

团 体 标 准

T/SATA 0004—2017

动物尿液中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱—串联质谱法

Determination of sulfonamide residues in animal urine

—Liquid chromatography—tandem mass spectrometry

2017-07-25 发布

2017-08-25 实施

深圳市分析测试协会 发 布

目 次

目次.....	I
前言.....	II
1.范围.....	1
2.规范性引用文件.....	1
3.原理.....	1
4.试剂和材料.....	1
5.仪器和设备.....	2
6.试样的制备与保存.....	2
7.测定方法.....	2
8.回收率和精密度.....	4
附录A.....	5

前 言

本标准按照GB/T1.1给出的规则起草。

本标准由深圳市分析测试协会归口。

本标准主要起草单位：深圳市农产品质量安全检验检测中心、深圳市计量质量检测研究院。

本标准主要起草人：吴雯娟、黄敏通、罗燕、谭磊、徐少华、徐艳清、陈丽云、古丽君、刘国华、黄婷。

本标准为首次发布。

动物尿液中磺胺类药物残留检测 液相色谱—串联质谱法

1 范围

本标准规定了 14 种磺胺类药物（磺胺二甲嘧啶（SM2）、磺胺甲氧哒嗪（SMP）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺吡啶（SMPD）、磺胺苯吡唑（SPP）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺地索辛（SDM）、磺胺二甲异恶唑（SIZ）、磺胺噻唑（ST）、磺胺邻二甲氧嘧啶（SDM'）、磺胺对甲氧嘧啶（SMD）、磺胺苯酰（SB）、磺胺二甲唑（sulfamoxol））残留量的液相色谱—串联质谱测定方法。

本标准适用于动物尿液中 14 种磺胺类药物（磺胺二甲嘧啶（SM2）、磺胺甲氧哒嗪（SMP）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺吡啶（SMPD）、磺胺苯吡唑（SPP）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺地索辛（SDM）、磺胺二甲异恶唑（SIZ）、磺胺噻唑（ST）、磺胺邻二甲氧嘧啶（SDM'）、磺胺对甲氧嘧啶（SMD）、磺胺苯酰（SB）、磺胺二甲唑（sulfamoxol））残留量的测定。

本标准方法的检出限：磺胺二甲嘧啶（SM2）、磺胺甲氧哒嗪（SMP）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺吡啶（SMPD）、磺胺苯吡唑（SPP）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺地索辛（SDM）、磺胺二甲异恶唑（SIZ）、磺胺噻唑（ST）、磺胺邻二甲氧嘧啶（SDM'）、磺胺对甲氧嘧啶（SMD）、磺胺苯酰（SB）、磺胺二甲唑（sulfamoxol）的检测限均为：2.00 $\mu\text{g/L}$ 。

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以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。

农业部农牧发〔2003〕1号 兽药残留试验技术规范（试行）

GB/T 6682 分析实验室用水规则和试验方法

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

GB/T 1.1-2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写

3 原理

试样中的磺胺类药物残留物经乙腈提取后，氮气吹干，液相色谱—串联质谱法测定。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 磺胺类药物（磺胺二甲嘧啶（SM2）、磺胺甲氧哒嗪（SMP）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺吡啶（SMPD）、磺胺苯吡唑（SPP）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺地索辛（SDM）、

磺胺二甲异恶唑（SIZ）、磺胺噻唑（ST）、磺胺邻二甲氧嘧啶（SDM'）、磺胺对甲氧嘧啶（SMD）、磺胺苯酰（SB）、磺胺二甲唑（sulfamoxol）标准物质：纯度均大于99.5%。

4.2 甲醇，色谱纯。

4.3 乙腈，色谱纯。

4.4 甲醇，色谱纯。

4.5 甲酸，色谱纯。

4.6 标准储备液：1.00mg/mL。准确称量每种标准物质，用甲醇配成1.00mg/mL的标准储备液，-18℃冰箱中保存，有效期一年。

4.7 混合标准储备溶液：10μg/mL，分别准确吸取每种标准储备液1mL于100mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度。-18℃冰箱中保存，有效期6个月。

4.8 混合标准工作溶液：根据药物的灵敏度和仪器线性范围，用空白样品提取液配成不同浓度（ng/mL）的混合标准工作溶液。在2℃-4℃条件下贮存。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱—串联质谱仪。

5.2 涡旋振荡器。

5.3 高速离心机。

5.4 电子天平：感量0.1mg和0.01g。

5.5 离心管：50mL、15mL。

5.6 氮吹仪。

6 试样的制备与保存

取500 mL动物尿液，5000r/min 离心5min。装入洁净容器作为试样，密封，并标明标记。将试样于-4℃冰箱中保存。

7 测定方法

7.1 提取

量取1.00mL尿液，于50 mL离心管中，加20mL乙腈，5.0g无水硫酸钠，充分涡旋震荡10min，9000转/min离心5 min。

7.2 净化

移取5.0 mL上清液于15 mL离心管中，50℃水浴氮吹近干。用甲醇+水+甲酸（10：90：0.09）溶液定容至1.00mL，过0.22μm滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 基质加标标准工作曲线的制备

