Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 88 (1997)

Heft: 5

Artikel: Dosage de résidus de sulfamides dans des denrées alimentaires d'origine animale (foies, rognons, viandes, poissons, oeufs, lait) par HPLC avec prédérivatisation et détection fluorimétrique = Analysis of residues of sulfonamides in foods of animal origin...

Autor: Edder, Patrick / Cominoli, André / Corvi, Claude

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982336

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Trav. chim. aliment. hyg. 88, 554–569 (1997)
Présenté le 9 juillet 1997. Accepté le 22 juillet 1997

Dosage de résidus de sulfamides dans des denrées alimentaires d'origine animale (foies, rognons, viandes, poissons, œufs, lait) par HPLC avec prédérivatisation et détection fluorimétrique

Analysis of Residues of Sulfonamides in Foods of Animal Origin (Liver, Kidney, Meat, Fish, Eggs, Milk) by Liquid Chromatography with Prederivatization and Fluorimetric Detection

Key words: Sulfonamides, Foods of animal origin, HPLC, Fluorescamine precolumn derivatization, Fluorimetric detection

Patrick Edder, André Cominoli et *Claude Corvi*
Service du chimiste cantonal, Genève

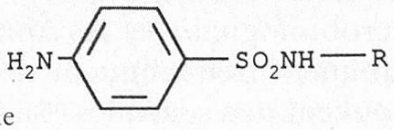
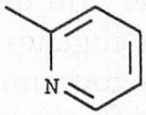
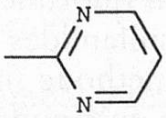
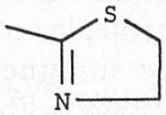
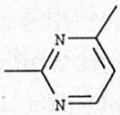
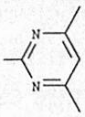
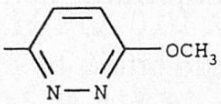
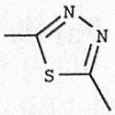
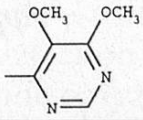
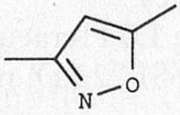
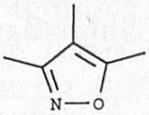
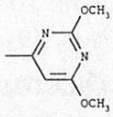
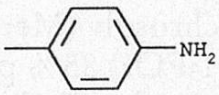
Introduction

Les sulfamides possèdent des propriétés antibactériennes à très large spectre et sont très couramment utilisés comme médicaments vétérinaires pour les animaux de rente, que ce soit pour les bovidés, les volailles, les lapins, mais également pour les poissons élevés en pisciculture (1–3). Ils peuvent être administrés soit comme traitement ponctuel, soit à titre préventif par incorporation dans la nourriture. C'est pourquoi des résidus de sulfamides dans les denrées alimentaires carnées (abats, viandes), les poissons, le lait ou encore les œufs peuvent être mis en évidence (1–3). D'un point de vue toxicologique, la sulfaméthazine (ou sulfadimidine) a été reconnue par le centre national de recherches toxicologiques (NCTR, USA) comme étant carcinogène. L'ordonnance sur les substances étrangères et les composants dans les denrées alimentaires (OSEC) fixe une valeur de tolérance pour les sulfamides de 0,1 mg/kg, quelle que soit la matrice.

Chimiquement, les sulfamides sont des amines aromatiques substituées sur l'azote du groupe sulfonamide. Le tableau 1 donne les structures et les pKa des sulfamides faisant l'objet de ce travail.

Concernant les analyses des résidus de sulfamides, un très grand nombre de techniques a été proposé pour leur détection, incluant des tests microbiologiques

Tableau 1. Structure et pK_a des sulfamides

Sulfamides	Formule générale  R =	pK_a
Sulfapyridine (SP)		8,6
Sulfadiazine (SDZ)		6,4
Sulfathiazole (STZ)		7,2
Sulfamerazine (SMR)		7,0
Sulfadimidine (SDD)		7,5
Sulfamethoxypyridazine (SMPD)		7,2
Sulfamethizole (SMZ)		5,5
Sulfadoxine (SD)		5,9
Sulfamethoxazole (SMX)		5,4
Sulfatroxazole (STX)		5,8
Sulfadimethoxine (SDMX)		6,2
Sulfaquinoxaline (SQ)		5,5

(par exemple test des quatre plaques) ou par immuno-essais, la chromatographie gazeuse (GC) ou liquide (HPLC) (4,5).

Les tests microbiologiques et les immuno-essais sont la plupart du temps peu spécifiques et donnent fréquemment de faux positifs sur ce type de matrice. En outre, ils sont souvent peu sensibles (4). Comme les sulfamides sont peu volatils, il est nécessaire de les méthyler afin de pouvoir les doser par GC. Cette étape est généralement très délicate et engendre une erreur analytique souvent importante (4). Enfin, la technique la plus couramment utilisée reste la chromatographie liquide avec une détection UV ou par fluorimétrie qui permet la séparation, l'identification et le dosage quantitatif des sulfamides les plus importants (5).

Ce travail présente une méthode simple, précise et très sélective, permettant le dosage simultané de douze sulfamides (voir tableau 1) dans des matrices aussi diverses et complexes que le foie, les rognons, les viandes, les poissons, le lait et les œufs. La méthode est basée sur une extraction des sulfamides par un solvant organique, suivi d'un dégraissage à l'hexane, puis d'une prédérivatisation avec de la fluorescamine afin de former des espèces fluorescentes. Cette prédérivatisation permet d'obtenir non seulement une grande sensibilité, mais également une grande sélectivité vis-à-vis de tous les types de matrices testées. De plus, contrairement aux méthodes avec dérivatisation post-colonne, cette technique évite l'utilisation d'appareillage supplémentaire et permet de réduire la consommation du réactif onéreux qu'est la fluorescamine. Le dosage est ensuite effectué par chromatographie liquide de partage avec une détection fluorimétrique.

