



中华人民共和国国家标准

GB/T 19542—2007
代替 GB/T 19542—2004

饲料中磺胺类药物的测定 高效液相色谱法

Determination of sulfonamides in feeds—High-performance liquid chromatography

2007-06-21 发布

2007-09-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准是 GB/T 19542—2004《饲料中磺胺二甲基嘧啶和磺胺间甲氧嘧啶的测定 高效液相色谱法》的修订版。

本标准与 GB/T 19542—2004 主要差异如下：

- 补充了磺胺嘧啶、磺胺喹恶啉、磺胺甲恶唑三种磺胺药物的测定；
- 增加了净化步骤。

本标准自实施之日起代替 GB/T 19542—2004。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：国家饲料质量监督检验中心（北京）。

本标准主要起草人：李兰、杨曙明、索德成、田河山、范理、赵根龙。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 19542—2004。

饲料中磺胺类药物的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱仪测定饲料中磺胺类药物：磺胺嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺喹恶啉含量的方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中磺胺类药物的测定。

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

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 原理

试样中磺胺类药物经乙腈振荡提取后，用碱性氧化铝小柱净化，注入高效液相色谱仪反相色谱系统中进行分离，用紫外检测器或二极管矩阵检测器检测，外标法计算磺胺类药物的含量。

注：该方法最低定量限分别为：磺胺嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶 5 mg/kg；磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺喹恶啉 2 mg/kg。

4 试剂和溶液

除非另有规定，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的三级用水。

4.1 冰乙酸：优级纯。

4.2 乙腈：色谱纯。

4.3 乙腈：分析纯。

4.4 甲醇：色谱纯。

4.5 流动相：在 1 000 mL 容量瓶中加入 750 mL 去离子水，移取冰乙酸（4.1）3 mL 加入水中，与 250 mL 乙腈（4.2）混合、摇匀，过 0.45 μm 滤膜，脱气，备用。

4.6 磺胺嘧啶标准品：纯度应大于 97%。

4.7 磺胺二甲基嘧啶标准品：纯度应大于 97%。

4.8 磺胺间甲氧嘧啶标准品：纯度应大于 97%。

4.9 磺胺甲恶唑标准品：纯度应大于 97%。

4.10 磺胺喹恶啉标准品：纯度应大于 97%。

4.11 磺胺嘧啶标准溶液

4.11.1 磺胺嘧啶标准贮备液：准确称取已知纯度的磺胺嘧啶标准品 100 mg，精确至 0.000 1 g，置于 100 mL 棕色容量瓶中，加乙腈（4.2）超声使之完全溶解，并定容至刻度，摇匀，该溶液中磺胺嘧啶浓度为 1 mg/mL，于 -16℃ 保存可使用 6 个月。

4.11.2 磺胺嘧啶标准中间液：准确移取磺胺嘧啶标准贮备液（4.11.1）5 mL 于 50 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（4.2）定容至刻度，该溶液中磺胺嘧啶浓度为 100 μg/mL，于 4℃ 保存可使用 1 个月。

4.11.3 磺胺嘧啶标准工作液:准确移取磺胺嘧啶标准中间液(4.11.2)5 mL于50 mL棕色容量瓶中,用流动相(4.5)定容至刻度,该溶液中磺胺嘧啶浓度为10 $\mu\text{g/mL}$,当日使用。

4.12 磺胺二甲基嘧啶标准溶液:配制过程同磺胺嘧啶。

4.13 磺胺间甲氧嘧啶标准溶液:配制过程同磺胺嘧啶。

4.14 磺胺甲恶唑标准溶液:配制过程同磺胺嘧啶。

4.15 磺胺喹恶啉标准溶液

4.15.1 磺胺喹恶啉标准贮备液:准确称取已知纯度的磺胺喹恶啉标准品100 mg,精确至0.0001 g,置于100 mL棕色容量瓶中,加甲醇(4.4)超声使之完全溶解,并定容至刻度,摇匀,该溶液中磺胺喹恶啉浓度为1 mg/mL,于 -16°C 保存可使用6个月。