量取磺胺类药物（磺胺二甲嘧啶（SM2）、磺胺甲氧哒嗪（SMP）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）、磺胺氯哒嗪（SCP）、磺胺吡啶（SMPD）、磺胺苯吡唑（SPP）、磺胺甲恶唑（SMZ）、磺胺地索辛

(SDM)、磺胺二甲异恶唑(SIZ)、磺胺噻唑(ST)、磺胺邻二甲氧嘧啶(SDM')、磺胺对甲氧嘧啶(SMD)、磺胺苯酰(SB)、磺胺二甲唑(sulfamoxol))混合标准溶液适量,添加到6份1.00mL空白尿液中,制得浓度分别为2.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.00 μ g/L, 50.00 μ g/L, 100.00 μ g/L, 500.00 μ g/L的各系列空白添加试样,按7.1-7.2步骤操作,供液相色谱—串联质谱仪测定。

7.4 色谱测定

7.4.1 液相色谱参考条件

色谱柱: BEH C₁₈ (100 \times 2.1mm, 1.7 μ m), 或相当者;

流动相: A相: 0.1%甲酸水溶液; B相: 甲醇溶液;

梯度洗脱: 0-0.5min, 维持90%A; 0.5-3.0min, 90%A线性变化到60%A; 3.0min-6.0min, 60%A线性变化到40%A; 6.0min-6.5min, 40%A线性变化到10%A; 6.5min-8.0min, 维持10%A; 8.0min-8.2min, 10%A线性变化到90%A;

流速: 0.30mL/min;

柱温: 40 $^{\circ}$ C;

进样量: 5.0 μ L;

7.4.2 质谱参考条件

离子源: 电喷雾离子源;

扫描方式: 负离子扫描;

检测方式: 多反应监测;

电离电压: 3.2kV;

源温: 110 $^{\circ}$ C;

雾化温度: 350 $^{\circ}$ C;

锥孔气流速: 50L/h;

雾化气流速: 650 L/h;

药物保留时间、定性定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见表1:

表1: 15种磺胺类药物保留时间、定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量

药物	保留时间 (min)	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
SM2	5.08	279.2>156.2	279.2>186.2	50/50	24/24
SMP	5.16	281.2>126.0	281.2>156.2	50/50	23/25
SMM	5.60	281.1>126.2	281.1>156.0	50/50	23/25
SCP	5.42	285.0>108.0	285.0>156.0	50/50	23/25
SMPD	4.38	250.2>184.1	250.2>156.1	40/40	22/24
SPP	6.26	315.3>156.1	315.3>158.1	60/60	36/27
SMZ	5.48	254.2>108.2	254.2>156.0	40/40	21/33
SDM	6.61	311.2>108.0	311.2>156.2	60/60	25/36
SIZ	5.69	268.3>113.1	268.3>156.1	50/50	20/20
ST	4.15	256.3>108.1	256.3>156.1	50/50	21/34

SDM"	5.72	311.2>108.2	311.2>156.1	60/60	24/37
SMD	4.90	281.4>215.1	281.4>156.1	60/60	23/24
SB	6.04	277.1>108.0	277.1>156.0	60/60	19/32
sulfamoxol	4.85	268.0>108.0	268.0>156.0	50/50	22/34

7.4.3 液相色谱-串联质谱测定

7.4.3.1 定性测定

按照上述条件测定样品和混合基质标准溶液,如果样品的质量色谱峰保留时间与混合基质标准溶液一致;定性离子对的相对丰度与浓度相当的混合基质标准溶液的相对丰度一致,相对丰度偏差不超过表2的规定,则可判断样品中存在相应的被测物。混合基质标准溶液的液相色谱-串联质谱色谱图见附录A。

表2: 试料溶液中离子相对丰度的允许偏差范围

相对丰度	允许偏差 (%)
>50	±20
>20-50	±25
>10-20	±30
≤10	±50

7.4.3.2 定量测定

取试样溶液和空白添加标准溶液,作单点或多点校准,内标法。

按式(1)计算残留量

单点校准:

$$x = \frac{(A - A_b) \times C_s \times V_1 \times V_3 \times 1000}{A_s \times m \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

x : 待测组分含量 ($\mu\text{g/L}$)

V_1 : 样液提取体积 (mL)

V_3 : 定容体积 (mL)

A : 待测组分峰面积

A_s : 标准工作液峰面积

A_b : 空白样峰面积

m : 试样溶液所代表的试样的质量 (mL)

V_2 : 移取体积 (mL)

C_s : 标准工作液浓度 (ng/mL)