Partie expérimentale

Appareillage

- Broyeur Büchi
- Polytron PCU Kinematica
- Centrifugeuse Megafuge 1.0 Heraeus AG
- HPLC SSI avec pompe SSI 222 D, mélangeur SSI 232 D Gradient, four SSI 505 LC
- Détecteur fluorimétrique Shimadzu RF 535

Réactifs

- Acétate d'éthyle (AcOEt), Acétone, Hexane pro analysi (Merck) pour l'extraction
- Acétonitrile (ACN) Lichrosolv (Merck) pour la chromatographie
- Acide phosphorique (H_3PO_4) 85% pro analysi (Merck)
- Acide trichloroacétique puriss (Fluka)
- Acide citrique pro analysi (Merck)

- Sulfate de sodium anhydre (Merck)
- Fluorescamine (Fluram) (Fluka)
- Sulfanilamide (SA), Sulfadiazine (SDZ), Sulfapyridine (SP), Sulfathiazole (STZ), Sulfamerazine (SMR), Sulfadimidine (SDD), Sulfamethoxypyridazine (SMPD), Sulfamethizole (SMZ), Sulfadimethoxine (SDMX), Sulfaquinoxaline (SQ) (Sigma)
- Sulfadoxine (SD), Sulfamethoxazole (SMX), Sulfatroxazole (STX) (Roche)

Mode opératoire

La représentation schématique de l'ensemble du mode opératoire est illustrée par la figure 1.

Extraction des échantillons carnés et des poissons

Les échantillons de foie, rognon, viande et poisson sont broyés au moyen d'un système à couteau en céramique (Büchi). L'extraction est réalisée sur 5 g de chair qui sont placés dans un tube à centrifuger de 100 ml. On additionne ensuite 40 ml d'ACOEt et 10 g de Na_2SO_4. Le standard interne est introduit par l'ajout de 0,2 ml de sulfanilamide 0,1 µg/ml. Le mélange est mixé 5 minutes au Polytron, puis centrifugé pendant 5 minutes à 2800 tr/min. Le surnageant est récupéré et évaporé à sec dans un ballon de 100 ml.

Le résidu est dissout par 3 ml d'ACN/H_3PO_4 0,02 M 80:20 v:v pH 6,0, puis la solution est transvasée dans un vial au moyen d'une pipette Pasteur. Le ballon est ensuite rincé par 2 ml de tampon citrate 0,5 M pH 3,0. La solution est ajoutée au premier extrait. La solution est dégraissée dans le vial par une microextraction réalisée par adjonction de 2 ml d'hexane. On prélève alors une partie aliquote de 1 ml de la phase inférieure (phase aqueuse) que l'on fait réagir avec 0,2 ml de fluorescamine 0,1% pendant 30 min. L'analyse est finalement effectuée par chromatographie liquide de partage avec une détection fluorimétrique. La figure 1 présente schématiquement l'ensemble du mode opératoire.

Extraction des échantillons d'œufs et de lait

L'analyse des œufs s'effectue à partir d'un échantillon homogène obtenu à partir d'un mélange de plusieurs œufs (3–4 minimum). On prélève alors 5 g de cet homogénat d'œufs ou 5 ml de lait dans un tube à centrifuger de 100 ml. On additionne ensuite 40 ml d'ACOEt contenant 0,1% d'acide trichloroacétique (TCA), 20 g de Na_2SO_4 et 0,2 ml de standard interne (sulfanilamide) 0,1 mg/ml. Le mélange est mixé 5 min au Polytron, puis centrifugé pendant 5 min à 2800 tr/min. Le surnageant est récupéré et évaporé à sec. La suite de la procédure s'effectue de manière identique aux échantillons carnés.

