ L、400  $\mu$ L，分别加入内标中间液 100  $\mu$ L，用 2mol/L 盐酸（4.10）稀释至 2mL，配成浓度分别为 0.01mg/L、0.02mg/L、0.05mg/L、0.10mg/L、0.20mg/L 的混合标准使用液，其中内标浓度为 0.05mg/L。

## 5 仪器与设备

- 5.1 液相色谱仪：配荧光检测器。
- 5.2 电子天平：感量 0.0001g。
- 5.3 电子天平：感量 0.01g。
- 5.4 高速组织捣碎机。
- 5.5 均质机。
- 5.6 离心机。
- 5.7 旋涡混匀器。
- 5.8 氮吹仪。
- 5.9 往复式振荡器。
- 5.10 聚丙烯离心管：15mL、50mL。
- 5.11 容量瓶：10mL、20mL、50mL、100mL、200mL、500mL、1000mL。
- 5.12 玻璃移液管：1mL、2mL、5mL、10mL。
- 5.13 巴斯德吸管。

## 6 色谱条件

- 6.1 色谱柱：ODS-C<sub>18</sub>，5  $\mu$ m，4.6mm $\times$ 250mm，或同类型号色谱柱。
- 6.2 柱温：45 $^{\circ}$ C。
- 6.3 流动相：乙腈+乙酸溶液（38+62），500mL 水中加入冰乙酸调节 pH 至 3.0 配制成乙酸溶液。
- 6.4 流速：1mL/min
- 6.5 进样量：20  $\mu$ L。
- 6.6 激发波长：405nm。
- 6.7 发射波长：495nm。

## 7 步骤分析

### 7.1 样品制备

从原始样品中取出部分有代表性的样品，高速组织捣碎机捣碎。四分法缩分出不少于 500g 样品，混匀，均分成两份。装入清洁容器，加封，标明标记。-18 $^{\circ}$ C 以下冷冻保存。

### 7.2 提取

将样品解冻，称取 2.00g，置于 50mL 聚丙烯离心管，加入磺胺 5-甲氧嘧啶标准中间液（4.16）100 $\mu$ L，用玻璃棒搅匀，再加乙酸乙酯 10mL，均质机 14000rpm 均质 1min，往复式振荡器振动 10min，3000rpm 离心 10min，将乙酸乙酯层小心转移到 15mL 具塞刻度试管中，40 $^{\circ}$ C 以下氮气吹至 2mL。再向原离心管中加入乙酸乙酯 10mL，旋涡混匀 30s，振动 10min，3000rpm 离心 10min，将乙酸乙酯层小心转移到原 15mL 具塞刻度试管中，40 $^{\circ}$ C 以下氮气吹至 5mL。然后在试管中加入 2.00mL 2mol/L 的盐酸溶液，旋涡混匀 1min，加盖后振动 10min，3000rpm 离心 8min，用巴斯德吸管移去乙酸乙酯层，在余液中加入正己烷 5mL，旋涡混匀 30s，3000rpm 离心 8min，用巴斯德吸管移去正己烷层，0.45 $\mu$ m 微孔滤膜过滤，滤液备用。

### 7.3 衍生

向样品瓶中加入 200 $\mu$ L 混合标准使用液或样品提取液、200 $\mu$ L 乙酸钠溶液和 80 $\mu$ L 荧光胺溶液，旋涡

混匀30s, 20min后供液相色谱分析。

#### 7.4 色谱分析

取衍生后的样品提取液20 $\mu$ L进样, 记录峰面积, 响应值均应在仪器检测的线性范围之内。根据标准样品的保留时间定性, 内标法定量。磺胺类药物色谱分析图参见附录A。