注: 计算结果需扣除空白值,测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至小数点后两位。

7.4.3.3 空白试验

取空白试样，采用完全相同的测定步骤进行测定。

8 回收率和精密度

本方法在 $2.00\mu\text{g/L}$ - $500.00\mu\text{g/L}$ 添加浓度的范围内，用空白添加标准溶液校正，其回收率范围为60%-120%。

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

附录 A
(资料性附录)
标准样品质量色谱图

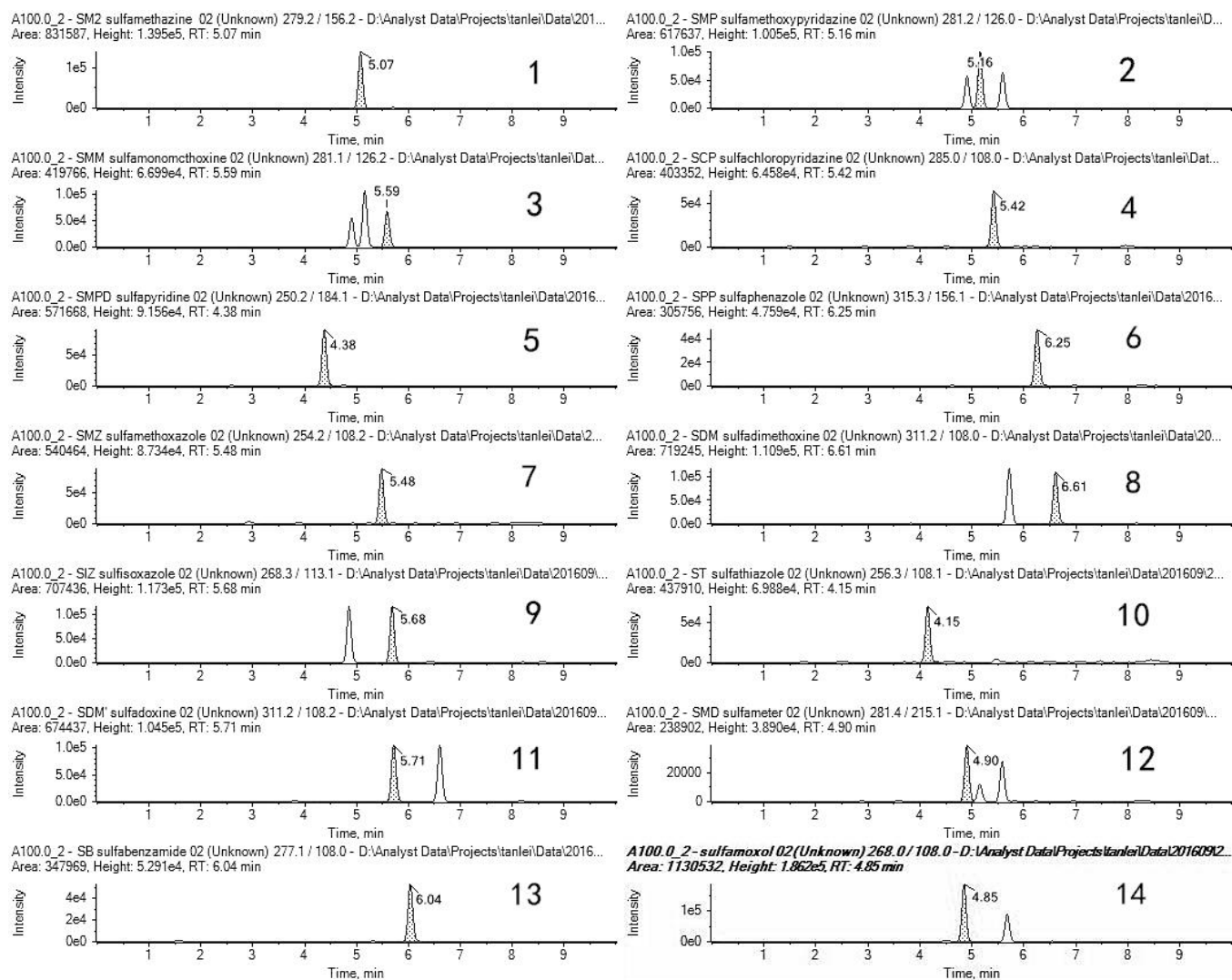


图 A.1 标准样品质量色谱图

- 1-磺胺二甲嘧啶 (SM2) 2-磺胺甲氧吡嗪 (SMP) 3-磺胺间甲氧嘧啶 (SMM) 4-磺胺氯吡嗪 (SCP)
5-磺胺吡啶 (SMPD) 6-磺胺苯吡唑 (SPP) 7-磺胺甲恶唑 (SMZ) 8-磺胺地索辛 (SDM)
9-磺胺二甲异恶唑 (SIZ) 10-磺胺噻唑 (ST) 11-磺胺邻二甲氧嘧啶 (SDM')
12-磺胺对甲氧嘧啶 (SMD) 13-磺胺苯酰胺 (SB) 14-磺胺二甲唑 (sulfamoxol)