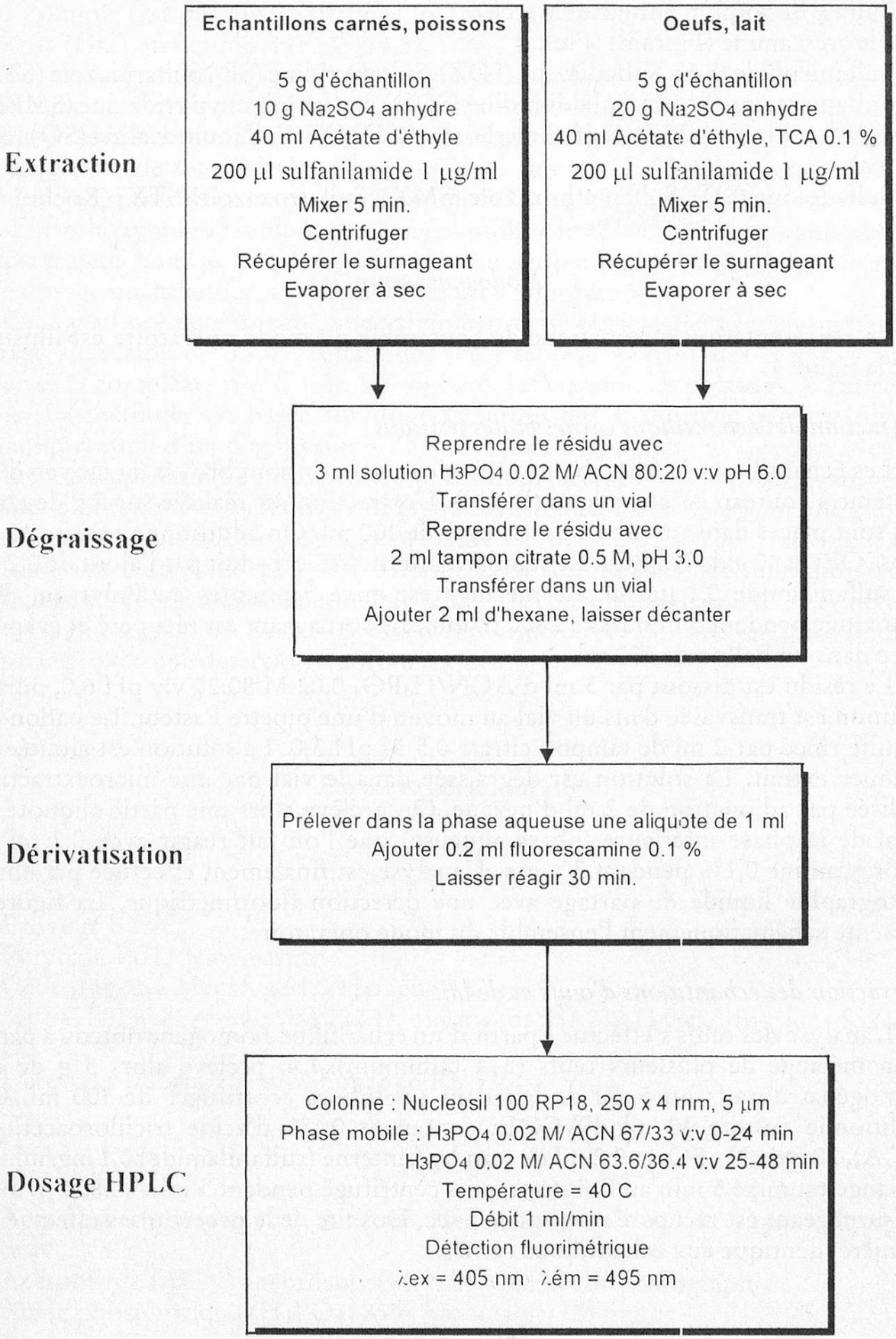


Fig. 1. Représentation schématique de l'ensemble du mode opératoire

Conditions chromatographiques

Phase mobile: sol. A = ACN/H_3PO_4 0,02 M 1/2 v/v;
sol B = ACN
Gradient : 0–24 min 100% A
25–50 min 95% A, 5% B

Injection: 50 µl
Précolonne Nucleosil RP18 (Merck) 4 mm x 4 mm, porosité 5 µm
Colonne chromatographique Nucleosil RP18 (Merck) 250 mm x 4 mm, porosité 5 µm
Température de la colonne: 40 °C
Débit: 1,0 ml/min
Détection fluorimétrique: λ_{ex} = 405 nm, $\lambda_{émi}$ = 495 nm

Résultats et discussion

Caractérisation de la séparation

Les caractéristiques de séparation obtenue dans ces conditions sont résumées dans le tableau 2. Après dérivatisation, la discrimination entre certains sulfamides est difficile et nécessite un temps d'analyse assez long (env. 1 h). Les résolutions ne sont pas toujours très bonnes, mais la présence de plusieurs sulfamides dans un même échantillon est peu probable. Sauf pour le sulfapyridine et le sulfadiazine qui coéluent parfaitement, l'identification des autres sulfamides ne pose pas de problème. La figure 2 présente le chromatogramme obtenu pour l'injection d'un standard 0,1 mg/kg de sulfamides.

Dérivatisation des sulfamides

Les premières approches mises en œuvre pour l'analyse des sulfamides impliquaient un mode de détection dans l'UV à 272 nm, car tous les sulfamides sont naturellement absorbants à cette longueur d'onde. Cependant, la sélectivité de la méthode était trop faible et les extraits de matrices complexes telles que le foie ou les rognons présentaient des chromatogrammes très chargés en pics parasites. Plusieurs techniques d'extraction sur phase solide (SPE) (5,6) ont alors été testées afin d'obtenir des extraits propres, mais sans succès. Soit la purification était insuffisante, soit des recouvrements trop faibles étaient observés, principalement à cause de la saturation rapide de la phase ne permettant pas la rétention complète des sulfamides sur la cartouche SPE.

Dès lors, l'approche d'une détection fluorimétrique a été privilégiée afin d'augmenter la sélectivité et la sensibilité de la méthode. Comme les sulfamides ne sont

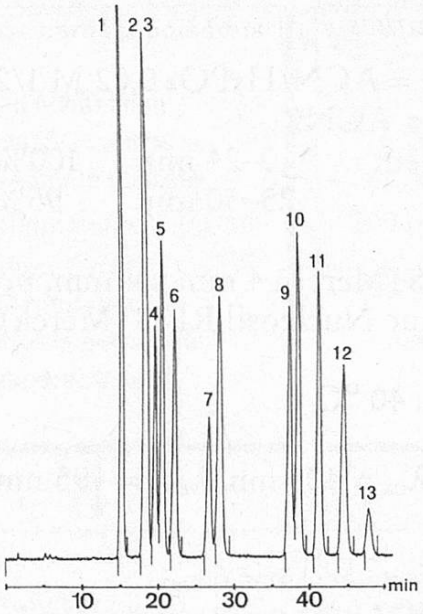


Fig. 2. Chromatogramme d'une solution standard 0,1 mg/kg de sulfamides:
1. SA; 2. SP; 3. SDZ; 4. STZ; 5. SMR; 6. SDD; 7. SMPD; 8. SMZ; 9. SD; 10. STX; 11. SMX; 12. SDMX; 13. SQ

pas fluorescents de façon naturelle, leur dérivatisation est nécessaire. Cette dernière peut être réalisée en mode pré ou post-colonne (8–11). La voie post-colonne exigeant une pompe HPLC supplémentaire, le mode pré-colonne a retenu notre attention.

La fluorescamine est un réactif fréquemment utilisé pour la formation de dérivés fluorescents de composés aminés et a déjà fait l'objet d'applications avec des sulfamides (8, 9). La figure 3 présente la réaction de dérivatisation d'un sulfamide type par la fluorescamine.

