

1主要内容与适用范围

本标准规定了出口肉中十种磺胺残留量检验的抽样、制样和液相色谱测定方法。

本标准适用于出口猪肉中十种磺胺残留量的检验。

2抽样和制样

2.1检验批

以不超过2 500件为一检验批。

同一检验批的商品应具有相同特征，如包装、标记、产地、规格和等级等。

2.2抽样数量

检验批中的件数	最少抽样件数
1～25	1
26～100	5
101～250	10
251～500	15
501～1000	17
1001～2500	20

2.3抽样方法

按2.2规定的抽样件数随机抽取，逐件开启。每件至少取一袋作为原始样品。原始样品总量不少于2kg，放入清洁容器内，加封后，标明标记，及时送实验室。

2.4试样制备

从每袋原始样品中取出部分代表性样品，将可食部分放入高速组织捣碎机中捣碎，充分混匀，用四分法缩分出不少于500g，装入清洁的容器内，加封后，标明标记。

2.5试样保存

样品应于-18℃冷冻保存。

注：在抽样及制样过程中，必须防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

3测定方法

3.1方法提要

肉中十种磺胺的残留量用乙腈-氯仿混合溶剂提取，用具紫外检测器的高效液相色谱仪检测，外标法定量。

3.2试剂和材料

3.2.1乙腈：分析纯。

3.2.2氯仿：分析纯。

3.2.3正己烷：分析纯。

3.2.4无水硫酸钠：分析纯。

3.2.5乙腈-氯仿混合溶剂(10+1)。

3.2.6乙腈-氯仿混合溶剂(1+2)。

3.2.7硫酸钠溶液：10% 水溶液 (m/V)。

3.2.8硫酸钠溶液：2% 水溶液 (m/V)。

3.2.9流动相：乙腈+乙酸+水(18+1+81)。

3.2.10标准品：纯度≥99%。

a. 磺胺；

b. 磺胺嘧啶；

c. 磺胺吡啶；

d. 磺胺噻唑；

e. 磺胺甲噁啶；

f. 磺胺甲噻二唑，

g. 磺胺二甲噁啶；

h. 磺胺氯哒嗪；

i. 磺胺甲基异噁唑；

j. 磺胺二甲异噁唑。

3.2.11标准溶液

3.2.11.1标准储备液：准确称取10种磺胺标准品各10.0mg，分别入各自的100mL容量瓶，用乙腈溶解，并用乙腈稀释定容，混匀。即得10种磺胺标准储备液。每种磺胺标准品的浓度为100μg/mL。

3.2.11.2混合标准中间液：分取10种磺胺标准储备液各2.5 mL，入100mL容量瓶，用流动相稀释定容，即得混合标准溶液。该混合标准溶液含每种磺胺2.5μg/mL。

3.2.11.3混合标准工作液：分取20，50，100，200 PL混合标准中间液，分别用流动相稀释定容至1mL，即得混合标准工作液。该混合标准工作液含每种磺胺分别为0.05，0.125，0.25，0.50μg/mL。该工作液当日新配。

3.3仪器和设备

3.3.1液相色谱仪并配有紫外检测器。

3.3.2多功能电搅机或相当的仪器。

3.3.3涡流混匀器。

3.3.4超声波发生器。

3.3.5离心机。

3.3.6离心管：15mL。

3.3.7高速台式离心机。

3.3.8气流加热快速浓缩装置。

3.3.9微量可调移液管。

3.3.10尖嘴吸液管。

3.4测定步骤

3.4.1 提取及净化

称取2.00g均匀试样，入15mL离心管内，加入0.5mL10% 硫酸钠水溶液和4.4mL乙腈-氯仿混合溶剂(10+1)。在涡流混匀器上剧烈混合成匀浆，以提取磺胺。其后，离心3min(3 500r/min)。用尖嘴吸液管将上清液转入第二支15mL离心管内，再用2mL乙腈-氯仿混合溶剂(10+1)提取残渣，离心3min，提取液并入第二支离心管。将该离心管置于气流加热快速浓缩装置中，于<40℃蒸发至干。向残渣添加1mL2% 硫酸钠水溶液和2mL正己烷，在涡流混匀器上剧烈混合，使残渣溶解，离心3min。用尖嘴吸液管移去己烷层，并弃去。再用2mL正己烷洗水相一次，同法弃去己烷相，分别向水相中加入3mL、2mL乙腈-氯仿混合溶剂(1+2)，于涡流混匀器上剧烈混合，以便混合溶剂从水相中反提取磺胺，离心3min。用尖嘴吸液管将下层有机相转入第三支离心管内，置于气流加热快速浓缩装置内，于<40℃蒸发至干。以流动相溶解残渣，并准确定容1mL。于16 000r/min离心5min，上清液供LC测定。

3.4.2测定

3.4.2.1色谱条件

a. 色谱柱：不锈钢柱，250mm×4.6mm(内径)，填充物10μmODS。

b. 柱温：45℃。

c. 流动相：乙腈+乙酸+水(18+1+81)。

d. 流动相流速：1.10mL/min。

e. 检测器：UV285 nm。

f. 衰减：0.04AUFS。

g. 纸速：5mm/min。

h. 试样量：10μL。

3.4.2.2色谱测定

分别向液相色谱仪注入等体积标准工作液和样液，在45℃，以1.10mL/min的流速洗脱，用UV检测器于285nm处检测，记录色谱峰高，并与相应的标准峰高进行比较，外标法定量。

在上述条件下，保留时间(min)为：磺胺8.0，磺胺嘧啶8.3，磺胺吡啶8.8，磺胺噻唑9.8，磺胺甲噁啶10.5，磺胺甲噻二唑12.2，磺胺二甲噁啶13.1，磺胺氯哒嗪16.7，磺胺甲基异噁唑19.3，磺胺二甲异噁唑23.6。

3.4.3空白试验

除不加试样外，按上述步骤进行。

3.4.4结果计算和表述

用色谱数据处理机或按下列公式计算：

$$X=\frac{h\cdot c\cdot V}{h_s\cdot m}$$

式中：X-磺胺残留量，mg/kg；

h-样液中磺胺的峰高，mm；

h_s-标准工作溶液中磺胺的峰高，mm；

c-标准工作溶液中磺胺的浓度，μg/mL；

m-称取的试样量，g；

V-样液最终定容体积，mL。

注：计算结果需扣除空白值。

4方法的测定低限和回收率

4.1测定低限：5 μg/kg。

4.2回收率

回收率的实验数据，浓度范围在0.05~0.25mg/kg时，回收率各为：

名称	回收率
磺胺	78.4% ~92.0%
磺胺嘧啶	78.4% ~96.0%
磺胺吡啶	72.0% ~88.0%
磺胺噻唑	72.0% ~90.8%
磺胺甲噁啶	76.8% ~96.0%
磺胺甲噻二唑	72.0% ~89.0%
磺胺二甲噁啶	76.0% ~93.2%
磺胺氯哒嗪	70.0% ~93.6%
磺胺甲基异噁唑	74.0% ~91.2%
磺胺二甲异噁唑	72.0% ~86.4%

附加说明：

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出。

本标准由中华人民共和国湖北、湖南、北京进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人邵俊杰、袁智能、聂洪勇、张军。