#### 7.5 工作曲线

称取空白样品2.00g, 分别添加混合标准中间液(4.14) 20 $\mu$ L、40 $\mu$ L、100 $\mu$ L、200 $\mu$ L、400 $\mu$ L, 样品中每种磺胺残留量分别为0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.05mg/kg、0.10mg/kg、0.20 mg/kg, 按7.2、7.3、7.4操作, 以磺胺峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标, 磺胺含量为横坐标, 绘制工作曲线。

### 8 计算

用色谱数据处理软件或按下式计算样品中磺胺残留量:

$$X = \frac{s \times S_1 \times x}{s_1 \times S}$$

式中:

$X$ ——样品中磺胺残留量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);

$s$ ——样品溶液中磺胺峰面积, 单位为counts;

$s_1$ ——样品溶液中内标峰面积, 单位为counts;

$S$ ——标准溶液中磺胺峰面积, 单位为counts;

$S_1$ ——标准溶液中内标峰面积, 单位为counts;

$x$ ——加标样品中磺胺残留量, 单位为毫克每千克 (mg/kg)。

### 9 方法回收率

浓度范围为0.010mg/kg~0.10mg/kg时, 回收率见回收率表。

表1 回收率表

名称	回收率
磺胺嘧啶	88.0%~111.8%
磺胺甲基嘧啶	90.0%~110.8%
磺胺二甲基嘧啶	91.0%~110.1%
磺胺甲基异噁唑	107.0%~116.7%