Optimisation de la formation des dérivés fluorescents

Influence de la concentration en fluorescamine

Une solution de sulfamides 0,1 mg/kg est dérivatisée 30 min au moyen d'une solution de fluorescamine 0,02, 0,04, 0,08 et 0,1%.

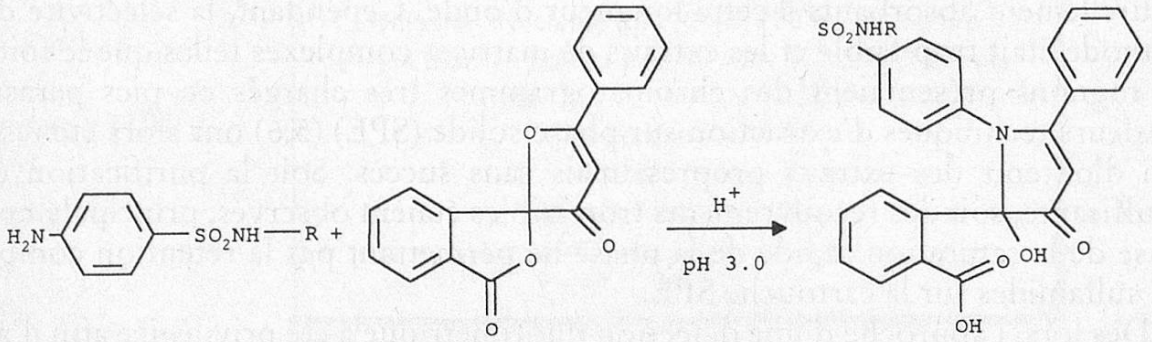


Fig. 3. Réaction de dérivatisation des sulfamides par la fluorescamine

La figure 4 montre l'influence de la concentration en fluorescamine sur la formation des dérivés. L'élévation de la concentration en fluorescamine augmente la proportion de sulfamides dérivatisés. On observe que tous les sulfamides sont dérivatisés. Un plateau est constaté pour des teneurs en fluorescamine de 0,08 à 0,1%, ce qui semble indiquer que la réaction est complète pour la plupart des sulfamides, excepté les SD, SMX, STX et SDMX qui montrent des courbes différentes et encore ascendantes. Cependant, la fluorescamine étant un réactif onéreux (~ 500 fr./g), une concentration de 0,1% paraît satisfaisante, car la sensibilité obtenue est suffisante et le taux de formation des dérivés semble parfaitement reproductible.

Cinétique de formation et stabilité du dérivé

Une solution de sulfamides 0,1 mg/kg est dérivatisée au moyen d'une solution de fluorescamine 0,1% pendant 10, 20, 30, 45, 90, 120, 180 et 240 minutes. Ceci permet, d'une part, d'étudier la cinétique de formation des dérivés fluorescents, de déterminer le temps de réaction optimal et, d'autre part, de connaître la stabilité des dérivés après leur formation.

La figure 5 présente les courbes obtenues pour les 13 sulfamides (12 + la sulfanilamide utilisée comme standard interne).

La réaction est complète après 30 min et un plateau est observé pour tous les sulfamides entre 30 et 90 min. En revanche, les dérivés sont relativement instables et une diminution des signaux est observée après 90 min. Il n'est donc pas possible de conserver les extraits sous leur forme dérivatisée et il est préférable de minuter la réaction (30 min) juste avant l'analyse chromatographique.

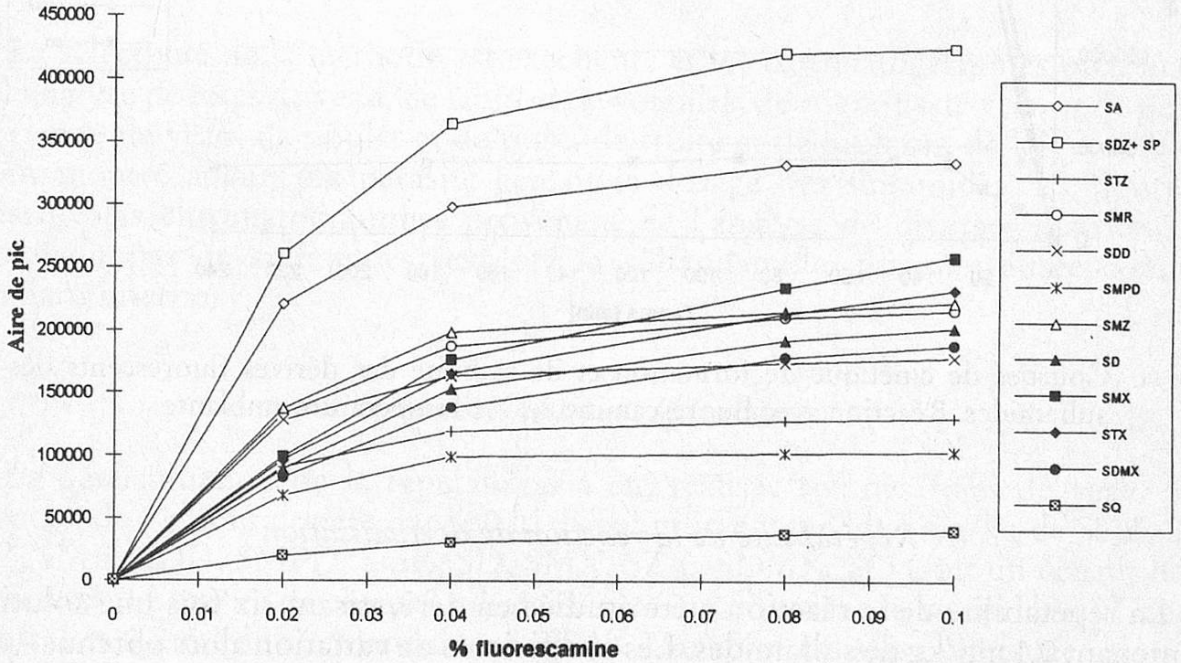


Fig. 4. Influence de la concentration en fluorescamine sur la formation des dérivés fluorescents des sulfamides. Temps de réaction de 30 min. Température ambiante