4.15.2 磺胺喹恶啉标准中间液:准确移取磺胺喹恶啉标准贮备液(4.15.1)5 mL于50 mL棕色容量瓶中,用乙腈(4.2)定容至刻度,该溶液中磺胺喹恶啉浓度为100 $\mu\text{g/mL}$,于 4°C 保存可使用1个月。

4.15.3 磺胺喹恶啉标准工作液:准确移取磺胺喹恶啉标准中间液(4.15.2)5 mL于50 mL棕色容量瓶中,用流动相(4.5)定容至刻度,该溶液中磺胺喹恶啉浓度为10 $\mu\text{g/mL}$,当日使用。

注:若单独测定各组分,也可配制标准工作液使测定组分的浓度在20 ng~100 ng之间。

4.16 磺胺类药物混合标准工作液

分别移取磺胺类药物标准中间液各5 mL于50 mL棕色容量瓶中,用流动相(4.5)定容至刻度,该溶液中磺胺药物的浓度均为10 $\mu\text{g/mL}$,当日使用。

注:若同时测定可配制混合标准工作液。

5 仪器

5.1 实验室常用仪器设备。

5.2 具塞锥形瓶:150 mL。

5.3 振荡器。

5.4 高效液相色谱仪:紫外检测器或二极管矩阵检测器。

5.5 针头过滤器:备孔径为0.45 μm 有机微孔滤膜。

5.6 碱性氧化铝SPE小柱:1 000 mg/12 mL,120 Å。

6 试样的选取和制备

6.1 按GB/T 14699.1采样。

6.2 选取有代表性饲料样品至少500 g,四分法缩减至100 g,磨碎,全部通过40目筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存,备用。

7 分析步骤

7.1 试液的制备

7.1.1 提取

称取配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料样品2 g(精确至0.001 g),置于具塞锥形瓶(5.2)中,加入50 mL的乙腈(4.3),于振荡器(5.3)振荡提取30 min,过滤,滤液备用。

7.1.2 净化

准确吸取试液(7.1.1):配合饲料10 mL~20 mL;浓缩饲料、添加剂预混合饲料2 mL,移入用10 mL乙腈淋洗过的碱性氧化铝小柱(5.5)中,令其自然流速流出。待试液(7.1.1)全部流出后,吹干,用两次2 mL流动相(4.5)洗脱,收集洗脱液,并过0.45 μm 的滤膜,滤液上机测定。

7.2 色谱条件

7.2.1 色谱柱:具有 C_{18} 填料的柱子(粒度为5 μm),柱长250 mm,内径4.6 mm。

7.2.2 流动相:25%乙腈水(4.5),以1.0 mL/min 流速洗脱。

7.2.3 进样量:20 μ L。

7.2.4 检测器:紫外检测器或二极管矩阵检测器,检测波长270 nm。若单独测定磺胺嘧啶检测波长为268 nm;磺胺二甲基嘧啶检测波长为266 nm;磺胺间甲氧嘧啶检测波长为271 nm;磺胺甲恶唑检测波长为268 nm;磺胺喹恶啉检测波长为246 nm。

8 定量测定

按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数。向液相色谱柱中注入待测定磺胺标准工作液或混合标准工作液(4.16)及试样溶液(7.1),得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。

9 结果计算

9.1 试样中每种磺胺的含量分别按式(1)计算:

$$w_i = \frac{P_i \times V \times c_i \times V_{st}}{P_{sti} \times m \times V_i} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

w_i ——试样中每种磺胺的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

P_i ——试样溶液峰面积值;

V ——样品的总稀释体积,单位为毫升(mL);

c_i ——标准溶液浓度,单位为微克每毫升(μ g/mL);

V_{st} ——标准溶液进样体积,单位为微升(μ L);

P_{sti} ——标准溶液峰面积平均值;

m ——试样质量,单位为克(g);

V_i ——试样溶液进样体积,单位为微升(μ L)。

9.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

10 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定结果的相对偏差不大于10%。