### 10 方法检出限

本方法检出限为0.010mg/kg。

### 11 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

附录 A  
(资料性附录)  
磺胺类药物色谱分析图

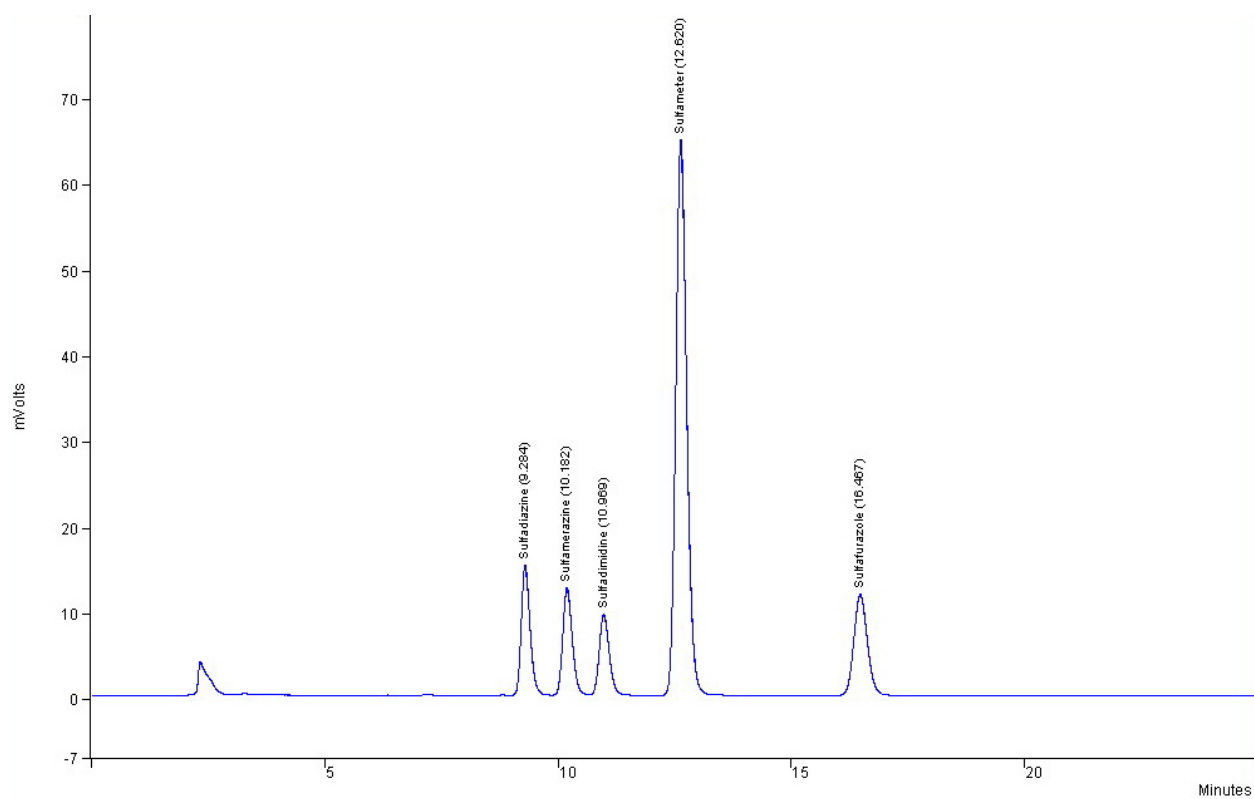