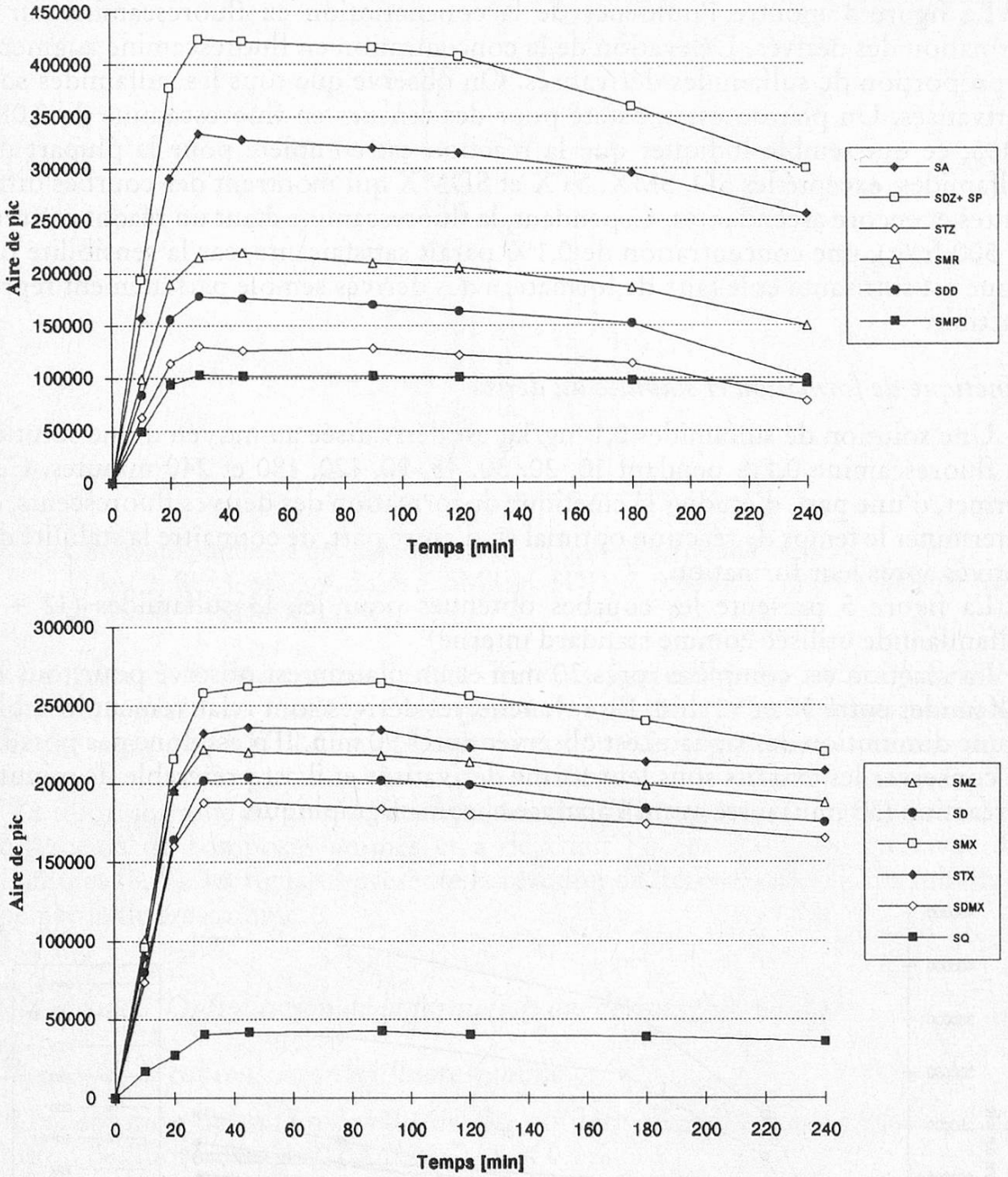


Fig. 5. Courbes de cinétique de formation et de stabilité des dérivés fluorescents des 13 sulfamides. Réaction avec fluorescamine 0,1%. Température ambiante

Répétabilité de la réaction de dérivatisation

La répétabilité de la réaction a été étudiée en dérivatisant six fois une solution contenant 0,1 mg/kg de sulfamides. Les coefficients de variation alors obtenus – qui comprennent l'erreur due à la dérivatisation, plus l'erreur due à l'analyse HPLC – sont compris entre 1,5 et 4%, ce qui est tout à fait satisfaisant.

Tableau 2. Caractérisation de la séparation chromatographique

	t_r (min)	k'	α	N	R
SA	15,2	7,9		5120	
SP	18,2	9,7	1,22	7348	3,50
SDZ	18,4	9,8	1,01	9815	0,20
STZ	19,6	10,5	1,07	6877	1,24
SMR	20,5	11,1	1,06	6655	1,06
SDD	22,2	12,1	1,09	7653	1,67
SMPD	26,8	14,8	1,22	6977	3,53
SMZ	28,2	15,6	1,05	6977	1,05
SD	37,6	21,1	1,35	15984	7,80
SMX	38,7	21,8	1,03	17029	0,92
STX	41,4	23,4	1,07	19473	2,19
SDMX	44,7	25,3	1,08	17303	2,34
SQ	48,1	27,3	1,08	15739	2,24

t_r = temps de rétention, k' = facteur de capacité, α = sélectivité, N = nombre de plateaux théoriques, R = résolution

Validation de la méthode

Sélectivité

La sélectivité de la méthode est excellente et les chromatogrammes provenant de l'analyse de foies de veau, de lapin et de volailles, de rognons de veau et de porc, de viande de veau, de poulet et de porc, de truite et de saumon, de lait et d'œufs n'ont montré aucun pic parasite gênant le dosage des sulfamides. La figure 6 présente les chromatogrammes provenant de l'analyse de diverses matrices ne contenant pas de sulfamides (excepté la sulfanilamide qui est utilisée comme standard interne).

Recouvrements et répétabilité

La détermination de la répétabilité a été réalisée sur des foies de veau. Six portions de 5 g sont dopées par 500 µl de solution contenant 1 mg/kg de SDZ, SP, STZ, SMR, SDD, SMPD, SMZ, SD, SMX, STX, SDMX, SQ (soit un échantillon contenant 0,1 mg/kg de chaque sulfamides, ce qui constitue la valeur de tolérance admise) et 0,2 ml de standard interne (SA). L'analyse est alors effectuée selon la méthode décrite précédemment.

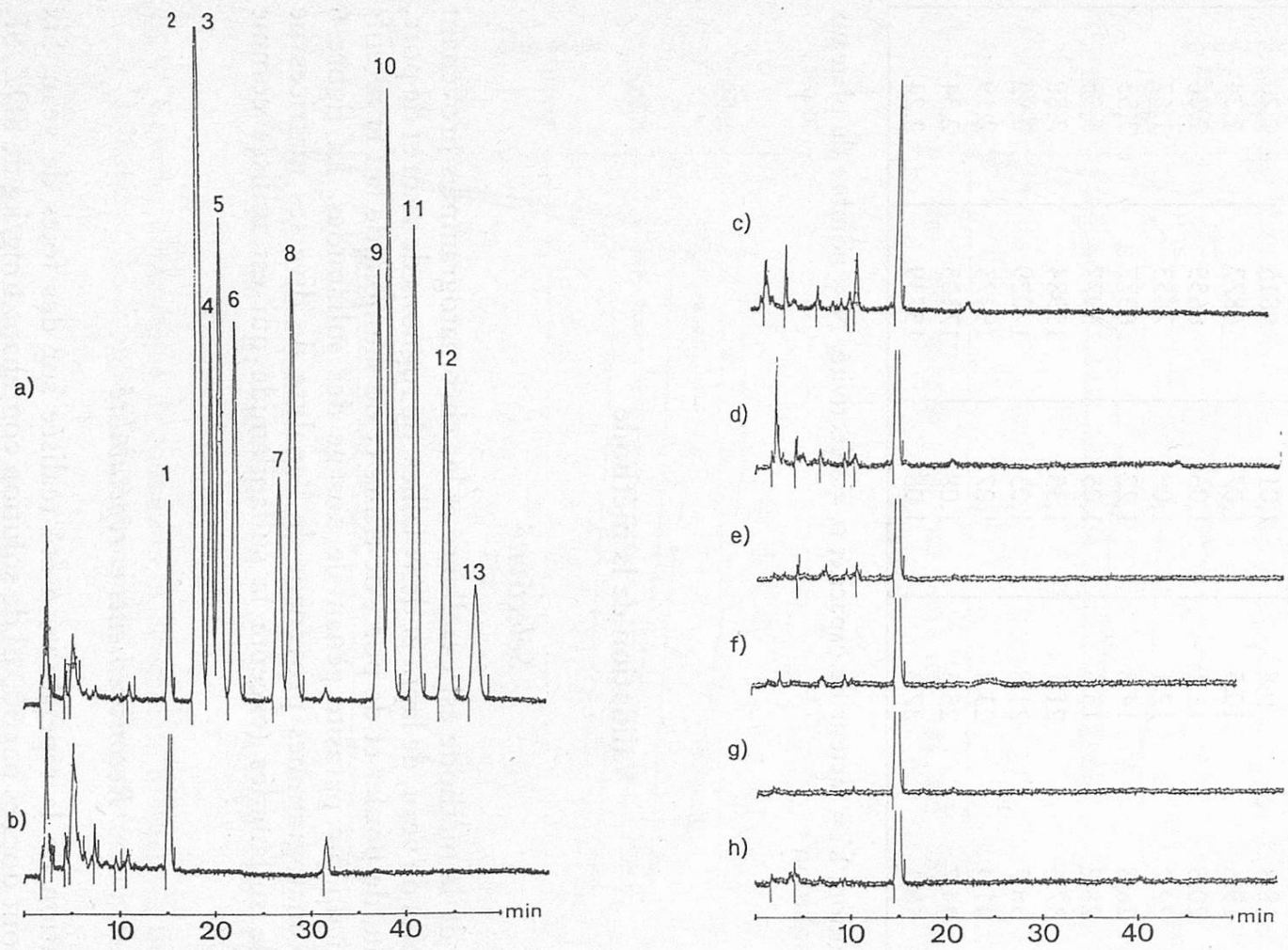


Fig. 6. Chromatogrammes provenant de l'analyse de diverses matrices ne contenant pas de sulfamides (excepté la sulfanilamide qui est utilisée comme standard interne):
a) foie de lapin dopé par 0,1 mg/kg de chaque sulfamide; b) foie de lapin; c) foie de veau; d) foie de volaille; e) rognons de veau; f) truite; g) œufs; h) lait
1 = SA; 2 = SP; 3 = SDZ; 4 = STZ; 5 = SMR; 6 = SDD; 7 = SMPD; 8 = SMZ; 9 = SD; 10 = STX; 11 = SMX; 12 = SDMX; 13 = SQ

Les recouvrements moyens, calculés par rapport à une injection directe de contenu équivalent en sulfamides et normalisé par rapport au standard interne (sulfanilamide), sont donnés par le tableau 3 et sont compris entre 83 et 103% avec une répétabilité de 1,6 à 4,1%.