图 A.1 磺胺类药物标准品 (0.01mg/L) 色谱图

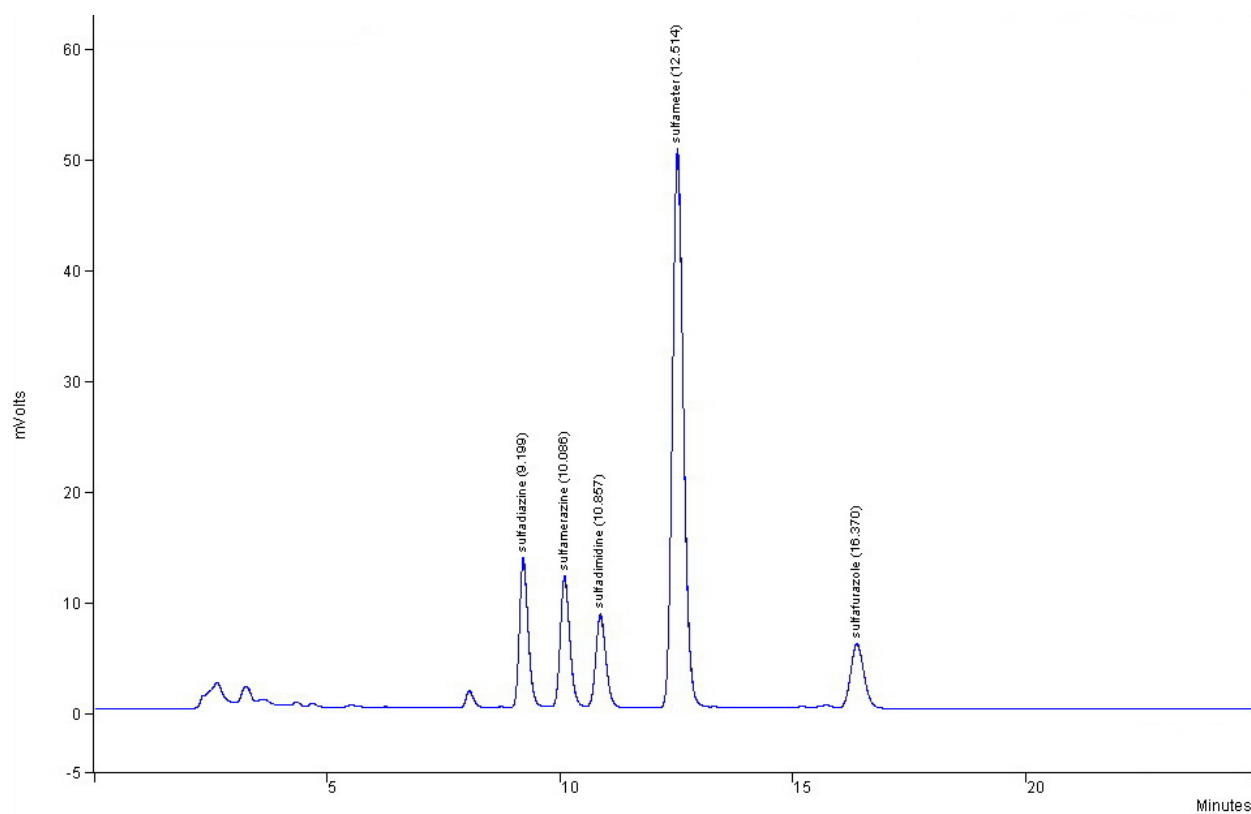


图 A.2 南美白对虾样品中磺胺类药物 (0.01mg/kg) 色谱图

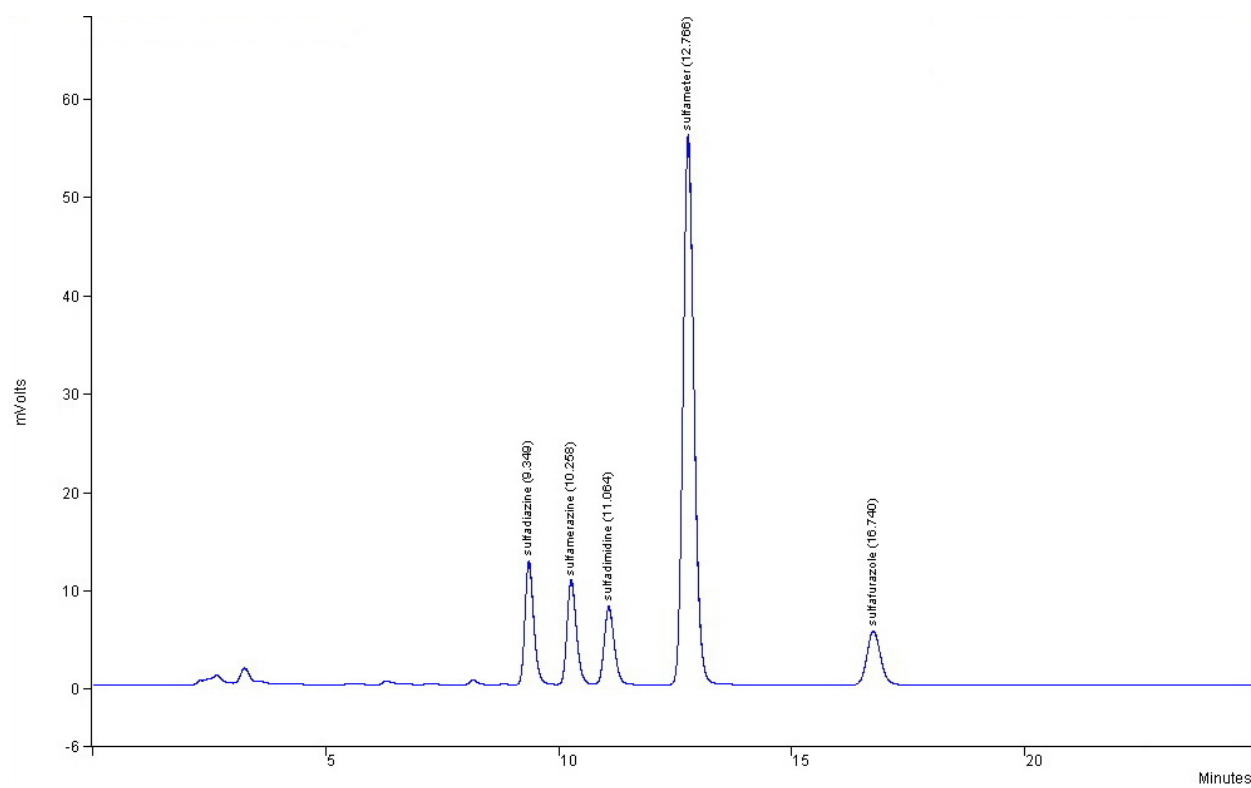


图 A.3 大黄鱼样品中磺胺类药物 (0.01mg/kg) 色谱图