Comme les œufs et le lait sont des matrices très différentes des produits carnés, les recouvrements dans ce type d'échantillons ont également été déterminés (voir tableau 3). L'adjonction de 0,1% d'acide trichloroacétique (TCA) au solvant d'extraction est nécessaire à l'obtention de bons rendements, surtout pour le STZ et le SMZ. Il est intéressant de noter que ces deux sulfamides possèdent un hétérocycle contenant un atome de soufre qui doit se lier plus facilement avec les protéines. La présence du TCA, bien connu pour son pouvoir de déprotéinéisation, permet de libérer les sulfamides et d'obtenir des recouvrements satisfaisant compris entre 83 et 104%.

Remarque par rapport à l'usage de la sulfanilamide comme standard interne: l'utilisation d'un sulfamide – (sulfanilamide (SA)) – comme standard interne permet d'améliorer grandement la répétabilité et l'exactitude de la mesure. Il est vrai cependant que la sulfanilamide peut également, quoique rarement, être employée comme médicament vétérinaire et il est possible de trouver des résidus de cette dernière dans les denrées alimentaires. En cas d'échantillon positif ou de signal de la SA paraissant particulièrement élevé, il est nécessaire d'effectuer une fois le dosage sans le standard interne afin de s'assurer de l'absence de cette substance dans l'échantillon.

Linéarité et exactitude

Des portions de 5 g d'échantillon de foie de veau sont analysées après dopage par diverses quantités de sulfamides (0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 et 0,4 mg/kg).

Tableau 3. Recouvrements (η %) et répétabilités (CV %)

	Foie de veau[1]		Œufs[2]	Lait[2]
	η %.	CV %	η %.	η %.
SDZ + SP	100,5	1,9	102,5	100,8
STZ	90,7	1,6	89,6	96,5
SMR	101,1	2,2	103,0	94,0
SDD	103,1	4,1	103,3	93,4
SMPD	96,8	3,5	99,7	96,0
SMZ	94,5	2,1	83,6	97,2
SD	101,7	3,3	104,3	102,9
SMX	98,5	3,7	104,1	102,6
STX	97,8	2,2	102,8	102,3
SDMX	96,4	3,3	104,5	95,4
SQ	83,1	2,9	96,8	85,5

[1] $n = 6$ [2] $n = 2$

La méthode est parfaitement linéaire pour cette gamme de concentration. Les coefficients de corrélation obtenus sont excellents, compris entre 0,9990 et 0,99997.

Le tableau 4 présente les concentrations mesurées (calculés par étalonnage externe), leur écart type et les recouvrements observés sur tout le domaine de concentration.

Les recouvrements sont excellents et toujours supérieurs à 87%. Par ailleurs les recouvrements moyens sont compris entre 87 et 106% avec des coefficients de variation de 2,0 à 5,8% (ce qui correspond presque aux CV observés lors de l'étude de la répétabilité).

Limites de quantification et de détection

La limite de quantification (LQ) est fixée à 0,01 mg/kg pour tous les sulfamides, sauf pour la sulfaquinoxaline (SQ) où la LQ est de 0,02 mg/kg. La limite de détection (LD) est estimée à 0,005 mg/kg pour tous les sulfamides, sauf pour la SQ (LD = 0,01 mg/kg).

La figure 7 présente le chromatogramme obtenu après extraction de 5 g de foie de veau dopé par 0,005 mg/kg de chaque sulfamide.

Tableau 4. Exactitude et recouvrements entre 0,01 et 0,4 mg/kg

	Concentration (mg/kg)								
	0,4	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	η moy %	sd %	cv %
SDZ + SP	98,5	101,8	99,3	97,6	88,6	104,4	98,4	5,36	5,45
STZ	100,7	99,6	101,5	94,4	97,0	94,7	98,0	3,06	3,12
SMR	99,3	102,4	100,5	96,0	88,5	100,0	97,8	5,01	5,13
SDD	100,5	107,6	104,3	93,8	96,4	108,2	101,8	5,94	5,84
SMPD	99,4	98,2	108,3	103,8	92,5	100,0	100,4	5,34	5,32
SMZ	83,4	83,5	89,7	84,6	88,2	93,0	87,1	3,87	4,45
SD	101,3	100,9	101,5	103,7	96,5	109,7	102,3	4,35	4,25
SMX	106,5	105,6	108,1	105,4	101,7	106,7	105,7	2,15	2,03
STX	101,3	98,5	104,5	98,7	94,4	103,3	100,1	3,70	3,69
SDMX	106,0	106,9	107,4	102,0	92,4	105,4	103,4	5,70	5,52
SQ	90,2	86,6	86,1	96,8	90.0	–	89,9	4,27	4,74

η = recouvrement en %; sd = déviation standard; cv = coefficient de variation

Conclusions

La méthode développée pour l'analyse des résidus de sulfamides dans diverses matrices s'est révélée simple, rapide, sensible et très fiable (recouvrements > 83% et répétabilité comprise entre 1,6 et 4,0%). La procédure a été très fortement

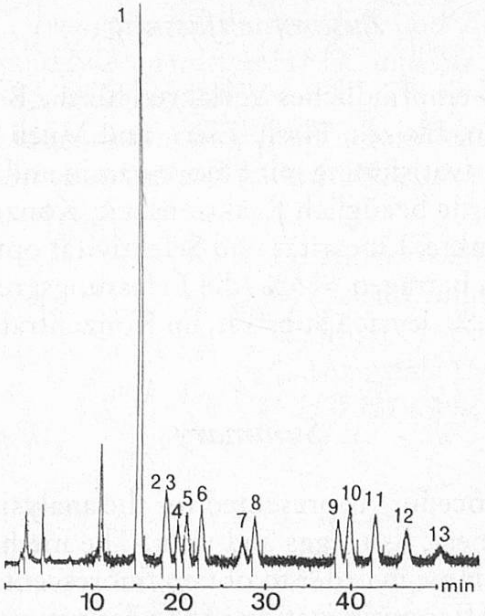


Fig. 7. Chromatogramme obtenu après extraction de 5 g de foie de veau dopé par 0,005 mg/kg de chaque sulfamide:
1 = SA; 2 = SP; 3 = SDZ; 4 = STZ; 5 = SMR; 6 = SDD; 7 = SMPD; 8 = SMZ; 9 = SD; 10 = STX; 11 = SMX; 12 = SDMX; 13 = SQ

simplifiée par le fait qu'aucune étape de purification sur colonne par extraction en phase solide (SPE) préalable à l'analyse HPLC n'est nécessaire. La sélectivité de la méthode est très élevée et assurée principalement par la dérivatisation très spécifique des sulfamides et par la détection par fluorimétrie. L'intérêt majeur de cette méthode réside dans l'utilisation d'une procédure quasi unifiée applicable à l'analyse de matrices très diverses.

Remerciements

Nous remercions Mlle *Frédérique Berger* pour la partie pratique des analyses.

Résumé

Une procédure simple et sensible est présentée pour l'analyse de douze sulfamides dans diverses matrices, telles que le foie, les rognons, les viandes, le poisson, les œufs et le lait. La méthode est basée sur une prédérivatisation des sulfamides par de la fluorescamine afin d'obtenir des espèces fluorescentes. La séparation des sulfamides a lieu par chromatographie liquide. Après optimisation de la réaction de dérivatisation (concentration en fluorescamine, temps de réaction) et détermination de la stabilité des dérivés, la méthode a été caractérisée par l'étude de la sélectivité, de la répétabilité (1,6–4,0%), des recouvrements (> 83%), de la linéarité et de l'exactitude (pour des concentrations comprises entre 0,01 et 0,4 mg/kg), des limites de détection (5 µg/kg) et de quantification (10 µg/kg).

Zusammenfassung

Es wird ein einfaches und empfindliches Verfahren für die Bestimmung von Sulfonamidrückständen in Leber, Nieren, Fleisch, Fisch, Eiern und Milch beschrieben. Das Verfahren beruht auf einer Vorsäulenderivatisierung mit Fluorescamin und einer HPLC-Trennung. Die Derivatisierungsreaktion wurde bezüglich Reaktionszeit, Konzentrationen der Reagenzien, Stabilität der Reaktionsprodukte, Linearität und Selektivität optimiert.

Die Wiederfindungsraten betragen >83%, die Erfassungsgrenzen 10 µg/kg und die relative Wiederholbarkeit 1,6–4,0%, je nach Substrat, im Konzentrationsbereich 0,01–0,4 mg/kg.

Summary

A simple and sensitive procedure is presented for the analysis of sulfonamides in various matrices, like liver, kidney, meat, fish, eggs and milk. The method is based on a precolumn derivatization with fluorescamine in order to obtain fluorescent derivatives and a separation by liquid chromatography. After optimization of the derivatization reaction (fluorescamine concentration, reaction time) and determination of the derivatives stability, the method has been studied by the determination of the selectivity, the repeatability (1.6–4.0%), the recoveries (> 83%), the linearity and the accuracy (in a concentration range between 0.01 and 0.4 mg/kg), the detection and quantification limits (5 and 10 µg/kg).

Références

1. *Woodward, K.N.* and *Shearer, G.*: Chemical analysis for antibiotics used in agriculture. 47–76, Ed. AOAC Int., H. Oka, H. Nakazawa, K. Harada, J.D. McNeil, 1995.
2. *Brady, M.S.* and *Katz, M.S.*: Incidence of residues in foods of animal origin. In: Analysis of antibiotics drug residues in food products of animal origin, 5–21, Ed. Agarwal, V.K. Plenum Press, New York 1992.
3. *Aerts, M.M., Hogenboom, A.C.* and *Brinkman, U.A.Th.*: Analytical strategies for the screening of veterinary drugs and their residues in edible products. J. Chrom. Biomed. Appl. **667,** 1–40 (1995).
4. *Guggisberg, D., Moser, A.E.* and *Koch, H.*: Methods for the determination of sulphonamides in meat. J. Chromatogr. **624,** 425–437 (1992).
5. *Agarwal, V.K.:* High performance liquid chromatographic methods for the determination of sulfonamides in tissue, milk and eggs. J. Chromatogr. **624,** 411–423 (1992).
6. *Boison, J.* and *Keng, L.*: Determination of sulfamethazine in bovine and porcine tissues by reverse phase liquid chromatography. JAOAC **77,** 558–564 (1994).
7. *Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N., Hayakawa, J., Yamada, M., Harada, K., Suzuki, M.* and *Nakazawa, H.*: Application of an amino cartridge to the determination of residual sulphonamide antibacterials in meat, fish and egg. *J. Chromatogr.* **541,** 393–400 (1991).
8. *Takeda, N.* and *Akiyama, Y.:* Pre-column derivatization of sulfa drugs with fluorescamine and high performance liquid chromatographic determination at their residual levels in meat and meat products. J. Chromatogr. **558,** 175–180 (1991).
9. *Takeda, N.* and *Akiyama, Y.:* Rapid determination of sulphonamides in milk using liquid chromatographic separation and fluorescamine derivatization. J. Chromatogr. **607,** 31–35 (1992).

10. *Pacciarelli, B., Reber, S., Douglas, C., Dietrich, S.* und *Etter, R.:* Bestimmung von 12 Sulfonamiden in Fleisch und Nieren mittels HPLC und Nachsäulenderivatisierung. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **82,** 45–55 (1991).
11. *Tsai, C.* and *Kondo, F.*: Liquid chromatographic determination of fluorescent derivatives of six sulfonamides in bovine serum and milk. JAOAC **78,** 674–678 (1995).

Dr Patrick Edder
Service du chimiste cantonal
22, Quai Ernest-Ansermet
Case postale 166
CH-1211 Genève 4